

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На VI редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду-Биолошког факултета, одржаној 11. 4. 2023. године, на основу молбе ментора, др Јелене Ђокић, вишег научног сарадника Универзитета у Београду-Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, и др Биљане Божић Недељковић, редовног професора Универзитета у Београду-Биолошког факултета, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Душана Д. Радојевића**, истраживача сарадника Универзитета у Београду-Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, под насловом **„Утицај састава микробиоте црева на имуномодулаторна својства и имунотерапијски потенцијал дендритских ћелија и супресорских ћелија мијелоидног порекла“**, у саставу:

1. др Сергеј Томић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду-Институт за примену нуклеарне енергије;
2. др Милица Маркелић, доцент, Универзитет у Београду-Биолошки факултет;
3. др Бранко Јовчић, редовни професор, Универзитет у Београду-Биолошки факултет.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Душана Д. Радојевића** под називом **„Утицај састава микробиоте црева на имуномодулаторна својства и имунотерапијски потенцијал дендритских ћелија и супресорских ћелија мијелоидног порекла“** представља оригинално научно истраживање чији је експериментални део реализован у Лабораторији за молекуларну микробиологију, Универзитет у Београду-Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство и на Одељењу за имунологију и имунопаразитологију, Универзитет у Београду-Институт за примену нуклеарне енергије, у оквиру ПРОМИС пројекта *Nano-MDSC-Thera* (Ев. бр. 6062673) финансираног од стране Фонда за науку Републике Србије и уговора о реализацији и финансирању научноистраживачког рада од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Бр. 451-03-9/2021-14/200019, 451-03-9/2021-14/200042, 451-03-68/2022-14/200019 и 451-03-68/20 22-14/200042). Процедуре које су укључивале рад са периферном крви и фекалним материјалом здравих донора одобрене су од стране Етичке комисије за давање одобрења за коришћење хуманог материјала за потребе научноистраживачког рада Универзитета у Београду-Института за примену нуклеарне енергије ев. бр. 02-765/2, док су процедуре са експерименталним животињама одобрене решењем Управе за ветерину Министарства пољопривреде и заштите животне средине Републике Србије, број 323-07-11160/2019-05/1.

Докторска дисертација је написана на 124 стране и подељена је на 7 поглавља: УВОД (32 стране), ЦИЉЕВИ РАДА (1 страна), МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ (20 страна), РЕЗУЛТАТИ (29 страна), ДИСКУСИЈА (11 страна), ЗАКЉУЧЦИ (2 стране) и ЛИТЕРАТУРА (29 страна). У оквиру докторске дисертације налази се 26 слика, 5 табела и 515 библиографских јединица. Дисертација садржи и следеће непагиниране стране које обухватају: насловне стране на српском и енглеском језику које прати по једна празна страница, податке о менторима и члановима Комисије, изјаве захвалности, сажетак докторске дисертације са кључним речима на српском и енглеском језику, листу скраћеница, садржај, биографију и изјаве кандидата (Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу).

Анализа докторске дисертације

Прво поглавље докторске дисертације, **УВОД**, подељено је на три потпоглавља која обухватају релевантне научне литературне податке који доприносе разумевању значаја теме докторске дисертације. У првом потпоглављу под насловом **Основне функције имунског система** кандидат је концизно приказао основне компоненте и функције урођеног и адаптивног имунског система релевантне за тему докторске дисертације. Посебну пажњу у оквиру овог потпоглавља кандидат је посветио мијелоидним ћелијама, и то дендритским ћелијама (енгл. *Dendritic Cells* – DC) и супресорским ћелијама мијелоидног порекла (енгл. *Myeloid Derived Suppressor Cells* – MDSC) које су предмет ове дисертације. Наведени су механизми настанка и сазревања DC након преузимања материјала из спољашњости и настанак имуногених DC, као и њихова улога у презентацији антигена ћелијама адаптивне имуности. У делу који се тиче MDSC, описан је процес хематопоезе у оквиру ког се диференцирају MDSC, као и фенотипски и функцијски маркери ових ћелија код људи на основу којих се могу сврстати у три основна ћелијска подтипа – моноклеарне, полиморфонуклеарне и MDSC високог степена незрелости (MDSC ране фазе). Наглашено је да су имуносупресивне функције ових ћелија првобитно откривене у ткиву тумора чије ћелије продукују различите сигналне молекуле, међу којима је и простагландин E₂ (PGE₂), који омогућавају активацију, миграцију и акумулацију MDSC у туморском ткиву. Прегледно су наведени познати механизми путем којих MDSC остварују имуносупресивне функције, као и ензими који катализују ове реакције: продукција азот оксида (ензим индуцибилна азот оксид синтаза, енгл. *Inducible Nitric Oxide Synthase* – iNOS), разградња L-аргинина (ензим аргиназа – ARG-1), продукција PGE₂ (циклоксигеназа-2, енгл. *cyclooxygenase-2* – COX-2), смањење ванћелијске концентрације триптофана (индолеамин 2,3-дезоксигеназа – IDO), продукција имуносупресивних молекула као што су интерлеукин-10 (IL-10) и трансформишући фактор раста-β (енгл. *Transforming Growth Factor-β* – TGF-β), дејства чланова 3 и 4 специфичне суперфамилије *Immunoglobulin Like Transcript* рецептора (ILT3, ILT4). Истакнуто је да овим механизмима MDSC могу директно да супримирају имунски одговор или да индукују активацију имуносупресивних ћелија као што су регулаторни Т лимфоцити (Treg), и тако индиректно делују на супресију имунског система.

Наглашено је да литературни подаци указују на то да анализа фенотипских маркера MDSC код пацова није довољна за потпуну карактеризацију ових ћелија, већ да је неопходно испитати и њихове супресивне функције. На основу наведених фенотипских и функцијских карактеристика MDSC, на крају овог дела указано је на могућност значаја MDSC код стања која у основи имају пренаглашен имунски одговор, као што је то случај код аутоимунских болести. Прво потпоглавље се завршава детаљним приказом механизма активације и основним функцијама стеченог имунског одговора.

У другом потпоглављу, **Болести повезане са поремећајем имунског одговора**, укратко су описане основне карактеристике тумора и аутоимунских болести, стања код којих се разматрају потенцијални терапијски ефекти имуногених DC и MDSC добијених диференцијацијом *in vitro*. У делу о туморима описан је настанак супресивног микроокружења тумора као и механизми којим туморске ћелије успешно избегавају имунски надзор. Затим је укратко дат преглед постојећих приступа у терапији тумора, подаци о њиховој ефикасности и указано је на потребу дизајнирања терапије која би довела до активације имунског система специфично усмереног против тумора. У овом смислу је указано на значај развоја терапијских приступа које се заснивају на антиген-презентујућим ћелијама, као што су DC, чиме се омогућава покретање антиген-специфичног антитуморског одговора. Наведене су предности коришћења DC пореклом од моноцита добијених *in vitro* и образложена је њихова употреба у виду антитуморских вакцина. Посебно су истакнути проблеми који су идентификовани у протоколима за добијање имуногених DC, с акцентом на варијабилност међу пацијентима у одговору на имунотерапију. Истакнуто је да се неадекватан антитуморски одговор при примени DC вакцина вероватно може приписати: недовољној стимулацији DC добијених *in vitro*, недовољној експресији костимулаторних молекула, продукцији цитокина и смањеном миграторном капацитету ових ћелија. У делу о аутоимунским болестима наведена су постојећа сазнања о механизмима развоја аутоимунских болести, уз навођење најчешћих типова код људи, са акцентом на мултиплу склерозу (MS). У овом делу посебно је објашњен значај модела експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса (EAE) за проучавање ефикасности нових процедура за лечење MS и описани су начини индукције и механизми настанка EAE. Посебно су описани литературни подаци који указују на утицај средине и генетичке основе на развој MS, као и механизми који доводе до демјелинизације нервних влакана и неуроинфламације. Наведено је да су досадашња истраживања усмерена пре свега на утврђивање улоге коју помоћнички Т лимфоцити типа 1 и 17 (енгл. *T helper cells* – Th1 и Th17) имају у настанку и развоју болести. Наведено је да постојећи антиген-неспецифични терапијски приступи доводе до повећаног ризика од инфекција код пацијената са MS и да је неопходно радити на развоју нових приступа. Посебна пажња је посвећена потенцијалу примене ћелија са имуносупресивним функцијама у лечењу MS, где је наведено да су у току клиничке студије које испитују примену толерогених DC и MDSC. Даље, кандидат сажето наводи релевантна истраживања која су за циљ имала примену MDSC изолованих *ex vivo* у терапији EAE чији су резултати опречни. Примећено је да различити ефекти примене ових ћелија могу бити последица недовољно развијених протокола за њихову

диференцијацију *in vitro*. Као важан податак наводи се истраживање које је показало да примена PGE2 у протоколу за диференцијацију, поред интерлеукина-6 (IL-6) и фактора стимулације колонија гранулоцита и макрофага (енгл. *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor* – GM-CSF), доводи до појачавања супресивних функција хуманих MDSC.

У трећем потпоглављу, **Микробиота – основне карактеристике и појмови**, кандидат даје опште податке у вези са истраживањима у овој области, дефиницијама појмова који се користе, и указује на значај примене различитих анималних модела у проучавању интеракција домаћина и микроорганизама. Такође, истиче се значај микробиоте црева у развоју различитих стања која су повезана са поремећајем имунског одговора, а посебан део овог потпоглавља посвећен је микробиоти црева, где је наведено шта утиче на њено формирање и на који начин интеракције микробиоте и имунског система доводе до развоја толеранције имунског одговора на коменсалне микроорганизме у лумену црева. Описан је и значај метаболита које продукују чланови микробиоте црева (као што су витамини, масне киселине кратких ланаца (енгл. *Short Chain Fatty Acids* – SCFA), секундарне жучне соли и полиамини у интеракцији домаћина са микробиотом. На крају су наведени најзначајнији подаци о променама у микробиоти црева који су доведени у везу са развојем аутоимунских болести и назначено је да модификације у микробиоти црева могу да буду потенцијални приступ за повећање ефикасности терапија код стања повезаних са дисфункцијом имунског одговора. У оквиру посебних целина овог потпоглавља описана су до сада позната сазнања о улози микробиоте црева у туморским и аутоимунским обољењима, као и повезаности својстава микробиоте црева са имунолошким терапијама.

У поглављу **ЦИЉЕВИ РАДА**, узимајући у обзир имунотерапијски потенцијал DC у лечењу тумора и потенцијал MDSC у лечењу аутоимунских болести, као и велику фенотипску и функцијску хетерогеност ових ћелија између донора, кандидат је нагласио да је основна хипотеза истраживања обухваћених овом докторском дисертацијом, варијабилност фенотипских и функцијских одлика мијелоидних ћелија и њихова ефикасност у модулацији болести у корелацији са својствима микробиоте црева. На основу хипотезе дефинисана су два главна циља:

1. Испитати повезаност састава микробиоте црева и њихових метаболита са потенцијалом моноцита периферне крви здравих донора да се диференцирају *in vitro* у имуногене DC са особинама које указују на њихов потенцијал за индукцију антитуморског одговора;
2. Испитати повезаност састава микробиоте црева и њихових метаболита са фенотипом и супресивним капацитетом MDSC добијених *in vitro*, као и са терапијским потенцијалом ових ћелија у моделу EAE.

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** обухвата све примењене имунолошке, микробиолошке, молекуларно-биолошке, микроскопске, биоинформатичке и статистичке процедуре, чији описи омогућавају њихову репродукцију. У првом делу је описан протокол за *in vitro* диференцијацију незрелих DC пореклом од моноцита периферне крви здравих донора, као и за стимулацију сазревања незрелих DC *in vitro*, уз процедуре за њихову фенотипску и функцијску карактеризацију и одређивање

потенцијала индукције диференцијације CD4⁺ Т лимфоцита до Th ћелијског профила. Затим су описане експерименталне животиње, пацови *Dark Agouti* (DA) соја, који су коришћени у другом делу истраживања, као и протоколи за изолацију ћелија костне сржи пацова у сврху *in vitro* диференцијације MDSC, макрофага и DC од прогенитора костне сржи. Коктел за диференцијацију MDSC је био без (контролне MDSC – MDSC-K) или са додатком PGE2 (MDSC-PGE2). Како би се извршила функцијска карактеризација MDSC, тачније испитивање њихове супресивне функције, извршен је тест супресије пролиферације спленоцита (леукоцита слезине) и мерење продукције азот-моноксида (NO). У наставку је описан експериментални дизајн за испитивање ефеката MDSC на ток болести и имунски одговор у моделу EAE. Детаљно су описане процедуре индукције болести код експерименталних животиња, примена MDSC третмана, као и праћење тока болести, процедуре за фенотипску и функцијску карактеризацију MDSC и имунских ћелија изолованих из слезине и кичмене мождине животиња жртвованих у пику болести, као и процедура за праћење миграције MDSC у току болести. У моделу интестиналне баријере *in vitro*, испитана је интеракција хуманих MDSC са хуманим интестиналним Сацо-2 ћелијама и одабраним метаболитима које продукују чланови цревне микробиоте. Након тога су за оба дела истраживања обједињено приказане процедуре за: квантификацију релативне експресије информационе РНК циљних гена код људи и пацова, изолацију укупне ДНК и секвенцирање дела гена за 16S рибозомску РНК применом методе секвенцирања следеће генерације (енгл. *Next Generation Sequencing* – NGS), биоинформатичку обраду метагеномских података којом су добијени подаци о својствима микробиоте црева, и квантификацију метаболита микроорганизама у фецесу људи и пацова. У случају фецеса пацова наведена је процедура за анализу активности ензима алкалне фосфатазе у циљу испитивања интегритета интестиналне баријере. Такође, у оквиру овог поглавља пружени су приступни линкови ка необрађеним секвенцама делова гена за 16S рибозомску РНК које су коришћене у истраживању, као и део са приказом свих статистичких тестова који су коришћени у дисертацији, а само депоновање ових информација у базу података представља значајан нови извор података о саставу микробиоте код DA пацова.

У оквиру поглавља **РЕЗУЛТАТИ** кандидат је прегледно приказао добијене резултате груписавши их у два поглавља. Добијени резултати су дати у виду адекватних графичких приказа и микрографија, уз адекватне описе.

У оквиру првог потпоглавља под називом ***Повезаност особина микробиоте црева са имуногеним капацитетом хуманих дендритских ћелија моноцитног порекла***, анализирани су фенотипски и функцијски маркери незрелих DC које су добијене диференцијацијом из моноцита периферне крви здравих донора, као и зрелих DC које настају у одговору незрелих DC на стимулацију липополисахаридом (LPS) и интерфероном- γ (IFN- γ). Показано је да када се пречишћена моноцитна фракција здравих донора диференцира у присуству GM-CSF и интерлеукина-4 (IL-4) добијају се незреле DC које одликује фенотипска и функцијска варијабилност. Такође, ова својства DC се разликују међу здравим донорима и након LPS/IFN- γ активације незрелих DC. Подаци добијени NGS методом и обрадом нуклеотидних секвенци дела гена за 16S рибозомску РНК микробиоте црева, показују да моноцитне DC здравих донора које

одликује нижи диверзитет микробиоте црева имају већи имуногени потенцијал и изражену експресију маркера CD1a (енгл. *Cluster of Differentiation 1a*) који је повезан са проинфламаторним потенцијалом зрелих DC. Детаљнија анализа диференцијалне заступљености појединачних таксона указује на повећану релативну учесталост родова *Bifidobacterium* и *Collinsella* у фецесу донора чији моноцити дају имуногеније DC. Такође, показано је да релативна учесталост рода *Butyricimonas* и врсте *Alistipes finegoldi* негативно корелира са имуногеношћу DC. Квантитативна анализа SCFA у фецесу здравих донора коришћењем хроматографије под високим притиском (енгл. *High Pressure Liquid Chromatography* – HPLC) указује да моноцити пореклом од донора са нижим нивоом бутерне киселине у фецесу дају зреле DC са смањеним имуногеним потенцијалом.

Друга целина у оквиру овог поглавља – **Утицај микробиоте црева на супресивни капацитет и имунотерапијски потенцијал MDSC**, обухвата резултате који указују да постоји повезаност супресивног капацитета и имунотерапијског потенцијала MDSC диференцираних *in vitro*, с једне стране, и особина микробиоте црева, са друге. Прво је показано да применом два протокола, стандардног протокола за диференцијацију MDSC од прекурсора пореклом из костне сржи пацова и модификованог стандардног протокола са додатком PGE₂, у оба случаја настају ћелије које се одликују фенотипом карактеристичним за MDSC пацова. Такође, резултати показују да ћелије добијене на оба начина одликује имуносупресивни капацитет који се огледа у способности инхибиције деобе спленоцита који су активирани конканавалином А. Показано је да MDSC које су добијене у присуству PGE₂ одликује значајно повишена експресија ензима COX-2 и iNOS у односу на контролне MDSC. Након тога су описани резултати испитивања имуносупресивног потенцијала добијених MDSC на симптоме ЕАЕ, који показују да само примена MDSC-PGE₂, не и MDSC-К, доводи до смањења симптома болести. Карактеризација потенцијалних механизма у основи имунотерапијског ефекта MDSC *in vivo* показала је да MDSC-PGE₂ али и MDSC-К третман, доводе до смањења броја NK (енгл. *Natural killer*) ћелија које продукују IFN- γ у слезини и кичменој мождини третираних ЕАЕ животиња у односу на нетретиране ЕАЕ животиње. Ипак, показано је да само MDSC-PGE₂ третман доводи до смањења процента Th17 ћелија у кичменој мождини и до продукције проинфламаторних цитокина: интерлеукина-1 β , -6 и -17 (IL-1 β , IL-6, IL-17), TNF- α и IFN- γ . Оба типа третмана доводе до повећања удела Treg лимфоцита CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ фенотипа у слезини, док само MDSC-PGE₂ третман доводи до статистички значајног повећања удела IL-10-продукујућих Treg лимфоцита у кичменој мождини. Анализа миграције обележених MDSC-PGE₂ након интраперитонеалне примене у ЕАЕ моделу, показала је да ове ћелије мигрирају у току прва три дана у Пејерове плоче и мезентеричне лимфне чворове оболелих пацова, а након тога у кичмену мождину. Детаљнија анализа ефеката оба MDSC третмана на интегритет интестиналне баријере и својства микробиоте црева у моделу ЕАЕ код пацова указује да MDSC-PGE₂ третман доводи до одржавања интегритета интестиналне баријере, очувања диверзитета микробиоте црева, као и да резултира повећањем релативне заступљености чланова микробиоте црева са имунорегулаторном активношћу, као што је коменсална врста *Lactobacillus reuteri*. Предикциона анализа метаболичке активности микробиоте црева, као и

квантификација нивоа метаболита у фецесу HPLC анализом, показале су да MDSC-PGE2 третман животиња са EAE доводи до повећане заступљености SCFA, и то пропионске и бутерне киселине, као и повећане заступљености полиамина путресцина. Додатно, испитан је ефекат полиамина спермидина и путресцина у моделу интестиналне баријере *in vitro* у кокултури диференцираних Сасо-2 ћелија и моноцита човека стимулираних на диференцијацију до MDSC. Резултати су показали да се при треману полиаминама добијају MDSC које имају снажнији супресивни потенцијал него у кокултури без ових једињења.

Поглавље **ДИСКУСИЈА** је подељено на два потпоглавља, у складу са добијеним и описаним резултатима. Кандидат у овом делу докторске дисертације критички дискутује добијене резултате у контексту познатих литературних података који су релевантни за дисертацију уз истицање значаја и доприноса добијених резултата тренутним научним сазнањима.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** кандидат на јасан начин изводи закључке који у потпуности произлазе из добијених резултата и који дају одговоре на постављене циљеве ове докторске дисертације. У оквиру два општа закључка кандидат наводи укупно 13 специфичних закључака које Комисија овде износи у уопштенијем облику.

У оквиру првог закључка „*Капацитет хуманих моноцита периферне крви за in vitro диференцијацију у имуногене DC повезан је са својствима микробиоте црева*“, кандидат наглашава следеће:

- између здравих донора постоје разлике када су фенотипске и функцијске одлике незрелих DC диференцираних *in vitro* у питању;
- виши ниво експресије проинфламаторних молекула (TNF- α , IL-6, IL-8) као и имунорегулаторног молекула ILT3 је у позитивној корелацији са слабијим потенцијалом незрелих DC да се диференцирају у зреле имуногене DC у одговору на LPS/IFN- γ стимулацију;
- висок ниво експресије CD1a на незрелим DC и висок однос продукције IL-12p70 и IL-10 заједно представљају добре предиктивне маркере имуногености зрелих DC, због чега би их требало узети у разматрање при дизајнирању DC вакцина;
- DC пореклом од моноцита здравих донора са нижим диверзитетом микробиоте црева имају већи имуногени потенцијал, што се огледа у високој експресији CD1a који је повезан са проинфламаторним потенцијалом зрелих DC;
- донори чији се моноцити диференцирају у DC већег имуногеног капацитета пожељног за антитуморску терапију имају већу заступљеност родова *Bifidobacterium* и *Collinsella* у цревној микробиоти, док је присуство врсте *Alistipes finegoldi* у негативној корелацији са имуногеним потенцијалом DC;
- имуногени капацитет зрелих DC пореклом од моноцита донора са вишим нивоом бутерне киселине, метаболита микробиоте црева, је смањен.

У оквиру другог закључка „*Супресивни капацитет и имунотерапијски потенцијал MDSC добијених in vitro су повезани са микробиотом црева*“, кандидат наглашава следеће:

- диференцијацијом прекурсора костне сржи до MDSC, без или уз додатак PGE2, настају ћелије фенотипа карактеристичног за MDSC пацова и са капацитетом да

инхибирају пролиферацију активираних спленоцита, при чему MDSC-PGE2 одликује значајно већа експресија COX-2 и iNOS;

- примена MDSC-PGE2 значајно смањује симптоме болести, одлаже њен почетак и скраћује трајање у моделу EAE код DA пацова;
- MDSC-K и MDSC-PGE2 утичу на смањење броја NK ћелија које продукују IFN- γ у кичменој мождини и слезини, међутим, само MDSC-PGE2 смањују удео Th17 ћелија у кичменој мождини, као и продукцију проинфламаторних цитокина IL-1 β , TNF- α , IL-6, IFN- γ и IL-17 од стране спленоцита изолованих из животиња у пику болести;
- MDSC-K и MDSC-PGE2 индукују Treg лимфоците са CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ фенотипом у слезини, док само MDSC-PGE2 повећавају проценат Treg које продукују IL-10 у кичменој мождини.
- MDSC-PGE2 након примене у моделу код DA пацова у току прва три дана мигрирају у имунске компартменте црева (Пејерове плоче и мезентеричне лимфне чворове), док седмог дана мигрирају у кичмену мождину где могу да регулишу патолошке механизме болести;
- MDSC-PGE2 третман DA пацова након индукције болести одржава интегритет интестиналне баријере, диверзитет микробиоте црева и потенцијално помера равнотежу у саставу микробиоте ка већој заступљености чланова са имунорегулаторним својствима, као што је *Lactobacillus reuteri*, и већој продукцији SCFA (пропионске и бутерне киселине) и полиамина у фецесу;
- када се хумани моноцити диференцирају у MDSC у *in vitro* моделу интестиналне баријере, додаток полиамина спермидина и путресцина стимулише њихов имуносупресивни капацитет.

Последње поглавље **ЛИТЕРАТУРА** обухвата 515 релевантних литературних податка који су коришћени приликом писања докторске дисертације. Литературни извори су адекватно наведени и цитирани у тексту докторске дисертације.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Radojević, D.**, Tomić, S., Mihajlović, D., Tolinački, M., Pavlović, B., Vučević, D., Bojić, S., Golić, N., Čolić, M., & Đokić, J. (2021). Fecal microbiota composition associates with the capacity of human peripheral blood monocytes to differentiate into immunogenic dendritic cells *in vitro*. *Gut microbes*, 13(1), 1–20.
(M21a, IF₂₀₂₀ 10.245, Oblast: 11/137 Microbiology)
<https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1921927>
2. **Radojević, D.**, Bekić, M., Gruden-Movsesijan, A., Ilić, N., Dinić, M., Bisenić, A., Golić, N., Vučević, D., Đokić, J., & Tomić, S. (2022). Myeloid-derived suppressor cells prevent disruption of the gut barrier, preserve microbiota composition, and potentiate immunoregulatory pathways in a rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Gut microbes*, 14(1), 2127455.
(M21a, IF₂₀₂₀ 10.245, Oblast: 11/137 Microbiology)

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Radojević, D.**, Bekić, M., Gruden-Movsesijan, A., Ilić, N., Vasilev, S., Dinić, M., Golić, N., Čolić, M., Tomić, S., Đokić, J. Correlation between gut microbiota composition and therapeutic potential of myeloid-derived suppressor cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. Immunology at the confluence of multidisciplinary approaches, Belgrade, Serbia, December 06-08, 2019. Book of abstracts, p. 27. (M34)
2. **Radojević, D.**, Bekić, M., Gruden-Movsesijan, A., Ilić, N., Vasilev, S., Dinić, M., Golić, N., Vučević, D., Čolić, M., Tomić, S., Đokić, J. Myeloid derived suppressor cells-therapy attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis and modulates gut microbiota composition. Belgrade Bioinformatics Conference - BelBI2021, Belgrade, 21-25 June 2021. ISSN 2334-6590, p. 98. (M34)
3. **Radojević, D.**, Tomić, S., Mihajlović, D., Tolinački, M., Pavlović, B., Vučević, D., Bojić, S., Golić, N., Čolić, M., Đokić, J. Inter-donor variability in dendritic cells capacity to respond to stimulation *in vitro* associates with donors gut microbiota composition. Eur. J. Immunol./6th European Congress of Immunology, Belgrade, 1-4 September 2021. 51 (Suppl. 1):32. (M34)

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата Душана Д. Радојевића, број индекса Б3005/2016, послата је дана 31. 3. 2023. године на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментори су добили дана 31. 3. 2023. Електронском провером оригиналности докторске дисертације кандидата Душана Радојевића утврђено је подударање текста које износи 7%. Детаљним увидом у Извештај утврђено је да су појединачна подударања са једним извором у опсегу од 2%, са три извора 1% и сва остала подударања су мања од 1%. Овај степен подударности последица је навођења личних имена и афилијација ментора, чланова комисије и аутора, секвенци прајмера, скраћеница и пуних назива ћелија и молекула на српском и енглеском језику, као и назива појединачних хемикалија, њихових произвођача и детаљних описа експерименталних процедура у оквиру Материјала и метода који су неопходни ради репродукцибилности истраживања, а што је у складу са чланом 9. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“, број 201/18). Уочена преклапања краћих делова у оквиру различитих реченица нису повезана и не чине логичку целину.

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата Душана Д. Радојевића, под насловом „Утицај састава микробиоте црева на имуномодулаторна својства и имунотерапијски потенцијал дендритских ћелија и супресорских ћелија мијелоидног порекла“, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидата **Душана Д. Радојевића**, истраживача сарадника Универзитета у Београду-Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, под насловом „**Утицај састава микробиоте црева на имуномодулаторна својства и имунотерапијски потенцијал дендритских ћелија и супресорских ћелија мијелоидног порекла**“, представља оригинални научно-истраживачки рад у области изучавања имунских ћелија и микробиоте црева, који даје значајан допринос сагледавању повезаности састава микробиоте црева и метаболита бактерија са потенцијалом прекурсорских ћелија мијелоидне лозе да се диференцирају у функционалне имуностимулаторне и имуносупресивне ћелије. С обзиром на актуелност ових истраживања, ова дисертација на јасан и прегледан начин пружа увид у најновија сазнања из ових области. Приказани резултати указују да би модификације особина микробиоте црева могле да буду важан приступ за унапређење ефикасности терапија које се заснивају на имунским ћелијама код болести које су повезане са поремећајем функције имунског одговора, као што су туморска и аутоимунска обољења. У прилог актуелности проблематике и значају добијених резултата, говори и чињеница да су резултати ове докторске дисертације објављени у виду два научна рада у међународном часопису изузетних вредности (M21a категорија).

Комисија је мишљења да докторска дисертација **Душана Д. Радојевића** постављеним циљевима, методолошким приступима, добијеним резултатима и њиховим тумачењем, пружа значајан оригинални допринос разумевању везе имунског система и микробиоте црева.

На основу приложеног, Комисија с посебним задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај Извештај и одобри кандидату **Душану Д. Радојевићу** јавну одбрану докторске дисертације под насловом „**Утицај састава микробиоте црева на имуномодулаторна својства и имунотерапијски потенцијал дендритских ћелија и супресорских ћелија мијелоидног порекла**“.

У Београду, 11. 4. 2023. године.

КОМИСИЈА:

др Сергеј Томић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду-Институт за примену нуклеарне енергије

др Милица Маркелић, доцент,
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

др Бранко Јовчић, редовни професор,
Универзитет у Београду-Биолошки факултет