

Факултет ТЕХНОЛОШКО-
МЕТАЛУРШКИ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/152

Веће научних области техничких наука

(Број захтева)

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

04.07.2023.

(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 биореакторски системи за обезбеђивање физиолошки релевантне средине
(Biomimetic bioreactor systems as physiologically relevant environments)".**

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

Ивана (Драган) Банићевић

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

Универзитет Црне Горе,

Металуршко-технолошки факултет, Магистар хемијске технологије

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2020.

4. Година уписа на докторске студије: 2020.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Хемијско инжењерство

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ :

Име и презиме ментора: др Бојана Обрадовић

Звање: Редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Zvicer J., Medic A., Veljovic Dj., Jevtic S., Novak S., **Obrovadic 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
2. Stojkovska J., Zvicer J., **Obrovadic B.**, Preclinical functional characterization methods of nanocomposite hydrogels containing silver nanoparticles for biomedical applications, *Appl Microbiol Biotechnol.* **104**(11), 4643-4658, **2020**. doi: 10.1007/s00253-020-10521-2 ISSN 0175-7598, IF 2020=3.530
3. Najmi Z., Kumar A., Scalia A.C., Cochis A., **Obrovadic 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 2020=5.890
4. Dragoj M., Stojkovska J., Stanković T., Dinić J., Podolski-Renić A., **Obrovadić B.**, Pešić M., Development and validation of a long-term 3D glioblastoma cell culture in alginate microfibers as a novel bio-mimicking model system for preclinical drug testing, *Brain Sci.* **2021**, 11, 1025. DOI: 10.3390/brainsci11081025, ISSN: 2076-3425, IF 2021: 3.333
5. Vidovic S., Stojkovska J., Stevanovic M., Balanc B., Vukasinovic-Sekulic M., Marinkovic A., **Obrovadić B.**, Effects of poly(vinyl alcohol) blending with Ag/alginate solutions to form nanocomposite fibres for potential use as antibacterial wound dressings, *R. Soc. Open Sci.*, **2022**, 9: 211517. 211517. DOI: [10.1098/rsos.211517](https://doi.org/10.1098/rsos.211517), ISSN: 2054-5703, IF 2021: 3.653

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

- 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

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 2 :

Име и презиме ментора: др Мауро Алини

Звање: Ванредни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Di Marzio N., Ananthanarayanan P., Guex A.G., **Alini M.**, Riganti C., Serra T., Sound-based assembly of a microcapillary network in a saturn-like tumor model for drug testing, (2022) *Materials Today Bio*, 16, art. no. 100357, DOI: 10.1016/j.mtbio.2022.100357. ISSN 2590-0064, IF 2021=10.761
2. **Alini M.**, Diwan A.D., Erwin W.M., Little C.B., Melrose J., An update on animal models of intervertebral disc degeneration and low back pain: Exploring the potential of artificial intelligence to improve research analysis and development of prospective therapeutics, (2023) *JOR Spine*, 6 (1), art. no. e1230, DOI: 10.1002/jsp2.1230 ISSN 2572-1143, IF 2021=3.757
3. Ma J., Häne S., Eglauf J., Pfannkuche J., Soubrier A., Li Z., Peroglio M., Hoppe S., Benneker L., Lang G., Wangler S., **Alini M.**, Creemers L.B., Grad S., Häckel S. Celecoxib alleviates nociceptor sensitization mediated by interleukin-1beta-primed annulus fibrosus cells, (2023) *European Spine Journal*, 32 (6), 2048 - 2058, DOI: 10.1007/s00586-023-07672-x, ISSN: 0940-6719, IF 2021: 2.721
4. Meng X., Li L., Huang C., Shi K., Zeng Q., Wen C., Grad S., **Alini M.**, Qin L., Wang X., Anti-inflammatory and anabolic biphasic scaffold facilitates osteochondral tissue regeneration in osteoarthritic joints, (2023) *Journal of Materials Science and Technology*, 156, 20 - 31, DOI: 10.1016/j.jmst.2023.01.035, ISSN: 1005-0302, IF 2021: 10.320
5. Guo P., Jiang N., Mini C., Miklosic G., Zhu S., Vernengo A.J., D'Este M., Grad S., **Alini M.**, Li Z., Decellularized extracellular matrix particle-based biomaterials for cartilage repair applications, (2023) *Journal of Materials Science and Technology*, 160, 194 - 203, DOI: 10.1016/j.jmst.2023.03.019, ISSN: 1005-0302, IF 2021: 10.320

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

- 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 29.06.2023. 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 **Иване Банићевић**, број индекса 4021/20, под називом: **„Биомимични биореакторски системи за обезбеђивање физиолошки релевантне средине (Biomimetic bioreactor systems as physiologically relevant environments)“**.

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 Мауро Алини, заменик директора, АО Институт Давос, Швајцарска, ванредни професор, Универзитет Мек Гил (McGill University), Монтреал, Канада.

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 Иване Банићевић за израду докторске дисертације

Одлуком бр. 35/99 од 11.05.2023. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену подобности теме и кандидата Иване Банићевић за израду докторске дисертације и научне заснованости теме **Biomimetic bioreactor systems as physiologically relevant environments** (Биомимични биореакторски системи за обезбеђивање физиолошки релевантне средине).

На основу материјала приложеног уз Захтев кандидата, Комисија подноси следећи

РЕФЕРАТ

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Ивана Банићевић, мастер хемијске технологије, рођена је 15.04.1995. године у Котору у Црној Гори. Основно и средње образовање је стекла у Херцег Новом. Основне студије је уписала 2014. године на Металуршко-технолошком факултету Универзитета Црне Горе у Подгорици који је завршила 2017. године као најбољи студент генерације са просеком 9,96. Исте године уписала је специјалистичке студије на истом факултету у Подгорици које је завршила са просечном оценом 10,0. Мастер студије је затим наставила 2018. године на истом факултету, у оквиру којих је била на вишемесечном боравку на Универзитету Кил у Великој Британији, а завршила их је 2020. године са просечном оценом 9,94. Школске 2020/2021. године уписала је докторске студије на Технолошко-металуршком факултету, Универзитета у Београду, на студијском програму Хемијско инжењерство.

Од 1. децембра 2020. године, Ивана Банићевић је запослена на Технолошко-металуршком факултету у Београду, као истраживач на међународном пројекту “*Precision medicine for musculoskeletal regeneration, prosthetics and active ageing — PREMURSA*” (grant no. 860462, 2020-2024). У звање истраживач приправник изабрана је 18. новембра 2021. године. Као студент докторских студија била је ангажована на експерименталним вежбама на предметима Хемијско инжењерство (ХИ) током школске године 2021/2022 и 2022/2023, ХИ лабораторија током 2021/2022 и Механика флуида током 2021/2022 и 2022/2023. године на студијском програму Хемијско инжењерство.

Ивана Банићевић је била учесник пет летњих школа:

- Прва *Premurosa Network* школа (онлајн, октобар 2020.);
- Друга *Premurosa Network* школа (Порто, Португалија, 20.-22. октобар 2021.);
- Трећа *Premurosa Network* школа (ТМФ, Београд, Србија, 22.-24. јун 2022.);

- Прва *ExcellMater* специјализована школа - *School on biomaterials aimed for dental and orthopedic applications* (ТМФ, Београд, Србија, 31.10. – 05.11. 2023., призната као семинар на докторским студијама ТМФ, 2 ЕСПБ);

- Четврта *Premurosa Network* школа (Рига, Летонија, 14-19. мај 2023)

Уз то, имала је и прилику да похађа различите семинаре и радионице организоване у оквиру пројекта *PREMUROSA*, као и пројекта „*Twinning to excel materials engineering for medical devices – ExcellMater*“, GA 952033 (*Seminar on project proposal writing*, онлајн, 22-24. 11. 2021, *Regulations and clinical utilization of novel biomaterials*, ТМФ, 20-21. 06. 2022., *Hands-on workshop on bioprinting technologies*, Давос, 28-29. 07. 2022., *Workshop on the routes to clinical utilization of novel biomaterials for medical devices*, ТМФ, 28-30. 09. 2022.). Провела је два месеца (јануар-март 2023. г.) на студијском боравку на Универзитету Источног Пијемонта “Амедео Авогадро” у Италији, а тренутно је на двомесечном боравку у АО Институту Давос у Швајцарској (јун-јул 2023. г.).

Говори енглески језик и служи се италијанским.

1.2. Стечено научноистраживачко искуство

Ивана Банићевић је школске 2020/2021. године уписала докторске студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду на студијском програму Хемијско инжењерство. Положила је све испите предвиђене планом и програмом са просечном оценом 10, а са оценом 10 је одбранила Завршни испит на тему: „Развој 3Д *in vitro* модела за гајење хелија остеосаркома“.

Положени испити на докторским студијама

Предмет	Оцена	ЕСПБ
Одабрана поглавља нумеричке анализе	10	5
Хемијска кинетика	10	5
Термодинамика чврстог стања	10	5
Феномени преноса у биолошким системима	10	5
Инжењерство ткива	10	5
Биокомпозитни материјали	10	4
Синтеза, својства и примена биокерамичких материјала	10	4
Увећање размера процеса	10	4
Структура и својства полимерних материјала	10	5
Методе карактеризације керамичких и стаклених материјала	10	4
Имобилисани биокатализатори: технике имобилизације, биореактори и примена	10	6
Завршни испит	10	30
Просечна оцена/Укупно	10,0	82

Ивана Банићевић је истраживач на међународном пројекту “*Precision medicine for musculoskeletal regeneration, prosthetics and active ageing — PREMURSA*” (grant no. 860462, 2020-2024) у оквиру програма Марија Склодовска Кири „Иновативне мреже за обуке“ (MSCA Innovative Training Network) који се реализује кроз Оквирни програм Европске Уније за истраживање и иновације „Хоризонт 2020“.

Уз то, Ивана Банићевић је била ангажована за учешће на експерименталним вежбама из предмета Увод у хемијско инжењерство академске 2021/2022. и 2022/2023. године, Механика флуида академске 2021/2022. и 2022/2023. године и Хемијско инжењерска лабораторија академске 2021/2022. године.

Ивана Банићевић је у оквиру мастер студија боравила на Универзитету Кил у Великој Британији где се бавила развојем сензора за детекцију NO₂ у ваздуху и из ових истраживања произашао је један рад публикован у врхунском међународном часопису. У оквиру рада на пројекту *PREMUROSA* Ивана се бави развојем тродимензионалног (3Д) модела ткива кости базираног на примени биоматеријала и проточног биореактора што је предложена тема њене докторске дисертације. Из ових истраживања 1 рад је поднет у врхунски међународни часопис, у припреми су два рада за публикавање у међународним часописима, а 1 саопштење са међународног скупа је штампано у целини и 12 саопштења са међународних скупова су штампана у изводу.

Списак објављених научних радова

M21 - Радови у врхунским међународним часописима

1. Saiz E, **Banicevic I**, Torres S, Bertata S, Picasso G, O'Brien M, Radu A, Portable, low-cost, Raspberry Pi-based optical sensor (PiSENS): continuous monitoring of atmospheric nitrogen dioxide, *Anal. Methods*, 15(4), 2023, 482-491, [doi:10.1039/D2AY01433E](https://doi.org/10.1039/D2AY01433E), ISBN 1759-9660, IF 2021 = 3,532

M33 –Саопштења са међународног скупа штампаног у целини

1. Stojkovska J., **Banicevic I.**, Petrovic J., Milivojevic M., Stevanovic M., Obradovic B., *Novel 3D approach for osteosarcoma research comprising bioactive composite scaffolds in conjunction with perfusion bioreactors*, - Conference Proceedings of the 3rd biennial International Conference, Biomaterials and Novel Technologies for Healthcare BIOMAH, October 18-21, 2022, Rome, Italy, (ISBN 978 88 8080 500 7 (electronic edition), pp.194-195

M34 - Саопштења са међународног скупа штампано у изводу

1. Stojkovska J., **Banicevic I.**, Radonjic M., Zvicer J., Veljovic Dj, Milivojevic M., Stevanovic M., Obradovic B., *Development of a biomimetic bioactive microenvironment for osteosarcoma research*, - 31st Conference of the European Society for Biomaterials ESB 2021 together with the 43rd Annual Congress of the Iberian Society of Biomechanics and Biomaterials (SIBB), September 5-9, 2021, Porto, Portugal [fully virtual], ESB2021 Book of Abstracts, p. 1440

2. **Banicevic, I.**, Radonjic, M., Pavlovic, M., Milivojevic, M., Stevanovic, M., Stojkovska, J., Obradović, B., *Development of a physiologically relevant 3D in vitro model for osteosarcoma cell cultivation comprising alginate composite scaffolds and a perfusion bioreactor system*, - Nineteenth Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering: Program and the Book of Abstracts, December 1-3, 2021, Belgrade, Serbia, Abstract 2-1, p. 6,

3. Obradovic B., Stojkovska J., Petrovic J., **Banicevic I.**, Milivojevic M., Stevanovic M., Jankovic R., Dragoj M., Pesic M., *Development of 3D cancer cell culture models for anti-tumor drug testing*, - Abstract Book, European society of Medicine, ESMED General Assembly 2022, August 4-6, 2022, online, pp. 254-255

4. **Banicevic, I.**, Petrović, J., Milivojević, M., Stevanović, M., Janković, R., Stojkovska, J., Obradović, B., *Development of osteosarcoma 3D in vitro model comprising bone-mimicking scaffolds and a biomimetic bioreactor* - Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society, Inc.- European Chapter 2022 TERMIS-EU Conference, Krakow, 28th June – 1st July 2022.

5. **Banicevic, I.**, Petrović, J., Milivojević, M., Stevanović, M., Janković, R., Stojkovska, J., Obradović, B., *Optimisation of 3D in vitro model for osteosarcoma cell cultivation*, - 23rd Annual Conference YUCOMAT 2022, Herceg Novi, Montenegro, 28th August – 2nd September 2022, p95.

6. Petrović, J., **Banicevic, I.**, Stojkovska, J., Dragoj, M., Pešić M., Milivojević M., Stevanović, M., Obradović, B., *Development of a 3D in vitro model based on alginate microfibers with immobilized*

cancer cells for cancer research and anticancer drug testing, - 23rd Annual Conference YUCOMAT 2022, Herceg Novi, Montenegro, 28th August – 2nd September 2022, p96.

7. Zühlke, A., **Banicevic, I.**, Obradović, B., Gasik, M., *Biomechanical DMA characterization of calcium and barium alginate hydrogel scaffolds*, - 23rd Annual Conference YUCOMAT 2022, Herceg Novi, Montenegro, 28th August – 2nd September 2022, p100.

8. Stojkovska, J., **Banicevic, I.**, Petrović, J., Milivojević, M., Stevanović, M., Dragoj, M., Pešić M., Janković, R., Obradović, B., *A platform for reliable preclinical testing of anticancer drugs*, - 23rd Annual Conference YUCOMAT 2022, Herceg Novi, Montenegro, 28th August – 2nd September 2022, p67.

9. **Banicevic, I.**, Menshikh, K., Radonjić, M., Petrović, J., Janković, R., Milivojević, M., Stevanović, M., Stojkovska, J., Obradović, B., *Cellular self-assembly in a 3D osteosarcoma culture model based on alginate scaffolds and perfusion bioreactor*, - 20th Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering: Program and the Book of Abstracts, November 30-December 2, 2022, Belgrade, Serbia, Abstract 2-2, p. 9

10. Milosevic M., **Banicevic I.**, Pavlovic M., Milivojevic M., Stevanovic M., Stojkovska J., Obradovic B., *Development of a physiologically relevant osteosarcoma model based on alginate scaffolds and perfusion bioreactor*, - 20th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, November 30 - December 2, 2022, Belgrade, Serbia, Programme and the Book of Abstracts, 2-1, p. 8

11. Menshikh K, **Banicevic I.**, Radonjic M, Miola M, Stojkovska J, Cochis A, Obradovic B, Rimondini L, *Osteosarcoma In Vitro: a Step-by-Step Approach*, - 20th Young Researchers Conference – Materials Science and Engineering, November 30 - December 2, 2022, Belgrade, Serbia, Programme and the Book of Abstracts, 3-1, p. 9

12. Obradovic B, **Banicevic I.**, Milosevic M, Milivojevic M, Stevanovic M, Jankovic R, Stojkovska J., *A 3D tissue-engineered osteosarcoma model based on macroporous composite alginate scaffolds and perfusion*, - Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society, Inc.-European Chapter 2023 TERMIS-EU Conference, Manchester, UK, 27th – 31st March 2023, Abstracts' E-book OP-105.

1.3. Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми

У досадашњем научно-истраживачком раду у оквиру међународног пројекта *PREMUROSA* Ивана Банићевић је показала студиозност и интересовање за инжењерство ткива и тумора, као и 3Д *in vitro* системе за гајење ћелија, а у експерименталном раду спретност и вештину, као и аналитичност у обради добијених резултата. До сада је објавила 1 рад у врхунском међународном часопису, 1 саопштење са међународног скупа штампано у целини, 12 саопштења са међународних скупова штампаних у изводу, док је 1 рад тренутно на рецензији у врхунском међународном часопису. На основу досадашњег рада, остварених резултата и показаног интересовања и способности Комисија сматра да кандидаткиња испуњава услове за рад на предложеној теми докторске дисертације.

2. Предмет и циљ истраживања

Традиционални системи за испитивање ћелија, као и нових лекова и биоматеријала, су засновани на гајењу ћелија у монослоју односно у дводимензионалној (2Д) средини. Међутим, показало се да се овако гајене ћелије значајно разликују од ћелија у нативној средини услед измењене морфологије и метаболизма, као и недостатка ванћелијског матрикса (ВЋМ) и међућелијских интеракција. Стога су и резултати добијени у овим

системима често и супротни резултатима добијеним *in vivo*. Као могуће решење препознати су *in vitro* системи за гајење ћелија у 3Д окружењу. Један од приступа се заснива на примени биоматеријала као носача ћелија који имитирају природни ВЋМ и биомимичних биореактора за обезбеђивање ефикасног преноса масе и адекватних биофизичких сигнала. Ови системи су атрактивни како за имитацију физиолошких услова у одређеном ткиву што је погодно за примену у инжењерству ткива, тако и за имитацију патолошких услова као нпр. у ткиву и окружењу малигних тумора што је подесно за истраживања малигних ћелија, као и за тестирање антитуморских лекова и развој персонализованих медицинских терапија.

Предмет истраживања у овој докторској дисертацији је развој погодне 3Д *in vitro* средине за гајење ћелија коштаног порекла која имитира ткиво кости са посебним фокусом на патолошко стање у виду тумора остеосаркома. ВЋМ коштаног ткива представља композитни материјал који се састоји од органске фазе коју у највећој мери чине колагенска влакна, и минералне фазе коју највећим делом чине кристали хидроксиапатита (ХАП). Поред тога, ткиво кости је порозно и добро прокрвљено, при чему је компактно коштано ткиво прецизно структурирано у виду система остеона повезаних каналима док је сунђерасто коштано ткиво изграђено од трабекула између којих су шупљине испуњене коштаном сржи. Коштани тумори, као једно од патолошких стања кости, представљају значајан здравствени проблем с обзиром да већ две-три деценије није дошло до значајног побољшања у антитуморској терапији. Остеосарком је најчесталији коштани тумор који најчешће погађа децу и адолесценте, али се јавља и у старијој популацији, а препознат је као подмукао и агресиван тумор са генерално лошом прогнозом уколико дође до метастазирања. Најчешће настаје у пределима раста костију, а сам процес настанка тумора и даље прогресије још увек нису довољно познати.

За имитацију ткива кости *in vitro* најчешће су испитивани порозни биоматеријали различитих структура, од наноструктурних до макропорозних, а по саставу су најатрактивнији композити полимера са честицама минералне фазе, најчешће ХАП и прекурсора ХАП као што је биоактивно стакло, β -трикалцијум-фосфат, итд. Циљ ових биоматеријала је да ћелијама обезбеди погодну микрооколину у погледу хемијског састава и топографије површине, али да би се постигао ефикасан доток и размена нутријената, метаболита, гасова и биоактивних молекула код свих ћелија, као и за обезбеђивање одговарајућих биофизичких сигнала, неопходна је примена биореактора. При томе, за инжењерство ткива кости најчешће су примењивани проточни биореактори ради обезбеђивања адекватних хидродинамичких смицајних напона јер је показано да управо ови напони представљају главни биофизички сигнал који утиче на *in vitro* диферентовање ћелија у правцу остеогенезе.

Циљ ове докторске дисертације је развој система за гајење ћелија у 3Д окружењу које имитира ткиво кости на бази алгинатних хидрогелова и проточног биореактора и који ће обезбедити физиолошки релевантну микрооколину ћелијама коштаног порекла и то првенствено ћелијама остеосаркома за испољавање карактеристика тумора као што су синтеза ВЋМ, експресија гена (као што је фамилија SOX гена и гени плурипотентности) и резистенција на антитуморске лекове. Поред тога, други циљ је и да се испита примена овог система и за гајење мезенхимских матичних ћелија као модела за *in vitro* регенерацију коштаног ткива.

Посебни циљеви ове дисертације су:

- развој и примена макропорозних композитних носача на бази хидрогелова Са- и Ва-алгината са честицама ХАП за сејање ћелија остеосаркома и мезенхимских матичних ћелија;
- примена добијених носача засејаних ћелијама у проточном биореактору као 3Д *in vitro* модела за имитацију нормалног и патолошког стања кости;

- карактеризација ћелија гајених у статичким условима и у проточном биореактору у погледу вијабилности, пролиферације, морфологије, синтезе ВѢМ и генске експресије и одређивање утицаја смицајних напона и преноса масе;
- примена оптимизоване биомимичне 3Д културе ћелија остеосаркома за испитивање ефикасности одговарајућег модел антитуморског лека, при чему ће се анализирати ефекти на вијабилност и пролиферацију малигних ћелија.

На тај начин, крајњи циљ је успостављање биомимичног 3Д система за гајење ћелија коштаног порекла који ће са једне стране, подржати физиолошке карактеристике, како ћелија остеосаркома, тако и мезенхимских матичних ћелија, а са друге стране ће омогућити поуздано одређивање ефикасности антитуморских лекова *in vitro*.

У даљем тексту наведен је списак одабране релевантне литературе.

1. Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. da S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J., & Cerri, P. S., - *Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells*. BioMed Research International, 2015, pp. 1–17.
2. Ansari, M., - *Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies*, Progress in Biomaterials, Vol 8, 2019, pp. 223–237.
3. Ng, J., Spiller, K., Bernhard, J., & Vunjak-Novakovic, G., - *Biomimetic Approaches for Bone Tissue Engineering*, Tissue Engineering Part B: Reviews, Vol 23, No 5, 2017, pp. 480–493.
4. Selden, C., & Fuller, B., - *Role of Bioreactor Technology in Tissue Engineering for Clinical Use and Therapeutic Target Design*, Bioengineering, Vol 5, No 2, 2018, p. 32.
5. Yousefi, A.-M., James, P. F., Akbarzadeh, R., Subramanian, A., Flavin, C., & Oudadesse, H., - *Prospect of Stem Cells in Bone Tissue Engineering: A Review*, Stem Cells International, 2016, pp. 1–13.
6. Kazimierczak, P., Benko, A., Nocun, M., Przekora, A., - *Novel chitosan/agarose/hydroxyapatite nanocomposite scaffold for bone tissue engineering applications: comprehensive evaluation of biocompatibility and osteoinductivity with the use of osteoblasts and mesenchymal stem cells*, International Journal of Nanomedicine, Vol 14, 2019, pp. 6615–6630.
7. Calabrese, G., Giuffrida, R., Fabbi, C., Figallo, E., Lo Furno, D., Gulino, R., Forte, S., - *Collagen-Hydroxyapatite Scaffolds Induce Human Adipose Derived Stem Cells Osteogenic Differentiation In Vitro*, PLOS ONE, Vol 11, No 3, 2016.
8. Maji, K.; Dasgupta, S., - *Hydroxyapatite-Chitosan and Gelatin Based Scaffold for Bone Tissue Engineering*, Trans. Indian Ceram. Soc. Vol 73, 2014, pp. 37–41.
9. Lin, H.R.; Yeh, Y.J., - *Porous alginate/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering: Preparation, characterization, and in vitro studies*, J. Biomed. Mater. Res. Vol 71, 2004, pp. 52–65.
10. Mitra, D., Whitehead, J., Yasui, O. W., & Leach, J. K., - *Bioreactor culture duration of engineered constructs influences bone formation by mesenchymal stem cells*, Biomaterials, Vol 146, 2016, pp. 29–39.
11. Bassi, G., Panseri, S., Dozio, S. M., Sandri, M., Campodoni, E., Dapporto, M., Sprio, S., Tampieri, A., & Montesi, M., *Scaffold-based 3D cellular models mimicking the heterogeneity of osteosarcoma stem cell niche*. Scientific Reports, Vol 10, No 1, 2016.

12. Bornert, F., Aguilar, A., Gantzer, J., Kurtz, J.-E., Benkirane-Jessel, N., & Hua, G., - *From 3D Cell Culture System to Personalized Medicine in Osteosarcoma*, Innovations Tissue Eng Regen Med., Vol 3, No 1, 2019, pp.1-4.
13. Chow, T., Wutami, I., Lucarelli, E., Choong, P. F., Duchi, S., & di Bella, C., - *Creating in Vitro Three-Dimensional Tumor Models: A Guide for the Biofabrication of a Primary Osteosarcoma Model*, In Tissue Engineering - Part B: Reviews, Vol. 27, No 5, 2021, pp. 514– 529.
14. Coughlin, T. R., Sana, A., Voss, K., Gadi, A., Basu-Roy, U., Curtin, C. M., Mansukhani, A., & Kennedy, O. D., - *The effect of fluid flow shear stress and substrate stiffness on yes associated protein (Yap) activity and osteogenesis in murine osteosarcoma cells*. Cancers, Vol 13, No 13, 2021.
15. Jain, R. K., Martin, J. D., & Stylianopoulos, T., - *The role of mechanical forces in tumor growth and therapy*, In Annual Review of Biomedical Engineering. Vol. 16, 2014, pp. 321– 346.
16. Marturano, A., Yeager, K., Bach, D., Villasante, A., Cimetia, E., & Vunjak-Novakovic, G., - *Mimicking Biophysical Stimuli within Bone Tumor Microenvironment*, Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual International Conference, Vol. 2015, 2015, pp. 3561–3564.
17. Monteiro, C. F., Custódio, C. A., & Mano, J. F., - *Three-Dimensional Osteosarcoma Models for Advancing Drug Discovery and Development*, In Advanced Therapeutics, Vol. 2, No 3, 2019.
18. Müller, D. A., & Silvan, U., - *On the biomechanical properties of osteosarcoma cells and their environment*, International Journal of Developmental Biology, Vol 63, No (1–2), 2019, pp. 1–8.
19. Munoz-Garcia, J., Jubelin, C., Loussouarn, A., Goumard, M., Griscom, L., Renodon-Cornière, A., Heymann, M. F., & Heymann, D., - *In vitro three-dimensional cell cultures for bone sarcomas*, In Journal of Bone Oncology, Vol. 30, 2021.
20. Santoro, M., Lamhamedi-Cherradi, S. E., Menegaz, B. A., Ludwig, J. A., & Mikos, A. G., - *Flow perfusion effects on three-dimensional culture and drug sensitivity of Ewing sarcoma*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 112, No 33, 2015, pp. 10304–10309

3. Полазне хипотезе

У оквиру ове докторске дисертације, предложена истраживања полазе од хипотезе да се гајењем ћелија на носачима, у тродимензионалном окружењу, уз примену биомимичних биореакторских система приближније имитира микрооколина ћелија *in vivo*.

При томе се полази од следећих претпоставки:

- могуће је имобилисати ћелије остеосаркома, као и мезенхимске матичне ћелије у макропорозне композитне носаче на бази Са- односно Ва-алгината и честица ХАП сејањем;
- носачи ћелија на бази алгината и честица ХАП имитирају коштаног ткиво обезбеђујући тако адекватно 3Д окружење за ћелије коштаног порекла и омогућавају њихову адхезију, раст, пролиферацију;

- биомимични биореакторски систем са имобилисаним ћелијама у макропорозним композитним носачима на бази алгината ће пружити физиолошки релевантно окружење ћелијама за *in vitro* културе;
- 3Д *in vitro* модел ће адекватним смицајним напонима и ефикасним преносом масе подстаћи испољавање карактеристика остеосаркома у погледу синтезе ВѢМ, генске експресије и резистенције на антитуморске лекове.

4. Научне методе истраживања

У раду ће бити коришћене мишје ћелије остеосаркома (ATCC® CRL-2836™) и хумане мезенхимске матичне ћелије. Носачи ћелија са одговарајућом макропорозном структуром ће бити добијени контролисаним гелирањем меша На-алгината и честица хидроксиапатита, а затим лиофилизацијом и рехидратацијом добијеног композитног хидрогела Са- и Ва-алгината. Носачи ће бити структурно окарактерисани мерењем порозности, док ће се за механичку карактеризацију носача након гајења ћелија у проточном биореактору, мерити привидни Јунгови модули употребом универзалне машине за тестирање затезањем, притиском и савијањем узорака. За гајење у физиолошки релевантним условима биће коришћен проточни биореактор „3D Perfuse“ (Иновациони центар ТМФ Београд). Оптичка микроскопија ће бити коришћена за мерење величина пора и анализу хистолошких пресека композитних носача ради испитивања морфологије имобилисаних ћелија. За тест метаболичке активности ћелија ће бити коришћен *Mosmann (MTT)* тест. За испитивање експресије гена од интереса користиће се *Real time-PCR* метода (ланчана реакција полимеразе у реалном времену, енгл. *real time - Polymerase Chain Reaction*). За анализу ВѢМ унутар формираних туморских агрегата користиће се Масон (*Masson*) трихромно бојење, као и метода за селективно бојење ретикулинских влакана. Као контрола користиће се 3Д културе у статичким условима и 2Д културе ћелија у монослоју.

5. Очекивани научни допринос

У оквиру предложене докторске дисертације планиран је развој и карактеризација биомимичног система за 3Д културе ћелија коштаног порекла, првенствено ћелија остеосаркома, што ће дати како научни, тако и практични допринос. По завршетку предложених истраживања могу се очекивати следећи научни доприноси:

- гајење ћелија остеосаркома односно мезенхимских матичних ћелија у биомимичним носачима у проточном биореактору ће довести до нових сазнања о метаболизму и физиологији тих ћелија у 3Д окружењу;
- поређење гајења ћелија остеосаркома у проточном биореактору и у статичким условима пружиће нова сазнања о утицају смицајних напона на карактеристике туморских ћелија;
- поређење гајења ћелија остеосаркома и мезенхимских матичних ћелија у истом 3Д систему који имитира ткиво кости ће омогућити поређење утицаја микрооколине на малигне и матичне ћелије;
- поређење ефикасности познатог антитуморског лека на ћелије у 2Д монослоју и у 3Д биореакторској култури ће омогућити сазнања о механизмима развоја отпорности ћелија остеосаркома на терапеутике у физиолошком окружењу;
- примењени биомимични приступ гајењу ћелија остеосаркома, као и мезенхимских матичних ћелија, 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 практичан допринос у области испитивања малигних ћелија и лечења малигних обољења. Наиме, очекује се да ће развијени биомимични систем подржати културе ћелија остеосаркома у погледу синтезе ВѢМ, генске експресије и резистенције на антитуморске лекове и да ће на тај начин

омогућити даље правце истраживања ових ћелија, као и истраживања развоја остеосаркома. Тиме би овај систем дао могућност и даљег унапређења и усложњавања као нпр. увођења ко-култура ћелија и биоактивних молекула у правцу релевантније имитације сложене структуре и састава тумора. Посебно би овај систем дао допринос фармацији и бржем и поузданијем испитивању антитуморских лекова у терапији остеосаркома. Најзад, развијени биомимични 3Д систем би потенцијално омогућио и гајење малигних ћелија изолованих из пацијената чиме би се омогућио развој персонализованих терапија.

6. План истраживања и структура рада

Истраживања у овој докторској дисертацији су планирана по следећим фазама:

- синтеза и карактеризација макропорозних носача на бази Са- и Ва-алгината и честица ХАП;
- имобилизација ћелија остеосаркома у оптимизоване макропорозне носаче и гајење у проточном биореактору уз статичку културу као контролу;
- имобилизација мезенхимских матичних ћелија у оптимизоване макропорозне носаче и гајење у проточном биореактору уз статичку културу као контролу;
- карактеризација гајених ћелија у погледу дистрибуције у носачима, морфологије, састава и количине ВѢМ и генске експресије;
- примена модел антитуморског лека на ћелије остеосаркома у биомимичном 3Д систему и карактеризација третираних ћелија;
- корелисање кључних параметара (нпр. хидродинамички параметри и параметри преноса масе) у биореакторским културама са испитиваним карактеристикама гајених ћелија остеосаркома, као и мезенхимских матичних ћелија.

Предвиђа се да ће предложена докторска дисертација бити организована по следећим поглављима: *Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултати, Дискусија, Закључак, Литература.*

У поглављу *Увод* биће приказана оправданост теме истраживања у односу на актуелну проблематику и биће дефинисани главни циљеви и предмет истраживања.

Поглавље *Теоријски део* представљаће преглед литературе из области којима припадају истраживања у овој тези. У овом поглављу ће бити описани коштано ткиво и микрооколина коштаних ћелија; патолошко стање кости у виду тумора остеосаркома: основне карактеристике, развој тумора, досадашње методе лечења, недостаци садшњих терапија; концепт инжењерства коштаног ткива и инжењерства тумора остеосаркома; предности 3Д модела за гајење ћелија у односу на ћелијске монослојеве и тестирања на животињама; структура и хемијски састав носача ћелија који се примјењују у инжењерству коштаног ткива, као и за модел остеосаркома; преглед биомимичних биореактора који се користе за гајење ћелија коштаног порекла.

У *Експерименталном делу* ће бити приказане научне методе које су коришћене у експерименталном раду: материјали и хемикалије коришћене у раду; поступак добијања и оптимизација састава макропорозних носача ћелија на бази алгината и честица хидроксиапатита; одређивање механичких карактеристика и порозности носача; сејање ћелија на носаче и оптимизација поступка сејања; гајење ћелија у биомимичним проточним биореакторским системима; методе карактеризација ћелија: тест метаболичке активности, флуоресцентно бојење вијабилних и невијабилних ћелија, скенирајућа електронска микроскопија, хистолошке и имунохистохемијске анализе, анализа генске експресије: изоловање РНК и PCR метода у реалном времену.

У делу *Резултати* ће бити приказани добијени резултати синтезе и примене макропорозних носача за гајење ћелија остеосаркома и мезенхимских матичних ћелија у проточном

биореактору, као и резултати примене антитуморског лека у 3Д култури ћелија остеосаркома. Резултати ће обухватати и анализе контролних култура у статичким условима.

У поглављу *Дискусија* добијени резултати ће бити критички анализирани и продискутовани у поређењу са резултатима објављеним у литератури.

У поглављу *Закључак* ће бити приказани најважнији закључци који су произишли из истраживања у овој докторској дисертацији, затим могућности шире примене биомимичних биореакторских система за гајење ћелија у 3Д окружењу, у фармацеутској индустрији за релевантно испитивање антитуморских лијекова, као и могући даљи правци истраживања.

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 **Biomimetic bioreactor systems as physiologically relevant environments (Биомимични биореакторски системи за обезбеђивање физиолошки релевантне средине)** научно заснована и да кандидат **Ивана Банићевић**, мастер хемијске технологије, испуњава услове за рад на овој докторској тези. 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 прихвати тему и да кандидаткињи Ивана Банићевић одобри израду докторске дисертације под наведеним насловом. За менторе се предлажу др Бојана Обрадовић, редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду (ужа научна област Хемијско инжењерство) и др Мауро Алини, заменик директора, АО Институт Давос, Швајцарска, ванредни професор, Универзитет Мек Гил (McGill University), Монтреал, Канада (ужа научна област Инжењерство ткива и регенеративна медицина).

У Београду, 09.06.2023. г.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

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

Др Јасмина Стојковска, виши научни сарадник
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Милена Миливојевић, научни сарадник
Универзитет у Београду, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство