



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

NANOPARTICULE MAGNETICE FUNCȚIONALIZATE UTILIZATE ÎN TRATAMENTUL AFECȚIUNILOR OSTEO-ARTICULARE

FUNCTIONALIZED MAGNETIC NANOPARTICLES USED IN THE TREATMENT OF OSTEOARTICULAR DISEASES

Doctorand: Alexandru CERNEA Coordonator științific: Prof. Habil. Dr. Ing. Vasile Iulian ANTONIAC

București, iulie 2020

Mulțumiri

La finalizarea acestei etape importante din viața mea, doresc să adresez câteva cuvinte de mulțumire celor care m-au îndrumat și mi-au acordat suportul pe parcursul tezei de doctorat.

Mulţumiri cordiale şi deosebită gratitudine conducătorului meu de doctorat, d-lui prof.univ.habil.dr.ing. Vasile Iulian Antoniac, de la Universitatea Politehnica din Bucureşti, pentru îndrumarea competentă și permanentă pe parcursul elaborării și realizării acestei teze de doctorat. De asemenea îi mulțumesc pentru sprijinul în redactarea unor articolele științifice publicate în reviste de specialitate.

Mulţumesc preşedintelui comisiei de doctorat, d-lui prof.univ.habil.dr.ing. Florin Miculescu şi distinşilor referenţi oficiali: d-nul prof.univ.dr.ing. Corneliu Munteanu, Universitatea Tehnică din Iaşi, d-lui prof.univ.dr.ing. Cătălin Popa, Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca şi d-nei prof.univ.habil.dr.ing. Branduşa Ghiban, de la Universitatea Politehnica din Bucureşti, pentru onoarea acordată de a recenza această lucrare.

Această teză de doctorat nu ar fi fost completă fără ajutorul esențial al următorilor colaboratori: C.S.II.dr.ing. Cristian Petcu de la INCDCP ICECHIM București; prof.univ.dr.ing. Diana Popescu de la Facultatea Inginerie Industrială și Robotică, Universitatea Politehnica din București; prof.univ.dr.ing. Alexandru Morega de la Facultatea Inginerie Electrică, Universitatea Politehnica din București. Le mulțumesc pentru timpul, ajutorul și sfaturile științifice prețiose acordate.

Mulțumiri cordiale doamnei conf.dr.med. Rodica Marinescu și domnului dr.med. Dan Laptoiu de la Spitalul Clinic Colentina din București pentru sprijinul acordat în realizarea tezei și a identificării aspectelor privind funcționalitatea și aplicabilitatea clinică a cercetărilor efectuate în cadrul prezentei teze de doctorat.

Toată dragostea, respectul și recunoștința mea, tuturor profesorilor mei din perioada facultății și a cursurilor de master, cei care mi-au dăruit din cunoștințele lor și mi-au îndreptat pașii spre domeniul cercetării științifice.

Cu deosebită recunoștință și dragoste, dedic această teză familiei mele, care mi-a fost alături și m-a sprijinit din toate punctele de vedere în această perioadă.

CUPRINS

INTRODUCERE	1
CAPITOLUL 4: MATERIALE, TEHNICI DE ANALIZĂ, METODE DE TESTARE Ș ECHIPEMENTE EXPERIMENTALE UTILIZATE	şı 3
4.1. Scopul lucrării	3
4.2. Materiale experimentale utilizate și planul de lucru	3
4.3. Tehnici de analiză, metode de testare și echipamente utilizate	4
CAPITOLUL 5: SINTEZA, FUNCȚIONALIZAREA ȘI CARACTERIZAREA NANOPARTICULELOR MAGNETICE PURTĂTOARE DE MEDICAMENT	5
5.1. Sinteza și funcționalizarea nanoparticulelor magnetice purtătoare de medicament	t5
5.2. Caracterizare nanoparticule magnetice purtătoare de medicament	7
5.2.1. Caracterizare morfologică și structurală prin microscopie electronică de baleiaj SEM și miscroscopie electronică de transmisie - TEM	j — 7
5.2.2. Determinări de Spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR)	9
5.2.3. Determinarea dimensiunilor nanoparticulelor prin metode DLS și a potențialul Zeta ale eșantioanelor experimentale	ui 10
CAPITOLUL 6: TESTAREA SOLUȚIILOR VISCOELASTICE	12
6.1. Testare reologică a soluțiilor viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnet purtătoare de medicament	ice 12
6.2. Testarea proprietăților magnetice a soluțiilor viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament	15
6.2.1. Utilizarea programului de modelare COMSOL	15
6.2.2. Testarea efectului magneților permanenți asupra fluidului cu nanoparticule magnetice	27
6.3. Testarea biocompatibilității soluțiilor viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament	e 30
CAPITOLUL 7: REALIZAREA ȘI UTILIZAREA PRACTICĂ A SISTEMULUI COMPLEX DE ORTEZĂ CU MAGNEȚI ASOCIATĂ CU O SOLUȚIE VISCOELASTICĂ ÎMBUNĂTĂȚITĂ CU NANOPARTICULE MAGNETICE PURTĂTOARE DE MEDICAMENT	32
7.1. Realizarea ortezei cu magneti	32
7.2. Modalitatea de utilizare clinică a sistemului complex	36
C1_CONCLUZII GENERALE	41
C2. CONTRIBUTII ORIGINALE	42
C3. PERSPECTIVE DE DEZVOLTARE UL TERIOARĂ	43
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	44

Prezenta teză de doctorat se bazează pe acumularea informațiilor necesare cu privire la rolul de suport al diverselor tipuri de orteze utilizate în cazul unor leziuni traumatice sau degenerative. Pentru tratarea acestui subiect se analizează elemente de biomecanică aplicată și de câmp magnetic, în vederea optimizării parametrilor funcționali și cei economici care caracterizează aceste dispozitive.

Afecțiunile degenerative ale genunchiului reprezintă principala cauză de durere severă în cazul articulațiilor geunchiului. Tratamentele uzuale precum kinetoterapia, pierderea în greutate a pacientului și tratamentele medicamentoase cu injecții intraarticulare simple sau cu steroizi nu sunt suficiente pentru a trata aceste boli, în sensul că în majoritatea cazurilor cel mai bun rezultat obținut este atenuarea durerii severe.

Ortezele de genunchi sunt dispozitive ortopedice care au un rol protector sau corector asupra articulației genunchiului. În cazul leziunilor traumatice sau degenerative ale articulației genunchiului, ortezele ajută la o vindecare mai rapidă prin susținerea într-o poziție fixă și corectă a articulației, astfel având rolul de a corecta anumite defecte osoase.

Luând în considerare toate aceste aspecte, tratamentele de livrare controlată a medicamentelor aplicate împreună cu utilizarea unei orteze sunt considerate a fi benefice pentru tratarea afecțiunilor genunchiului, având avantajul efectelor terapeutice pe termen îndelungat.

Principalul obiectiv al acestei lucrări este dezvoltarea unui model de orteză, cu un design modificat care să permită inserarea unor grupuri de magneți permanenți de uz terapeutic, ce controlează o soluție viscoelastică sterilă formată din compuși polimerici depuși în matricea unor nanoparticule magnetice funcționalizate. Acest sistem complex constituie un concept relativ nou în tratamentul bioactiv cunoscut sub numele de viscosuplimentare controlată magnetic.

În scopul obținerii acestui dispozitiv, lucrarea de față trebuie să atingă mai multe obiective și anume: sintetizarea și funcționalizarea unor nanoparticule magnetice de oxid de fier (Fe₃O₄) cu proprietăți magnetice, de biocompatibilitate și funcționare corespunzătoare; alegerea unei poziții optime a magneților peramanenți, astfel încât câmpul magnetic generat de aceștia să direcționeze nanoparticulele magnetice purtătoare de medicament în zona dorită; alegerea unui design corespunzător a ortezei care să permită inserarea magneților în poziția dorită.

Astfel, prezenta teză de doctorat este structurată în două părți principale care cuprind în totalitate un număr de 7 capitole. Prima parte este un studiu de literatură care cuprinde primele 3 capitole ale lucrării.

Capitolul 1, intitulat "Stadiul actual privind utilizarea biomaterialelor în tratamentul afecțiunilor genunchiului", face referire la modul de funcționare a articulației genunchiului, bolile care pot ataca această articulație și modalitățile de tratare ale acestora. Totodată, în acest capitol se prezintă un studiu de literatură cu privire la stadiul actual al modelelor de orteze pentru genunchi utilizate în ortopedie, dar și informații utile despre soluțiile viscoelastice existente pe piață utilizate pentru viscosuplimentare.

Capitolul 2, "Materiale magetice cu potențiale aplicații în medicină", prezintă particularitățile de interes ale câmpului magnetic, materialele magnetice ce dețin aceste proprietăți și tipuri de magneți permanenți cu aplicabilitate în domeniul biomedical. Deoarece aceste materiale sunt destinate interacțiunii cu organismul uman, se prezintă efectele generate de câmpul magnetic asupra organismului.

Capitolul 3, denumit "Nanoparticule magnetice utilizate în eliberarea controlată a medicamentelor" cuprinde informații generale despre nanoparticule magnetice privind sinteza lor, metodele de obținere, diferite moduri de funcționalizare și aplicabilitatea acestora în domeniul biomedical pentru livrarea controlată a medicamentelor.

După abordarea acestor teme principale care stau la baza cercetării științifice ce caracterizează această teză, se prezintă cercetările experimentale care se împart în următoarele patru capitole principale.

Capitolul 4, cu titlul "Materiale, tehnici de analiză, metode de testare și echipamente experimentale utilizate" face referire la scopul principal al lucrării și la prezentarea detaliată a materialelor utilizate pentru obținerea dispozitivului complex de orteză cu magneți permanenți asociată cu o soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice funcționalizate. De asemenea se prezintă detaliat tehnicile de analiză ale nanoparticulelor magnetie, metodele de testare ale soluțiilor viscoelastice, programele folosite pentru simularea proprietăților magnetice pentru stabilirea poziției optime a magneților și nu în ultimul rând testarea biocompatibilității prin teste de citotoxicitate ale acestor materiale.

În *capitolul 5* intitulat "Sinteza, funcționalizarea și caracterizarea nanoparticulelor magnetice purtătoare de medicament" se prezintă explicit modul de obținere și metoda utilizată pentru sinteza nanoparticulelor, care ulterior, tot în aceste capitol se caracterizează din punct de vedere fizic, morfologic și structural prin tehnicile prezentate în capitolul anterior.

Capitolul 6 face referire la "Testarea soluțiilor viscoelastice" atât prin metode reologice pentru evidențierea proprietăților de viscoelasticitate, cât și prin utilizarea unui program de simulare matematică pentru determinarea poziției optime a magneților permanenți încorporați în orteză, în funcție de câmpul magnetic generat de aceștia și influența acestuia asupra direcționării nanoparticulelor în zona de interes.

Capitolul 7 este capitolul final și se numește "Proiectarea, realizarea și utilizarea practică a sistemului complex de orteză cu magneți asociată cu soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule manetice purtătoare de medicament" și constă în proiectarea design-ului corespunzător al ortezei ținând cont de toți parametrii stabiliți până acum.

În continuare se prezintă concluziile la care s-a ajuns în această teză de doctorat, precum și contribuțiile personale la aceasta, dar și perspectivele de dezvotare ulterioară.

Trebuie să se precizeze faptul că parametrii analizați în această lucrare țin cont atât de caracteristicile magneților existenți pe piață, cât și de proprietățile soluțiilor de nanoparticule magnetice funcționalizate corespunzător. Studiul comportamentului componentelor magnetice urmărește concentrarea unui număr cât mai mare de nanoparticule magnetice în zona antero-patelo-femurală, dar și o neuniformitate cât mai mare a câmpului magnetic generat de matricea de magneți permanenți. În acest caz se pune accent pe originea magnetismului în materiale, tipurile de materiale magnetice folosite în medicina contemporană și aplicațiile viitoare ale biomaterialelor magnetice.

CAPITOLUL 4: MATERIALE, TEHNICI DE ANALIZĂ, METODE DE TESTARE ȘI ECHIPEMENTE EXPERIMENTALE UTILIZATE

4.1. Scopul lucrării

Studiul acestei lucrări constă în încercarea de a cumula toate informațiile necesare pentru analizarea corectă a rolului protector, corector sau de suport al mai multor tipuri de orteze pentru genunchi, în vederea tratării unor leziuni traumatice, dar mai ales degenerative, precum osteoartrita.

Principalul obiectiv al acestei teze de doctorat este acela de a concepe un dispozitiv medical complex de tipul ortezelor patelo-femurale. Complexitatea acestui model de orteză este reprezentată de design-ul modificat care se urmărește a fi obținut astfel încât acesta să permită inserarea unor magneți permanenți de uz terapeutic în scopul de controla din exterior o soluție viscoelastică sterilă care este injectată în organismul pacientului. Soluția viscoelastică este constituită din compuși polimerici funcționalizați depuși în matricea unor nanoparticule magnetice (NPM). Această tehnică reprezintă un concept de tratament bioactiv, relativ nou, cunoscut sub denumirea de viscosuplimentare bioactivă.

Lucrarea este etapizată în mai multe părți care dețin obiective individuale ce trebuiesc îndeplinite obligatoriu pentru ca dispozitivul final să aibă caracteristicile funcționale și mecanice optime pentru a fi utilizat corespunzător în tratarea afecțiunilor genunchiului.

Primul obiectiv este acela de a sintetiza, funcționaliza și apoi caracteriza morfologic și structural nanoparticulele magnetice purtătoare de medicament ideale pentru utilizarea lor în combinație cu o soluție viscoelastică. De asemenea, se testează și proprietățile reologice ale soluției viscoelastice îmbunătățită cu nanoparticule magnetice funcționalizate.

Următorul obiectiv constă în alegerea optimă a configurației geometrice și a poziționării exterioare a magneților permenenți, astfel încât aceștia să poată interacționa corespunzător cu fluidul viscoelastic. De asemenea, se urmărește biocompatibilitatea soluției purtătoare de medicament.

Ultima etapă constă în proiectarea design-ului ortezei, astfel încât aceasta să ofere confort pacientului, dar bineînțeles, să își indeplinească funcțiile mecanice de suport, corecție sau protecție a articulație genunchiului. Pentru acest lucru trebuie să se țină cont de anatomia pacientului, de dimensiunile dispozitivului, de poziția aleasă a magneților permanenți, dar și de zona afectată ce trebuie tratată.

Îndeplinirea tutuor acestor obiective de pe parcursul studiului științific conduc la rezultate experimentale satisfăcătoare, iar în acest mod se realizează cu succes conceperea sistemului complex format dintr-o orteză patelo-femurală asociată cu magneți permanenți care interacționează cu o soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice funcționalizate.

4.2. Materiale experimentale utilizate și planul de lucru

În cadrul prezentei teze de doctorat au fost utilizate diferite tipuri de materiale experimentale pentru fiecare componentă a dispozitivului complex de tip orteză cu magneți permanenți asociată cu o soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice funcționalizate.

În primă fază a cercetării s-a vizat sinteza nanoparticulelor magnetice și funcționalizarea acestora, care s-a realizat în colaborare cu Institutul Național de Cercetare - Dezvoltare pentru Chimie și Petrochimie – ICECHIM, din București, prin metoda co-precipitării.

Ca materii prime pentru obținerea nanoparticulelor magnetice (NPM) s-au utilizat:

- Clorură feroasă hidratată (FeCl₂·4H₂O);
- Clorură ferică hidratată (FeCl₃·6H₂O);
- ➢ Hidroxid de amoniu (NH₄OH) în proporție de 25%;
- Acid clorhidric de concentrație molară, 2M.

Pentru funcționalizarea nanoparticulelor s-au folosit următoarele materii prime, care au fost utilizate fără a se efectua nici o purificare suplimentară:

- Hidroxid de tetrametilamoniu TMOH (achiziționat de la Fluka); TMOH se utilizează pentru peptizarea NMP-urilor, împiedicând formarea de aglomerări;
- Acidul hialuronic HA (achizionat de la Sigma Aldrich); HA are rolul de a funcționaliza soluția de NPM, pentru îmbunătățirea biocompatibilității, dar și a proprietăților chimice, biologice și terapeutice ale NMP;
- Inulina (achizionată de la Dahlia tubers, Fluka) are rolul de a ajuta la funcționalizarea NMP prin îmbunătățirea proprietăților funcționale.

Odată sintetizate și funcționalizate, nanoparticulele magnetice vor fi înglobate într-o soluție viscoelastică. În cadrul acestei lucrări s-au utilizat trei tipuri de soluții viscoelastice comercializate cu concentrații de hialuronat de sodium diferite, și anume:

- > Arthrum (A) -40 mg/2ml;
- → Jointex Starter (J) 32 mg/2ml;
- ▶ NeoVisc (N) -20 mg/2ml.

Conform datelor din literatură, concentrația în hialuronat de sodiu a soluțiilor viscoelastice utilizate în terapia articulară este variabilă, dar concentrațiile de interes sunt de 40 mg/2ml, 32 mg/2ml și 20 mg/2ml, precum și cele utilizate în această lucrare.

După cum s-a precizat și anterior, prezenta teză de doctorat este structurată în trei etape care duc la realizarea sistemului complex de orteză cu magneți permanenți asociată cu o soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice funcționalizate.

4.3. Tehnici de analiză, metode de testare și echipamente utilizate

Pentru caracterizarea și testarea nanoparticulelor magnetice sintetizate și biofuncționalizate au fost utilizate următoarele tehnici:

Microscopia electronică de transmisie (Transmission electron microscopy - TEM) a fost efectuată pe un microscop electronic de transmisie de înaltă rezoluție de tip TECNAI F30, pentru a obține informații structurale și cristalografice despre suprafața nanoparticulelor magnetice. Avantajul principal al acestei metode este posibilitatea de a obține simultan difracția de electroni asociată unei nanozone și imaginile microstructurii din aceeași zonă a probei.

Microscopia electronică de baleiaj (Scanning Electron Microscopy - SEM) a fost utilizată pentru cuantificarea informațiilor structurale și pentru observarea și analiza microstructurii (morfologia) nanoparticulelor magnetice. Analiza a fost efectuată pe un microscopul electronic de baleiaj, de tip Quanta 200.

Folosind *Spectroscopia în infra-roșu cu transformată Fourier* (Fourier Transform Infrared Spectroscopy - FT-IR) efectuată pe un spectrometru JASCO 6200 FT-IR, echipat cu un dispozitiv de reflectare totală atenuat (ATR) de tip Golden Gate, atenuat, s-au obținut informații privind compoziția chimică a probelor; mai precis, identificarea tipului de legături chimice caracteristice și modificările care au avut loc în timpul funcționalizării lor.

Dispersia dinamică a luminii (Dynamic Light Scattering - DLS), efectuată pe un dispozitiv Nano Zetasizer, s-a utilizat pentru a determina dimensiunea și potențialul Zeta

(potențial electro-kinetic în dispersiile coloidale) ale nanoparticulelor magnetice dispersate în soluția viscoelastică.

Testele reologice au fost efectuate cu ajutorul unui echipament de tip Reometru Paar - Physica MC 301 (configurație con-placa, diametrul 40 mm), la temperatura de 20° C, în cadrul laboratorului REOROM/Platforma BIOINGTEH, Universitatea Politehnica din București (Laboratorul Interacțiune Câmp – Substanță).

Software-ul COMSOL a fost utilizat pentru a testa proprietățile magnetice ale magneților pemanenți utilizați în această aplicație. În acest mod se determină și se stabilește configurația geometrică și pozițiile optime ale magneților atașați pe orteză, ce vor asigura o funcționare corespunzătoare.

Testarea biocompatibilității soluției viscoelastice s-a determinat prin testarea citotoxicității materialelor. Viabilitatea celulelor a fost măsurată prin testul MTT (bromură de 3-(4,5-dimetitiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu) care a fost achiziționat de la Sigma-Aldrich Corp, St Louis, MO, Statele Unite ale Americii).

CAPITOLUL 5: SINTEZA, FUNCȚIONALIZAREA ȘI CARACTERIZAREA NANOPARTICULELOR MAGNETICE PURTĂTOARE DE MEDICAMENT

5.1. Sinteza și funcționalizarea nanoparticulelor magnetice purtătoare de medicament

Nanoparticulele magnetice de oxizi de fier dispersabile în soluția de viscosuplimentare cu concentrația de 32mg/2ml au fost obținute în concordanță cu studiile efectuate, utilizând ca materii prime: clorura feroasă hidratată (FeCl₂·4H₂O), clorura ferică hidratată (FeCl₃·6H₂O), NH₄OH 25% și acidul clorhidric 2M.



Fig. 5.1: Instalația în care a avut loc sinteza nanoparticulelor magnetice: Agitatorul mecanic; Termostatul și Sursa de azot sub presiune

Dispersia de nanoparticule magnetice de oxizi de fier s-a preparat prin metoda clasică a coprecipitării FeCl₂ (clorură feroasă) și FeCl₃ (clorură ferică) la adăugarea de soluție concentrată bazică de hidroxid de amoniu (NH₄OH 25%) într-un amestec de săruri de fier în raport molar FeCl₂:FeCl₃ de 1:2. FeCl₂·4H₂O s-a dizolvat în HCl 2M, iar FeCl₃·6H₂O în apă. S-au amestecat într-un balon cu trei gâturi, s-au agitat mecanic sub pernă de azot, iar după omogenizare s-a adăugat în picatură cantitatea necesară de NH₄OH 25%. Întregul amestec s-a termostatat la 65°C timp de o oră, rezultând un precipitat negru. Acesta a fost spălat de 3 ori cu apă, particulele magnetice fiind atrase pe fundul balonului cu un magnet, și apoi s-au păstrat la temperatura camerei pentru utilizările următoare (peptizare și funcționalizare).

Conform studiilor anterioare, s-a utilizat hidroxidul de tetrametilamoniu – TMOH (Fluka) pentru peptizare și acidul hialuronic (Sigma Aldrich), respectiv inulina (Dahlia tubers, Fluka) + acid hialuronic (Sigma Aldrich) pentru funcționalizare (aceste materii prime au fost utilizate fără purificări suplimentare).

Dispersia de nanoparticule magnetice a fost utilizată ca atare sau diluată de 10 și respectiv 100 de ori pentru următoarele etape (fapt ce se va regăsi în codificarea eșantioanelor experimentale).

În continuare, nanoparticulele magnetice au fost acoperite cu un strat de TMOH, prin tehnica strat-peste-strat. Dupa spălarea nanoparticulelor magnetice s-a adăugat o soluție de TMOH (1M), ce s-a amestecat până la omogenizare și apoi a fost lăsată peste noapte pentru a avea loc fenomenul de peptizare. Soluția astfel obținută s-a păstrat la temperatura camerei pentru utilizările următoare.

Următoarea fază experimentală a constat în acoperirea cu inulină, care a fost folosită în formarea celui de al doilea strat de acoperire a nanoparticulelor magnetice. Inulina este o polizaharidă inertă, comercială, care rămâne neutră la activitatea celulară. Acoperirea s-a realizat simplu, tot prin metoda strat-peste-strat, prin amestecare mecanică și respectiv, prin ultrasonare. În cazul de față s-a dorit ca stratul de inulină să facă trecerea între particulele magnetice, ce pot avea efecte toxice asupra organismului uman și stratul final de acid hialuronic. Depunerea acidului hialuronic pe nanoparticule s-a realizat prin tehnica strat-peste-strat (layer-by-layer) prin ultrasonare, folosind două soluții de concentrații diferite de acid hialuronic, în scopul de a studia efectul concentrației de acid hialuronic asupra proprietăților finale ale compozitelor biopolimer-nanoparticulele magnetice.



Figura 5.2: Aparatul de ultrasonare

Scopul acestor cercetări a fost de a sintetiza un compus care odată introdus la nivelul articulațiilor din organismul uman, sub acțiunea unui câmp magnetic extern, să confere elasticitate și suplețe cartilajelor în zonele dorite, acționând ca un "lubrifiant". Din acest motiv, s-a dorit înglobarea nanoparticulelor sintetizate într-un strat final (al treilea) de acid hialuronic. În continuare au fost definite eșantioanele experimentale finale de nanoparticule (*tabelul 5.1*) care vor fi introduse în soluția viscoelastică cu concentrația de 32mg/2ml și caracterizate experimental.

1000000 5.11.00	mpoziția soluțiilor viscoclastice preparate
Probă	Compoziție
Proba 1	NPM+HA
Proba 2	(NPM+TMOH)
Proba 3	(NPM+TMOH)+HA
Proba 4	(NPM + TMOH) + inulină
Proba 5	((NPM+TMOH)+Inulină)+HA
Proba 6	Soluție viscoelastică HA concentrație 32mg/2ml

Tabelul 5.1: Compoziția soluțiilor viscoelastice preparate

NPM – particule magnetice

TMOH – agent de dispersare (hidroxid de tetrametilamoniu) INULINA – agent de acoperire (inulină) HA – acid hialuronic

Sintetic, structura nanoparticulelor magnetice experimentale obținute și introduse în soluția viscoelastică cu concentrația de 32mg/2ml este prezentată în figurile următoare.



Figura 5.3: Reprezentare schematică a nanoparticulelor magnetice funcționalizate obținute

S-a urmărit definirea a două aspecte importante:

- Varianta optimă de funcționalizare a nanoparticulelor magnetice (NMP + HA, NMP+TMOH+HA, NMP+TMOH+Inulină+HA);
- Concentrația optimă de nanoparticule magnetice.



Fig. 5.4: Structura schematică a unei nanoparticule magnetice funcționalizate în care se evidențiază structura chimică atât a nanoparticulelor magnetice cât și a agenților de funcționalizare [142]

5.2. Caracterizare nanoparticule magnetice purtătoare de medicament

5.2.1. Caracterizare morfologică și structurală prin microscopie electronică de baleiaj – SEM și miscroscopie electronică de transmisie - TEM

În figurile următoare sunt prezentate rezultatele investigațiilor de microscopie electronică de baleiaj SEM, respectiv de microscopie electronică prin transmisie TEM.



Fig. 5.5: Rezultatele TEM (A) și SEM (B) pentru proba 1: NPM + HA

Rezultatele analizelor TEM și SEM arată că în matricea soluției viscoelastice, în stadiul inițial, există asocieri de nanoparticule magnetice cu contur asimetric și dimensiuni variabile (figura 5.5.)



Fig. 5.6: Rezultatele TEM (A) și SEM (B) pentru proba 2: (NPM + TMOH)

Ca urmare a acoperirilor, forma nanoparticulelor capătă o distribuție mai uniformă. Figura 5.6. prezintă nanoparticulele magnetice acoperite cu un strat de hidroxid de amoniu (TMOH) și se demonstrează faptul că stratul de TMOH are o influență benefică întrucât nanoparticulele magnetice devin mai stabile.

Acoperirea cu acid hialuronic (HA) are aceeași influență asupra nanoparticulelor lucru ce poate fi observat în figura 5.7. Diferența dintre aceste două acoperiri este că după adăugarea de HA, conturul nanoparticulelor este mult mai bine definit.



Fig. 5.7: Rezultatele TEM (A) și SEM (B) pentru proba 3: (NPM + TMOH) + HA



Fig. 5.8: Rezultatele TEM (A) și SEM (B) pentru proba 4: (NPM + TMOH) + inulină

Stratul de inulină este folosit ca agent de dispersare și are rolul de a împiedica formarea de aglomerări de nanoparticule (Figura 5.8.). Nanoparticulele magnetice finale au fost încorporate cu succes în trei straturi (TMOH + Inulină + HA) (Figura 5.9.) și au dus la o distribuire uniformă a nanoparticulelor în soluția viscoelastică.



Fig. 5.9: Rezultatele TEM (A) și SEM (B) pentru proba 5: (NPM + TMOH) + inulină + HA

5.2.2. Determinări de Spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR)

Spectrele FT-IR ale eșantioanelor experimentale sunt prezentate în figurile următoare. Toate spectrele FT-IR înregistrate între 400–4000 cm⁻¹ pentru nanoparticulele magnetice experimentale prezintă benzile caracteristice nanoparticulelor feroferice.



Fig. 5.10: Spectrele FT-IR pentru eșantioanul experimental de NPM sintetizate

Spectrul înregistrat în urma investigării eșantioanelor experimentale de nanoparticulele magnetice (NPM) prezentat în figura 5.10, prezintă banda de la lungimea de undă de 581 cm⁻¹ caracteristică magnetitei (Fe₃O₄). Banda de la lungimea de undă 630 cm⁻¹, este prezentă în spectrele tuturor probelor sintetizate și demonstrează prezența maghemitei (γ -Fe₂O₃). De asemenea hematita (α -Fe₂O₃) este prezentă în ferofluidele analizate, fapt demonstrat prin banda de la 537 cm⁻¹.



Fig. 5.11: Spectrele FT-IR pentru eșantioanele experimentale: b) NPM acoperite cu HA; c) NPM acoperite cu HA în concentratie marită

La probele acoperite cu acid hialuronic în concentrații diferite (Figura 5.11), banda largă, de la lungimea de undă la 3330 cm⁻¹ specifică grupării hidroxil – OH se deplasează spre dreapta, la 3340 cm⁻¹ respectiv 3346 cm⁻¹, fapt ce demonstrează că a avut loc o acoperire cu acid hialuronic.



Fig. 5.12: Spectrele FT-IR pentru eşantioanele experimentale: d) NPM cu TMOH; e) NPM acoperite cu TMOH şi HA

Analiza FT-IR a ferofluidului acoperit cu hidroxid de tetrametilamoniu (TMOH) prezentată în figura 5.12 d) demonstrează prezența grupării –OH, datorată vibrației de întindere, simetrică și asimetrică care generează o bandă largă la 3330 cm⁻¹. Banda intensă de la 1637 cm⁻¹ poate fi atribuită atât vibrației de întindere simetrice a OH-ului din gruparea –COOH, cât și vibrației de deformare caracteristică grupării C–N din TMOH.

Vibrația de la 1489 cm⁻¹ este dată de întinderea asimetrică a legăturii C=O din gruparea –COOH. La probele similare acoperite și cu acid hialuronic (Figura 5.12 e)), banda largă, de la lungimea de undă de 3330 cm⁻¹ specifică grupării hidroxil –OH se deplasează spre dreapta, la 3340 cm⁻¹, fapt ce demonstrează că a avut loc o acoperire cu acid hialuronic.



Fig. 5.13: Spectrele FT-IR pentru eșantioanele experimentale: f) NPM cu inulină; g) NPM acoperite cu inulină și înglobate în HA

Atât nanoparticulele magnetice acoperite cu stratul de inulină (Figura 5.13 f)), cât și nanoparticulele magnetice acoperite cu inulină și cu acid hialuronic (Fig. 5.13 g)), prezintă o bandă largă, la lungimea de undă de 3450 cm⁻¹ specifică grupării –OH (datorată vibrației de întindere, simetrică și asimetrică) și un peak intens la 1636 cm⁻¹ dat de vibrația de întindere simetrică a OH-ului din gruparea –COOH, grupări prezente atât în inulină, cât și în acidul hialuronic.

5.2.3. Determinarea dimensiunilor nanoparticulelor prin metode DLS și a potențialului Zeta ale eșantioanelor experimentale

Rezultatele determinărilor experimentale sunt prezentate sintetic în tabelul următor.

Nr. crt.	Compoziție probe	DLS, [nm]	Potențial Zeta, [mV]
1	NPM	109,4	-44,6
2	NPM + HA	118	-67,7
3	NPM + TMOH	43,67	-42,4
4	NPM + TMOH + HA	101,6	-51,5
5	NPM + TMOH + inulină	50,14	-29,7
6	NPM + TMOH + inulină + HA	79,91	-42,4

Tabel 5.2: Dimensiunile și valoarea potențialul Zeta ale nanoparticulelor magnetice sintetizate experimental

Nanoparticulele magnetice inițiale se găsesc sub formă de aglomerări cu dimensiuni în jur de 100 nm, după cum se poate observa atât în Tabelul 5.2, cât și în Figura 5.14 a). Aglomerările se depun foarte repede pe fundul recipientului, fapt ce a determinat stabilizarea nanoparticulelor magnetice prin acoperirea cu un strat de TMOH (peptizarea), ce duce la distrugerea aglomerărilor.

După adăugarea stratului de TMOH, s-au format nanoparticule magnetice stabile, ce nu se depun în timp (Figura 5.14 b)). Dimensiunile rezultate au fost de 43 nm, dar potențialul Zeta nu a suferit modificări evidente (Figura 5.15 b)).

Adăugarea celui de-al doilea strat, cel de inulină, duce la creșterea dimensiunilor particulelor până la 50 nm, o creștere destul de insignifiantă ținând cont că aglomerările de NPM inițiale au avut 100 nm (Figura 5.14 d)).

După depunerea celui de-al doilea strat de acoperire (inulină), s-a adăugat acidul hialuronic în două concentrații diferite, în raport de 1:10. În cele două cazuri s-au obținut nanoparticule magnetice cu dimensiuni de 76 nm (Figura 5.14 e)), respectiv 243 nm pentru concentrația de 10 ori mai mare (Figura 5.14 c)). Potențialul Zeta nu se modifică vizibil, având valoarea de circa -40 mV (Figura 5.15 c) și d)). S-a observat că proba cu concentrația de HA mai mică este mai stabilă în timp decât cea cu concentrația ridicată, dimensiunile mai mici ale particulelor fiind un factor important în favorizarea stabilității.

Prin compararea datelor obținute, s-a observat faptul că, în cazul folosirii nanoparticulelor magnetice acoperite cu un strat (NPM+TMOH), adăugarea acidului hialuronic concentrat duce la obținerea de biomateriale de tipul nanoparticulelor magnetice compozit-biopolimer cu dimensiuni relativ similare ca în cazul folosirii nanoparticulelor magnetice acoperite cu două straturi (NPM+TMOH+Inulină).

Acest fapt, coroborat cu valorile potențialului Zeta, demonstrează faptul că în cazul folosirii nanoparticulelor magnetice acoperite cu două straturi, eficiența dispersiei în acidul hialuronic este similară.



Fig. 5.14: Distribuția dimensiunii nanoparticulelor: a) NPM inițiale;
b) NPM acoperite cu TMOH; c) NPM acoperite cu TMOH și cu HA concentrat;
d) NPM acoperite cu TMOH și inulină; e) NPM acoperite cu TMOH, inulină și cu HA;
f) NPM acoperite cu TMOH, inulină și cu HA concentrat



b) NPM acoperite cu TMOH; c) NPM acoperite cu TMOH și cu HA concentrat;
 d) NPM cu TMOH și inulină; e) NPM acoperite cu TMOH, inulină și cu HA;
 f) NPM acoperite cu TMOH, inulină și cu HA concentrat

CAPITOLUL 6: TESTAREA SOLUȚIILOR VISCOELASTICE

6.1. Testare reologică a soluțiilor viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament

Testele reologice efectuate pe soluțiile viscoelastice clasice reliefează faptul că acestea sunt ușor senzitive la contactul cu aerul și își modifică ușor proprietățile reologice în timp (datorită histerezisului care apare pe curba de întoarcere). Acest fapt este normal, datorită modificărilor structurale și ale proprietăților pe care le prezintă acidul hialuronic aflat în compoziția soluției viscoelastice. Atât modulul elastic cât și modulul viscos variază în timp și se stabilizează în jurul valorilor de G'=150 Pa și G''=400 Pa, rezultate conforme cu datele din literatură și cele furnizate de fabricanți.



Fig 6.1: Rezultatele testelor reologice pentru soluția ARTHRUM, considerată ca referință

Introducerea nanoparticulelor magnetice în soluția viscoelastică micșorează ușor viscozitatea soluțiilor inițiale. Din punct de vedere reologic, aceasta variază în general liniar cu concentrația de nanoparticule utilizate.

A fost efectuată și o analiză reologică complexă a trei tipuri de soluții de viscosuplimentare (Artrum-A, Neovisc-N și Jointex-J) modificate cu nanoparticule

magnetice. Se observă faptul că soluția Artrum are proprietăți mai bune de viscozitate, probabil datorită faptului că are o concentrație mai mare de acid hialuronic în compoziție.



Fig. 6.2: Rezultatele testelor reologice pentru soluții viscoelastice comerciale modificate cu nanoparticule magnetice

Eșantioanele experimentale finale de nanoparticule (tabelul 6.1.) vor fi introduse în soluția viscoelastică cu concentrația de 32mg/2ml și caracterizate experimental. Pentru o mai bună evaluare, soluția de nanoparticule magnetice a fost diluată în diferite concentrații (concentrația de sinteză a fost diluată de 10, 50 și 100 de ori față de soluția de sinteză).

Probă	Compoziție	Cod probă (la teste de reologie)
1	NPM + HA	3N
2	(NPM + TMOH) + HA	3J
3	((NPM + TMOH) + inulină) + HA	3A
4	NPM/10 + HA	4N
5	(NPM + TMOH)/10 + HA	4J
6	((NPM + TMOH)/10 + inulină) + HA	4A
7	NPM/50 + HA	5N
8	(NPM + TMOH)/50 + HA	5J
9	((NPM + TMOH)/50 + inulină) + HA	5A
10	NPM/100 + HA	6N
11	(NPM + TMOH)/100 + HA	6J
12	((NPM + TMOH)/100 + inulină) + HA	6A

Tabelul 6.1: Compoziția soluțiilor viscoelastice preparate pentru testele de reologie

Nanoparticulele magnetice au fost inițial diluate la concentrațiile dorite, apoi au fost peptizate cu TMOH, și respectiv acoperite cu inulină. Toate eșantioanele au fost funcționalizate cu acid hialuronic, într-un raport volumetric de 1:1. Rezultatele experimentale sunt prezentate în figurile următoare.



Fig. 6.3: Rezultatele testelor reologice pentru soluțiile viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice de tipul (NPM + HA), în diferite concentratii: 3N; 4N; 5N; 6N

Comparativ cu rezultatele obținute pentru soluția viscoelastică fară nanoparticule magnetice (figura 6.1.), graficele pentru probele în care s-a adăugat o anumită concentrație de NPM demonstrează faptul că prin introducerea acestora se micșorează ușor viscozitatea soluțiilor inițiale.

Ţinând cont de concentrația de nanoparticule utilizate, din punct de vedere reologic se poate spune că proprietățile nanoparticulelor variază în funcție de rata de diluție, cele mai bune proprietăți având soluțiile diluate de 50 și 100 de ori față de concentrația inițială. De asemenea, cele mai bune rezultate sunt cele obținute pentru nanoparticulele peptizate cu TMOH și acoperite cu HA – concentrații diluate de 100 și 50 ori, respectiv cele peptizate cu TMOH și acoperite cu HA – concentrații diluate de 100 și 50 ori.



Fig. 6.4: Rezultatele testelor reologice pentru soluțiile viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice de tipul ((NPM + TMOH) + HA, în diferite concentrații: 3J; 4J; 5J; 6J



Fig. 6.5: Rezultatele testelor reologice pentru soluțiile viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice de tipul ((NPM + TMOH) + inulină) + HA, în diferite concentrații: 3A; 4A; 5A; 6A

Rezultatele testelor reologice efectuate sugerează faptul că nanoparticulele magnetice de tipul (NPM + TMOH) + HA și ((NPM + TMOH) + inulină) + HA, în care NPM au fost diluate de 50 și de 100 de ori sunt optime. De asemenea, s-a evidențiat faptul

că soluțiile nediluate au cele mai slabe rezultate pentru fiecare tip de probă și de aceea s-a renunțat în continuare la a mai fi investigate aceste eșantioane.

Pentru a se evidenția influența pozitivă a câmpului magnetic exercitat de magneții permanenți utilizați clinic în combinație cu soluțiile viscoelastice îmbunătățite cu NPM, au fost efectuate teste reologice în câmp magnetic.



Fig. 6.6: Rezultatul testelor de reologie sub influența câmpului magnetic pentru soluția viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice de tip ((NPM + TMOH)/50 + inulină) + HA

Proba ((NPM + TMOH)/50 + inulină) + HA, a prezentat cele mai bune rezultate (Figura 6.6). Se evidențiază faptul că există un comportament mai stabil al soluțiilor după ce au fost expuse unui câmp magnetic (se micșorează sensibil histerezisul pentru "drumul de întoarcere"). Acest fapt confirmă utilitatea și eficiența soluției propuse de a se utiliza magneți permanenți în compoziția ortezei asociate soluției viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule utilizate în tratamentul afecțiunilor genunchiului.

6.2. Testarea proprietăților magnetice a soluțiilor viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament

6.2.1. Utilizarea programului de modelare COMSOL

În cadrul experimentului au fost observate mai multe configurații de magneți în care variază volumul și distanțele dintre ele. În figura următoare (*Fig. 6.4*) sunt prezentate geometriile folosite în cele două procese de optimizare.

S-au luat în considerare două abordări de rezolvare a acestei probleme.

- A. Prima metodă a avut la bază folosirea unei suprafețe de 0,01 m, drept referință, în care au fost amplasați magneții. În acest caz este vorba de o simplă divizare a primului magnet cu dimensiunile de 0,01x0,002 m în matrici de 2, 3, respectiv 4 magneți. Folosind acestă abordare se manevrează proprietățile magneților micșorând suprafața, cât și energia totală a magneților. Se ilustrează condițiile de împărțire a magneților, observându-se o împărțire a magneților permanenți în funcție de gradientul raportului d_1/d_2 , unde d_1 reprezintă lungimea unui magnet, iar d_2 distanța dintre magneți. Astfel geometriile pot fi împărțite pentru fiecare tip de matrice în parte în alte trei cazuri corelate cu valorile raportului d_1/d_2 , și anume:
 - 1) Cazul I: $d_1/d_2 < 1$;
 - 2) Cazul II: $d_1/d_2 = 1$;
 - 3) Cazul III: $d_1/d_2 > 1$.



Fig. 6.7:Matricea de magneți pentru modelele 2D: a) 2 magneți; b) 3 magneți; c) 4 magneți



Fig. 6.8: Geometriile COMSOL pentru primul model de simulare

În figura de mai sus (*Fig. 6.8*) avem diferitele geometrii împărțite pe cazuri, luând în considerare atât numărul magneților cât și distanțele dintre ei, folosite în modelare. Aceste condiții ne aduc în atenție un număr de 9 cazuri. Se va analiza și situația existenței unui singur magnet, pentru a putea face comparațiile pe cazuri. Urmărindu-se modelarea pe cazuri se obțin diferite câmpuri magnetice.

Cele mai importante mișcări ale genunchiului sunt flexia și extensia, la care se cupleză mișcările asociate în plan, rotația și translația. Din această cauză, în acest studiu se va lua în considerare cele două poziții extreme ale genunchiului și anume poziția la 0° și poziția la 90°.

Pentru a putea analiza diferitele situații de poziționare a magneților, se măsoară forțele ce apar în spatele rotulei. Aceste forțe sunt măsurate în $[N/m^3]$ și se evaluează forța volumică, așa cum le descriu ecuațiile Navier-Stokes implementate în COMSOL, în modulul de Fluid Dynamics. Aceasta se poate exprima ca o presiune raportată la unitatea de lungime $[N/m^2 = Pa] / [m] = [N/m^3]$.



Fig. 6.9: Modelarea COMSOL pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90°(dreapta) ilustrând inducția și câmpul magnetic pentru cazurile: a)Un magnet, b) Doi magneți cu dimensiunile 0,004x0,002m (d₁/d₂ < 1), c) Doi magneți cu dimensiunile 0,0034x0,002m (d₁/d₂ = 1), d) Doi magneți cu dimensiunile 0,002x0,002m(d₁/d₂ > 1)

În Figura 6.9 sunt ilustrare două componente ce caracterizează magneții și anume densitatea de flux magnetic și liniile de câmp generate pentru cazul existenței unui singur magnet și cele trei cazuri ale existenței unei matrici de doi magneți poziționați din ce în ce mai depărtați. Se constată faptul că, cu cât distanța dintre magneți se mărește cu atât scad forțele de pe axa Ox, dar și cele de pe axa Oy, ferofluidul având tendința de a se mișca în condiții normale fără a întâmpina forțe opozante. După cum se observă în Figura 6.10, magnitudinea câmpului magnetic generat de o matrice de doi magneți scade de la cazul b) la cazul d).



Fig. 6.10: Modelarea COMSOL pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ilustrând prin intermediul săgeților direcțiile pe axa X și Y a magnetizației genunchiului pentru cazurile: a)Un magnet, b) Doi magneți cu dimensiunile 0,004x0,002m (d₁/d₂ < 1), c) Doi magneți cu dimensiunile 0,002x0,002m(d₁/d₂ > 1), d) Doi magneți cu dimensiunile 0,002x0,002m(d₁/d₂ > 1)

Magnetul cu latura de 0,002 și înalțimea de 0,01m (Figura 6.9 a)) va reprezenta magnetul de referință. Următoarele modelări vor avea la bază forma acestui magnet divizat în matrici de doi, trei și patru magneți pe un model 2D.

Valoarea inducției remanente atinge valoarea de 1,218517 [T], în zona aferentă localizării ferofluidului și îl influențează prin intermediul a două componente una pe direcția axei Ox – Fx, și una pe direcția Oy – Fy. În acest prim caz Fx = -4,20776 [N/m³] și Fy = 0,371098 [N/m³].

Pentru poziția la 0° a genunchiului valorile forțelor sunt $Fx = -4,211314 [N/m^3]$, și respectiv $Fy = 1,13 [N/m^3]$. Bazându-ne pe aceste valori putem concluziona că mișcarea genunchiului dintr-o poziție în alta aduce schimbări în câmpul magnetic preponderent pe direcția Oy, în scopul de a atrage masa de ferofluid în sus, spre partea din spatele rotulei. Această tendință ne este favorabilă, întrucât forța Fy se opune delocalizării ferofluidului din spatele zonei patelo-femurale.

Magnetul exercită o inducție magnetică asupra rotulei de 1,226259 [T], în timp ce zona țintă resimte o valoare mai mică, 1,218517 [T].

Figura 6.10 ilustrează orientarea forțelor ce acționează în fiecare caz. Săgețile arată modul de deplasare care va fi urmat de ferofluidul plasat în spațiul intra-articular.

De la caz la caz se observă scăderi cu aproximativ 1 N/m^3 pe măsură ce crește distanța d₂ în raport cu d₁ în cazul matricei de 2x2.

Urmărind aceeași procedură de simulare, cazurile 3x3 (Figurile 6.11 și 6.12) și 4x4 (Figurile 6.13 și 6.14) prezentate în continuare vor arăta aceeași tendință de deplasare a ferofluidului, atras pe orizontală de forța Fx către magneți și ridicat către rotulă de forța Fy.



Fig. 6.11: Modelarea Comsol pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ilustrând inducția și câmpul magnetic pentru cazurile: a) Trei magneți cu dimensiunile: 0,00225x0,002m (d₁/d₂ < 1), b)Trei magneți cu dimensiunile 0,002x0,002m (d₁/d₂ = 1), c) Trei magneți cu dimensiunile 0,001x0,002m (d₁/d₂ >1)



Fig. 6.12: Modelarea Comsol pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) prin intermediul săgeților direcțiile pe axa X și Y a magnetizației pentru cazurile: a) Trei magneți cu dimensiunile: 0,00225x0,002m (d₁/d₂ < 1), b) Trei magneți cu dimensiunile 0,002x0,002m (d₁/d₂ = 1), c) Trei magneți cu dimensiunile 0,001x0,002m (d₁/d₂>1)



Fig. 6.13: Modelarea Comsol pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ilustrând inducția și câmpul magnetic pentru cazurile: a) Patru magneți cu dimensiunile 0,002x0,002m(d₁/d₂<1), b) Patru magneți cu dimensiunile 0,001429x0,002m (d₁/d₂=1), c) Patru magneți cu dimensiunile 0,001x0,002m(d₁/d₂>1)



Fig. 6.14: Modelarea Comsol pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ilustrând prin intermediul săgeților direcțiile pe axa X și Y a magnetizației pentru cazurile: a) Patru magneți cu dimensiunile $0,002x0,002m(d_1/d_2 < 1), b)$ Patru magneți cu dimensiunile $0,001429x0,002m(d_1/d_2 > 1), c)$ Patru magneți cu dimensiunile $0,001x0,002m(d_1/d_2 > 1)$

Forțe	Condiții	2 magneți	3 magneți	4 magneți	1 magnet 0,01x0,04	1 magnet 0,002x0,01
	Caz I: d ₁ /d ₂ <1	-2,677207	-1,544629	-2,686054		
F_ffx[N/m ³]	Caz II: $d_1/d_2=1$	-1,500033	-1,218848	-1,107127	-675,868462	-4,20776
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	-0,605071	-0,298958	-0,667311		
	Caz I: d ₁ /d ₂ <1	0,23623	0,132684	0,237069		
F_ffy[N/m ³]	Caz II: d ₁ /d ₂ =1	0,128839	0,105626	0,095158	79,579543	0,371098
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	0,053892	0,025224	0,058891		

Tabel 6.2: Valorile forțelor volumice generate în urma modelării în COMSOL a celor 9 cazuri de configurație a magneților pentru articulația genunchiului la 0°

 Tabel 6.3: Valorile forțelor volumice generate în urma modelării în COMSOL a celor 9 cazuri de configurație a magneților pentru articulația genunchiului la 90°

Forțe	Condiții	2 magneți	3 magneți	4 magneți	1 magnet 0,01x0,04	1 magnet 0,002x0,01
	Caz I: d ₁ /d ₂ <1	-4,040907	-2,830486	-4,058452		
F_ffx[N/m ³]	Caz II: d ₁ /d ₂ =1	-2,74248	-2,266462	-2,03011	-318,605131	-4,211314
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	-0,984864	-0,551917	-0,990473		
	Caz I: d ₁ /d ₂ <1	1,089556	0,751898	1,09923		
F_ffy[N/m ³]	Caz II: $d_1/d_2=1$	0,721633	0,609243	0,539532	67,541691	1,130408
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	0,2575	0,144148	0,261463		

Folosind datele din tabelele 6.2 și 6.3, graficele din figurile 6.15 și 6.16 se poate arăta influența parametrului d_2 asupra intensității câmpului.

Conform reprezentațiilor din graficele prezentate în continuare, se poate observa comportamentul neuniform al magneților poziționați în matricea de 4x4. Această inflexiune a curbei determină faptul că matricea 4x4 are cel mai bun comportament și deci, este cea mai bună alegere în vederea aplicațiilor articulare. Într-adevăr se poate observa o asemănare între matricile de 2 magneți și matricile de 4 magneți, dar acest lucru este valabil doar pentru primul caz al raportului d_1/d_2 . Curba corespunzătoare matricii 2x2 prezintă o evoluție liniară care este nefavorabilă pentru livrarea medicamentelor.



Fig. 6.15: Reprezentarea celor 3 curbe date de forțele volumice pe direcțiile: stânga - Ox, aplicate pe modelul articulației poziționate în unghi de 0°, ce au tendința de a atrage ferofluidul către magneți și dreapta - OY, aplicate pe modelul articulației poziționate în unghi de 0°, ce au tendința de a se împotrivi alunecării ferofluidului sub forțele de presiune existente în articulație.



Fig. 6.16: Reprezentarea celor 3 curbe date de forțele volumice pe direcțiile: stânga - Ox, aplicate pe modelul articulației poziționate în unghi de 90°, ce au tendința de a atrage ferofluidul către magneți și dreapta - OY, aplicate pe modelul articulației poziționate în unghi de 90°, ce au tendința de a se împotrivi alunecării ferofluidului sub forțele de presiune existente în articulație.

B. Cea de-a doua parte a modelării ia în considerare o suprafață de acțiune de 10 ori mai mare decât cea precedentă, având la bază justificarea, că o suprafață care acoperă toată zona de interes ar avea o eficacitate mai mare. Astfel am obținut un număr de 18 cazuri cumulate pentru pozițiile extreme. Geometriile vizate iau în considerare modificarea celor două dimensiuni ale magneților, dar păstrând în întreg sistemul aceeași energie. Volumul componentelor va reprezenta numitorul comun în toate.



Fig. 6.17: Geometriile COMSOL pentru ce de-al doilea model de simulare

Similar, optimizării precedente, se va păstra modul de poziționare al magneților corelat cu gradientul raportului d_1/d_2 .

În acest al doilea studiu de simulare mărimea magneților se reflectă în forțele volumice pe care le generează. Pentru primul caz al matricei de 2 magneți, Fx = -5787, 15 N/m³, o valoare de 5000 de ori mai mare decât în primul studiu simulare. Se are în vedere faptul că în primele simulări divizarea magneților avea drept consecință și scăderea energiei totale din sistem. Similar cazurilor precedente, odată cu creșterea distanței dintre magneți scade forța volumică pe axa Ox ce are rolul de a atrage particulele. Acest lucru este fundamentat și de faptul că acești magneți cu cât sunt mai apropiați cu atât au un comportament mai unitar tinzând să formeze un singur magnet.

În figurile următoare este reprezentată densitatea de flux magnetic pentru aceleași cazuri prezentate și anterior, adaptate configurației geometriei corespunzătoare celui de-al doilea proces de optimizare și anume:

- Doi magneți cu dimensiunile: a) 0,04x0,03m, b) 0,035x0,035m, c) 0,03x0,04m (*Fig. 6.18*);
- Trei magneți cu dimensiunile: a) 0,03x0,025m, b) 0,02x0,035m, c) 0,01x0,055m (*Fig. 6.19*);
- Patru magneți cu dimensiunile: a) 0,02x0,025m, b) 0,015x0,035m, c) 0,01x0,05m (*Fig. 6.20*).



Fig. 6.18: Modelarea COMSOL pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ilustrând inducția și câmpul magnetic în cazul utilizării a doi magneți cu dimensiunile: a) 0,04x0,03m (d1/d2 < 1), 0,035x0,035m (d1/d2 = 1), c) 0,03x0,04m (d1/d2 > 1)



Fig. 6.19: Modelarea COMSOL pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ilustrând inducția și câmpul magnetic în cazul utilizării a trei magneți cu dimensiunile: a) 0,03x0,025m (d1/d2 < 1), 0,02x0,035m (d1/d2 = 1), c) 0,01x0,055m (d1/d2 > 1)



Fig. 6.20: Modelarea COMSOL pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ilustrând inducția și câmpul magnetic în cazul utilizării a patru magneți cu dimensiunile: a) 0,02x0,025m (d1/d2 < 1), b) 0,015x0,035m (d1/d2 = 1), c) 0,01x0,05m (d1/d2 > 1)

Conform figurilor anterioare, putem observa apelând la culorile identificatoare ale densității de flux magnetic, o colorație galbenă pentru cazul a), ce sugerează prezența unui câmp magnetic cu inducția apropiată de 1,2 T. În cazurile b) și c) interacțiile dintre magneți cauzează o scădere a puterii lor de atragere.

Un efect de nedorit care apare în cazurile prezentate este comportamentul forței volumice pe direcția Oy, care înregistrând doar valori negative mari tinde să miște masa de nanoparticule în direcția fortei de gravitație, opusă obiectivelor noastre.

Pentru a avea cele mai bune rezultate în livrarea medicamentelor în zona țintă patelo-femurală, conform rezultatelor obținute după modelarea matematică a magneților, putem concluziona că este nevoie de o matrice formată din 4 linii a câte 4 magneți care să poată fi fixate în apropierea rotulei, la distanțe aferente raportului: d1/d2<1, pentru a avea o concentrare cât mai mare de nanoparticule magnetice funcționalizate în apropierea rotulei.

În tabelele 6.4 și 6.5 sunt prezentate valorile forțelor volumice pentru fiecare direcție, Ox și Oy, rezultate în fiecare caz studiat și respectiv, pentru fiecare poziție a genunchiului. Valorile forței volumice Fy, conform tabelului 6.4, sunt preponderent negative, cazul poziționării a patru magneți pe aceași linie fiind singura variantă care prezintă un comportament optim dintre toate cele trei opțiuni de alegere a magneților.

Această concluzie este atestată și de valorile obținute pentru modelările matematice în poziția de flexie, la un unghi de 90°, ale articulației genunchiului, unde, cu toate că varianta alegerii unei matrici cu doi magneți generează câmpul magnetic cel mai puternic, varianta prezentată în figura 6.21 - stânga este susținută de rezultatele simulării la 0° ale articulației genunchiului, prezentată în figura 6.17.

configurație a magnețiior pentră a neurația genanentată în 0				
Forțe	Condiții	2 magneți	3 magneți	4 magneți
	Caz I: d ₁ /d ₂ <1	-5787,148562	-52,804538	-769,02699
F_ffx[N/m ³]	Caz II: $d_1/d_2=1$	-2812,83292	27,980095	-238,696417
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	-2553,342974	-26,418441	-51,826946
	Caz I: $d_1/d_2 < 1$	-816,07387	-249,575446	-234,165625
F_ffy[N/m ³]	Caz II: $d_1/d_2=1$	-1764,591395	-159,027015	218,835868
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	-1707,281901	39,54396	58,474645

Tabel 6.4: Valorile forțelor volumice generate în urma modelării în COMSOL a celor 9 cazuri de configurație a magneților pentru articulația genunchiului la 0°

Tabel 6.5: Valorile forțelor volumice generate în urma modelării în COMSOL a celor 9 cazuri de configurație a magneților pentru articulația genunchiului la 90°

Forțe	Condiții	2 magneți	3 magneți	4 magneți
	Caz I: d ₁ /d ₂ <1	-1837,395508	-1547,774242	-1387,155461
F_ffx[N/m ³]	Caz II: d ₁ /d ₂ =1	-1223,25802	-821,797657	-1113,182765
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	-796,643546	-172,381984	-680,469698
	Caz I: d ₁ /d ₂ <1	1422,907126	951,632468	583,505956
F_ffy[N/m ³]	Caz II: $d_1/d_2=1$	1710,927069	880,339808	789,183377
	Caz III: d ₁ /d ₂ >1	1647,965021	223,488876	471,026188



Fig. 6.21: Reprezentarea celor 3 curbe date de forțele volumice: stânga - pe direcția Ox, aplicate pe modelul articulației poziționate în unghi de 0°, ce au tendința de a atrage ferofluidul către magneți și dreapta - pe direcția Oy, ce au tendința de a se împotrivi alunecării ferofluidului sub forțele de presiune existente în articulație.



Fig. 6.22: Reprezentarea celor 3 curbe date de forțele volumice: stânga - pe direcția Ox, aplicate pe modelul articulației poziționate în unghi de 90°, ce au tendința de a atrage ferofluidul către magneți și dreapta - pe direcția Oy, ce au tendința de a se împotrivi alunecării ferofluidului sub forțele de presiune existente în articulație.

Întrucât dimensiunile magneților aleși după studiul comparativ al forțelor volumice pe care le generează sunt prea mari și din punct de vedere al funcționalității nepotriviți, am încercat o optimizare a două cazuri considerate potrivite în urma celui de-al doilea studiul de modelare.

Cele două variante de poziționare alese pentru optimizare au fost:

- 1) Doi magneți Caz I (Figura 6.17 a);
- 2) Patru magneți Caz I (Figura 6.17 b).



Fig. 6.23: Modelarea COMSOL ilustrând inducția și câmpul magnetic pentru cele două poziții de referință: 0° (stânga) și 90° (dreapta) ale articulației: a) în cazul matricii 2x2 după procesul de optimizare și b) în cazul matricii 4x4 după procesul de optimizare

În urma procesului de optimizare al dimensiunilor se poate observa că pentru poziția extremă la 0°, forța volumică Fy pentru cazul alegerii a doi magneți, și-a micșorat considerabil valorile, în timp ce component pe Ox își menține puterea la Fx = -473,203232.

În urma procesului de optimizare, pentru a avea cele mai bune rezultate în livrarea medicamentelor în zona țintă, patelo-femurală, conform rezultatelor obținute după modelarea matematică a magneților, putem concluziona că avem nevoie de o matrice formată din 2 linii a câte 2 magneți care să poată fi fixate în apropierea rotulei, la distanțe aferente raportului: d1/d2<1, pentru a avea o concentrare cât mai mare de nanoparticule magnetice funcționalizate în apropierea patelei. Pentru a compensa valorile negative ale forței volumice pe axa Oy vom alege magneți cu o componentă Fx mai mare, fapt realizabil prin mărirea inducției remante a magnetului de la 1,22 T la 1,42 T. În tabele următoare sunt prezentate forțele volumice pentru fiecare poziție a genunchiului și penru fiecare direcție de acțiune a forțelor, rezultate în urma procesului de optimizare.

Tabel 6.6: Valorile forțelor volumice generate în urma modelării în COMSOL a celor 2 cazuri de
optimizare a configurație magneților pentru articulația genunchiului la 0°

Condiții	Optimizarea magnet 2x2	Optimizare magnet 4x4
Caz I: d1/d2<1 Caz II: d1/d2=1 Caz III: d1/d2>1	Fx = -473,203232 "B = 1,42" Fx = -641,068931	Fx = -19,214933 "B = 1,42" \clubsuit Fx = -26,031303

Caz I: d1/d2<1	Fy = -111,376672	Fx = -11,09014
Caz II: d1/d2=1	"B = 1,42" ↓	"B = 1,42" ♥
Caz III: d1/d2>1	Fy = -150,886805	Fy = -15,024293

Tabel 6.7: Valorile forțelor volumice	e generate în urma	modelării în COMSOL a celor 2	2 cazuri de
optimizare a configuratie	magnetilor pentru	ı articulatia genunchiului la 90°	

Condiții	Optimizarea magnet 2x2	Optimizare magnet 4x4
Caz I: d1/d2<1 Caz II: d1/d2=1 Caz III: d1/d2>1	Fx = -146,014244 "B = 1,42" Fx = -197,811826	Fx = $-53,190304$ "B = $1,42$ " Fx = $-72,05921$
Caz I: d1/d2<1 Caz II: d1/d2=1 Caz III: d1/d2>1	Fy = 145,775664 "B = 1,42" ↓ Fy = 197,488611	Fx = $39,457118$ "B = $1,42$ " Fy = $53,454269$

6.2.2. Testarea efectului magneților permanenți asupra fluidului cu nanoparticule magnetice

Având propria suprafață acoperită, nanoparticulele magnetice pot fi dispersate în solvenți corespunzători, pentru a forma suspensii omogene, așa numitele ferofluide.

Nanoparticulele magnetice pot fi acoperite cu molecule bioactive care pot să interacționeze cu anumite entități, monitorizând transportul și eliberarea acestora la țintă. Ele se pot constitui astfel, în transportatori de medicamente.

După ce sunt direcționate și ajung în spatele patelei, nanoparticulele magnetice eliberează local compusul bioactiv. Administrarea orală a proteinelor ca atare întâmpină o serie de obstacole înainte de a fi absorbite în sistemul circulator. Dintre acestea pot fi menționate: degradarea acidă și enzimatică în stomac, permeabilitatea scăzută a mucoasei intestinale. Pentru îndepărtarea acestor obstacole s-a încercat protejarea proteinelor (de exemplu a inulinei) prin încapsularea în hidrogeluri, în lipozomi, în nanoparticule de polimeri.

În urma unor încercări preliminare s-a realizat și un test pe un model experimental, pentru a verifica dacă într-adevăr particulele în a căror matrice se găsesc particule de acid hialuronic interacționează cu sursa de câmp magnetic. Această sursă este reprezentată de diferitele aranjamente de magneți permanenți.

Inulina și nanoparticulele co-încapsulate în polimerul biodegradabil sunt orientate și localizate cu ajutorul unui câmp magnetic în zona articulației genunchiului.



Fig. 6.24: Amplasamentul celor patru soluții în vederea realizării experimentului

Am întreprins un experiment pe baza căruia se analizează dacă într-adevăr magneții permanenți pot atrage particulele magnetice. Astfel, în figura 6.24 este prezentat amplasamentul a 4 probe cu diferite compoziții.

Scopul aplicației este acela de a determina care este retenția de nanoparticule pe peretele recipientului în apropierea magneților ce vor fi amplasați la diferite distanțe de probe.

Experimentul va avea la bază 2 parametri:

- Timpul: Se vor analiza probele la 3, 10, 15 minute după expunerea la câmpul magnetic;
- Distanța d: Magnetul va fi poziționat față de probă la 3 mm (d1), 5 mm (d2) și 12 mm (d3) Figura 6.25.



Fig. 6.25: *Poziționarea probelor în raport cu magneții în cazul dispozitivul experimental:* $d_1=3 \text{ mm}, d_2=5 \text{ mm}, d_3=12 \text{ mm}$

Pentru a putea determina care este influența magnetului asupra probei s-au efectuat verificări la 3 timpi, urmând un al patrulea caz în care probele au fost lăsate până retenția magnetică a fost maximă.



Fig. 6.26: *Poziționarea probelor pentru prima etapă a experimentului,* $d_2 = 5 \text{ mm}$

Proba 6M reprezintă proba pilot, ea conținând o solutie lichidă de hialuronat de sodiu cu proprietăți viscoelactice. Nanoparticulele magnetice sunt constituite din nanoparticule de magnetită, acoperite cu inulină și apoi cu acid hialuronic. Ultima acoperire este biodegradabilă, având proprietatea de a livra medicamentul. Acidul hialuronic reprezintă medicamentul a cărui concentrație trebuie fie maximă în zona din spatele rotulei. Soluțiile experimentale, în număr de patru au o concentrație de nanoparticule diferită (3M 1%, 1M 10% și 8M 100%). Soluția conținută în recipientul 3M este neacoperită fiind constituită doar din nanoparticule magnetice de magnetită și un polimer (inulină).



Fig. 6.27: Proba 1M după 15 minute de la începerea experimentului (stânga) și Proba 3M după 35 minute de la începerea experimentului (dreapta)

Toate încercările au fost făcute folosind un magnet permanent de NdFeB cu dimensiunile de 20x10x5 mm ce generează un câmp magnetic de 1,2 Tesla. Se pot observa încercările experimentale de a analiza care sunt efectele câmpului magnetic asupra probei 1M care a prezentat cea mai mare retenție magnetică, folosind inițial un singur magnet și ulterior o matrice de 2x2 magneți. Întrucât forțele de atracție între magneți sunt foarte mari, stabilizarea lor într-un anumit aranjament este dificilă.



Fig. 6.28: Configurație de doi magneți pe linie amplasați într-un suport textil armat cu separatoare de plastic



Fig. 6.29: Simularea efectului unui magnet permanent cu dimensiunile de 20x10x5 mm asupra ferofluidului cu nanoparticule suplimentând modelul cu o porțiune de țesut

Distanța dintre magnetul permanent și proba 1M este corespunzătoare distanței d3 din prima parte a experimentului în absența materialului tisular.

Pe măsură ce se mărește distanța dintre probe și magneți, numărul particulelor se micșorează. După 3 minute deja se poate observa cum pe peretele dinspre magnet pentru probele 1M și 3M s-au acumulat un număr de nanoparticule magnetice. Doar un număr de câteva particule s-au deplasat către pereți, mișcarea celorlalte fiind îngreunată de compoziția vâscoasă a acidului hialuronic. După o expunere de 15 minute, o proporție de 40% s-a agregat pe peretele din apropierea magnetului în cazul probei 3M. Menținerea celor două componente ale dispozitivului timp de 45 de minute va prezenta cea mai bună retenție magnetică. Proba 1M având o concentrație mai mare de particule necesită o interacție mai îndelungată cu magnetul pentru a avea retenția mai mare. Proba 8M nu prezintă nici o modificare vizibilă, tocmai datorită concentrației prea ridicate de nanoparticule și a acoperirilor.

Concluzionând, cu cât perioada de expunere la câmpul magnetic depășește pragul de 15 minute cu atât obiectivul de a avea o retenție magnetică foarte bună este îndeplinit.

Introducerea în sistemul dispozitivului a unui țesut cu caracteristici apropiate aplicației articulației genunchiului, va determina un obstacol care va atenua efectul câmpului magnetic și va genera necesitatea de a mări puterea de atracție a magnetului.

6.3. Testarea biocompatibilității soluțiilor viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament

Pentru efectuarea testelor de citotoxicitate au fost selectate următoarele eșantioane experimentale (Tabel 6.8).

Probă	Compoziție
Proba 1	NPM/10+HA
Proba 2	(NPM+TMOH)/10+HA
Proba 3	((NPM+TMOH)/10+Inulină)+HA
Proba 4	NPM/50+HA
Proba 5	(NPM+TMOH)/50+HA
Proba 6	((NPM+TMOH)/50+Inulină)+HA
Proba 7	NPM/100+HA
Proba 8	(NPM+TMOH)/100+HA
Proba 9	((NPM+TMOH)/100+Inulină)+HA
Proba 10	Soluție viscoelastică HA concentrație 32mg/2ml

Tabel 6.8: Compoziția soluțiilor viscoelastice preparate pentru testele de citotoxicitate

NPM – nanoparticule magnetice TMOH – agent de dispersare (hidroxid de tetrametilamoniu) INULINA – agent de acoperire (inulină)

HA – acid hialuronic

/10, /50, /100 – diluat de 10, 50 sau 100 ori față de concentrația de sinteză

Soluțiile pregătite pentru testele de citotoxicitate au fost preparate și apoi s-a adus pH-ul la valoarea de 7,4. Ca probă de referință (proba 10), a fost utilizată soluția viscoelastică de hialuronat de sodiu cu o concentrație de 32 mg/2ml. Sterilizarea soluțiilor experimentale s-a efectuat prin iradiere flash γ .

Biocompatibilitatea soluțiilor viscoelastice experimentale a fost evaluată prin utilizarea unui test de citotoxicitate *in vitro* folosind cultură de celule tip L929. Testarea a fost efectuată la nivelul Institutului Cantacuzino. Testul îndeplinește cerințele standardelor internaționale (ISO 10993-5, "Metode Teste pentru citotoxicitatea - *in vitro*."). În conformitate cu metodele standard de testare a citotoxicității, monostraturile au fost cultivate la confluență apropiată, în recipiente și apoi expuse direct la soluțiile viscoelastice îmbunătățite cu nanoparticule magnetice de testat.

Pentru acest scop, celulele au fost cultivate în mediu Dulbecco Eagle modificat (MDEM) (Sigma-Aldrich, Inc St Louis, MO), suplimentat cu 10% ser bovin fetal (FBS) (BIOCHROM AG, Berlin, Germania) și 100 U/ml penicilină-streptomicină (Lonza, Verviers, Belgia) și se incubează la 37^oC într-o atmosferă umidificată cu 5% CO₂, în platjos 96 de plăci și culturi de țesuturi (concentrația de pornire: 6x105 celule/ml, 100 L/bine).

După incubare, celulele au fost expuse la diluții serie de compuși de testare (a început cu $\frac{1}{4}$) pentru 24 de ore la 37^oC într-o atmosferă umidificată cu 5% CO₂.

Se impune precizat de la început faptul că probele diluate de 10 ori (proba 1, 2 si 3) au avut un caracter toxic pentru cultura de celule (50% viabilitate celulară) și au fost eliminate din studiu.

Probele 5, 6, 8 și 9 pot fi considerate cu un grad mai mare de biocompatibitate deoarece viabilitatea celulelor L929 a fost mai mare de 80%, similar cu control. Conform rezultatelor prezentate în figura de mai jos, probele diluate în proportie mare (100) au avut cele mai apropiate rezultate de soluția de referință (proba 10).

În ceea ce privește tipul de acoperire utilizat, rezultate bune în ceea ce privește viabilitatea celulară au prezentat soluțiile de tipul (NPM + TMOH)/50 + HA și ((NPM +





Fig. 6.30: Reprezentare grafică a rezultatelor testelor de citotoxicitate

Astfel, se constată faptul că soluțiile viscoelastice cu o concentrație de hialuronat de sodiu de 32mg/2ml îmbunătățite cu nanoparticule magnetice de tipul ((NPM + TMOH)/50 + Inulină) + HA au demonstrat cele mai bune rezultate, atât în ceea ce privește caracteristicile structurale, ale proprietăților reologice, ale comportamentului în câmp magnetic și al testelor de biocompatibilitate, ceea ce înseamnă că sunt îndeplinite toate cerințele preclinice necesare în studiul nostru.

Deci, aceste probe pot fi utilizate la realizarea kitului complex pentru tratarea afecțiunilor articulare (orteză cu magneți permanenți + soluție viscoelastică pe bază de hialuronat de sodiu îmbunătățită cu nanoparticule magnetice).

CAPITOLUL 7: REALIZAREA ȘI UTILIZAREA PRACTICĂ A SISTEMULUI COMPLEX DE ORTEZĂ CU MAGNEȚI ASOCIATĂ CU O SOLUȚIE VISCOELASTICĂ ÎMBUNĂTĂȚITĂ CU NANOPARTICULE MAGNETICE PURTĂTOARE DE MEDICAMENT

7.1. Realizarea ortezei cu magneți

Rolul dispozitivului medical ortetic este de a proteja sau corecta poziția rotuliană și de a susține și menține localizarea magneților permanenți activi pe zona femuro-patelară. Deorece dispozitivul necesită perioade lungi de utilizare, modelul textil al ortezei trebuie să fie anatomic pentru a influența minim circulația periferică și mobilitatea genunchiului. Dispozitivul a fost astfel conceput încât să permită fixarea magneților conform matricei de optimizare. Selectarea celui mai bun material este pasul cheie în procesul de proiectare.

Conceptul clinic de la care se pornește în alegerea unui model optim funcțional de orteză este faptul că fiecare pacient prezintă nevoi singulare, astfel că fiecare orteză trebuie să fie personalizată cu specificații care să satisfacă aceste nevoi. Pentru obținerea acestui lucru trebuie să se urmărească anumite etape în ceea ce privește proiectarea unei orteze.

Primul pas în procesul de selecție este definirea problemei (nevoii) pacientului în termeni de instabilitate sau mișcare anormală pe care trebuie să le corecteze dispozitivul. Acest lucru necesită o înțelegere a rolului funcțional al genunchiului, al ligamentelor și structurilor capsulare și de asemenea al mișcărilor controlate de către fiecare element anatomic, precum și un examen atent pentru depistarea unei leziuni de structuri specifice.

Cel de-al doilea pas este de a se stabili rolul funcțional al ortezei și așteptările pacientului cu privire la efectul utilizării dispozitivului. Orteza este necesară pentru a preveni avansarea unei leziuni, pentru a compensa instabilitatea cronică provocată de un deficit ligamentar, pentru a susține vindecarea în cazul fracturilor sau atunci când s-a realizat o reconstrucție. Aceste orteze vor fi utilizate în activitățile obișnuite din viața de zi cu zi, dar au și scopul de a obține refacerea pacientului astfel încât acesta să poată relua participarea în activități sportive.

Cel de-al treilea pas este acela de a asigura și satisface nevoile fiecărui pacient. Efectul funcțional pozitiv al ortezei poate fi influențat de mai mulți factori, cum ar fi: vârsta, nivelul de activitate, motivația, așteptările și cerințele de reabilitare, care dețin un rol important în luarea deciziilor terapeutice și recomandările medicului curant.

Conform studiilor anterioare despre aplicațiile pentru care este destinată proiectarea dispozitivului complex, acesta se mulează cel mai bine pe specificațiile ortezelor patelofemurale. S-a realizat proiectarea a două modele de orteze care să îndeplinească condițiile optime de funcționare, în scopul de a obține modelul ideal care să suporte nevoile pacienților. Dispozitivul ortetic a fost astfel conceput încât să permită fixarea magneților conform matricei de optimizare. Pentru optimizarea design-ului ortezei de genunchi, s-au urmărit următorii pași:

- Alegerea dimensiunilor corespunzătoare pentru orteză => Cotarea desenului 2D în AutoCAD;
- Construirea compartimentelor pentru inserarea inelului siliconat cu rol de susținere și a tijelor de susținere, cât mai apropiate de cerințele funcționale optime prin untilizarea unui set de comenzi din AutoCAD – Extrudare;
- Decuparea compartimentelor în zona de localizare a rotulei, pentru prima variantă de orteză, necesară unei mai bune fixări a ortezei pe articulația genunchiului (se utilizează comanda Substract);
- Finisarea muchiilor pentru a facilita asamblarea finală a viitorului prototip.

În schema din figura 7.1. se pot observa toate elementele constitutive ale alcătuirii primei orteze. În partea stângă este prezent desenul preliminar de la care s-a pornit adăugarea elementelor de material și de construcție.



Fig. 7.1: Schema proiectării în AutoCAD pentru prima propunere de orteză patelofemurală

Acestă primă opțiune de proiectare a ortezei depinde de circumferința genunchiului pentru care este destinată, dar și de modalitățile de prindere în jurul articulației genunchiului. După cum se poate observa, matricea de magneți permanenți nu poate fi plasată în zona rotulei, din cauza geometriei și a construcției dispozitivului, întrucât nu există material de susținere în zona rotulei, aceasta fiind descoperită. Aceste considerații conduc la concluzia că modelul propus nu îndeplinește cele mai bune criteriile funcționale și de optimizare dorite pentru livrarea cât mai eficientă a medicamentelor conținute de soluția feritică.

Pentru soluționarea acestei probleme de design, s-a proiectat un nou model de orteză femuro-patelară care să cuprindă o suprafață mai mare și mai localizată pe zona țintă. Astfel, schema din figura 7.2. a pornit de la aceleași considerente ca orteza precedentă la care s-au adăugat unele modificări specifice:

- Acoperirea cât mai eficientă a articulației genunchiului în condițiile în care se păstrează mobilitatea articulației și nu apar constrângeri ale mișcării. În acest scop a fost inserată o porțiune supra-elastică în spatele articulației pentru a imita cât mai bine mișcarea propriu-zisă a acesteia;
- Păstrarea elementelor de susținere poziționate de-o parte și de alta a genunchiului și cu o lungime a segmentului mai mare decât la modelul precedent.
- Proprietățile materialului din care va fi fabricată orteza vor conferi un grad înalt de uşurință în poziționarea ei pe genunchi.



Fig. 7.2: Schema proiectării în AutoCAD a celei de-a doua propunere de orteză patelofemurală

Dispozitivul final va avea un manșon elastic conform modelului din figurile 7.3 și 7.4. Acesta va putea fi folosit în asociere cu o serie de dispozitive adjuvante:

- Magneți de uz medical din neodim (NdFeB neodim fier bor);
- Pernuțe de presiune pentru mobilizare patelară;
- Cadru metalic ușor pentru suport biomecanic al membrului pelvin cu afectare artrozică la nivelul genunchiului.

Orteza va fi prevăzută cu un sistem de structuri de rezistență pe ambele compartimente ale genunchiului, prin care vom obține un sistem deosebit de stabil de

orientare - complexul de șine cu pernuțele de presiune integrate, in asociere cu două curele corectoare, permite stabilizarea poziției rotulei și activează musculatura, accelerând procesul de vindecare.



Fig. 7.3: Schița de profil a celui de-al model experimental de orteză femuro-patelară

Orteza este alcătuită din următoarele componente (figurile 7.3. și 7.4.):

- ➤ a zona de inserţie a magneţilor terapeutici cu ţintă spre compartimentul femuropatelar intern respectiv extern;
- b sistem de fixare prin curele elastice cu VELCRO® pentru ajustarea şi pretensionarea ortezei;
- c decupaj posterior pentru a permite mobilitatea maximă în flexie, fără a intra în conflict cu ţesuturile moi;
- d sistem adjuvant de fixare a magneților terapeutici sau a pernuțelor (pad, inel siliconic) pentru inelul patelar.



Fig. 7.4: Imagini ale modelului experimental al ortezei

Însumând caracteristicile acestui model, rezultatul va fi în concordanță cu cerințele de funcționalizare ale dispozitivului complex de orteză cu magneți permanenți asociată cu o soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament. Datorită construcției care acoperă întreaga zonă a articulației genunchiului, componenta magnetică, va putea fi susținută în zona vizată, indiferent de configurația magneților aleși.

Orteza de genunchi este realizată din NEOPREN® la exterior și căptușită cu material hipoalergenic la interior, are o deschidere circulară pentru centrare pe rotulă și un sistem de închidere cu benzi de VELCRO®. Aceasta este prevăzută cu buzunare speciale pentru amplasarea magneților permanenți de tip NdFeB (cod N38 și N40) în poziții optime calculate prin simularea efectului câmpului magnetic asupra nanoparticulelor magnetice

conținute de substanța viscoelastică injectată, utilizând pachete software dedicate, așa cum a fost prezentat anterior.

Design-ul special al ortezei, materialul elastic de tip NEOPREN®, modalitatea de fixare cu bandelete VELCRO®, o fac ușor de tolerat de către pacient și asigură o poziționare corectă a magneților pe parcursul tratamentului. Pacientul este instruit să poarte orteza cât mai mult timp, zilnic, inclusiv noaptea, putând să o scoată doar pentru activitățile conexe legate de igiena personală, pe parcursul celor 3-6 săptămâni de tratament.

S-a stabilit anterior că dispunerea magneților în matrice de 4x4, este poziția optimă pentru controlul în zona articulației femuro-patelare a genunchiului, dar adaptarea se poate face în funcție de localizarea afectării articulare – în jurul rotulei pentru afectările patelo-femurale sau în jurul fiecarui compartiment (medial sau lateral) în afectările tibio-femurale.

Componentele de material magnetic, determinate prin testări experimentale având codificările internaționale N38, N40, au formă paralelipipedică și sunt adaptate într-o matrice de 4x4 magneți, flexibilă ca structură în funcție de zona țintă (peri-rotulian, intertibio-femural etc). Câmpul magnetic creat concentrează (datorită proprietăților nanoparticulelor magnetice biofuncționalizate prin acoperire cu hialuronat) substanța în compartimentul afectat în care se dorește ca proprietățile substanței viscoelastice să fie maxime și astfel scoate, parțial, din încărcare cartilajul articular afectat, oferindu-i timp pentru vindecare.

Magneții utilizați sunt concepuți pentru uz medical, având dimensiuni de ordinul 2-3 cm, un câmp larg +1000 Gauss la suprafață, ceea ce permite o penetrabilitate suficientă în țesuturile umane (circa 50 cm conform specificațiilor producătorului). Numărul, dimensiunile și amplasarea magneților, ca și inducția remanentă a câmpului magnetic creat de aceștia au fost determinate prin analize realizate cu programe software dedicate modelării și analizei câmpului magnetic în etapele anterioare ale acestei lucrări.

7.2. Modalitatea de utilizare clinică a sistemului complex

În ceea ce privește utilizarea practică a sistemului complex de orteză cu magneți permanenți asociată cu o soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament, în acest subcapitol se prezintă metoda clinică de terapie a afecțiunilor articulare pe baza efectului câmpului magnetic și a viscosuplimentării controlate.

Astfel, kitul terapeutic conține următoarele componente (figura 7.5):

- Fiola cu substanță viscoelastică sterilă cu nanoparticule magnetice acoperite cu acid hialuronic;
- > Orteză de genunchi mobilă cu magneți de uz terapeutic NdFeB.



Fig. 7.5: Componentele kitului terapeutic a sistemului complex de orteză cu magneți permanenți asociată cu soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice purtătoare de medicament

În continuare se va detalia protocolul de lucru pentru utilizarea, în practica medicală, a viscosuplimentării controlate magnetic. Se elaborează următoarea metodă clinică, care include etapele:

1. Precizarea topografiei și profunzimii leziunii cartilaginoase

Se face utilizând următoarele metode:

- Metodele clinice (anamneza precisă, care precizează sediul durerii, circumstanțele de declanșare și agravare a durerii, evoluția în timp);
- Metode radiologice: radiografie de genunchi bilateral incidență anteroposterioară, în încărcare și flexie de 30 grade, radiografie bilateral profil;
- Metode imagistice: examen RMN al genunchiului, metode artroscopice: examinarea artroscopică a genunchiului cu precizarea topografiei şi profunzimii leziunii, în concordanţă cu clasificările acceptate internaţional (Outerbridge, ICRS). Imaginile artroscopice vor fi stocate şi se vor compara cu rezultatele examinării artroscopice minim invazive (optic minim 1,6 mm) post-terapie.

La sfârșitul etapei 1 se cunoaște explicit zona afectată, cu dimensiuni și grade de profunzime și se poate întocmi o fișă cu aceste date care reprezintă martorul cu care, la sfârșitul tratamentului, se evaluează rezultatele folosirii viscosuplimentării controlată magnetic și în același timp se stabilește zona, în care se fixează magneții pe parcursul tratamentului, pentru a obține rezultate clinice optime.



Fig. 7.6: Imaginea clinică în care se observă evidențierea zonei de interes pentru aplicarea kitului terapeutic de orteză cu magneți permanenți

2. Injectarea substanței viscoelastice care conține nanoparticule

În funcție de rezultatul etapei precedente se alege compartimentul în care se face injectarea intra-articulară: intern, extern sau femuro-patelar.

Poziția pacientului este în decubit dorsal, cu genunchiul în flexie de 70°- 90° pentru compartimentul intern sau extern și în decubit dorsal cu genunchiul în flexie de circa 30° în cazul compartimentului femuro-patelar. Genunchiul este pregătit prin badijonare cu o substanță antiseptică (betadină soluție 10 %). Medicul care injectează substanța trebuie să fie familiarizat cu anatomia regiunii, pentru a evita puncționarea vaselor, nervilor sau structurilor tendinoase din vecinătate.



Fig. 7.7: Soluția viscoelastică injectabilă utilizată

Anterior injectării trebuie excluse contraindicațiile generale ale administrării substanțelor viscoelastice, respectiv: leziuni active ale pielii, dermatita, bacteriemie cunoscută, osteomielită periarticulară diagnosticată, coagulopatie necontrolată, prezența unui implant permanent - artroplastie cu proteză totală genunchi.

Se stabilesc reperele anatomice în raport de care se va efectua injectarea substanței. Acestea sunt:

- Marginea laterală a rotulei,
- Marginea inferioară a rotulei,
- Marginile medială și laterală a tendonului rotulian,
- ▶ Nivelul interliniului articular (Fig. 7.8).



Fig. 7.8: Injectarea soluției viscoelastice la nivelul interliniului articular (reprezentare schematică)

Reperele pot fi desenate anterior procedurii cu un marker (Fig. 7.6).

Pentru injectarea în compartimentul femuro-patelar se folsește abordarea parapatelară, cu genunchiul în flexie de 10°. Punctul de intrare este situat la 3 mm inferior de jumătatea feței laterale a rotulei iar acul se poziționează perpendicular pe femur și în direcția spațiului intercondilian.

Pentru injectarea în compartimentul intern sau extern se folosește o abordare infrapatelara cu genunchiul în flexie de 90° .

Punctul de intrare al acului este în triunghiul delimitat de limita a 5 mm inferior de marginea inferioară a rotulei și marginile lateral/medial a tendonului rotulian (figura 7.9); de aici acul este direcționat spre spațial intercondilian. Se badijonează genunchiul cu soluție antiseptică și se așteaptă 30 secunde pentru uscarea soluției. Anestezia locală este opțională dar trebuie luată în considerare pentru confortul pacientului. Se efectuează prin injectarea unei substanțe anestezice de tipul xilină 0,5%, 1,5-3 ml, strict în țesutul

subcutanat. Orice injectare profundă va fi evitată deoarece poate modifică calitățile lichidului articular. După injectarea substanței anestezice se va aștepta un interval de 1-2 minute pentru instalarea efectului acesteia. Pe tot parcursul procedurii, personalul medical este echipat cu mănuși sterile.



Fig. 7.9: Schema de principiu tehnic - etapa I în care, în momentul injectării, lichidul viscoelastic funcționalizat cu nanoparticule (b) se diluează în lichidul sinovial

Substanța este condiționată în fiolă sterilă, ambalată steril. Asistentul desface ambalajul și prezintă fiola medicului. Acesta o preia și o examinează - soluția trebuie să fie clară, să nu prezinte depozite, sedimente sau modificări de culoare și să fie în termenul de valabilitate a sterilizării. Dacă aceste condiții sunt îndeplinite se adaptează apoi un ac steril (no.25-27 cu lungime de 5-6 cm) la o seringă de capacitate de 2 ml. Ghidat de reperele precizate anterior se introduce acul și se aspiră; prezenta unei cantități minime de lichid intra-articular (galben citron, limpede) în seringă, confirmă poziționarea intra-articulara a acului. Din acest moment se introduce lent, progresiv, substanță viscoelestică cu nanoparticule (introducerea rapidă a substanței poate determina creșterea bruscă a presiunii intra-articulare și poate declanșa o durere intensă pacientului). Când s-a introdus toată substanță viscoelastică cu nanoparticule se retrage acul, se badijonează locul puncției articulare cu substanță dezinfectantă și se aplică un pansament steril pentru 24 ore. Pacientul este instruit să nu păstreze o poziție în ortostatism sau clinostatism prelungit în ziua injectării pentru a nu determina inflamarea sinovialei și determinarea unei reacții care să reducă efectul substanței viscoelastice. Reîntoarcerea la activitățile uzuale este permisă progresiv începând din a doua zi după injectare.

3. Aplicarea ortezei prevazută cu magneți

În funcție de rezultatul examinării complete de la punctul 1., orteza este prevăzută cu magneți permanenți de uz medical NdFeB, al căror scop este să concentreze, datorită proprietăților magnetice ale nanoparticulelor, substanța în compartimentul afectat, cel în care se dorește ca proprietățile substanței viscoelastice să fie maxime și astfel să scoată, parțial, din încărcarea cartilajul articular afectat și să îi ofere timp să se repare.

Magneții NdFeB sunt dispuși în linie, în buzunarele special create în orteză, astfel încât să asigure concentrarea substanței în compartimentul afectat. Pacientul este instruit să poarte orteză cât mai mult timp zilnic, inclusiv noaptea.



Fig. 7.10: Etapa II, în care, prin aplicarea ortezei cu magneți permanenți se obține un efect de concentrare a nanoparticulelor magnetice acoperite cu hialuronat de sodiu pe zona țintă femuropatelară

Orteza se poate îndepărta doar pentru activitățile conexe legate de igienă personală, pe parcursul celor 3-6 săptămâni de tratament. Designul special al ortezei o face ușor de tolerat de către pacient și asigură poziționarea corectă a magneților pe parcursul tratamentului. Poziționarea se face cu ușuruință în momentul în care se respectă elementele anatomice definitorii:

Anterior - relieful rotulian,

Posterior - pliul de flexie al articulației genunchiului.

Nu sunt necesare restricții legate de activitatea fizică, altele decât cele legate de o eventuală intervenție chirurgicală efectuată anterior începerii tratamentului.



Fig. 7.11: Designul sistemului complex final de orteză cu magneți permanenți

4. Supravegherea pacientului pe parcursul tratamentului

Pacientul este solicitat să se prezinte la control la 24 de ore și la 72 de ore; în cursul acestor examinări ne asigurăm că pacientul tolerează bine substanța injectată și orteza este în poziție corectă. Ulterior pacientul este revăzut - pe cât posibil - săptămânal. Cu ocazia acestor controale pacientul va fi chestionat asupra percepției sale referitoare la terapie: dacă se consideră că există un grad de ameliorare a durerii, dacă activitatea sa fizică s-a îmbunătățit.

5. Aprecierea rezultatului final al tratamentului

Aprecierea rezultatului final se va face pe baza unor criterii obiective, după cum urmează:

a) Criterii artroscopice: fac referire la examinarea minim invazivă de tip Innerview, care permite cu ajutorul unei sonde cu dimensiunea de 1,6 -1,8 mm explorarea interiorului

articulatiei genunchiului, într-o procedură care nu presupune alt tip de anestezie decât locală și care poate fi efectuată în regim de ambulator de specialitate. Toate imaginile video obținute vor fi stocate și comparate cu cele obținute la punctul 1. Din compararea lor se poate deduce eficiența procedurii (conform ICRS – International Cartilage Research Society Score).

b) Criterii anatomopatologice: de câte ori pacientul este de acord se va recolta (în timpul aceleași examinări tip Innerview) o cantitate minimă de cartilaj articular, cu ajutorul unei trefine cu diametrul de 2 mm. Examinarea ei histologică va permite aprecierea cantitativă a cartilajului hialin reparat sau a fibrocartilajului obținut.

c) Criterii imagistice: de câte ori este posibil (de preferat în toate cazurile) o imagine RMN a genunchiului se va obține la 6-12 luni de la inițierea tratamentului și se va compara cu imaginea RMN anterioară tratamentului.

d) Criterii clinice: presupun evaluarea obiectivă a simptomatologiei pacientului comparativ cu cea anterioară tratamentului. Se vor lua în considerare: tratmentele, durerea spontană și provocată de efort, gradul de efort la care apare durerea, îmbunătățirea performanțelor fizice post-tratament, stabilitatea acestor ameliorări în timp; astfel pacientul va fi examinat la 6 săptămâni, 3 luni, 6 luni, 1 an și apoi anual.

Pentru a asigura complianța pacientului, acesta va fi informat în momentul înrolării în lot că este vorba de o procedura nouă, a cărei viabilitate este în documentare și pentru acest motiv va fi nevoie de examinarea repetată a sa.

C1. CONCLUZII GENERALE

Din analiza prezentei teze de doctorat, se pot desprinde următoarele concluzii și aprecieri cu caracter general:

Nanoparticulele magnetice funcționalizate posedă mai multe avantaje deosebite care le fac tentante pentru utilizarea în domeniul medical prin abilitatea de direcționare în corpul uman cu ajutorul câmpului magnetic, atât în zona imagisticii medicale, datorită capacității de a încorpora substanțe fluorescente, cât și a tratamentelor medicale, datorită capacității de a încorpora și transporta medicamente.

Cu toate acestea, nu este simplu a dezvolta aplicații medicale ale nanoparticulelor magnetice funcționalizate din cauza potențialelor probleme de toxicitate precum și de cunoașterea mecanismelor de interacțiune și funcționalitate în corpul uman.

Majoritatea nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu aplicabilitate în medicină care au fost investigate până acum, au fost cele utilizate în domeniul imagisticii medicale. Relativ recent, s-a încearcat dezvoltarea unor nanoparticule magnetice funcționalizate purtătoare de medicament pentru tratamentul diferitelor afecțiuni. Principalul impediment în dezvoltarea acestor aplicații este acela că după ce își îndeplinesc rolul funcțional sunt dificil de eliminat și nu este elucidat mecanismul prin care acestea se deplasează ulterior în corpul uman sau cum influențează metabolismul uman.

Particulele de oxid de fier sunt nanoparticulele magnetice preferate datorită superparamagnetismului și anizotropiei, de asemenea, au o suprafață hidrofobă, un câmp de saturație ridicat, ireversibilitate mare a câmpului și, mai important, o sarcină ridicată care le permite să rămână stabile în organism în condiții fiziologice. Mărimea nanoparticulelor este determinantă în ceea ce privește proprietățile lor magnetice și încapsularea celulelor.

La această dată, există o incidență ridicată a afecțiunilor osteo-articulare în rândul populației. Soluțiile de tratament actuale presupun, în funcție de tipul de afecțiune și gradul de degradare al articulației, utilizarea diferitelor modele de orteze pentru stabilizarea

articulațiilor, utilizarea unor soluții viscoelastice care să asigure lubrefierea articulațiilor, asociate sau nu cu tratament medicamentos.

Tratamentul viscosuplimentar, practic, constă în injecții intra-articulare repetate cu acid hialuronic, acesta fiind utilizat pentru a obține hidrogeluri benefice pentru regenerarea țesuturilor, datorită biocompatibilității ridicate.

Utilizarea nanoparticulelor magnetice funcționalizate este obligatoriu asociată cu un câmp magnetic exterior, generat de magneți permanenți. Pentru tratamentul afecțiunilor osteo-articulare, este foarte eficientă utilizarea unei orteze cu magneți permanenți care să asigure deplasarea și stabilizarea nanoparticulelor magnetice purtătoare de medicament în zona țesuturilor afectate.

Proiectarea unui sistem complex de tipul nanoparticulelor magnetice funcționalizate utilizate într-o soluție viscoelastică asociate cu o orteză cu magneți permanenți, pentru tratamentul afecțiunilor osteo-articulare necesită cunoștințe interdisciplinare privind materialele, câmpul magnetic, biomecanică, biochimie, modelare și simulare, medicină.

Sinteza nanoparticulelor magnetice se realizează cu ușurință prin metode chimice, precum co-precipitarea clorurii ferice și a clorii feroase. Această metodă oferă rezultate satisfăcătoare.

Funcționalizarea nanoparticulelor se realizează de obicei cu materiale polimerice, deoaece acestea îmbunătățtesc biocompatibilitatea și proprietățile de funcționare a acestora. Aceste materiale de funcționalizarea pot avea rol terapeutic, cum este cazul acidului hialuronic, oferind proprietăți biologice și chimice deosebite nanoparticulelor magnetice.

Pentru testarea și evaluarea unui astfel de sistem complex, se impune utilizarea unor tehnici de analiză ale nanoparticulelor magnetice, metode de testare a soluțiilor viscoelastice, programe de simulare a proprietăților magnetice pentru stabilirea poziției optime a magneților și nu în ultimul rând testarea biocompatibilității prin teste de citotoxicitate ale acestor materiale.

C2. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Cercetările efectuate au adus o serie de contribuții cu titlu de noutate prin rezultatele originale obținute și prin interpretarea lor teoretică.

Contribuțiile originale vor fi prezentate în cele ce urmează împreună cu cele mai importante rezultate obținute.

S-a efectuat o sinteză complexă a documentației științifice, care a condus la obținerea multor rezultate și interpretări noi, unele dintre ele fiind inedite și originale.

Ca urmare a studiului de literatură complex efectuat, au fost stabilite criterii de selecție a materialelor utilizabile la execuția sistemului complex de orteză cu magneți permanenți asociată cu o soluție viscoelastică îmbunătățită cu nanoparticule magnetice funcționalizate.

A fost identificată și dezvoltată o aplicație a nanoparticulelor magnetice funcționalizate purtătoare de medicament cu aplicabilitate în tratamentul afecțiunilor osteoarticulare. Avantajul major al acestei aplicații este faptul că nanoparticulele pot fi eliminate printr-o simplă aspirație după ce își îndeplinesc rolul de livrare controlată a medicamentului în zona osteo-articulară afectată.

Au fost obținute cu succes noi NPM funcționalizate cu hidroxid de tetrametilamoniu (TMOH), inulină și acid hialuronic, care au rolul de a conferi uniformitate, distribuție omogenă, mărime optimă a nanoparticulelor și biocompaibilitate deosebită. Mai mult, acidul hialuronic are rol terapeutic în afecțiunile osteo-articulare, ceea ce înseamnă că aceste nanoparticule sunt recomandate utilizării în scop medical.

S-a realizat funcționalizarea NPM prin metoda strat peste strat, inițial cu un strat de TMOH, care oferă distribuție omogenă nanoparticulelor, apoi cu un strat de inulină și unul de acid hialuronic, care ajută la îndeplinirea rolului terapeuic al acestor nanoparticule.

Studiile de microscopie electronică de baleiaj (SEM), microscopie electronică de transmisie (TEM), spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR), dispersie dinamică a luminii (DLS) au permis efectuarea unei caracterizări detaliate a NPM.

Au fost efectuate cercetări de simulare și modelare privind proprietățile magnetice ale NPM la interacțiunea cu un camp magnetic exterior utilizând programul COMSOL.

Poiectarea modelului optim de orteză cu magneți permanenți a fost realizată cu succes în programul AutoCAD.

Au fost efectuate teste de citotoxicitate, care au demonstrat faptul că materialele experimentale sunt biocompatibile și utilizabile în tratamentul afecțiunilor osteo-articulare. Evident, se impune efectuarea în viitor a unor teste complete de biocompatibilitate *in vitro* și în *vivo*.

Ansamblul studiilor efectuate ne permite să conchidem că obiectivul principal al tezei de doctorat a fost îndeplinit, respectiv a fost obținut un sistem complex de orteză cu magneți permanenți asociată cu o soluție viscoelatică îmbunătățită cu NPM funcționalizate pentru a îndeplini cerințele funcționale impuse de utilizarea lor la tratamentul afecțiunilor osteo-articulare.

Pe baza rezultatelor experimentale obținute, se poate spune că funcționalizarea NPM are rezultate mult mai bune atunci când se utilizează acoperirea cu trei straturi diferite și anume cu TMOH, inulină și acid hialuronic.

Se menționează faptul că partea experimentală a fost efectuată preponderent în laboratoarele din Departamentul Știința Materialelor Metalice și Metalurgie Fizică, Facultatea Știința și Ingineria Materialelor, Universitatea Politehnica din București, dar au fost efectuate determinări experimentale și în alte laboratoare.

Sinteza NPM și funcționalizarea acestora s-a realizat în colaborare cu Institutul ICECHIM, București sub coordonarea domnului Cristian Petcu.

De asemenea, o serie de determinări experimentale au fost realizate în cadrul Universității Politehnica din București în colaborare cu: d-nul Alexandru Morega de la Facultatea de Inginerie Electrică, Universitatea Politehnica din București pentru simularea în programul Comsol, cu d-nul Balan Corneliu pentru testele de reologie și cu d-na Diana Popescu de la Facultatea de Inginerie Industrială și Robotică, pentru proiectarea dispozitivului.

Departe de a pretinde că epuizează cercetările teoretice și experimentale în domeniul NMP funcționalizate pentru aplicații medicale, lucrarea își aduce o contribuție teoretică și practică, deschizând în același timp noi orizonturi pentru cercetările viitoare în acest domeniu.

C3. PERSPECTIVE DE DEZVOLTARE ULTERIOARĂ

Prezenta teză de doctorat are perspective de dezvoltare ulterioară în mai multe direcții. Astfel, este posibilă extinderea studiilor privind rolul jucat de câmpul magnetic asupra eficienței ortezei cu magneți și urmărirea evoluției NPM la nivelul articulațiilor în funcție de modul de utilizare al ortezei cu magneți.

Pot fi dezvoltate cercetări ulterioare privind îmbunătățirea metodelor de funcționalizare a NPM, prin adaosul unor alte acoperiri (de exemplu proteine specifice sau factori de creștere).

Evident, este posibilă extinderea cercetărilor privind testarea biocompatibilității *in vitro* și în *vivo* pe modele animale specifice.

[1] Osama A., Humza O., Joel M., Biomechanics of the knee, Orthopaedics and Trauma, vol. 33, 2019, p. 224-230.

[2] *Alice J. S. Fox, Asheesh B., Scott A. R.,* The Basic Science of Human Knee Menisci Structure, Composition, and Function, Sports Health, vol. 4, 2012, p. 340–351.

[3] *Hunziker E.B.*, Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects, Osteoarthritis and Cartilage, vol. 10, 2002, p. 432-463.

[4] *Tan K., Hammond E.R., Kerr D., Nath A.*, Fibrocartilaginous Embolism: A Cause of Acute Ischemic Myelopathy, Spinal Cord, vol. 47, 2009, p. 643-5.

[5] *McCarty W. J., Masuda K., Sah R. L.*, Fluid movement and joint capsule strains due to flexion in rabbit knees, Journal of Biomechanics, vol. 44, 2011, p. 2761-2767.

[6] Wyatt L. A., Nwosu L. N., Wilson D., Spendlove I., Bennett A. J., Scammell B. E., Walsh D. A., Molecular expression patterns in the synovium and their association with advanced symptomatic knee osteoarthritis, Osteoarthritis and Cartilage, vol 27, 2019, p. 667-675.

[7] Carlson A. K., Rawle R. A., Wallace C.W., Brooks E.G., Greenwood M.C., Olmer M., Lotz M. K., Bothner B., June R. K., Characterization of synovial fluid metabolomic phenotypes of cartilage morphological changes associated with osteoarthritis, Osteoarthritis and Cartilage, Vol. 27, 2019, p. 1174-1184.

[15] Gold P. A., Jones M. R., Kaye A. D., Chapter: Knee Joint Pain., Springer Nature Switzerland AG, 2019, p. 761–765.

[16] *Qassim I., Muaidi L., Nicholson L., Kathryn M.*, Proprioceptive Acuity in Active Rotation Movements in Healthy Knees, Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, vol. 89, 2008, p. 371-376.

[17] *Charles A., Baumann B. S., Betina B. H., Miho J. T.*, Update on Patellofemoral Anatomy and Biomechanics, Operative Techniques in Sports Medicine, vol. 27, 2019, p. 150683.

[26] *Patrick K. S., Wendy M. N., DStephen J. N., James A. B.*, Increasing Public Interest in Stem Cell Injections for Osteoarthritis of the Hip and Knee: A Google Trends Analysis, The Journal of Arthroplasty, vol. 34, 2019, p. 1053-1057.

[27] *Tuuli S., Lars C., Jón K., Johan K.,* Knee kinematics in medial arthrosis. Dynamic radiostereometry during active extension and weight-bearing, Journal of Biomechanics, vol. 38, 2005, p. 285-292.

[28] *Dejour H. G., Walch G. Deschamps P. C.*, Arthrosis of the knee in chronic anterior laxity, Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research, vol. 100, 2014, p. 49-58.

[29] *Brian R. H.*, Treatment of Knee Arthrosis in the Morbidly Obese Patient, Orthopedic Clinics of North America, vol. 42, 2011, p. 107-113.

[30] *Hideki S., Yasuyuki I., Eiichi T., Kazuhiro S., Satoshi T.*, Total knee arthroplasty for gonarthrosis with patellar dislocation, Journal of Orthopaedic Science, vol. 10, 2005, p. 656-660.

[33] Chamarda H. A., Carriera N., Duforta P., Duranda M., Brum-Fernandesa A.J., Boirea G., Komarovab S.V., Dixonc S. J., Harrisond R. E., Manolsone M.F., Rouxa S., Osteoclasts and their circulating precursors in rheumatoid arthritis: Relationships with disease activity and bone erosions, Bone Reports, vol. 12, 2020, 100282.

[35] *Shing T. L., Peter C. T.,* Role of biological agents in treatment of rheumatoid arthritis, Pharmacological Research, vol. 150, 2019, 104497.

[40] *Hunt M. A., Charlton M., Esculier F.*, Osteoarthritis year in review 2019: mechanics, Osteoarthritis and Cartilage, vol. 28, 2020, p. 267-274.

[49] Yong W. L., Mark D. T., Matthew R. S., Dakshesh B. P., Eric A. W., Anderanik T., Jordan S. G., Thomas V., George R. M., MR imaging of cartilage repair surgery of the knee, Clinical Imaging, vol.58, 2019, p. 129-139.

[50] *Dae-Hee L., Darry D., D'Lima S., Hak L.,* Clinical and radiographic results of partial versus total meniscectomy in patients with symptomatic discoid lateral meniscus: A systematic review and meta-analysis, Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research, vol. 105, 2019, p. 669-675.

[51] *Petersen W., Zantop T.*, Partial rupture of the anterior cruciateligament, Arthroscopy, vol. 22, 2006, p. 1143-1145.

[52] *Guenoun D., Le Corroller T., Amous Z., Pauly V., Sbihi A., Champ-saur P.,* The contribution of MRI to the diagnosis of traumatictears of the anterior cruciate ligament, Diagnostic and Interventional Imaging, vol. 93, 2012, p. 331-341.

[53] O'Keeffe A. S., Brian A. H., Stephen J. E., Eoin C. K., Overuse Injuries of the Knee, Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America, vol. 17, 2009, p. 725-739.

[67] Allan R., Woodburn J., Telfer S., Abbott M., Steultjens M. P., Knee joint kinetics in response to multiple three-dimensional printed, customised foot orthoses for the treatment of medial compartment knee osteoarthritis, Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers-Part H, vol. 231, 2017, p. 487–498.

[72] *Florina D.C., Vera B., Marcel I.P., Andrei L., Aurora A., Iulian V.A., Liliana V.,* Biopolymers – Calcium Phosphates Composites with Inclusions of Magnetic Nanoparticles for Bone Tissue Engineering, International Journal of Biological Macromolecules, vol. 125, 2019, p. 612-620.

[76] *Vasvani S., Kulkarni P., Rawtani D.*, Hyaluronic acid: A review on its biology, aspects of drug delivery, route of administrations and a special emphasis on its approved marketed products and recent clinical studies, International Journal of Biological Macromolecules, vol. 151, 2020, p. 1012-1029.

[78] *Rau J. V., Antoniac, I., Cama, G., Komlev, V. S., Ravaglioli, A.*, Bioactive Materials for Bone Tissue Engineering, BioMed Research International, 2016, p. 1–3.

[79] *Iulian A., Dan L., Camelia T., Claudia M., Sebastian G.*, Osteochondral Tissue Engineering, Chapter 12, Synthetic Materials for Osteochondral Tissue Engineering, Springer International Publishing AG, 2018, p. 31-52.

[86] *Conroy S., Jerry S.H. L., Miqin Z.*, Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery, Advanced Drug Delivery Reviews, vol. 60, 2008, p. 1252-1265.

[92] Sasso C. P., Basso V., LoBue M., Bertotti G., Carnot cycle for magnetic materials: The role of hysteresis, Physica B: Condensed Matter, vol. 372, 2006, p. 9–12.

[93] *Allia P., Barrera G., Tiberto P.,* Hysteresis effects in magnetic nanoparticles: A simplified rate-equation approach, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, vol. 496, 2020, 165927.

[94] *Shokrollahi H., Janghorban K.*, Soft magnetic composite materials (SMCs), Journal of Materials Processing Technology, vol. 189, 2007, p. 1–12.

[95] *Ucar H., Choudhary R., Paudyal D.,* An Overview of the First Principles Studies of Doped RE-TM5 Systems for the Development of Hard Magnetic Properties, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, vol. 496, 2020, 165902.

[96] *Ríos Á., Zougagh M.*, Recent advances in magnetic nanomaterials for improving analytical processes, TrAC Trends in Analytical Chemistry, vol. 84, 2016, p. 72–83.

[100] Coey J. M. D., Perspective and Prospects for Rare Earth Permanent Magnets, Engineering, vol. 6, 2020, p. 119-131

[101] Croat J. J., Herbst J. F., Lee, R. W., Pinkerton F. E., Pr-Fe and Nd-Fe-based materials: A new class of high-performance permanent magnets, Journal of Applied Physics, vol. 55, 1984, p. 2078–2082.

[108] *Choi B., Park W., Park S. B., Rhim W. K., Keun H. D.*, Recent trends in cell membrane-cloaked nanoparticles for therapeutic applications, Methods, vol. 117, 2020, p. 2-14.

[109] *Wang B., Sandre O., Wang K., Shi H., Xiong K., Huang Y., Courtois, J.*, Autodegradable and biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticles/polypeptides colloidal polyion complexes with high density of magnetic material, Materials Science and Engineering: C, vol. 104, 2019, 109920.

[111] *Sudarsana Reddy P., Chamkha A. J.*, Influence of size, shape, type of nanoparticles, type and temperature of the base fluid on natural convection MHD of nanofluids, Alexandria Engineering Journal, vol. 55, 2016, p. 331–341.

[112] *Khan A. I., Arasu A. V., A* review of influence of nanoparticle synthesis and geometrical parameters on thermophysical properties and stability of nanofluids, Thermal Science and Engineering Progress, vol. 11, 2019, p. 334-364.

[115] *Hojin K., Eric M. F.*, Magnetic properties, responsiveness, and stability of paramagnetic dumbbell and ellipsoid colloids, Journal of Colloid and Interface Science, vol. 566, 2020, p. 419-426.

[116] *Mottaghitalab F., Farokhi M., Fatahi Y., Atyabi F., Dinarvand R.*, New insights into designing hybrid nanoparticles for lung cancer: Diagnosis and treatment, Journal of Controlled Release, vol. 295, 2019, p. 250-267.

[119] *Kudr J., Haddad Y., Richtera L., Heger Z., Cernak M., Adam V., Zitka O.*, Magnetic Nanoparticles: From Design and Synthesis to Real World Applications. Nanomaterials, vol. 7, 2017, p. 243.

[120] *Čubová K., Čuba V.,* Synthesis of inorganic nanoparticles by ionizing radiation – a review. Radiation Physics and Chemistry, vol. 164, 2020, 108774.

[122] *Israel L. L., Galstyan A., Holler E., Ljubimova J. Y.,* Magnetic iron oxide nanoparticles for imaging, targeting and treatment of primary and metastatic tumors of the brain, Journal of Controlled Release, vol. 320, 2020, p. 45-62.

[123] *Aisida S. O., Akpa P. A., Ahmad I., Zhao T., Maaza M., Ezema F. I.,* Bio-inspired encapsulation and functionalization of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, European Polymer Journal, vol. 122, 2019, 109371.

[125] *Elrahman A. A., Mansour F. R.*, Targeted magnetic iron oxide nanoparticles: Preparation, functionalization and biomedical application, Journal of Drug Delivery Science and Technology, vol. 52, 2019, p.702-712.

[126] *Regina R. G., López A. C., Serna Gómez I., Campos D. S., Otero-González A. J., Luiz Franco O.,* Antimicrobial magnetic nanoparticles based-therapies for controlling infectious diseases, International Journal of Pharmaceutics, vol. 555, 2019, p. 356-367.

[127] *Maudens P., Jordan O., Allémann E.*, Recent advances in intra-articular drug delivery systems for osteoarthritis therapy, Drug Discovery Today, vol. 23, 2018, p. 1761-1775.

[135] Xue Z.W., Lande L., Rui F. L., Richard J. T., Ken P., Jason C., Fraser K. McNeil-Watson, Online characterisation of nanoparticle suspensions using dynamic light scattering, ultrasound spectroscopy and process tomography, chemical engineering research and design, vol. 87, 2009, p. 874–884.

[141] *Vandna P., Prajakta D., Ratnesh J.*, Nanoparticulate drug delivery, Chapter 4: Nanotoxicology: evaluating toxicity potential of drug-nanoparticles, Woodhead Publishing Limited, 2012, p. 123-155.

[142] *Iulian A., Alexandru C., Cristian P., Dan L., Diana T., Camelia T., Aurora A., Sebastian G.,* Synthesis and Characterization of Coated Iron Oxide Nanoparticles Produced for Drug Delivery in Viscoelastic Solution, Revista de Chimie, vol. 71, 2020, p. 145-154.