

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Извештај Комисије за оцену докторске дисертације Марије (Радован) Вукчевић, мастер биохемичара.

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 9. октобра 2025. године, одређени смо за чланове Комисије за оцену докторске дисертације из Биохемије, кандидаткиње Марије (Радован) Вукчевић, мастер биохемичара, пријављене под насловом:

"Анализа серолошких маркера имунског одговора и параметара редокс статуса након примене бустер дозе COVID-19 вакцина"

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду на седници одржаној 29. маја 2025. године, на захтев Хемијског факултета, дало је сагласност на предлог теме докторске дисертације (евиденциони број: 61206-1980/2-25).

Комисија је докторску дисертацију прегледала и Наставно-научном већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација кандидаткиње Марије (Радован) Вукчевић написана је на српском језику, на укупно 110 страна, А4 формата (фонт *Cambria* величине 12 pt, са проредом 1 и маргинама 2 cm). Докторска дисертација је подељена на 9 поглавља: 1. Увод (2 стране); 2. Преглед литературе (27 страна); 3. Циљеви истраживања (1 страна); 4. Материјал и методе (8 страна); 5. Резултати (31 страна); 6. Дискусија (10 страна), 7. Закључци (1 страна); 8. Литература (26 страна); 9. Прилози (2 стране). Такође, текст дисертације садржи 48 слика, 15 табела и 342 литературна цитата. Поред наведеног, он обухвата и насловну страну на српском и енглеском језику (2 стране), страну која садржи имена чланова комисије (1 страна), захвалницу (2 стране), сажетак на српском и енглеском језику (по 1 страна), садржај (2 стране), листу скраћеница и акронима (4 стране), биографију кандидата (1 страна), изјаву о ауторству (1 страна), изјаву о истоветности (1 страна) и изјаву о коришћењу (2 стране). Додатно, дисертација садржи и мото (инспиративни цитат), постављен као засебна нумерисана страница, одмах након стране са именима чланова Комисије, а пре захвалнице.

У поглављу **Увод** описан је општи контекст настанка и тока пандемије COVID-19, са посебним освртом на брзину ширења SARS-CoV-2 вируса и његов утицај на јавно здравље. Истакнута је улога вакцинације као кључне стратегије у сузбијању пандемије, као и појава потребе за увођењем бустер доза вакцине, услед опадања поствакциналне заштите и настанка нових варијанти вируса. У овом поглављу дат је и осврт на повезаност инфекције SARS-CoV-2 са интензивном активацијом имунског система, развојем цитокинске олује и индукцијом оксидативног стреса, као и улогом реактивних врста кисеоника (ROS) у модулацији имунског одговора. С тим у вези, посебно је истакнут значај праћења редокс статуса као потенцијалног модулятора ефективности поствакциналног имунског одговора, с обзиром да оксидативни стрес може да утиче на функцију имуних ћелија, гликозилацију и стабилност антитела, као и на дугорочну заштиту организма након вакцинације.

Поглавље **Преглед литературе** обухвата релевантне теоријске и научне основе неопходне за разумевање истраживане теме дисертације. Он је подељен у две целине. Прва целина обухвата детаљан приказ структуре и геномске организације SARS-CoV-2 вируса, механизма инфекције, репликације и трансмисије вируса, као и патогенезе COVID-19

болести. У оквиру овог дела укратко је представљен имунски одговор организма на инфекцију, са освртом на урођене и стечене одбрамбене механизме. Посебно је обрађено подпоглавље „Вакцине против COVID-19“, у оквиру којег је дат систематичан преглед свих до сада развијених типова вакцина (инактивисане, векторске, iRNK, DNK и рекомбинантне субјединичне вакцине). Након тога, у посебним деловима текста анализирани су разлози за примену бустер дозе и концепт хибридног имунитета.

У поглављу **Циљеви истраживања** дефинисани су општи и специфични циљеви истраживања у оквиру дисертације, којима је обухваћена анализа имунског и редокс одговора организма након примене бустер дозе различитих COVID-19 вакцина, са проценом утицаја типа вакцине, претходне SARS-CoV-2 инфекције, као и присуства коморбидитета, на поствакцинални имунски и антиоксидативни одговор организма.

Поглавље **Материјал и методе** обухвата детаљан опис дизајна студије, критеријума за избор испитаника и етичких аспеката истраживања, укључујући и навођење дозволе Етичког одбора Завода за биоциде и медицинску екологију за употребу хуманог биолошког материјала у истраживачке сврхе (деловодни број 05-01 193/2 од 18. фебруара 2025. године). У наставку текста су описане лабораторијске методе за одређивање маркера хуморалног и ћелијског имунског одговора организма човека, укључујући мерење укупних неутралишућих и специфичних IgM и IgG антитела, као и концентрације IFN- γ , као показатеља ћелијског имунитета. Посебан део посвећен је извођењу анализа серумских редокс параметара (одређивање укупних протеина, албумина, укупних тиола и нитрита), као и процену укупне антиоксидативне активности (стандардни DPPH и FRAP тестови). Поглавље се завршава описом статистичке обраде добијених података мерења.

У поглављу **Резултати** концизно су приказани добијени експериментални резултати истраживања, систематизовани у целине у складу са постављеним циљевима дисертације. Прва целина даје основне демографске карактеристике испитаника и методолошку поделу узорака према фази истраживања. У студију је било укључено укупно 513 испитаника који су примили две дозе SARS-CoV-2 вакцине, а током истраживања и трећу (бустер) дозу. Истраживање је спроведено у две фазе: у првој су праћени нивои *anti-S1 IgG* антитела у шест временских тачака и редокс параметри у две тачке (пре и месец дана након бустер дозе), уз поделу испитаника у четири вакциналне групе, у зависности од врсте вакцине. У другој је анализиран хуморални и ћелијски имунски одговор организма, као и редокс статус у серуму, шест месеци након бустер дозе, код испитаника вакцинисаних са три дозе Sinopharm [Vero Cell]-инактивисане COVID-19 вакцине. Друга целина приказује динамику хуморалног и редокс одговора након примене бустер дозе различитих COVID-19 вакцина. Нивои *anti-S1 IgG* антитела одређени су пре треће дозе, као и један, три и шест месеци након бустер дозе вакцине, док су редокс параметри анализирани у две временске тачке – пре и месец дана након бустер дозе. Трећа целина приказује резултате шестомесечног одговора организма након хомологне бустер вакцинације Sinopharm [Vero Cell]-инактивисаном COVID-19 вакцином, где су анализирани и хуморални и ћелијски имунски одговор (укупна и специфична антитела, ниво IFN- γ), као и параметри редокс статуса. У оквиру сваке целине резултати су даље приказани кроз анализу утицаја типа вакцине, COVID-19 статуса и коморбидитета на праћене параметре, и корелациону и вишеструку регресиону анализу односа између редокс параметара и маркера имунског одговора.

У оквиру поглавља **Дискусија** разматрани су добијени резултати у односу на постојеће научне податке, са циљем да се процени значај уочених промена хуморалног, ћелијског и редокс одговора у серуму испитаника након бустер вакцинације против COVID-19. Добијени налази анализирани су у контексту доступне литературе, уз посебан осврт на

утицај типа вакцине, претходне SARS-CoV-2 инфекције и присуства коморбидитета на поствакцинални имунски и антиоксидативни профил у серуму испитаника.

У поглављу **Закључци** су сажето наведени најважнији резултати добијени овим истраживањем, уз нагласак на њихов клинички значај.

У поглављу **Литература** наведени су сви коришћени литературни извори, као релевантна основа за израду ове докторске дисертације.

У **Прилогу** је дат стандардизовани упитник, који су сви испитаници укључени у студију попуњавали пре и током овог истраживања.

Б. Кратак приказ резултата дисертације

Истраживање у оквиру ове докторске дисертације обухватило је анализу хуморалног, ћелијског и редокс одговора након примене бустер дозе различитих COVID-19 вакцина, са посебним освртом на утицај типа вакцине, претходне SARS-CoV-2 инфекције, пола, старости и присуства коморбидитета код испитаника. У оквиру две фазе истраживања праћени су нивои *anti-S1 IgG* антитела у више временских тачака, нивои укупних неутралишућих и специфичних IgM и IgG антитела, као и ниво IFN- γ , као показатеља ћелијског имунитета, док су изабрани редокс параметри (укључујући DPPH и FRAP антиоксидативни тест, садржај укупних тиола, нитрита, укупних протеина и албумина у серуму) одређени у различитим временским интервалима, ради процене антиоксидативног потенцијала и оксидативног стреса након вакцинације.

Резултати истраживања су показали да је хуморални имунски одговор након примарне вакцинације био најнижи код испитаника који су примили Sinopharm [Vero Cell]-инактивисану COVID-19 вакцину, при чему су нивои *anti-S1 IgG* антитела, код значајног броја особа били недетектабилни већ три до шест месеци након друге дозе вакцине. Насупрот томе, испитаници вакцинисани Pfizer-BioNTech и Sputnik V вакцинама задржали су нешто више вредности антитела, иако без статистички значајних разлика. Претходна SARS-CoV-2 инфекција је у свим вакциналним групама довела до значајно виших вредности антитела, што потврђује јасан ефекат хибридне имуности.

Анализа редокс параметара у серуму испитаника показала је да примена бустер дозе доводи до пролазних промена у оксидативној равнотежи (редокс хомеостази), најчешће у виду смањења антиоксидативне активности у DPPH тесту, нарочито код COVID-19 негативних испитаника. Изражене промене у нивоу албумина уочене су код COVID-19 позитивних испитаника, док је FRAP тест у већини група бележио стабилне, или благо повишене вредности. Полне разлике су биле изражене, са доследно вишим вредностима FRAP-а код мушкараца, посебно у Pfizer-BioNTech и Sinopharm групама. Старост се издвојила као значајан предиктор серумских редокс параметара, при чему су старији испитаници у појединим вакциналним групама показивали знаке смањене антиоксидативне резерве. Присуство коморбидитета није показало значајан утицај на ниво *anti-S1 IgG* антитела, али јесте забележен ефекат на поједине редокс параметре, посебно код испитаника са ендокриним и кардиоваскуларним поремећајима, што указује на већу осетљивост ове популације на оксидативни стрес након вакцинације.

Добијени резултати из прве фазе истраживања послужили су као основ за спровођење другог дела дисертације, у којем је код испитаника који су примили све три дозе Sinopharm [Vero Cell]-инактивисане COVID-19 вакцине, шест месеци након бустер дозе, истовремено процењен хуморални, ћелијски и редокс одговор организма, ради детаљније анализе трајања и квалитета поствакциналног имунитета. Испитаници који су били претходно

инфицирани SARS-CoV-2 вирусом, и који су примили све три дозе Sinopharm [Vero Cell]-инактивисане COVID-19 вакцине, показали су значајно више нивое свих анализираних антитела (*anti-S1 IgG*, *anti-N IgG*, неутралишућа антитела), као и IFN- γ , што потврђује снажан ефекат хибридног имунитета. Особе са ендокриним болестима имале су слабији хуморални одговор након вакцинације; ова разлика није уочена код испитаника који су претходно прележали COVID-19. Шест месеци након бустер дозе, COVID-19 позитивни испитаници имали су статистички значајно ниже вредности албумина и DPPH активности. Полне и старосне разлике такође су биле уочљиве – мушкарци су показали виши анти-оксидативни потенцијал (FRAP тест), док је старија животна доб била повезана са сниженим укупним тиолима и DPPH вредностима. Хронична обољења, нарочито кардиоваскуларна, ендокрина и плућна, показала су тенденцију ка сниженим вредностима серумских антиоксидативних параметара.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Ефикасност вакцинације условљена је сложеним међудејством карактеристика организма домаћина, својстава вируса и типа примењене вакцине, због чега је приликом тумачења резултата ове докторске дисертације било неопходно узети у обзир факторе као што су претходна SARS-CoV-2 инфекција, старост испитаника, присуство коморбидитета и циркулација различитих варијанти вируса у популацији.

Као и у претходним студијама, уочено је да Sinopharm [Vero Cell]-инактивисана COVID-19 вакцина индукује слабији хуморални имунски одговор у поређењу са iRNK и векторским вакцинама [1], док претходна SARS-CoV-2 инфекција у свим вакциналним групама доводи до појачаног имунског одговора, што потврђује ефекат хибридне имуности [2]. Резултати ове дисертације показују да је вакцинација са две дозе пружила одређени степен заштите код свих вакцинисаних особа, што је потврђено PCR дијагностиком SARS-CoV-2 инфекције. Бустер доза је значајно повећала ниво антитела, посебно у хетероложном режиму, али је њена заштитна ефикасност временом опадала, што је било уочљиво по постепеном расту броја PCR-позитивних случајева након бустер вакцинације. Ова појава је очекивана и у складу је са литературом, пошто доминација нових варијанти вируса, нарочито Omikron соја, значајно умањује ефикасност постојећих вакцина, посебно оних инактивисаних [3].

У погледу редокс хомеостазе, пролазно смањење вредности у DPPH антиоксидативном тесту након бустер вакцинације указује на краткотрајно повећање оксидативног оптерећења током ране поствакциналне фазе, у складу са литературним наводима о иницијално појачаној потрошњи антиоксиданаса услед активације ROS механизма [4]. Истовремено, благо повећање FRAP вредности може одражавати компензациони одговор кроз активацију алтернативних антиоксидативних путева [5]. Пад концентрације албумина код COVID-19 позитивних испитаника у складу је са подацима који описују албумин као осетљив негативни акутно-фазни протеин и потенцијални биомаркер заостале постинфективне инфламације [6,7]. Иако присуство коморбидитета није значајно утицало на хуморални имунски одговор, анализа редокс параметара указала је на тенденцију ка сниженој антиоксидативној резерви код особа са хроничним обољењима.

Резултати другог дела истраживања потврдили су ефекат хибридног имунитета, при чему су испитаници који су пре вакцинације прележали COVID-19 и примили три дозе Sinopharm [Vero Cell]-инактивисане COVID-19 вакцине имали значајно више нивое *anti-S1 IgG*, *anti-N IgG*, неутралишућих антитела и IFN- γ , у поређењу са COVID-19 негативним испитаницима. Ово је у потпуности у складу са публикацијама које хибридни имунитет описују као

„супериорни имунитет“, тј. најјачи и најдуготрајнији облик заштите [2,8].

Присуство коморбидитета није утицало на хуморални одговор након вакцинације, што је у складу са студијама које показују очувану имуногеност и код особа са хроничним болестима [9], али је ендокрини поремећај пратио слабији имунски одговор, осим код COVID-19 позитивних испитаника, где је хибридни имунитет неутралисао овај ефекат.

У погледу редокс статуса, COVID-19 позитивни испитаници имали су снижене вредности албумина и DPPH активности, што указује на перзистентни постинфективни оксидативни стрес – у складу са литературом која описује продужени редокс дисбаланс месецима након прележаног COVID-19 [10]. Истовремено, FRAP вредности су биле више, што може одражавати адаптивну повећану активацију алтернативних антиоксидативних система, како је такође описано у ранијим (наведеним) студијама.

Литература:

- [1] Zhang X, Xia J, Jin L, Wu Y, Zheng X, Cao X, et al. Effectiveness of homologous or heterologous immunization regimens against SARS-CoV-2 after two doses of inactivated COVID-19 vaccine: A systematic review and meta-analysis. *Hum Vaccin Immunother* **2023**;19:2221146. <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2221146>.
- [2] Nordström P, Ballin M, Nordström A. Risk of SARS-CoV-2 reinfection and COVID-19 hospitalisation in individuals with natural and hybrid immunity: a retrospective, total population cohort study in Sweden. *Lancet Infect Dis* **2022**;22:781–90. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00143-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00143-8).
- [3] Chen Z, Zhang Y, Wang M, Islam MS, Liao P, Hu Y, et al. Humoral and Cellular Immune Responses of COVID-19 vaccines against SARS-Cov-2 Omicron variant: a systemic review. *Int J Biol Sci* **2022**;18:4629–41. <https://doi.org/10.7150/ijbs.73583>.
- [4] Majumder N, Deepak V, Hadique S, Aesoph D, Velayutham M, Ye Q, et al. Redox imbalance in COVID-19 pathophysiology. *Redox Biol* **2022**;56:102465. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102465>.
- [5] Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci* **2021**;22:3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.
- [6] Kablan A, Otal Y, Avcioğlu G, Kösa MT. The Effect of the Vaccination Status of RT-PCR Covid-19 Cases on Albumin, N/L Ratio, CRP, and D-Dimer Levels. *Mevlana Medical Sciences* **2023**;3(1):17–21. <https://doi.org/10.56752/Mevmedsci.2023.23>.
- [7] Powanda MC, Moyer ED. A brief, highly selective history of acute phase proteins as indicators of infection, inflammation and injury. *Inflammopharmacology* **2021**;29:897–901. <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00820-z>.
- [8] Paniskaki K, Konik MJ, Anft M, Meister TL, Marheinecke C, Pfaender S, et al. Superior humoral immunity in vaccinated SARS-CoV-2 convalescence as compared to SARS-COV-2 infection or vaccination. *Front Immunol* **2022**;13:1031254. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1031254>.
- [9] Kontopoulou K, Nakas CT, Belai C, Papazisis G. Antibody titers after a third dose of the SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine in immunocompromised adults in Greece: Is a fourth dose necessary? *J Med Virol* **2022**;94:5056–60. <https://doi.org/10.1002/jmv.27954>.
- [10] Valente Coronel PM, Luiz Soares Basilio DC, Teixeira Espinoça I, Souza de Souza KF, Miranda Campos N, Seiji Nakano Ota R, et al. Involvement of oxidative stress in post-acute sequelae of COVID-19: clinical implications. *Redox Report* **2025**;30(1):2471738. <https://doi.org/10.1080/13510002.2025.2471738>.

Г. Објављени радови и саопштења који чине део докторске дисертације

Из резултата ове докторске дисертације проистекла су два научна рада, оба публикована у водећем међународном часопису категорије M21a.

Vukčević M, Despot M, Nikolić-Kokić A, Blagojević D, Nikolić M, Banko A, et al. Effect of Homologous and Heterologous Booster in COVID-19 Vaccination. *Pharmaceuticals* **2024**;17:1734. IF2(2024)= 4,8 (Категорија: Pharmacology & Pharmacy; 51/325).

DOI: <https://doi.org/10.3390/ph17121734>.

Vukčević M, Šerović K, Despot M, Nikolić-Kokić A, Vujović A, Nikolić M, et al. Humoral and Cellular Immune Response after Three Doses of Sinopharm [Vero Cell]-Inactivated COVID-19 Vaccine in Combination with SARS-CoV-2 Infection Leads to Hybrid Immunity. *Pharmaceuticals* **2024**;17:122. IF2(2024)= 4,8 (Категорија: Pharmacology & Pharmacy; 51/325).

DOI: <https://doi.org/10.3390/ph17010122>.

Поред наведених публикација, проистеклих из ове дисертације, Марија (Радован) Вукчевић (<https://orcid.org/0000-0002-7540-0215>) коаутор је још 3 рада објављених у водећим међународним часописима категорије M21, као и коаутор једног саопштења на скуповима националног значаја штампаног у изводу (M64).

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Оригиналност докторске дисертације Марије (Радован) Вукчевић је проверена употребом програма iThenticate, на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“, бр. 204/18). Резултати аутентичности су показали да је степен подударности у тексту од 6% настао услед коришћења универзалних скраћеница и термина везаних за област истраживања, као и претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из дисертације, што је све прихватљиво у складу са чланом 9. овог Правилника.

Из свега наведеног, сматрамо да је докторска дисертација Марије Вукчевић у потпуности оригинална, као и да су у потпуности испоштована академска правила цитирања.

Ђ. Закључак

На основу приказаних података и резултата, Комисија је закључила да је у поднетој дисертацији под називом „Анализа серолошких маркера имунског одговора и параметара редокс статуса након примене бустер дозе COVID-19 вакцина“, кандидаткиња Марија (Радован) Вукчевић успешно одговорила на све задате циљеве. Комисија је мишљења да је дисертација резултат самосталног и оригиналног истраживачког рада кандидаткиње, те да добијени резултати представљају значајан научни допринос у области Биохемије.

Наиме, ова докторска дисертација представља једно од првих систематских истраживања које је истовремено обухватило анализу параметара имунског одговора и редокс статуса након примене бустер (треће) дозе COVID-19 вакцина. Бустер доза значајно је појачала хуморални имунски одговор у свим испитиваним вакциналним групама, при чему су најизраженији ефекти уочени код хетерологне вакцинације и код особа са претходном SARS-CoV-2 инфекцијом, што потврђује изузетан значај хибридног имунитета. Код ових испитаника, шест месеци након три дозе Sinopharm [Vero Cell]-инактивисане COVID-19 вакцине, одржан је висок ниво *anti-S1 IgG*, *anti-N IgG* и неутралишућих антитела, уз стабилну активност IFN- γ , што указује на дуготрајну и функционално очувану заштиту. Насупрот томе, код особа без претходне инфекције забележен је пад концентрације *anti-S1 IgG* антитела шест месеци након бустер дозе, указујући на постепено слабење хуморалног

имунитета, могуће услед понављане стимулације вакцином са идентичним антигенским саставом. Анализа редокс статуса показала је да претходна инфекција SARS-CoV-2 може довести до трајног снижења антиоксидативног капацитета у серуму испитаника, као и до промењене повезаности између испитаних редокс и имунолошких параметара. Старост је идентификована као фактор постепеног опадања антиоксидативне заштите, док је бољи протеински ниво био повезан са снажнијим антиоксидативним капацитетом и вишим нивоима *anti-S1 IgG* антитела, што указује на значај метаболичке хомеостазе за оптимално функционисање имунолошке одбране. Даље, повезаност између редокс и имунолошких маркера показала се зависном од претходног COVID-19 статуса, указујући на могуће дугорочне последице инфекције на имунолошко-редокс хомеостазу.

Сумарно, резултати ове дисертације истичу значај бустер вакцинације, посебно хетерологних комбинација вакцина, потребу за индивидуализованим приступом имунизацији осетљивијих популација, као и значај праћења редокс параметара као могућих допунских биомаркера поствакциналног имуног одговора организма човека.

Резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације до сада су објављени у оквиру два научна рада штампана у међународним научним часописима из категорије M21a, у којима је кандидаткиња први аутор.

На основу свега изложеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да прихвати поднету докторску дисертацију Марије Вукчевић, мастер биохемичара, под насловом „Анализа серолошких маркера имунског одговора и параметара редокс статуса након примене бустер дозе COVID-19 вакцина“ за стицање звања доктора биохемијских наука, као и да одобри њену јавну одбрану.

У Београду, 06.11.2025.

КОМИСИЈА

др Марија Гавровић-Јанкуловић, редовни професор (председник Комисије)
Универзитет у Београду – Хемијски факултет

др Милан Николић, ванредни професор
Универзитет у Београду – Хемијски факултет

др Александра Николић Кокић, научни саветник
Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања “Синиша Станковић“

др Ана Банко, ванредни професор
Универзитет у Београду – Медицински факултет

др Марија Стојадиновић, доцент
Универзитет у Београду – Хемијски факултет