

Образац 3.

Факултет ТЕХНОЛОШКО-
МЕТАЛУШКИ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/52

(Број захтева)

Веће научних области техничких наука

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

19.04.2021.

(Датум)

ЗАХТЕВ

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

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

Биомимични 3Д систем за гајење малигних ћелија и поуздано испитивање
антитуморских лекова

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Технолошко инжењерство

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

Јелена (Срђан)Петровић

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

Универзитет у Београду,

Технолошко-металуршки факултет у Београду ,Мастер студије, Мастер инжењер технологије

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2017.

4. Година уписа на докторске студије: 2017.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Хемијско инжењерство

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: др Бојана Обрадовић

Звање: Редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Osmokrovic A., Jancic I., Vunduk J., Petrovic P., Milenkovic M., **Obradovic B.**, Achieving high antimicrobial activity: composite alginate hydrogel beads releasing activated charcoal with an immobilized active agent, *Carbohydr. Polym.*, 196, 279-288, **2018**, ISSN: 0144-8617, IF 2018: 6.044
2. Zvicer J., **Obradovic B.**, Bioreactors with hydrostatic pressures imitating physiological environments in intervertebral discs, *J Tissue Eng Regen Med*, **12**, 529-546, **2018**, DOI 10.1002/term.2533, ISSN 1932-6254, IF 2018=3.319
3. 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**, doi: 10.1016/j.polymertesting.2019.04.004. ISSN 0142-9418, IF 2019=3.275
4. Zvicer J., Miskovic-Stankovic 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**, 755-768, **2019**, doi: 10.1002/jbm.a.36590. ISSN 1549-3296, IF 2019=3.525
5. Najmi Z., Kumar A., Scalia A.C., Cochis A., **Obradovic B.**, Grassi F.A., Leigheb M., Lamghari M., Loinaz I., Gracia R., Rimondini L., Evaluation of Nisin and LL-37 antimicrobial peptides as tool to preserve articular cartilage healing in a septic environment, *Front. Bioeng. Biotech.*, **8**, Article 561, **2020** doi:10.3389/fbioe.2020.00561, ISSN 2296-4185, IF 2019=3.644

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 2:

Име и презиме ментора: др Јасмина Стојковска

Звање: Научни сарадник

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. **Stojkovska J.**, Kostic D., Jovanovic Z., Vukasinovic-Sekulic M., Miskovic-Stankovic V., Obradovic B., A comprehensive approach to *in vitro* functional evaluation of Ag/alginate nanocomposite hydrogels, *Carbohydr. Polym.*, 111, 305-314, **2014**, ISSN: 0144-8617, IF 2014: 4.074
2. **Stojkovska J.**, Djurdjevic Z., Jancic I., Bufan B., Milenkovic M., Jankovic R., Miskovic-Stankovic V., Obradovic B., Novel formulations based on alginate and silver nanoparticles in treatment of second degree burns in rats, *J Biomater Appl.*, 32(9), 1197-1211, **2018**, ISSN 0885-3282 IF 2016: 2.44
3. Kaczmarek B., Sionkowska A., **Stojkovska J.**, Characterization of scaffolds based on chitosan and collagen with glycosaminoglycans and sodium alginate addition, *Polym. Test.* 68, 229–232, **2018**, ISSN: 0142-9418, IF 2018: 2.943
4. **Stojkovska J.**, Petrovic P., Jancic I., Milenkovic M., Obradovic B., Novel nano-composite hydrogels with honey effective against multi-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 103(20): 8529-8543, **2019**, ISSN: 0175-7598, IF 2019: 3.53
5. **Stojkovska J.**, Zvicer J., Obradovic B., Preclinical functional characterization methods of nanocomposite hydrogels containing silver nanoparticles for biomedical applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 104:4643–4658, **2020**, ISSN: 0175-7598, IF 2019 = 3.53

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф.дрПетарУскоковћ

- Прилог
1. Одлука Наставно-научног већа о прихватању теме и одређивању ментора
 2. Извештај Комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Напомена: Факултет доставља Универзитету захтев са прилозима у електронској форми и у једном писаном примерку за архиву Универзитета

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.43. Правилника о докторским студијама ТМФ-а на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 11.03.2021. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности теме и кандидата
за израду докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије за оцену подобности теме и кандидата и одобрава израда докторске дисертације **Јелене Петровић**, број индекса 4003/2017, под називом: „**Биомимични 3Д систем за гајење малигних ћелија и поуздано испитивање антитуморских лекова**“.

Одлуку о давању сагласности на предлог теме докторске дисертације доноси Универзитет у Београду.

За менторе се одређују др Бојана Обрадовић, редовни професор, Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет и др Јасмина Стојковска, научни сарадник Иновационог центра Технолошко-металуршког факултета у Београду.

Одлуку доставити: Универзитету у Београду, кандидату, менторима, Служби за наставно студентске послове и архиви Факултета.

Д Е К А Н

Проф. др Петар Ускоковић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Подобност теме и кандидата Јелене Петровић, мастер инжењера технологије, за израду докторске дисертације

Одлуком бр. 35/21 од 04.02.2021. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену подобности теме и кандидата Јелене Петровић, мастер инжењера технологије, за израду докторске дисертације и научне заснованости теме „Биомимични 3Д систем за гајење малигних ћелија и поуздано испитивање антитуморских лекова“.

На основу материјала приложеног уз Захтев кандидата, Комисија подноси следећи

РЕФЕРАТ

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Јелена Петровић, мастер инжењер технологије, рођена је 07.06.1993. године у Београду, где је завршила основну школу и гимназију, природно-математички смер. Основне студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду, студијски програм Хемијско инжењерство, уписала је 2012. године, а завршила 2016. године са просечном оценом 9,22 и оценом 10 на завршном раду. Мастер студије, студијски програм Хемијско инжењерство на истом факултету започела је 2016. године, а завршила 2017. године са просечном оценом 9,63. Мастер рад под називом „Адсорпција лигнин модел једињења на честицама активног угља“ одбранила је 2017. и стекла звање Мастер инжењер технологије – мастер хемијски инжењер. Школске 2017/2018. године уписала је докторске студије на матичном факултету, на студијском програму Хемијско инжењерство.

Током студија, Јелена Петровић је била стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја за четири године студирања и добитница је награде Технолошко-металуршког факултета за успех у студирању „Панта С. Тутунџић“.

Од октобра 2016. до маја 2017. Јелена Петровић је била на пракси у Лабораторији за молекуларну биомедицину, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду. Од августа 2017. до октобра 2017. г. била је на студентској пракси на Институту за неорганску хемију, Кристијан-Албрехтс универзитет у Килу, Немачка.

Током студија Јелена Петровић је учествовала на неколико семинара и радионица из области заштите интелектуалне својине и рецензирања за истраживаче (Алати за интелектуалну својину за академске институције (*WIPO IP Toolkit for Academic Institutions*), 6.11-7.11.2018.,

Радионица презентационе вештине и технике, 12.2.2019., Основи патентне заштите у области хемијске технологије, 24.5.2019., Семинар о рецензирању за истраживаче, 16.9.2019.). На конференцији „ЕЛМИНА 2018” била је члан техничког одбора. Јелена је учествовала у промоцији Технолошко-металуршког факултета на 63. Међународном сајму технике и техничких достигнућа 2019. године и 13. Фестивалу науке 2019. године, а учествовала је и у представљању Катедре за хемијско инжењерство у оквиру такмичења Технолошка студија случаја 2019. и 2020. године.

У звање истраживач-приправник изабрана је 29.3.2018. године. Од фебруара 2018. године запослена је у Иновационом центру Технолошко-металуршког факултета у Београду као истраживач-приправник, где ради истраживања везана за тематику докторске дисертације, при чему је учествовала у два пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије: „Развој нових инкапсулационих и ензимских техника за производњу биокатализатора и биолошки активних супстанци у циљу повећања конкурентности, квалитета и безбедности хране”, пројекат бр. ИИИ46010 и „Синтеза, развој технологија добијања и примена наноструктурних мултифункционалних материјала дефинисаних својстава”, пројекат бр. ИИИ45019.

Говори енглески, немачки, шпански и италијански језик.

1.2. Стечено научно-истраживачко искуство

Јелена Петровић је у оквиру докторских студија положила све предвиђене испите, као и завршни испит под називом „Теоријско и експериментално истраживање 3Д система за гајење канцер ћелија базираних на микровлакнима полимерних хидрогелова“, са просечном оценом 10.

Списак положених испита на докторским студијама:

Предмет	Оцена	ЕСПБ
Одабрана поглавља нумеричке анализе	10	5
Имобилисани биокатализатори: технике имобилизације, биореактори и примена	10	6
Увећање размера процеса	10	4
Хемијска термодинамика	10	5
Феномени преноса у биолошким системима	10	5
Одабрана поглавља биохемије-витамини	10	5
Биокомпозитни материјали	10	5
Синтеза, својства и примена биокерамичких материјала	10	4
Биоактивне материје у козметичким производима	10	4
Специјална поглавља преноса масе	10	4
Одабрана поглавља биофизике	10	4
Енглески језик	10	/
Завршни испит	10	30
Укупно	10	81

Као студент докторских студија била је ангажована на извођењу експерименталних вежби из предмета Увод у хемијско инжењерство шк. 2018/2019., 2019/2020. и 2020/2021. г., рачунских вежби из предмета Механика флуида шк. 2017/2018. и 2018/2019. г., експерименталних вежби из предмета Хемијско инжењерска лабораторија шк. 2018/2019. и 2019/2020. г., као и рачунских вежби из предмета Механичке и топлотне операције шк. 2020/2021. г.

У оквиру научно-истраживачког рада на пројектима Министарства просвете, науке и технолошког развоја Јелена Петровић се бавила истраживањима везаним за развој антимикуробних биоматеријала на бази алгината за потенцијалну примену у облогама за ране што је била тема њеног завршног мастер рада. Из ових истраживања проистекла су два саопштења са међународног скупа штампана у изводу. Од 2018. г. Јелена се бави истраживањима везаним за развој модел система за гајење ћелија канцера у тродимензионалном (3Д) окружењу што је предложена тема њене докторске дисертације. У питању је потпуно нови модел систем који се заснива на хидрогелу алгината као носачу ћелија и примени проточног биореактора ради обезбеђивања ефикасног преноса масе што захтева опсежну оптимизацију услова гајења. На основу досадашњих резултата ових истраживања у припреми је један рад за публикавање у међународном часопису, а један извод рада је поднет и прихваћен за учешће на међународној конференцији.

Списак објављених научних радова и саопштења:

Саопштења са међународног скупа штампана у изводу, М34:

1. **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
2. **Petrović J.**, Osmokrović A., Spasojević D., Radotić K., Obradović B., Adsorption studies of lignin model compounds on activated charcoal particles, 16th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, SASA, December 6 – 8, 2017, Belgrade, Serbia, Programme and the Book of Abstracts, 2-5, p. 10.

Саопштење које је прихваћено али није приказано услед одлагања конференције:

3. **Petrović J.**, Radonjić M., Stojkovska J., Obradovic B., Optimization of in vitro conditions for 3D culture of rat glioma cells, Twenty-second Annual Conference YUCOMAT 2020, одложено за 2021

Рад у међународном часопису, М23 (у припреми)

1. Radonjić M.*, **Petrović J.***, Milivojević M., Stevanović M., Stojkovska J., Obradovic B., Towards optimized biomimetic systems for 3D cancer cell cultures: hydrodynamic and mass transport considerations, у завршној припреми за часопис *Biotechnology and Biotechnological Equipment*

*Оба аутора су дала подједнак допринос раду

1.3. Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми

У досадашњем научно-истраживачком раду у оквиру два пројекта ресорног Министарства Јелена Петровић је показала изузетну заинтересованост и мотивацију за научна истраживања и то на различитим темама, којима је дала свој самостални допринос. У лабораторијском раду показала је спретност и умеће, као и способност за рад у стерилним условима док је у

обради и анализи резултата показала систематичност, аналитичност и жељу за суштинским разумевањем предмета изучавања. До сада је објавила два саопштења са међународног скупа штампаних у изводу, док је један рад у припреми за потенцијално публиковање у међународним научним часописима. На основу досадашњег рада, остварених резултата и показаног интересовања и способности, Комисија сматра да кандидат испуњава услове за рад на предложеној теми докторске дисертације.

2. Предмет и циљ истраживања

Предмет истраживања ове тезе представљају 3Д културе малигних ћелија и системи за поуздано тестирање антитуморских лекова.

Малигне болести, рак или малигни тумори, представљају један од највећих изазова данашњице са бројем оболелих од око 14 милиона годишње, при чему тај број непрекидно расте. Испитивање антитуморских лекова је компликован и дуготрајан процес који се заснива на испитивањима у традиционалним културама ћелија у монослоју, а затим испитивањима на животињама. Оба ова приступа имају своје недостатке при чему се често добијају и супротстављени резултати. Показано је да ћелије у монослоју у дводимензионалном (2Д) окружењу имају измењену морфологију и метаболизам у односу на ћелије у тумору где су у 3Д окружењу. Разлози су недостатак екстрацелуларног матрикса (ЕЦМ) и међућелијских интеракција у 2Д условима где су ћелије залепљене за подлогу што доводи до повећања сензитивности ових ћелија на примењене агенсе. Са друге стране, испитивања на животињама пружају веродостојније окружење у погледу комплексности живог организма, али услед разлика у врстама, резултати ових испитивања су у малом проценту (<10%) релевантни за људе. Стога је препозната потреба за поузданијим 3Д системима за гајење малигних ћелија и процену утицаја нових лекова у претклиничким испитивањима.

Један од приступа се заснива на примени биоматеријала као носача ћелија који ће имитирати природни ЕЦМ и биомимичних биореактора који ће омогућити стационарне услове гајења, ефикасан пренос масе до ћелија и одговарајуће биофизичке сигнале као што су хидродинамички смицајни напони при струјању флуида. У овом раду биће испитивана примена хидрогелова калцијум-алгината као биокомпатибилног, хидрофилног и доступног биоматеријала који је одобрен за медицинску употребу тако да се широко користи у облогама за ране, превлакама медицинских уређаја, затим за контролисану доставу лекова, као и у истраживањима инжењерства меких ткива. Калцијум-алгинат се показао и као погодан носач и за малигне ћелије као што су ћелије хепатокарцинома, глиобластома и карцинома дојке.

Ради остваривања ефикасног преноса масе из спољашње средине до микровлакана биће испитана могућност примене проточног биореактора са континуалним протоком хранљивог медијума. При томе се остварује ламинарни режим струјања, па су микровлакна и ћелије изложене малим смицајним напонима. У ранијим истраживањима је показано да у овим биореакторима у пакованом слоју алгинатних микрочестица долази до протицања малог дела флуида и кроз сам хидрогел чиме се поред остваривања конвективног преноса масе побољшава и унутрашњи пренос масе у односу на статичке културе. Са друге стране, проток медијума изазива смицајне напоне који могу да имају како повољан, тако и неповољан утицај на ћелије.

Циљ истраживања у овој тези је развој и оптимизација 3Д система за примену у инжењерству тумора и испитивању антитуморских лекова. Посебни циљеви су оптимизација услова имобилизације малигних ћелија у алгинатне хидрогелове у форми микровлакана, оптимизација протока у биомимичном проточном биореактору, а затим и примена оптимизованог 3Д система за гајење малигних ћелија у физиолошки релевантном окружењу и испитивање утицаја антитуморских лекова.

У оквиру истраживања биће коришћене две малигне ћелијске линије: ћелије глиома пацова Ц6 и ћелије хуманог глиобластома У87. Предвиђено је да се имобилизација ћелија у алгинатна микровлакна изврши ручним истискивањем у раствор за гелирање при чему ће бити оптимизовани концентрација алгината, концентрација раствора за гелирање, временско трајање гелирања, пречник игле, као и концентрација малигних ћелија у хидрогелу. На тај начин, циљ је да се добије једноставна и робусна метода за имобилизацију малигних ћелија која ће бити применљива у биолошким, фармацеутским и медицинским лабораторијама које немају техничку експертизу. У следећем кораку, имобилисане ћелије ће бити гајене у проточном биореактору са континуалним протоком медијума при чему ће бити испитан утицај протока на вијабилност и пролиферацију ћелија. Након успостављања оптималних услова, биомимични 3Д систем биће коришћен за испитивање ефикасности одговарајућег модел антитуморског лека, при чему ће се анализирати ефекти на вијабилност и пролиферацију малигних ћелија. Уз то, применом моделовања преноса масе биће анализирана дистрибуција лека кроз алгинатна микровлакна са имобилисаним туморским ћелијама у условима континуалног протока медијума. На тај начин, циљ је успостављање биомимичног 3Д система за гајење малигних ћелија који ће омогућити са једне стране, поуздано одређивање ефикасности антитуморских лекова у физиолошки релевантним условима, а са друге, корелисање брзине доставе и концентрације антитуморског лека и одговора ћелија.

У даљем тексту наведен је списак дела релевантне литературе.

1. Bröker, K., Sinelnikov, E., Gustavus, D., Schumacher, U., Pörtner, R., Hoffmeister, H., Lüth, S. and Dammermann, W., 2019. Mass production of highly active NK cells for cancer immunotherapy in a GMP conform perfusion bioreactor. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, no. 194.
2. Cavo, M., Caria, M., Pulsoni, I., Beltrame, F., Fato, M. and Scaglione, S., 2018. A new cell-laden 3D Alginate-Matrigel hydrogel resembles human breast cancer cell malignant morphology, spread and invasion capability observed "in vivo". *Scientific reports*, 8(1), pp.1-12.
3. Chaicharoenaudomrung, N., Kunhorm, P., Promjantuek, W., Heebkaew, N., Rujanapun, N. and Noisa, P., 2019. Fabrication of 3D calcium-alginate scaffolds for human glioblastoma modeling and anticancer drug response evaluation. *Journal of cellular physiology*, 234(11), pp.20085-20097.
4. Curtis, K.J., Schiavi, J., McGarrigle, M.J., Kumar, V., McNamara, L.M. and Niebur, G.L., 2020. Mechanical stimuli and matrix properties modulate cancer spheroid growth in three-dimensional gelatin culture. *Journal of the Royal Society Interface*, 17(173), p.20200568.
5. Estrada, M.F., Rebelo, S.P., Davies, E.J., Pinto, M.T., Pereira, H., Santo, V.E., Smalley, M.J., Barry, S.T., Gualda, E.J., Alves, P.M. and Anderson, E., 2016. Modelling the tumour microenvironment in long-term microencapsulated 3D co-cultures recapitulates phenotypic features of disease progression. *Biomaterials*, 78, pp.50-61.
6. Fallacara, A.L., Zamperini, C., Podolski-Renić, A., Dinić, J., Stanković, T., Stepanović, M., Mancini, A. et al., 2019. A new strategy for glioblastoma treatment: In vitro and in vivo preclinical characterization of Si306, a pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine dual Src/P-glycoprotein inhibitor. *Cancers* 11(6), p. 848.
7. Foglietta, F., Spagnoli, G.C., Muraro, M.G., Ballestri, M., Guerrini, A., Ferroni, C., Aluigi, A., Sotgiu, G. and Varchi, G., 2018. Anticancer activity of paclitaxel-loaded keratin nanoparticles in two-dimensional and perfused three-dimensional breast cancer models. *International journal of nanomedicine*, 13, p.4847.

8. Goliwas, K.F., Richter, J.R., Pruitt, H.C., Araysi, L.M., Anderson, N.R., Samant, R.S., Lobo-Ruppert, S.M., Berry, J.L. and Frost, A.R., 2017. Methods to evaluate cell growth, viability, and response to treatment in a tissue engineered breast cancer model. *Scientific reports*, 7(1), pp.1-14.
9. Guller, A.E., Grebenyuk, P.N., Shekhter, A.B., Zvyagin, A.V. and Deyev, S.M., 2016. Bioreactor-based tumor tissue engineering. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, 8(3), pp.44-58.
10. Liston, D.R. and Davis, M., 2017. Clinically relevant concentrations of anticancer drugs: a guide for nonclinical studies. *Clinical Cancer Research*, 23(14), pp.3489-3498.
11. Liu, C., Mejia, D.L., Chiang, B., Luker, K.E. and Luker, G.D., 2018. Hybrid collagen alginate hydrogel as a platform for 3D tumor spheroid invasion. *Acta Biomaterialia*, 75, pp.213-225.
12. Lopes, D., Fernandes, C., Nóbrega, J.M., Patrício, S.G., Oliveira, M.B. and Mano, J.F., 2019. Screening of perfused combinatorial 3D microenvironments for cell culture. *Acta Biomaterialia*, 96, pp.222-236.
13. Manfredonia, C., Muraro, M.G., Hirt, C., Mele, V., Governa, V., Papadimitropoulos, A., Däster, S., Soysal, S.D., Droese, R.A., Mechera, R. and Oertli, D., 2019. Maintenance of primary human colorectal cancer microenvironment using a perfusion bioreactor based 3D culture system. *Advanced Biosystems*, 3(4), no.1800300.
14. Marshall, L.E., Goliwas, K.F., Miller, L.M., Penman, A.D., Frost, A.R. and Berry, J.L., 2017. Flow-perfusion bioreactor system for engineered breast cancer surrogates to be used in preclinical testing. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 11(4), pp.1242-1250.
15. Pradhan, S., Clary, J.M., Seliktar, D. and Lipke, E.A., 2017. A three-dimensional spheroidal cancer model based on PEG-fibrinogen hydrogel microspheres. *Biomaterials*, 115, pp.141-154.
16. Tang, Y., Huang, B., Dong, Y., Wang, W., Zheng, X., Zhou, W., Zhang, K. and Du, Z., 2017. Three-dimensional prostate tumor model based on a hyaluronic acid-alginate hydrogel for evaluation of anti-cancer drug efficacy. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 28(14), pp.1603-1616.
17. Trachtenberg, J.E., Santoro, M., Williams III, C., Piard, C.M., Smith, B.T., Placone, J.K., Menegaz, B.A., Molina, E.R., Lamhamedi-Cherradi, S.E., Ludwig, J.A. and Sikavitsas, V.I., 2018. Effects of shear stress gradients on ewing sarcoma cells using 3D printed scaffolds and flow perfusion. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 4(2), pp.347-356.
18. Wan, X., Ball, S., Willenbrock, F., Yeh, S., Vlahov, N., Koennig, D., Green, M., Brown, G., Jeyaretna, S., Li, Z. and Cui, Z., 2017. Perfused three-dimensional organotypic culture of human cancer cells for therapeutic evaluation. *Scientific Reports*, 7(1), pp.1-13.
19. Wan, X., Li, Z., Ye, H., and Cui, Z., 2016. Three-dimensional perfused tumour spheroid model for anti-cancer drug screening. *Biotechnology Letters*, 38(8), pp.1389-1395.

3. Полазне хипотезе

Предложена истраживања у оквиру ове докторске дисертације полазе од хипотезе да је могуће успешно применити биоматеријале и биомимичне биореакторе као релевантне *in vitro* моделе за гајење малигних ћелија у 3Д окружењу и поузданије испитивање ефикасности антитуморских лекова.

При томе се полази од следећих претпоставки:

- могуће је имобилисати малигне ћелије у алгинатна микровлакна једноставним поступком екструзије уз очување вијабилности и метаболичке активности ћелија;
- могуће је одредити оптимални проток хранљивог медијума у проточном биореактору који ће омогућити ефикасан пренос масе до ћелија без негативних утицаја смицајних напона;
- конвективни пренос масе у проточном биореактору ће допринети очувању вијабилности и пролиферацији малигних ћелија;
- биомимични биореакторски систем са имобилисаним малигним ћелијама у алгинатним микровлакнима ће пружити физиолошки релевантно окружење ћелијама да испоље све карактеристике тумора *in vivo* као што су геномска нестабилност, резистенција на антитуморске лекове, инвазивност и миграње;
- могуће је развити једноставан математички модел преноса масе у проточном биореактору са пакованим слојем алгинатних микровлакна који ће предвидети профиле концентрација биолошки активних молекула од интереса, ради корелисања са запаженим ефектима на ћелије (као нпр. расподела живих и мртвих ћелија, укупан број ћелија, морфологија ћелија идр.);
- испитивање ефеката антитуморских лекова у новом биомимичном 3Д систему ће дати поуздане резултате и информације о ефикасности лекова.

4. Научне методе истраживања

Имобилизација ћелија у алгинатна микровлакна ће бити изведена једноставном методом истискивања ћелијске суспензије у раствор за гелирање. Оптичка микроскопија ће бити коришћена за мерење пречника микровлакна и анализу хистолошких пресека ради испитивања морфологије ћелија у микровлакнима. Концентрација и вијабилност имобилисаних ћелија ће бити одређени након растварања добијених микровлакна у раствору натријум-цитрата бројањем ћелија под оптичким микроскопом уз помоћ хемоцитометра, односно на основу односа броја необојених ћелија и броја ћелија обојених бојом трипан плаво. Такође, колориметријски *MTT* тест и диференцијално бојење мртвих и живих ћелија (*Live/Dead staining*) уз примену конфокалне микроскопије биће коришћени за анализу вијабилности ћелија након експеримената у биореактору. За испитивање експресије гена од интереса користиће се метода квантитативног *PCR* (ланчана реакција полимеразе, енгл. *Polymerase Chain Reaction*) у реалном времену. За одређивање могућности примене развијеног биомимичног 3Д система за евалуацију антитуморских лекова биће примењен темозоломид као модел лек. Као контрола користиће се 2Д културе ћелија у монослоју.

5. Очекивани научни допринос

У оквиру предложене тезе планиран је развој биомимичног система за 3Д културе малигних ћелија што ће дати како научни, тако и практични допринос. По завршетку предложених истраживања могу се очекивати следећи научни доприноси:

- имобилизација и гајење малигних ћелија у проточном биореактору ће довести до нових сазнања о метаболизму тих ћелија у 3Д окружењу;
- математичким моделовањем хидродинамике и преноса масе у проточном биореактору биће омогућено корелисање ових услова са одговором гајених ћелија и одређивање критичних параметара за преживљавање, метаболичку активност и пролиферацију ћелија;
- поређење ефикасности познатог антитуморског лека на ћелије у 2Д монослоју и 3Д биореакторској култури ће омогућити сазнања о механизмима развоја отпорности малигних ћелија на терапеутике у физиолошком окружењу;

- корелисање брзине доставе и профила концентрација антитуморског лека у биореакторској 3Д култури са преживљавањем малигних ћелија ће омогућити дефинисање адекватне ефективне дозе лека у предложеном *in vitro* систему;
- примењени биомимични приступ гајењу малигних ћелија глиома и испитивању антитуморских лекова ће имати шири научни допринос развоју и оптимизацији сличних система за друге врсте ћелија.

Поред наведених научних доприноса, очекује се да теза да и значајан практични допринос у области испитивања и лечења малигних обољења. Наиме, очекује се развој једноставне методе за имобилизацију малигних, као и других ћелија која ће бити широко применљива у биолошким, фармацеутским и медицинским лабораторијама без техничке експертизе. Поред тога, циљ самог оптимизованог биомимичног 3Д система је да омогући поузданије испитивање антитуморских лекова и на тај начин смањи број неопходних испитивања на животињама и убрза проналажење нових терапија, а у будућности и развој персонализоване медицине.

6. План истраживања и структура рада

Истраживања у овој докторској дисертацији су планирана по следећим фазама:

- развој методе за имобилизацију малигних ћелија у алгинатна микровлакна при чему ће бити вариране концентрације алгината, ћелија, раствора за гелирање, пречник игле и време гелирања, а испитивана ефикасност имобилизације и вијабилност имобилизованих ћелија;
- гајење алгинатних микровлакна са имобилизованим ћелијама у проточном биореактору при различитим протоцима хранљивог медијума и у различитим временским периодима, а испитиваће се пролиферација и вијабилност ћелија;
- дефинисање хидродинамичких параметара у биореакторској култури и развој модела преноса масе за различите биолошки активне молекуле од интереса;
- примена антитуморског лека у различитим дозама у биореакторске културе малигних ћелија при чему ће бити праћена вијабилност ћелија у току времена, а 2Д културе ћелија у монослоју ће служити као контрола;
- примена модела преноса масе у биореакторској култури за одређивање профила концентрација антитуморског лека и утврђивање критичних доза за антитуморско дејство.

Предвиђа се да ће предложена докторска дисертација бити организована по следећим поглављима: Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултати и дискусија, Закључак и Литература. У поглављу Увод биће приказан кратак осврт на подручје испитивања и дефинисани главни циљеви дисертације и предмет истраживања. У оквиру Теоријског дела докторске дисертације детаљним прегледом литературе биће сумирана досадашња истраживања у области култура малигних ћелија и испитивања антитуморских лекова уз приказ традиционалних метода испитивања, а затим са посебним фокусом на биомимичне приступе гајењу ћелија у 3Д окружењу. У оквиру Експерименталног дела, биће описани сви материјали, а затим и методе коришћене у раду. У поглављу Резултати и дискусија, биће приказани и анализирани резултати експерименталних истраживања. Добијени резултати ће бити критички дискутовани у односу на резултате објављене у литератури уз анализу применљивости развијених техника за имобилизацију, а затим и гајење ћелија. Такође, резултати дејства антитуморског лека у биореакторском систему ће бити анализирани у односу на резултате добијене у 2Д ћелијским културама и студијама на животињама објављеним у литератури. У поглављу Закључак биће сумирани сви изведени закључци на основу добијених резултата. У поглављу Литература биће наведена референтна литература

за теоријски, експериментални део и дискусију, као и публикације проистекле из ове докторске дисертације.

7. Закључак и предлог

На основу изнетих података, Комисија сматра да је предложена тема докторске дисертације Јелене Петровић, мастер инжењер технологије, под насловом: „Биомимични 3Д систем за гајење малигнух ћелија и поуздано испитивање антитуморских лекова“ научно заснована. 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. Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду да кандидаткињи Јелени Петровић одобри израду докторске дисертације под наведеним насловом. За менторе се предлажу др Бојана Обрадовић, редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду и др Јасмина Стојковска, научни сарадник Иновационог центра Технолошко-металуршког факултета у Београду.

05.03.2021., Београд

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

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

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

Др Мелина Калагасидис Крушић, редовни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Рада Пјановић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Миодраг Драгој, научни сарадник
Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“
Институт од националног значаја за Републику Србију