НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На II редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Биолошког факултета, одржаној 16. 11. 2026. године, на основу молбе ментора, др Марије Мојсин, научног саветника Универзитета у Београду – Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство и академика Милене Стевановић, Српска академија наука и уметности, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Јелене Љ. Пејић**, под насловом: „**Утицај кофеина, таурина и етанола, као компоненти енергетских и алкохолних пића, на диференцијацију, морфолошке и функцијске карактеристике неурона и астроцита у модел-систему хумане неурогенезе *in vitro***”, у саставу: др Милена Миливојевић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, др Јасмина Стојковска, научни саветник, Универзитет у Београду – Технолошко-металуршки факултет и др Јован Пешовић, доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Биолошког факултета подноси следећи

И З В Е Ш Т А Ј

Општи подаци о докторској дисертацији

Веће научних области природних наука је на седници одржаној 27. 10. 2022. године дало сагласност на одлуку Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Биолошког факултета о прихватању теме докторске дисертације Јелене Љ. Пејић, под насловом „Утицај кофеина, таурина и етанола, као компоненти енергетских и алкохолних пића, на диференцијацију, морфолошке и функцијске карактеристике неурона и астроцита у модел-систему хумане неурогенезе *in vitro*”.

Докторска дисертација Јелене Љ. Пејић је оригинално научно истраживање које је урађено на Универзитету у Београду у Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство у Групи за хуману молекуларну генетику.

Текст докторске дисертације написан је и организован у складу са инструкцијама из Упутства о облику и садржају докторске дисертације која се брани на Универзитету у Београду. Дисертација је написана на српском језику латиничним писмом.

Докторска дисертација садржи: насловну страну на српском и енглеском језику, податке о менторима и члановима комисије за преглед и оцену докторске дисертације, захвалницу, резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, листу скраћеница, садржај, текст дисертације, биографију кандидаткиње и три изјаве. Текст дисертације (114 страна) садржи следећа поглавља: Увод (стране 1-23), Циљеви рада (страна 24), Материјал и методе (стране 25-37), Резултати (стране 38-79), Дискусија (стране 80-91), Закључци (страна 92). Литература, у којој је цитирано 311 извора по АПА систему цитирања (седма едиција), излистана је на странама 93-113. Након биографије кандидаткиње (страна 114), приложене су следеће изјаве: Изјава о ауторству, Изјава о

истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу. Докторат садржи 44 слике и 5 табела (пет слика у поглављу Увод, једна слика у поглављу Циљеви рада, једна слика и пет табела у поглављу Материјал и Методе, 37 слика у поглављу Резултати).

Анализа докторске дисертације

Кандидаткиња Јелена Љ. Пејић је у докторској дисертацији изучавала утицај компоненти присутних у енергетским и алкохолним пићима, кофеина, таурина, и етанола, на диференцијацију, морфолошке и функцијске карактеристике неурона и астроцита у модел-систему хумане неурогенезе *in vitro* – плурипотентне NT2/D1 ћелије, чија је неурална диференцијација индукована ретиноинском киселином.

Поглавље **Увод** организовано је у 11 целина. У првих осам целина су представљене карактеристике енергетских пића, компоненте које улазе у њихов састав, са посебним осврtом на кофеин и таурин као две најзаступљеније компоненте ових пића, као и на њихов утицај на централни нервни систем (ЦНС). Затим су приказани епидемиолошки подаци о учесталости конзумације енергетских пића у Европи, САД и у Србији, као и регулаторни оквири који се тичу њихове употребе у поменутим земљама. Истакнут је и њихов утицај на физиолошке процесе у организму у различитим органима и системима органа, интеракције са алкохолом, као и њихов утицај на две најосетљивије групе у контексту неурогенезе, адолесценте и труднице. Девета целина увода говори о предностима тродимензионалних (3Д) ћелијских модел-система хумане неурогенезе у односу на дводимензионалне модел-системе (2Д) са посебним осврtом на алгинатне хидрогелове као тродимензионалне носаче ћелија. У десетој целини је представљен развој ЦНС-а и улога неуралних матичних ћелија у овом процесу. Последња, једанаеста целина говори о NT2/D1 ћелијској линији као *in vitro* модел-систему неурогенезе погодном за тестирање неуротоксичности у 2Д и 3Д условима.

Циљ ове докторске дисертације је испитивање и анализа потенцијалног утицаја кофеина, таурина и етанола, као компоненти енергетских и алкохолних пића, на диференцијацију, морфолошке и функцијске карактеристике неурона и астроцита у модел-систему хумане неурогенезе *in vitro.* **Специфични циљеви докторске дисертације** су јасно и таксативно наведени и приказујемо их у целости (преузето из докторске дисертације):

– Испитивање утицаја компоненти енергетских и алкохолних пића, кофеина, таурина и етанола на NT2/D1 плурипотентне ћелије гајене у 2Д и 3Д модел-системима хумане неурогенезе *in vitro*.

– Испитивање утицаја компоненти енергетских и алкохолних пића, кофеина, таурина и етанола на ране фазе неуралне диференцијације у 2Д и 3Д модел-системима хумане неурогенезе *in vitro*, на NT2/D1 раним неуралним прогениторима.

– Испитивање утицаја компоненти енергетских и алкохолних пића кофеина, таурина и етанола на зреле неуроне и астроците настале диференцијацијом NT2/D1 ћелија у 2Д модел-систему хумане неурогенезе *in vitro*.

Поглавље **Материјал и методе** обухвата 19 поглавља у којима су детаљно описане све хемикалије, протоколи и истраживачке методе коришћене у изради експеримената у

оквиру ове докторске дисертације. У првом делу овог поглавља дат је табеларни приказ свих коришћених хемикалија, китова, олигонуклеотидних секвенци (прајмера) и антитела коришћених у експериментима.

Кандидаткиња је дала детаљан опис експерименталних метода које је користила у свом истраживању, почевши од приказа пропагације NT2/D1 плурипотентних ћелија и њихове неуралне диференцијације у 2Д ћелијској култури и 3Д модел-системима сфера и алгинатних микровлакана у статичким условима и условима континуалног протока медијума у проточном биореактору. Затим је дат детаљан приказ успостављања новог 3Д модел-система са имобилисаним NT2/D1 ћелијама у алгинатним микровлакнима и индукције неуралне диференцијације ћелија у новоуспостављеном систему. Капацитет новог система за тестирање неуротоксичности испитан је коришћењем третмана који симулирају конзумацију енергетског пића са и без алкохола, као и појединачних компоненти – кофеина, таурина и етанола. Примењене методе су: есеји вијабилности, анализа ћелијског циклуса употребом проточног цитофлуориметра, квантитативни PCR у реалном времену, TaqMan–миРНК есеј, Western blot, имуноцитохемијске анализе, глутаматни есеј, и DCF есеј. У посебном поглављу описан је начин статистичке анализе и примена одговарајућих статистичких тестова.

Поглавље **Резултати** је уобличено у 2 главна поглавља и већи број потпоглавља. Резултати су приказани прегледно и систематично и поткрепљени су одговарајућим композитним сликама које садрже јасно обележене репрезентативне микрографије и графичке приказе одговарајућих квантитативних анализа. Композитне слике које осликавају резултате пропраћене су легендама и објашњењима и уклопљене су у целину са текстуалним описом резултата докторске дисертације.

У првом делу Резултата, кандидаткиња је приказала испитивања на постојећим 2Д и 3Д ћелијским моделима за тестирање неуротоксичности, као и успостављање новог 3Д модел-система хумане неурогенезе *in vitro* – NT2/D1 ћелија имобилисаних у алгинатна микровлакна и индукованих ретиноинском киселином до стадијума раних неуралних прогенитора. У поменутим 2Д и 3Д ћелијским модел-системима, испитани су ефекти енергетског пића, са или без алкохола, као и појединачних компоненти, кофеина, таурина и етанола, на плурипотентне NT2/D1 ћелије и ране неуралне прогениторе. Уочено је да испитивани третмани остварују значајне ефекте на вијабилност и експресију гена фактора плурипотентности и гена маркера раних фаза неурогенезе. Установљено је да неуротоксичност испитиваних компоненти варира у зависности од модел-система, при чему 3Д модел-системи пружају израженију неуропротективност у поређењу са конвенционалним моделом гајења ћелија. Ово може имати значајне импликације на резултате тестирања биоактивних једињења.

У другој целини Резултата је приказан ефекат испитиваних третмана на финалне стадијуме неуралне диференцијације, зреле NT2-неуроне и NT2-астроците. Испитивани третмани указују на већу осетљивост NT2-неурона у односу на NT2-астроците, испољену смањењем вијабилности и променама морфологије и експресије βIII-тубулина. Код NT2-астроцита вијабилност је очувана, уз стабилну експресију маркера GFAP (протеин интермедијарног филамента типа III) и промену редокс статуса након примене испитиваних третмана. Смањење експресије глутаматних транспортера EAAT1 и EAAT2 код NT2-астроцита, без промене унутарћелијске концентрације глутамата, указује на могуће учешће компензаторних механизама у одржавању глутаматне

хомеостазе. Добијени резултати указују да третмани компонентама присутним у енергетском пићу, кофеином и таурином, као и енергетским пићем, појединачно или у комбинацији са алкохолом, испољавају ефекте на неуралну диференцијацију, као и на морфолошке и функцијске карактеристике NT2-неурона и NT2-астроцита.

У поглављу **Дискусија** кандидаткиња је дала критички осврт на резултате докторске дисертације у контексту литературних података. Кандидаткиња је систематично обрадила и дискутовала резултате добијене у оквиру своје докторске дисертације и упоредила их са резултатима других релевантних студија. Кандидаткиња је на адекватан начин објаснила подударности и разлике између добијених резултата и налаза претходно објављених студија. Добијени резултати су указали да енергетска пића и њихове компоненте остварају значајне ефекте на основне ћелијске процесе током неурогенезе, као и да њихов утицај зависи од стадијума неуралне диференцијације и типа неуралних ћелија. Добијени резултати указују на значај истраживања ефеката енергетских пића на ЦНС, у светлу све веће учесталости њихове конзумације међу децом, адолесцентима и младим особама, код којих развој мозга још увек траје.

На основу резултата докторске дисертације, кандидаткиња је извела закључке који су представљени јасно и таксативно у поглављу Закључци. **Закључци** ове докторске дисертације су следећи (преузето у целости из докторске дисертације):

1. Успостављен је 3Д модел-систем NT2/D1 плурипотентних ћелија имобилисаних у алгинатна микровлакна. Током седам дана култивације имобилисане ћелије задржавају вијабилност, уз способност пролиферације и формирања ћелијских агрегата, а након ослобађања из микровлакана задржавају способност адхезије и пролиферације у условима пропагације у 2Д модел-систему.
2. Третмани енергетским пићем (ЕП) и енергетским пићем са алкохолом (ЕП+ЕтОХ), као и његовим компонентама, кофеином и таурином, појединачно, заједно и у комбинацији са етанолом, не доводе до значајних промена у вијабилности плурипотентних NT2/D1 ћелија у 3Д систему. У контролном 2Д модел-систему, третман кофеином доводи до малог, али статистички значајног пада вијабилности.
3. Успостављени 3Д систем подржава неуралну диференцијацију NT2/D1 ћелија индуковану ретиноинском киселином до стадијума раних неуралних прогенитора који задржавају вијабилност и показују профил експресије гена маркера плурипотентности и маркера ране фазе неуралне диференцијације карактеристичан за тај стадијум неуралне диференцијације NT2/D1 ћелија.
4. Испитивани третмани не доводе до пада вијабилности NT2/D1 раних неуралних прогенитора у 3Д модел-систему, док у 2Д модел-систему долази до смањења вијабилности након примене свих испитиваних третмана (ТАУ, КОФ+ТАУ, КОФ+ТАУ+ЕтОХ, ЕП и ЕП+ЕтОХ) изузев кофеина.
5. Испитивани третмани не доводе до промене експресије OCT4 и PAX6 протеина у NT2/D1 раним неуралним прогениторима, што указује да испитивани третмани не остварују статистички значајне ефекте на експресију гена маркера плурипотентности и маркера раних неуралних прогенитора ни у 3Д, ни у 2Д модел-систему.
6. NT2/D1 рани неурални прогенитори имобилисани у алгинатна микровлакна и гајени у биомимичном проточном биореактору показују сличне карактеристике са ћелијама одржаваним у статичким условима, у погледу вијабилности и експресије маркера

плурипотентности и маркера ране фазе неуралне диференцијације, али је комплексност система већа у односу на статичке услове гајења у 3Д модел-систему.

7. Испитивани третмани доводе до смањења вијабилности терминално диференцираних NT2-неурона, док код NT2-астроцита није уочен значајан утицај на ћелијску вијабилност, што указује на већу сензитивност неурона у односу на астроците.
8. Третмани су показали да кофеин, посебно у комбинацији са етанолом, негативно утиче на морфологију и експресију βIII-тубулина у неуронима, док у комбинацији са таурином се ублажавају или делимично компензују ови ефекти. Третмани таурином и енергетским пиће са алкохолом доводе до повећања експресије овог маркера.
9. Иако поједини третмани доводе до малог повећања експресије GFAP иРНК (таурин и енергетско пиће), свеобухватна анализа фенотипа NT2-A указује да ови ефекти највероватније немају значајан функцијски или физиолошки утицај на астроците.
10. Већина испитиваних третмана доводи до промена у редокс систему NT2-астроцита.
11. Испитивани третмани доводе до смањења експресије глутаматних транспортера EAAT1 и EAAT2, али те промене не утичу на унутарћелијску концентрацији глутамата што указује на постојање компензаторних механизама у астроцитима који одржавају глутаматну хомеостазу упркос променама у експресији транспортера.

При писању докторске дисертације, кандидаткиња је цитирала 311 литературних извора релевантних за научну област докторске дисертације. Сви коришћени литературни извори су правилно и уједначеним стилом наведени у тексту. Комплетан попис коришћене литературе је дат у оквиру целине **Литература**.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Pejić, J**, Milivojević, M, Schwirtlich, M, Petrović, J, Stojkovska, J, Stevanović, M, Mojsin, M. (2025). Human pluripotent NT2/D1 cells immobilized in alginate microfibers: A 3D system for testing the effects of bioactive compounds. *Hemijska industrija*. 79(3):141-155. https://doi.org/10.2298/HEMIND240724011P (**M23**)

2. **Pejić, J**, Milivojević, M, Schwirtlich, M, Bojić, L, Stojkovska, J, Petrović, I, Stevanović, M, Mojsin, M. (2026). Human NT2/D1-derived early neural progenitor cells immobilised in alginate microfibres as an *in vitro* 3D system for neurotoxicity testing. *Alternatives to Laboratory Animals*. 54(2):67–84. https://doi.org/10.1177/02611929261428700 (**M22**)

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

Pejić, J, Milivojević, M, Lazić, S, Stevanović, M, Mojsin, M. Assessment of acute exposure to energy drinks and their major compounds (caffeine and taurine) on functional characteristics of NT2-derived neurons and astrocytes. 4th Congress of Geneticists in Bosnia and Herzegovina with International Participation, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina, 2025. Genetics & Applications, Book of abstracts p 19. **M34**

Pejić, J, Mojsin, M, Stojkovska, J, Stevanović, M, Obradović, B, Milivojević, M. Optimization of cell culture conditions for neural differentiation of NT2/D1 cells in alginate microfibers. Twentieth Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, Belgrade, Serbia, 2022. Book of abstracts p 11. **M34**

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

Pejić, J, Mojsin, M, Stojkovska, J, Lazić, S, Schwirtlich, M, Stevanović, M, Obradović, B, Milivojević, M. NT2/D1 early neural progenitors in 3D alginate microfibers as a model system for screening the effect of bioactive compounds. VII Congress of the Serbian Genetic Society, Zlatibor, Serbia, 2024. Book of abstracts p 116. **M64**

Pejić, J, Mojsin, M, Stojkovska, J, Medić, A, Petrović, I, Stevanović, M, Obradović, B, Milivojević, M. Immobilized NT2/D1 cells in alginate fibers: a promising 3D model system for investigating human neurogenesis and screening the effect of drugs and bioactive compounds. CoMBoS2 – the Second Congress of Molecular Biologists of Serbia, Belgrade, Serbia, 2023. Abstract Book – Trends in Molecular Biology, Special issue, p 113. **M64**

Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности, констатујем да утврђено подударање текста износи 8%. Детаљном анализом добијеног Извештаја уочено је једно поклапање од 2% и једно поклапање од 1% која се односе на опште лабораторијске методолошке приступе често примењиване у истраживачкој групи у којој кандидаткиња ради. Сви остали индекси подударности су мањи од 1% и потичу од општих места и података који се односе на коришћени формат дисертације, личних имена ментора и чланова комисије, библиографских података о коришћеној литератури у самом тексту дисертације, што је у складу са чланом 9 Правилника.

Када се све изнето узме у обзир, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, ментор др Марија Мојсин, научни саветник Универзитета у Београду – Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, закључила је да извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидаткиње Јелене Љ. Пејић, под насловом „Утицај кофеина, таурина и етанола, као компоненти енергетских и алкохолних пића, на диференцијацију, морфолошке и функцијске карактеристике неурона и астроцита у модел-систему хумане неурогенезе *in vitro*" и препоручује да се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација Јелене Љ. Пејић, под насловом: „Утицај кофеина, таурина и етанола, као компоненти енергетских и алкохолних пића, на диференцијацију, морфолошке и функцијске карактеристике неурона и астроцита у модел-систему хумане неурогенезе *in vitro*" представља оригинални рад који даје значајан научни допринос у области неуробиологије. Кандидаткиња је применом различитих метода свестрано обрадила постављене циљеве, свеобухватно их анализирала, а потом концизно извела

закључке добијених резултата. С обзиром на све учесталију конзумацију енергетских пића и нарастајући тренд њиховог комбиновања са алкохолом, међу децом, адолесцентима и младим особама, истраживање њиховог деловања на ЦНС значајно доприноси сагледавању потенцијалних ризика повезаних са њиховом конзумацијом. Због разлика у структури и функцији мозга између животиња и човека и ограничених могућности екстраполације резултата добијених на животињским моделима на човека, посебан значај има примена одговарајућих хуманих *in vitro* модела за испитивање потенцијалних неуротоксичних ефеката супстанци из хране и пића. У том контексту, NT2/D1 ћелије представљају погодан експериментални модел захваљујући способности диференцијације у неуроне и астроците који испољавају бројне карактеристике примарних култура хуманих неурона и астроцита. Добијени резултати указују да испитивани третмани остварују значајне ефекте на ране фазе хумане неуралне диференцијације *in vitro* и доводе до морфолошких и функцијских промена NT2-неурона и NT2-астроцита.

Приказани резултати публиковани су у два оригинална рада објављена у међународним часописима (један категорије М22 и један категорије М23) и представљени на два међународна и два национална научна скупа. Имајући у виду постигнуте резултате као и увид у докторску дисертацију, закључујемо да су задаци постављени у циљевима испуњени у потпуности и да добијени резултати пружају значајан допринос расветљавању утицаја енергетских и алкохолних пића и њихових компоненти, на ЦНС човека. Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију под насловом „**Утицај кофеина, таурина и етанола, као компоненти енергетских и алкохолних пића, на диференцијацију, морфолошке и функцијске карактеристике неурона и астроцита у модел-систему хумане неурогенезе *in vitro***“ и предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Биолошког факултета да овај Извештај прихвати и одобри **Јелени Љ. Пејић** јавну одбрану докторске дисертације.

У Београду, 16. 11. 2026. године

КОМИСИЈА:

_____

др Милена Миливојевић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду – Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство

_____

др Јасмина Стојковска, научни саветник
Универзитет у Београду – Технолошко-металуршки факултет

_____

др Јован Пешовић, доцент
Универзитет у Београду – Биолошки факултет