

## УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

**Предмет:** Извештај о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације **Фаизе Зафар**, мастера биохемије.

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 12. марта 2026. године, изабрани смо за чланове Комисије за подношење извештаја о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације кандидата **Фаизе Зафар**, мастера биохемије пријављене под насловом **“Развој *in vitro* модела за процену сензитизације протеина хране”/ “Development of an *in vitro* model for assessing the sensitization of food proteins”**.

На основу поднете и прикупљене документације, као и увида у досадашњи рад кандидаткиње, подносимо Наставно-научном већу следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### А. Биографски подаци о кандидату

Фаиза Зафар је рођена 5. новембра 1997. године у Равалпиндију, Пакистан. Средње образовање природно-математичког смера завршила је 2013. године на Исламабад модел колеџу за девојке, а вишу средњу школу завршила је 2015. године у *Global College System* у Равалпиндију, са предмедицинским усмерењем. Студије основног академског нивоа на студијском програму Биохемија уписала је на Универзитету Пир Мехр Али Шах Арида у Равалпиндију у академској 2015/2016. години и завршила их 2019. године са просечном оценом 3,95/4,00. Током основних студија била је добитница стипендије проректора за таленте (*Vice Chancellor's Talent Scholarship*) на Универзитету Пир Мехр Али Шах Арида у Равалпиндију, која се додељује студентима са највишим просеком у сваком семестру. У знак признања за изузетан академски успех, Институт за биохемију Универзитета Пир Мехр Али Шах Арида у Равалпиндију доделио јој је Златну медаљу као најбољем студенту у генерацији.

Године 2019. уписала је двогодишње мастер академске студије на Универзитету Каид-и-Азам у Исламабаду, Пакистан, на студијском програму Биохемија. Мастер студије је завршила 2021. године са просечном оценом 4,00/4,00. Њен мастер рад под насловом „Испитивање кардиопротективне улоге неурохормоналне miRNA мреже у моделу срчане исхемије“ представио је нове налазе у области медицине и поднет је на заштиту патента. Током мастер студија била је добитница стипендије коју додељује Универзитет Каид-и-Азам у Исламабаду, студентима који су остварили значајан успех. Фаиза Зафар је 2023. године уписала докторске академске студије на Хемијском факултету Универзитета у Београду, на студијском програму Биохемија. До сада је успешно положила све испите предвиђене планом и програмом са просечном оценом 9,83/10.

Од 2023. године запослена је на Катедри за биохемију Универзитета у Београду - Хемијског факултета као истраживач-приправник у оквиру пројекта „Алати за предвиђање алергености за нову храну (ALLPreT)“ који финансира Европска комисија у оквиру програма Marie Skłodowska-Curie Actions Doctoral Network (уговор бр. 101072377) оквирног програма Horizon Europe. Своја научна истраживања спроводи у области имунологије, са фокусом на молекулске механизме који леже у основи алергености хране и раних догађаја у процесу сензитизације на храну. У досадашњем раду примењивала је методе пречишћавања и карактеризације протеина, технике рада са хуманим ћелијским линијама, као и анализе експресије ћелијских рецептора и цитокина применом метода имуноцитохемије, qPCR и ELISA.

Своје резултате представила је на међународним научним скуповима организованим у оквиру ALLPreT конзорцијума, као и на конференцијама у организацији Биохемијског друштва Србије, укључујући XII (Београд, 2023) и XIII (Крагујевац, 2024) конференцију Биохемијског друштва Србије и скуп FEBS3+ (Београд, 2025). Такође је похађала више радионица и обука организованих од стране ALLPreT конзорцијума и партнерских институција у оквиру MSCA докторске мреже ALLPreT, укључујући курс о процени користи и ризика од хране на Техничком универзитету Данске, обуку из области *in vivo* модела сензитизације на Медицинском универзитету у Бечу, као и обуку из *in silico* моделовања на Медицинском универзитету у Софији, Бугарска.

Поред тога, завршила је напредну обуку из области *in vitro* интестиналних модела, укључујући рад са 3D микроткивима ради проучавања транспорта алергена и одговора епителне баријере у компанији MATTEK у Словачкој. Специјализовану обуку из INFOGEST *in vitro* модела гастроинтестиналне дигестије похађала је у истраживачком институту INRAE (Рен, Француска), где је радила са моделима дигестије одраслих и старијих особа у циљу процене утицаја матрикса хране на варење протеина и њихов накнадни интестинални унос.

Чланица је Биохемијског друштва Србије од 2024. године.

## **Б. Објављени научни радови и саопштења**

Кандидат **Фаиза Зафар** је аутор саопштења на више националних и међународних научних конференција.

### **Радови представљени на међународним конференцијама (M34)**

Ishtiaq, A.; Zafar, F.; Karim, S.; Mushtaq, I.; Hussain, K.; Murtaza, I. miRNAs as the key regulator of galectins in acute lymphoblastic leukemia. In: *Abstract Book of the SOHO 3rd Italian Conference*, 27–30 September 2021, Italy. *Hematology Reports* 13(3), 2021. <https://doi.org/10.4081/hr.2021.9389>

Ishtiaq, A.; Zafar, F.; Karim, S.; Mushtaq, I.; Hussain, K.; Murtaza, I. miRNAs' functional role as a molecular signature in diagnosis and prognosis of Non-Hodgkin's Lymphoma (NHL). In: *Abstract Book of the SOHO 3rd Italian Conference*, 27–30 September 2021, Italy. *Hematology Reports* 13(3), 2021. <https://doi.org/10.4081/hr.2021.9389>

### **Радови представљени на националним конференцијама (M64)**

Zafar, F.; Lopandić, Z.; Protić-Rosić, I.; Zlatanova, M.; Gavrović-Jankulović, M. Optimization of the protocol for isolation of lipid transfer protein from lentil. In: *Book of Abstracts of the XII Conference of the Serbian Biochemical Society*, 21 September 2023, Belgrade, Serbia.

## **В. Образложење теме**

**1. Научна област:** Хемијске науке

**Ужа научна област:** Биохемија

**2. Предмет научног истраживања**

Предмет истраживања ове докторске дисертације обухвата испитивање молекулских и ћелијских механизма који леже у основи епителне сензитизације на алергене хране, са циљем да се развију поуздани *in vitro* алати за процену и предвиђање алергености нових намирница. Истраживање се реализује у оквиру пројекта Marie Skłodowska-Curie Actions докторске мреже ALLPreT (Allergenicity Prediction Toolbox for Novel Foods),

чији је примарни циљ унапређење стратегија за процену алергеног ризика нових и модификованих извора протеина пре њиховог пласирања на тржиште. Алергени хране и неалергенски дијететски протеини користе се као модел-биомакромолекули за систематско испитивање њихових ефеката на активацију епитела, трансепителни транспорт и интегритет интестиналне баријере. Хумане интестиналне епителне ћелијске линије (Caco-2 и T84), култивисане на transwell уметцима, служиће као поједностављени, али функционално релевантни *in vitro* модели интестиналне баријере за проучавање раних молекулских и ћелијских догађаја који настају након контакта са дијететским протеинима. Ови иницијални догађаји препознају се као кључни у раној фази сензитизације на храну, током које епителне ћелије не делују искључиво као физичка баријера, већ активно учествују у обликовању имунског одговора кроз регулацију баријерне функције и секрецију имуномодулаторних медијатора.

Поред тога, у оквиру истраживања биће примењена *in vitro* гастроинтестинална дигестија коришћењем стандардизованог INFOGEST статичког протокола, укључујући моделе који симулирају дигестију одраслих и старијих особа, у циљу што верније репродукције физиолошки релевантних услова варења. Сирови и термички обрађени кикирики биће подвргнути *in vitro* дигестији пре излагања епителним ћелијама, како би се испитало на који начин гастроинтестинална разградња и технолошка обрада утичу на потенцијал сензитизације протеина кикирикија.

Транспорт протеина кроз епителни слој биће квантификован применом ELISA методе. Активација епителних ћелија пратиће се анализом експресије и секреције проинфламаторних цитокина, укључујући епителне алармине (IL-1 $\beta$ , IL-25, IL-33 и TSLP). Интегритет конфлуентних епителних монослојева биће испитан имунофлуоресцентном детекцијом протеина чврстих ћелијских веза, мерењем трансепителне електричне резистенције (TEER) као и пермеабилности монослоја за флуоресцентну боју Lucifer Yellow.

Интеграцијом ових приступа, истраживање има за циљ идентификацију дискриминаторних биомаркера који на нивоу епителне баријере поуздано разликују алергене од неалергенских протеина.

### 3. Научни циљеви

Научни циљеви ове докторске дисертације дефинисани су кроз следеће истраживачке фазе:

- Успостављање и оптимизација диференцираних *in vitro* модела интестиналног епитела, коришћењем ћелијских линија Caco-2 и T84 као поједностављених, али физиолошки релевантних модела хуманог цревног епитела.
- Примена INFOGEST статичког *in vitro* модела дигестије (модели одраслих и старијих особа) на сирови и термички обрађени кикирики, у циљу добијања физиолошки релевантних продуката гастроинтестиналне разградње.
- Компаративна анализа трансепителног транспорта алергенских и неалергенских протеина кроз диференциране епителне монослојеве, ради процене њихове способности преласка епителне баријере.
- Карактеризација епителне активације након излагања алергенима, кроз квантификацију кључних цитокина (IL-1 $\beta$ , IL-25, IL-33 и TSLP), као и процену активације редокс-зависних сигналних путева.
- Процена интегритета епителне баријере и структурног ремоделовања, мерењем трансепителне електричне резистенције (TEER), имунофлуоресцентном анализом протеина чврстих ћелијских веза и тестом пермеабилности помоћу флуоресцентне боје Lucifer Yellow.

- Идентификација молекулских и ћелијских биомаркера који поуздано разликују алергене од неалергених протеина и поседују предиктивну вредност за епителни стрес, дисфункцију баријере и про-сензитизујуће имуносигнализационе процесе.

#### 4. Методе истраживања

Хумане интестиналне епителне ћелијске линије (Caco-2 и T84) биће култивисане на *transwell* уметцима у циљу формирања конфлуентних, поларизованих монослојева са функционалним чврстим међућелијским везама. Успостављање и очување интегритета баријере пратиће се мерењем трансепителне електричне резистенције (TEER), као и имунофлуоресцентним обележавањем структурних протеина међућелијских веза и тестом пермеабилности помоћу флуоресцентне боје *Lucifer Yellow*. Трансепителни транспорт алергених протеина процењиваће се квантификацијом њиховог проласка у базолатерални одељак, применом ELISA методе и имуноблота. Поред анализе појединачних протеина, сирови и термички обрађени кикирики биће подвргнути INFOGEST статичком *in vitro* моделу дигестије, у условима који симулирају гастроинтестиналну дигестију одраслих и старијих особа. Добијени производи дигестије биће детаљно окарактерисани и нанесени на апикалну страну епителних монослојева, у циљу процене утицаја протеинских модификација изазваних дигестијом и технолошком обрадом на интестинални епител. Паралелно, епителни одговор на стрес биће анализиран мерењем нивоа унутарћелијских реактивних кисеоничних врста (ROS) и производње азот-оксида, чиме ће се пратити редокс-регулисани сигнални механизми опасности повезани са излагањем алергенима.

Активација епитела биће детаљно окарактерисана анализом генске експресије и секреције кључних цитокина (IL-1 $\beta$ , IL-25, IL-33 и TSLP), који ће бити квантификовани на нивоу mRNA и протеина применом qPCR и ELISA методологије. У циљу функционалне процене активације имуноског система, базолатерални супернатанти добијени са епителних монослојева изложених алергенима биће примењени на диференциране THP-1 макрофаге, као модел интестиналних мијелоидних ћелија. Активација макрофага пратиће се мерењем ослобађања проинфламаторних цитокина, чиме ће се омогућити функционална евалуација интеракције између епителних и имунских ћелија након трансепителне транслокације алергена.

Интеграцијом ових комплементарних експерименталних приступа обезбедиће се механистичко разјашњење начина на који алергени, у поређењу са неалергеним протеинима, као и алергени модификовани дигестијом и матриксом хране, утичу на интегритет епителне баријере, сигнализацију стреса, секрецију цитокина и активацију имуноског одговора. Овако добијени подаци пружиће добру научну основу за развој предиктивних *in vitro* алата за процену алергености хране у оквиру ALLPreT пројекта.

#### 5. Актуелност проблематике

Алергија на храну представља све израженији изазов за јавно здравље, погађајући више од 220 милиона људи широм света. Клиничке манифестације варирају од благих оралних симптома до тешке, по живот опасне анафилаксе [1]. Убрзани развој одрживих, климатски отпорних и алтернативних извора протеина (попут инсеката, алги и биљних

замена за месо) намеће потребу за поузданим и предиктивним алатима за процену алергености. Такви алати су кључни за потврду безбедности нових намирница пре њиховог пласирања на тржиште, у складу са регулаторним оквиром Европске уније који се односи на нову храну [2]. Ипак, постојеће стратегије процене алергености и даље не укључују валидиране, механистички засноване предиктивне моделе, посебно када је реч о процени потенцијала сензитизације нових и модификованих протеина [3].

Фаза сензитизације представља суштински предуслов за развој IgE-посредоване алергије на храну, јер обухвата иницијалне молекулске и ћелијске догађаје који се одвијају на нивоу епителних баријера [1]. Епителне ћелије интестиналне мукозе не делују искључиво као пасивна физичка препрека, већ имају активну имуномодулаторну улогу. Оне регулишу транспорт протеина, одржавају интегритет баријере и секретују цитокине и алармине који усмеравају и обликују даље имуне одговоре [4,5]. Ипак, упркос њиховом централном значају, механизми који управљају транспортом алергена кроз епителне баријере, као и процеси активације епителних ћелија протеинима хране, још увек нису у потпуности разјашњени. Додатно, кључни фактори који утичу на процес сензитизације — укључујући пут и дозу изложености, трајање излагања, ефекте дигестије и матрикса хране, технолошку обраду, као и специфичан епителни контекст — недовољно су интегрисани у постојеће приступе процени алергености хране [6].

Оквир пута нежељеног исхода (Adverse Outcome Pathway, AOP) за сензитизацију на храну препознаје поремећај интегритета епителне баријере и активацију епителних ћелија као кључне ране догађаје који иницирају развој алергијске сензитизације [7]. Истовремено, технолошка обрада хране и гастроинтестинална дигестија могу значајно променити конформацију протеина, изложеност епитопа и њихову биодоступност, чиме директно утичу на алергенски потенцијал дијететских протеина [8,9].

Свеобухватна карактеризација ових раних епителних одговора омогућиће идентификацију поузданих, предиктивних маркера алергенског потенцијала и представљаће значајан корак ка развоју валидираних *in vitro* алата за процену алергености хране. Развој нових *in vitro* алата за предвиђање алергености хране је у складу са директивом Агенције за храну и лекове (FDA) САД из 2025. године, која се односи на развој методологија новог приступа (*New Approach Methodologies*) у циљу добијања бржих и прецизнијих процена ризика за људе уз истовремено смањење употребе животиња.

## **6. Очекивани резултати истраживања**

Очекивани резултати ове докторске дисертације обухватају развој робусног, механистички утемељеног *in vitro* модела интестиналног епитела, намењеног проучавању раних догађаја у процесу сензитизације на храну. Поред тога, очекује се идентификација поузданих биомаркера епителног порекла повезаних са алергенским потенцијалом протеина, као и генерисање експерименталних података који ће допринети унапређењу стратегија процене ризика од алергености нових намирница. Добијени резултати представљаће научну основу за даљи развој предиктивних алата и пружиће значајан допринос активностима у оквиру ALLPreT пројекта.

## 7. Литература

1. Garcia-Carmona, Y.; Curotto de Lafaille, M.A. Advances in Food Allergy Immunotherapy: Current Strategies and Role of Antibodies Isotypes. *Cells* **2025**, *14*.
2. Uddin, M.J.; Saeed, S.M.; Hussain, S.B.; Dina, A.A.; Upoma, N.J. Safety and Regulatory Frameworks for Unconventional Food Sources. *Dietary, Sensory and Gastronomic Applications: Exploring Unconventional Food Sources Volume 2* **2026**, *2*, 719–745, doi:10.1016/B978-0-443-33345-3.00038-9.
3. Smits, M.; Nooijen, I.; Redegeld, F.; de Jong, A.; Le, T.M.; Knulst, A.; Houben, G.; Verhoeckx, K. Digestion and Transport across the Intestinal Epithelium Affects the Allergenicity of Ara h 1 and 3 but Not of Ara h 2 and 6. *Mol. Nutr. Food Res.* **2021**, *65*, doi:10.1002/mnfr.202000712.
4. Anania, C.; Cuomo, B.; D'Auria, E.; Decimo, F.; Indirli, G.C.; Manca, E.; Mondì, F.; Pendezza, E.; Sartorio, M.U.A.; Calvani, M. Intestinal Barrier Dysfunction and Food Allergy. *Italian Journal of Pediatric Allergy and Immunology* **2024**, *38*, 22–35, doi:10.53151/2531-3916/2024-352.
5. Niewiem, M.; Grzybowska-Chlebowczyk, U. Intestinal Barrier Permeability in Allergic Diseases. *Nutrients* **2022**, *14*.
6. Cochrane, S.; Beyer, K.; Clausen, M.; Wjst, M.; Hiller, R.; Nicoletti, C.; Szepfalusi, Z.; Savelkoul, H.; Breiteneder, H.; Manios, Y.; et al. Factors Influencing the Incidence and Prevalence of Food Allergy. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* **2009**, *64*, 1246–1255.
7. Lozano-Ojalvo, D.; Benedé, S.; Antunes, C.M.; Bavaro, S.L.; Bouchaud, G.; Costa, A.; Denery-Papini, S.; Díaz-Perales, A.; Garrido-Arandia, M.; Gavrovic-Jankulovic, M.; et al. Applying the Adverse Outcome Pathway (AOP) for Food Sensitization to Support in Vitro Testing Strategies. *Trends Food Sci. Technol.* **2019**, *85*, 307–319, doi:10.1016/J.TIFS.2019.01.014.
8. Ozyurek-Arpa, F.; Yaman, M.; Çakır, B.; Kalkan, I. Impact of Thermal and Biotechnological Processing on the Bioaccessibility and Allergenic Peptide Profile of White Lupin (*Lupinus Albus*). *Front. Nutr.* **2026**, *12*, doi:10.3389/fnut.2025.1757989.
9. Pang, L.; Liu, M.; Li, X.; Guo, L.; Man, C.; Yang, X.; Jiang, Y. Effect of Enzymatic Hydrolysis Combined with Processing on Allergenicity of Food Allergens. *Trends Food Sci. Technol.* **2024**, *143*, 104248, doi:10.1016/j.tifs.2023.104248.

## Г. Закључак

На основу циљева и очекиваних резултата наведених у овом извештају, Комисија сматра да је предложено истраживање научно утемељено и релевантно да обезбеди нове приступе на савремене изазове у области истраживања алергија на храну. Очекује се да ће резултати допринети бољем разумевању раних епителних одговора на алергене протеине, као и развоју поузданих *in vitro* модела без употребе животиња и идентификацији биомаркера за унапређену процену алергеног потенцијала нових намирница.

У складу са Законом о високом образовању и Статутом Хемијског факултета Универзитета у Београду, сматрамо да кандидаткиња испуњава све прописане услове за одобрење израде докторске дисертације. Комисија стога предлаже Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да одобри израду докторске дисертације кандидаткињи **Фаизи Зафар**, мастеру биохемије, према оригиналном предлогу кандидаткиње, под називом:

**“Развој *in vitro* модела за процену сензитизације протеина хране”/ “Development of an *in vitro* model for assessing the sensitization of food proteins”**

Комисија предлаже др Марију Гавровић-Јанкуловић, редовног професора Универзитета у Београду – Хемијског факултета, за ментора.

Списак публикација предложеног ментора у научним часописима индексираним у Science Citation Index (SCI), које квалификују ментора за вођење докторске дисертације кандидаткиње, дат је у Прилогу 1 овог извештаја.

Београд,

**18. март 2026**

**Комисија**

---

Др Марија Гавровић-Јанкуловић (ментор), редовни професор,  
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

---

Др Тања Ђирковић-Величковић, редовни професор,  
Универзитет у Београду - Хемијски факултет, редовни члан САНУ

---

Др Милица Поповић, ванредни професор,  
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

---

Др Иванка Марковић, редовни професор,  
Универзитет у Београду - Медицински факултет

## Прилог 1

Спискови радова предложеног ментора објављених у научним часописима са Science Citation Index (SCI) листе који квалификују ментора за вођење докторске дисертације. Према Scopus бази: укупан број цитата 2005 (Хиршов индекс 25), без аутоцитата 1749 (Хиршов индекс 22)

Име и презиме ментора: др Марија Гавровић-Јанкуловић

Звање: редовни професор

### Изабрани радови предложеног ментора

Zlatanova, M., Nešić, A., Trbojević-Ivić, J., Četić, D., & Gavrović-Jankulović, M. (2024). Targeting NF-κB Signaling: Selected Small Molecules Downregulate Pro-Inflammatory Cytokines in Both Food Allergen and LPS-Induced Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5798. <https://doi.org/10.3390/ijms25115798>

Protić-Rosić, I., Lopandić, Z., Popović, D., Blagojević, G., & Gavrović-Jankulović, M. (2024). rBet v 1a-BanLecwt induce upregulation of IL-10 and IFN-γ gene expression in Caco-2/THP-1 co-culture and secretion of IL-10 and IFN-γ/IL-4 levels in PBMCs of birch pollen allergic donors. *International Immunopharmacology*, 129, 111607. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.111607>

Durašinović, T., Lopandić, Z., Protić-Rosić, I., Nešić, A., Trbojević-Ivić, J., Jappe, U., & Gavrović-Jankulović, M. (2024). Identification of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from banana fruit as a novel plant panallergen. *Food Chemistry*, 437, 137782. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137782>

Nešić, Andrijana, Annemarie Stam, Milena Čavić, Jean Paul ten Klooster, Raymond Pieters, Joost Smit, and Marija Gavrović-Jankulović. "Activation of epithelial cells by the major kiwifruit allergen Act d 1 in human- and mouse-derived intestinal model." *Journal of Functional Foods* 62 (2019): 103556. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103556>

Nikolić, Jasna, Andrijana Nešić, Milena Čavić, Neda Đorđević, Uroš Anđelković, Marina Atanasković-Marković, Branko Drakulić, and Marija Gavrović-Jankulović. "Effect of malondialdehyde on the ovalbumin structure and its interactions with T84 epithelial cells." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects* 1861, no. 2 (2017): 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.11.021>