

Imbunătățirea reparării defectelor osoase de către nanostructuri pe bază de TiO₂ inspirate de la scoică și funcționalizate cu fitomolecule bioactive

-Rezumat etapă 1-

Obiective:

1. Studii preliminare pentru evaluarea efectelor *in vitro* ale reprezentatilor EpF asupra comportamentului celulelor
2. Sinteza și caracterizarea morfologică a suprafețelor de Ti nanostructurate, depunerea PDA și NDA pe Ti acoperit cu TiO₂
3. Funcționalizarea și caracterizarea substratelor de Ti/TiO₂ acoperite cu PDA/NDA
4. Evaluarea *in vitro* a performanței biologice pentru substraturile Ti/TiO₂ acoperite cu PDA/NDA

Nivelul actual de cercetare devine din ce în ce mai concentrat asupra modificării metalelor la nivel nanometric. Dintre diferitele metode utilizate, anodizarea este o strategie promițătoare de a controla nanoarhitectura stratului de oxid de la suprafața materialelor pe baza de titan și de a spori eficiența aplicațiilor lor. O altă strategie promițătoare de îmbunătățire a osteointegrării implanturilor dentare și ortopedice constă în depunerea prin electrospinning de nanofibre care mimează organizarea matricei extracelulare. În prezentul studiu au fost investigate două aspecte diferite ale suprafețelor metalice de titan (Ti) cu rol în stimularea funcției osteoblastelor. Acestea includ (i) tipul topografiei nanometrice (de tip nanotub și nanofibre) și (ii) prezența unor fitomolecule bioactive din *Herba Epimedii* pe suprafețele nanostructurate. Într-o primă etapă au fost studiate ca agenți de funcționalizare a suprafețelor metalice, 3 molecule derivate din familia de ierburi *Epimedium*, respectiv icarisida, icaritina și icariina. Cercetările realizate au demonstrat că toate aceste fitomolecule au capacitatea de a promova diferențierea

osteoblastica și mineralizarea matricei extracelulare. Având în vedere pattern-ul aproximativ identic de expresie a activității fosfatazei alcaline și nivelul similar de mineralizare a matricei extracelulare manifestate de pre-osteoblastele MC3T3-E1 tratate cu fitomoleculele menționate anterior, a fost selectată icariina ca agent de funcționalizare a suprafețelor nanostructurate dezvoltate în proiect. Alegerea a fost motivată de acțiunea sa biologică și de prețul mai scăzut de comercializare al acesteia comparativ cu icaritina și icarisida.

În continuarea demersului experimental s-au stabilit condițiile optime de obținere a nanotuburilor de TiO_2 prin anodizare și a nanofibrelor prin electrospinning. Încărcarea icariinei în nanostructuri s-a realizat prin intermediul dopaminei și nitrodopaminei prin adsorbție fizică în picătură. Probele au fost caracterizate prin microscopie electronică de baleiaj (SEM), microscopie de forță atomică (AFM), spectroscopie în infraroșu cu transformata Fourier (FTIR) și măsurători ale unghiului de contact (CA). De asemenea s-a realizat caracterizarea lor electrochimică. Eliberarea icariinei a fost măsurată utilizând un spectrofotometru UV-VIS. Comportamentul pre-osteoblastelor în termeni de viabilitate, morfologie, proliferare și diferențiere celulară, precum și răspunsul macrofagelor RAW 264.7 au fost investigate în detaliu. Rezultatele SEM, FTIR, AFM și CA au demonstrat că s-au obținut cu succes suprafețe nanostructurate încărcate cu icariina. Profilul de eliberare *in vitro* a icariinei din nanotuburile și nanofibrele de TiO_2 a evidențiat o eliberare susținută în comparație cu Ti neacoperit. Studiile de caracterizare electrochimică au demonstrat că ambele modalități de nanostructurare a suprafețelor de Ti conduc la o îmbunătățire vizibilă a parametrilor de coroziune, obținându-se valori pentru viteza de coroziune de ordinul a zeci de nm/an. Din punct de vedere al stabilității și rezistenței la coroziune dintre toate variantele testate probele acoperite cu nanotuburi și funcționalizate cu polidopamina, nitrodopamina și icariina au prezentat cel mai bun comportament. Mai mult, rezultatele au evidențiat potențialul nanostructurilor testate de a modula pozitiv bioactivitatea osteoblastelor. Dintre cele două modificări de suprafață, anodizarea a avut un impact mai mare asupra funcției osteoblastelor decât electrospinningul.

În plus, s-a demonstrat că acoperirile dezvoltate în cadrul proiectului constituie o abordare eficientă pentru a modula comportamentul macrofagelor în vederea obținerii unui răspuns care să susțină un proces de vindecare mai degrabă decât apariția inflamației cronice. Împreună, aceste constatări indică o potențială aplicabilitate a funcționalizării suprafețelor nanostructurate cu icariina în medicina regenerativă a țesutului osos.