

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

Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu od 22. 09. 2011. godine određeni smo za članove Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije pod naslovom:

**” PROUČAVANJE PROCESA FORMIRANJA POROZNIH BIOKOMPATIBILNIH
MATERIJALA NA BAZI NEDOPIRANIH I SILICIJUMOM DOPIRANIH α -KALCIJUM-
FOSFATA I HIDROKSIAPATITA”**,

kandidata mr Bojana M. Jokića, dipl.ing.tehnologije.

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 mr Bojana Jokića napisana je na 132 strane, u okviru kojih se nalaze 10 poglavlja, sa ukupno 60 slika, 15 tabela i 255 literaturnih navoda. Doktorska disertacija sadrži: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalnu proceduru, Rezultate i diskusiju, Zaključak, Literaturu, kao i izvode na srpskom i engleskom jeziku.

Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- 28. 01. 2010. godine – Kandidat Bojan Jokić dipl. ing. tehnologije, prijavio je doktorsku disertaciju sa temom “Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih α -kalcijum-fosfata i hidroksiapatita” i predložio komisiju za ocenu naučne zasnovanosti teme.
- 25. 02. 2010. godine – Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je Odluka o odobravanju predloga teme doktorske disertacije Bojana Jokića, dipl. ing. tehnologije, pod nazivom: “Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih α -kalcijum-fosfata i hidroksiapatita”, a za mentora ove doktorske disertacije imenovan je dr Đorđe Janačković, red.profesor.
- 16. 04. 2010. godine – Na sednici Veća naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu data je saglasnost na predlog teme doktorske disertacije Bojana Jokića, dipl. ing. tehnologije, pod nazivom: “Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih α -kalcijum-fosfata i hidroksiapatita”.
- 22. 09. 2011. godine – Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta je doneta Odluka o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije Bojana Jokića, dipl. ing. tehnologije, pod nazivom: “Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih α -kalcijum-fosfata i hidroksiapatita”.

Mesto disertacije u odgovarajućoj naučnoj oblasti

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

Biografski podaci o kandidatu

Bojan Jokić je rođen 1977. godine u Sarajevu, gde je završio osnovnu školu i gimnaziju. Školske 1996/97. upisao je Tehnološko-metalurški fakultet, smer neorganska hemijska tehnologija. Na ovom smeru je diplomirao 2002. godine sa temom “Industrija nemetala i zagađivanje vazduha” pod mentorstvom prof. dr Nikole Blagojevića.

Poslediplomske studije upisao je školske 2002/03. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu na smeru za neorgansku hemijsku tehnologiju. Magistarsku tezu pod nazivom

"Proučavanje procesa sinteze i vezivanja biokompatibilnih cemenata na bazi kalcijum-fosfata", rađenu pod mentorstvom profesora Đorđa Janačkovića, uspešno je odbranio 2006. godine.

Od 2003. do 2007. godine radio je na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu kao istraživač pripravnik, a od februara 2007. godine radi na Tehnološko-metalurškom fakultetu u svojstvu istraživača saradnika.

Bojan Jokić je učestvovao ili učestvuje na istraživanjima u okviru šest domaćih i dva međunarodna naučno-istraživačka projekta. Do sada je objavio osam radova u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21), četiri rada u istaknutim časopisima međunarodnog značaja (M22), pet radova u časopisima međunarodnog značaja (M23), jedan rad u časopisu nacionalnog značaja (M51), dva rada saopštena na skupu nacionalnog značaja štampana u celini (M63), dvanaest radova saopštenih na skupovima međunarodnog značaja štampana u izvodu (M34), osam radova saopštenih na skupu nacionalnog značaja štampanih u izvodu (M64). Iz oblasti sinteze i karakterizacije biomaterijala, koja je predmet ove doktorske disertacije objavio je trinaest radova u međunarodnim časopisima. Učestvovao je u realizaciji jedanaest elaborata i studija i izradi više diplomskih radova iz oblasti neorganske hemijske tehnologije i oblasti materijala. Držao je vežbe na predmetu Karakterizacija keramičkih materijala. Pored navedenog, radio je recenzije za vrhunske međunarodne časopise Acta Biomaterialia i Journal of Crystal Growth.

2. OPIS DISERTACIJE

Struktura i sadržaj disertacije

Doktorska disertacija mr Bojana M. Jokića sadrži: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalnu proceduru, Rezultate i diskusiju, Zaključak, Literaturu. Na početku disertacije dat je kratak izvod (na srpskom i engleskom jeziku).

Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

U uvodnom delu predstavljeni su značaj i aktuelnost problematike vezane za procesiranje gustih i kontrolisano poroznih biokeramičkih materijala na bazi kalcijum-hidroksiapatita (HAP) i trikalcijum-fosfata (TCP) i istaknuti ciljevi disertacije.

Teorijski deo disertacije obuhvata pet poglavlja: Kost i struktura kostiju, Hidroksiapatit, Skafoldi, Materijali za dobijanje skafolda i Tehnike dobijanja skafolda. U prvom poglavlju opisana je makroskopska i mikroskopska struktura kosti kao i faktori koji učestvuju u procesu modelovanja i remodelovanja koštanog tkiva. Drugo poglavlje je posvećeno hidroksiapatitu (HA), kao osnovnom neorganskom konstituentu koštanog tkiva, sa opisom vrste i stepena mogućih supstitucija unutar kristalne strukture hidroksiapatita. Posebna pažnja posvećena je supstituciji jona u strukturi hidroksiapatita i kalcijum-fosfatnim jedinjenjima jonima silicijuma i uticaju silicijuma na biološku aktivnost kalcijum-fosfatne biokeramike tokom formiranja koštanog i hrskavičavog tkiva. U trećem poglavlju prikazani su skafoldi i uloga koju imaju u regeneraciji koštanog tkiva i formiranju koštane ekstracelularne matrice u cilju obezbeđivanja strukturne podrške novoformiranom tkivu. U ovom delu prikazan je uticaj poroznosti i veličine pora na proces osteogeneze i mehanička svojstva skafolda. U četvrtom poglavlju dat je pregled najčešće korišćenih materijala u procesu izrade skafolda i njihova svojstva, a u petom poglavlju prikazane su najzastupljenije tehnike dobijanja skafolda, kao i prednosti i nedostaci pojedinih tehnika.

Eksperimentalni deo disertacije obuhvata pet poglavlja. U eksperimentalnom delu svakog od ovih poglavlja dat je opis metoda i tehnika korišćenih za dobijanje prahova kalcijum-hidroksiapatita i skafolda, a poglavlja obuhvataju: opis postupaka sinteze nedopiranih i silicijumom-dopiranih prahova kalcijum-hidroksiapatita sferne i vlaknaste morfologije hidrotermalnom metodom; opis metoda karakterizacije prahova HA skenirajućom elektronskom mikroskopijom (SEM), transmisijom elektronskom mikroskopijom (TEM), visokorezolucijom transmisijom elektronskom mikroskopijom (HRTEM), infracrvenom spektroskopskom analizom, rendgenskom difrakcijom analizom, energetskom disperzijom spektroskopskom (EDS), energetskom disperzijom rendgenskom fluorescentnom spektroskopskom (EDXRF), tečnom hromatografskom i masenom spektrometrijskom (LC-MS/MS) i raspodelom veličine čestica; opis *in vitro* metoda kojima je ispitivana bioaktivnost i biokompatibilnost dobijenih materijala određivanje bioaktivnosti u simuliranom telesnom fluidu, određivanje metaboličke aktivnosti u kulturama humanih ćelija morfološkom analizom ćelija u ekstraktima sintetizovanih prahova i u direktnom kontaktu sa ćelijama; detaljan opis tehnika korišćenih za dobijanje skafolda na bazi nedopiranog i silicijumom dopiranog α -kalcijum-fosfata i hidroksiapatita i metoda karakterizacije skafolda SEM, rendgenskom difrakcijom analizom i infracrvenom spektroskopskom analizom; opis *in vitro* metoda korišćenih za ispitivanje bioaktivnosti dobijenih skafolda u simuliranom telesnom fluidu i metaboličke aktivnosti u kulturi humanih ćelija.

U okviru 6. poglavlja prikazana je sinteza vlakana hidroksiapatita različitog odnosa širina-dužina, hidrotermalnim postupkom na povišenoj temperaturi u direktnoj reakciji između kalcijum-nitrata tetrahidrata i natrijum-dihidrogenfosfata dihidrata uz korišćenje uree kao agensa za homogenu precipitaciju. Utvrđeno je da sintetisana vlakna hidroksiapatita predstavljaju primarne čestice koje se razvijaju iz centralne čestice heksagonalne forme obrazujući čestice hidroksiapatita pahuljičaste morfologije. Strukturno utaćnjavanje kristalne strukture vlakana hidroksiapatita je potvrdilo preferentnu orijentaciju duž c-pravca heksagonalne

kristalne strukture, drugačiju od one koja se uobičajeno sreće kod HA sa slučajnom orijentacijom kristalita. TEM analiza pojedinačnih vlakana HA je potvrdila monokristalnu strukturu vlakana. Pokazalo se da je korišćenim hidrotermalnim postupkom moguće dobiti kristale monetita i hidroksiapatita kontrolisane morfologije i veličine jednostavnim podešavanjem krajnje pH vrednosti rastvora dodatkom odgovarajuće količine uree u polazni rastvor.

U 7. poglavlju prikazni su postupci sinteze nedopiranih i silicijumom dopiranih čestica hidroksiapatita. Cilj sprovedenih istraživanja bio je da se sintetiše hidroksiapatit poboljšane bioaktivnosti u odnosu na čisti hidroksiapatit kroz kontrolisan proces kristalizacije u hidrotermalnim uslovima na povišenoj temperaturi. Za dobijanje materijala kontrolisane morfologije i hemijskog sastava, bitnih za medicinsku primenu HA, primenjena su dva postupka sinteze, polazeći od čestica hidroksiapatita vlaknaste i sferne morfologije različitog Ca/P odnosa. Silicijumom-supstituisani apatiti dobijeni su pri odnosu Ca/P = 1,50 uz dodatak različitih količina tetraetil-ortosilikata (TEOS), kao izvora jona silicijuma. Ispitan je uticaj silicijuma na strukturu i faznu transformaciju dobijenih apatita, kao i bioaktivnost u *in vitro* uslovima. Utačnjeni parametri jedinične ćelije dobijenih iskrystalisanih prahova HA su pokazali da sa povećanjem očekivanog sadržaja silicijuma u uzorcima HA uočava povećanje parametra *a* i *c* kod sfernih i trakastih čestica HA sa Ca/P odnosom 1,50, kao posledica zamene PO₄³⁻ anjona unutar kristalne strukture SiO₄⁴⁻ anjonima. Na difraktogramima uzoraka sferne i trakaste morfologije uočava se različito ponašanje tokom zagrevanja na 1200 °C, koje se ispoljava različitim stepenom transformacije HA u α -TCP fazu.

Poredeći rezultate rendgenske difrakcione analize sfernih i vlaknastih čestica HA dobijenih iz rastvora različitog polaznog Ca/P odnosa (1,67 i 1,50) uočeno je da Ca/P odnos u polaznom rastvoru ima značajan uticaj na fazni sastav tokom termičkog tretmana na povišenim temperaturama. Rendgenska difrakciona analiza je pokazala da su čestice HA koje kristališu u formi vlakana mnogo stabilnije tokom zagrevanja na temperaturama do 1200 °C u odnosu sferne čestice HA. Rendgenskom difrakcionom analizom uzorka HA vlaknaste morfologije sintetisanih iz rastvora sa polaznim odnosom Ca/P = 1,67, primećeno je pored HA faze i prisustvo CaO faze u maloj količini. Takođe, rendgenska difrakciona analiza je pokazala da sferne čestice dopirane silicijumom u većoj količini skoro potpuno transformišu u α -TCP fazu. Značajno je da ni na jednom od difraktograma sintetisanih uzoraka nisu uočeni pikovi koji odgovaraju kalcijum-silikatnoj fazi.

U cilju ispitivanja potencijalne citotoksičnosti sintetisanih sfernih i vlaknastih čestica hidroksiapatita, urađen je test proliferacije SaOs2 ćelija na ekstraktu praha. Dobijeni rezultati MTS analize su pokazali da su ekstrakti osušenih sfernih čestica, dopiranih ili nedopiranih silicijumom, toksični za ćelije, dok ekstrakti silicijumom dopiranih i nedopiranih vlaknastih čestica hidroksiapatita nisu pokazali takav efekat pri istim uslovima. Pomenuti efekat je prevaziđen žarenjem sfernih čestica HA na 1200 °C tokom 2h. Pored toga, ekstrakti svih termički tretiranih uzoraka hidroksiapatita na 1200 °C su pokazali povećanu biokompatibilnost, osim vlaknastih čestica HA dopiranih silicijumom u većem procentu. Utvrđeno je da sferne i vlaknaste čestice dopirane manjom količinom silicijuma pokazuju biokompatibilnost koja odgovara biokompatibilnosti standardnog materijala korišćenog za uzgoj ćelijskih kultura.

Različita bioaktivnost koja je uočena na ekstraktima prahova sferne i vlaknaste morfologije je posledica različitog stepena supstitucija silicijumom unutar kristalne strukture sfernih i vlaknastih čestica. Takođe, na osnovu rezultata LC-MS/MS analize utvrđeno je da je povećana citotoksičnost ekstrakta praha osušenih sfernih čestica na SaOs2 ćelijama posledica prisustva Na₂EDTA zaostalog tokom procesa sinteze čestica HA sferne morfologije.

Rezultati citotoksičnosti dobijeni na osnovu morfološke analize ćelija L929 i metaboličke aktivnosti nakon inkubacije u rastvorima različite koncentracije (2,5 µg/ml do 250 µg/ml) pripremljenih od sfernih i trakastih čestica HA su pokazali da nijedna od pomenutih koncentracija ispitivanih uzoraka ne deluje citotoksično na L929 ćelije. Naime, pokazalo se da medijum sa najvećom koncentracije sfernih, termički netretiranih čestica stimuliše metaboličku aktivnost L929 ćelija, što se ogleda pre svega u stimulaciji rasta ćelija. U slučaju kada je ispitivan uticaj kondicionirajućeg medijuma, pripremljenog sa česticama hidroksiapatita, na ćelijskoj kulturi, dobijeni su drugačiji rezultati. Kondicionirajući medijum pripremljen od termički netretiranih čestica se pokazao toksičan u većim koncentracijama što se manifestuje u značajnom, od koncentracije zavisnom, smanjenju metaboličke aktivnosti L929 ćelija, kao i promenom morfologije ćelija praćene smanjenjem ćelijskog rasta, odvajanju ćelija od površine plastičnog suda, smanjenju zapremine ćelija, kao i degradaciji samih ćelija. Uticaj kondicionirajućeg medijum se pokazao veći u slučaju kada je medijum pripremljen korišćenjem sfernih čestica u odnosu na medijum sa vlaknastim česticama.

U okviru osmog poglavlja prikazano je dobijanje skafolda korišćenjem cementnog praha na bazi silicijumom dopiranog α -TCP, polimetil-metakrilatnih vlakana (PMMA) i rastvora vodonik-peroksida s ciljem da se dobiju skafoldi kontrolisane mikro- i makro-poroznosti, gde je mikro-poroznost kontrolisana količinom dodatog rastvora H₂O₂, a makro-poroznost količinom dodatih PMMA vlakana. Skafoldi dobijeni nakon

očvršćavanja cementne paste u reakciji između silicijumom-dopiranog α -TCP i rastvora vodonik-peroksida imaju uniformnu makroporoznost sa veličinom pora od 50-200 μm i mikroporoznost od 1-2 μm . Skafoldi dobijeni od cementnog praha na bazi silicijumom dopiranog α -TCP, vodonik-peroksida uz dodatak PMMA vlakana imaju uniformnu makroporoznost sa veličinom pora od 50-200 μm , nastale kao posledica oslobađanja kiseonika tokom razgradnje vodonik-peroksida, kao i pore cilindričnog oblika, prečnika oko 200 μm , nastale naknadnim sagorevanjem vlakana PMMA dodatih u cementnu pastu. Ovako nastale cilindrične pore u znatnoj meri dovode do stvaranja povezane poroznosti. Na zidovima cilindričnih pora se jasno uočavaju mikropore zaostale nakon procesa sinterovanja na 1200 °C. Prednosti ovako dobijenih skafolda se zasnivaju na lakoj pripremi skafolda željenog oblika koji ima zadovoljavajuću čvrstoću i odgovarajuću poroznost nakon vezivanja cementne paste. Takođe, dodavanjem vlakana PMMA moguće je dobiti skafolde znatno veće i povezane poroznosti, ali pomenuti postupak zahteva naknadni termički tretman na temperaturama većim od 800 °C, kako bi se uklonila PMMA vlakna.

In vitro ispitivanje skafolda u SBF-u je pokazalo da fazni sastav i mikrostruktura skafolda pogoduju formiranju nanostrukturnih čestica hidroksiapatita na površini skafolda tokom 7 dana držanja u SBF-u. Rezultati dobijeni merenjem aktivnosti alkalne fosfataze određene na osušenim i termički tretiranim na 1200 °C skafoldima, pripremljenim od sfernih i trakastih, osušenih i termički tretiranih na 1200 °C čestica HA, kao i na skafoldima dobijenim mešanjem pomenutih prahova u odnosu 80-20 mas.% su pokazali znatno bolji ćelijski odgovor skafolda termički tretiranih na 1200 °C u poređenju sa odgovarajućim, termički netretiranim skafoldima.

U devetom poglavlju prikazano je dobijanje skafolda korišćenjem metode replike sundera. Za pripremu suspenzije korišćene za dobijanje skafolda uzete su sferne čestice HA kontrolisane veličine, nedopirane i dopirane različitim količinom silicijuma, termički tretirane na 1150 °C tokom dva sata. Dopiranje sfernih čestica silicijumom je izvršeno u cilju snižavanja temperature fazne transformacije HA u α -TCP, uz očuvanje sferne morfologije čestica nakon termičkog tretmana. Pomenuta temperatura od 1150 °C je izabrana nakon merenja linearnog skupljanja na termičkom mikroskopu, kao i SEM analize sfernih čestica termički tretiranih na različitim temperaturama. Utvrđeno je da sferne čestice dopirane većom količinom silicijuma transformišu u α -TCP na nižim temperaturama u odnosu na nedopirane čestice i čestice dopirane silicijumom u manjem procentu. Pored toga, cilj dopiranja sfernih čestica HA silicijumom je bio poboljšanje bioaktivnosti prahova, a samim tim i skafolda dobijenih korišćenjem pomenutih prahova. Zahvaljujući ovom postupku sinteze, sferne čestice α -TCP uniformne veličine su dobijene bez procesa mlevenja, koji je neizostavan proces u slučaju kada se α -TCP dobija reakcijama u čvrstoj fazi. U cilju dobijanja skafolda odgovarajućih mehaničkih karakteristika kao i odgovarajućeg faznog sastava prethodno osušeni skafoldi su termički tretirani na 1200, 1300, 1400 i 1450 °C tokom 3h. Ispitivanje mehaničkih karakteristika skafolda je pokazalo da vrednosti pritiska čvrstoće rastu sa povećanjem temperature sinterovanja i koncentracije silicijuma u polaznom prahu od 0,79 MPa, koliko je izmereno na skafoldu pripremljenom od nedopiranih čestica HA i sinterovanom na 1400 °C, pa do 5,7 MPa, koliko je izmereno na skafoldima pripremljenim od silicijumom dopiranih čestica HA i sinterovanim na 1450 °C.

U desetom poglavlju prikazano je dobijanje skafolda modifikovanom tehnikom replike sundera, koja se zasniva na impregnaciji poliuretanskog sundera parafinom pre nanošenja suspenzije HA. Korišćenjem napred navedene modifikovane tehnike moguće je dobiti skafolde sa povezanom poroznošću koja odgovara formi poliuretanskog sundera, stim što se impregnacijom parafinom postiže znatno veći prečnik pora od 200 do 300 μm . Pored toga, znatno veća i hidrofobna površina parafinskog sloja omogućava formiranje poroznih sfera već tokom procesa sušenja, čiji se oblik zadržava i nakon procesa sinterovanja.

3. OCENA DISERTACIJE

Savremenost, originalnost i značaj

Rezultati istraživanja mr Bojana Jokića, dipl. ing.tehnologije, prikazani u disertaciji pod nazivom: "Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih α -kalcijum-fosfata i hidroksiapatita", predstavljaju značajan doprinos razvoju i primeni biomaterijala zasnovanih na sintezi nedopiranih i silicijumom dopiranih HA, sferne i vlaknaste morfologije modifikovanom hidrotermalnom metodom, koji su korišćeni za dobijanje skafolda kontrolisane poroznosti i faznog sastava. Biomaterijali na bazi kalcijum-fosfata predstavljaju atraktivno polje istraživanja zbog široke primene u medicini i stomatologiji. Značajnu ulogu u zalečenju koštanog tkiva i koštanih defekata nalaze visokoporozni materijali, a među njima posebnu ulogu zauzimaju materijali na bazi kalcijum-fosfata zbog velike sličnosti sa mineralnom komponentom koštanog tkiva. Najveći broj dosadašnjih istraživanja bio je fokusiran na dobijanje bioaktivnih i osteoinduktivnih materijala kontrolisane poroznosti. U ovoj disertaciji ispitan je uticaj promene parametara sinteze na morfologiju čestica HA dobijenih modifikovanom hidrotermalnom tehnikom. Takođe, ispitan je uticaj supstitucije silicijumom na faznu stabilnost hidroksiapatitne faze i bioaktivnost čestica HA različite morfologije.

Kontrolisanim dopiranjem silicijumom sintetisane su čestice HA koje se transformišu u α -TCP fazu na znatno nižim temperaturama u odnosu na nedopirane čestice HA, uz očuvanje sferne morfologije polaznih čestica. Na taj način dobijene su mikronske čestice α -kalcijum-fosfata uniformne veličine koje ne zahtevaju naknadno mlevenje, neophodno u slučaju kada se α -TCP dobija reakcijama u čvrstoj fazi. Prednost ovako dobijenih čestica, uniformne morfologije, se vidi i u poboljšanju mehaničkih karakteristika skafolda dobijenih korišćenjem pomenutih čestica HA. Takođe, pokazalo se da pored poboljšanja mehaničkih karakteristika skafolda, dopiranje silicijumom povećava bioaktivnost i metaboličku aktivnost humanih ćelija ispitivanjem u *in vitro* uslovima.

Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U literaturnom pregledu doktorske disertacije navedeno je 255 literaturnih izvora, od kojih najveći broj čine najnoviji objavljeni radovi sa tematikom značajnom za izradu doktorske disertacije. U navedenoj literaturi dat je detaljan prikaz najnovijih tehnika za dobijanje poroznih biomaterijala, metoda karakterizacije, kao i rezultata vezanih za bioaktivnost u *in vitro* i *in vivo* uslovima, i mehaničke karakteristike najčešće korišćenih biomaterijala. U okviru literaturnih navoda nalaze se i reference kandidata mr Bojana Jokića, proistekle iz ove disertacije, koje su objavljene u vrhunskim međunarodnim časopisima i saopštene na značajnim međunarodnim konferencijama. Kandidat je proširio do sada poznata saznanja o sintezi i karakterizaciji biomaterijala koji se primenjuju u ortopediji i stomatologiji za rekonstrukciju koštanog tkiva.

Analiza primenjenih naučnih metoda i njihova adekvatnost za sprovedeno istraživanje

U ovoj doktorskoj disertaciji primenjene su savremene naučne metode za karakterizaciju sintetisanih prahova hidroksiapatita i skafolda i ispitivanje njihove biokompatibilnosti i bioaktivnosti. Rendgenostrukturalna analiza je korišćena za identifikaciju prisutnih kristalnih faza u sintetisanim uzorcima praha hidroksiapatita i skafolda, kao i za strukturnu analizu po Ritveldovoj metodi uz korišćenje Koalariet kompjuterskog programa zasnovanog na konvoluciji osnovnih parametara. Infracrvena spektroskopija je primenjena kao kvalitativna metoda kojom su na osnovu položaja apsorpcionih traka, identifikovane funkcionalne grupe sintetisanih prahova HA. Transmisionom i skenirajućom elektronskom mikroskopijom analizirana je morfologija sintetisanih čestica hidroksiapatita, kao i mikro- i makro-struktura skafolda. Analiza linearnog skupljanja sintetisanih, nedopiranih i silicijumom dopiranih sfernih čestica HA, izmerena na termičkom mikroskopu, izvršena je u cilju određivanja optimalne temperature pri kojoj se postiže maksimalno skupljanje ali pri kojoj ne dolazi do stapanja sfernih čestica, što je praćeno na skenirajućem elektronskom mikroskopu. Skenirajućom elektronskom mikroskopijom analizirana je morfologija humanih ćelija na površini skafolda u cilju praćenja ćelijske proliferacije. Hemijski sastav sintetisanih prahova HA određen je XRF i EDS metodom radi utvrđivanja sadržaja silicijuma u dopiranim uzorcima HA. Prisustvo tragova etilendiamintetrasirćetne kiseline i objašnjenja povećane citotoksičnosti utvrđene kod sintetisanih, termički netretiranih sfernih čestica HA određeno je tečnom hromatografskom i masenom spektrometrijskom analizom. Za ispitivanje bioaktivnosti sintetisanih prahova HA i skafolda korišćena je *in vitro* tehnika u simuliranom telesnom fluidu i humanim ćelijskim kulturama praćenjem metaboličke aktivnosti ćelija u ekstraktu sintetisanih prahova HA, kao i u direktnom kontaktu ćelija sa sintetisanim prahovima HA. Takođe, analizirana je i metabolička aktivnost skafolda dobijenih korišćenjem silicijumom dopiranih sfernih i vlaknastih čestica HA. Mehanička ispitivanja skafolda sinterovanih na različitim temperaturama izvršena su u cilju praćenja uticaja morfologije i faznog sastava polaznih prahova na vrednost pritisne čvrstoće skafolda, kao jednog od najbitnijih svojstava skafolda vezanog za dalju primenu reparaciji oštećenih delova koštanog tkiva.

Oцена primenjivosti i verifikacije ostvarenih rezultata

Na osnovu pregleda do sada objavljenih eksperimentalnih podataka i rezultata prikazanih u okviru ove doktorske disertacije ostvaren je značajan doprinos u razumevanju strukturne i bioaktivnosti, kako sintetisanih nedopiranih i silicijumom dopiranih prahova hidroksiapatita, tako i skafolda na bazi kalcijum-fosfata. Važno je istaći da se na osnovu strukturnih ispitivanja i hemijskih analiza utvrdi uticaj stepena supstitucije silicijumom unutar kristalne strukture HA i pronađe optimalna koncentracija silicijuma koja bi istovremeno poboljšala bioaktivnost materijala i omogućila faznu transformaciju HA u α -TCP uz očuvanje sferne morfologije sintetisanih čestica. Na taj način, bilo bi moguće izvršiti dodatna poboljšanja mehaničkih i bioaktivnih svojstva skafolda dobijenih korišćenjem čestica na bazi silicijumom dopiranog α -TCP. Rezultati i zaključci izvedeni tokom izrade ove doktorske disertacije značajni su za dalji razvoj dopiranih prahova HA, ali i visokoporoznih materijala željenog faznog sastava, strukture i bioaktivnosti.

Oцена sposobnosti kandidata za samostalan naučni rad

Kandidat mr Bojan Jokic, dipl. ing. tehnologije je tokom izrade doktorske disertacije ispoljio izuzetnu stručnost u pripremi i realizaciji eksperimenata, korišćenju različitih tehnika karakterizacije materijala i analizi 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 “Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih α -kalcijum-fosfata i hidroksiapatita” se ogleda u boljem razumevanju procesa sinteze dopiranih i nedopiranih prahova HA različite i kontrolisane morfologije, kao i uticaju vrste i stepena supstitucije na faznu stabilnost HA od koje zavisi dalja primena sintetisanih prahova HA. U doktorskoj disertaciji je po prvi put prikazan mehanizam formiranja vlakana HA dobijenih modifikovanom hidrotermalnom metodom. Takođe, u doktorskoj disertaciji je prikazan postupak dobijanja sfernih čestica α -TCP uniformne raspodele koji ne zahteva mlevenje α -TCP nakon fazne transformacije HA, koje je neophodno u slučaju kada se α -TCP, kao visokotemperaturna faza, dobija reakcijama u čvrstoj fazi. Pomenuti efekat je postignut kontrolisanim dopiranjem HA silicijumom koji je u značajnoj meri uticao na stabilizaciju α -TCP faze. Prikazani rezultati su pokazali da sintetisani, silicijumom dopirani prahovi HA i skafoldi na bazi silicijumom dopiranog HA i α -TCP imaju veliki potencijal za primenu u medicini u obliku praha ili visoko-poroznih formi za supstituciju oštećenih delova koštanog tkiva, pre svega zbog dobrih bioaktivnih i mehaničkih svojstava. Strukturnom analizom skafolda određena je makro-poroznost, koja se kreće od 500 do 1000 μm u zavisnosti od poroznosti korišćenog poliuretanskog sušera, kao i mikroporoznost od 1 do 3 μm , u zavisnosti od polaznog praha HA korišćenog za dobijanje skafolda. Kontrolisanim mikro- i makroporoznošću skafolda odgovarajućih mehaničkih karakteristika moguće je prilagoditi skafold koštanoj strukturi na mestu defekta u koji se primenjuje sintetisani skafold.

Kritička analiza rezultata istraživanja

Definisanjem ciljeva istraživanja utvrđena je metodologija istraživanja primenjena tokom izrade doktorske disertacije. Uvidom u dostupnu literaturu iz ove oblasti istraživanja koja razmatra sintezu, karakterizaciju i primenu biomaterijala, i rezultata istraživanja dobijenih primenom odabrane metodologije u okviru ove disertacije, može se primetiti da dobijeni rezultati ne pokazuju značajnija odstupanja od očekivanih rezultata. Takođe, dobijeni rezultati, potvrđeni primenom različitih metoda, se međusobno dopunjuju, što je dokumentovano kroz diskusiju rezultata u okviru doktorske disertacije.

Očekivana primena rezultata u praksi

Rezultati istraživanja dobijeni tokom izrade ove doktorske disertacije omogućavaju bolje razumevanje procesa sinteze biokeramičkih materijala na bazi HA i TCP. Korišćenjem hidrotermalnog postupka sinteze definisani su optimalni parametri sinteze čestica HA sferne i vlaknaste morfologije. Detaljnom analizom utvrđen je mehanizam formiranja vlaknastih čestica HA. Takođe, korišćenjem rendgenske difrakcione analize, infracrvene spektroskopske analize, energetske disperzione spektroskopije i energetske disperzione rendgenske fluorescentne spektroskopije određen je stepen supstitucije u silicijumom dopiranim prahovima HA sferne i vlaknaste morfologije. Detaljna *in vitro* ispitivanja u simuliranom telesnom fluidu i različitim humanim ćelijskim kulturama sprovedena u cilju utvrđivanja uticaja stepena supstitucije silicijumom i koncentracije sintetisanih čestica HA u neposrednom kontaktu sa ćelijama su pokazala dobru bioaktivnost sintetisanih materijala. Praćenjem metaboličke aktivnosti utvrđeno je da termički tretirani i silicijumom dopirani prahovi TCP i skafoldi dobijeni korišćenjem navedenih prahova pokazuju veću bioaktivnost u poređenju sa standardnim kontrolnim uzorcima. Prikazani rezultati su pokazali da i sintetisani silicijumom dopirani prahovi HA i skafoldi na bazi silicijumom dopiranog HA i α -TCP imaju veliki potencijal za primenu u medicini u obliku praha ili skafolda za supstituciju oštećenih delova koštanog tkiva, pre svega zbog mogućnosti dobijanja formi kontrolisane poroznosti, dobre bioaktivnih i mehaničkih svojstava.

Verifikacija rezultata u časopisima i saopštenjima na konferencijama

Kandidat mr Bojan Jokić je svoje rezultate potvrdio objavljivanjem radova u vodećim međunarodnim i nacionalnim časopisima i saopštavanjem većeg broja radova na međunarodnim skupovima. Iz disertacije su proistekla dva rad objavljena u vrhunskom međunarodnom časopisu, jedan rad je podnet u vrhunskom međunarodnom časopisu Material Letters, a drugi je u pripremi.

Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

1. **B. Jokić, M. Mitrić, V. Radmilović, S. Drmanić, R. Petrović, Dj. Janačković**, “Synthesis and characterization of monetite and hydroxyapatite whiskers obtained by a hydrothermal method”, *Ceramics International*, 37 (1) (2011) 167-173; ISSN 0272-8842 (IF=1,472)
2. **B. Jokić, M. Mitrić, M. Popović, L. Sima S. M. Petrescu, R. Petrović, Dj. Janacković**, “The influence of silicon substitution on the properties of spherical- and whisker-like biphasic α -calcium-phosphate/hydroxyapatite particles” *J Mater Sci: Mater Med* 22 (2011) 2175–2185; ISSN 0957-4530 (IF=2,325)

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

1. B. Jokic, D. Veljovic, Z. Radovanovic, I. Jankovic-Castvan, R. Petrovic, Dj. Janackovic, "Scaffolds prepared by polymer sponge method using narrow size silicon substituted hydroxyapatite particles", European Congress and Exhibition on Advanced Materials and Processes "EUROMAT 2011", Montpellier, France, 2011.
2. B. Jokic, Dj. Janackovic, P. Uskokovic, R. Petrovic, I. Balac, Dj. Veljovic, I. Jankovic-Castvan, Z. Radovanovic, "Synthesis of hydroxyapatite filler doped with silicon for HA/polymer nanocomposites", 5th International ECNP Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites, Paris, France, 2009.
3. Dj. Janackovic, P. Uskokovic, R. Petrovic, I. Balac, B. Jokic, Dj. Veljovic, I. Jankovic-Castvan, Z. Radovanovic, "Synthesis of nanostructured hydroxyapatite filler for HAP/polymer nanocomposite", 5th International ECNP Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites, Paris, France, 2009.

5. ZAKLJUČAK

Kratak osvrt na disertaciju u celini

Na osnovu svega napred iznetog Komisija smatra da doktorska disertacija mr Bojana M. Jokića, dipl. ing. tehnologije., pod nazivom: "PROUČAVANJE PROCESA FORMIRANJA POROZNIH BIOKOMPATIBILNIH MATERIJALA NA BAZI NEDOPIRANIH I SILICIJUMOM DOPIRANIH α -KALCIJUM-FOSFATA I HIDROKSIAPATITA", predstavlja značajan, originalni naučni doprinos u oblastima inženjerstvo neorganskih hemijskih proizvoda i inženjerstvo materijala, što je potvrđeno objavljivanjem radova u časopisima međunarodnog značaja i saopštenja na međunarodnim konferencijama.

Predlog Komisije Nastavno-naučnom veću

Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću TMF-a da prihvati ovaj Izveštaj i da ga zajedno sa podnetom disertacijom mr Bojana M. Jokića, da 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, 09. 10. 2011.

Članovi komisije:

1. Dr Đorđe Janačković, redovni profesor, TMF Univerziteta u Beogradu
2. Dr Rada Petrović, vanredni profesor, TMF Univerziteta u Beogradu
3. Dr Petar Uskoković, redovni profesor, TMF Univerziteta u Beogradu
4. Dr Kosovka Obradović-Đuričić, redovni profesor, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu
5. Dr Ljiljana Živković, viši naučni saradnik, INN Vinča Univerziteta u Beogradu