

## Îmbunătățirea reparării defectelor osoase de către nanostructuri pe bază de TiO<sub>2</sub> inspirate de la scoică și funcționalizate cu fitomolecule bioactive

### -Rezumat etapă 2-

#### Obiective:

1. Evaluarea *in vitro* a răspunsului inflamator generat de macrofagele RAW 274.7 în prezența nanostructurilor de Ti/TiO<sub>2</sub> acoperite cu PDA/NDA și încărcate cu ICA.
2. Obținerea produsului demonstrator (tije de Ti/TiO<sub>2</sub> acoperite cu PDA/NDA și funcționalizate cu EpF);
3. Dezvoltarea unui model experimental *in vivo* pentru osteointegrarea produsului demonstrator.

În pofida aplicării extinse în domeniile ortopedice și dentare, implanturile fabricate din titan (Ti) și aliajele sale de multe ori eșuează datorită caracterului bioinert, osteoinducției deficitare și integrării pasive la interfața os-implant. Prin urmare, diferite metode au fost implementate pentru a îmbunătăți stabilitatea inițială a implanturilor osoase prin modificări de topografie și creșterea bioactivității suprafeței. Arhitecturi de tipul nanotuburilor de TiO<sub>2</sub> (NT) și nanofibrelor de TiO<sub>2</sub> (NF) funcționalizate cu icariina (ICA) prin intermediul polidopaminei/nitrodopaminei (PDA/NDA) au fost dezvoltate și testate în cadrul proiectului ca alternative economice pentru îmbunătățirea osteointegrării implanturilor de Ti. Mai mult, studii recente au evidențiat faptul că suprafețele nanostructurate determină reducerea răspunsului inflamator al macrofagelor conducând la limitarea condițiilor de inflamație cronică și prevenirea eșecului implantului. În acest context, unul din obiectivele fazei de proiect din acest an a constat în determinarea potențialului inflamator al suprafețelor metalice acoperite cu NT sau NF funcționalizate sau nu cu ICA. Răspunsul celular a confirmat faptul că topografia dictează schimbări în comportamentul macrofagelor, independent de chimia suprafeței. În plus, rezultatele obținute au evidențiat ca ICA poate avea un efect anti-inflamator atunci când este imobilizată pe nanostructuri de TiO<sub>2</sub>. Atât în cazul evaluării răspunsului inflamator, cât și în cazul examinării răspunsului osteoblastelor, suprafețele acoperite cu NT au evidențiat un comportament biologic superior comparativ cu NF. Astfel, menținerea macrofagelor în contact cu suprafețele acoperite cu NT a dus la eliberarea unui nivel mai redus de mediatori pro-inflamatori în mediul de cultura în raport cu suprafețele acoperite cu NF.

Colectiv, datele obținute *in vitro* utilizând culturi de osteoblaste și macrofage au sugerat ca modificarea suprafeței prin anodizare electrochimică poate constitui o abordare mai eficientă pentru a îmbunătăți osteointegrarea implanturilor metalice decât modificarea suprafeței prin electrospinning. Prin urmare, în cadrul acestei etape de demonstrare și validare a tehnologiei dezvoltate, partenerul UPB a realizat modificarea suprafeței implanturilor de Ti (pinuri) cu NT de TiO<sub>2</sub> și funcționalizarea cu ICA în vederea implantării acestor produse demonstrator la șobolanii Wistar. Pentru anodizarea implantului au fost folosite condițiile experimentale optimizate anterior, în Etapa 1 a proiectului, iar pentru încărcarea ICA în nanostructuri a fost

aleasă metoda prin adsorbție fizică în picătură. În vederea realizării studiilor *in vivo* au fost pregătite 4 tipuri de implanturi: implant de Ti nemodificat, implant de Ti acoperit cu NT, implant de Ti acoperit cu NT și PDA și implant de Ti acoperit cu NT, PDA și ICA. Introducerea implanturilor la nivelul femurului șobolanilor de către o terță parte, reprezentată de Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, s-a realizat fără complicații ca urmare a protocolului optim de anestezie și abord chirurgical. Monitorizarea clinică zilnică și radiografiile de control efectuate la 30 și 90 de zile post-implantare au evidențiat toleranța în țesut a tuturor materialelor testate. Rezultatele analizelor histologice au indicat o reacție fibroasă mai accentuată în cazul implantului neprocesat față de implanturile acoperite la 30 zile post-implantare, în timp ce după 90 de zile s-a observat absența unei reacții de tip inflamator sau infecțios (bacterian), ceea ce sugerează o bună tolerabilitate a materialului implantat. Totuși, în pofida modificării caracteristicilor de suprafață, procesul de regenerare osoasă, analizat la 3 luni de la implantare, nu este îmbunătățit în jurul suprafețelor cu topografie nanotubulară care eliberează icariina. Acest rezultat este surprinzător datorită faptului că la 30 zile post-implantare compatibilitatea tisulară era favorabilă implantului cu suprafața nanostructurată și funcționalizată cu ICA. Pentru a elucida acest comportament contrastant ne propunem repetarea acestor studii și introducerea intervalelor de analiză a reacției tisulare la implant la 6 și 12 luni post-implantare.