



06ч

ВЕЋЕ ЗА СТУДИЈЕ ПРИ УНИВЕРЗИТЕТУ

Предмет: Подобност теме и кандидата мр Гордане Станојевић Виталиано, др. мед., за израду докторске дисертације

Одлуком бр. 06:612-21042/IX-4955/2-13 од 30.10.2013. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену подобности теме и кандидата мр Гордане Станојевић Виталиано, др. мед., за израду докторске дисертације и научне заснованости теме „Нова нанотехнологија на бази клатрина за пренос великих протеинских молекула у централни нервни систем“.

На основу материјала приложеног уз Захтев кандидата, Комисија подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Гордана Станојевић Виталиано је дипломирала на Медицинском факултету Универзитета у Београду 1985. године. Исте године је добила стипендију Српске академије наука и уметности као најбољи дипломирани студент медицине. Уписала је магистарске студије на Медицинском факултету Универзитета у Београду 1986. године, на одсеку Неуропсихологија, где је са одличним успехом положила све испите. Магистарске студије је завршила 1990. године, са темом магистарског рада „Епидемиолошка анализа анксиозних поремећаја – утицај наследних фактора“, под руководством проф. др. Љубомира Ерића. Положила је специјалистички испит из психијатрије на Медицинском факултету Универзитета у Београду 1991. године и у САД 2007. године.

Од 1986. до 1991. године је радила у КБЦ „Др Драгиша Мишовић Дедиње“ на психијатријској клиници. У САД је отишла у септембру 1991. године као стипендиста Фогарти центра Националног института за здравство, и истраживачки рад је наставила на Бостонском универзитету од 1991. до 1993. године. Од 1994. до 2002. године је радила као директор научног института VXM компаније (сада EXQOR Inc.) у Бостону. Завршила је специјализацију из психијатрије на Тафтс универзитету у Бостону 2006. године и исте године је запослена као психијатар и инструктор психијатрије на Харвардском универзитету у Бостону у McLean болници. Ради паралелно на докторској дисертацији и сарађује на 6 различитих пројеката Националног института за здравство у САД. У циљу реализације докторске дисертације остварила је успешну сарадњу са проф. др. Perry Renshaw (University of Utah) и др. Martin Teicher (Harvard University). Њена истраживања су финансирани Национални институт за здравство у САД (пројекат #1R03DA025804) и NARSAD фондација (www.bbrfoundation.org).

Научно-истраживачки рад кандидата мр. Гордане Станојевић Виталиано, др. мед., до сада је био усмерен на следеће области: неуронауке, неуропсихијатрија, биомедицинско инжењерство и технологије, наномедицина, неуроимунинг – и посебно на област бионанотехнологија и њихову примену у наномедицини, што је предмет предложене докторске дисертације. Самостално или у сарадњи са другим ауторима објавила је седам радова у међународним часописима, три рада у домаћим часописима, 14 радова на међународним конференцијама и 6

радова на конференцијама од националног значаја. Има четири реализована патента у САД. Такође је пријавила три нова патента у САД и један у Европи. Рад који се директно односи на проблем који се проучава у докторској тези објављен је у међународном часопису са СЦИ листе који припада категорији М21 (<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0035821>): **G. D. Vitaliano**, F. Vitaliano, J. D. Rios, P. F. Renshaw, M. H. Teicher (2012), New clathrin-based nanoplatfoms for magnetic resonance imaging. *PloS One* 7, e35821.

1.2. Стечено научно-истраживачко искуство

Током студија, кандидат мр Гордана Станојевић Виталиано, др. мед., стекла је завидно знање из области неуронаука и биомедицинског инжењерства. Током усавршавања у иностранству, стекла је потребно знање везано и за методе истраживања биоматеријала у наномедицини, што је од суштинске важности за реализацију докторске дисертације. Такође, упозната је са различитим софтверима (SAS, SPSS и GraphPad Prism) што ће бити од важности приликом обраде података за докторску дисертацију.

У свом истраживачком раду претежно је била оријентисана на рад са наноматеријалима на бази клатрина и методама њихове карактеризације, претежно употребом нуклеарне магнетне резонанце, ласерске методе (DLS), трансмисионе електронске микроскопије, флуоресцентне и конфокалне микроскопије, UV-Vis и флуоресцентне спектроскопије, хроматографије (FPLC), тако да је у потпуности упозната са овим методама карактеризације и са коришћењем поменуте апаратуре. Такође, користила је различите неуроанатомске, хистолошке, имунолошке и молекуларно биолошке методе у својим истраживањима. Као резултат испитивања нове нанотехнологије на Харвардском универзитету и у EXQOR компанији у Бостону проистекао је публиковани рад у престижном научном часопису PLoS ONE и 4 реализована патента.

Списак објављених радова мр Гордане Станојевић Виталиано, др. мед.

Радови у међународним часописима

1.1. **Vitaliano G.** (2000) A new integrative model for states of consciousness, *NLP World*, Vol. 7, No 2, pp. 41-82. (/)

1.2. Ohashi K., **Vitaliano G.**, Polcari A., Teicher M. (2010) Unraveling the nature of hyperactivity in children with attention deficit hyperactivity disorder, *Archives of General Psychiatry*, Vol. 67, No 4, pp. 388-396. (M21)

1.3. Teicher M., **Vitaliano G.** (2011) Witnessing violence toward siblings: An understudied but potent form of early adversity, *PLoS ONE*, 6(12): e28852. (M21)

1.4. **Vitaliano G.**, Vitaliano F., Rios D., Renshaw P., Teicher M. (2012) New clathrin-based nanoplatfoms for magnetic resonance imaging, *PLoS ONE*, 7(5): e35821. (M21)

1.5. Teicher M. Polcari A., Fourligas N., **Vitaliano G.** Navalta C. (2012) Hyperactivity persists in male and female adults with ADHD and remains a highly discriminative feature of the disorder, *BMC Psychiatry* 2012, 12:190. (M23)

1.6. Sikoglu E., Jensen J. E., **Vitaliano G.**, Liso Navarro A., Renshaw P. F., Frazier J. A., Moore C. (2013): Bioenergetic measurements in children with bipolar disorder: A pilot 31P magnetic resonance spectroscopy study, *PLoS ONE*, 8(1): e54536. (M21)

1.7. Rohan M. L., Yamamoto R. T., Ravichandran C. T., Cayetano K. R., Morales O. G., Olson D. P., **Vitaliano G.**, Paul S. M., Cohen B. M., (2013) Rapid mood-elevating effects of low field magnetic stimulation in depression, *Biological Psychiatry*, in press (DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.10.024).

(M21)

Радови у домаћим часописима

2.1. **Stanojevic G. D.** (1987) An integrative psychotherapeutic approach for the treatment of sexual dysfunctions, *Yugoslavian Psychotherapists' Publication: Psychotherapy and Human Sexuality*, Vol. 2, pp. 13-25.

2.2. **Stanojevic G. D.** (1987) Hypnosis in treatment of sexual dysfunctions (cases), *Yugoslavian Psychotherapists' Publication: Psychotherapy and Human Sexuality*, Vol. 2, pp. 26-30.

2.3. **Stanojevic G. D.** (1989) Neuro-linguistic programming: Meta model. *Belgrade Avalske Sveske: Psychotherapy - Dilemmas and Perspectives*, Vol. 9, pp. 197-199.

Радови саопштени на скуповима међународног значаја штампани у целини

3.1. Rakovic D., Koruga Dj., Martinovic Z., **Stanojevic G. D.** (1989) Molecular electronics and neural networks: Significance of ionic structure, *Proc. 11th Ann. Int. Conf. IEEE/EMBS*, Vol. 11, Part 4/6, pp. 1366-1367.

3.2. **Stanojevic G. D.** (1990) Neuropsychological model of consciousness, *International School on Neuro-computing*, Dubrovnik, European Centre for Peace and Development (ECPD) of the United Nations University for Peace, Vol. 1, No 1, pp. 31-77.

3.3. Rakovic D., Koruga D., Martinovic, Z., **Stanojevic G. D.** (1991) On biophysical structure of brain-like biocomputers, in P.I. Lazarev, Ed., *Molecular Electronics*, Kluwer Academic Pub., pp. 211-217; presented at *2nd Int. Conf. Mol. Electr. Biocomp*, Moscow (1989).

3.4. Rakovic D., Koruga Dj., **Stanojevic G. D.** (1993) On the nature of molecular electronics' hardware for neural networks with consciousness-like internal displays, in Blank M, Ed., *Electricity and Magnetism in Biology and Medicine*, San Francisco Press Inc., pp. 1-3.

3.5. Rakovic D., **Stanojevic, G. D.** (1993) Neural networks with embedded brainwaves: A biophysical model for altered states of consciousness, *Proc. First World Congress for Electricity and Magnetism in Biology and Medicine*, Orlando, Florida.

3.6. **Vitaliano G.** (1993) Spectrum of psychotherapies, *Shenandoah Healing Exploration Meeting, NIH Report*, Rappahanock, Virginia, pp 1-6.

3.7. **Vitaliano G.**, Rakovic, D. (1995) Neural networks versus brainwaves: A biophysical model for states of consciousness and energy medicine, *Proceedings of The 1st Int. Yan Xin Qigong Science Symposium*, Yale University, CT. pp. 32-35.

3.8. **Vitaliano G.** (1995) A relativistic model for dualistic nature of consciousness, *Proceedings of the Interdisciplinary Conference - Toward a Scientific Basis for Consciousness*, Tucson, Arizona.

3.9. **Vitaliano G.** (1996) Neurolinguistic programming - An integrative model for states of consciousness, in Rakovic D. & Koruga Dj. Eds. *Consciousness: Scientific Challenge of the 21st*

Century, European Centre for Peace and Development (ECPD) of the United Nations University for Peace, pp. 144-167.

3.10. **Vitaliano G.** (1997) A new biophysical model for multilevel nature of consciousness, *Proc. 16th Annual Meeting of the Society for Scientific Exploration*, Las Vegas, NV, pp. 3-4.

3.11. **Vitaliano G.** (1998) NLP - An integrative model for states of consciousness, in Rakic Lj., Kostopoulos G., Rakovic D, Koruga Dj, Eds., *Brain and Consciousness*, European Centre for Peace and Development (ECPD) of the United Nations University for Peace, pp. 150-158.

3.12. **Vitaliano G.** (2000) Kansei user interfaces: Merging human emotion and AI for next generation interfaces, *IBM Make IT Easy 2001 Conference*, San Jose, CA.

3.13. **Vitaliano G., Vitaliano F.** (2002) VXM Maya quantum computing, *U.S. Department of Defense Horizontal Technology Integration Information Exchange Conference*, U.S. Department of Defense, Huntsville, AL.

3.14. **Vitaliano G., Vitaliano F.,** (2011) New nanotechnologies for brain stimulation and imaging, *Proc. QIM 2011, Knowledge Federation Dialog*, Belgrade, Serbia.

Радови саопштени на скуповима националног значаја штампани у целини

4.1. **Stanojevic G. D.** (1983) Language and limbic system, *Proc. 25th Congress of Yugoslavian Medical Students*, pp. 15-17.

4.2. **Stanojevic G. D.** (1987) Hypnosis in integrative psychotherapy, *Proc. 5th Yugoslavian Congress of Psychotherapists*, pp. 40-41.

4.3. **Stanojevic G. D.** (1987) Application of hypnosis with patients themselves requiring hypnotherapy, *Proc. 5th Yugoslavian Congress of Psychotherapists*, pp. 42-44.

4.4. **Stanojevic G. D.** (1989) Neuro-linguistic programming: Information processing. *Proc. Inform. Biotechnol. Belgrade School*, Vol. 2, pp. 1-14.

4.5. **Stanojevic G. D.** (1990) Neuro-linguistic programming: Meta model of language. *Proc. Linguistic and Speech Recognition. Belgrade School*, Vol. 3, pp. 1-43.

4.6. Rakovic D., Koruga Dj., **Stanojevic, G. D.** (1990) Consciousness versus subjective time sense: relativity as a clue? *Proc. Inform. Biotechnology. Belgrade School*, Vol. 4, pp. 1-30.

Радови на међународним и националним конференцијама штампани у изводу

5.1. **Vitaliano G., Rios D., Vitaliano F., Renshaw P. F., Teicher M.** (2009) Clathrin nanoparticles as potential high-relaxivity magnetic resonance contrast agents for molecular brain imaging, *Harvard Medical School Mysell Research Day*, Boston, MA.

5.2. **Vitaliano G., Rios D., Vitaliano F., Teicher M.** (2009) Clathrin nanoparticles as potential high-relaxivity magnetic resonance nanoprobes for molecular brain imaging, *2009 Molecular Imaging Congress*, Montreal, Canada.

5.3. Moore C. M., Jensen J. E., Gönenç A., Crowley D., **Vitaliano G., Renshaw P. F., Frazier J. A.**

(2010) Investigation of high energy metabolism in lithium treated children with bipolar disorder: A 31P MRS study, Abstract, *Society of Biological Psychiatry 65th Annual Meeting*, New Orleans, LA.

5.4. Rohan M. L., Yamamoto R., Cayetano K., Morales O. G., Olson D., **Vitaliano G.**, Cohen B. M. (2010) Low field magnetic stimulation as a treatment for depression: Initial study with a new device, *Society of Biological Psychiatry 65th Annual Meeting*, New Orleans, LA.

5.5. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Renshaw P., Teicher M. (2010) MRI nanoprobe for molecular imaging of dopamine receptors, *McLean Research Day*, Boston, MA

5.6. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Renshaw P., Teicher M. (2010) Clathrin MRI nanoprobe for drug addiction, *49th Meeting of American College of Neuropsychopharmacology*, Miami, FL.

5.7. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Renshaw P., Teicher M. (2011) magnetic resonance clathrin-based nanoprobe for molecular imaging of dopamine receptors, *Harvard Medical School Myself Research Day*, Boston, MA.

5.8. Teicher M., Ohashi K., Baroni A., Polcari A., **Vitaliano G.**, Faedda G. (2011) Locomotor activity disturbances as biobehavioral markers for attention deficit hyperactivity disorder and bipolar disorder, *The 33rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Boston

5.9. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Renshaw P., Teicher M. (2011) High-relaxivity magnetic resonance clathrin-based nanoprobe for molecular imaging of dopamine receptors, *Neuroscience 2011*, Washington, DC.

5.10. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Renshaw, P. F., Teicher M. (2011) Clathrin triskelia as potential high-relaxivity magnetic resonance nanoprobe, *2011 World Molecular Imaging Congress*, San Diego, CA.

5.11. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Renshaw, P. F., Teicher M. (2012) Clathrin triskelia as ultra-high-relaxivity magnetic resonance nanoprobe, *McLean Research Day*.

5.12. **Vitaliano G.**, Rios D., Young L., Vitaliano F., Lee D., Renshaw, P. F., Teicher M. (2012) Magnetic resonance clathrin-based nanoprobe for molecular imaging of dopamine transporters, *Harvard Medical School Myself Research Day 2012*, Boston, MA.

5.13. **Vitaliano G.**, Rios D., Young L., Vitaliano F., Lee D., Renshaw, P. F., Teicher M. (2012) Dopamine transporter nanoprobe for CNS molecular magnetic resonance imaging and targeted drug delivery, *World Molecular Imaging Congress*, Dublin.

5.14. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Teicher M. (2012) New clathrin-based nanotechnology for delivering antibodies to the brain, *Neuroscience 2012*, New Orleans.

5.15. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Teicher M. (2013) Clathrin-based nanotechnology for delivering antibodies to the brain, *McLean Research Day*, Boston, MA.

5.16. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Teicher M. (2013) New clathrin nanotechnologies for delivering antibodies to the brain, *Harvard Medical School Myself Research Day 2013*, Boston, MA.

5.17. **Vitaliano G.**, Rios D., Vitaliano F., Teicher M. (2013) Clathrin nanotechnologies for delivering antibodies to the brain, *Society of Biological Psychiatry 68th Annual Convention*, San Francisco, CA.

- 5.18. **Vitaliano G.**, Rios D., Young L., Vitaliano F., Lee D., Renshaw, P. F., Teicher M. (2013) New nanoprobe for magnetic resonance imaging of dopamine transporters, *World Molecular Imaging Congress*, Savannah, Georgia.
- 5.19. **Vitaliano G.**, Vitaliano F., Cramer T., Neumeyer M., Neumeyer J., Teicher M. (2013) Targeting microglia in the brain by delivering antibodies via nanoparticles, *Neuroscience 2013*, San Diego, LA.
- 5.20. Copersino, M. L., Janes, A. C., Hocke, L. M., Chakravarty, M. M., Frederick, B. D., Frost, K. H., Hurley-Dorof, W. M., **Vitaliano, G. D.**, Faberman, J., Davidoff, D. A., Weiss, R. D., Lukas, S. E. (2013) Cortical and subcortical volumetric changes in treatment seeking patients with substance use disorders, *75th Annual Scientific Meeting of the College on Problems of Drug Dependence*, San Diego, CA.
- 5.21. **Vitaliano G.**, Cramer T., Shanmugavadivu A., Vitaliano F., Neumeyer M., Neumeyer J., Teicher M. (2014) Targeting microglia in the brain by delivering antibodies via clathrin nanoparticles, *2014 McLean Research Day*, Boston, MA.
- 5.22. Douglas S., Admon R., Treadway M. T., **Vitaliano G.**, Olson D. P., Cohen A. L., Pizzagalli D. A. (2014) "Your performance was too poor": A new clinical paradigm for inducing acute sustained stress, *McLean Research Day*, Boston, MA.
- 5.23. Beltzer M., Admon R., Olson D., **Vitaliano G.**, Murray L., Goer F., Brooks N., Pizzagalli D. A. (2014) Pharmacological dopaminergic enhancement may lead to reward function normalization in major depression: Preliminary evidence, *McLean Research Day*, Boston, MA.
- 5.24. Treadway M. T., Admon R., Douglas S., **Vitaliano G.**, Olson D. O., Pizzagalli D. A. (2014) Neural mechanisms for stress-mediated shift in reward-punishment learning, *2014 Annual Meeting of the Cognitive Neuroscience Society*, Boston, MA.
- 5.25. **Vitaliano G.**, Cramer T., Shanmugavadivu A., Vitaliano F., Neumeyer J., Teicher M. (2014) Detecting activated microglia in the brain by delivering antibodies via nanoparticles, *Society of Biological Psychiatry 69th Annual Convention*, New York, NY.

Књиге

- 6.1. **Stanojevic, G.** (1989) Ed., transl. *Handbook of Hypnosis* Vol.1. Belgrade: Medical Books.
- 6.2. **Stanojevic, G.** (1989) Ed. Translator (from German to Serbo-Croatian), *Lisher's Color Test*, Belgrade: Aquarius.
- 6.3. **Vitaliano, G.** (1995) *Vital Training, Transforming Thought Into Action*, booklet and 4 CDs, Boston: Mindwaves Publ.

Патенти

- 7.1. Vitaliano, F. & **Vitaliano G.** Quantum Information Processing Platforms, US Patent # 7,219,018.
- 7.2. Vitaliano, F. & **Vitaliano G.** Quantum Information Processing Elements, US Patent # 7,219,017.

7.3. Vitaliano, F. & **Vitaliano G.** A Laser Light Source, US Patent # 7,216,038.

7.4. Vitaliano, F. & **Vitaliano G.** Smart Bionanoparticle Elements, US Patent # 7,393,924.

Пројекти у току

- | | |
|-----------|---|
| 2010-2015 | Sensitive Periods, Brain Development and Depression
NIMH R01 MH091391-01 (Teicher)
Co-Investigator |
| 2010-2015 | Neuroimaging Studies of Reward Processing in Depression
NIMH R01 MH068376-09 (Pizzagalli)
Co-Investigator |
| 2011-2014 | New Nanoprobes for Noninvasive Magnetic Resonance Imaging of
Neuroinflammation in Schizophrenia
NARSAD
PI |
| 2012-2016 | Early Stress, Sensitive Periods, and the Neurobiology of Addiction
NIDA RO1 DA-017846-06A1 (Teicher)
Co-Investigator |
| 2012-2015 | Internet-Based Cognitive-Behavioral Therapy: Effects on Affective
Cognitions and Brain Functions
USAMRAA W81XWH-12-1-0109 (Rauch)
Co-Investigator |
| 2012-2015 | Neuroimaging Studies of Reward Processing in Depression (supplement)
NIMH 3R01MH068376-09S1 Supplement (Pizzagalli)
Co-Investigator |
| 2012-2016 | Early Life Stress and Depression: Molecular and Functional Imaging Approaches
NIMH 5R01MH095809-02 (Pizzagalli)
Co-Investigator |

1.3. Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми

Кандидат мр Гордана Станојевић Виталиано, др. мед., у досадашњем раду је показала велико интересовање за неуронауке, специјално за област биомедицинског инжењерства, и нано-медицинског третмана оболења централног нервног система (ЦНС). Упознала је класу биоматеријала, и методе који се користе за изолацију, модификацију и карактеризацију битних особина биоматеријала. Показала је завидну снажљивост у употреби апаратуре за карактеризацију биоматеријала. Успешно је спровела транслационе студије на животињама. Изузетно је способна да самостално реши проблеме које пред њу постављају ментори. Научила је да пише научне пројекте и радове, и да планира унапред решавање потенцијалних проблема који могу да искрсну. На основу свега досад показаног, ментори предвиђају да ће кандидат мр Гордана Станојевић Виталиано, др. мед., све предложене задатке извршити у предвиђеном времену.

2. Предмет истраживања

Велики напредак у лечењу неуропсихијатријских болести је постигнут развојем лекова који су специфични за одређене врсте рецептора у мозгу. Међутим, само 2% малих молекула (< 400 Да), који су кандидати за лечење нервних болести, прелази крвно-моздану баријеру (КМБ).

Макромолекуларни лекови, као што су антитела, не могу да пређу очувану КМБ. Велики број фармацеутских фирми производи нова антитела за лечење различитих можданих обољења, али само 1% има програме за развој технологија за пренос макромолекула преко КМБ.

Различите терапије на бази антитела се тренутно развијају за лечење обољења ЦНС, као на пример: дегенеративних болести (деменција, Паркинсонова и Хантингтонова болест), неуро-инфламаторних болести (мултипла склероза), церебро-васкуларних болести, трауме мозга, болести рака, болести зависности итд. Међутим, антитела имају велику молекуларну тежину (око 150.000 Да) што директно спречава њихов транспорт у ЦНС. Само 0,1% антитела прелази из крвних капилара у мождано ткиво, и то дифузијом преко оштећене КМБ, или сатурацијом КМБ. Међутим, чак и кад антитела уђу у ЦНС, њихова дифузија кроз интерстицијални простор је веома спора. Треба им 3 дана да пређу само 1 мм.

Предложена докторска дисертација би се бавила испитивањима нове нанотехнолошке методе за ефикасни транспорт антитела у ЦНС. Ефикаснијим преносом антитела умањиле би се дозе и избегла нежељена дејства. Нова нанотехнологија на бази клатрина може да служи као наноplatforma за пренос макромолекула у ЦНС из следећих разлога:

- 1) клатрин природно транспортује молекуле преко КМБ и унутар неурона, и пролази кроз синапсе;
- 2) различити молекули се могу прикачити за аминокиселине клатрина;
- 3) клатрин је стабилна мала честица величине 17 нм;
- 4) једна честица може да транспортује различите лекове и контрасте за снимање мозга.

Допаминска антитела се никада нису користила за дијагностику и лечење допаминских поремећаја у мозгу, јер не могу да пређу КМБ, а предложена нова нанотехнологија би могла да омогући примену допаминских антитела у наномедицини, јер су селективни лиганди за допаминске рецепторе неопходни за дијагностику и лечење различитих неуролошких и психијатријских обољења (Паркинсонове и Хантингтонове болести, шизофреније и других психотичних поремећаја, болести пажње и болести зависности итд.).

Основна литература коју кандидат мр Гордана Станојевић Виталиано, др. мед., треба да проучи и на коју се наслањају предвиђена истраживања је доле наведена:

1. W. M. Pardridge, R. J. Boado, Reengineering biopharmaceuticals for targeted delivery across the blood-brain barrier. *Methods in Enzymology* **503**, 269 (2012).
2. R. T. Frank, K. S. Aboody, J. Najbauer, Strategies for enhancing antibody delivery to the brain. *Biochimica et Biophysica Acta* **1816**, 191 (Dec, 2011).
3. L. A. Lampson, Monoclonal antibodies in neuro-oncology: Getting past the blood-brain barrier. *mAbs* **3**, 153 (Mar-Apr, 2011).
4. R. M. Nitsch, C. Hock, Targeting beta-amyloid pathology in Alzheimer's disease with Abeta immunotherapy. *Neurotherapeutics : J American Society for Experimental NeuroTherapeutics* **5**, 415 (Jul, 2008).
5. W. A. Banks *et al.*, Passage of amyloid beta protein antibody across the blood-brain barrier in a mouse model of Alzheimer's disease. *Peptides* **23**, 2223 (Dec, 2002).
6. B. V. Zlokovic *et al.*, A saturable mechanism for transport of immunoglobulin G across the blood-brain barrier of the guinea pig. *Experimental Neurology* **107**, 263 (Mar, 1990).
7. H. J. Stemmler *et al.*, Ratio of trastuzumab levels in serum and cerebrospinal fluid is altered in HER2-positive breast cancer patients with brain metastases and impairment of blood-brain barrier. *Anti-Cancer Drugs* **18**, 23 (Jan, 2007).
8. A. I. Mehta, A. M. Brufsky, J. H. Sampson, Therapeutic approaches for HER2-positive brain metastases: circumventing the blood-brain barrier. *Cancer Treatment Reviews* **39**, 261 (May, 2013).
9. R. K. Jain, Delivery of novel therapeutic agents in tumors: physiological barriers and strategies. *J National Cancer Institute* **81**, 570 (Apr 19, 1989).

10. R. Gabathuler, Approaches to transport therapeutic drugs across the blood-brain barrier to treat brain diseases. *Neurobiology of Disease* **37**, 48 (Jan, 2010).
11. K. K. Jain, Nanobiotechnology-based strategies for crossing the blood-brain barrier. *Nanomedicine (Lond)* **7**, 1225 (Aug, 2012).
12. B. Kateb *et al.*, Nanoplateforms for constructing new approaches to cancer treatment, imaging, and drug delivery: what should be the policy? *Neuroimage* **54 Suppl 1**, S106 (Jan, 2011).
13. Y. J. Yu *et al.*, Boosting brain uptake of a therapeutic antibody by reducing its affinity for a transcytosis target. *Science Translational Medicine* **3**, 84ra44 (May 25, 2011).
14. J. J. Lochhead, R. G. Thorne, Intranasal delivery of biologics to the central nervous system. *Advanced Drug Delivery Reviews* **64**, 614 (May 15, 2012).
15. T. Kirchhausen, Clathrin. *Annu Rev Biochem* **69**, 699 (2000).
16. F. M. Brodsky, C. Y. Chen, C. Kneuhl, M. C. Towler, D. E. Wakeham, Biological basket weaving: formation and function of clathrin-coated vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol* **17**, 517 (2001).
17. L. M. Traub, Clathrin couture: fashioning distinctive membrane coats at the cell surface. *PLoS Biology* **7**, e1000192 (Sep, 2009).
18. B. Granseth, B. Odermatt, S. J. Royle, L. Lagnado, Clathrin-mediated endocytosis: the physiological mechanism of vesicle retrieval at hippocampal synapses. *J Physiol* **585**, 681 (Dec 15, 2007).
19. P. Sokoloff *et al.*, The dopamine D3 receptor: a therapeutic target for the treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets* **5**, 25 (Feb, 2006).
20. M. Kinoshita, N. McDannold, F. A. Jolesz, K. Hynynen, Noninvasive localized delivery of Herceptin to the mouse brain by MRI-guided focused ultrasound-induced blood-brain barrier disruption. *Proc. National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 11719 (Aug 1, 2006).
21. E. A. Nimchinsky, P. R. Hof, W. G. Janssen, J. H. Morrison, C. Schmauss, Expression of dopamine D3 receptor dimers and tetramers in brain and in transfected cells. *J Biological Chemistry* **272**, 29229 (Nov 14, 1997).

3. Циљ истраживања

Циљеви истраживања су следећи:

1. Развој и карактеризација нове нанотехнологије базиране на клатрину за пренос антитела против допаминског Д3 рецептора у ЦНС;
2. Потврђивање афинитета наночестица за Д3 рецепторе у кортикалним мембранама мозга;
3. Утврђивање и поређење концентрација антитела у мозгу после давања антитела пацовима у назалним капима са клатрином или без клатрина, или после давања плацеба;
4. Анализа дистрибуције и стабилности наночестица у мозгу после давања антитела пацовима у назалним капима са клатрином или без клатрина;
5. Тестирање неуротоксичности наночестица после давања антитела пацовима у назалним капима са клатрином, или после давања плацеба.

4. Научне методе истраживања

Методологија истраживања у оквиру предложене докторске дисертације обухватиће следеће фазе:

1. Анализа физичко-хемијских и биолошких својстава Д3 наночестица битних за нано-медицинску примену;
2. Тестирање афинитета Д3 наночестица за допаминске Д3 рецепторе на кортикалним мембранама мозга пацова;

3. Мерење концентрације ДЗ антитела у ДЗ регионима мозга;
4. Анализа биодистрибуције и стабилности ДЗ наночестица у ДЗ регионима мозга (olfactory tubercle, islands of Calleja, ventral pallidum, nucleus accumbens, striatum, frontal/parietal cortex, hippocampus, medial mammillary bodies, anteroventral thalamic nucleus, substantia nigra/ ventral tegmental area, cerebellum- lobules 9, 10);
5. Тестирање неуротоксичних ефеката ДЗ наночестица у мозгу.

У истраживању биће коришћени следећи уређаји, тестови и софтвери (Табела 1):

1. Трансмисиона електронска микроскопија и ласерска метода (ДЛС) ће се користити за мерење величине ДЗ наночестица;
2. Флуоресцентна спектроскопска метода и SDS-PAGE (натријум додецил сулфат полиакриламид гел електрофореза) ће се користити за утврђивање броја молекула родамин-ПЕГ-а на клатрину;
3. Брадфордска спектроскопска метода ће се користити за мерење концентрације клатрина;
4. Вестерн блот ће се користити за одређивање имунореактивности ДЗ наночестица;
5. ЕЛИСА ће се користити за одређивање концентрације антитела;
6. Флуоресцентна и светлосна микроскопија, конфокална микроскопија, имунохистохемијске и имунофлуоресцентне хистолошке методе ће се користити у анализи дистрибуције и неуротоксичности ДЗ наночестица;
7. Софтвери (SPSS и GraphPad Prism) ће се користити за статистичке анализе. Средње вредности концентрација и стандардне грешке ће бити израчунате и концентрације антитела ће се упоредити Т-тестом између две групе животиња које су добиле ДЗ антитела са клатрином и без клатрина.

Табела 1. Основне методе планиране у овом мултидисциплинарном истраживању.

Циљеви: 1:Произвести и карактерисати ДЗ наночестице	2. Тестирати афинитет ДЗ наночестица за ДЗ рецепторе	3. Измерити концентрацију ДЗ антитела у ДЗ регионима мозга	4. Анализирати биодистрибуцију и стабилност ДЗ наночестица у мозгу	5. Тестирати неуротоксичне ефекте наночестица у мозгу
	5 СД пацова	15 СД пацова = 5+5+5	20 СД пацова = 10+10	10 СД пацова = 5+5
а. Изаоловати клатрин протеин диференцијалном центрифугацијом и хроматографијом; б. Модификовати ДЗ антитело са полиетилен-гликолом (ПЕГ); ц. Повезати ДЗ антитело са клатрином преко ПЕГ-а и измерити број ПЕГ-ова; д. Измерити величину наночестице ласерском методом; е. Снимити наночестице са електронским микроскопом;	Тестирати афинитет наночестица за ДЗ рецепторе на кортикалним мембранама мозга пацова	а. Рандомизовати пацове у 3 групе; б. Дати носне капи са ДЗ наночестицама, или ДЗ антителима, или плацебом; ц. Измерити концентрацију ДЗ антитела у ДЗ регионима мозга 3 сата касније; д. Анализирати податке	а. Рандомизовати пацове у 2 групе; б. Дати носне капи са ДЗ наночестицама, или ДЗ антителима; ц. Утврдити дистрибуцију ДЗ антитела и клатрина у мозгу 3 сата касније; д. Анализирати податке	а. Рандомизовати пацове у 2 групе; б. Дати носне капи са ДЗ наночестицама, или плацебо; ц. Утврдити дистрибуцију ДЗ антитела и у мозгу и јетри 4 дана касије; д. Утврдити токсичне ефекте анализом понашања животиња и хистолошким методама
Методе: EM, DLS, SDS-PAGE, и спектроскопске методе (Брадфорд, флуоресцентна метода)	Western blot	ELISA	Имунохистохемијске и имунофлуоресцентне методе	Анализа понашања и хистолошке методе

5. Очекивани научни допринос

Очекује се да ће предложена докторска дисертација кандидата мр Гордане Станојевић Виталиано, др. мед., имати посебан значај у наномедицини и неуронаукама, пошто ће истраживати нову методу за пренос макромолекуларних протеинских лекова у ЦНС. Напредак у развоју нанотехнологије за пренос антитела и флуоресцентних или радиоактивних маркера у ЦНС је од изузетног значаја за дијагностику и терапију рака, неуродегенеративних и неуро-инфламаторних обољења, церебро-васкуларних болести, трауме мозга, болести зависности, психотичних и афективних поремећаја итд.

У оквиру предложене докторске дисертације очекују се следећи резултати:

1. Идентификација битних својстава клатринских наночестица за њихову ефикасну употребу у дијагностици и терапији неуролошких и психијатријских обољења;
2. Потврда хипотезе о селективној пенетрацији клатринских ДЗ наночестица у мождано ткиво;
3. Потврда хипотезе да клатринске ДЗ наночестице лако пролазе кроз мождано ткиво и да специфично таргетију ДЗ регионе мозга.
4. Потврда хипотезе да стабилне клатринске ДЗ наночестице продиру у нервне ћелије и да реагују са интрацелуларним епитопима ДЗ рецептора;
5. Потврда хипотезе да су клатринске наночестице способне да ефикасно и брзо транспортују адекватне концентрације антитела у специфичне регионе мозга без нежељених дејстава и неуротоксичних ефеката;
6. Развој нанотехнолошке методе за дијагностику и терапију болести мозга са клатринским наночестицама.

6. План истраживања и структура рада

Технологија рада на дисертацији обухвата следеће фазе:

1. Договор са кандидатом о проблематици и сагласност да прихвата предложену тему;
2. Преглед литературе о наномедицини, терапији антителима и крвно-можданој баријери;
3. Обука кандидата за рад на микроскопским, ласерским и спектроскопским уређајима;
4. Обука кандидата да напише научни рад;
5. Синтеза, модификација и карактеризација ДЗ наночестица;
6. Биолошка истраживања, приказана у Табели 1, ће се обавити на укупно 50 Спрауге Давлеи мушких пацова (250-300 грама). Комитет McLean болнице (IACUC) у Белмонту је одобрио предложене експерименте са животињама (протокол # 07-6/2-21);
7. Анализа резултата;
8. Приказ резултата у научним часописима и на научним скуповима;
9. Приказ резултата у докторској дисертацији.

Структура текста докторске дисертације је следећа:

1. Увод:
 - 1.1. Антитела у терапији болести ЦНС;
 - 1.2. Лечење допаминских поремећаја антителима;
 - 1.3. Крвно-мождана баријера;
 - 1.4. Транспорт макромолекула преко крвно-мождане баријере;
 - 1.5. Транспорт макромолекула назалним путем;
 - 1.6. Инвазивне методе за пренос антитела у ЦНС;
 - 1.7. Неинвазивне методе за пренос антитела у ЦНС;
 - 1.8. Наночестице за транспорт антитела у ЦНС;
 - 1.9. Клатринске наночестице;
 - 1.10. Улога клатрина у транспорту и терапијским ефектима антитела.

2. Циљеви рада;
3. Методе:
 - 3.1. Материјали;
 - 3.2. Продукција ДЗ наночестица;
 - 3.3. Карактеризација ДЗ наночестица;
 - 3.4. Вестерн блот анализа ДЗ наночестица;
 - 3.5. Дозе и администрација ДЗ наночестица;
 - 3.6. Квантитативна анализа ДЗ наночестица у мозгу;
 - 3.7. Имунохистохемијска анализа ДЗ наночестица у мозгу;
 - 3.8. Имунофлуоресцентна анализа ДЗ наночестица у мозгу;
 - 3.9. Бихевиорална анализа токсичних ефеката ДЗ наночестица;
 - 3.10. Хистолошка анализа неуротоксичних ефеката ДЗ наночестица;
 - 3.11. Статистичка анализа (дескриптивна и аналитичка);
4. Експериментални резултати;
5. Дискусија;
6. Закључак.

У првом поглављу биће дат приказ макромолекуларних антитела која се користе у медицинске сврхе, приказ медицинских метода за пренос антитела преко крвно-мождане баријере, опис главне групе наночестица које се користе у истраживањима, и биће представљена физичко-хемијска и биолошка својства клатрина, битна за наномедицинску примену.

У другом поглављу биће детаљно приказани циљеви истраживања и хипотезе на којима се базира задатак кандидата.

У трећем поглављу биће дат приказ метода које ће се користити за *in vitro* и *in vivo* карактеризацију ДЗ клатринских наночестица.

У четвртном поглављу биће представљени експериментални резултати и њихова анализа.

У петом поглављу биће приказани главни резултати са назначеним правцима даљег рада.

У шестом поглављу биће кратко приказани закључци истраживања.

7. Закључак и предлог

На основу изложеног, Комисија констатује да кандидат мр Гордана Станојевић Виталиано, др. мед., испуњава све потребне услове да може приступити изради докторске дисертације под насловом „Нова нанотехнологија на бази клатрина за пренос великих протеинских молекула у централни нервни систем“. Осим испуњавања формалних услова, у свом досадашњем раду показала је изразите квалитете пресудне за научно-истраживачки рад, као што су схватање теоријских концепата, оригиналност, способност да самостално и тимски решава проблеме на теоријском и експерименталном нивоу, и да критички анализира добијене резултате.

Предложена тема је научно заснована, припада ужој научној области биомедицинског инжењерства, и представља допринос заснивању нове методе у неуронаукама. Тема је од огромног практичног значаја јер омогућава продор у област решавања горућег проблема преноса лекова преко крвно-мождане баријере методом са минималним нежељеним нуспојавама.

Зато Комисија предлага Већу за студије при Универзитету у Београду да одобри кандидату мр Гордани Станојевић Виталиано, др. мед., израду докторске дисертације под руководством др Слободана Малобабића, редовног професора Медицинског факултета Универзитета у Београду, и др Дејана Раковића, редовног професора Електротехничког факултета Универзитета у Београду.

У Београду, 10.02.2014.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ



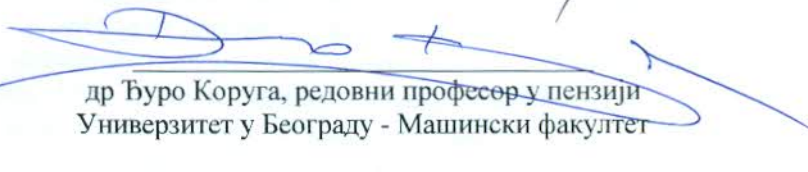
др Слободан Малобабић, редовни професор
Универзитет у Београду - Медицински факултет



др Дејан Раковић, редовни професор
Универзитет у Београду - Електротехнички факултет



академик Љубисав Ракић, САНУ, редовни професор у пензији
Универзитет у Београду - Медицински факултет



др Ђуро Коруга, редовни професор у пензији
Универзитет у Београду - Машински факултет



др Ненад Игњатовић, научни саветник
Институт техничких наука САНУ, професор по позиву
Универзитет у Нишу - Медицински факултет