

Факултет ТЕХНОЛОШКО-
МЕТАЛУРШКИ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/18

Веће научних области техничких наука

(Број захтева)

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

11. 2. 2026.

(Датум)

ЗАХТЕВ

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

Молимо да, сходно чл. 48 ст. 5 тач. 3) Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“ бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

**Иновативно унапређење биомимичног in vitro модела остеосаркома за поуздано
тестирање антитуморских лекова (Enhancement of a biomimetic in vitro osteosarcoma
model for reliable anticancer drug testing)**

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Технолошко инжењерство

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

Марија (Бранко) Павловић

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

Универзитет у Београду,

Технолошко-металуршки факултет, Хемијско инжењерство, Мастер инжењер технологије

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2021.

4. Година уписа на докторске студије: 2022.
-

5. Назив студијског програма
докторских студија: Хемијско инжењерство
-

6. Датум подношења пријаве
теме докторске дисертације: 25. 12. 2025.
-

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

за кандидата Марија Павловић

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. Banicevic, I., Milosevic, M., Petrovic, J., Milivojevic, M., Gasik, M., Stojkovska, J., **Obradovic, B.** (2025). Macroporous alginate scaffolds with calcium phosphate filler as a 3D in vitro microenvironment supporting bone cancer cells, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 1-15. (IF2024=2,6) (ISSN: 0091-4037) (<https://doi.org/10.1080/00914037.2025.2608101>)
2. Menshikh, K., Banicevic, I., **Obradovic, B.**, Rimondini, L. (2024). Biomechanical aspects in bone tumour engineering, Tissue Engineering Part B: Reviews, 30(2): 217-229. (IF2024=4,6) (ISSN: 1937-3368) (<http://doi.org/10.1089/ten.TEB.2023.0106>)
3. Zvicer, J., Milosevic, M., Medic, A., Novak, S., **Obradovic, B.** (2024). Development of novel osteochondral scaffolds and related in vitro environment with the aid of chemical engineering principles. Biomedical Materials, 19(5): 055044. (IF2024=3,7) (ISSN: 1748-6041) (DOI: [10.1088/1748-605X/ad6ac1](https://doi.org/10.1088/1748-605X/ad6ac1))
4. Osmokrovic, A., Jancic, I., Zizak, Z., Milenkovic, M., **Obradovic, B.** (2024). Activated charcoal-alginate platform for simultaneous local delivery of bioactive agents: At the nexus of antimicrobial and cytotoxic activity of Zn²⁺ ions. Gels, 10(11): 724. (IF2024=5,3) (ISSN 2310-2861) (<https://doi.org/10.3390/gels10110724>)
5. Dragoj, M., Stojkovska, J., Stanković, T., Dinić, J., Podolski-Renić, A., **Obradović, B.**, Pešić M. (2021). 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 Sciences, 11(8): 1025. (IF2021=3,333) (ISSN: 2076-3425) (<https://doi.org/10.3390/brainsci11081025>)

ДЕКАНКА ФАКУЛТЕТА

Проф. др Мирјана Кијевчанин

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 2:

за кандидата **Марија Павловић**

Име и презиме ментора: **др Лиа Римондини**

Звање: редовни професор Универзитета Источног Пијемонта „Амедео Авогадро”, Италија

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Menshikh, K., Antonaci, M., Radini, V. Salati, S., Daou, F., Cochis, A., **Rimondini, L.** (2025). Pulsed electromagnetic field stimulation subtly modulates doxorubicin sensitivity in a spheroid co-culture model of osteosarcoma. *Scientific Reports*, 15: 42441. (IF2024=3,9) (ISSN: 2045-2322) (<https://doi.org/10.1038/s41598-025-26524-w>)
2. Menshikh, K., Banicevic, I., Obradovic, B., **Rimondini, L.** (2024). Biomechanical aspects in bone tumour engineering, *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 30(2): 217-229. (IF2024=4,6) (ISSN: 1937-3368) (<http://doi.org/10.1089/ten.TEB.2023.0106>)
3. Daou, F., Masante, B., Gabetti, S., Mochi, F., Putame, G., Zenobi, E., Scatena, E., Dell'Atti, F., Favero, F., Leigheb, M., Del Gaudio, C., Bignardi, C., Massai, D., Cochis, A., **Rimondini, L.** (2024). Unraveling the transcriptome profile of pulsed electromagnetic field stimulation in bone regeneration using a bioreactor-based investigation platform. *Bone*, 182: 117065. (IF2024=3,6) (ISSN 8756-3282) (<https://doi.org/10.1016/j.bone.2024.117065>)
4. Nascimben, M., Abreu, H., Manfredi, M., Cappellano, G., Chiocchetti, A., **Rimondini, L.** (2024). Extracellular vesicle protein expression in doped bioactive glasses: Further insights applying anomaly detection. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6): 3560. (IF2024=4,9) (ISSN: 1422-0067) (<https://doi.org/10.3390/ijms25063560>)
5. Nascimben, M., Lippi, L., de Sire, A., Invernizzi, M., & **Rimondini, L.** (2023). Algorithm-based risk identification in patients with breast cancer-related lymphedema: A cross-sectional study. *Cancers*, 15(2): 336. (IF2023=4,5) (ISSN: 2072-6694) (<https://doi.org/10.3390/cancers15020336>).

ДЕКАНКА ФАКУЛТЕТА

Проф. др Мирјана Кијевчанин

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће

(назив надлежног тела факултета)

на седници одржаној 5. 2. 2026. године размотрило предложену тему и закључило да је

тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

- 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

ДП

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. 33. Правилника о докторским студијама ТМФ-а на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 5. 2. 2026. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Извештаја Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације и одређивању ментора

Прихвата се Извештај Комисије о научној заснованости теме за израду докторске дисертације кандидата **Марије Павловић**, број индекса 2022/4020, под називом: **„Иновативно унапређење биомимичног in vitro модела остеосаркома за поуздано тестирање антитуморских лекова (Enhancement of a biomimetic in vitro osteosarcoma model for reliable anticancer drug testing)”**.

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 Лија Римондини, редовни професор Универзитета Источног Пијемонта „Амедео Авогадро“, Италија.

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

Д Е К А Н К А

Проф. др Мирјана Кијевчанин

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Марије Павловић, мастер инжењера технологије.

Одлуком бр. 2025-35/507 од 25. 12. 2025. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Марије Павловић под насловом Иновативно унапређење биомимичног *in vitro* модела остеосаркома за поуздано тестирање антитуморских лекова (Enhancement of a biomimetic *in vitro* osteosarcoma model for reliable anticancer drug testing).

На основу материјала приложеног уз пријаву теме кандидата, Комисија подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Марија Павловић, мастер инжењер технологије, рођена је 14. јуна 1996. године у Чачку, где је завршила основну школу и гимназију, природно-математички смер, као носилац Вукове дипломе. Основне и мастер академске студије завршила је на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду, на студијском програму Хемијско инжењерство са просечним оценама 9,33 и 10, редом. Током студија била је стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (шк. 2016/17 и 2017/18 г.), као и Фонда за младе таленте Републике Србије (шк. 2018/19 г.). Такође, била је добитница три пута награде Технолошко-металуршког факултета за изузетан успех остварен на редовним студијама „Панта С. Тутунџић“ (шк. 2015/16, 2016/17 и 2017/18 г.). Школске 2022/2023. године уписала је докторске академске студије на матичном факултету, на студијском програму Хемијско инжењерство.

Похађала је 4 међународне летње школе односно радионице:

- *ExcellMater* радионица *Workshop on the routes to clinical utilization of novel biomaterials for medical devices* (ТМФ, Београд, Србија, 28. – 30.09.2022)
- 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);
- Друга *ExcellMater* специјализована школа - *Bioactive hydrogels and hydrogel nanocomposites aimed for wound treatments* (ТМФ, Београд, Србија, 15. – 20.01.2024., призната као семинар на докторским студијама ТМФ, 2 ЕСПБ);
- *TwinPrebioEnz* специјализована школа – Summer school in bioinformatics (ТМФ, Београд, Србија, 19. – 25.06.2025.)

Поред тога, у оквиру реализације пројекта *ExcellMater* учествовала је у краткорочној размени истраживача у Центру за транслациона истраживања аутоимуних болести и алергија (CAAD), Универзитета Источног Пијемонта “Амедео Авогадро” у Новари у Италији од 17. фебруара до 1. марта 2024. г.

Марија Павловић је у звање истраживач приправник изабрана 09. марта 2023. године, а од 15. марта 2025. године, запослена је на Технолошко-металуршком факултету у Београду.

Поред студија и научно-истраживачких активности, Марија Павловић је учествовала у популаризацији и промоцији науке кроз активности везане за промоцију Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду на Међународном сајму технике и техничких достигнућа 2023. г. На међународним конференцијама *ExcellMater 2024* и *YUCOMAT 2025* била је члан техничког одбора. Научни одбор конференције “1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress”, 8.-10. октобра 2025., Београд, је истакао њену презентацију у оквиру 3. награде за најбољи постер. Члан је више стручних удружења: Међународног друштва за инжењерство ткива и регенеративну медицину (TERMIS), Српског друштва истраживача рака (СДИР), Европског удружења за истраживање рака (EACR) и Удружења хемијских инжењера Србије. ORCID: 0009-0004-3055-7413
Говори енглески језик и служи се немачким.

1.2. Сечено научноистраживачко искуство

Марија Павловић је у оквиру докторских академских студија положила све предвиђене испите, као и завршни испит под називом „Евалуација 3Д модела културе ћелија остеосаркома за тестирање антитуморских лекова“, са укупном просечном оценом 9,82.

Списак положених испита на докторским студијама:

Предмет	Оцена	ЕСПБ
Имобилисани биокатализатори: технике имобилизације, биореактори и примена	10	5
Структура стакла и стакластих материјала	10	5
Методе карактеризације керамичких и стакластих материјала	10	5
Виши курс термодинамике	10	6
Феномени преноса у биолошким системима	10	6
Увећање размера процеса	10	5
Математичко програмирање	10	6
Хемијска кинетика	9	6
Инжењерство ткива	9	4
Синтеза, својста и примена биокерамичких материјала	10	5
Завршни испит	10	30
Укупно	9,82	83

Као студент докторских академских студија Марија Павловић је била ангажована на извођењу експерименталних вежби из предмета Увод у хемијско инжењерство школске 2023/2024 и 2024/2025. године. У оквиру научно-истраживачког рада, Марија Павловић учествује у реализацији пројекта Фонда за науку Републике Србије „BioengineeredTumor – Biomimetic tumor engineering to enhance drug discovery“ (бр. уговора 7503, програм ПРИЗМА, 2024-2026). Њена истраживања су усмерена на евалуацију претходно развијеног тродимензионалног (3Д) *in vitro* модела остеосаркома, базираног на примени макропорозног композитног алгинатног хидрогела са честицама хидроксипатита као носача ћелија и проточног биореактора, у испитивању деловања антитуморског лека доксорубина. Истраживања су усмерена на оптимизацију услова гајења и побољшање интеракција ћелија са материјалом, као и на испитивање деловања хемотерапеутика доксорубина у краткорочним и дугорочним студијама. На основу досадашњих резултата ових истраживања припремљени су и презентовани радови на међународним научним скуповима, а у току је припрема научног рада за потенцијалну публикацију у међународном часопису. До сада је из научноистраживачког рада Марије Павловић објављено девет саопштења са међународних скупова штампаних у изводу.

M34 - Саопштење са међународног скупа штампано у изводу

1. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Stojkovska J., Obradović B. (2024). Doxorubicin application in a 3D osteosarcoma cell culture model, *Twenty-second Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering, Belgrade, Serbia, December 4-6, Program and the Book of Abstracts*, 1-2, p. 2. (ISBN 978-86-80321-39-4)
2. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Stojkovska J., Obradović B. (2025). Advancing osteosarcoma research: evaluation of a 3D osteosarcoma model for anticancer drug screening,

- Twenty-sixth annual conference YUCOMAT 2025, Herceg Novi, Montenegro, September 1-5, Book of Abstracts*, P.S.14., p.84. (ISBN: 978-86-919111-8-8) (<https://doi.org/10.5281/zenodo.17213784>)
3. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Janković R., Stojkovska J., Obradović B. (2025). Short- and long-term studies of a 3D osteosarcoma cell culture model for doxorubicin drug screening, *The 1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress, Belgrade, Serbia, October 8-10, Oncology Insights* vol.3, p. 172-173 (ISSN: 3009-3848)
 4. **Pavlović M.**, Stojkovska J., Milivojević M., Safakhah S., Takmaklı S., Ozaydin Ince G., Shahabi Nejad M., Heydari A., Zvicer J. (2025). Two paths to bone regeneration: engineering surface nanostructure vs. compositional mimicry, *16th ECerS Conference for Young Scientists in Ceramics, Novi Sad, Serbia, October 15-18, Book of abstracts*, OP-60, p.98. (ISBN: 978-86-6253-199-5)
 5. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Janković R., Stojkovska J., Obradović. (2025). A 3D osteosarcoma model as a valuable tool for anticancer drug testing, *Twenty-third Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering, Belgrade, Serbia, December 3-5, Program and the Book of Abstracts*, 1-3, p. 3. (ISBN 978-86-80321-40-0)
 6. Obradović B., Banićević I., Petrović J., **Pavlović M.**, Milivojević M., Janković R., Dragoj M., Pešić M., Stojkovska J. (2025). Towards a 3D cell culture platform for anticancer drug testing, *Tissue Engineering Part A, May 20–23, Freiburg, Germany, Abstracts of the TERMIS-EU Congress*, vol. 31, nos. 11–12, p. e796.
 7. Stojkovska J., Petrović J., Banićević I., **Pavlović M.**, Milivojević M., Dragoj M., Janković R., Zvicer J., Obradović B. (2025). Bridging the in vitro–in vivo gap: Tumor engineering for relevant and reliable cancer research, *The 1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress, October 8–10, Belgrade, Serbia, Oncology Insights*, vol. 2025, no. 3, p. 165. (ISSN: 3009-3848)
 8. Stojkovska J., Banićević I., **Pavlović M.**, Milivojević M., Janković R., Obradović B. (2025). Engineered 3D osteosarcoma microenvironment model: Bridging in vitro–in vivo gap in cancer research and anticancer drug screening, *EACR 2025 Congress: Innovative Cancer Science, June 16–19, Lisbon, Portugal, Molecular Oncology*, vol. 19, Suppl. 1, p. 804. (ISSN: 1574-7891) (<https://doi.org/10.1002/1878-0261.70070>)
 9. Pejić J., Bojić L., **Pavlović M.**, Banićević I., Stojkovska J., Milivojević M. (2025). 3D bone-mimetic cell carriers for assessing the effects of 5-fluorouracil and doxorubicin on SAOS2 cells, *The 1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress, October 8–10, Belgrade, Serbia, Oncology Insights*, vol. 2025, no. 3, p. 168-169. (ISSN: 3009-3848)

1.3. Оцена оспособљености кандидата за рад на предложеној теми

У досадашњем раду Марија Павловић је показала мотивисаност за научноистраживачки рад и интересовање за развој 3Д *in vitro* система за гајење ћелија тумора. Показала је вештину у експерименталном раду и аналитичност у обради добијених резултата које је са успехом приказала на више међународних конференција. До сада је објавила 9 саопштења са међународних скупова штампаних у изводу. 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

Тема кандидаткиње Марије Павловић „Иновативно унапређење биомимичног *in vitro* модела остеосаркома за поуздано тестирање антитуморских лекова“ (*Enhancement of a biomimetic in vitro osteosarcoma model for reliable anticancer drug testing*) припада научној области технолошко инжењерство, ужој области хемијско инжењерство. У оквиру ове области, предмет истраживања у овој тези усмерен је на инжењерство тумора, односно на развој система за гајење малигних ћелија у тродимензионалном (3Д) окружењу базираног на примени носача ћелија и проточног биореактора, а за потенцијалну употребу у тестирању антитуморских лекова. При томе су истраживања посебно фокусирана на остеосарком, најчесталији тумор коштаног ткива који највише погађа децу и адолесцените, али се јавља и у старијој популацији. Овај малигни тумор је окарактерисан 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. И поред интензивних истраживања, већ више од две деценије није дошло до значајног побољшања у терапији овог тумора. Један од разлога је спор и захтеван процес развоја

нових антитуморских лекова што се у великој мери може приписати недостацима конвенционалних преклиничких модела за тестирање лекова. Наиме, традиционално коришћене културе ћелија у монослоју односно дводимензионалном (2Д) окружењу, а затим и експериментална испитивања на животињама, имају бројне недостатке. У 2Д културама ћелије су изоловане из ткива и засејане у монослоју у посудама за гајење, тако да им је промењена морфологија и недостају ванћелијски матрикс и биомеханички сигнали. Ћелије су, такође, директно изложене леку који се тестира тако да су резултати добијени у овим културама често лажно позитивни односно показују већу сензитивност ћелија на испитивани лек у односу на малигне туморе *in vivo*. Са друге стране, *in vivo* тестирања на животињама су веома скупа и етички су проблематична јер услед разлика између животињског и људског организма добијени преклинички резултати се у великој мери не могу потврдити у клиничким испитивањима. Стога је препозната потреба за физиолошки релевантним *in vitro* моделима тумора који ће омогућити поузданије закључке од традиционалних преклиничких модела, као и смањење обима испитивања на животињама. Један од приступа у том правцу је примена 3Д носача ћелија и биомимичних биореактора. Наиме, дуго се сматрало да је развој малигнух тумора искључиво последица аутентичних својстава малигнух ћелија. Међутим, савремена истраживања су показала да и микроокружење тумора активно учествује у процесима иницијације, прогресије, и метастазирања тумора па чак и у развоју отпорности на лекове. Стога, 3Д културе малигнух ћелија верније oponaшају микроокружење тумора тако што носачи имитирају ванћелијски матрикс и омогућавају међућелијске и интеракције између ћелија и матрикса док биореактори обезбеђују ефикасан пренос масе и потребне биофизичке сигнале.

У случају остеосаркома, у претходним истраживањима развијени су макропорозни носачи ћелија на бази хидрогела алгината са садржаним честицама хидроксиапатита који имитирају природни двофазни састав и структуру костију. Ови носачи су са успехом примењени за гајење мишићних ћелија остеосаркома у проточном биореактору при чему су ћелије у оквиру краткотрајних студија до 7 дана спонтано формирале агрегате и синтетисале ванћелијски матрикс који је имао одређене карактеристике остеосаркома *in vivo* [1]. Ипак за испитивање антитуморских лекова потребне су дугорочније студије. Уз то, алгинат нема функционалне групе за које би се ћелије везале тако да се показало да формирани ћелијски агрегати имају слабе контакте са носачем и у највећем делу су само физички задржани у порама композитног алгинатног хидрогела.

Циљ ове докторске дисертације је надоградња развијеног 3Д модела остеосаркома на бази макропорозних алгинатних носача са честицама хидроксиапатита и проточног биореактора тако да реалније подражава природну средину тумора и буде применљив у тестирању антитуморских лекова. Конкретно, циљ је увођење неколико иновативних аспеката како би се повећала сложеност микроокружења тумора, чиме би се боље опонашали *in vivo* услови. Ове иновације ће укључити побољшање својстава носача ћелија ради подстицања ћелијске адхезије, интеграцију биомеханичких сигнала који имитирају механичка напрезања у костима и развој кокултура ћелија остеосаркома и преостеобласта, ћелија које се диферентују у остеобласте, кључних за формирање и ремоделовање коштаног матрикса. Кроз ова побољшања, модел ће верније опонашати патолошко окружење остеосаркома и тиме ће потенцијално повећати релевантност за примену у тестирању лекова. Тако да је крајњи циљ ове тезе примена оптимизованог 3Д модела остеосаркома у испитивањима ефеката стандардног модел антитуморског лека имплементираног у клинички релевантном режиму.

Посебни циљеви ове дисертације су:

- побољшање карактеристика површина носача за боље везивање ћелија иновативним поступком депозиције микрочестица хидроксиапатита;
- примена динамичке компресије уз проток медијума у вишекомпонентном биореактору и испитивање утицаја на формирање и карактеристике вишећелијских агрегата;
- успостављање кокултура ћелија остеосаркома са ћелијама преостеобласта и испитивање међусобних интеракција;
- успостављање оптимизованог 3Д модела остеосаркома у дужем временском периоду од 4 до 6 недеља;
- тестирање стандардног модел лека (нпр. доксорубицин, 5-флуороурацил) у 3Д моделу остеосаркома при различитим концентрацијама и режимима примене лека;

- анализа добијених rezultata у погледу вијабилности ћелија и морфолошких карактеристика ћелија и ћелијских агрегата и примена математичког моделовања за корелисање преноса масе лека и утицаја на вијабилност ћелија и величину и расподелу ћелијских агрегата.

У даљем тексту наведен је списак одабране релевантне литературе.

1. Banicevic, I., Milosevic, M., Petrovic, J., Milivojevic, M., Gasik, M., Stojkovska, J., Obradovic, B. (2025). Macroporous alginate scaffolds with calcium phosphate filler as a 3D *in vitro* microenvironment supporting bone cancer cells, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 1-15. (IF=2,6) (ISSN: 0091-4037) (<https://doi.org/10.1080/00914037.2025.2608101>)
2. Tan, L., Zhang, S., Yu, M., Li, H., Wang, J., Wu, Y. (2023). Advances of osteosarcoma models for drug discovery and precision medicine. *Biomolecules*, 13(9), 1362. (IF=4,8) (ISSN: 2218-273X) (<https://doi.org/10.3390/biom13091362>)
3. Esposito, A., Ferraresi, A., Vallino, L., Garavaglia, B., Dhanasekaran, D. N., Isidoro, C. (2024). Three-dimensional *in vitro* cell cultures as a feasible and promising alternative to two dimensional and animal models in cancer research. *International Journal of Biological Sciences*, 20(13), 5293-5311. (IF=10,0) (ISSN: 1449-2288) (<https://doi.org/10.7150/ijbs.96469>)
4. Ottaviani, G., Jaffe, N. (2009). The etiology of osteosarcoma. In N. Jaffe (Ed.), *Osteosarcoma: Cancer Treatment and Research* (Vol. 152, pp. 15–32). Springer. (https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0284-9_2)
5. Schmidt, A. A., Prasad, A., Huisman, A. R., Wakefield, M. R., Fang, Y. (2025). Exploring the tumor microenvironment in osteosarcoma: Driver of resistance and progression. *Cancers*, 17(19), 3106. (IF=4,4) (ISSN: 2072-6694) (<https://doi.org/10.3390/cancers17193106>)
6. Cortini, M., Macchi, F., Reggiani, F., Vitale, E., Lipreri, M. V., Perut, F., Ciarrocchi, A., Baldini, N., Avnet, S. (2023). Endogenous extracellular matrix regulates the response of osteosarcoma 3D spheroids. *Cancers*, 15(4), 1221. (IF=4,4) (ISSN: 2072-6694) (<https://doi.org/10.3390/cancers15041221>)
7. Cui, J., Dean, D., Hornicek, F. J., Chen, Z., Duan, Z. (2020). The role of extracellular matrix in osteosarcoma progression and metastasis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 39(1), 178. (IF=12,8) (ISSN: 1756-9966) (<https://doi.org/10.1186/s13046-020-01685-w>)
8. Puce, A., Ferraresi, V., Biagini, R., Soddu, S., Loria, R. (2025). Three-dimensional preclinical models for osteosarcoma: Advances and translational prospects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 191, Article 118471. (IF=7,5) (ISSN: 0753-3322) (<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118471>)
9. Munoz-Garcia, J., Pérez-Lorenzo, A., Scheideler, M. (2021). In vitro three-dimensional cell cultures for bone sarcomas. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9504. (IF=4,9) (ISSN: 1422-0067) (<https://doi.org/10.3390/ijms22179504>)
10. Rodrigues, J., Sarmento, B., Pereira, C. L. (2022). Osteosarcoma tumor microenvironment: the key for the successful development of biologically relevant 3D *in vitro* models. *In Vitro Models*, 1, 5–27. (IF=2,4) (ISSN: 2731-3441) (<https://doi.org/10.1007/s44164-022-00008-x>)
11. Madaiah, P. M., Ghosh, R. N., Namboothiri, P. K., Peter, M. (2025). Advancement in scaffold-based 3D cell culture models for osteosarcoma drug screening. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. (IF=5,5) (ISSN: 2373-9878) (<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5c01174>)
12. Xu, X., Farach-Carson, M. C., Jia, X. (2014). Three-dimensional *in vitro* tumor models for cancer research and drug evaluation. *Biotechnology Advances*, 32(7), 1256–1268. (IF=12,5) (ISSN: 0734-9750) (<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.009>)
13. Degerstedt, O., O'Callaghan, P., Lerma Clavero, A., Gråsjö, J., Eriksson, O., Sjögren, E., Hansson, P., Heindryckx, F., Kreuger, J., Lennernäs, H. (2024). Quantitative imaging of doxorubicin diffusion and cellular uptake in biomimetic gels with human liver tumor cells. *Drug Delivery and Translational Research*, 14, 970–983. (IF=5,5) (ISSN: 2190-393X) (<https://doi.org/10.1007/s13346-023-01445-1>)
14. Degerstedt, O., Gråsjö, J., Norberg, A., Sjögren, E., Hansson, P., Lennernäs, H. (2022). Drug diffusion in biomimetic hydrogels: Importance for drug transport and delivery in non-vascular tumor tissue. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 172, 106150. (IF=4,7) (ISSN: 0928-0987) (<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106150>)
15. Eliaz, R. E., Nir, S., Marty, C., Szoka, F. C., Jr. (2004). Determination and modeling of kinetics of cancer cell killing by doxorubicin and doxorubicin encapsulated in targeted liposomes. *Cancer*

3. Полазне хипотезе

У оквиру ове докторске дисертације, предложена истраживања полазе од хипотезе да се надоградњом 3Д *in vitro* модела за гајење ћелија остеосаркома могу постићи услови у микроокружењу ћелија који реално опонашају кључне параметре овог тумора *in vivo* што ће омогућити добијање поузданих резултата тестирања антитуморских лекова.

При томе се полази од следећих претпоставки.

- Иновативним поступком депозиције микрочестица хидроксиапатита могуће је добити макропорозне алгинатне носаче ћелија са модификованом површином за коју ће се ћелије остеосаркома боље везивати што ће даље утицати на карактеристике формираних ћелијских агрегата и омогућити изучавање интеракција ћелија односно ћелијских агрегата са површином носача као вештачким ванћелијским матриксом који имитира матрикс ткива кости.
- Увођењем динамичке компресије у 3Д модел остеосаркома могу се успешно имитирати одређена физиолошка напрезања у ткиву кости што ће даље омогућити испитивање утицаја тих биофизичких сигнала на формирање и карактеристике ћелијских агрегата, као и на потенцијални развој резистентности на лекове.
- Могуће је успоставити кокултуре ћелија остеосаркома и преостеобласта у 3Д систему које ће опонашати одређене аспекте интеракција тумора остеосаркома са околним здравим ткивом кости.
- Оптимизовани 3Д модел остеосаркома ће бити погодан за тестирање антитуморских лекова у различитим режимима релевантним за клиничке терапије пружајући поуздане резултате упоредиве са подацима из клиничке праксе.

4. Научне методе истраживања

Унапређени 3Д модел културе ћелија остеосаркома, заснован на примени макропорозних композитних алгинатних носача са честицама хидроксиапатита и проточног биореактора, биће коришћен за гајење ћелијских линија остеосаркома миша (K7M2-wt, ATCC® CRL-2836™), и мишјих преостеобласта (MC3T3-E1 Subclone 14, ATCC® CRL-2594™). Број ћелија засејаних на носаче биће одређиван методом трипан плавог коришћењем хемоцитометра и инвертног оптичког микроскопа. Носачи са засејаним ћелијама ће се гајити у проточном биореактору “3D Perfuse” (Иновациони центар Технолошко-металуршког факултета, Београд). Третман антитуморским лековима вршиће се применом различитих концентрација стандардних антитуморских лекова, попут доксорубицина и 5-флуороурацила, у краткорочним и дугорочним експериментима. Метаболичка активност ћелија процењиваће се применом *Mosmann (MTT)* теста. Морфологија ћелија након гајења у 3Д моделу и третмана лековима биће испитивана хистолошким анализама (нпр. хематоксилин-еозин (H&E) бојење, Масон (*Masson*) трихромно бојење, селективно бојење ретикулинских влакана), скенирајућом електронском микроскопијом и флуоресцентним бојењем ћелија. Формирање и величина сфероида биће анализирани мерењем њихових димензија на хистолошким пресецима. Морфолошка анализа биће спроведена коришћењем програмских пакета *ImageJ* и *Aperio ImageScope*. За решавање математичких модела којима ће се описивати пренос масе, потрошња лека и одумирање ћелија унутар носача и ћелијских агрегата биће коришћени софтверски пакети *MatLab* и *Python*.

5. Очекивани научни допринос

Ова теза се фокусира на иновирање претходно развијеног 3Д модела културе ћелија остеосаркома заснованог на примени макропорозних композитних алгинатних носача ћелија са честицама хидроксиапатита и проточног биореактора са циљем реалнијег подражавања *in vivo* средине тумора ради примене за тестирање антитуморских лекова. При томе, ће се иновације односити на побољшање карактеристика површина алгинатног носача за јаче везивање засејаних ћелија, примену

динамичке компресије у току гајења ћелија и успостављање кокултура ћелија остеосаркома и преостеобласта за успешније опонашање природне *in vivo* средине тумора кости. Иновирани 3Д модел ће затим бити примењен у краткорочним и дугорочним испитивањима дејства стандардног антитуморског лека. Из ових иновација и истраживања, очекује се да теза пружи следеће научне доприносе:

- дефинисање утицаја карактеристика површине на формирање и морфологију ћелијских агрегата;
- нова сазнања о утицају динамичке компресије на ћелије остеосаркома у погледу формирања ћелијских агрегата и развоја отпорности на антитуморске лекове;
- нова сазнања о интеракцијама малигних и здравих ћелија кроз проучавање кокултура ћелија остеосаркома и преостеобласта у 3Д моделу;
- корелисање концентрације и режима примене лека на преживљавање појединачних, као и ћелија у агрегатима;
- нови увиди у дејство антитуморског лека на ћелије у 3Д култури развојем и применом математичких модела преноса лека унутар носача и унутар ћелијских агрегата који ће укључити потрошњу лека и преживљавање односно смрт ћелија и предвиђање величина и дистрибуције агрегата.

Поред ових научних доприноса очекује се да докторска дисертација да и значајан *практичан допринос* у виду оптимизованог 3Д модела остеосаркома који ће бити применљив у фармацеутској индустрији за тестирање антитуморских лекова. Наиме, у овој дисертацији ће бити корелисано више параметара 3Д модела као што су карактеристике површине, динамичка напрезања и интеракције са ћелијама коштаног ткива, са карактеристикама насталих ћелијских агрегата, и то посебно у погледу развоја резистентности на лекове. Поред тога, биће анализирани ефекти краткорочних и дугорочних студија примене модел лека. На тај начин, очекује се да добијени резултати пруже широку основу за развој специфично прилагођених 3Д система за одређене фармацеутске намене као што су брзи тестови активних фармацеутских супстанци или преклиничка евалуација формулација лекова – кандидата у клинички релевантном режиму.

6. План истраживања и структура рада

Истраживања у овој докторској дисертацији су планирана по следећим фазама:

- валидација претходно развијеног 3Д модела културе ћелија остеосаркома за дугорочно гајење ћелија (до 28 дана);
- испитивање могућности наношења микрочестица хидроксиапатита на унутрашње површине макропорозног алгинатног хидрогела, а затим и гајења ћелија остеосаркома у модификованим носачима;
- примена динамичке компресије на ћелије остеосаркома засејане на макропорозне алгинатне носаче са садржаним односно нанетим честицама хидроксиапатита и одређивање утицаја измењене површине на задржавање ћелија унутар носача, као и одређивање утицаја динамичке компресије на вијабилност ћелија и формирање ћелијских агрегата;
- примена модел антитуморског лека при различитим концентрацијама и у различитим режимима на 3Д моделе остеосаркома са и без динамичке компресије у краткорочним (до 7 дана) и дугорочним студијама (4 до 6 недеља);
- развој и премена математичких модела за предвиђање преноса масе лека унутар носача, као и унутар ћелијских агрегата уз укључивање чланова потрошње лека и одумирања ћелија и предвиђање смањивања величине агрегата;
- успостављање кокултуре ћелија остеосаркома и преостеобласта у макропорозним алгинатним носачима са честицама хидроксиапатита и оптимизација у погледу концентрације и начина сејања ћелија и састава и површинске брзине хранљивог медијума;
- одређивање међусобног утицаја ћелија остеосаркома и преостеобласта у оптимизованом 3Д моделу кокултуре и потенцијална примена модел антитуморског лека у краткорочним студијама.

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 ћелија остеосаркома и испитивања антитуморских лекова са посебним фокусом на биомимични приступ гајењу ћелија у 3Д окружењу применом носача ћелија и биореактора. 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 праћени критичком дискусијом у односу на литературне податке. Посебно ће бити оцењена применљивост нове методологије наношења микрочестица хидроксиапатита и побољшања карактеристика носача ћелија. Такође, резултати дејства антитуморских лекова у биореакторском систему ће бити анализирани у односу на резултате добијене у клиничкој пракси објављене у литератури. Посебно ће бити развијени и примењени математички модели преноса масе и дејства лека на ћелије и агрегате ради добијања увида у механизме резистенције ћелија. 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 Иновативно унапређење биомимичног *in vitro* модела остеосаркома за поуздано тестирање антитуморских лекова (Enhancement of a biomimetic *in vitro* osteosarcoma model for reliable anticancer drug testing) научно заснована и да кандидат Марија Павловић, мастер инжењер 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 Марији Павловић 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 Лија Римондини, редовни професор Универзитета Источног Пијемонта „Амедео Авогадро“ на Департману за здравствене науке (ужа научна област Инжењерство ткива и регенеративна медицина).

У Београду, 23. јануар 2026. године

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 Бранислав Тодић, доцент
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

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

ACADEMIC COUNCIL

Subject: Assessment report on the scientific basis of the doctoral dissertation topic for candidate Marija Pavlović, MSc in Chemical Engineering

By Decision No. 2025-35/507 of December 25, 2025, we were appointed members of the Committee for the assessment of the scientific basis of the doctoral dissertation topic of candidate Marija Pavlović titled Enhancement of a biomimetic in vitro osteosarcoma model for reliable anticancer drug testing (Иновативно унапређење биомимичног *in vitro* модела остеосаркома за поуздано тестирање антитуморских лекова).

After evaluating the materials accompanying the candidate's dissertation topic proposal, the Committee issues the following

REPORT

1. Information on the candidate

1.1. Biographical information

Marija Pavlović, Master in Chemical Engineering, was born on June 14, 1996 in Čačak, where she completed both elementary and high school, majoring in natural sciences and mathematics and graduating as a recipient of the "Vuk Karadžić Award." She completed her undergraduate and master's academic studies at the Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, in the study program Chemical Engineering with average grades of 9.33 and 10, respectively. During her studies, she received scholarships from the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (academic years 2016/17 and 2017/18), as well as from the Young Talents Fund of the Republic of Serbia (academic year 2018/19). She received three times the "Panta S. Tutundžić" Award for outstanding academic performance from the Faculty of Technology and Metallurgy (academic years 2015/16, 2016/17 and 2017/18). She enrolled in the doctoral academic study program in Chemical Engineering at the Faculty of Technology and Metallurgy in Belgrade in the academic year 2022/2023.

She attended 4 international summer schools or workshops:

- *ExcellMatter* Workshop on the routes to clinical utilization of novel biomaterials for medical devices (Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia, 28. – 30.09.2022)
- The first *ExcellMater* specialized school - School on biomaterials aimed for dental and orthopedic applications (Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia, 31.10. – 05.11. 2023., recognized as a seminar in the doctoral studies at the Faculty of Technology and Metallurgy, 2 ESPB);
- Second *ExcellMater* specialized school - Bioactive hydrogels and hydrogel nanocomposites aimed for wound treatments (Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia, 15. – 20.01.2024, recognized as a seminar in the doctoral studies at the Faculty of Technology and Metallurgy, 2 ESPB);
- *TwinPrebioEnz* specialized school – Summer school in bioinformatics (Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia, 19. – 25.06.2025.)

In addition, she spent two weeks as a visiting researcher at the Center for Translational Research in Autoimmune Diseases and Allergies (CAAD), University of Eastern Piedmont "Amedeo Avogadro" in Novara, Italy, from February 17 to March 1, 2024, within the *ExcellMater* project.

Marija Pavlović received the title of Junior Research Assistant on March 9, 2023, and has been employed in this capacity at the Faculty of Technology and Metallurgy in Belgrade since March 15, 2025.

In addition to her studies and scientific research activities, Marija Pavlović has participated in the popularization and promotion of science, in particular within the promotion of the Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade at the International Fair of Technology and Technical Achievements in 2023. She was a member of the technical committee at the international conferences ExcellMater 2024 and YUCOMAT 2025. The scientific committee of the “1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress”, 8-10 October 2025, Belgrade, highlighted her presentation as part of the 3rd prize for the best poster. She is a member of several professional associations: the International Society for Tissue Engineering and Regenerative Medicine (TERMIS), the Serbian Society of Cancer Researchers (SDIR), the European Association for Cancer Research (EACR) and the Association of Chemical Engineers of Serbia. ORCID: 0009-0004-3055-7413 She speaks English and uses German.

1.2. Scientific research experience

Marija Pavlović passed all the required exams as part of her doctoral academic studies, as well as the final exam titled "Evaluation of 3D osteosarcoma cell culture models for testing antitumor drugs", with an overall average grade of 9.82.

List of passed exams in doctoral studies:

Course	Grade	ECTS
Immobilized biocatalysts: immobilization techniques, bioreactors and applications	10	5
Structures of glass and glassy materials	10	5
Characterization methods of ceramic and glass materials	10	5
Advanced chemical engineering thermodynamics	10	6
Transport Phenomena in Biological Systems	10	6
Scale-up in Chemical Engineering	10	5
Mathematical programming	10	6
Chemical kinetics	9	6
Tissue Engineering	9	4
Synthesis, properties and application of bioceramic materials	10	5
Final exam	10	30
In total	9.82	83

As a doctoral student, Marija Pavlović was engaged in conducting experimental classes in the course Introduction to Chemical Engineering in the academic years 2023/2024 and 2024/2025. Within the framework of her scientific research work, Marija Pavlović participates in the implementation of the project "BioengineeredTumor - Biomimetic tumor engineering to enhance drug discovery" (no. 7503, PRIZMA program, 2024-2026) funded by the Science Fund of the Republic of Serbia. Her research is focused on the evaluation of a previously developed three-dimensional (3D) *in vitro* model of osteosarcoma, based on the use of a macroporous composite alginate hydrogel with hydroxyapatite particles as a cell carrier and a perfusion bioreactor, in testing the effects of the antitumor drug doxorubicin. The research is aimed at optimizing culture conditions and improving cell-material interactions, as well as examining the effects of the chemotherapeutic drug doxorubicin in short-term and long-term studies. Based on the results obtained so far, findings have been presented at international scientific conferences, and a manuscript is currently being prepared for potential publication in an international journal. To date, nine abstracts authored by Marija Pavlović have been published in international conference books of abstracts.

M34 - International conference presentations published as abstracts

1. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Stojkovska J., Obradović B. (2024). Doxorubicin application in a 3D osteosarcoma cell culture model, Twenty-second Young Researchers' Conference

- Materials Science and Engineering, Belgrade, Serbia, December 4-6, Program and the Book of Abstracts, 1-2, p. 2. (ISBN 978-86-80321-39-4)
- 2. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Stojkovska J., Obradović B. (2025). Advancing osteosarcoma research: evaluation of a 3D osteosarcoma model for anticancer drug screening, Twenty-sixth annual conference YUCOMAT 2025, Herceg Novi, Montenegro, September 1-5, Book of Abstracts, PS14., p.84. (ISBN: 978-86-919111-8-8) (<https://doi.org/10.5281/zenodo.17213784>)
- 3. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Janković R., Stojkovska J., Obradović B. (2025). Short- and long-term studies of a 3D osteosarcoma cell culture model for doxorubicin drug screening, The 1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress, Belgrade, Serbia, October 8-10, Oncology Insights vol.3, p. 172-173 (ISSN: 3009-3848)
- 4. **Pavlović M.**, Stojkovska J., Milivojević M., Safakhah S., Takmaklı S., Ozaydin Ince G., Shahabi Nejad M., Heydari A., Zvicer J. (2025). Two paths to bone regeneration: engineering surface nanostructure vs. compositional mimicry, 16th ECerS Conference for Young Scientists in Ceramics, Novi Sad, Serbia, October 15-18, Book of abstracts, OP-60, p.98. (ISBN: 978-86-6253-199-5)
- 5. **Pavlović M.**, Banićević I., Milivojević M., Janković R., Stojkovska J., Obradović. (2025). A 3D osteosarcoma model as a valuable tool for anticancer drug testing, Twenty-third Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering, Belgrade, Serbia, December 3-5, Program and the Book of Abstracts, 1-3, p. 3. (ISBN 978-86-80321-40-0)
- 6. Obradović B., Banićević I., Petrović J., **Pavlović M.**, Milivojević M., Janković R., Dragoj M., Pešić M., Stojkovska J. (2025). Towards a 3D cell culture platform for anticancer drug testing, Tissue Engineering Part A, May 20–23, Freiburg, Germany, Abstracts of the TERMIS-EU Congress, vol. 31, nos. 11–12, p. e796.
- 7. Stojkovska J., Petrović J., Banićević I., **Pavlović M.**, Milivojević M., Dragoj M., Janković R., Zvicer J., Obradović B. (2025). Bridging the in vitro–in vivo gap: Tumor engineering for relevant and reliable cancer research, The 1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress, October 8–10, Belgrade, Serbia, Oncology Insights, vol. 2025, no. 3, p. 165. (ISSN: 3009-3848)
- 8. Stojkovska J., Banićević I., **Pavlović M.**, Milivojević M., Janković R., Obradović B. (2025). Engineered 3D osteosarcoma microenvironment model: Bridging in vitro–in vivo gap in cancer research and anticancer drug screening, EACR 2025 Congress: Innovative Cancer Science, June 16–19, Lisbon, Portugal, Molecular Oncology, vol. 19, Suppl. 1, p. 804. (ISSN: 1574-7891) (<https://doi.org/10.1002/1878-0261.70070>)
- 9. Pejić J., Bojić L., **Pavlović M.**, Banićević I., Stojkovska J., Milivojević M. (2025). 3D bone-mimetic cell carriers for assessing the effects of 5-fluorouracil and doxorubicin on SAOS2 cells, The 1st Regional SDIR-HDIR-MOKAD Congress, October 8–10, Belgrade, Serbia, Oncology Insights, vol. 2025, no. 3, p. 168-169. (ISSN: 3009-3848)

1.3. Assessment of the candidate's ability to work on the proposed topic

Marija Pavlović has shown so far high motivation for scientific research and interest in the development of 3D *in vitro* systems for cultivating tumor cells. She has demonstrated strong experimental and analytical abilities, and has successfully presented her research findings at several international conferences. Until now, she has published nine international conference presentations as abstracts. In view of her prior work, achievements, and proven interest and ability, the Committee believes that the candidate meets the requirements to pursue the proposed doctoral dissertation topic.

2. Subject and objectives of the research

The doctoral dissertation topic "Enhancement of a biomimetic *in vitro* osteosarcoma model for reliable anticancer drug testing" (Иновативно унапређење биомимичног *in vitro* модела остеосаркома за поуздано тестирање антитуморских лекова) of Marija Pavlović belongs to the scientific field of technological engineering, the narrow field of chemical engineering. Within this field, the subject of research in this thesis is focused on tumor engineering, i.e. on the development of a system for cultivating malignant cells in a three-dimensional (3D) environment based on the use of cell carriers and a perfusion bioreactor, for potential application in antitumor drug testing. In this regard, research is particularly focused on osteosarcoma, the most common bone tumor that most often affects children and adolescents, but also occurs in the elderly population. This malignant tumor is characterized as an insidious and aggressive tumor with a generally poor prognosis in the case of metastasis. It most often occurs in areas of bone growth, while the processes of tumor initiation and

further progression are still not sufficiently known. Despite intensive research, only minimal improvements have been made in the therapy of this tumor over the past two decades. One reason is the slow and demanding process of developing new antitumor drugs, which can be largely attributed to the shortcomings of conventional preclinical drug testing models. Namely, the traditionally used cell cultures in a monolayer, in a two-dimensional (2D) environment, and then experimental animal studies, have numerous shortcomings. In 2D cultures, cells are isolated from tissue and seeded in a monolayer in culture dishes, so that their morphology is altered and they lack extracellular matrix and biomechanical signals. The cells are also directly exposed to the drug being tested, so the results obtained in these cultures are often false positives, *i.e.* they show a higher sensitivity of the cells to the test drug compared to malignant tumors *in vivo*. On the other hand, *in vivo* animal testing is very expensive and ethically problematic because, due to the species differences, the obtained preclinical results often fail to translate successfully to clinical trials. Therefore, there has been a recognized need for physiologically relevant *in vitro* tumor models that can provide more reliable data than traditional preclinical models and also minimize the need for animal testing. One approach in this direction is the application of 3D cell carriers and biomimetic bioreactors. Namely, it was long believed that the development of malignant tumors is exclusively a consequence of the authentic properties of malignant cells. However, modern research has shown that the tumor microenvironment also actively participates in the processes of tumor initiation, progression, and metastasis, and even in the development of drug resistance. Therefore, 3D cultures of malignant cells more closely mimic the tumor microenvironment by using scaffolds that mimic the extracellular matrix and support intercellular and cell-matrix interactions, while bioreactors ensure efficient mass transfer and provide essential biophysical cues.

The candidate's thesis research builds upon previous studies of osteosarcoma cell culture models that developed macroporous cell carriers based on alginate hydrogels with hydroxyapatite particles to replicate the natural biphasic composition and structure of bone. These carriers have been successfully used to culture murine osteosarcoma cells in a perfusion bioreactor, where in short-term studies up to 7 days, the cells spontaneously formed aggregates and synthesized extracellular matrix that had certain characteristics of osteosarcoma *in vivo* [1]. However, longer-term studies are needed for testing antitumor drugs. In addition, alginate does not have functional groups to which cells would bind, so it was shown that the formed cell aggregates have weak contacts with the carrier and are mostly only physically retained in the pores of the composite alginate hydrogel.

The aim of this doctoral dissertation is to upgrade the developed 3D osteosarcoma model based on macroporous alginate carriers with hydroxyapatite particles and a perfusion bioreactor so that it more closely replicates the natural tumor environment and can be effectively used for antitumor drug testing. Specifically, the goal is to introduce several innovative aspects to increase the complexity of the tumor microenvironment, thereby better mimicking *in vivo* conditions. These innovations will include improving the properties of the cell carrier to promote cell adhesion, integrating biomechanical signals that mimic mechanical stresses in bone, and developing cocultures of osteosarcoma cells and preosteoblasts, cells that differentiate into osteoblasts and are crucial for the formation and remodeling of bone matrix. Through these improvements, the model will more closely mimic the pathological environment of osteosarcoma and thus potentially increase its relevance for application in drug testing. Thus, the ultimate goal of this thesis is the application of the optimized 3D osteosarcoma model in studies of the effects of a standard model antitumor drug implemented in a clinically relevant regimen.

The specific objectives of this dissertation are:

- improving the characteristics of carrier surfaces for better cell attachment through an innovative process of hydroxyapatite microparticle deposition;
- application of dynamic compression with medium flow in a multicomponent bioreactor and examination of the impacts on the formation and characteristics of multicellular aggregates;
- establishing cocultures of osteosarcoma cells with preosteoblasts and examining their interactions;
- establishment of an optimized 3D model of osteosarcoma over a longer period of time of 4 to 6 weeks;
- testing a standard model drug (e.g. doxorubicin, 5-fluorouracil) in a 3D osteosarcoma model at different concentrations and drug administration regimens;
- analysis of the obtained results in terms of cell viability and morphological characteristics of cells and cell aggregates and application of mathematical modeling to correlate drug mass transfer and the effect on cell viability and the size and distribution of cell aggregates.

Below is a list of selected relevant literature.

1. Banicevic, I., Milosevic, M., Petrovic, J., Milivojevic, M., Gasik, M., Stojkovska, J., Obradovic, B. (2025). Macroporous alginate scaffolds with calcium phosphate filler as a 3D in vitro microenvironment supporting bone cancer cells, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 1-15. (IF=2.6) (ISSN: 0091-4037) (<https://doi.org/10.1080/00914037.2025.2608101>)
2. Tan, L., Zhang, S., Yu, M., Li, H., Wang, J., Wu, Y. (2023). Advances of osteosarcoma models for drug discovery and precision medicine. *Biomolecules*, 13(9), 1362. (IF=4.8) (ISSN: 2218-273X) (<https://doi.org/10.3390/biom13091362>)
3. Esposito, A., Ferraresi, A., Vallino, L., Garavaglia, B., Dhanasekaran, DN, Isidoro, C. (2024). Three-dimensional in vitro cell cultures as a feasible and promising alternative to two-dimensional and animal models in cancer research. *International Journal of Biological Sciences*, 20(13), 5293-5311. (IF=10.0) (ISSN: 1449-2288) (<https://doi.org/10.7150/ijbs.96469>)
4. Ottaviani, G., Jaffe, N. (2009). The etiology of osteosarcoma. In N. Jaffe (Ed.), *Osteosarcoma: Cancer Treatment and Research* (Vol. 152, pp. 15–32). Springer. (https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0284-9_2)
5. Schmidt, AA, Prasad, A., Huisman, AR, Wakefield, MR, Fang, Y. (2025). Exploring the tumor microenvironment in osteosarcoma: Driver of resistance and progression. *Cancers*, 17(19), 3106. (IF=4.4) (ISSN: 2072-6694) (<https://doi.org/10.3390/cancers17193106>)
6. Cortini, M., Macchi, F., Reggiani, F., Vitale, E., Lipreri, MV, Perut, F., Ciarrocchi, A., Baldini, N., Avnet, S. (2023). Endogenous extracellular matrix regulates the response of osteosarcoma 3D spheroids. *Cancers*, 15(4), 1221. (IF=4.4) (ISSN: 2072-6694) (<https://doi.org/10.3390/cancers15041221>)
7. Cui, J., Dean, D., Hornicek, FJ, Chen, Z., Duan, Z. (2020). The role of extracellular matrix in osteosarcoma progression and metastasis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 39(1), 178. (IF=12.8) (ISSN: 1756-9966) (<https://doi.org/10.1186/s13046-020-01685-w>)
8. Puce, A., Ferraresi, V., Biagini, R., Soddu, S., Loria, R. (2025). Three-dimensional preclinical models for osteosarcoma: Advances and translational prospects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 191, Article 118471. (IF=7.5) (ISSN: 0753-3322) (<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118471>)
9. Munoz-Garcia, J., Pérez-Lorenzo, A., Scheideler, M. (2021). In vitro three-dimensional cell cultures for bone sarcomas. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9504. (IF=4.9) (ISSN: 1422-0067) (<https://doi.org/10.3390/ijms22179504>)
10. Rodrigues, J., Sarmento, B., Pereira, CL (2022). Osteosarcoma tumor microenvironment: the key for the successful development of biologically relevant 3D in vitro models. *In Vitro Models*, 1, 5–27. (IF=2.4) (ISSN: 2731-3441) (<https://doi.org/10.1007/s44164-022-00008-x>)
11. Madaiah, PM, Ghosh, RN, Namboothiri, PK, Peter, M. (2025). Advancement in scaffold-based 3D cell culture models for osteosarcoma drug screening. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. (IF=5.5) (ISSN: 2373-9878) (<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5c01174>)
12. Xu, X., Farach-Carson, MC, Jia, X. (2014). Three-dimensional in vitro tumor models for cancer research and drug evaluation. *Biotechnology Advances*, 32(7), 1256–1268. (IF=12.5) (ISSN: 0734-9750) (<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.009>)
13. Degerstedt, O., O'Callaghan, P., Lerma Clavero, A., Gråsjö, J., Eriksson, O., Sjögren, E., Hansson, P., Heindryckx, F., Kreuger, J., Lennernäs, H. (2024). Quantitative imaging of doxorubicin diffusion and cellular uptake in biomimetic gels with human liver tumor cells. *Drug Delivery and Translational Research*, 14, 970–983. (IF=5.5) (ISSN: 2190-393X) (<https://doi.org/10.1007/s13346-023-01445-1>)
14. Degerstedt, O., Gråsjö, J., Norberg, A., Sjögren, E., Hansson, P., Lennernäs, H. (2022). Drug diffusion in biomimetic hydrogels: Importance for drug transport and delivery in non-vascular tumor tissue. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 172, 106150. (IF=4.7) (ISSN: 0928-0987) (<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106150>)
15. Eliaz, RE, Nir, S., Marty, C., Szoka, FC, Jr. (2004). Determination and modeling of kinetics of cancer cell killing by doxorubicin and doxorubicin encapsulated in targeted liposomes. *Cancer Research*, 64(2), 711–718. (IF=16.6) (ISSN: 0008-5472) (<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-0654>)

3. Initial hypotheses

In this doctoral dissertation, the proposed research is based on the hypothesis that upgrading the 3D *in vitro* model for culturing osteosarcoma cells will create a cell microenvironment that realistically mimics the key parameters of this tumor *in vivo*, thereby enabling reliable results in antitumor drug testing.

This is based on the following assumptions.

- By using an innovative method to deposit hydroxyapatite microparticles, it is possible to create macroporous alginate cell carriers with modified surfaces that promote better attachment of osteosarcoma cells. This improved cell adhesion will influence the properties of the resulting cell aggregates and enable the studies of interactions of the cells (or aggregates) with the carrier surface, which serves as an artificial extracellular matrix mimicking bone tissue.
- By introducing dynamic compression into a 3D model of osteosarcoma, certain physiological stresses in bone tissue can be successfully mimicked, which will further enable the investigation of the impact of these biophysical signals on the formation and characteristics of cell aggregates, as well as on the potential development of drug resistance.
- It is possible to establish cocultures of osteosarcoma cells and preosteoblasts in a 3D system that will mimic certain aspects of the interactions of osteosarcoma tumors with surrounding healthy bone tissue.
- The optimized 3D model of osteosarcoma will be suitable for testing antitumor drugs in clinically relevant regimens, providing reliable results comparable to data from clinical practice.

4. Scientific methods

An improved 3D osteosarcoma cell culture model, based on the use of macroporous composite alginate carriers with hydroxyapatite particles and a perfusion bioreactor, will be utilized to culture murine osteosarcoma (K7M2-wt, ATCC® CRL-2836™), and preosteoblast (MC3T3-E1 Subclone 14, ATCC® CRL-2594™) cell lines. The number of cells seeded on the supports will be determined by the trypan blue method using a hemocytometer and an inverted optical microscope. The carriers with seeded cells will be cultured in a perfusion bioreactor “3D Perfuse” (Innovation Center of the Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade). Antitumor drug treatment will be performed using different concentrations of standard antitumor drugs, such as doxorubicin and 5-fluorouracil, in short-term and long-term experiments. Cell metabolic activity will be assessed using the Mosmann (MTT) assay. Cell morphology after culture in the 3D model and drug treatment will be examined by histological analyses (*e.g.* hematoxylin-eosin (H&E) staining, Masson's trichrome staining, selective reticulin fiber staining), scanning electron microscopy, and fluorescent cell staining. Spheroid formation and size will be analyzed by measuring their dimensions on histological sections. Morphological analysis will be performed using the ImageJ and Aperio ImageScope software packages. The MatLab and Python software packages will be used to solve mathematical models that will describe mass transfer, drug consumption, and cell death within carriers and cell aggregates.

5. Expected scientific contribution

This thesis focuses on advancing a previously developed 3D osteosarcoma cell culture model, which uses macroporous composite alginate scaffolds with hydroxyapatite particles and a perfusion bioreactor, with the aim of more accurately mimicking the *in vivo* tumor environment for antitumor drug testing. These innovations will include improving the surface characteristics of the alginate support to enhance cell attachment, applying dynamic compression during cell cultivation, and establishing cocultures of osteosarcoma cells and preosteoblasts to better mimic the natural *in vivo* bone tumor environment. The innovated 3D model will then be applied in short-term and long-term studies of the effects of a standard antitumor drug. From these innovations and research, the thesis is expected to provide the following scientific contributions:

- defining the influence of surface characteristics on the formation and morphology of cell aggregates;
- new knowledge about the impact of dynamic compression on osteosarcoma cells in terms of the formation of cell aggregates and the development of resistance to antitumor drugs;
- new insights into the interactions of malignant and healthy cells through the study of cocultures of osteosarcoma and preosteoblast cells in a 3D model;

- correlation of drug concentration and administration regimen on the survival of individual cells as well as cells in aggregates;
- new insights into the effect of an antitumor drug on cells in 3D culture by developing and applying mathematical models of drug transport within carriers and within cell aggregates that will include drug consumption, cell survival or death and prediction of aggregate size and distribution.

In addition to these scientific contributions, the doctoral dissertation is expected to make a significant practical contribution in the form of an optimized 3D model of osteosarcoma that will be applicable in the pharmaceutical industry for testing antitumor drugs. Namely, in this dissertation, several parameters of the 3D model, such as surface characteristics, dynamic stresses and interactions with bone tissue cells, will be correlated with the characteristics of the resulting cell aggregates, especially with regard to the development of drug resistance. In addition, the effects of short-term and long-term studies of the drug model application will be analyzed. In this way, it is expected that the obtained results will provide a broad basis for the development of specifically tailored 3D systems for certain pharmaceutical purposes such as rapid tests of active pharmaceutical ingredients or preclinical evaluation of drug candidate formulations in a clinically relevant regimen.

6. Research plan and dissertation structure

The research in this doctoral dissertation is planned in the following phases:

- validation of a previously developed 3D osteosarcoma cell culture model for long-term cell cultivation (up to 28 days);
- investigation of the possibility of depositing hydroxyapatite microparticles to the inner surfaces of macroporous alginate hydrogel, followed by cultivation of osteosarcoma cells in modified carriers;
- application of dynamic compression to osteosarcoma cells seeded on macroporous alginate supports containing or coated with hydroxyapatite particles and assessment of the effects of surface modifications and dynamic compression on cell retention, viability, and aggregate formation;
- application of a model antitumor drug at different concentrations and in different regimens to 3D osteosarcoma models with and without dynamic compression in short-term (up to 7 days) and long-term studies (4 to 6 weeks);
- development and application of mathematical models for predicting drug mass transfer within carriers, as well as within cell aggregates, including drug consumption and cell death terms, and predicting aggregate size reduction;
- establishment of coculture of osteosarcoma and preosteoblast cells in macroporous alginate carriers with hydroxyapatite particles and optimization in terms of cell concentration and seeding method, as well as composition and superficial velocity of the nutrient medium;
- assessment of the interactions between osteosarcoma cells and preosteoblasts in an optimized 3D coculture model and, potentially, the application of the model antitumor drug in short-term studies.

It is envisaged that the proposed doctoral dissertation will be organized into the following chapters: Introduction, Theoretical part, Experimental part, Results and discussion, Conclusion and Literature. The Introduction chapter will present a brief overview of the area of investigation and define the main goals of the dissertation and the subject of the research. Within the Theoretical part of the doctoral dissertation, a detailed literature review will be conducted to summarize previous research in the field of osteosarcoma cell cultures and antitumor drug testing with a special focus on the biomimetic approach to cell cultivation in a 3D environment using cell carriers and bioreactors. The Experimental section will first describe all materials used, followed by the methods applied in this research. In the Results and Discussion chapter, the experimental results will be presented and analyzed, followed by a critical discussion in relation to the literature data. In particular, the applicability of the new methodology for applying hydroxyapatite microparticles and improving the characteristics of cell carriers will be assessed. Also, the results of the effects of antitumor drugs applied in the bioreactor system will be analyzed in relation to the results obtained in clinical practice published in the literature. In particular, mathematical models of mass transfer and drug effects on cells and aggregates will be developed and applied in order to gain insights into the mechanisms of cell resistance. The Conclusion chapter will summarize all conclusions drawn based on the results obtained. The References section will list all literature cited throughout the theoretical, experimental, and discussion sections, along with publications resulting from this doctoral dissertation.

7. Final assessment and recommendation

Based on the presented data, the Committee finds that the proposed doctoral dissertation topic, Enhancement of a Biomimetic In Vitro Osteosarcoma Model for Reliable Anticancer Drug Testing (Иновативно унапређење биомимичног in vitro модела остеосаркома за поуздано тестирање антитуморских лекова), is scientifically well-founded. The Committee also considers that the candidate, Marija Pavlović, MSc in Chemical Engineering, meets the requirements to undertake this doctoral research. The proposed research falls within the scientific field of Technological Engineering, specifically the narrower field of Chemical Engineering, for which the Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, is the authorized and accredited institution. The Committee proposes to the Academic Council of the Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, that the topic be accepted and that Marija Pavlović be approved to prepare a doctoral dissertation under the stated title. The following mentors are proposed: Dr. Bojana Obradović, Full Professor, Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade (narrower scientific field: Chemical Engineering) and Dr. Lia Rimondini, Full Professor, University of Eastern Piedmont "Amedeo Avogadro," Department of Health Sciences (narrower scientific field: Tissue Engineering and Regenerative Medicine).

In Belgrade, January 23, 2026

COMMITTEE MEMBERS

.....
Dr. Bojana Obradović, Full Professor
University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy

.....
Dr. Jasmina Stojkovska, Senior Research Associate
University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy

.....
Dr. Branislav Todić, Assistant Professor
University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy

.....
Dr. Milena Milivojević, Senior Research Associate
University of Belgrade, Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering