

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ  
ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ**

и

**ВЕЋУ ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ  
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 15.12.2023. године (број одлуке: IV-03-967/30) одређени смо за чланове Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом: „Утицај сојних разлика **Dark Agouti** и **Albino Oxford** пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе”, кандидата **Мирјане Папић**, студента докторских академских студија Факултета медицинских наука, за коју је именован ментор **Марина Милетић Ковачевић**, доцент.

На основу података којима располажемо достављамо следећи:

**ИЗВЕШТАЈ  
О ОЦЕНИ УРАЂЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

<b>1. Подаци о докторској дисертацији</b>
1.1.Наслов докторске дисертације:
Утицај сојних разлика <b>Dark Agouti</b> и <b>Albino Oxford</b> пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе
1.2.Опис докторске дисертације (навести кратак садржај са назнаком броја страница, поглавља, слика, шема, графикона, једначина и референци) (до 500 карактера):
Приложена докторска дисертација нам пружа увид у резултате упоредног прегледа имуноског одговора на индуковану оралну кандидијазу у три различита анимална модела на два соја пацова. Наслов докторске дисертације, постављени циљеви и примењена методологија у сагласности су са пријавом теме докторске дисертације. Спроведено истраживање одговара дизајну студије наведеном у пријави тезе. Докторска дисертација садржи 7 поглавља: Увод, Циљ студије, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључак и Литература. Написана је на 122 странице. Садржи 5 фигура, 6 слика, 32 графика и 36 табела. У поглављу Литература цитирано је 229 иностраних и домаћих библиографских јединица.
1.3.Опис предмета истраживања (до 500 карактера):
Предмет овог истраживања био је испитивање сојних разлика између <b>Dark Agouti</b> и <b>Albino Oxford</b> пацова у различитим анималним моделима оралне кандидијазе. Познато је да генске варијације имају утицај на подложност гљивичним инфекцијама и модулацију имуноског одговора. С обзиром да су <b>Dark Agouti (DA)</b> и <b>Albino Oxford (AO)</b> пацови инbredни сојеви са јасно детерминисаним генским профилима и разликама у осетљивости на бројне инфламаторне

стимулусе и експерименталну индукцију болести, представљају адекватне моделе за истраживање спроведено у оквиру ове докторске дисертације.

#### 1.4.Анализа испуњености полазних хипотеза:

Основна хипотеза овог истраживања била је да постоји разлика у карактеристикама обољења и у типу имунског одговора на оралну кандидијазу између Dark Agouti (DA) и Albino Oxford (AO) сојева пацова.

Уочене разлике могу бити последица:

1. Различитих степена колонизације епитела *C. albicans* у оралној слuzници DA и AO пацова као одговор на оралну кандидијазу.

Резултати приложене докторске дисертације су показали да постоји разлика у вредностима степена колонизације ткива *C. albicans* између DA и AO соја пацова у различитим експерименталним моделима оралне кандидијазе. Индукција оралне кандидијазе у имунокомпетентним DA пацовима резултује мањим вредностима колонизације различитим морфолошким облицима *C. albicans* у односу на AO сој.

2. Различитих степена оштећења епитела у оралној слuzници DA и AO пацова као одговор на оралну кандидијазу.

Анализом парафинских исечака ткива језика обојених рутинском Н/Е методом детектована је разлика у вредностима степена оштећења ткива између DA и AO соја пацова у различитим експерименталним моделима оралне кандидијазе. Забележен је значајно мањи степен оштећења ткива у имунокомпетентним и имунокомпромитованим DA пацовима у односу на пацове AO соја.

3. Величине и састава инфламаторног инфилтрата у оралној слuzници DA и AO пацова као одговор на оралну кандидијазу.

Додатном хистолошком анализом уочена је и разлика у величини инфламаторног инфилтрата између пацова DA и AO соја у различитим експерименталним моделима оралне кандидијазе. Индукција оралне кандидијазе у имунокомпетентним и имунокомпромитованим DA пацовима резултује мањом величином инфламаторног инфилтрата у односу на AO сој. Додатно, имунохистохемијском анализом забележена је разлика у фенотипским карактеристикама имунских ћелија инфламаторних инфилтрата између DA и AO соја пацова у различитим експерименталним моделима оралне кандидијазе. Мањи број макрофага и лимфоцита, а већи број гранулоцита уочен је у DA соју у односу на AO сој пацова у имунокомпетентним и имунокомпромитованим стањима.

4. Разлике у експресији релевантних цитокина (IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TGF- $\beta$ ) код DA и AO пацова у моделима оралне кандидијазе.

Резултати испитивања ткивне експресије гена за цитокине између DA и AO соја пацова показују значајну разлику у различитим експерименталним моделима оралне кандидијазе. Индукција оралне кандидијазе у имунокомпетентним DA пацовима резултује већом заступљеношћу Th1/Th17 одговора у односу на AO сој што је потврђено анализом експресије гена повезаних са Th1 и Th17 имунским одговором.

5. Разлике у концентрацији цитокина IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-10 у серуму DA и AO пацова у моделима оралне кандидијазе.

Анализом серумских концентрација цитокина показана је разлика између експерименталних животиња у различитим анималним моделима оралне кандидијазе. У складу са резултатима qRT-PCR анализе показана је већа заступљеност цитокина повезаних са Th1/Th17 имунским одговором у имунокомпетентним DA пацовима у односу на AO сој.

6. Различитих концентрација параметара оксидативног стреса у системској циркулацији DA и AO пацова у моделима оралне кандидијазе.

Резултати анализе системских маркера оксидативног стреса, који су добијени у овој докторској дисертацији, показују разлику између DA и AO соја пацова у различитим експерименталним моделима оралне кандидијазе. Индукција оралне кандидијазе у имунокомпетентним и имунокомпромитованим DA пацовима резултује мањим вредностима прооксидативних маркера, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> и TBARS, у односу на AO сој.

#### 1.5. Анализа примењених метода истраживања:

Спроведена методологија приложене докторске дисертације је одговарајућа и у складу са постављеним циљевима и хипотезама. Експериментална студија је одобрена од стране Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња, факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (бр протокола: 01-7677, одобрење бр: 01-7993). Истраживање је обухватило по 35 пацова Dark Agouti и Albino Oxford соја, мушког пола, старости 6-8 недеља. Експерименталне животиње су добијене из одгајалишта за пацове Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ у Београду. Све животиње су одгајане под стандардним условима у виваријуму Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, уз приступ води и храни *ad libitum* и чуване према прописаним узгојним условима (температура 25°C, циклус светлост:тама 12:12 часова). Животиње су према соју и експерименталном моделу подељене у 6 експерименталних (DA+C. *albicans*, DA+Tet+C. *Albicans*, DA+Dex+Tet+C. *Albicans*, AO+C. *Albicans*, AO+Tet+C. *Albicans*, AO+Dex+Tet+C. *albicans*) и 2 контролне групе (DA/Control и AO/Control). У циљу добијања узорака *C. albicans* узимани су брисеви непца пацијената оболелих од протезног стоматитиса. Брисеви су засејавани на подлоге које инхибирају раст бактерија и подстичу раст врста *Candida* (*Sabouraud Dextrose Agar*; *Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA*). Након засејавања плоче су инкубиране на температури од 37°C током 24-48 сати а микроскопским испитивањем је потврђено присуство *C. Albicans*. Орална кандидијаза индукована је употребом три различита експериментална модела (орална инокулација *C. Albicans*; предтретман антибиотиком и орална инокулација *C. Albicans*; изазивање имуносупресије, предтретман антибиотиком и орална инокулација *C. albicans*). Експерименталне животиње које су биле подвргнуте имуносупресији третиране су дексаметазоном свакодневно кроз воду за пиће у концентрацији од 0,5mg/l, почевши од 1. дана до краја експерименталног периода. Такође, групе које су биле подвргнуте антибиотицима су првих седам дана примале водени раствор 0,1% тетрациклин хидрохлорида, а од осмог дана до краја експеримента, концентрације су смањене на 0,01% тетрациклин хидрохлорида. Остале животиње добијале су само чисту воду за пиће. Инокулација *C. albicans* је урађена 8. дана. Пре инокулације, животиње у свим експерименталним групама анестезиране су интраперитонеалном инјекцијом кетамин хидрохлоридом (100mg/kg) и ксилазином (10mg/kg) и стављене на плочу за отварање вилица. Орална инокулација *C. albicans* је извршена помоћу натопљеног памучног штапића у количини од 0,1ml раствора који садржи 5×10<sup>8</sup> ћелија *C. albicans*. Овај поступак је поновљен још два пута у интервалима од 48 сати (10. и 12. дана). После три дана (дан 15), присуство *C. albicans* потврђено је брисом оралне слузнице. Жртвовање животиња и прикупљање узорака крви и ткива језика за хистолошку (H/E и PAS бојење), имунохистохемијску (CD3, CD45, CD68 и HIS48), qRT-PCR, ELISA и спектрофотометријску анализу је извршено 16 дана експеримента. Након изолације, половина узорка ткива језика је фиксирана у 4% формалину, а затим укалупљена у парафин (енг. *formalin-fixed and paraffin-embedded*, FFPE) како би се извршила хистопатолошка анализа тежине оралне кандидијазе и имунохистохемијска анализа. После калупљења, ротирајућим микротомом су сечени узорци на пресеке димензије 5µm. Детекција квасаца и хифа извршена је бојењем периодичном киселином по Шифу (енг. *periodic acid Schiff*, PAS). За квантификацију епителне колонизације *C. albicans* коришћен је скор од 0 до 4 који показује различиту заступљеност квасаца и хифа у ткиву језика пацова (0-непостојање колонизације; 1-присутно 1-5 квасаца/хифа; 2-присутно 6-15 квасаца/хифа; 3-присутно 16-50 квасаца/хифа; 4-присутно преко 50 квасаца/хифа). Парафински пресеци ткива су затим обојени хематоксилином и еозином како би се одредили степен оштећења епитела и интезитет инфламаторне инфилтрације. Анализа степена оштећења епитела језика обухватала је детекцију следећих промена: хиперкератоза, присуство интраепителних микроапсеса, егзоцитоза, губитак или одсуство филиформних папила, хиперплазија епитела, спонгиоза, као и присуство дезорганизованог базалног слоја. Свака од

наведених промена је оцењена оценом 0 (одсуство лезије), 1 (дискретна лезија) или 2 (наглашена лезија). Просечна оцена је добијена сабирањем резултата добијених за сваку присутну промену на епителу из три непреклапајућа видна поља сваког узорка. За процену степена запаљенске инфилтрације коришћен је следећи скор: 0-одсуство инфламаторних ћелија; 1-дискретна инфламаторна инфилтрација; 2-интензивна инфламаторна инфилтрација. У циљу испитивања фенотипских карактеристика инфламаторног инфилтрата спроведено је имунохистохемијско бојење. Ткивни исечци су инкубирани са биотинисаним *anti-rat* CD3 (*ab16669*; *Abcam, Cambridge, UK*), CD45 (*FNab01484*; *Wuhan Fine Biotech Co, Ltd*), CD68 (*MS 397-PO*; *Thermo Fisher Scientific*) и HIS48 (*ab33760*; *Abcam*) антителом, док је визуелизација извршена уз помоћ Rabbit Specific HRP/DAB Detection IHC Kit-a (*Abcam*). Дистрибуција инфламаторних ћелија је спроведена микроскопирањем ткивних исечка употребом светлосног микроскопа (*DM4000B*; *Leica Microsystems*) са припадајућом дигиталном камером (*DMC295*; *Leica Microsystems*). Позитивно обојене ћелије су избројане на 10 различитих непреклапајућих видних поља. У циљу квантификације генске експресије за цитокине од интереса (IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, IL-10, IL-17, TGF- $\beta$ 1 и  $\beta$ -actin) спроведена је метода квантитативне ланчане реакције полимеразе у реалном времену (енг. *quantitative real time - polymerase chain reaction*, qRT-PCR) из језика пацова. Узорци ткива су механички хомогенизовани у хомогенизатору са перлама различитих величина (*Precellys*; *Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France*) уз примену TRIzol Reagent (*Thermo Fisher Scientific*) у количини од 1ml. Након инкубације у трајању од 5 минута, на собној температури, додат је хлороформ (*Serva, Heidelberg, Germany*) у количини од 0,2ml. Узорци ткива су затим центрифугирани 15 минута на 15000rpm при чему су издвојене три фазе: органска фаза (која садржи RNA), интер-фаза (која садржи протеине) и водена фаза (садржи остале компоненте). Добијена RNA је ресуспендована у 20 $\mu$ l воде без нуклеаза (*Sigma-Aldrich*) и инкубирана у воденом купатилу 15 минута на температури од +55-60 $^{\circ}$ C. Уз помоћ Multiskan SkyHigh UV/VIS спектрофотометра (*Thermo Fisher Scientific*) измерена је концентрација RNA. Синтеза комплементарне DNA (енг. *complementary DNA*, cDNA) је извршена применом RevertAid and First Strand cDNA Synthesis китова (*Thermo Fisher Scientific*), из 1,5 $\mu$ g укупне RNA уз примену oligo(dT) прајмера, у складу са упутствима произвођача. За qRT-PCR анализу коришћено је 10 $\mu$ l SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (*Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA*) са додатком одговарајућих прајмера у концентрацији од 500nM (*Integrated DNA Technologies, Coralville, USA*), 100ng cDNA и воде која не садржи нуклеазу (*Sigma-Aldrich*) до укупне запремине од 20 $\mu$ l, пратећи препоруке произвођача. Нормализација је обављена коришћењем  $\beta$ -actin као housekeeping гена, а експерименти су изведени на Gentier 96E qRT-PCR уређају (*Xi'an Tianlong, Xi'an City, China*). У наставку истраживања испитиване су серумске концентрације цитокина (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, и IL-10) применом комерцијалних китова за ензимски повезани имуносорбентни тест (енг. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) специфично намењених за детекцију цитокина пацова (RnD Systems, Minneapolis, USA). Анализа је извршена на Microplate reader уређају (*Biochrom Anthos Zenyth 340r*; *Biochrom, Cambridge, UK*) користећи ADAP Plus софтвер (*Biochrom*), са поставкама да чита на величини апсорпције од 450nm. Узорци крви, који су прикупљани након жртвовања, припремани су у облику плазме и лизата у циљу одређивања концентрације антиоксидативних и прооксидативних маркера. Нивои индекса липидне пероксидације (енг. *thiobarbituric acid reactive substances*, TBARS), водоник пероксида (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), супероксид анјон радикала (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), и нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) су мерени у плазми, док су нивои супероксид дисмутазе (SOD), редукованог глутатиона (GSH) као и каталазе (CAT) изведени из лизата еритроцита. Одређивање концентрације прооксидативних и антиоксидативних параметара извршена је помоћу спектрофотометра на одговарајућим таласним дужинама (*UV 1800*; *Shimadzu, Kyoto, Japan*).

#### 1.6. Анализа испуњености циља истраживања:

Према пријави докторске дисертације дефинисани циљ овог истраживања био је испитивање сојних разлика између два инбредна соја пацова, у индукцији, прогресији и типу имунског одговора на оралну кандидијазу изазвану различитим експерименталним моделима.

У складу са основним циљем истраживања дефинисани су следећи експериментални задаци:

1. Дефинисати и квантификовати степен колонизације епитела *C. albicans* у оралној слузници селективним хистолошким бојењима код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе

2. Дефинисати и квантификовати степен оштећења епитела код DA и АО пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
  3. Дефинисати и квантификовати инфламаторне промене у оралној слuzници хистолошким бојењима код DA и АО пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
  4. Испитати фенотипске карактеристике ћелија које посредују у инфламацији оралне слuzнице имунохистохемијским бојењима код DA и АО пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
  5. Испитати експресију гена за цитокине који посредују у процесу инфламације: IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, IL-10, IL-17, TGF- $\beta$ 1 код DA и АО пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
  6. Испитати концентрације цитокина TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, и IL-10 у серуму DA и АО пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
  7. Утврдити концентрацију параметара оксидационог стреса (индекса липидне пероксидације (TBARS), азот монооксида NO- (у облику нитрита), супероксид анион радикала (O $_2$ -), водоник пероксида (H $_2$ O $_2$ ), каталазе (CAT), супероксид-дизмутазе (SOD) и редукованог глутатиона (GSH)) код DA и АО пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
- Добијени резултати овог истраживања потврдили су постављени циљ, с обзиром да су наведене разлике између два соја пацова потврђене.

1.7. Анализа добијених резултата истраживања и списак објављених научних радова кандидата из докторске дисертације (аутори, наслов рада, волумен, година објављивања, странице од-до, DOI број<sup>1</sup>, категорија):

Резултати истраживања су систематично и јасно приказани.

Применом PAS хистохемијске методе бојења, која представља метод избора за диференцијацију *C. albicans* детектовано је присуство квасца, као и хифа у оба соја пацова (DA и АО), без обзира на начин индукције оралне кандидијазе. Резултати квантификационе анализе епителне колонизације *C. albicans* су показали статистички значајно ниже средње вредности скорa епителне колонизације у DA+C. *albicans* у поређењу са АО+C. *albicans* групом. Између група са методом индукције оралне кандидијазе применом предтретмана антибиотиком и оралном инокулацијом *C. albicans* (DA+Tet+C. *albicans* насупрот АО+Tet+C. *albicans*), као и између група са методом индукције оралне кандидијазе изазивањем имуносупресије, применом предтретмана антибиотиком и оралном инокулацијом *C. albicans* (DA+Dex+Tet+C. *albicans* насупрот АО+Dex+Tet+C. *albicans*) није уочена статистички значајна разлика.

Анализом рутински обојених хистолошких препарата Н/Е методом детектовани су патохистолошки знаци оштећења епитела у оба соја пацова, као и у свим експерименталним моделима (DA+C. *albicans*, АО+C. *albicans*, DA+Tet+C. *albicans*, АО+Tet+C. *albicans*, DA+Dex+Tet+C. *albicans* и АО+Dex+Tet+C. *albicans* групе). Квантификационом анализом оштећења епитела између DA и АО пацова са методом индукције оралне кандидијазе оралном инокулацијом *C. Albicans* забележене су статистички значајно ниже вредности у DA+C. *albicans* у поређењу са АО+C. *albicans* групом. Такође, показане су значајно ниже вредности скорa оштећења епитела код DA пацова у поређењу са АО пацовима и у преостале две експерименталне групе.

Додатно је испитивана разлика у величини инфламаторног инфилтратa између DA и АО пацова. Резултати су показали статистички значајно ниже вредности скорa интензитета инфламаторне инфилтрације у DA+C. *albicans* групи у поређењу са АО+C. *albicans* групом, као и у групи DA+Dex+Tet+C. *albicans* у односу на АО+Dex+Tet+C. *albicans* групу. Међутим, није забележена значајна разлика међу групама у којима је орална кандидијаза изазвана применом предтретмана антибиотиком и оралном инокулацијом *C. albicans* (DA+Tet+C. *albicans* и АО+Tet+C. *albicans*).

Имунохистохемијском анализом инфламаторног инфилтратa испитивано је присуство CD45-, CD3-, CD68-имунореактивних ћелија, као и HIS48 позитивних ћелија. Резултати анализе броја ћелија позитивних на CD45 и CD3 маркер показали су значајно мањи број CD45 и CD3

<sup>1</sup> Уколико публикација нема DOI број уписати ISSN и ISBN

позитивних ћелија у DA+Tet+C. *albicans* у поређењу са AO+Tet+C. *albicans* групом, као и у DA+Dex+Tet+C. *albicans* у поређењу са AO+Dex+Tet+C. *albicans* групом. Испитивањем броја CD68-имунореактивних ћелија забележен је значајно мањи број позитивних ћелија у DA соју у односу на AO сој без обзира на експериментални модел индукције оралне кандидијазе (DA+C. *albicans* у поређењу са AO+C. *albicans*, DA+Tet+C. *albicans* у поређењу са AO+Tet+C. *albicans* и DA+Dex+Tet+C. *albicans* у поређењу са AO+Dex+Tet+C. *albicans* групом). У наставку истраживања испитивано је и присуство гранулоцита у инфламаторним инфилтратима ткива језика, имунохистохемијским бојењем HIS48 маркера. Детаљном анализом је детектован значајно већи број ћелија позитивних на HIS48 маркер у DA соју у односу на AO сој без обзира на модел индукције оралне кандидијазе (DA+C. *albicans* у поређењу са AO+C. *albicans*, DA+Tet+C. *albicans* у поређењу са AO+Tet+C. *albicans* и DA+Dex+Tet+C. *albicans* у поређењу са AO+Dex+Tet+C. *albicans* групом).

Експресија гена одређивана qRT-PCR методом је показала да су експресије IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 1 и IL-10 биле мање у AO соју, док је експресија IL-17 и IL-4 варијала између два соја пацова у зависности од експерименталног модела оралне кандидијазе. Забележена је значајно већа релативна експресија гена за IL-1 $\beta$  код DA пацова између DA+C. *albicans* групе у односу на AO+C. *albicans* групу, као и између DA+Tet+C. *albicans* групе у односу на AO+Tet+C. *albicans* групу. Такође, релативна експресија гена за TNF- $\alpha$  била је значајно већа у DA+C. *albicans* групи у односу на AO+C. *albicans* групу и у DA+Dex+Tet+C. *albicans* групи у односу на AO+Dex+Tet+C. *albicans* групу. Анализа релативне експресије IFN- $\gamma$  показала је значајно већу експресију код DA пацова у свим експерименталним моделима у односу на AO пацове. Резултати испитивања експресије гена повезаних са Th2 имунским одговором су показали значајно већу експресија гена за IL-4 у DA+Tet+C. *albicans* у односу на AO+Tet+C. *albicans* као и у DA+Dex+Tet+C. *albicans* у односу на AO+Dex+Tet+C. *albicans* групу. Значајно већа експресија гена за IL-10 забележена је код DA пацова у свим експерименталним моделима у односу на AO пацове. Анализом генске експресије цитокина Th17 имунског одговора детектована је значајно већа релативна експресија IL-17 код DA пацова поређењем DA+C. *albicans* и AO+C. *albicans* експерименталне групе. Међутим, релативна експресија гена за TGF- $\beta$ 1 била је статистички значајно већа у свим групама DA пацова у поређењу са одговарајућом групом AO пацова.

У наставку истраживања испитиван је цитокински профил DA и AO пацова у одговору на оралну инфекцију *C. Albicans* анализом серумских концентрација цитокина IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-10 применом ELISA теста. Значајно веће серумске концентрације IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-10 забележене су у групи DA+C. *albicans* у поређењу са AO+C. *albicans* групом. Такође, детектовани су и значајно виши нивои TNF- $\alpha$  и IL-6 у контролној групи DA пацова у поређењу са AO пацовима.

Спектрофотометријска анализа параметара оксидативног стреса у системској циркулацији показала је виши ниво прооксидативних параметара код AO пацова, док се нивои антиоксидативних параметара разликују међу сојевима у зависности од експерименталног модела оралне кандидијазе. Вредности параметра H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и TBARS су биле значајно ниже у свим групама DA пацова у поређењу са одговарајућом групом AO пацова (DA+C. *albicans* у односу на AO+C. *albicans* групу, DA+Tet+C. *albicans* у односу на AO+Tet+C. *albicans* групу, DA+Dex+Tet+C. *albicans* у односу на AO+Dex+Tet+C. *albicans* групу). Анализа вредности антиоксидативног параметра SOD показала је статистички значајно ниже вредности само у DA+Tet+C. *albicans* групи у односу на AO+Tet+C. *albicans* групу. Такође, забележене су значајно ниже вредности GSH параметра у DA+Tet+C. *albicans* групи у односу на AO+Tet+C. *albicans* групу, али и између DA+C. *albicans* и AO+C. *Albicans* групе.

Резултати приложене докторске дисертације публиковани су као оригинални научни рад у часопису категорије M22:

**Papic MV**, Ljujic B, Zivanovic S, Papic M, Vuletic M, Petrovic I, Gazdic Jankovic M, Virijevic K, Popovic M, Miletic Kovacevic M. Difference in immune responses to *Candida albicans* in two inbred

strains of male rats. Arch Oral Biol. 2023 Dec;156:105808. doi: 10.1016/j.archoralbio.2023.105808. Epub 2023 Sep 20. PMID: 37778290.

1.8. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области и анализа извештаја о провери докторске дисертације на плагијаризам (до 1000 карактера):

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података “Medline”, “KoBSON”, “PubMed” и “Google Scholar”, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*Albino Oxford rats*”, „*Dark Agouti rats*”, „*immune response*”, „*Candida albicans*”, „*oral candidiasis*” и „*strain differences*” нису пронађене студије сличног дизајна. Сходно томе, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Мирјане Папић под називом „Утицај сојних разлика *Dark Agouti* и *Albino Oxford* пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе” представља резултат оригиналног научног рада.

Приликом писања рада посебна пажња посвећена је навођењу литературних података и резултата других аутора поштујући академска правила цитирања. Извештај о подударности текста (софтверска анализа) показао је укупан степен сличности са постојећим литературним подацима 11%, при чему је највећа сличност (8%) са пријавом теме и извештајем о научној заснованости теме истог кандидата. Преостало преклапање односило се на стандардне протоколе примењене методологије, као и навођење библиографских података о коришћеној литератури. Извештај о провери на плагијаризам је тиме потврдио оригиналност докторске дисертације. Резултати изложени у докторској дисертацији су објављени у раду који је публикован у часопису категорије M22.

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

Резултати приложене докторске дисертације показали су да постоје разлике између *Dark Agouti* (DA) и *Albino Oxford* (АО) пацова у индукцији, прогресији и типу имунског одговора на оралну кандидијазу изазвану различитим експерименталним моделима.

Разлике у имунском одговору између DA и АО сојева пацова могу се приписати генетским варијацијама које утичу на експресију или функцију молекула повезаних са имунитетом. Орална инфекција *C. albicans* била је израженија код АО соја у поређењу са DA сојем, као последица присуства „робусног“ Th1/Th17 имунског одговора код DA пацова. Разумевање ових разлика, посебно код имунокомпромитованих појединаца подложних гљивичним инфекцијама, (као што су они који су подвргнути хемотерапији или трансплантацији органа и због тога захтевају алтеративне стратегије лечења), допринело би унапређењу терапијских приступа у лечењу оралне кандидијазе, што представља научни и потенцијални клинички допринос ове докторске дисертације.

У овом истраживању, по први пут су примењени експериментални модели на инбредним сојевима *Dark Agouti* и *Albino Oxford* пацова. Експерименталне студије које испитују разлике у имунском одговору на оралну кандидијазу измађу ова два соја пацова до сада нису биле заступљене у доступној научној литератури, у чему се такође огледа оригиналност и научни допринос приложене докторске дисертације.

1.10. Оцена испуњености услова за одбрану докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актом факултета и општим актом Универзитета (до 1000 карактера):

Приложена докторска дисертација кандидата др Мирјане Папић под називом: „Утицај сојних разлика *Dark Agouti* и *Albino Oxford* пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе”, по обиму и квалитету израде у складу је са пријављеном темом дисертације.



Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану ове докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актима Факултета медицинских наука и општим актима Универзитета у Крагујевцу.

## 2. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе докторске дисертације и приложене документације Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом „Утицај сојних разлика **Dark Agouti** и **Albino Oxford** пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе”, кандидата **Мирјане Папић**, предлаже надлежним стручним органима да се докторска дисертација прихвати и да се одобри њена одбрана.

### **Чланови комисије:**

  
Ирена Танасковић, редовни професор

Факултет медицинских наука Универзитета у  
Крагујевцу

Хистологија и ембриологија


### **Председник комисије**

  
Раша Младеновић, доцент

Факултет медицинских наука Универзитета у  
Крагујевцу

Превентивна и дечја стоматологија

### **Члан комисије**

  
Милица Гајић, ванредни професор

Стоматолошки факултет у Панчеву  
Универзитета Привредна академија у Новом  
Саду

Клиничка стоматологија

### **Члан комисије**