

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ – ФАРМАЦЕУТСКОГ ФАКУЛТЕТА

КОМИСИЈИ ЗА ПОСЛЕДИПЛОМСКУ НАСТАВУ – ДОКТОРСКЕ СТУДИЈЕ

На седници Наставно-научног већа Фармацеутског факултета, одржаној 30.01.2025. године, Одлуком бр. 176/2, именовани су чланови Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата дипломираног фармацеута Драгане Станковић, под насловом:

„Развој обложених суперпарамагнетних наночестица обележених ^{99m}Tc и ^{177}Lu и испитивање њихове ефикасности на експерименталном моделу карцинома дојке и колона“

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације у саставу:

1. **др Јасмина Брборић**, ванредни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет,
2. **др Марија Мирковић**, виши научни сарадник, Лабораторија за радиоизотопе, Институт за нуклеарне науке „Винча“, Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду,
3. **др Зорана Милановић**, виши научни сарадник, Лабораторија за радиоизотопе, Институт за нуклеарне науке „Винча“, Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду,

прегледала је приложену дисертацију и подноси Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета, следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација дипломираног фармацеута Драгане Станковић, под насловом: „Развој обложених суперпарамагнетних наночестица обележених ^{99m}Tc и ^{177}Lu и испитивање њихове ефикасности на експерименталном моделу карцинома дојке и колона“, написана је на 114 страна формата А4, једноструког проредка и фонта Times new Roman (величина 12). Дисертација садржи следеће целине: 1. *Увод* (31 страна), 2. *Циљеви*

и радне хипотезе истраживања (2 стране), 3. *Експериментални део* (16 страна), 4. *Резултати и дискусија* (43 стране), 5. *Закључци* (4 стране) и 6. *Литература* (18 страна). Поред тога, дисертација садржи и захвалницу, сажетке на српском и енглеском језику, садржај, биографију кандидата, као и потписане изјаве кандидата о ауторству, истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и изјаву о коришћењу.

Докторска дисертација је написана јасним и прегледним стилем и садржи 10 табела (од тога су 3 табеле са подацима из литературе, а 7 са властитим резултатима), 51 слику (од тога су 17 слика из литературе, а 34 слике представљају властите резултате) и 256 литературних навода који се тичу разматране проблематике.

У *Уводу* је дат преглед досадашњих научних сазнања у области која је предмет проучавања у оквиру докторске дисертације, јасно је дефинисан предмет истраживања и изложена је оправданост истраживања. Увод се састоји из 4 дела. У првом делу су дате информације о епидемиологији, дијагностици, процени ризика и начинима лечења карцинома дојке и колоректалног карцинома, који су од интереса за ову дисертацију. У другом делу описани су биолошки ефекти јонизујућих зрачења (директни, индиректни и нециљани). У трећем делу увода истакнуте су предности нуклеарне медицине у дијагностици и терапији карцинома, који се радионуклиди најчешће користе у те сврхе, као и основни принципи радионуклидне дијагностике, терапије и тераностике. У четвртом делу разматра се примена наночестица у медицини, методе које се користе за њихову синтезу, као и биокомпатибилна једињења која се користе за њихову стабилизацију. Такође је дат и приказ метода за радиообележавање различитим радионуклидима. Значајна пажња посвећена је биолошком понашању радиообележених наночестица након интравенске и интратуморске примене.

У делу *Циљеви и радне хипотезе истраживања* укратко су описани циљеви истраживања ове докторске дисертације, као и хипотезе.

Основни циљ истраживања, које је спроведено у оквиру ове докторске дисертације, је развој нових радиофармацеутика на бази обложених суперпарамагнетних наночестица (SMNČ) обележених радионуклидима ^{99m}Tc и ^{177}Lu за потенцијалну примену у дијагностици и терапији карцинома. Овај циљ је постигнут кроз више појединачних циљева.

Први циљ истраживања је био синтеза стабилних биокомпатибилних SMNČ и испитивање услова за њихово облагање биокомпатибилним једињењима метилендифосфонском киселином (MDP), 1-хидроксиетилиден-1,1-дифосфонском киселином (HEDP), 1-хидроксиетан-1,1-дифосфонатом и мезо-2,3-димеркапто-ћилибарном киселином (DMSA). Затим је уследила њихова физичко-хемијска карактеризација, као и одређивање њихове способности генерисања топлоте када се нађу у променљивом магнетном пољу (одређивање SAR вредности). Даљи циљеви били су

испитивање услова обележавања обложених SMNČ радионуклидима технецијумом-99m и лутецијумом-177 за примену у дијагностици и терапији, испитивање биолошке расподеле радиообележених SMNČ по органима експерименталних животиња (пацови и мишеви) и *in vivo* испитивање терапијске ефикасности радиообележених SMNČ, у BALB/c мишевима са индукованим ксенографтима СТ-26 и 4Т1 мишјег карцинома колона и дојке.

У поглављу **Експериментални део** описане су коришћене хемикалије, поступци синтезе наночестица на бази Fe₃O₄, њиховог облагања са три биокомпатибилна једињења (HEDP, MDP и DMSA), као и уређаји и методе примењене за карактеризацију синтетисаних SMNČ. Поред тога, наведени су услови обележавања SMNČ технецијумом-99m и лутецијумом-177, одређивање њихове *in vitro* стабилности у физиолошком раствору и хуманом серуму, експериментални услови за праћење биолошке расподеле на експерименталним животињама након интравенске (^{99m}Tc-MDP-SMNČ, ^{99m}Tc-HEDP-SMNČ, ^{99m}Tc-DMSA-SMNČ и ¹⁷⁷Lu-DMSA-SMNČ) и интратуморске (¹⁷⁷Lu-DMSA-SMNČ) примене радиообележених SMNČ. Затим су приказани експериментални услови за испитивање терапијске ефикасности радиообележених SMNČ (¹⁷⁷Lu-DMSA-SMNČ). Такође, описана је и метода за добијање микроскопских пресека тумора и испитиваних органа за патохистолошку анализу. За статистичку анализу коришћени су тестови провере нормалности расподеле, Студент т-тест и једнофакторска ANOVA, уз употребу софтвера IBM SPSS Statistics (верзија 17). Примењена методологија је адекватна за реализацију постављених циљева дисертације.

Истраживање је планирано и спроведено на основу Решења о одобрењу спровођења огледа на животињама, које је издало Министарство пољопривреде, шумарства и водопривреде (Управа за ветерину), под бројем 119-01-5/14/2017-09 и 323-07-10153/2022-05.

Поглавље **Резултати и дискусија** подељено је на шест делова. У оквиру овог поглавља, упоредо са добијеним резултатима, приказана је њихова детаљна анализа и тумачење, у складу са постојећом литературом и сазнањима.

У првом делу, приказани су и анализирани резултати синтезе SMNČ и њихове физичко-хемијске карактеризације. У другом и трећем делу приказани су резултати функционализације површине SMNČ различитим биокомпатибилним једињењима, као и физичко-хемијске карактеризације добијених обложених SMNČ. Приказани су резултати утицаја модификације површине SMNČ на величину честица, морфологију, површинско наелектрисање и способност загревања. У четвртном делу, приказани су резултати оптимизације услова обележавања SMNČ технецијумом-99m и лутецијумом-177, као и *in vitro* стабилности добијених обележених SMNČ. Такође су приказани и резултати испитивања биодистрибуције ^{99m}Tc-обележених обложених SMNČ на здравим пацовима соја Wistar након интравенске примене, као и ¹⁷⁷Lu-DMSA-SMNČ на BALB/c мишевима са

индукованим ксенографтима СТ-26 и 4Т1 тумора након интравенске и интратуморске примене. У петом делу, приказани су резултати терапијске ефикасности пет различитих доза $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNC}$ на ксенографт моделу BALB/c миша, са индукованим СТ-26 и 4Т1 туморима након интратуморске примене, као и утицај почетне величине ксенографта на терапијску ефикасност. Такође су приказани резултати испитивања токсичности $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNC}$. Шести део описује добијене резултате патохистолошке анализе туморског ткива и органа од интереса третираних експерименталних животиња.

У поглављу *Закључци* детаљно и јасно су приказана разматрања и изведени закључци који су проистекли из добијених резултата истраживања и њихове анализе.

Поглавље *Литература* садржи 256 литературних навода који су цитирани у оквиру докторске дисертације.

2. ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

Поглавље резултати и дискусија описује најважније резултате добијене у оквиру сваког појединачног циља истраживања.

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације се састоје из два основна дела. Први део обухвата синтезу, карактеризацију необложених SMNC и SMNC обложених биокомпатибилним једињењима, оптимизацију услова радиообележавања обложених SMNC технецијумом-99m и лутецијумом-177, као и утврђивање њихове стабилности *in vitro*, док други део тезе обухвата *in vivo* истраживања на моделу експерименталних животиња (пацови и мишеви).

Суперпарамагнетне наночестице на бази оксида гвожђа (Fe_3O_4) синтетисане су методом таложења из водених раствора (метода копреципитације) или модификовањем ове методе у завршној обради преципитата. Једна од модификација је примена киселинског поступка у завршној обради преципитата, док је у другој коришћено излагање добијеног талога магнетита дејству микроталасног поља у завршном поступку. Добијени резултати указују да се методом копреципитације синтетишу SMNC у добром приносу, ~ 65% у односу на теоријски израчунату масу, а честице су сферног облика, уједначене величине (пречника ~11 nm) и морфологије (Pdi вредност од 28,3%). За облагање наночестица, у овој дисертацији, коришћена су следећа једињења: дифосфонати (MDP и HEDP) и DMSA. Облагањем површине SMNC након њихове синтезе различитим једињењима добијене су биокомпатибилне наночестице побољшане стабилности у суспензији. Облагање честица смањује њихову склоност ка агрегацији. Физичко-хемијском карактеризацијом обложених SMNC, доказано је присуство облоге на њиховој површини, одређени су пречници добијених наночестица и наелектрисање њихове

површине. Ефикасност грејања наночестица је потврђена код свих обложених SMNČ, док су највећу CAP вредност показале HEDP-SMNČ (141,4 W/g).

За радиообележавање обложених SMNČ коришћени су радионуклиди ^{99m}Tc и ^{177}Lu . Слободне карбоксилне, хидроксилне и тиолне групе на површини SMNČ, чије је присуство доказано FTIR спектроскопијом и мерењем ζ -потенцијала, омогућавају стабилну хемијску везу са испитиваним радионуклидима. Постигнути су високи приноси обележавања. Под оптимизованим условима, добијене су ^{99m}Tc - и ^{177}Lu -радиообележене SMNČ високе радиохемијске чистоте и у високом приносу (>95%, односно >70%).

In vitro стабилност добијених радиообележених SMNČ је испитана у хуманом серуму и физиолошком раствору на 37 °C, током 24 сата од обележавања технецијумом-99m и током 6 дана (144 сати) од обележавања лутецијумом-177. Добијена радиохемијска чистота је била већа од 85% код ^{99m}Tc -обележених SMNČ, док је код ^{177}Lu -обележених била већа од 95%, што указује да су добијене радиообележене честице стабилне у условима испитивања и погодне за даља, *in vivo* истраживања. Биодистрибуција и *in vivo* стабилност SMNČ обележених технецијумом-99m (^{99m}Tc -MDP-SMNČ, ^{99m}Tc -HEDP-SMNČ и ^{99m}Tc -DMSA-SMNČ), праћени су мерењем радиоактивности по органима, након њихове интравенске примене у здравим лабораторијским животињама (Wistar пацовима), док је биодистрибуција SMNČ обележених лутецијумом-177 (^{177}Lu -DMSA-SMNČ) праћена након интравенске и интратуморске примене на BALB/c мишевима са индукованим ксенографтима СТ-26 и 4Т1 тумора. Резултати су приказани као проценат инјектоване дозе по органу (% ИД/орган). Након интравенске примене радиообележених обложених наночестица, у веома кратком временском интервалу, долази до опсонизације у плазми и преузимања од стране ретикулоендотелног система (РЕС) (>90%). Резултати биодистрибуције ^{177}Lu -DMSA-SMNČ након интратуморске инјекције BALB/c мишевима са индукованим ксенографтима СТ-26 и 4Т1 тумора показали су да се радиообележене честице задржавају у туморском ткиву довољно дуг временски период да зрачење може да испољи терапијски ефекат. Већи проценат задржавања примећен је код СТ-26 туморског ксенографта него код 4Т1, што се објашњава разликама у природи ова два типа тумора.

Поређењем резултата биодистрибуције SMNČ обележених радионуклидом лутецијумом-177 у току одређеног временског периода са резултатима биодистрибуције слободног лутецијума-177 (примењеног у виду $^{177}\text{LuCl}_3$), добијени су подаци о њиховој *in vivo* стабилности. Слободан ^{177}Lu има потпуно различите путеве биодистрибуције у односу на ^{177}Lu -DMSA-SMNČ, односно његов циљни орган је коштано ткиво. Уколико је веза између функционалних група на површини SMNČ и радионуклида ^{177}Lu слаба, веома брзо би дошло до ослобађања лутецијума-177 *in vivo* и његовог накупљања и нежељеног дејства у коштаном ткиву. Поменута појава није запажена у спроведеним експериментима.

Након потврде *in vivo* стабилности и задржавања ^{177}Lu -DMSA-SMNČ у туморском ткиву, наредни корак био је утврђивање његове терапијске ефикасности. Једнократном

интратуморском инјекцијом BALB/c мишевима са индукованим туморима, инјектовано је пет различитих доза радиоактивности (1,85; 3,7; 9,25; 15 и 25 MBq). Контролној групи су интратуморски инјектоване нерадиоактивне DMSA-SMNČ у истој дози и запремини као и код третираних група, тј. група које су добиле дозу радиоактивности. Терапијски ефекат је праћен током временског интервала од 14 дана. Резултати истраживања показали су да терапијски ефекат $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNČ}$ зависи од инјектоване дозе зрачења. У односу на контролну групу, дозе $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNČ}$ од 1,85; 3,7 и 9,25MBq статистички су значајно ($p < 0,05$) супримирале раст тумора, док су дозе од 15 MBq и 25 MBq довеле до готово потпуног уништења туморског ткива код оба типа индукованих ксенографта.

У другом делу испитивања терапијске ефикасности, код обе врсте испитиваних туморских ксенографта, утврђен је утицај почетне запремине туморског ксенографта на терапијски ефекат примењене дозе радиоактивности од 3,7 MBq. Доза је инјектована једнократном интратуморском инјекцијом. Добијени резултати показали су да је примењена доза радиоактивности показала статистички значајан ефекат код малих и средњих тумора код оба испитивана типа тумора, као и код великих СТ-26 тумора. Код великих 4T1 тумора није било статистички значајне разлике између третиране и контролне групе. Ово запажање се може објаснити природом и грађом самог тумора. За разлику од СТ-26 ксенографта, ову врсту тумора карактерише агресиван раст и интензивна туморска ангиогенеза, тј. способност тумора да ствара сопствену мрежу крвних судова. Из наведених резултата може се закључити да је за постизање бољег терапијског ефекта неопходно кренути у што ранијој фази болести и са мањим дозама зрачења.

Патохистолошка анализа тумора је показала да су оштећење туморског ткива и степен некрозе тумора дозно зависни. Најмањи степен некрозе туморског ткива (дискретна некроза) постигнут је након примене дозе од 1,85 MBq $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNČ}$, као и након примене 3,7 MBq $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNČ}$. Највећи степен (изражена некроза) постигнут је применом доза од 15 и 25 MBq $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNČ}$. Микрофотографије 4T1 тумора након интратуморске примене $^{177}\text{Lu-DMSA-SMNČ}$ су показале да, због карактеристичне грађе овог тумора, долази до нешто интензивнијег ширења радиообележених честица са места инјектовања по ткиву тумора, у односу на СТ-26 тумор.

Резултати су показали да примењене дозе зрачења на испитиваним органима од интереса, нису довеле до патолошких промена.

Добијени резултати истраживања показују да интратуморска примена радиообележених наночестица има значајан потенцијал у терапији солидних тумора, захваљујући постигнутој високој ефикасности и добром безбедносном профилу.

3. УПОРЕДНА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА ИЗ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ СА ПОДАЦИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Наночестице оксида гвожђа, због својих погодних физичко-хемијских особина и биокомпатибилности, заузимају значајно место у примени у биолошким системима [1]. Захваљујући димензијама SMNČ, њихова примена у дијагностици и терапији може се остварити непосредно на ћелијском и субћелијском (молекулском) нивоу. SMNČ на бази гвожђе(II) и гвожђе(III)оксида, магнетит (Fe_3O_4) и магхемит ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), показале су значајну предност у односу на друге наночестице због своје хемијске стабилности, нетоксичности, повољних магнетних особина (висока магнетна сатурација) и ниске цене производње [2]. Fe_3O_4 наночестице се због значајног магнетног момента могу усмеравати и побуђивати спољашњим магнетним пољем [3]. У зависности од примењене методе и контролисаних услова синтезе, добијају се SMNČ различите величине, расподеле величине и облика, па самим тим и различитих хемијских, магнетних, оптичких и транспортних карактеристика. За медицинску примену, SMNČ на бази Fe_3O_4 најчешће се користе у облику наносуспензија због њихове компатибилности са биосистемима [4]. Такође, примена SMNČ у биолошким системима и медицини зависи од њихове стабилности у физиолошким условима и, пре свега, од њихове биокомпатибилности, па се, сходно тим захтевима, површина SMNČ облаже различитим органским и неорганским једињењима. У одсуству једињења којима се облаже површина SMNČ, долази до агрегације честица која је последица привлачних Ван дер Валсових сила које дестабилизују наносуспензију. Модификација површине SMNČ биокомпатибилним једињењима и полимерима, спречава агрегацију SMNČ, побољшава њихову хидрофилност, док присуство различитих функционалних група на њиховој површини омогућава грађење хемијске везе са различитим једињењима [5]. Такође, разлози функционализације гвожђе-оксидних наночестица које се користе у биомедицинске сврхе су: постизање стабилности добијених суспензија, дуже време задржавања у циркулацији и спорији клиренс из системске циркулације од стране ретикулоендотелног система [6].

У дисертацији су дизајниране биокомпатибилне SMNČ одговарајућих физичко-хемијских и магнетних особина, које могу да се обележе различитим радионуклидима. Једињења која су коришћена за облагање SMNČ су различита по структури и хемијском саставу. Имају функционалне групе које се с једне стране везују за површину SMNČ, док са друге стране служе за везивање радионуклида $^{99\text{m}}\text{Tc}$ и ^{177}Lu . Овај део истаживања је значајан будући да коришћена једињења до сада нису коришћена за облагање SMNČ-а. Синтетисане наночестице (Fe_3O_4) су у облику наносуспензије тамносмеђе до црне боје и таложе се у присуству спољашњег магнета. Наносуспензија је стабилна и до неколико месеци након синтезе услед јаке електростатичке стабилизације. Захваљујући присуству одређених функционалних група на површини SMNČ-а које потичу од једињења за облагање,

добијене SMNČ имају изразито негативно наелектрисање на рН 7, због чега су синтетисане наносуспензије стабилне и при физиолошким условима.

Иако је утицај свих физичко-хемијских особина честица као што су: величина, површинско наелектрисање, морфологија и хидрофилност од великог значаја на биодистрибуцију наночестица, сматра се да величина честица има примарни значај [7]. Испитиване SMNČ након интравенске примене, веома брзо бивају фагоцитоване од стране ретикулоендотелног система. Ниска акумулација у плућима указује на чињеницу да функционализација површине SMNČ доводи до повећања *in vivo* стабилности синтетисаних наночестица, и да због тога није дошло до њихове агрегације. Како и према литературним подацима хидрофилне облоге продужавају време задржавања наночестица у циркулацији, примена облога које побољшавају хидрофилност површине SMNČ, у овој дисертацији, доказала је ту тврдњу.

Примена SMNČ у хипертермији, која се заснива на локализованом загревању ткива на месту инјектовања SMNČ под утицајем спољашњег магнетног поља, показала је велики потенцијал, посебно у терапији тешко доступних тумора [8]. Из добијених резултата одређивања способности синтетисаних SMNČ да генеришу топлоту када се нађу у променљивом магнетном пољу одређене фреквенције, закључено је да HEDP-SMNČ има највећу SAR вредност (141,4 W/g) у односу на MDP-SMNČ (113,3 W/g) и DMSA-SMNČ (102,6 W/g) и да потенцијално могу бити коришћене у магнетној хипертермији.

Радионуклиди се могу користити за испитивање биодистрибуције нових, неиспитаних нано- и микрочестица [9]. У циљу добијања стабилних *in vivo* радиообележених честица, неопходно је испитати услове радиообележавања SMNČ са радионуклидима, као што су ^{99m}Tc и ^{177}Lu . Од велике је важности да радионуклиди граде јаке координативно ковалентне везе са групама на површини SMNČ, јер ако је веза слаба, услед *in vivo* биодеградације долази до ослобађања ^{99m}Tc и ^{177}Lu и њиховог накупљања у здравим ткивима и органима. Слободни ^{99m}Tc се претежно накупља у штитастој жлезди, док се слободни ^{177}Lu накупља у костима где остаје док се потпуно не распадне, при чему доводи до значајних нежељених реакција (мијелосупресија) [10,11]. Због релативно дугог времена полураспада од 6,7 дана, емитовања β -зрачења енергије 498 keV и γ -зрачења енергије 208 keV, ^{177}Lu представља идеалан радионуклид којим се може постићи жељени терапијски ефекат [12].

Захваљујући присуству карбоксилних, алкохолних и тиолних група на површини SMNČ које потичу од једињења за облагање, површина обложених SMNČ је изразито негативно наелектрисана на рН 5–6 што омогућава грађење веома јаким координативно ковалентних веза са позитивно наелектрисаним јонима ^{99m}Tc и ^{177}Lu . У литератури нису пронађени подаци о обележавању SMNČ обложених HEDP и MDP технецијумом-99m и лутецијумом-177. Фосфонати (MDP и HEDP) обележени технецијумом-99m се користе у

сцинтиграфији коштаног система, док се DMSA обележен технецијумом-99m комерцијално користи за статичку сцинтиграфију бубрега већ више деценија.

Радионуклидна терапија је клинички потврђена метода у терапији карцинома, али је недовољно ефикасна и токсична по здраво ткиво, нарочито уколико се примењује системски [13]. Велика *in vivo* стабилност ^{177}Lu -DMSA-SMNC \checkmark , утврђена малим процентом измерене радиоактивности у костима, указује да не долази до значајније дисоцијације комплекса и отпуштања слободног $^{177}\text{Lu}^{3+}$ са површине SMNC \checkmark , тако да не долази до значајног оштећења околног здравог ткива [14]. Високи приноси обележавања и задовољавајућа *in vivo* стабилност ^{177}Lu -DMSA-SMNC \checkmark након интратуморске примене указују на могућност његове примене у радионуклидној терапији тумора. Прегледом литературе нису пронађени радови где је објављена оптимизација услова обележавања SMNC \checkmark обложених са DMSA овим радионуклидом.

Након интратуморске инјекције, у односу на друге начине примене честица, долази до локалног накупљања радиообележених наночестица (на принципу брахитерапије), што омогућава прецизну локализацију радиотерапијског агенса, ограничавајући и онемогућавајући тиме излагање здравог ткива зрачењу [15].

У овој дисертацији испитан је утицај различитих доза зрачења, као и утицај почетне величине ксенографта на терапијску ефикасност ^{177}Lu -DMSA-SMNC \checkmark . Да би се одредила оптимална доза зрачења, кључно је пронаћи баланс између максималног уништавања тумора и минималног оштећења здравих ткива. Ова одлука се доноси на основу различитих фактора, укључујући врсту тумора, његову величину и локацију, као и опште здравствено стање пацијента. Резултати докторске дисертације показују да је код СТ-26 тумора, у зависности од очекиваног терапијског ефекта, најбоље применити дозу од 15 MBq. Већа доза, тј. доза од 25 MBq, није пожељна јер може да доведе до повећања дозе зрачења коју прими околно ткиво, а терапијски ефекат није статистички значајно већи од ефекта дозе од 15 MBq.

Доказано је да је ^{177}Lu , захваљујући својим повољним физичким карактеристикама, један од радионуклида избора за обележавање наночестица за примену у нанобрахитерапији (НБТ). Његова интратуморска примена омогућава низак ниво изложености зрачењу околних здравих органа и ткива, тако да се не очекује системска токсичност. Добијени резултати терапијске ефикасности ^{177}Lu -DMSA-SMNC \checkmark у складу су са резултатима сличних истраживања у којима је коришћен исти радионуклид [16].

У великом броју студија, на моделу експерименталних животиња попут мишева и паса, испитана је примена нанобрахитерапије [17]. Ефекти нанобрахитерапије су утврђени коришћењем ^{177}Lu , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{188}Re , ^{103}Pd и ^{198}Au на *in vitro* или *in vivo* моделима. У испитивањима су коришћене наночестице различитог састава (на бази гвожђа, сребра,

злата) и величина, функционализоване облогама попут PEG, арапске гуме, хелатних агенаса (DTPA, DOTA, TADOTAGA), антитела (најчешће коришћен је трастузумаб) и друго. Величине испитиваних наночестица биле су у распону од 5 nm до преко 100 nm. Такође, у експериментима су коришћене различите дозе зрачења, од 0,5 MBq до 50 MBq [18,19]. Приказани резултати истраживања у овој докторској тези су у складу са резултатима других истраживачких група.

У докторској дисертацији додатно је испитан утицај величине тумора на терапијску ефикасност $^{177}\text{Lu-DMSA-SMN}\check{\text{C}}$. Одређен је мерењем величине и израчунавањем запремине ксенографта код BALB/с мишева са ксенографтима CT-26 и 4T1 тумора, у току 14 дана од интратуморске инјекције 3,7 MBq / 0,1 mg/ 0,05 ml $^{177}\text{Lu-DMSA-SMN}\check{\text{C}}$. Резултати овог истраживања још једном упућују на закључак да, у зависности од врсте тумора, терапију треба започети у раној фази развоја, када је величина тумора мања и док није дошло до локалног или удаљеног метастатског ширења.

На основу добијених резултата, $^{177}\text{Lu-DMSA-SMN}\check{\text{C}}$ се може сматрати потенцијалним нанобрахитерапијским агенсом. Како класична брахитерапија представља инвазиван метод лечења, који са собом носи бројне ризике по пацијента, сматра се да примена радиообележених биокомпатибилних наночестица, има извесних сличности али и значајних предности [20].

Такође, у односу на циљану радионуклидну терапију, примењену системски, најчешће интравенски, предност интратуморског начина инјектовања је што радиоактивност остаје на месту инјектовања, не елиминише се, тако да не долази до нежељених ефеката зрачења у здравим органима и ткивима. Ово је од велике важности будући да нежељени ефекти могу представљати ограничавајући фактор од кога зависи наставак терапије. Још једна предност интратуморског начина инјектовања радиообележених наночестица је што се примењена доза зрачења може прилагодити датом типу и величини тумора, као и здравственом стању сваког пацијента понаособ. Ова метода омогућава прецизну доставу зрачења директно у туморско ткиво, смањујући оштећења здравог ткива и повећавајући ефикасност терапије.

Модел ксенографта су у великој мери коришћени од 1960-их и остају најчешће коришћени животињски модели за развој лекова за терапију карцинома. Ови модели су од суштинског значаја за процену ефикасности нових потенцијалних лекова, намењених терапији тумора. Лехнер и сарадници (2013) су користили ксенографте CT-26 тумора на мишевима за проучавање имунолошког профила карцинома дебелог црева како би идентификовали нова циљна места дејства потенцијалних терапијских агенаса [21].

У циљу разумевања терапијског ефеката $^{177}\text{Lu-DMSA-SMN}\check{\text{C}}$, као потенцијалног нанобрахитерапијског агенса, након његове интратуморске примене у ксенографте CT-26 и 4T1 тумора код BALB/с мишева, посебна пажња је била усмерена ка патохистолошкој

анализи туморског ткива и органа од интереса. Патохистолошка испитивања тумора показала су да су оштећење туморског ткива и степен некрозе тумора дозно зависни. Најмањи степен некрозе туморског ткива (дискретна некроза) постигнут је након примене дозе од 1,85 MBq ^{177}Lu -DMSA-SMNČ, као и након примене 3,7 MBq ^{177}Lu -DMSA-SMNČ, док је највећи степен (изражена некроза) постигнут применом доза од 15 и 25 MBq ^{177}Lu -DMSA-SMNČ. Токсични ефекти на здравим ткивима и органима нису примећени.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Gogoi P, Kaur G, Singh NK. Nanotechnology for colorectal cancer detection and treatment. *World J Gastroenterol*. 2022; 28(46): 6497–511.
2. Krishnan KM. Biomedical nanomagnetism: A spin through possibilities in imaging, diagnostics, and therapy. *IEEE Trans Magn*. 2010; 46(7):2523–58.
3. Jordan A, Scholz R, Wust P, Fähling H, Felix R. Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles. *J Magn Mater*. 1999; 201(1–3):413–9.
4. Guo T, Lin M, Huang J, Zhou C, Tian W, Yu H, et al. The recent advances of magnetic nanoparticles in medicine. *J Nanomater*. 2018; 2018.
5. Gupta AK, Naregalkar RR, Vaidya VD, Gupta M. Recent advances on surface engineering of magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications. *Nanomedicine*. 2007;2(1):23–39.
6. Abolfazl Akbarzadeh. Magnetic nanoparticles: preparation. *J Minim Invasive Gynecol*. 2012;(7):144.
7. Lammers T, Kiessling F, Hennink WE, Storm G. Drug targeting to tumors: Principles, pitfalls and (pre-) clinical progress. *J Control Release [Internet]*. 2012;161(2):175–87.
8. Gilchrist RK, Shorey WD, Hanselman RC, Parrott JC, Taylor CB. *Gilchrist.Pdf*. Vol. 146, *Ann. Surg*. 1957. p. 596–606.
9. Hong H, Zhang Y, Sun J, Cai W. Molecular imaging and therapy of cancer with radiolabeled nanoparticles. *Nano Today*. 2009;4(5):399–413.
10. Vučina J, Nikolić N, Petrović D. Technetium-99m in production and use. *Nucl Technol Radiat Prot*. 2009;24(1):68–73.
11. Salvanou EA, Bouziotis P, Tsoukalas C. Radiolabeled Nanoparticles in Nuclear Oncology. *Adv Nano Res*. 2018;1(1):38–55).
12. Rezaaur Rahman AKM, Amin R. Production route analysis of a therapeutic radionuclide ^{177}Lu . 2022;12(9).
13. Brachi G, Ruiz-Ramírez J, Dogra P, Wang Z, Cristini V, Ciardelli G, et al. Intratumoral injection of hydrogel-embedded nanoparticles enhances retention in glioblastoma. *Nanoscale*. 2020;12(46):23838–50.
14. Salvanou EA, Kolokithas-Ntoukas A, Prokopiou D, Theodosiou M, Efthimiadou E, Koźmiński P, et al. ^{177}Lu -Labeled Iron Oxide Nanoparticles Functionalized with Doxorubicin and Bevacizumab as Nanobrachytherapy Agents against Breast Cancer. *Molecules*. 2024;29(5)).
15. Seniwal B, Thipe VC, Singh S, Fonseca TCF, Freitas de Freitas L. Recent Advances in Brachytherapy Using Radioactive Nanoparticles: An Alternative to Seed-Based Brachytherapy. *Front Oncol*. 2021;11(November):1–24.

16. Cai Z, Yook S, Lu Y, Bergstrom D, Winnik MA, Pignol JP, et al. Local Radiation Treatment of HER2-Positive Breast Cancer Using Trastuzumab-Modified Gold Nanoparticles Labeled with ^{177}Lu . *Pharm Res* [Internet]. 2017;34(3):579–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-016-2082-2>.
17. Danquah MK, Zhang XA, Mahato RI. Extravasation of polymeric nanomedicines across tumor vasculature. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2011;63(8):623–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2010.11.005>.
18. Seniwal B, Thipe VC, Singh S, Fonseca TCF, Freitas de Freitas L. Recent Advances in Brachytherapy Using Radioactive Nanoparticles: An Alternative to Seed-Based Brachytherapy. *Front Oncol*. 2021;11(November):1–24.
19. Yook S, Cai Z, Lu Y, Winnik MA, Pignol JP, Reilly RM. Intratumorally injected ^{177}Lu -labeled gold nanoparticles: Gold nanoseed brachytherapy with application for neoadjuvant treatment of locally advanced breast cancer. *J Nucl Med*. 2016;57(6):936–42.
20. Bodei L, Cremonesi M, Ferrari M, Pacifici M, Grana CM, Bartolomei M, et al. Long-term evaluation of renal toxicity after peptide receptor radionuclide therapy with ^{90}Y -DOTATOC and ^{177}Lu -DOTATATE: The role of associated risk factors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35(10):1847–56.
21. Ayeka PA, Bian YH, Githaiga PM, Zhao Y. The immunomodulatory activities of licorice polysaccharides (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) in CT-26 tumor-bearing mice. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):1–9.

4. ЗАКЉУЧАК - ОБРАЗЛОЖЕЊЕ НАУЧНОГ ДОПРИНОСА ДОКТОРСКЕ

ДИСЕРТАЦИЈЕ

Малигне болести остају и даље водећи узрок смртности у развијеним земљама широм света, али и у земљама у развоју. У Републици Србији је стопа обољевања, као и број случајева откривених у узнапредовалим стадијумима болести, јако висока. Мушкарци у Србији најчешће су обољевали од карцинома плућа и бронха, док је карцином колона и ректума био на другом месту по заступљености. Жене су најчешће оболевале од карцинома дојке, а на трећем месту по учесталости је био карцином колона и ректума. Евидентни недостатак ефикасних метода лечења наглашава потребу за новим терапијским приступима. Иновативне терапије су неопходне, посебно за пацијенте са резистентним облицима карцинома, као што су троструко негативни карцином дојке или метастатски карцином дојке и колона. Захваљујући брзом развоју науке и медицине протеклих неколико деценија, данас се, са више или мање успеха, уводи већи број нових, веома различитих терапијских приступа. Неки од њих одобрени су од стране релевантних регулаторних тела, док се други налазе у различитим фазама испитивања. Велике наде полажу се и у бројне охрабрујуће претклиничке и клиничке резултате добијене на пољу наномедицине и нуклеарне медицине.

У овој докторској дисертацији, кандидат Драгана Станковић детаљно је приступила испитивању могућности за добијање нових потенцијалних терапијских и тераностичких

агенаса на бази магнетних наночестица обележених технецијумом-99m и лутецијумом-177 за дијагностику и лечење карцинома дојке и дебелог црева.

Докторска дисертација је написана систематично, јасним и разумљивим стилем на 114 страна. Садржи све неопходне делове научног рада који су организовани у 6 поглавља: увод, циљеви и радне хипотезе, експериментални део, резултати и дискусија, закључак, литература.

Поглавље **Увод** написано је у складу са разматраном проблематиком. Детаљно је дата теоријска основа за истраживање, са прегледом тренутног епидемиолошког стања разматраних болести, дејства јонизујућег зрачења на биолошке системе, значаја нуклеарне медицине (радионуклидне дијагностике, терапије и тераностике) у терапији тумора као и значај наномедицине. Детаљно је дат литературни преглед метода синтезе и облагања површине SMNČ различитим облогама, као и најновија истраживања услова обележавања SMNČ радионуклидима. Приказани су резултати клиничке примене магнетне хипертермије и радиоактивног зрачења у терапији тумора, као и предности и недостаци ових појединачних терапијских приступа. Образложена је потреба за синтезом нових биокompatibilних SMNČ и испитивањем услова за њихово обележавање жељеним радионуклидом, чиме би се добио мултифункционални дијагностички/терапијски агенс за примену у магнетној хипертермији и/или радионуклидној терапији карцинома. Велика пажња посвећена је биолошком понашању SMNČ након интравенске примене, али и тренутно слабије заступљеном, а обећавајућем начину примене терапијског агенса-интратуморској примени. Увод пружа свеобухватан и савремен преглед проблематике којом се предметна дисертација бави. Добро је дефинисано подручје истраживања и прецизно су објашњене потребе за истраживањем.

Комисија је мишљења да су наведени **циљеви истраживања** добро формулисани, јасно изложени, повезани са предметом истраживања и у потпуности реализовани. Такође, кандидат је јасно и прецизно формулисао наведене хипотезе на задате циљеве истраживања, а очекивани резултати истраживања могу представљати значајан допринос науци.

У поглављу **Експериментални део** детаљно су описане све методе и експерименти спроведени у овим истраживањима. Информације о методама синтезе и облагања SMNČ на бази Fe₃O₄ као и о уређајима и методама за њихову физичко-хемијску карактеризацију наведене су детаљно и омогућавају поновљивост истраживања. На врло јасан и разумљив начин описане су развијене технике обележавања обложених SMNČ технецијумом-99m и лутецијумом-177, као и методе утврђивања њихове *in vitro* стабилности. Примењене методе за испитивање *in vivo* стабилности и биодистрибуције ^{99m}Tc-HEDP-SMNČ, ^{99m}Tc-MDP-SMNČ и ^{99m}Tc-DMSA-SMNČ јасно су објашњене. Примењене методе за испитивање *in vivo* стабилности и биодистрибуције ¹⁷⁷Lu-DMSA-SMNČ, прикладне су за процену

његовог антитуморског ефекта на BALB/c мишевима са индукованим ксенографтима тумора дојке и колона. Примењене методе истраживања описане су јасно и систематично чиме се у потпуности омогућава поновљивост експеримената. Избор коришћених метода испитивања је адекватан што обезбеђује добијање у потпуности поузданих и квалитетних резултата у складу са постављеним циљевима дисертације.

Поглавље **Резултати и Дискусија** описује најважније резултате добијене у оквиру сваког појединачног циља истраживања. Резултати испитивања су прегледно и уверљиво приказани табеларно и графички, уз јасна пратећа текстуална тумачења.

Кандидат је аргументовано и критички дао појашњење и анализирао резултате сопствених истраживања, поредећи их са савременим, актуелним и релевантним наводима из других научних студија, које су обрађивале сличну или исту проблематику. Дискусија је обрађена јасно и аргументовано и током дискусије нису констатоване нелогичности. Изнети резултати су оригинални, свеобухватни, јасно интерпретирани и приказани логичним редоследом на систематичан начин. Дискусија добијених резултата је исцрпна, уверљива и научно утемељена, те указује на познавање проучаване проблематике уз критички осврт на савремену литературу. Кандидат је истакао сличности и разлике између резултата добијених у дисертацији и актуелних података из литературе.

У поглављу **Закључак**, на основу добијених резултата и дискусије изведени су јасни, концизни, научно засновани и поуздани закључци. Закључци су приказани на врло јасан и прецизан начин, прецизно формулисани, утемељени на представљеним резултатима истраживања и произилазе из добро постављених циљева и примењене адекватне методологије.

Поглавље Литература садржи 256 релевантних литературних навода, који су цитирани према Ванкувер стилу. Приказане референце су актуелне и у складу су са темом ове дисертације.

Докторска дисертација по својој свеобухватности, добијеним резултатима и изнетим закључцима представља оригинални научни допринос у области нуклеарне медицине. Истраживања нових радиофармацеутика на бази SMNČ обележених радионуклидима, примењених локалном интратуморском инјекцијом омогућавају нови приступ у терапији под називом нанобрахитерапија. Сматра се да овај начин примене једног мултифункционалног агенса на бази радиообележених наночестица може имати велики потенцијал у терапији и тераностици карцинома.

У литератури не постоје подаци о условима оптимизације обележавања SMNČ (обложених са MDP, HEDP и DMSA) технецијумом-99m и лутецијумом-177. Такође, дисертација указује на способност повећаног акумулације радиообележених SMNČ у туморском ткиву након локалне интратуморске инјекције, уз статистички значајну инхибицију раста тумора услед терапијског ефекта зрачења. У дисертацији је доказан безбедносни токсиколошки профил овог новог радиофармацеутика, као и да је радионуклид ^{177}Lu погодан за терапију тумора мање запремине (до 150 mm³), док је за

туморе са већом запремином неопходна примена радионуклида већих енергија зрачења (нпр. ^{90}Y , ^{186}Re , ^{225}Ac). Добијени резултати отварају једно ново поглавље у истраживању могућности синтезе и карактеризације радиофармацеутика на бази SMNČ и њихове улоге у терапију тумора, што ову дисертацију чини изузетно вредном.

5. ОБЈАВЉЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Радови објављени у врхунским међународним часописима

M₂₁

1. M. Mirković, M. Radović, **D. Stanković**, Z. Milanović, D. Janković, M. Matović, M. Jeremić, B. Antić, S. Vranješ-Đurić, *$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -bisphosphonate-coated Nanoparticles as Potential Theranostic Nanoagent*, Mater. Sci. Eng. C Mater Biol Appl., 2019, (102) p. 124-133, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.034>

Назив часописа: Materials and Science Engineering C

Категорија: *Materials Science, Biomaterials (8/38)*; **Импакт фактор (2019) = 5.88; M21**

2. **Dragana Stanković**, Magdalena Radović, Aljoša Stanković, Marija Mirković, Aleksandar Vukadinović, Milica Mijović, Zorana Milanović, Miloš Ognjanović, Drina Janković, Bratislav Antić, Sanja Vranješ-Đurić, Miroslav Savić, Željko Prijović, Synthesis, Characterization, and Therapeutic Efficacy of ^{177}Lu -DMSA@SPIONS in Nanobrachytherapy of Solid Tumors, PHARMACEUTICS, 2023, 15(7), 1943, doi.org/10.3390/pharmaceutics15071943

Назив часописа: Pharmaceutics

Категорија: *Pharmacology & Pharmacy (39/274)*; **Импакт фактор (2023) = 5,5; M21**

Саопштења са међународних скупова штампана у целини

M33

1. M. Mirković, M. Radović, D. Janković, Z. Milanović, M. Perić, A. Vukadinović, **D. Stanković**, Đ. Petrović, S. Vranješ-Đurić, Two novel bisphosphonate-coated MNPs labeled with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ designed as potential theranostic agents, 14th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade 2018, Proceedings, Volume II, 975-978.

2. **D. Stanković**, M. Radović, M. Mirković, Z. Milanović, A. Stanković, M. Mijović, M. Ognjanović, D. Janković, A. Vukadinović, B. Antić, S. Vranješ-Đurić, M. Savić, Ž. Prijović, Synthesis, characterization and in vivo behavior of ^{177}Lu -DMSA-SPIONS, 17th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade 2024

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу

M34

1. M. Mirković, M. Radović, D. Janković, A. Vukadinović, M. Perić, **D. Stanković**, Đ. Petrović, S. Vranješ-Đurić, Three novel bis-phosphonate-coated MNPs labeled with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ as

multifunctional agents for possible use in medicine, 19th Annual Conference (YUCOMAT 2017), Herceg Novi, Montenegro, September 04-08, 2017, Programme and The Book of Abstracts Programme, p. 93.

2. A. Vukadinović, D. Janković, M. Mirković, M. Radović, M. Perić, Z. Milanović, **D. Stanković**, S. Vranješ-Djurić, Preparation and radiolabeling of surface-modified magnetic nanoparticles with technetium-99m as potential radiopharmaceuticals in nuclear medicine, 31st Annual EANM'18 Congress, Düsseldorf, Germany, October 13–17, 2018, poster EP-0872.

3. Marija Mirković, Zorana Milanović, Sanja Vranješ-Đurić, Drina Janković, Aleksandar Vukadinović, Marko Perić, Đorđe Petrović, **Dragana Stanković**, Magdalena Radović, ^{99m}Tc-labeled phosphonate-coated magnetic nanoparticles, 9th Balkan Congress of Nuclear Medicine (May 12-14, 2022), Vrdnik, Serbia, pp. 44

4. **Dragana Stanković**, Magdalena Radović, Marija Mirković, Zorana Milanović, Aljoša Stanković, Milica Mijović, Miloš Ognjanović, Drina Janković, Aleksandar Vukadinović, Bratislav Antić, Sanja Vranješ-Đurić, Miroslav Savić, Željko Prijović, Therapeutic Efficacy of ¹⁷⁷Lu-DMSA-SPIONs in a Mouse CT-26 and 4T1 Xenograft Model, 21st European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals (ESRR'24), Coimbra, Portugal

Саопштења са домаћих скупова штампана у изводу

M64

5. **Dragana Stanković**, Drina Janković, Marija Mirković, Magdalena Radović, Zorana Milanović, Aleksandar Vukadinović, Aljoša Stanković, Marko Perić, Sanja Vranješ-Đurić, Željko Prijović, Miroslav Savić, Efficacy of ¹⁷⁷Lu- and ⁹⁰Y-labeled nanoparticles in targeted tumor therapy in a mouse CT-26 and 4T1 xenograft model, VIII Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, 12-15. oktobar 2022., Beograd, Arh. farm 2022; 72: S428–S429

6. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Развој обложених суперпарамагнетних наночестица обележених ^{99m}Tc и ¹⁷⁷Lu и испитивање њихове ефикасности на експерименталном моделу карцинома дојке и колона“ аутора Драгане Т. Станковић, констатујемо да утврђено подударане текста износи 17%. На основу добијених резултата провере оригиналности, ментор, проф. Др Мирослав Савић је саставио и поднео Извештај о контроли аутентичности.

7. МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу изложеног, Комисија закључује да докторска дисертација кандидата, дипломираног фармацеута Драгане Станковић, представља оригинално и адекватно написано научно дело. Кандидаткиња је успешно реализовала постављене циљеве истраживања, а резултати представљени у овој докторској дисертацији представљају значајан допринос у области Радиофармације.

Резултати докторске дисертације су публиковани у два рада у врхунским међународним часописима (М21) и у седам саопштења (2 категорије М33, 4 категорије М34 и једно категорије М64).

Комисија у наведеном саставу позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата дипломираног фармацеута Драгане Станковић, под насловом: „Развој обложених суперпарамагнетних наночестица обележених ^{99m}Tc и ^{177}Lu и испитивање њихове ефикасности на експерименталном моделу карцинома дојке и колона“ и предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета да прихвати овај Извештај о завршеној докторској дисертацији и упути га Већу научних области медицинских наука Универзитета у Београду, ради добијања сагласности за јавну одбрану докторске дисертације.

Београд, 27. фебруар 2025. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Јасмина Брборић, ванредни професор,
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

др Марија Мирковић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке “Винча”–
Институт од националног значаја за Републику Србију

др Зорана Милановић, виши научни сарадник,
Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке “Винча”–
Институт од националног значаја за Републику Србију