

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду (“Гласник Универзитета у Београду” број 162/11, пречишћен текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата:

Јована (Слободан) Звицер, мастер инжењер

КАНДИДАТ: **Јована Звицер** пријавила је докторску дисертацију под називом:
„Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“

Из научне области: **ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО**

Универзитет је дана **27.11.2017.** године, својим актом **61206-4815/2-17**, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

„ Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива “

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата **Јоване Звицер** образована је на седници Наставно-научног већа одржаној **28.05.2020.** године Одлуком Факултета под бр. **35/99**, у саставу:

Име и презиме	Звање	Научна област
1.Др Бојана Обрадовић	Редовни професор	Хемијско инжењерство
2.Др Ђорђе Јанаћковић	Редовни професор	Неорганска хемијска технологија
3.Др Весна Мишковић-Станковић	Редовни професор	Физичка хемија и електрохемија
4.Др Јасмина Стојковска	Научни сарадник	Хемијско инжењерство
5.Др Ненад Игњатовић	Научни саветник	Биоматеријали

Студент је уписан на докторске студије школске 2011/2012. године.

На захтев студента, у складу са Статутом Универзитета у Београду и Статутом Факултета, декан је донео Решење бр. 20/153 од 28.09.2018. године о продужењу рока за завршетак студија до истека троструког броја школских година потребних за реализацију уписаног студијског програма, односно до краја школске 2019/2020. године, с обзиром на то да је школске 2017/2018. године искористила право на продужење рока за завршетак студија.

Наставно-научно веће Факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној дана **25.06.2020.** године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

На основу чл. 40. став 3. Закона о високом образовању, чл. 112. став 3. Статута Универзитета у Београду, чл. 88. став 3. Статута ТМФ-а и чл. 39. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 25.06.2020. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Реферата о оцени докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије у саставу: др Бојана Обрадовић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Ђорђе Јанаћковић редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Весна Мишковић-Станковић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Јасмина Стојковска, научни сарадник Иновационог центра Технолошко-металуршког факултета, др Ненад Игњатовић, научни саветник Института техничких наука САНУ, о прегледу и оцени урађене докторске дисертације под називом: **„Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“** коју је поднела **Јована Звицер**, мастер инжењер и упућује се на сагласност Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду.

Веће научних области техничких наука Универзитета у Београду дало је сагласност на предлог теме докторске дисертације Јоване Звицер, под називом **„Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“** Одлуком број: 61206-4815/2-17 од 27.11.2017. године.

Верификација научних доприноса:

Категорија M21:

1. **Zvicer J.**, Obradovic B., Bioreactors with hydrostatic pressures imitating physiological environments in intervertebral discs, *J Tissue Eng Regen Med*, **12**(2) 529-545, **2018**. ISSN 1932-6254 , IF 2018=3.319.
2. **Zvicer J.**, Medic A., Veljovic Dj., Jevtic S., Novak S., Obradovic B., Biomimetic characterization reveals enhancement of hydroxyapatite formation by fluid flow in gellan gum and bioactive glass composite scaffolds, *Polym. Test*, **76**, 464-472, **2019**. ISSN 0142-9418, IF 2018=2.943.
3. Stojkovska J., **Zvicer J.**, Obradovic B., Preclinical functional characterization methods of nanocomposite hydrogels containing silver nanoparticles for biomedical applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, **104**(11), 4643-4658, **2020**. ISSN: 0175-7598, IF 2018=3.670

Категорија M22:

1. **Zvicer J.**, Misković-Stanković V., Obradovic B., Functional bioreactor characterization to assess potentials of nanocomposites based on different alginate types and silver nanoparticles for use as cartilage tissue implants, *J Biomed Mater Res A*, **107**(4) 755-768, **2019**. ISSN 1549-3296, IF 2018=3.221.

Одлуку доставити: Већу научних области техничких наука Универзитета, ментору, Служби за наставно-студентске послове, Библиотеци и Архиви факултета.

Д Е К А Н

Проф. др Петар Ускоковић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата **Јоване С. Звицер**, дипл. инж. технологије - мастер

Одлуком бр. 35/99 од 28.05.2020. године, именовани смо за чланове Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата **Јоване С. Звицер**, дипл. инж. технологије - мастер, под насловом

„Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“

После прегледа достављене Дисертације и других пратећих материјала и разговора са Кандидатом, Комисија подноси Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду следећи

РЕФЕРАТ

1. УВОД

1.1. Хронологија одобравања и израде дисертације

- 25.6.2017. - Кандидат Јована С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер пријавила је тему за докторску дисертацију под насловом: „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“, а Наставно-научно веће Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду донело је одлуку о именовању Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације под називом: „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“ (број одлуке 35/239 од 6.7.2017. године), Јоване С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер.
- 26.10.2017. - На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета усвојен је извештај Комисије за оцену научне заснованости предложене теме докторске дисертације под називом: „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“, а за ментора ове докторске дисертације именована је др Бојана Обрадовић, редовни професор ТМФ (број одлуке 35/384 од 26.10.2017. године).
- 27.11.2017. - На седници Већа научних области техничких наука Универзитета у Београду дата је сагласност на предлог теме докторске дисертације Јоване С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер под називом: „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“ (број одлуке 61206-4815/2-17 од 27.11.2017. године).

• 28.5.2020. - На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета донета је одлука о именовању чланова Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације Јоване С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер под називом: „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“ (број одлуке 35/99 од 28.5.2020. године).

Кандидат Јована С. Звицер, уписала је докторске академске студије на Технолошко-металуршком факултету, Универзитета у Београду, студијски програм Хемијско инжењерство, школске 2011/2012. г. Решењем бр. 20/153 28.9.2018. кандидату је одобрено продужење рока за завршетак докторских студија до краја школске 2019/2020. г.

1.2. Научна област дисертације

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације припадају научној области Технолошко инжењерство, ужа научна област Хемијско инжењерство, за коју је матичан Технолошко-металуршки факултет, Универзитета у Београду. Ментор је др Бојана Обрадовић, редовни професор ТМФ, која је на основу досадашњих објављених научних и стручних публикација и искуства компетентна да руководи изработом ове дисертације.

1.3. Биографски подаци о кандидату

Јована С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер, рођена је 9.2.1986. у Београду, Република Србија. Основне студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду започела је 2005/2006. школске године, а завршила у априлу 2010. године са просечном оценом 8,62 на Одсеку за хемијско инжењерство. Током основних студија била је стипендиста Министарства омладине и спорта Републике Србије. Мастер студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду започела је 2010/2011. школске године, а завршила у октобру 2011. године са просечном оценом 9,75 на студијском програму Хемијско инжењерство. Мастер рад под називом „Испитивање понашања нанокompозитних микрочестица на бази алгината у биомимичном биореактору са динамичком компресијом“ одбранила је са оценом 10 и стекла звање дипломирани инжењер технологије-мастер. Школске 2011/2012. године уписала је докторске студије на матичном факултету, на студијском програму Хемијско инжењерство. Положила је све предвиђене испите на докторским студијама, као и завршни испит под називом „Примена биореакторских система у инжењерству ткива и карактеризацији биоматеријала“, са просечном оценом 9,58.

У звање истраживач-приправник изабрана је 23. марта 2011. године, а у звање истраживач-сарадник 3. децембра 2015. године и у исто звање реизабрана је 31. јануара 2019. године. Од јуна 2012. године запослена је на Технолошко-металуршком факултету у Београду где ради истраживања везана за тематику докторске дисертације као учесник једног пројекта финансираног од надлежног Министарства и 4 међународна научна пројекта:

1. "Синтеза, развој технологија добијања и примена наноструктурних мултифункционалних материјала дефинисаних својстава", пројекат бр. III45019, Министарства просвете и науке Републике Србије, 2011-2019.
2. „Биомимични биореакторски системи за примену у биомедицини - БИОМИМЕТИКА“, ("Biomimetic bioreactor systems for biomedical applications – BIOMIMETIKA"), Eureka E!6749, 2012-2014.
3. From nano to macro biomaterials (design, processing, characterization, modeling) and applications to stem cells regenerative orthopedic and dental medicine (NAMABIO)” COST Action MP1005, European Commission, 2011-2015.
4. “Биомимична карактеризација биоактивних, композитних носача за регенерацију коштаног и остеохондралног ткива" (Biomimetic characterisation of bioactive composite scaffolds for bone and osteochondral tissue repair), Билатерални програм

научно-технолошке сарадње између Републике Србије и Републике Словеније, 2014-2015.

5. „New generation biomimetic and customized implants for bone engineering (NEWGEN)“ COST Action MP1301, European Commission, 2014-2018.

Током студија похађала је више акредитованих летњих школа и курсева, као и више тренинга усмерених на развој пословних вештина, заштиту интелектуалне својине и трансфер технологије. У току 2016. године боравила је месец дана на Одсеку за наноструктурне материјале на Институту „Јожеф Стефан“ у Љубљани, у Словенији где се бавила електродепозицијом 3Д градијентних носача за инжењерство остеохондралног ткива.

На међународној конференцији YUCOMAT 2015 била је члан техничког комитета.

Као студент докторских студија била је ангажована на извођењу експерименталних вежби из предмета Увод у хемијско инжењерство школске 2015/2016. године, као и рачунских вежби из предмета Механика флуида у току 2016/2017. године. Активно учествује у популаризацији и промоцији науке кроз активности везане за промоцију Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду на Сајмовима науке, технике и књиге, као и на Фестивалима науке и Ноћи истраживача. Такође, члан је стручне комисије за одабир научно-истраживачких радова студената Технолошко-металуршког факултета у Београду који представљају матични факултет на научно-спортској манифестацији Технологијада, у периоду од 2015-2019. године.

Јована С. Звицер је 2013. г. добила награду за најбољу усмену презентацију на Конференцији младих истраживача од Удружења за истраживање материјала Србије и Института техничких наука Србије САСА, као и награду за најбољи студенски рад на Конференцији VIBE 2015 од IEEE компјутерског друштва. Била је члан БиоТехТима који је освојио 3. место на Такмичењу за најбољу технолошку иновацију у Србији 2018. г. Министарства просвете и науке Републике Србије. Иста иновација је на међународним изложбама иновација INOVAMAK 2019 у Скопљу, Северна Македонија и «New Time» у Севастопољу, Крим, 2019. године награђена златним медаљама.

Јована С. Звицер је аутор 5 радова објављених у међународним научним часописима (3 M21, 1 M22 и 1 M23), 1 рада саопштеног на скупу међународног значаја штампаног у целини, 12 радова саопштених на скуповима међународног значаја штампаних у изводу, и 9 радова саопштених на скуповима националног значаја штампаних у изводу. Ко-аутор је једног пријављеног битно побољшаног техничког решења.

2. ОПИС ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Садржај дисертације

Докторска дисертација кандидата Јоване С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер, садржи 175 страна (од којих је 165 страна нумерисано), у оквиру којих се налазе 98 слика, 8 табела и 352 литературна навода. Докторска дисертација садржи 9 целина: Увод, Теоријске основе, Циљ истраживања, Материјале и методе, Резултате, Дискусију, Закључак, Литературу и Прилог. На почетку дисертације дати су изводи на српском и енглеском језику, а биографија кандидата је дата на крају. По свом облику и садржају, поднети рад задовољава све стандарде за докторску дисертацију Универзитета у Београду.

2.2. Кратак приказ појединачних поглавља

У Уводном делу дисертације дата је полазна основа истраживања у овој докторској дисертацији и истакнут је значај примене биомимичних биореактора у развоју и карактеризацији биоматеријала. Поред тога наглашена је важност свеобухватног приступа у

евалуацији биоматеријала и потреба за развојем нових метода које ће омогућити боље предвиђање реалне функционалности и понашања биоматеријала у одређеној примени.

Теоријски део се састоји из три потпоглавља: Инжењерство ткива: концепт, могућности и достигнућа, Инжењерство ткива хрскавице и кости и Приступи у карактеризацији биоматеријала.

У потпоглављу под називом Инжењерство ткива: концепт, могућности и достигнућа описане су основне поставке на којима се базира наука о инжењерству ткива, са посебним освртом на кључне улоге биореактора и биоматеријала у развоју ове области. Посебно је истакнута потреба за унапређењем ћелијских култура од традиционалних ћелија у монослоју у дводимензионалном (2Д) окружењу у Петријевим шољама ка физиолошки релевантнијим тродимензионалним (3Д) културама ћелија и ткива у биореакторским системима.

У потпоглављу под називом Инжењерство ткива хрскавице и кости дат је преглед основних актуелних приступа у инжењерству ткива која су у фокусу ове докторске дисертације, односно ткива артикуларне хрскавице, кости и интервертебралног диска уз осврт и на инжењерство остеохондралног ткива. За свако ткиво описани су основна структура, морфологија и састав, као и биомеханичке силе којима је ткиво подвргнуто, а затим је дат преглед биореактора и биоматеријала који су коришћени у *in vitro* регенерацији ових ткива. При томе су посебно обрађени биомимични биореактори и то, проточни биореактори, биореактори са динамичком компресијом и биореактори са применом хидростатичких притисака, а од примењиваних биоматеријала посебан акценат је стављен на хидрогелове алгината и геланске гуме, као и композите на бази ових материјала са наночестицама сребра и наночестицама биоактивног стакла.

У потпоглављу Приступи у карактеризацији биоматеријала описане су методе за испитивање различитих својстава и функционалности нанокмполитних хидрогелова са становишта биомедицинске примене, као што су испитивања цитотоксичности, механичких карактеристика и кинетике отпуштања активне компоненте. Посебна пажња је посвећена разумевању јаза између резултата који су добијени у традиционалним 2Д *in vitro* ћелијским културама и у *in vivo* испитивањима на животињама.

У поглављу Циљеви истраживања наведен је основни циљ, а затим и посебни циљеви ове докторске дисертације који се односе на примену проточног биореактора и биореактора са динамичком компресијом у карактеризацији потенцијалних биоматеријала за биомедицинску примену и то, нанокмполитних хидрогелова алгината са наночестицама сребра за инжењерство ткива артикуларне хрскавице и хидрогелова геланске гуме са наночестицама биоактивног стакла за инжењерство ткива кости и остеохондралног ткива. Најзад, посебан циљ ове дисертације је био и развој новог биореактора за инжењерство ткива интервертебралног диска.

У поглављу Материјали и методе наведене су све хемикалије, а затим описани сви биомимични биореактори коришћени током израде ове дисертације. Наведене су методе које су примењене у току експерименталног рада, а које су обухватиле поступак електрохемијске синтезе наночестица сребра у раствору Na-алгината и карактеризацију добијеног колоидног раствора, методе добијања нанокмполитних хидрогелова на бази алгината и наночестица сребра, као и методе карактеризације нанокмполитних хидрогелова. Описана је метода изоловања ћелија хондроцита и експлантата из артикуларне хрскавице телета, као и успостављање ћелијских односно ткивних култура. Детаљно су описане методе испитивања цитотоксичности Ag/алгинатних дискова и колоидног раствора у културама ћелија и ткива, а за Ag/алгинатне дискове описане су методе за одређивање механичке стабилности и отпуштање сребра. Описане су и методе анализе гајених ћелија и ткива које су укључиле МТТ тест и хистолошку анализу. Затим је описана метода добијања макропорозних хидрогелова на бази геланске гуме и биоактивног стакла и методе добијања двофазних остеохондралних имплантата, као и методе карактеризације добијених биоматеријала.

У поглављу Резултати приказани су експериментално добијени резултати у оквиру четири потпоглавља: Карактеризација Ag/алгинатних нанокомпозита у 2Д и 3Д системима, Хидрогелови геланске гуме са наночестицама биоактивног стакла, Двофазни имплантати за инжењерство остеохондралног ткива и Испитивање рада прототипа биореактора са хидростатичким притиском.

У потпоглављу Карактеризација Ag/алгинатних нанокомпозита у 2Д и 3Д системима приказани су добијени резултати свеобухватне карактеризације Ag/алгинатних нанокомпозита добијених полазећи од два типа алгината различитог састава. Показано је да почетни састав алгината утиче на величину синтетисаних наночестица сребра, а затим и на механичку стабилност резултујућих хидрогелова, што даље одређује и њихову потенцијалну примену. Приказане су биомеханичке карактеристике Ag/алгинатних дискова у биомимичном биореактору са динамичком компресијом на основу којих је утврђено да код хидрогелова са мањим уделом гулурунских јединица долази до дезинтеграције након 2 дана, што их чини погодним за примену у третману рана, док су хидрогелови са већим уделом гулурунских јединица, са становишта механичких карактеристика, погодни као потенцијални антибактеријски имплантати у инжењерству ткива артикуларне хрскавице. Такође, показано је да испитивани колоидни раствор и хидрогелови имају различито цитотоксично дејство у 2Д систему на ћелије у монослоју и у условима физиолошки релеватне компресије у 3Д систему у култури ткива. Концентрације које су показале висок степен цитотоксичности у 2Д ћелијским културама, у 3Д култури ткива нису утицале на вијабилност ћелија. Експериментални резултати отпуштања сребра из Ag/алгинатних дискова у статичким условима и у условима динамичке компресије у биомимичном биореактору успешно су моделовани преносом масе дифузијом, односно конвекцијом и дифузијом, на основу чега су одређени привидни коефицијент дифузије и нето брзина струјања флуида унутар хидрогела при динамичкој компресији.

У потпоглављу Хидрогелови геланске гуме са наночестицама биоактивног стакла приказани су хидрогелови геланске гуме са наночестицама биоактивног стакла, добијени претходно примењиваном методом, који су садржали унутрашње поре, као и макропорозни хидрогелови са отвореним, повезаним порама који су добијени унапређеном методом која је развијена у овој дисертацији. Испитивање формирања минералне фазе калцијум фосфата у проточном биореактору, биореактору са динамичком компресијом и статичким условима је јасно показало утицај преноса масе на брзину процеса. Наиме, проток флуида директно кроз макропорозне узорке површинском брзином од $\sim 120 \mu\text{m/s}$ је довео до брже конверзије биоактивног стакла што је даље довело до побољшања механичких карактеристика хидрогелова за око 90 % у односу на иницијалне узорке.

У оквиру потпоглавља Двофазни имплантати за инжењерство остеохондралног ткива приказан је развој методе за добијање двофазних имплантата на бази геланске гуме и наночестица биоактивног стакла са добром интеграцијом између слојева и танком прелазном зоном. Добијени имплантати су у биореактору са динамичком компресијом показали очување структуре и изражену конверзију биоактивног стакла у минералну фазу калцијум фосфата у доњој остео-фази имплантата.

У оквиру потпоглавља Испитивање рада прототипа биореактора са хидростатичким притиском приказани су резултати испитивања и последичног развоја два прототипа новог биореактора са применом хидростатичких притисака и то у погледу начина пуњења коморе, преноса притиска са хидрауличке коморе на комору за гајење ћелија и ткива, и брзине аквизиције података са сензора притиска.

У поглављу Дискусија, експериментално добијени резултати у овој докторској дисертацији су детаљно анализирани и дискутовани у односу на објављене резултате у литератури. Биомимични биореактори коришћени у овој дисертацији, и то, проточни биореактор и биореактор са динамичком компресијом, су се показали као неопходни инструменти за

свеобухватну и поуздану карактеризацију нових биоматеријала, као и утврђивање смерница за побољшање и оптимизацију метода добијања и структуре биоматеријала у правцу одређене примене. Наиме, испитивања нанокомполитних Ag/алгинатних хидрогелова на бази две врсте Na-алгината у овим биореакторима се показало као кључно за одређивање потенцијалне примене, као и за поузданије одређивање потенцијалне цитотоксичности ових хидрогелова у клиничкој примени. Тиме је потврђена хипотеза изнета у литератури да 3Д биомимични системи могу да премосте *in vitro* – *in vivo* јаз односно разлике између резултата добијених у 2Д ћелијским културама и у испитивањима на животињама. Поред тога, испитивања две врсте хидрогелова на бази геланске гуме и биоактивног стакла у овим биореакторима је јасно указало на разлике у морфологији ових хидрогелова, као и утицај брзине преноса масе на укупну брзину конверзије биоактивног стакла у правцу минералне фазе. Ова метода испитивања је иновативна у односу на испитивање акумулације минералне фазе у композитним узорцима у статичким условима, широко примењиване у литератури. Поређењем резултата испитивања нових двофазних узорака као потенцијалних остеохондралних имплантата у биомимичном биореактору са динамичком компресијом са објављеним приступима инжењерства остеохондралног ткива у литератури, нови имплантати су стављени у шири контекст потенцијалне клиничке примене. Најзад, дискутоване су и конструкцијске предности развојног решења биореактора са применом хидростатичких притисака у односу на решења објављена у литератури.

У поглављу Закључак концизно су изнети постигнути резултати у истраживању и сумирани закључци, а који одговарају постављеним циљевима дисертације.

У поглављу Литература дат је списак коришћене литературе, а у поглављу Прилог дат је списак слика и табела. На крају дисертације је дата кратка биографија кандидата, и изјаве о ауторству и истовестности штампане и електронске верзије рада.

3. ОЦЕНА ДИСЕРТАЦИЈЕ

3.1. Савременост и оригиналност

Инжењерство ткива представља научну област која се интензивно истражује већ неколико деценија са циљем да се у контролисаним лабораторијским условима, полазећи од одговарајућих ћелија и биоматеријала као носача ћелија, а уз примену биомимичних биореактора, добију гајена ткива као замена за оштећена и оболела ткива и/или органе. Основу за бржи развој инжењерства ткива представља и адекватан избор мултифункционалних биоматеријала са додатним карактеристикама као што су антимикробна активност и биоактивност. Карактеризација биоматеријала традиционалним методама даје увид у физичко-хемијске особине иницијално синтетисаних биоматеријала, затим биокомпатибилност и цитотоксичност у *in vitro* условима у 2Д ћелијским културама. Ови резултати се често нажалост не могу потврдити у следећој фази односно истраживањима на животињама, а ефикасност наредног процеса транслације резултата на човека је чак мања од 10 %. Стога је процес развоја и примене нових биоматеријала у клиничку праксу веома неизvestан, скуп и дуг. Како би се премостио овај проблем, познат као *in vitro* - *in vivo* јаз, препозната је велика потреба за развојем 3Д *in vitro* система за гајење ћелија и ткива који са аспекта преноса масе, биофизичких сигнала и контролисаног окружења имитирају физиолошке услове у датом ткиву или органу. Фокус ове докторске дисертације је управо на развоју и примени три биомимична биореактора у карактеризацији и оптимизацији неколико врста нових биоматеријала за потенцијалну примену у инжењерству одређених ткива скелета. Примењен приступ је оригиналан, а добијени резултати су потврдили значај и широки потенцијал ове методологије у више научних области, од развоја нових биоматеријала и инжењерства ткива до нанотоксикологије и биологије ћелија. Даљим истраживањима у овом правцу и потврдом добијених резултата у *in vivo* испитивањима,

отварају се могућности за смањење и замену експеримената на животињама. Треба истаћи и савременост испитиваних биоматеријала односно нанокмпозитних Ag/алгинатних хидрогелова и хидрогелова геланске гуме са наночестицама биоактивног стакла. Наночестице сребра се последњих 10-ак година интензивно испитују као ефикасни антимикробни агенси услед пораста резистентности бактерија на антибиотике и испитани нанокмпозитни хидрогелови би могли да обезбеде стерилност потенцијалних имплантата након хируршке интервенције. Биоактивни композитни, макропорозни хидрогелови геланске гуме су у складу са савременим трендовима развоја биоактивних коштаних имплантата, а развијени двофазни хидрогелови на бази овог биоматеријала представљају оригиналан допринос решавању клиничког проблема остеохондралних дефеката. На крају, испитивања биореактора са применом хидростатичких притисака у овој докторској дисертацији представљају даљи корак у развоју биомимичних биореакторских система који ће омогућити испитивање утицаја додатног биофизичког сигнала на нове биоматеријале и културе ћелија и ткива.

3.2. Осврт на референтну и коришћену литературу

У оквиру докторске дисертације Јоване С. Звицер цитирано је 352 литературна навода, од којих је највећи број новијег датума, што је омогућило преглед стања у испитиваној области, као и приказ актуелности теме. Кандидаткиња је прегледала и анализирала савремене научне радове из области инжењерства ткива артикуларне хрскавице, кости, интервертебралног диска и остеохондралног ткива са посебним фокусом на биомимичне биореакторе и биоактивне биоматеријале и методе карактеризације. Наведене референце укључују велики број аутора и садрже експерименталне резултате истраживања, описе примењених метода, анализу и дискусију добијених резултата. Из пописа литературе која је коришћена у истраживању и објављених радова које је кандидаткиња приложила, уочава се адекватно познавање разноврсних истраживања и савремених научних токова у оквиру шире научне области на коју се односи дисертација.

3.3. Опис и адекватност примењених научних метода

Сви резултати у оквиру ове докторске дисертације су добијени у одговарајућим експериментима, применом савремених аналитичких инструменталних метода, према оригиналним или унапређеним процедурама из литературе.

Нанокмпозитни биоматеријали на бази алгината и наночестица сребра су добијени и анализирани савременим техникама карактеризације наноматеријала. Електрохемијска синтеза је коришћена за добијање наночестица сребра у раствору Na-алгината, а електростатичка екструзија је коришћена за добијање микрочестица прецизно контролисане величине. UV-видљива спектроскопија је примењена за одређивање присуства наночестица сребра у колоидном раствору, као и у нанокмпозитним хидрогеловима након растварања док је атомска апсорпциона спектроскопија (ААС) примењена за одређивање концентрације сребра у растворима. Инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом (енгл. *Fourier-transform Infrared Spectroscopy*, ФТИР) је примењена за одређивање интеракција на молекулском нивоу између наночестица сребра и полимера, трансмисиона електронска микроскопија (ТЕМ) за одређивање величине и облика наночестица сребра, оптичка микроскопија за одређивање пречника микрочестица, док су МТТ тест, као и хистолошка анализа коришћени за испитивање цитотоксичних ефеката нанокмпозита у ћелијским и ткивним културама. Макропорозни хидрогелови геланске гуме са наночестицама биоактивног стакла са отвореним порама добијени су унапређеном процедуром која омогућава контролисане услове током смрзавања. Морфологија хидрогелова, облик и расподела кристала минералне фазе калцијум фосфата посматрани су применом скенирајуће електронске микроскопије са емисијом поља електрона (енгл. *Field Emission Scanning*

Electron Microscopy, ФЕ-СЕМ), док је елементални састав одређен применом енергодисперзивне спектроскопије X-зрацима (енгл. *Energy-dispersive X-ray Spectroscopy*, ЕДС). Оптичка емисиона спектрометрија са индуктивно спрегнутом плазмом (енгл. *Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry*, ИЦП-ОЕС) коришћена је за одређивање концентрације елемената од интереса. Присуство минералне фазе праћено је и Раманском спектроскопијом и рентгенском дифракцијом X-зрака (енгл. *X-ray diffraction*, XRD).

3.4. Применљивост остварених резултата

У оквиру ове докторске дисертације првенствено је остварен значајан допринос развоју нових метода заснованих на примени биомимичних биореактора за свеобухватну и физиолошки релевантну карактеризацију нових биоматеријала са аспекта њихове употребе, које би требало да умање јаз између резултата *in vitro* и *in vivo* истраживања. Као крајњи исход, примена овог приступа убрзала би развој биоматеријала и терапија, а са друге стране смањила број испитивања на животињама јер би само они материјали који испуњавају потребне физичко-хемијске карактеристике у контролисаним физиолошки релевантним условима били тестирани на животињама. Сами биореакторски системи у комбинацији са биоактивним биоматеријалима су атрактивни за гајење ћелија и ткива не само за инжењерство ткива, већ и за испитивања нових лекова у физиолошки релевантним условима која би дала поузданије резултате у односу на 2Д културе ћелија у монослоју. У том погледу, ови системи су нарочито интересантни за испитивање тумора, као и за нанотоксиколошке студије. Развијени биоматеријали на бази геланске гуме и наночестица биоактивног стакла показали су потенцијал за даљу примену у инжењерству ткива кости и остеохондралног ткива. Развијена метода за добијање двофазних имплантата као таква или са малим модификацијама може бити примењена и на друге полимерне или композитне материјале отварајући широке могућности за развој напредних решења. Такође, тестирање прототипа биореактора са хидростатичким притиском омогућило је даљи развој овог система до финалне конструкције која је намењена инжењерству ткива интервертебралног диска.

3.5. Оцена достигнутих способности кандидата за самостални научни рад

Спровodeћи иновативна и интегративна истраживања током израде докторске дисертације, кандидаткиња Јована С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер, показала је тежњу за усавршавањем и овладавањем разичитих аналитичких метода и велику ширину у интересовањима што се и одразило на комплексност и мултидисциплинарност докторске дисертације. Током истраживања, испољила је самосталност у раду, конципирању и извођењу експеримената и анализи добијених резултата, уз критичку евалуацију у односу на објављене податке у литератури. На основу досадашњег залагања и постигнутих резултата Комисија је мишљења да кандидат поседује све квалитете неопходне за самосталан научно-истраживачки рад.

4. ОСТВАРЕНИ НАУЧНИ ДОПРИНОС

4.1. Приказ остварених научних доприноса

У оквиру ове докторске дисертације остварен је значајан научни допринос у развоју нових биомимичних 3Д система за гајење ћелија и инжењерство ткива заснованих на биореакторима и биоактивним биоматеријалима, као и развоју нових методологија за

свеобухватну и физиолошки релевантну карактеризацију биоматеријала. Посебно се могу издвојити следећи кључни научни доприноси:

- развијене су нове *in vitro* методе за физиолошки релевантну и поуздану евалуацију биоматеријала у 3Д окружењу применом биомимичних биореактора које у будућности могу представљати алтернативу за *in vivo* студије на животињама;
- дат је допринос разумевању начина стабилизације наночестица сребра у зависности од почетног састава алгината;
- дат је допринос разумевању механизма отпуштања наночестица сребра из Ag/алгинатних дискова у условима слободног бубрења и физиолошки релевантне динамичке компресије, при чему су одређени привидни коефицијент дифузије и брзине интерстицијалног струјања;
- развијени су макропорозни хидрогелови на бази геланске гуме и биоактивног стакла са отвореним порама у аксијалном правцу који су у физиолошки релевантним биореакторским условима показали потенцијал за примену у инжењерству ткива кости;
- развијени су двофазни имплантати на бази геланске гуме и биоактивног стакла са добром интеграцијом између слојева и танком прелазном зоном који су у физиолошки релевантним биореакторским условима показали потенцијал за примену у инжењерству остеохондралног ткива.

4.2. Критичка анализа резултата истраживања

У оквиру ове докторске дисертације изведена су мултидисциплинарна истраживања при чему је дат како фундаменталан, тако и практичан допринос областима инжењерства ткива и инжењерства нових биоматеријала, али и шире, биомедицини и фармацији. Допринос се првенствено огледа у оригиналној методологији примене биомимичних биореакторских система за физиолошки релевантну карактеризацију нових биоматеријала ради евалуације њихове потенцијалне примене, као и даље оптимизације физичко-хемијских карактеристика. Физиолошки релевантни 3Д системи за гајење ћелија и ткива су препознати као алтернативно решење за често неадекватне резултате добијене у 2Д ћелијским културама, као и резултате добијене у испитивањима на животињама. У овој дисертацији су на примерима развоја неколико веома атрактивних биоматеријала за биомедицинску примену, показане разноврсне могућности примене два биомимична биореактора тако да је дат допринос, како у виду нових потенцијалних биоактивних имплантата за дефекте у артикуларној хрскавици, кости и остеохондралном ткиву, тако и у виду нових методологија које пружају широке могућности за тестирање нових лекова, инжењерство тумора и нанотоксиколошка испитивања. Установљено је да се карактеристике материјала у условима који имитирају услове у природној средини умногоме разликују од карактеристика које се могу одредити традиционалним методама карактеризације, указујући на релевантност примене 3Д биомимичних система. Примењени приступи и резултати су верификовани адекватним анализама применом најсавременијих аналитичких метода, као и применом математичког моделовања преноса масе. Посебан, оригиналан допринос је и у развоју унапређене методе за добијање макропорозних хидрогелова и методе за добијање двофазног хидрогела за потенцијалну примену као остеохондралног имплантата. Композитни хидрогелови који су добијени овим методама су показали биоактивност и акумулацију минералне фазе у физиолошки релевантним биореакторским условима. Ова докторска дисертација је на тај начин дала значајне доприносе и то, развоју 3Д биомимичних система, методологији испитивања нових биоматеријала у условима који имитирају природну средину и најзад, у практичном погледу, развоју нових биоактивних биоматеријала за

потенцијалну примену у инжењерству ткива артикуларне хрскавице, кости и остеохондралног ткива.

4.3. Верификација научних доприноса

Јована С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер је потврдила резултате истраживања у својој докторској дисертацији објављивањем радова у врхунским међународним часописима, саопштењима на међународним и националним конференцијама, као и пријављеним битно побољшаним техничким решењем. Из дисертације су проистекла 3 рада у врхунским међународним часописима, 1 рад у истакнутом међународном часопису, 1 рад саопштен на скупу међународног значаја штампан у целини, 6 радова саопштених на скуповима међународног значаја штампаних у изводу, 5 радова саопштених на скуповима националног значаја штампаних у изводу, и 1 пријављено битно побољшано техничко решење примењено на међународном нивоу.

1. Рад у врхунском међународном часопису – M21

1. **Zvicer J.**, Obradovic B., Bioreactors with hydrostatic pressures imitating physiological environments in intervertebral discs, *J Tissue Eng Regen Med*, **12**(2) 529-545, **2018**. ISSN 1932-6254 , IF 2018=3.319.
2. **Zvicer J.**, Medic A., Veljovic Dj., Jevtic S., Novak S., Obradovic B., Biomimetic characterization reveals enhancement of hydroxyapatite formation by fluid flow in gellan gum and bioactive glass composite scaffolds, *Polym. Test*, **76**, 464-472, **2019**. ISSN 0142-9418, IF 2018=2.943.
3. Stojkovska J., **Zvicer J.**, Obradovic B., Preclinical functional characterization methods of nanocomposite hydrogels containing silver nanoparticles for biomedical applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, **104**(11), 4643-4658, **2020**. ISSN: 0175-7598, IF 2018=3.670

2. Рад у међународном часопису - M22

1. **Zvicer J.**, Misković-Stanković V., Obradovic B., Functional bioreactor characterization to assess potentials of nanocomposites based on different alginate types and silver nanoparticles for use as cartilage tissue implants, *J Biomed Mater Res A*, **107**(4) 755-768, **2019**. ISSN 1549-3296, IF 2018=3.221.

3. Саопштење са скупа међународног значаја штампано у целини– M33

1. **Zvicer J.**, Samardzic M., Miskovic-Stankovic V., Obradovic, B., *Cytotoxicity studies of Ag/alginate nanocomposite hydrogels in 2D and 3D cultures*. IEEE International Conference on BioInformatics and BioEngineering (BIBE 2015), November 2–4, 2015, Belgrade, Serbia, Programme Book (CD), paper no. 163, pp. 1 - 6

4. Саопштење са скупа међународног значаја штампано у изводу– M34

1. **Zvicer J.**, Kostic D, Vidovic S, Obradovic B, *Validation and Utilization of Bioreactors Mimicking Skeletal Tissues In Vivo for Biomaterial Assessment*, TERMIS-EU 2014 Annual meeting, Istanbul, Turkey, June 17-20, 2013, Book of abstracts, p.578.
2. **Zvicer J.**, Girandon L., Potocar U., Froehlich M., Jancic I., Bufan B., Milenkovic M., Stojkovska J., Miskovic-Stankovic V., Obradovic B., Cytotoxicity studies of novel Ag/alginate nanocomposites aimed for wound treatment, Annual meeting of the European Chapter of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS-EU 2014), Genova, Italy, June 10-13, 2014, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 2014, 8 (suppl. 1), p. 345.

3. **Zvicer J.**, Girandon L., Potocar U., Froehlich M., Jancic I., Bufan B., Milenkovic M., Stojkovska J., Miskovic-Stankovic V., Obradovic B., Evaluation of Ag/alginate colloid solutions regarding cytotoxicity: *in vitro* and *in vivo* studies, Sixteenth Annual Conference YUCOMAT 2014, Herceg Novi, September 1-5, 2014, Book of Abstracts, p. 41.
4. **Zvicer J.**, Gantar A., Veljović Đ., Novak S., Obradovic B., Evaluation of nano-particulate bioactive-glass reinforced gellan-gum hydrogel regarding the formation of hydroxyapatite under shear stress, Seventeenth annual conference YUCOMAT 2015, Herceg Novi, Montenegro, August 31-September 4, 2015, Programme & book of Abstracts, p.87.
5. **Zvicer J.**, Kostic D., Vidovic S., Obradovic B., Biomimetic evaluation of Ag/alginate nanocomposites using a bioreactor with dynamic compression, International Conference Unified Scientific Approaches towards Regenerative Orthopaedics and Dentistry, REDEOR, Venice, Italy, March 25-27, 2015, Conference Book, p. 60-61.
6. **Zvicer J.**, Deak M., Gantar A., Veljović Đ., Novak S., Obradović B., Development of biphasic scaffolds for osteochondral tissue engineering, WG1, WG2, WG3 & WG4 Scientific Workshop Biomaterials for Dental and Orthopedic Applications, Cluj Napoca, Romania, March 13-15, 2017, Program and Book of Abstracts, p. 32.

6. Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу – M64

1. **Zvicer J.**, Girandon L., Potočar U., Fröhlich M., Jančić I., Bufan B., Milenković M., Stojkovska J., Mišković-Stanković V., Obradović B., *Cytotoxicity of Ag/alginate nanocomposites: in vitro and in vivo studies*, 12th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, Belgrade, Serbia, December 11 – 13, 2013, Book of Abstracts, I/1, p. 1.
2. Petrović J., **Zvicer J.**, Mišković-Stanković V., Obradović B., *Cytotoxicity studies of alginate hydrogels with silver nanoparticles in cell and tissue cultures*, 15th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, SASA, December 7 – 9, 2016, Belgrade, Serbia, Programme and the Book of Abstracts, 2-1, p. 6.
3. Prica G., **Zvicer J.**, Trifković K., Veljović Đ., Gantar A., Novak S., Obradović B., *Characterization of porous scaffolds based on gellan gum and bioactive glass under biomimetic bioreactor conditions*, 15th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, SASA, December 7 – 9, 2016, Belgrade, Serbia, Programme and the Book of Abstracts, 3-2, p. 12.
4. Radonjić M., **Zvicer J.**, Obradović B., *Operating conditions in the bioreactor prototype applying hydrostatic pressures*, 15th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, SASA, December 7 – 9, 2016, Belgrade, Serbia, Programme and the Book of Abstracts, 3-3, p. 12.
5. Kovrlija I., **Zvicer J.**, Obradović B., Functional characterization of biphasic implants based on gellan gum and bioactive glass for osteochondral tissue engineering, 17th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, December 5 – 7, 2018, Belgrade, Serbia, Programme and the Book of Abstracts, 1-6, p. 4.

7. Пријављено битно побољшано техничко решење примењено на међународном нивоу – M83

1. Обрадовић Б., Стојковска Ј., **Звицер Ј.**, Проточни биореакторски систем за једнократну употребу за гајење ћелија и ткива, примењује Универзитет у Источном Пијемонту „Амедео Авогадро“, Департман за здравствене науке (University of Piemonte Orientale “Amedeo Avogadro”, Department of Health Sciences) у Италији од 2019. г.; пријављено Министарству просвете, науке и технолошког развоја, јун 2020. г.

5. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

5.1. Кратак осврт на дисертацију у целини

На основу свега напред изнетог, Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Јоване С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер, под називом „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“ представља значајан и оригинални научни допринос у области Технолошког инжењерства, што је потврђено радовима објављеним у часописима међународног значаја. Предмет и циљеви истраживања су јасно наведени и остварени. Комисија, такође, сматра да докторска дисертација под називом „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“ у потпуности испуњава све захтеване критеријуме. Кандидаткиња је показала изузетну склоност и способност за бављење научно-истраживачким радом, као и самосталност у свим фазама израде ове дисертације.

5.2. Предлог комисије Наставно-научном већу

Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета да прихвати овај Извештај и да га заједно са поднетом дисертацијом Јоване С. Звицер, дипл. инж. технологије - мастер, под називом „Примена биомимичних биореактора у дизајнирању и карактеризацији нових биоматеријала за инжењерство ткива“ изложи на увид јавности у законски предвиђеном року и упуту на коначно усвајање Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду, као и да након завршетка процедуре, позове кандидата на усмену одбрану дисертације пред Комисијом у истом саставу.

У Београду, 18. јун 2020. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Др Бојана Обрадовић, редовни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Ђорђе Јанаћковић, редовни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Весна Мишковић-Станковић, редовни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Јасмина Стојковска, научни сарадник
Иновациони центар Технолошко-металуршког факултета у Београду

Др Ненад Игњатовић, научни саветник
Институт техничких наука САНУ