

Биолошки факултет
Број захтева:50/240-1
Датум: 7. 11. 2024.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно чл. 48 ст. 5 тач. 3) Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“ бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Утицај површинских модификација салицилном и 5-аминосалицилном киселином на токсичност наночестица титан(IV)-оксида код пацова *Wistar* соја”

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биолошке науке.

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног родитеља и презиме кандидата:

Катарина Н. Бобић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Београду – Биолошки факултет.

3. Година дипломирања: 2020.

4. Година уписа на докторске студије: 2021/2022.

Универзитет у Београду - Биолошки факултет

5. Назив студијског програма докторских студија: Молекуларна биологија, модул: Транслациона истраживања у неуробиологији и биомедицини.

6. Датум подношења пријаве теме докторске дисертације: 29. 8. 2024.

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

A:

Име и презиме ментора: **др Дуња Дракулић,**

Звање: виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за нуклеарне науке „Винча”, Институт од националног значаја за Републику Србију.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. * Todorović A., Bobić K., Veljković F., Pejić S., Glumac S., Stanković S., Milovanović T., Vukoje I., Nedeljković J.M., Radojević Škodrić S., Pajović S.B., **Drakulić D.** (2024) Comparable Toxicity of Surface-Modified TiO₂ Nanoparticles: An In Vivo Experimental Study on Reproductive Toxicity in Rats. *Antioxidants* 13(2), 231. <https://doi.org/10.3390/antiox13020231>.
2. Đurašević S., Pejić S., Grigorov I., Nikolić G., Mitić-Ćulafić D., Dragičević M., Đorđević J., Todorović Vukotić N., Đorđević N., Todorović A., **Drakulić D.**, Veljković F., Pajović S.B., Todorović Z. (2021) Effects of C60 Fullerene on Thioacetamide-Induced Rat Liver Toxicity and Gut Microbiome Changes. *Antioxidants*, 10(6), 911. <https://doi.org/10.3390/antiox10060911>.
3. Đurašević S., Nikolić G., Todorović A., **Drakulić D.**, Pejić S., Martinović V., Mitić-Ćulafić D., Milić D., Kop T.J., Jasnić N., Đorđević J., Todorović Z. (2020) Effects of fullerene C60 supplementation on gut microbiota and glucose and lipid homeostasis in rats. *Food and chemical toxicology*, 140, 111302. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111302>.
4. Guševac Stojanović I., **Drakulić D.**, Todorović A., Martinović J., Filipović N., Stojanović Z. (2024) Acute Toxicity Assessment of Orally Administered Microplastic Particles in Adult Male Wistar Rats. *Toxics*, 12(3), 167. <https://doi.org/10.3390/toxics12030167>.
5. Martinovic J., Zaric Kontic M., Dragic M., Todorovic A., Gusevac Stojanovic I., Mitrovic N., Grkovic I., **Drakulic D.** (2023) Chronic oral d-galactose intake provokes age-related changes in the rat prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, 436, 114072. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.114072>.

* референца неће бити навођена као резултат проистекао из докторске дисертације кандидата при подношењу захтева за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији

Б:

Име и презиме ментора: **др Сања Дацић,**

Звање: доцент, Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Jeremic R, Pekovic S, Lavrnja I, Vjelobaba I, Djelic M, **Dacic S***, Brkic P*. (2023) Hyperbaric Oxygenation Prevents Loss of Immature Neurons in the Adult Hippocampal Dentate Gyrus Following Brain Injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 24(5):4261. <https://doi.org/10.3390/ijms24054261>.
* једнак допринос
2. Martinovic J, Samardzic J, Zaric Kontic M, Ivkovic S, **Dacic S**, Major T, Radosavljevic M, Svob Strac D. (2023) Prolonged Zaleplon Treatment Increases the Expression of Proteins Involved in GABAergic and Glutamatergic Signaling in the Rat Hippocampus. *Brain Sciences*. 13(12):1707. <https://doi.org/10.3390/brainsci13121707>.
3. Ćupić Miladinović D, Prevendar Crnić A, Peković S, **Dacić S**, Ivanović S, Santibanez JF, Ćupić V, Borožan N, Antonijević Miljković E, Borožan S. (2021) Recovery of brain cholinesterases and effect on parameters of oxidative stress and apoptosis in quails (*Coturnix japonica*) after chlorpyrifos and vitamin B1 administration. *Chemico-Biological Interactions*. 333:109312. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109312>.
4. Pantic I, Jeremic R, **Dacic S**, Pekovic S, Pantic S, Djelic M, Vitic Z, Brkic P, Brodski C. (2020) Gray-Level Co-Occurrence Matrix Analysis of Granule Neurons of the Hippocampal Dentate Gyrus Following Cortical Injury. *Microscopy and Microanalysis*. 26(1):166-172. <https://doi.org/10.1017/S143192762000001X>.
5. Balint V, Peric M, **Dacic S**, Stanisavljevic Ninkovic D, Marjanovic J, Popovic J, Stevanovic M, Lazic A. (2024) The Role of SOX2 and SOX9 Transcription Factors in the Reactivation-Related Functional Properties of NT2/D1-Derived Astrocytes. *Biomedicines*. 12(4):796. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12040796>.

Обавештамо вас да је Наставно-научно веће Универзитета у Београду-Биолошког факултета, на седници одржаној 7. 11. 2024. год. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем.
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације.
3. Електронска верзија
4. Потврда Етичке комисије



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

50/240 - 7. 11. 2024.

На основу члана 96. Закона о високом образовању, члана 62. став 1. тачка 12. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета и члана 29. Правилника о докторским студијама на Универзитету у Београду-Биолошком факултету, бр: 15/276 од 07.09.2018; 15/122 од 14.06.2019.; 15/132 од 11.09.2020. године., Наставно-научно веће Факултета, на II редовној седници одржаној 7. 11. 2024. године, донело је

О Д Л У К У

о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора

На основу Извештаја Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације прихвата се тема докторске дисертације и одређује ментор кандидату:

Катарини Н. Бобић, мастер биолог, студијског програма докторских студија:
Молекуларна биологија, модул: Транслациона истраживања у неуробиологији и биомедицини, под називом:

„Утицај површинских модификација салицилном и 5-аминосалицилном киселином на токсичност наночестица титан(IV)-оксида код пацова *Wistar* соја”

За менторе се одређују:

1. др Дуња Дракулић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за нуклеарне науке „Винча”, Институт од националног значаја за Републику Србију,
2. др Сања Дацић, доцент, Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- ментору;
- Стручној служби Факултета

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На Х редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду одржаној 10. 9. 2024. године, одређени смо у Комисију за оцену испуњености услова и научне заснованости предложене теме за израду докторске дисертације **Катарине Н. Бобић**, под насловом: „Компаративна студија токсичности површински модификованим наночестицама титанијум диоксида на пацовима *Wistar* соја”.

На основу поднете документације и увида у досадашњи рад **Катарине Н. Бобић**, Комисија подноси Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографија:

Општи подаци:

Име, средње слово и презиме: Катарина Н. Бобић

Датум и место рођења: 12. 3. 1997. године, Београд, Република Србија

Образовање:

2021 - данас Докторске академске студије, Студијски програм Молекуларна биологија, модул: Физиологија, подмодул: Транслациона истраживања у неуробиологији и биомедицини, Биолошки факултет, Универзитет у Београду

2020 - 2021 Мастер академске студије: Биолошки факултет, Универзитета у Београду, студијски програм: Молекуларна биологија и физиологија, модул: Неуробиологија

2016 - 2020 Основне академске студије: Биолошки факултет, Универзитета у Београду, студијски програм: Биологија, модул: Молекуларна биологија и физиологија

Запослење:

2022 - данас Истраживач–приправник, Лабораторија за молекуларну биологију и ендокринологију, Институт за нуклеарне науке „Винча“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду

Курсеви:

06. 11 – 10. 11. 2023. Belgrade Noninvasive Brain Stimulation School 2023 TWINNIBS Project, Београд, Република Србија

Пројекти:

/

Чланство у научним друштвима:

Српско биолошко друштво

Друштво за неуронауке Србије / Federation of European Neuroscience Societies (FENS)

Биохемијско друштво Србије / Federation of European Biochemical Societies (FEBS)

Страни језици:

Енглески језик – професионални ниво

Посебне активности и награде:

/

Б) Библиографија:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. Todorović, A., **Bobić, K.**, Veljković, F., Pejić, S., Glumac, S., Stanković, S., Milovanović, T., Vukoje, I., Nedeljković, J.M., Radojević, Škodrić, S., Pajović S.B., Drakulić D. (2024). Comparable Toxicity of Surface-Modified TiO₂ Nanoparticles: An In Vivo Experimental Study on Reproductive Toxicity in Rats. *Antioxidants*, 13, 231. <https://doi.org/10.3390/antiox13020231>. (IF₂₀₂₂=7,000) (M21a)
2. Grigorov, I., Pejić, S., Todorović, A., Drakulić, D., Veljković, F., Miletić-Vukajlović, J., **Bobić, K.**, Soldatović, I., Đurašević, S., Jasnić, N., Stanković, S., Glumac, S., Mihailović-Vučinić, V., Milenković, B. (2023). Serum High-Mobility Group Box 1 and Heme Oxygenase-1 as Biomarkers in COVID-19 Patients at Hospital Admission. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17). <https://doi.org/10.3390/ijms241713164>. (IF₂₀₂₁=6,208) (M21)

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

/

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у целости

1. Drakulić, D., **Bobić, K.**, Milovanović, T., Pejić, S., Stanković, S., Pajović, S., Todorović, A. Impact of surfaced-modified TiO₂ nanoparticles on neurological functions and purinergic signaling in rat brain. 16th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry “PHYSICAL CHEMISTRY 2022”, September 26–30, 2022, Belgrade, Republic of Serbia. F-01-SL p. 72.
2. Todorović, A., **Bobić, K.**, Drakulić, D. Innovative and multidisciplinary approaches in detecting biological agents using contemporary technologies. XIV International Scientific Conference Archibald Reiss Days, November 8-9, 2023., Belgrade, Republic of Serbia. ISBN 978-86-7020-512-3, pp. 492-508.
3. Todorović, A., Pejić, S., **Bobić, K.**, Milovanović, T., Stanković, S., Drakulić, D. Acute oral intake of surface-modified TiO₂ nanoparticles promotes biochemical and morphological changes in rat female reproductive system. 16th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry “PHYSICAL CHEMISTRY 2022”, September 26–30, 2022, Belgrade, Republic of Serbia. F-02-SL p. 73.
4. **Bobić, K.**, Todorović, A., Pejić, S., Veljković, F., Veličković, S., Pajović, S., Drakulić, D. (2023). TiO₂ nanoparticles and TiO₂ nanoparticles surface modified with salicylic acid affect neurological functions and oxidative stress markers in the eyes of adult rats; ICCBIKG: 2nd International Conference on Chemo and Bioinformatics. <https://doi.org/10.46793/ICCB123.499B>.

5. Veljković, F., Drakulić, D., Todorović, A., Pejić, S., **Bobić, K.**, Stajčić, I., Pajović, S., Veličković, S. (2023). Investigation of the possibility of interaction between lithium fluoride clusters and boron using LDI MS; ICCBIKG: 2nd International Conference on Chemo and Bioinformatics. <https://doi.org/10.46793/ICCBI23.176V>.

Б4. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у изводу

1. **Bobić, K.**, Guševac Stojanović, I., Todorović, A., Martinović, J., Miletić Vukajlović, J., Pejić, S., Drakulić, D. Progesterone alleviates neurological deficit and striatal ectonucleotidase activities after cerebral hypoperfusion in rats. FENS FORUM 2024, 25-29.6. Vienna, Austria.
2. **Bobić, K.**, Drakulić, D., Pejić, S., Miletić Vukajlović, J., Pajović, S., Todorović, A. Titanium (IV) oxide nanoparticles surface-modified with salicylic and 5-aminosalicylic acid induce lipid peroxidation in the brain of Wistar rats. 13th Neuronus Neuroscience Forum, Auditorium Maximum of Jagiellonian University, April 25-27, 2024, Krakow, Poland. ACTA NEUROBIOLOGIAE EXPERIMENTALIS Volume 84, Supplement, 2024 – ISSN 1689–0035, page CXXVI.
3. **Bobić, K.**, Guševac Stojanović, I., Todorović, A., Veljković, F., Pejić, S., Martinović, J., Drakulić, D. Progesterone modulates striatal lipid profile in rat cerebral hypoperfusion model. 8th Congress of the Serbian Neuroscience Society, May 31 - June 2, 2023., Belgrade, Republic of Serbia. ISBN: 978-86-917255-4-9, p. 119.
4. **Bobic, K.**, Todorović, A., Pejić, S., Veljković, F., Pajović, S., Nedeljković, J., Drakulić, D. Rat toxicity study of orally administrated titanium dioxide nanoparticles modified with 5-aminosalicylic acid. 18th YSA PhD Symposium 2023, June 6-7, 2023, Vienna, Austria. <https://vinar.vin.bg.ac.rs/handle/123456789/12810>.
5. **Bobić, K.**, Todorović, A., Pejić, S., Veljković, F., Pajović, S., Nedeljković, J., Drakulić, D. Surface modification of TiO₂ nanoparticles moderates neurological impairments and upregulated oxidative stress indicator in eyes of adult Wistar rats. 12th Neuronus Neuroscience Forum, Auditorium Maximum of Jagiellonian University, October 15–17, 2022, Krakow, Poland. ISSN 1689-0035, p. L.
6. **Bobić, K.**, Guševac Stojanović, I., Todorović, A., Veljković, F., Pejić, S., Martinović, J., Drakulić, D. Antioxidative properties of progesterone in striatum of permanently occluded adult male Wistar rats. The XI Conference "Amazing Biochemistry" Serbian Biochemical Society, Faculty of Sciences, September 22–23, 2022, Novi Sad, Republic of Serbia. ISBN 978-86-7220-124-6, p. 53.

Б5. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја штампана у изводу

1. **Bobić, K.**, Milovanović, T., Todorović, A., Drakulić, D., Pejić, S., Veljković, F., Pajović, S., Nedeljković, J. Površinska modifikacija nanočestica titanijum dioksida aminosalicilnom kiselinom ublažava neurološki deficit i lipidnu peroksidaciju u mozgu Wistar pacova. Treći kongres biologa Srbije, SRPSKO BIOLOŠKO DRUŠTVO, 21–25.09.2022, Zlatibor, Republika Srbija. ISBN 978-86-81413-09-8.

В. Тема докторске дисертације:

Наслов дисертације:

Сагледавајући планирана истраживања и очекиване циљеве комисија предлаже следећи наслов докторске тезе:

„Утицај површинских модификација салицилном и 5-аминосалицилном киселином на токсичност наночестица титан(IV)-оксида код пацова *Wistar* соја”

Полазне основе:

Физичка и хемијска својства наноматеријала укључујући наночестице (енгл. *nanoparticles*, NP), структуре чије димензије не прелазе 100 nm, значајно се разликују у односу на макроскопске структуре. Смањењем димензија честица титан(IV)-оксида (TiO₂) испод 100 nm, повећава се површина у односу на запремину, мења геометрија и стварају се хемијски активна места на површини [1]. Везивањем различитих лиганата као што су: пептиди, антитела, флуоресцентне боје, тумор маркери, лекови, итд., потенцијал њихове примене у области наномедицине се повећава, попут дијагностике путем осликавања, фотосензитивне и фотодинамичке терапије рака, и друго [2].

Пораст интересовања научника да испитају ефекте које ове честице изазивају код људи, животиња и биљака, долази услед повећања производње TiO₂ NP и њиховог присуства у води, земљишту, ваздуху, и свакодневним производима. Њихови ефекти на живе системе зависе од физичко-хемијских особина, дужине трајања третмана (хронична/акутна изложеност), количине и начина излагања (орални, интравенозни, интратрахеални), и друго. Тако на пример, по уносу у организам оралним путем, TiO₂ NP се циркулацијом дистрибуирају до различитих органа, укључујући јетру, слезину, бубреге, репродуктивне органе и мозак, где агрегирају и индукују повећану продукцију слободних радикала. Даље, може доћи до оксидације липида, протеина и ДНК, чиме се нарушава структура и функција ћелијских мембрана, ћелијска сигнализација, уз појаву инфламације, апоптозе и промена у понашању [1].

Додатна истраживања EFSA-е (енгл. *European Food Safety Authority*) о штетности примене адитива E171 који садржи и до 50% TiO₂ NP, указују да се не може искључити његов генотоксични ефекат, као ни утврдити његов безбедан дневни ниво уноса, на основу чега је предложено да се овај адитив више не сме користити у храни [3], што је и прихваћено у јануару 2022. године од стране Европске комисије [4]. Европска комисија је, с друге стране, дозволила наставак употребе TiO₂ у лековима који се углавном узимају орално, као и производима за инхалацију, трансдермалну, сублингалну, и другу употребу, након указа Европске агенције за лекове (енгл. *European Medicine Agency*, ЕМА) о немогућности брзог прилагођавања производње многих лекова за људе, укључујући антидијабетике, антибиотике, као и неке ветеринарске производе. Шта више, ЕМА указује да је TiO₂ пожељан за коришћење због својих особина као што су непрозирност,

побољшавање контраста, инертност, заштита од UV зрачења и завршна обрада крајњег производа, као и да још увек није пронађен материјал који има исту комбинацију особина [5].

Потенцијални начин смањења токсичности TiO_2 NP уз очување њихових корисних особина може бити површинска модификација, попут модификације кафеинском киселином [1], као и салицилном киселином (енгл. *salicylic acid*, SA) и 5-аминосалицилном киселином (енгл. *5-aminosalicylic acid*, 5-ASA) [6]. У претходно објављеној публикацији на којој је кандидаткиња коаутор, показано је да модификација TiO_2 NP са 5-ASA умањује негативне ефекте комерцијално доступних, немодификованих TiO_2 NP на хормоне, тумор маркере, оксидативне и физиолошке параметре репродуктивних органа женки пацова, док модификација са SA није била толико учинковита [6]. Управо, резултати ове студије усмерили су докторандкињу на даља испитивања ефеката наведених једињења у серуму и ћелијама различитих органа, укључујући мозак, срце, плућа, бубреге, јетру и желудац женки пацова, са идејом да ће антиоксидативне и антиинфламаторне особине SA и 5-ASA умањити токсичност TiO_2 NP.

Предмет докторске дисертације

У предложеној докторској дисертацији изучаваће се утицај површинске модификације TiO_2 NP са SA, односно 5-ASA на промену токсичности TiO_2 NP. Код орално третираних женки пацова Wistar соја процена токсичности пратиће се *in vivo* (опште здравствено стање у периоду од 14 дана након третмана поменутих NP) и *ex vivo* (утицај третмана на масу, функцију и интегритет појединих органа (желудац, срце, плућа, јетра, бубрези и мозак), као и на ћелијску сигнализацију у можданим структурама, мождана кора и мали мозак).

Научни циљ истраживања

Будући да TiO_2 NP могу пролазити крвно-мождану и плаценталну баријеру, отвара се могућност њихове шире примене у области наномедицине, нарочито као транспортера, након смањивања токсичности ових честица различитим површинским модификацијама. Главни циљ ове дисертације био би да се испита утицај површинских модификација SA и 5-ASA на токсичност TiO_2 NP код пацова Wistar соја, због чега су постављени следећи циљеви:

1. да се *in vivo* и *ex vivo* упореди ниво токсичности немодификованих, комерцијално доступних TiO_2 NP са TiO_2 NP које су површински-модификоване SA односно 5-ASA код одраслих јединки пацова Wistar соја, 14 дана након акутног, оралног третмана.

2. да се утврди и упореди механизам дејства немодификованих, комерцијално доступних TiO_2 NP са TiO_2 NP које су површински-модификоване SA односно 5-ASA у грубој мембранској/митохондријалној (P2) фракцији мождане коре и малог мозга одраслих јединки пацова Wistar соја, 14 дана након акутног, оралног третмана.

Материјал и методе

Пре почетка рада са животињама, комерцијално доступне TiO_2 NP (Degussa P25, Sigma Aldrich, Немачка) биће површински модификоване са SA (SA/ TiO_2 NP) односно 5-ASA (5-ASA/ TiO_2 NP) и окарактерисане у Лабораторији за радијациону хемију и физику Института за нуклеарне науке „Винча“ – Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду. Након синтезе и карактеризације, NP ће бити растворене у 0,01 М HCl рН = 2 чиме се спречава њихова агрегација с обзиром да су површински модификоване TiO_2 NP нерастворљиве у води и лако/брзо преципитарају, услед непостојања површинског наелектрисања [7]. Претходне студије указују на безбедно коришћење HCl као растварача када се орално апликује у концентрацијама између 0,001 М и 0,1 М [8].

Ефекти комерцијално доступних и површински-модификованих TiO_2 NP биће процењени према смерницама за тестирање акутне оралне токсичности хемијских једињења, (OECD/OCDE 420) [9]. Модел организми у токсиколошким студијама су обично глодари, и то најчешће пацови, код којих LD50 тестови углавном не показују значајне разлике између полова, а у случајевима где се разлике уочавају, женке су генерално осетљивије [9]. У претходној токсиколошкој студији, показано је да доза од 2000 mg/kg телесне масе (т.м.) TiO_2 NP може бити летална, док доза од 1000 mg/kg т.м. не изазива смрт јединки [1]. Стога ће се у предложеној докторској дисертацији на адултним женкама пацова Wistar соја, пореклом из локалне колоније, узгајаних под стандарним условима, које се неће парити (енгл. *nulliparous and non-pregnant*), а које ће у тренутку давања третмана бити у неовулаторној фази еструсног циклуса, тестирати ефекти TiO_2 NP орално апликованих у једној дози од 1000 mg/kg т.м.

Све експерименталне процедуре на животињама су одобрене од стране Етичке комисије Лабораторије за молекуларну биологију и ендокринологију Института за нуклеарне науке „Винча“ – Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду и Управе за ветерину, Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде Републике Србије, број решења: 323-07-03626/2021-05 (потврда у прилогу) и биће спроведене у складу са ЕЕЦ директивом (енгл. *EEC Directive on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes*).

За реализацију предложене докторске дисертације биће коришћене адултне женке пацова Wistar соја, старости 3 месеца (n = 45). Животиње ће бити насумично подељене у пет група:

- I (интактна) – животиње без третмана;
- V – животиње којима ће оралном гаважом бити акутно апликован само растварач (2,5 ml 0,01 М HCl);
- TiO_2 – животиње којима ће се акутно, оралном гаважом апликовати комерцијално доступане TiO_2 NP (1000 mg/kg т.м.) растворене у растварачу (2,5 ml 0,01 М HCl);

- SA/TiO₂ – животиње којима ће се акутно, оралном гаважом апликовати SA/TiO₂ NP (1000 mg/kg т.м.) растворене у растварачу (2,5 ml 0,01 M HCl);
- 5-ASA/TiO₂ – животиње које ће акутно бити третиране оралном гаважом са 5-ASA/TiO₂ NP (1000 mg/kg т.м.) растворене у растварачу (2,5 ml 0,01 M HCl).

Након третмана, јединке ће бити остављене на преживљавању 14 дана током којих ће се пратити т.м., унос воде/хране, а пре жртвовања показатељи акутне токсичности и неуролошких/сензорно-моторних функција. Након жртвовања животиња, декапитацијом, трупна крв ће бити сакупљена ради издвајања серума за биохемијске анализе, док ће желудац и 5 виталних органа (срце, плућа, јетра, бубрези, и мозак) бити изоловано и измерено. Део изолованих органа ће бити фиксиран у формалину за потребе хистолошких и имуноцитохемијских анализа, док ће се остатак чувати на -80 °C до даљих анализа.

Експерименталне методе:

Опште стање јединки ће се процењивати:

- *in vivo*, праћењем: свакодневног уноса воде (g)/хране (ml), промена т.м. у времену (0, 1, 2, 4, 7. и 14. дан након третмана), показатеља акутне токсичности (агитација, конвулзија, атаксија, осетљивост на додир, накомтрешеност, успаваност, летаргија, респираторни дистрес и смртност) [1] и неуролошких/сензорно-моторних функција (свесност, дисање, слух, чистоћа крзна и оштећеност бркова, положај тела, спонтана активност, кретање, симетрија екстремитета, померање задњих екстремитета, способност јасног вида, ход на предњим екстремитетима, способност пењања и јачина хватања) [10];
- *ex vivo*, одређивањем: масе појединих органа (желудац, срце, плућа, јетра, бубрези, и мозак) [1] и нивоа индикатора њихових функција у серуму (билирубин, алкална фосфатаза, аланин аминотрансфераза, аспартат аминотрансфераза, уреа, мокраћна киселина, креатинин, креатин киназа, тропонин) (спектрофотометријске методе) [10]; индикатора инфламације (однос сигнала фосфатидилхолина (енгл. *phosphatidylcholine*, PC) и лизофосфатидилхолина (енгл. *lysophosphatidylcholine*, LPC)) у серуму (масеноспектрометријска метода); показатеља оксидативног стреса (прооксидативни/антиоксидативни баланс (енгл. *prooxidative/antioxidative balance*, PAB), продуката унапредовале оксидативне модификације протеина (енгл. *advanced oxidation protein products*, AOPP), липидне пероксидације (енгл. *lipid peroxidation*, LPO)) у серуму и укупним ћелијским екстрактима органа од интереса (спектрофотометријске методе) [6]; морфолошких и имуноцитохемијских промена (експресија инфламаторних молекула) пресека ткива органа од интереса (методе хистолошког и имуноцитохемијског бојења).

У P2 фракцији мождане коре и малог мозга биће одређени: нивои PAB, AOPP, и LPO спектрофотометријски, PC/LPC масеноспектрометријски, док ће Western blot методом бити праћени нивои експресије индикатора апоптозе (Bax и Bcl-2), компоненти глутаматног система: васкуларног глутаматног транспортера 1 (Vglut1) и субјединица

синаптичког комплекса N-метил-D-аспартат (NMDA) репептора (NMDAR1, NMDAR2A, NMDAR2B), рецепторне компоненте пуринске сигнализације (A1), а активност ензимске компоненте истог система, 5'-нуклеотидазе (eN) испитиваће се спектрофотометријски.

Добијени резултати биће статистички анализирани применом једнофакторијалне анализе варијансе (енгл. *one way analysis of variance*, ANOVA) праћене одговарајућим „multiple range” тестом (Tuckey post hoc) у софтверским програмима Origin, верзија 7.0 (Jandel Co, САД) и GraphPadPrism, верзија 4 (GraphPad Software, САД). За статистички значајне резултате узимаће се интервал вредности параметра „p“ мањим од 0,05 ($p < 0,05$).

Очекивани резултати и научни допринос

Очекује се да ће у поређењу са немодификованим TiO₂ NP, површински-модификоване TiO₂ NP са SA односно 5-ASA:

- Показати мању акутну токсичност, уочену смањењем симптома као што су агитација, конвулзија, атаксија, осетљивост на додир, накострешеност, успаваност, летаргија, респираторни дистрес, смртност, без негативног утицаја на телесну масу и унос воде/хране;
- Испољити позитиван утицај на сензорно-моторне функције, што ће бити уочено кроз пораст укупне оцене неуролошких функција (свесност, дисање, слух, чистоћа крзна и оштећеност бркова, положај тела, спонтана активност, кретање, симетрија екстремитета, померање задњих екстремитета, способност јасног вида, ход на предњим екстремитетима, способност пењања и јачина хватања), као и модификовати промену масе и ублажити функционалне, морфолошке и цитолошке промене у испитиваним органима (желудац, срце, плућа, јетра, бубрези и мозак);
- Смањити ниво оксидативног стреса смањењем одређених параметара (PAB, AOPP, LPO, PC/LPC) и регулисати глутаматну и пуринску сигнализацију у možданој кори и малом мозгу.

Резултати добијени овом докторском дисертацијом допринеће расветљавању механизма токсичности испитиваних наночестица, и усмерити испитивање ефеката површинских модификација у циљу смањења токсичности TiO₂ NP уз очување њихових корисних карактеристика. Уколико резултати укажу на смањену токсичност овако модификованих NP, оне би могле наћи широку примену у наномедицини, укључујући напредне дијагностичке методе и прецизан транспорт лекова до мозга, као и других специфичних органа.

Најважнији литературни подаци који подржавају тему (до 10 референци)

1. Dekanski, D.; Spremo-Potparević, B.; Bajić, V.; Živković, L.; Topalović, D.; Sredojević, D. N.; Lazić, V.; Nedeljković, J. M., Acute toxicity study in mice of orally administrated TiO₂ nanoparticles functionalized with caffeic acid. *Food and chemical toxicology*, 2018, 115, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.064>.

2. Akakuru, O. U.; Iqbal, Z. M.; Wu, A., TiO₂ nanoparticles: properties and applications. *TiO₂ Nanoparticles: Applications in Nanobiotechnology and Nanomedicine*, 2020, 1-66. <https://doi.org/10.1002/9783527825431.ch1>.
3. EFSA Journal 2021,19(5):6585. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6585.
4. Official Journal of the European Union (2022) COMMISSION REGULATION (EU) 2022/63 of 14 January 2022 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008o of the European Parliament and of the Council as regards the food additive titanium dioxide (E 171).
5. Final feedback from European Medicine Agency (EMA) to the EU Commission request to evaluate the impact of the removal of titanium dioxide from the list of authorised food additives on medicinal products Page 2/11 EMA/504010/2021.
6. Todorović, A., Bobić, K., Veljković, F., Pejić, S., Glumac, S., Stanković, S., Milovanović, T., Vukoje, I., Nedeljković, J.M., Radojević Škodrić, S., Pajović, S.B., Drakulić, D. Comparable Toxicity of Surface-Modified TiO₂ Nanoparticles: An In Vivo Experimental Study on Reproductive Toxicity in Rats. *Antioxidants* 2024, 13, 231. <https://doi.org/10.3390/antiox13020231>.
7. Božanić, D. K., Garcia, G. A., Nahon, L., Sredojević, D., Lazić, V., Vukoje, I., ... & Nedeljković, J. M. Interfacial charge transfer transitions in colloidal TiO₂ nanoparticles functionalized with salicylic acid and 5-aminosalicylic acid: a comparative photoelectron spectroscopy and DFT study. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2019, 123(47), 29057-29066. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b10110>.
8. Gad, S. C., Spainhour, C. B., Shoemake, C., Pallman, D. R. S., Stricker-Krongrad, A., Downing, P. A., ... & Daly, J. Tolerable levels of nonclinical vehicles and formulations used in studies by multiple routes in multiple species with notes on methods to improve utility. *International Journal of Toxicology*, 2016, 35(2), 95-178.
9. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 2001. Section 4, Health Effects, Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure.
10. Guševac Stojanović, I., Drakulić, D., Todorović, A., Martinović, J., Filipović, N., Stojanović, Z. Acute Toxicity Assessment of Orally Administered Microplastic Particles in Adult Male Wistar Rats. *Toxics*. 2024; 12(3):167. <https://doi.org/10.3390/toxics12030167>

Г. Закључак и предлог:

Комисија, на основу увида у садржај, значај и будући научни допринос ове докторске дисертације, закључује да предложена тема докторске дисертације кандидата **Катарине Н. Бобић** под измењеним насловом: „Утицај површинских модификација салицилном и 5-аминосалицилном киселином на токсичност наночестица титан(IV)-оксида код пацова *Wistar* соја” оригинална, научно заснована и актуелна.

Резултати добијени током израде ове докторске дисертације допринеће расветљавању механизма токсичности проучаваних NP, усмериће даља испитивања ефеката површинских модификација у циљу смањења токсичности TiO₂ NP, и проналажења њихове потенцијалне примене у наномедицини, укључујући напредне дијагностичке методе и прецизан транспорт лекова до мозга, као и других специфичних органа.

Комисија за менторе ове докторске тезе предлаже др Дуњу Дракулић, вишег научног сарадника Универзитета у Београду, Института за нуклеарне науке „Винча”, и др Сању Дацић, доцента Универзитета у Београду, Биолошког факултета и са задовољством препоручује Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да предложену тему ове дисертације прихвати и пријаву упути на разматрање Већу научних области природних наука.

Београд, 4. 11. 2024.

Комисија:

др Сања Дацић, доцент,
Универзитет у Београду, Биолошки факултет

др Дуња Дракулић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке „Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију

др Ана Тодоровић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке „Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију



Република Србија
МИНИСТАРСТВО ПОЉОПРИВРЕДЕ,
ШУМАРСТВА И ВОДОПРИВРЕДЕ

Управа за ветерину
Број: 323-07-03626/2021-05
Датум: 08.04.2021. године
Београд

Министарство пољопривреде, шумарства и водопривреде - Управа за ветерину, на основу члана 34. Закона о добробити животиња („Службени гласник РС“ број 41/09), члана 136. Закона о општем управном поступку („Службени гласник РС“ број 26/2018 и 95/18 - аутентично тумачење), члана 23. став 2. Закона о државној управи („Службени гласник РС“ број 79/05 и 101/07, 95/2010 и 99/2014, 47/18 и 30/18 и други закон) и Решења о овлашћењу министра пољопривреде, шумарства и водопривреде Републике Србије бр: 119-01-4/11/2020-09 од 28.10.2020. године, решавајући по захтеву Института за нуклеарне науке "Винча", ул. Михајла Петровића-Аласа 12-14, Београд, за издавање Решења о одобрењу спровођења огледа на животињама. директор Управе за ветерину, Емина Милакара, доноси:

РЕШЕЊЕ

УСВАЈА СЕ захтев Института за нуклеарне науке "Винча", ул. Михајла Петровића-Аласа 12-14, Београд и издаје се Решење о одобрењу спровођења огледа на животињама, под називом:

"Ефекат модификованих наночестица титанијум диоксида на биомолекуле мозга и периферних ткива".

Образложење

Институт за нуклеарне науке "Винча", ул. Михајла Петровића-Аласа 12-14, Београд обратио се овом министарству дана 08.04.2021. године, захтевом за издавање Решења о одобрењу спровођења огледа на животињама, под називом: "Ефекат модификованих наночестица титанијум диоксида на биомолекуле мозга и периферних ткива".

Подносилац пријаве је Министарству, уз захтев, доставио и документацију прописану Законом о добробити животиња („Службени гласник РС“ број 41/09) и Правилником о условима за упис у регистар за огледе на животињама и садржини и начину вођења тог Регистра, програму обуке о добробити огледних животиња, обрасцу захтева за одобрење спровођења огледа на животињама, начину неге, поступања и лишавању живота огледних животиња, као и садржини и начину вођења евиденције о држању, репродукцији, промету, односно спровођењу огледа на животињама ("Службени гласник РС", бр. 39/10) и то: податке о називу и седишти правно лица, попуњен захтев за издавање Решења о одобрењу спровођења огледа на животињама, стручно мишљење Етичке комисије о спровођењу предметног огледа, Решење о упису у Регистар за огледе на животињама.

Приликом решавања по захтеву, увидом у приложу документацију, утврђено је да су стекли услови за доношење решења, као у диспозитиву, сходно одредбама члана 136. Закона о

општем управном поступку („Службени гласник РС" број 26/2018 и 95/18 - аутентично тумачење).

Упутство о правном средству:

Ово решење је коначно у управном поступку. Против овог решења се може покренути управни спор, подношењем тужбе Управном суду Србије, у року од 30 дана од дана пријема решења.



Доставити:

1. Институт за нуклеарне науке "Винча", Михајла Петровића-Аласа 12-14, 11001 Београд
2. Реп. ветеринарска инспекција, Велислава Вуловића 1А/4, 11000 Београд
3. Евиденција
4. Архива

Већу научних области природних наука

Поштовани,

На седници Већа научних области природних наука одржаној 31. октобра 2024. године (број 61206-4142/2-24) одложено је разматрање захтева за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације **Катарине Бобић**, под називом „**Утицај површинских модификација салицилном и 5-аминосалицилном киселином на токсичност наночестица титанијум диоксида код пацова *Wistar* соја**“.

У складу са сугестијом Већа научних области, Комисија је кориговала Извештај о научној заснованости теме кандидаткиње у смислу да је термин титанијум диоксид замењен термином титан(IV)-оксид.

Београд, 4. 11. 2024. године

Комисија:

др Сања Дацић, доцент,
Универзитет у Београду, Биолошки факултет

др Дуња Дракулић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке „Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију

др Ана Тодоровић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке „Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију