

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu održanoj 26.05.2011. godine, izabrani smo u Komisiju za ocenu i odbranu doktorske disertacije pod nazivom: **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”**, kandidata mr Vojislava Stanića, dipl. hemičara.

Komisija je pregledala dostavljenu doktorsku disertaciju i Nastavno-naučnom veću podnosi sledeći

I Z V E Š T A J

1. UVOD

Naslov i obim disertacije

Doktorska disertacija Vojislava Stanića, dipl. hemičara, pod nazivom **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”** napisana je na 107 strana i sadrži 34 slike, 11 tablica, 257 literaturnih navoda i izvode na srpskom i engleskom jeziku.

Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- 09.05.2008. godine – Kandidat Vojislav Stanić dipl. hemičar, prijavio je doktorsku disertaciju sa temom **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”** i predložio komisiju za ocenu naučne zasnovanosti teme.
- 17.07.2008. godine – Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta je doneta Odluka o odobravanju predloga teme doktorske disertacije Vojislava Stanića, dipl. hemičar, pod nazivom: **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”**; za mentora ove doktorske disertacije je imenovana dr. Suzana Dimitrijević, docent.
- 26.09.2008. godine – Na sednici Stručnog veća naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu je data saglasnost na predlog teme doktorske disertacije Vojislava Stanića, dipl. hemičar, pod nazivom: **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”**.
- 26.05.2011. godine – Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta je doneta Odluka o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije Vojislava Stanića, dipl. hemičara, pod nazivom: **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”**.

Mesto disertacije u odgovarajućoj naučnoj oblasti

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnim oblastima neorganskih materijala i biotehnologije, za koje je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu.

Biografski podaci o kandidatu

Kandidat Vojislav Stanić rođen je 05.09.1970. u Banja Luci, Republika Bosna i Hercegovina. Osnovnu i srednju školu je završio u Beogradu. Diplomirao je 2000. godine na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer Neorganska hemija. Odbranio je magistarsku tezu na istoimenom fakultetu u Beogradu 2005. godine pod naslovom **„Dinuklearni Co(II) kompleksi sa alifatičnim ili aromatičnim karboksilatima i N-funkcionalizovanim ciklamom”**. Odlukom naučnog veća Instituta za nuklearne nauke „Vinča“, na sednici održanoj 06.03.2007. godine, Vojislav Stanić je stekao istraživačko zvanje istraživač saradnik. Od septembra 2008. je zaposlen u „Institutu za nuklearne nauke Vinča” na projektu 142050 koji je finansiralo Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine. Od januara 2011. godine je zaposlen na projektu III 43009 koje finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj. Do sada je objavio i prezentovao 16 naučnih radova, kao autor ili koautor. Član je Srpskog hemijskog društva i American Nano Society.

2. OPIS DISERTACIJE

Struktura i sadržaj disertacije

Doktorska disertacija Vojislava Stanića, dipl. hemičara, pod nazivom: **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”** sadrži 6 poglavlja: Uvod, Opšti deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak i Literatura.

Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

U **Uvodu** kandidat daje kraći osvrt na oblast istraživanja i temu svog rada. Postavljeni cilj istraživanja je sinteza monofaznih materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita delimično supstituisanih (dopiranih) jonima metala: srebra, bakra i cinka za koje se očekivalo da će imati izraženu antimikrobnu aktivnost. U dodatim istraživanjima je otkrivena i njihova hemokompatibilnost.

Opšti deo je podeljen u nekoliko delova. U prvom delu je prikazan značaj, podela i svojstva biomaterijala, koji se primenjuju u ortopediji i stomatologiji za rekonstrukciju koštanih oštećenja. U ovom delu je dat poseban osvrt na mogućnosti primene biomaterijala na bazi kalcijum hidroksiapatita i ostalih vrsta kalcijum fosfata. Drugi deo je posvećen biološkom kalcijum hidroksiapatitu, kao najzastupljenijem neorganskom konstituentu koštanog tkiva. Opisana je njegova uloga u biologiji i medicini. U trećem delu su opisane kristalne strukture hidroksiapatita. Četvrti deo sadrži pregled postupaka sinteze kalcijum hidroksiapatita. Navedeni su faktori sinteze koji utiču na strukturne i morfološke osobine čestica hidroksiapatita dobijenih metodom neutralizacije. Peti deo sadrži pregled raznih metal supstituisanih hidroksiapatita. U šestom delu je ukazano na problem infekcija nastalih ugradnjom biomaterijala kao implanta u ortopediji i stomatologiji. U sedmom delu predstavljene su osnovne hipoteze o mogućim mehanizmima antimikrobnog dejstva jona metala: Ag(I), Cu(II) i Zn(II).

U **Eksperimentalnom delu** dat je opis korišćenih materijala, primenjenih eksperimentalnih postupaka i navode se merni instrumenti. U ovom delu opisan je postupak sinteze prahova kalcijum hidroksiapatita delimično supstituisanih jonima metala: srebra, bakra ili cinka, neutralizacionom metodom. Za karakterizaciju dobijenih prahova hidroksiapatita korišćene su metode: **Rendgenostruktorna** analiza (XRD), Infracrvena spektroskopija (FTIR), Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM), Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM), ICP (indukovano spregnuta plazma) i EDS (energijsko disperzivna spektrometrija). Antimikrobne aktivnosti i biokompatibilnosti sintetisanih uzoraka hidroksiapatita su ispitane korišćenjem standardnih test metoda ili metoda koje su već valorizovane u literaturi.

U poglavlju **Rezultati i diskusija** prikazani su rezultati istraživanja sa diskusijom. Sintetisani su prahovi kalcijum hidroksiapatita sa različitim sadržajem jona dopantnih metala: srebra, bakra ili cinka. XRD i analizom infracrvenih spektara utvrđen je fazni sastav prahova i nije primećena ni jedna druga faza osim hidroksiapatitne. SEM i TEM analize sintetisanih uzoraka su pokazale da su dobijene čestice sličnih morfoloških karakteristika: nepravilanog cilindričnog oblika, često izvijene i neujednačene veličine. Prosečna dužina čestica kod svih uzoraka iznosi oko 70 nm, a širina oko 15-20 nm. Antimikrobna efikasnost sintetisanih uzoraka hidroksiapatita ispitana je prema patogenima koji se dovode u vezu sa infekcijama koštanih implanta: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Candida albicans* ATCC 24433. Antimikrobna aktivnost sintetisanih uzoraka je zavisila od vrste i količine dopantnog jona. Uzorci dopirani jonima srebra su pokazali najjaču antimikrobnu aktivnost. Antimikrobna aktivnost uzoraka je rasla sa povećanjem sadržaja dopantnog jona. Rezultati AFM analize su pokazali da je letalni efekat čestica kalcijum hidroksiapatita dopiranih jonima srebra prema ćelijama mikroorganizama: *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*, nastao usled oštećenja spoljašnjih ćelijskih omotača. Testirani uzorci hidroksiapatita dopiranih jonima srebra i cinka, nisu pokazali hemolitičku aktivnost.

U **Zaključku** sumirani su i prokomentarisani dobijeni rezultati, a koji odgovaraju postavljenim ciljevima doktorske teze.

Navedena **Literatura** (257 citata) obuhvata radove iz oblasti istraživanja i iscrpno pokriva sve delove disertacije.

3. OCENA DISERTACIJE

Savremenost, originalnost i značaj

Predmet istraživanja doktorske disertacije Vojislava Stanića dipl. hemičar, pod nazivom: **”Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita”** je sinteza novih monofaznih materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita dopiranih jonima metala: srebra, bakra ili cinka i ispitivanja njihove antimikrobne aktivnosti. Biomaterijali su atraktivno polje istraživanja zbog njihove široke primene u medicini, farmaciji, kozmetici i industriji. Indikacije za upotrebu sintetskih materijala u cilju ozdravljenja koštanog tkiva i popunjavanja koštanih defekata nakon bolesti, traume ili hiruške intervencije, svakodnevno se povećavaju. Među njima posebno mesto zauzimaju materijali na bazi kalcijum hidroksiapatita, zbog svoje sličnosti sa mineralnom komponentom kostiju. U razvoju novih materijala na bazi hidroksiapatita za primenu u ortopedskoj hirurgiji i stomatologiji, posebna pažnja se posvećuje sprečavanju infekcija, koje mogu nastati nakon ugradnje implanta. Prema nekim naučnim studijama, pojava infekcija se javlja kod 5% pacijenata i one mogu dovesti do odstranjenja implanta. Sve češća rezistencija mikroorganizama prema antibioticima, predstavlja ozbiljan problem prilikom lečenja obolelih. Stoga se u novijim istraživanjima posebna pažnja pridaje pronalaženju antimikrobno aktivnih materijala sa širokim spektrom dejstva.

Najveći broj dosadašnjih istraživanja je bio fokusiran na iznalaženju postupaka ugradnje jona metala: srebra, bakra ili cinka u čestice hidroksiapatita i ispitivanju njihove antimikrobne aktivnosti. Glavni problem kod postojećih sintetskih metoda je prisustvo primesa koje utiču na strukturu, fizičko-hemijske osobine i na antimikrobnu aktivnost dobijenih materijala. U ovoj tezi je ukazano na dobijanju monofaznih i antimikrobno aktivnijih materijala. Dodatno, u ovoj disertaciji su mnogo detaljnije ispitivane antimikrobna svojstva. Posmatranjem pomoću AFM mikroskopa je predložen mehanizam antimikrobnog dejstva sintetisanih prahova. Osim toga, poseban doprinos ove teze se ogleda u ispitivanju biokompatibilnosti, odnosno, hemotoksičnosti sintetisanih materijala.

Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

Vojislav Stanić, dipl. hemičar, je tokom pisanja doktorske teze, koristio sve dostupne reference iz oblasti proučavanja biomaterijala koji se primenjuju u ortopediji i stomatologiji za rekonstrukciju koštanih oštećenja, postupaka dobijanja hidroksiapatita, metoda određivanja antimikrobne aktivnosti i biokompatibilnosti. Kandidat je pokazao visoki stepen sagledavanja i poznavanja problema koji su bili predmet istraživanja.

Analiza primenjenih naučnih metoda i njihova adekvatnost za sprovedeno istraživanje

U ovoj doktorskoj tezi su primenjene najsavremenije naučne metode za karakterizaciju sintetisanih prahova hidroksiapatita, za ispitivanje njihove antimikrobne aktivnosti i biokompatibilnosti. **Rendgenostrukturalna** analiza (XRD) je korišćena za identifikaciju prisutnih kristalnih faza u sintetisanim uzorcima hidroksiapatita. Infracrvena spektroskopija (FTIR) je primenjena kao kvalitativna metoda kojom je na osnovu položaja apsorpcionih traka izvršena identifikacija funkcionalnih grupa. Pomoću transmisijiskog i skenirajućeg elektronskog mikroskopa su određeni veličine i oblici sintetisanih čestica hidroksiapatita. Elementalni sastav sintetisanih uzoraka je određen pomoću ICP (indukovano spregnuta plazma) i EDS (energijsko disperzivna spektrometrija).

Za ispitivanje antimikrobne aktivnosti sintetisanih prahova hidroksiapatita prema mikroorganizmima: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans*, korišćeni su kvalitativni test (difuzije na agarnoj ploči) i kvantitativni (određivanje procenta redukcije broja mikroorganizama u tečnom medijumu). Mikroskopom atomskih sila (AFM) je ispitivan efekat čestica hidroksiapatita dopiranih jonima srebra na morfologiju ćelija mikroorganizama: *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*.

Biokompatibilnost sintetisanih prahova hidroksiapatita dopiranih jonima srebra i cinka je ispitana testom hemotoksičnosti.

Ocena primenljivosti i verifikacije ostvarenih rezultata

U okviru posmatrane doktorske disertacije pod naslovom “**Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita**”, kandidat je postigao naučni doprinos u razvoju novih antimikrobnih materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita. Kandidat je, pored naučnog, dao i praktični doprinos bitan za budući razvoj posmatrane problematike.

Ocena sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

Kandidat Vojislav Stanić, dipl. hemičar, je tokom izrade doktorske disertacije ispoljio izuzetnu stručnost u pripremi i realizaciji eksperimenata kao i u analizi postignutih rezultata. Kandidat poseduje sve kvalitete koji su neophodni za samostalni naučni rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

Naučni doprinos priložene doktorske disertacije pod nazivom “**Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita**” se ogleda u savremenosti problematike s obzirom da je glavni cilj disertacije bio sinteza monofaznih materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita dopiranih jonima metala: srebra, bakra i cinka i proučavanju njihovih antimikrobnih svojstava. Prikazani rezultati su pokazali da sintetisani materijali imaju veliki potencijal primene u medicini zbor izrazite antimikrobne aktivnosti prema najčešćim uzročnicima infekcija nastalih nakon ugradnje koštanih implanta. Sveobuhvatnost istraživanja ogleda se u tome što su izvršene sinteze i karakterizacije novih monofaznih materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita, do ispitivanja njihove antimikrobne aktivnosti i biokompatibilnosti. Na ovaj način dobijeni naučni rezultati su veoma korisni za dalja klinička istraživanja.

Kritička analiza rezultata istraživanja

Dobijene rezultate Vojislav Stanić dipl. hemičar je eksperimentalno proverio pod dobro organizivanim laboratorijskim uslovima, a takođe ih je uporedio sa odgovarajućim rezultatima iz literature, što je dokumentovano kroz diskusiju rezultata.

Očekivana primena rezultata u praksi

Može se očekivati da će rezultati prezentovani u doktorskoj disertaciji Vojislava Stanića dipl. hemičara, doprineti razvoju inženjeringa košanog tkiva. Takođe, sintetisani materijali, pored upotrebe u medicini, mogu naći primenu i u drugim oblastima, sa posebnim osvrtom na oblast prečišćavanja voda.

Naučni doprinosi

Rezultati prikazani u okviru ove disertacije su do sada publikovani u dva naučna rada u istaknutom međunarodnom časopisu "*Applied Surface Science*" i prezentovani u okviru tri saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima.

Radovi objavljeni u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. **V. Stanić**, S. Dimitrijević, J. Antic-Stanković, M. Mitrić, B. Jokić, I. Plećaš, S. Raičević, "Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc doped hydroxyapatite nanopowders", *Applied Surface Science*, 256 (2010) 6083-6089 (ISSN 0169-4332, IF 1,616, citiran 3 puta).
2. **V. Stanić**, D. Janačković, S. Dimitrijević, S. B. Tanasković, M. Mitrić, M. S. Pavlović, A. Krstić, D. Jovanović, S. Raičević, Synthesis of antimicrobial monophase silver-doped hydroxyapatite nanopowders for bone tissue engineering, *Applied Surface Science*, 257 (2011) 4510–4518 (ISSN 0169-4332, IF 1,616).

Radovi saopšteni na skupu međunarodnog značaja štampani u izvodu (M34)

1. S. Raicevic, **V. Stanić**, "Theoretical approach for development of antimicrobial materials based on Ag-apatites", *The Ninth Yugoslav Materials Research Society Conference - YUCOMAT 2007*, Herceg Novi, Montenegro, September 10-14, 2007, The Book of Abstracts, Abstract P.S.A.33, p. 83.
2. **V. Stanić**, M. Mitrić, C. Jovalekić, S. Raicevic, "Mechanochemical synthesis of antimicrobial materials based on Ag-apatites", *The Ninth Yugoslav Materials Research Society Conference - YUCOMAT 2007*, Herceg Novi, Montenegro, September 10-14, 2007, The Book of Abstracts, Abstract P.S.E.1, p. 166.
3. D. Janackovic, **V. Stanić**, P. Uskokovic, S. Dimitrijevic, S. Raicevic, "Synthesis of antibacterial silver doped hydroxyapatite nanopowders as a filler for nanocomposite", *Biomaterials Asia 2009*, April 5-8, 2009, Hong Kong.

Patentne prijave

1. **V. Stanić**, S. Raičević, "Antimikrobni hidroksiapatitni materijali i postupci za njihovo dobijanje", broj prijave P-2007/0388 od 28.09.2007.

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega napred iznetog Komisija smatra da doktorska disertacija kandidata Vojislava Stanića, dipl. hemičara, pod nazivom "**Ispitivanje antimikrobnih aktivnosti materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita**", predstavlja značajan originalni naučni doprinos u oblastima bioinženjerstva i inženjerstva materijala. Rezultati istraživanja pored fundamentalnog, imaju i veliki praktični značaj. Kandidat je dobijene rezultate naučnog istraživanja verifikovao objavljivanjem dva rada u istaknutom međunarodnom časopisu koji se nalazi na SCI listi i ima visoku vrednost IF. Tekst same doktorske disertacije je dobro organizovan, a reference na koje se poziva su reprezentativne i veoma dobro odabrane.

Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-Metalurškog fakulteta da prihvati ovaj Izveštaj i da ga zajedno sa podnetom disertacijom Vojislava Stanića, dipl. hemičara, učini dostupnim na uvid javnosti u zakonski predviđenom roku, kao i da nakon završetka ove procedure pozove kandidata na usmenu odbranu disertacije pred Komisijom u istom sastavu.

Beograd, 13.06.2011.

Članovi Komisije:

Dr Suzana Dimitrijević, docent, TMF-a

Dr Slavica Raičević, naučni savetnik,
Instituta za nuklearne nauke Vinča

Dr Đorđe Janačković, redovni profesor, TMF-a