

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМУЉЕНО:		28. 07. 2021	
Оригина	Број	Датум	Вредност
05	8193		

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 14.07.2021. године, одлуком бр. IV-03-564/28 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus Rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемијом: улога дисбиозе“ кандидата Драгане Станишић, у следећем саставу:

1. Проф. др Радмила Обрадовић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Орална медицина и пародонтологија, председник;
2. Проф. др Владимир Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;
3. Доц. др Тамара Николић Турнић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Клиничка фармација, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидата Драгане Станишић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата Драгане Станишић под називом „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхормоцистеинемом: улога дисбиозе“, урађена под менторством доц. др Невене Јеремић, доцента Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска хемија и под менторством проф. др *Suresh Tyagi*, професора Медицинског факултета Универзитета у Лујвилу, Кентаки, Сједињене Америчке Државе (*University of Louisville School of Medicine, Louisville, Kentucky, United States of America*) за ужу научну област Физиологија и биофизика, представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем ефекта пробиотика *Lactobacillus rhamnosus* у терапији пародонтопатије код мишева као и утицајем новотокривених етиолошких фактора, хиперхормоцистеинемје и дисбиозе, на настанак исте.

Пародонтопатија је патолошки, мултифакторијални процес који захвата све делове пародонцијума који подржавају зубе и једно је од два најзаступљенија обољења усне дупље од које болује око 90% светске популације. Стандардни терапијски третмани доводе до привременог смањења бактерија и бактеријског оштећења, и врло често ове врсте терапија нису довољне за контролу пародонталне болести. Због свега тога је потребно применити додатне стратегије и методе у терапији исте. Примена корисних бактерија, пробиотика, са антимикуробним и антиинфламацијским својствима и дејством је један од нових приступа у терапији, контроли и превенцији пародонталне болести.

Пробиотици су живи микроорганизми који дати у довољним количинама могу имати позитиван ефекат на здравље домаћина. Пробиотици утичу на производњу млечне киселине која има антибактеријско дејство, водоник пероксида са антисептичким дејством, као и антивирусних и антигљивичних средства која сузбијају патогене. Имуномодулаторно дејство пробиотских бактерија варира у зависности од тога ком соју и врсти припадају као и од саме врсте препарата. Студије које су се бавиле проучавањем утицаја пробиотика на пародонтална ткива, указују на значајно смањење гингивалног плака, плак индекса, крварења при сондирању и гингивалне инфламације у пробиотичким групама. Студије на животињама показале су утицај пробиотика на стање оралног микробиома и ограничен

утицај на параметре пародоната као и већ познат утицај на цревну микробиоту али због релативно мало расположивих података неопходне су додатне судије како би се разумео механизам њиховог дејства на пародонталну болест. *Lactobacillus rhamnosus* је грам позитивни факултативни анаероб, пробиотик, који не ферментира сахарозу и лактозу. С обзиром на антимикуробна, антиинфламацијска и некариогена својства, *Lactobacillus Rhamnosus* би могао понудити смањење ризика, економски прихватљив начин у превенцији и лечењу пародонталне болести као и одличну опцију за постизање и одржавање пародонтолошког здравља.

Са друге стране, осим потврђеног фактора ризика за развој кардиовакуларних болести сматра се да хиперхомоцистеинемиа утиче на коштану ресорпцију повећањем активности остеокласта и смањењем активности остеобласта али такође и смањењем протока крви кроз кост. Повећана коштана ресорпција може бити стимулирана хиперхомоцистеинемиаом што се објашњава чињеницом да хиперхомоцистеинемиа стимулише синтезу цитокина TNF α , IL-1 β , IL-6 и IL-8 који у пародонтопатији доводе до инфламацијске каскаде која утиче на метаболизам метионина и хомеостазу хомоцистеина. IL-6, из инфламацијских пародонталних цела, повећава диференцијацију и развој остеокласта и интерагује са витамином B6 и стога може компромитовати активност цистатионин- β -синтазе. Ове чињенице указују да хиперхомоцистеинемиа може утицати на ресорпцију кости и ток пародонтопатије. Из свега горе поменутог можемо закључити како је врло вероватно да хиперхомоцистеинемиа узрокује промене у пародонту а чини се да улога унетих нутриената има највећи утицај на хомеостазу хомоцистеина а самим тим и на цревну и оралну микробиоту што у крајњем поспешује настанак пародонтне болести.

Циљ ове студије био је да се испитају ефекти *Lactobacillus Rhamnosus* код здравих, мишева са пародонтопатијом, мишева са урођеним недостатком цистатионин β -синтазе (хиперхомоцистеинемичних мишева) и мишева са дисбиозом, као и утицај урођеног недостатка цистатионин β -синтазе и дисбиозе на настанак пародонтопатије.

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани схемама, сликама и графиконима. *Lactobacillus Rhamnosus* примњен код наведених група мишева показао је антимикуробне и антиинфламацијске ефекте, побољшао опоравак пародонталног ткива и допринео очувању здравог. *Lactobacillus Rhamnosus* је побољшао

стање микробиоте код свих екперименталних група а тиме утицао и на побољшање стања потпорног апарата зуба и показао превентивно дејство у настанку исте. Такође, резултати су показали да дисбиоза и хиперхомоцистеинемија, потпомажу настанку пародонтопатије док хиперхомоцистеинемија, као индивидуални поремећај, индукује дисбиозу.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „Medline“ и „KoBSON“, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*Lactobacillus rhamnosus*“, „periodontitis“, „HHCy“, „dysbiosis“, „probiotics“, „microbiota“ и „MMP“, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, комисија констатује да докторска дисертација кандидата Драгане Станишић под називом „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемијом: улога дисбиозе“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Др Драгана Станишић, рођена је 10. септембра 1992. године у Урошевцу, Република Србија. Основну школу „Нада Поповић“ и средњу „Медицинску школу“ завршила је у Крушевцу. Школске 2011/2012. године уписала је Интегрисане академске студије стоматологије на Медицинском факултету, Универзитета у Нишу који је завршила 31. марта 2017. године са просечном оценом 9,05. Докторске академске студије уписала је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу школске 2017/2018. године, изборно подручје Истраживања у стоматологији. Специјалистичке студије из области стоматологије, Пародонтологија и орална медицина, уписала је 2018. године на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу и друга је година.

Од 2017. године је запошљена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, као клинички асистент за ужу научну област Пародонтологија и орална медицина, а од 2019. године као истраживач приправник за ужу научну област Пародонтологија и орална медицина.

Од октобра 2019. године до 31. децембра 2020. године, била је на усавршавању у Сједињеним Америчким Државама, на Универзитету у Лујвилу, држава Кентаки, као гостујући докторант стипендиста (*Visiting Ph.D. Scholar*), где је обављала истраживање на тему „*Investigate potential roles of MMPs & their regulators toward tissue/organ matrix remodeling*“, као и на тему њене докторске дисертације. Такође, током боравка у USA била је учесник пројекта „*Reversing Skeletal Muscle Myopathy by Hydrogen Sulfide*“ (NIN grant No. GB180634). Током 15 месеци боравка била је укључена у више научно-истраживачких студија у области физиологије и стоматологије, кроз које је научила бројне савремене научно-истраживачке технике рада. Учествује на Јуниор пројекту „Испитивање повезаности промена у усној дупљи и квалитета живота болесника са примарним Сјегреновим синдромом лечених у болници“ финансираног од стране Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

Аутор је више оригиналних научних радова, међу којима су и два рада чији су резултати уврштени у садржај докторске дисертације.

У истраживању под називом „*High Fat Diet Dysbiotic Mechanism of Decreased Gingival Blood Flow*“ циљ је био проценити утицај дисбиозе на настанак пародонтопатије код мишева, као и ефекат пробиотика *Lactobacillus rhamnosus GG* на терапију исте. Главни закључак студије је дисбиоза повећава молекуларно ремоделовање утицајем на про-инфламаторне цитокине (TNF- α , IL-1 β , и IL-6), металопротеиназе (MMP-2 и MMP-9) и маркере од важности у метаболизму костију (OPG и RANKL) али и да доводи до функционалних поремећаја последичним утицајем на смањење гингивалног протока крви. Све ове промене узроковале су ресорпцију алвеоларне кости и узроковале настанак пародонталне болести. Третман пробиотицима *Lactobacillus rhamnosus GG* деовоао је превентивно и терапијски и ублажио је ове ефекте. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M21** (*Front Physiol.* 2021;12:625780).

Део резултата докторске дисертације представљен је и у истраживању под називом „*Hyperhomocysteinemia: an instigating factor for periodontal disease*“. Циљ овог истраживања је био да се утврди утицај хиперхомоцистеинемије на настанак пародонтопатије. Резултати овог истраживања први пут показују директну везу између пародонталне болести током недостатка цистатионин β -синтазе, сугеришући тако постојање покретача болести током хиперхомоцистеинемијског стања. Резултати нуде могућности за развој дијагностике и

терапије код људи који пате од хроничних метаболичких поремећаја попут хиперхомоцистеинемije. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M23** (Can J Physiol Pharmacol. 2021;99(1):9-17).

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

1. **Stanisic D**, Jeremic N, Majumder S, Pushpakumar S, George A, Singh M, Tyagi SC. High Fat Diet Dysbiotic Mechanism of Decreased Gingival Blood Flow. Front Physiol. 2021;12:625780. **M21**
2. **Stanisic D**, George AK, Smolenkova I, Singh M, Tyagi SC. Hyperhomocysteinemia: an instigating factor for periodontal disease. Can J Physiol Pharmacol. 2021;99(1):115-123. **M23**
3. **Stanisic D**, Jovanovic M, George AK, Homme RP, Tyagi N, Singh M, Tyagi SC. Gut microbiota and the periodontal disease: role of hyperhomocysteinemia. Can J Physiol Pharmacol. 2021;99(1):9-17. **M23**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Спроведено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација Драгане Станишић садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви студије, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци Скраћенице и Литература. Написана је на 101 страни и има 3 схеме; 5 слика; 10 фигура; 4 графика. Поглавље Литература садржи 252 цитираних библиографских јединица из иностраних стручних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на свеобухватан, јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложио актуелна сазнања о механизмима дејства пробиотика, индикацијама и контраиндикацијама како у оралном здрављу тако и у терапији пародонтопатије. Такође, објашњене су и потенцијални механизми дејства хомоцистеина и хиперхомоцистеинемije на настанак пародонтопатије и њихова улога у ремоделовању костију. Поред тога, објашњене су и презентоване особине

оралног и цревног микробиома као и на који начин њихове промене утиче на потпорни апарат зуба. Презентоване су етиолошки фактори, патогенеза и терапија пародонтопатије.

Циљеви истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Кандидат је у свом раду намеравао да испита ефекте пробиотика (*Lactobacillus rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемijом на молекуларном и функционалном нивоу, као и утицај дисбиозе у настанку исте.

Материјал и методологија рада су детаљно и прецизно формулисани и подударају се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је дизајнирано као експериментална студија на анималном моделу *in vivo*.

Истраживање је обухватитло 36 мишева дивљег типа *WT* (C57BL/6J) и 12 *knock-out CBS^{+/-}* (B6.129P2-Cbstm1Unc/J 002853) мишева, хетерозигота, мушког пола просечне телесне тежине 20 грама, подељених у осам група. Прва група мишева били су контролна *WT* (*WT* група). Друга група мишева, били су *WT* мишеви третирани пробиотиком (*Lactobacillus rhamnosus*) перорално у дози од 2.5×10^5 CFU дневно, у периоду од 12 недеља (*WT+LGG* група). Трећа група, мишеви *WT* којима је била индукована пародонтопатија *LPS* (*PD* група). Четврту групу чинили су мишеви *WT* којима је била индукована пародонтопатија *LPS* и који су били третирани пробиотиком (*Lactobacillus rhamnosus*) перорално у дози од 2.5×10^5 CFU дневно, у периоду од 12 недеља (*PD+LGG* група). Пета група, мишеви *CBS^{+/-}* (*CBS^{+/-}* група). Шеста група, мишеви *CBS^{+/-}* који су били третирани пробиотиком (*Lactobacillus rhamnosus*) перорално у дози од 2.5×10^5 CFU дневно, у периоду од 12 недеља (*CBS^{+/-} +LGG* група). Седму групу чинили су мишеви *WT* који су били храњени специјалном храном богатом мастима у периоду од 12 недеља (*HFD* група) и осму групу мишева чинили су мишеви *WT* који су били храњени специјалном храном богатом мастима и који су били третирани пробиотком (*Lactobacillus rhamnosus*) перорално у дози од 2.5×10^5 CFU дневно, у периоду од 12 недеља (*HFD+LGG* група). У свакој од поменутих група, по 6 животиња је укључено у студију.

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани схемама, сликама и графиконима. Показано је да хиперхомоцистеинемija и дисбиоза изазивају значајне промене у пародонту, које су праћене променама на молекуларном и функционалном нивоу при чему су поспешиле и узроковале настанак пародонтопатије. Такође, на основу хистоморфометријских, цитокинских и функционалних анализа

пародонталног ткива потврђено је присуство пародонтопатије код мишева са хиперхомоцистеинемijом и мишева храњених масном храном. *Lactobacillus Rhamnosus* третман показао је профилактички и терапијски ефекат на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемijом и мишева храњених масном храном очувањем физиолошких и смањењу патолошких експерсија цитокина и матриксних металопроотеиназа од значаја, у пародонталном ткиву мишева. Такође, утицао је на функционалне параметре пародонталног ткива, попут гингивалног протока крви и хистоморфометријских параметара.

У поглављу Дискусија детаљно су објашњени резултати истраживања, тако што је таксативно, у складу редоследом добијених резултата, објашњен утицај примењених третмана на функционално ремоделовање објашњењем утицаја на гингивални проток крви, патохистолошко и радиографско стање пародонталног ткива. Затим, објашњен је утицај примњених третмана и на матриксно и молекуларно ремоделовање пародонталног ткива кроз утицај на експресију серумских цитокина протеина и гена пародонтоалног ткива као и утицај на стање микробиоте, вредности хомоцистеина, липополисахарид везујућег протеина и тежину мишева. Такође, детаљно је анализиран и претпостављени превентивни али и терапијски механизам пробиотика *Lactobacillus rhamnosus* у пародонтопатији.

На основу претходно изнетих чињеница, комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Драгане Станишић под називом „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus Rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемijом: улога дисбиозе“, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Резултати овог истраживања су омогућили теоријске и експерименталне доказе о дисбиотичком и хиперхомоцистеинемичком механизму, смањењу гингивалног протока крви и њиховом утицају на развој пародонталне болести као и доказе о успешности терапије пробиотиком *Lactobacillus Rhamnosus*. *Lactobacillus Rhamnosus* показао је антимикробне и антиинфламацијске ефекте, побољшао опоравак пародонталног ткива и допринео очувању здравог. *Lactobacillus Rhamnosus* је побољшао стање микробиоте а тиме утицао и на побољшање пародонталне болести и показао превентивно дејство у настанку исте. Такође, резултати су ове студије указују на значај дисбиозе и хиперхомоцистеинемичке, настанку пародонтопатије док хиперхомоцистеинемичка, као индивидуални поремећај, индукује дисбиозу.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Резултати ове студије могу користити у превенцији и терапији пародонтопатије у стоматолошкој пракси као и помоћи у савременим дијагностичким методама код особа оболелих од хиперхомоцистеинемичке и дисбиозе, што укључује оболеле претежно од кардиоваскуларних болести.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на SCI листи (категирија M21 и M23) као и у националном часопису категорије M51:

1. **Stanisic D**, Jeremic N, Majumder S, Pushpakumar S, George A, Singh M, Tyagi SC. High Fat Diet Dysbiotic Mechanism of Decreased Gingival Blood Flow. *Front Physiol.* 2021;12:625780. DOI: 10.3389/fphys.2021.625780 **M21**
2. **Stanisic D**, George AK, Smolenkova I, Singh M, Tyagi SC. Hyperhomocysteinemia: an instigating factor for periodontal disease. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021;99(1):115-123. DOI: 10.1139/cjpp-2020-0224 **M23**
3. **Stanisic D**, Obradovic O, Vujovic S, Jovanovic M, Zivkovic V. Connection of periodontal disease and diabetes mellitus: the role of matrix metalloproteinases and oxidative stress. *Ser J Exp Clin.* 2019. DOI: 10.2478/sjecr-2019-0051 **M51**

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Драгане Станишић под називом „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus Rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемиијом: улога дисбиозе” сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Драгане Станишић, под менторством доц. др Невене Јеремић и проф. др Suresh Tyagi-а, представља оригинални научни допринос у испитивању ефекта пробиотика *Lactobacillus Rhamnosus* у терапији пародонтопатије, као и утицај хомоцистеина и дисбиозе, на настанак исте.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus Rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемиијом: улога дисбиозе“, кандидата Драгане Станишић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

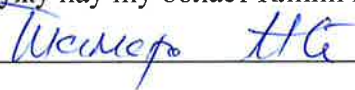
Проф. др Радмила Обрадовић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Орална медицина и парадонтологија, председник



Проф. др Владимир Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан



Доц. др Тамара Николић Турнић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Клиничка фармација, члан



У Крагујевцу, 2021. године