

UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ DE CHIMIE APLICATĂ ȘI ȘTIINȚA MATERIALELOR



TEZĂ DE DOCTORAT
§ REZUMAT §

MATERIALE BIONANOSTRUCTURATE MULTIFUNCȚIONALE

Autor: Ing. Mariana Oana Mihaela FUFĂ (GHERASIM)

Conducător de doctorat: Prof. Dr. Ing. Ecaterina ANDRONESCU

Comisie de îndrumare: Conf. Dr. Ing. Alexandru Mihai GRUMEZESCU

Prof. Dr. Ing. Anton FICAI

Prof. Dr. Chim. Ovidiu Cristian OPREA

Comisie de doctorat

Președinte	Prof. Dr. Ing. Adelina Carmen IANCULESCU	de la	Universitatea Politehnica din București
Conducător de doctorat	Prof. Dr. Ing. Ecaterina ANDRONESCU	de la	Universitatea Politehnica din București
Referent	Conf. Dr. Ing. Alexandru Mihai GRUMEZESCU	de la	Universitatea Politehnica din București
Referent	Prof. Dr. Biol. Carmen Mariana CHIFIRIUC	de la	Universitatea din București
Referent	Prof. Dr. MD Laurențiu MOGOANTĂ	de la	Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova

București
2021

Cuprins

Studiu critic al datelor de literatură

1. Introducere generală asupra bionanomaterialelor.....	2
2. Formulări nanodimensionate și nanostructurate farmacoterapeutice.....	5
2.1. Formulări antimicrobiene pe bază de nanoparticule anorganice	6
2.1.1. Nanoparticule de argint.....	7
2.1.2. Nanoparticule de magnetită.....	11
2.2. Formulări antimicrobiene pe bază de nanosisteme biopolimerice	13
2.2.1. Chitosan.....	15
2.2.2. Poli(3-hidroxi-butirat-co-3-hidroxi-valerat).....	18
2.2.3. Polilactidă.....	20
2.2.4. Poli(lactidă-co-glicolidă).....	22
3. Acoperiri nanostructurate bioactive	26
3.1. Acoperiri nanostructurate antimicrobiene pentru modificarea dispozitivelor medicale implantabile.....	28
3.2. Acoperiri nanostructurate antimicrobiene pentru modificarea implanturilor metalice ortopedice și ortodontice.....	36

Contribuții originale

4. Motivarea tematicii alese și stabilirea obiectivelor activității de cercetare.....	48
5. Materiale și metode utilizate în activitatea experimentală	50
5.1. Materiale.....	50
5.2. Metode de sinteză a sistemelor nanodimensionate și nanostructurate.....	50
5.3. Metode de caracterizare fizico-chimică.....	54
5.4. Studii de eliberare a medicamentului.....	55
5.5. Metode de evaluare biologică.....	57
5.6. Metode de evaluare microbiologică.....	60
6. Rezultate și discuții	62
6.1. Formulări bioactive farmacoterapeutice	62

6.1.1. Sisteme hibride de poli(3-hidroxi-butirat-co-3-hidroxi-valerat), chitosan și antibiotice.....	62
6.1.2. Sisteme hibride de poli(lactidă-co-glicolidă), chitosan și nanoparticule de magnetită conjugate cu antiinflamator nesteroidian.....	73
6.1.3. Acoperiri de poli(lactidă-co-glicolidă) și antiinflamator nesteroidian.....	84
6.2. Suprafețe nanostructurate antimicrobiene	97
6.2.1. Filme subțiri de polilactidă și nanoparticule de argint.....	97
6.2.2. Filme subțiri de polilactidă și nanoparticule de magnetită conjugate cu ulei esențial.....	104
6.2.3. Filme subțiri de poli(lactidă-co-glicolidă) și nanoparticule de magnetită conjugate cu antibiotic.....	114
6.2.4. Acoperiri de microsferă de poli(lactidă-co-glicolidă) și nanoparticule de magnetită conjugate cu antibiotic.....	123
6.3. Acoperiri nanostructurate biomimetice.....	133
6.3.1. Acoperiri de hidroxiapatită, nanoparticule de argint conjugate cu uleiuri esențiale și factor de creștere.....	133
6.3.2. Acoperiri de hidroxiapatită, antibiotic și factor de creștere.....	154
6.3.3. Acoperiri de polilactidă, hidroxiapatită și factor de creștere.....	163
7. Concluzii generale.....	172
8. Diseminare rezultate.....	181
Bibliografie.....	188

Cuvinte cheie:

- ✓ nanoparticule metalice și oxidice
- ✓ microsferă biopolimerice hibride
- ✓ acoperiri nanostructurate bioactive
- ✓ terapie anti-infecțioasă
- ✓ inginerie tisulară

Studiu critic al datelor de literatură

Provocările actuale asociate strategiilor farmaceutice convenționale rezultă din combinarea limitărilor legate atât de tratamentul în sine, cât și de statusul clinic al pacientului, și includ (i) nespecificitatea sau neselectivitatea agentului terapeutic selectat, (ii) administrarea inadecvată sau incorectă a tratamentului recomandat, și (iii) apariția efectelor farmacologice secundare [1,2]. Pentru a depăși astfel de evenimente nedorite, vaste eforturi academice și științifice au fost orientate către transferul principiilor și produselor nanotehnologiei în fabricarea și implementarea de noi formulări active, cu eficacitate terapeutică sporită.

Un fenomen alarmant care se manifestă în practica medicală curentă este reprezentat de infecțiile microbiene cauzate de microorganismele multi-drog rezistente și, în particular, de comunitățile microbiene organizate în biofilme. În încercarea de a limita complicațiile asociate și de a combate astfel de microorganismele, cercetarea la nivel mondial vizează bidirecționalitatea relației dintre microorganismele patogene și organismele infectate, în acest sens fiind investigate mecanismele rezistenței antimicrobiene și eficiența unor formulări antimicrobiene optimizate.

Biomaterialele nanodimensionate și nanostructurate reprezintă o alegere fezabilă pentru crearea de noi sisteme și dispozitive medicale cu eficacitate antimicrobiană îmbunătățită. Având în vedere (i) biocompatibilitatea intrinsecă, (ii) efectele toxice reduse asupra celulelor sănătoase, (iii) activitatea biocidă sau biostatică împotriva celulelor patogene, (iv) posibilitățile remarcabile de derivatizare și funcționalizare a suprafeței și (v) comportamentul unic datorat nanodimensionalității (proprietăți optice, electrice și magnetice guvernate de efecte cuantice), nanoparticulele anorganice oferă posibilități atractive pentru fabricarea de platforme destinate terapiei anti-infecțioase [3,4].

Dintre nanomaterialele zero-dimensionate, nanoparticulele de argint (AgNPs) și nanoparticulele de magnetită (Fe_3O_4 NPs) se regăsesc în topul celor mai explorați și promițători candidați implicați în dezvoltarea de biomateriale avansate și dispozitive eficiente destinate domeniului biomedical. Aplicabilitatea biomedicală a particulelor nanodimensionate de argint și magnetită – concretizată prin explorarea particularităților intrinseci, și anume activitate antimicrobiană excelentă și proprietăți optice inedite, respectiv versatilitate a proprietăților de suprafață și comportament magnetic modulabil – include științele farmaceutice, industria cosmetică, aplicațiile topice, ingineria tisulară și medicina regenerativă, biodetecția și imagistica biomedicală, terapia anti-infecțioasă și tratamentul antitumoral.

Succesul utilizării biopolimerilor în dezvoltarea de formulări antimicrobiene derivă din caracteristicile intrinseci, precum (i) biodisponibilitate, (ii) versatilitate compozițională și structurală, (iii) procesabilitate facilă, (iv) tunabilitate a proprietăților fizico-chimice, mecanice și termice, (v) solubilitate, dizolvare și degradabilitate ajustabile, (vi) biodegradabilitate dependentă de prezența stimulilor și însoțită de produși metabolici netoxici, (vii) potențial impresionant de derivatizare și funcționalizare, datorat reactivității chimice, (viii) biocompatibilitate, non-toxicitate și non-imunogenicitate, (ix) bioactivitate, estimată prin efectele antioxidante, antiinflamatorii, antimicrobiene, antitumorale, analgezice, hemostatice și mucoadezive, și (x) în situații particulare, aprobare instituțională specializată și reglementată privind siguranța clinică [5-7].

Compușii macromoleculari de origine naturală (polizaharide, polihidroxi-alcanoți) și sintetică (poliesteri alifatici) prezintă o importanță deosebită în fabricarea de platforme micro-/nanostructurate cu eficiență farmacoterapeutică. Biofuncționalitatea superioară evidențiată la nivel preclinic demonstrează eficacitatea formulărilor biopolimerice în terapie anti-infecțioasă și antitumorală, detecție și diagnostic, terapie genică și medicină regenerativă.

Performanțele clinice ale dispozitivelor medicale implantabile (DMI) sunt guvernate de caracteristicile fizico-chimice și proprietățile biologice ale suprafețelor acestora [8-10]. Cea mai versatilă abordare privind îmbunătățirea biofuncționalității DMI constă în modificarea suprafețelor acestora cu acoperiri bioactive, tehnicile de procesare laser reprezentând o alegere adecvată și avantajoasă în acest sens. Straturile de acoperire obținute prin metoda evaporării laser pulsate asistată de o matrice (MAPLE) prezintă aplicabilitate diversă în domeniul biomedical, în mod deosebit în terapia anti-infecțioasă, detecția biomoleculară și regenerarea sau restaurarea funcțională a țesuturilor.

În scopul limitării bioinertiei și îmbunătățirii osteointegrării implanturilor pe bază de titan și aliaje ale acestuia – considerate “standardul de aur” pentru fabricarea comercială a DMI destinate restaurării și înlocuirii osoase – eforturi substanțiale au fost îndreptate către modificarea suprafețelor acestora cu acoperiri cu capabilități osteoconductive sau osteoinductive. Succesul biofuncțional al DMI metalice poate fi asigurat prin acoperirea cu straturi pe bază de fosfați de calciu (CaPs) [11,12]. Aplicabilitatea CaPs în proceduri restaurative, regenerative sau de substituție derivă din proprietățile specifice, precum (i) compoziție similară apatitei naturale, (ii) proprietăți mecanice adecvate, (iii) stabilitate chimică superioară, (iv) microstructură și degradabilitate controlabile, (v) biocompatibilitate intrinsecă excelentă [13,14].

Contribuții originale

Motivarea tematicii alese și stabilirea obiectivelor activității de cercetare

Tematica de cercetare vizată pentru elaborarea tezei de doctorat se încadrează în strategiile globale privind dezvoltarea de formulări bioactive multifuncționale și eficiente terapeutic, fiind abordate următoarele direcții de interes: (i) potențarea efectelor farmacologice ale principiilor active antimicrobiene și antiinflamatorii prin utilizarea de sisteme biopolimerice; (ii) prevenirea și limitarea fenomenelor de contaminare și colonizare microbiană a materialelor și dispozitivelor biomedicale prin modificarea suprafețelor acestora; și (iii) modularea infecțiilor periprotetice, precum și a fenomenelor de reparare și regenerare tisulară, prin modificarea suprafețelor implanturilor cu acoperiri nanostructurate încărcate cu factori de creștere.

Scopul principal al activității de cercetare desfășurate a constat în dezvoltarea de platforme nanostructurate bioactive cu aplicabilitate în terapia anti-infecțioasă și în ingineria tisulară, fiind astfel vizate sinteza, optimizarea și evaluarea (micro)biologică de biomateriale nanodimensionate (nanoparticule conjugate cu principii bioactive, filme subțiri biopolimerice) și nanostructurate (sfere biopolimerice încărcate cu agenți terapeutici, acoperiri compozite).

Primul obiectiv al activității experimentale a vizat sinteza, caracterizarea și testarea de nanosisteme anorganice funcționalizate cu substanțe bioactive de sinteză sau substanțe fitochimice.

Cel de-al doilea obiectiv specific a constat în obținerea, optimizarea și evaluarea performanțelor sistemelor micro-/nanostructurate de tipul sferelor biopolimerice încărcate cu agenți terapeutici și/sau nanoparticule funcționalizate.

Pentru îndeplinirea celui de-al treilea obiectiv, tehnica de evaporare laser pulsată asistată de o matrice (*Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation*, MAPLE) a fost utilizată pentru fabricarea de filme biopolimerice nanostructurate cu rol în prevenirea și limitarea contaminării și colonizării microbiene a suprafețelor biomedicale.

Vizând domeniul complex al ingineriei tisulare, ultimul obiectiv specific al activității experimentale a constat în fabricarea, optimizarea și evaluarea biofuncționalității acoperirilor încărcate cu substanțe bioactive și a acoperirilor biomimetice nanostructurate modificate cu biomolecule (factori de creștere).

Rezultate și discuții

1. Formulări bioactive farmacoterapeutice

1.1. Sisteme hibride de poli(3-hidroxiubutirat-co-3-hidroxi valerat), chitosan și antibiotice

În cadrul acestui studiu a fost evaluat potențialul sferelor pe bază de poli(3-hidroxiubutirat-co-3-hidroxi valerat) și chitosan, P(3HB-3HV)-CS, de a asigura eliberarea și potențarea efectelor antibioticelor biosintetizate: bacitracină (Bac), neomicină (Neo) și kanamicină (Kan) [15].

Micrografiile SEM (Figura 1.1.1) au evidențiat obținerea de agregate de particule bine definite, cu morfologie sferică. Dimensiunea medie a sferelor simple și a celor încărcate cu Bac a fost de ~600 nm. Înglobarea Neo și Kan în sistemele P(3HB-3HV)-CS a determinat diminuarea (~400 nm), respectiv creșterea (~1 μm) dimensională a sferelor.

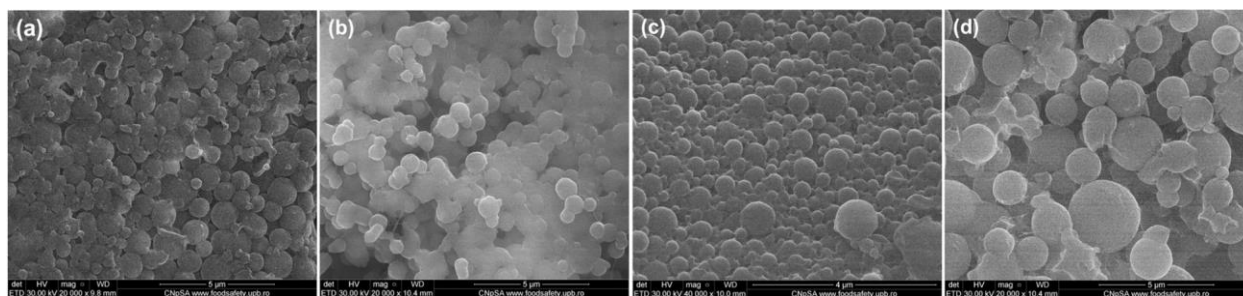


Figura 1.1.1: Imagini SEM ale sferelor P(3HB-3HV)-CS (a), P(3HB-3HV)-CS-Bac (b), P(3HB-3HV)-Neo (c) și P(3HB-3HV)-CS-Kan (d)

Spectre IR individuale și suprapuse au fost înregistrate pentru toate sistemele biopolimerice sintetizate. Prezența P(3HB-3HV) a fost confirmată prin următoarele benzi de absorbție: ~1720 cm^{-1} (întindere puternică a grupării esterice C=O, asociată cu faza cristalină a copolimerului), ~1378 cm^{-1} (expansiune simetrică a -CH₃), ~1276 cm^{-1} (întindere C-H), ~1054 cm^{-1} (întindere C-O-C) și ~978 cm^{-1} (întindere C-C) [16,17]. Analiza în detaliu a spectrului IR a confirmat prezența CS, prin maximele specifice de la ~1671 cm^{-1} (amidă II), ~1650 cm^{-1} și ~1635 cm^{-1} (dublet amidă I) și ~1557 cm^{-1} (vibrații ale grupării C-O) [18,19].

Rezultatele de inhibiție a creșterii bacteriene au demonstrat capacitatea sferelor compozite de a potența efectele antibioticelor (ATB) împotriva tulpinilor bacteriene selectate. Comparativ cu acțiunea ATB, diametrele de inhibiție a creșterii bacteriene au fost mai mari în cazul microsferelor P(3HB-3HV)-CS încărcate cu Neo și Kan, cele mai puternice efecte fiind observate asupra tulpinilor Gram-negative. Sferile P(3HB-3HV)-CS-Bac au prezentat un efect de creștere a activității antibacteriene a antibioticului doar împotriva tulpinilor Gram-pozitive.

Linia celulară CCD-1070Sk a fost utilizată pentru evaluarea biocompatibilității sferelor biopolimerice încărcate cu ATB. Activitatea metabolică a fibroblastelor dermale supuse tratamentului cu microsfele a relevat absența modificărilor asupra viabilității celulare, precum și susținerea proliferării celulare – aspect evidențiat de creșterea statistic semnificativă ($p < 0,0001$) a viabilității celulare după 7 zile. Mai mult, a fost demonstrată capacitatea sistemelor compozite simple sau încărcate cu ATB de a nu altera integritatea structurală a fibroblastelor umane (aspect marcat prin monitorizarea nivelului de LDH). De asemenea, nu au fost evidențiate modificări ale organizării filamentelor de actină în cazul celulelor tratate cu microsfele, fibroblastele dermale menținându-și morfologia caracteristică și formând structuri celulare uniform distribuite. Sistemele P(3HB-3HV)-CS și P(3HB-3HV)-CS-ATB nu au sporit producția de H_2O_2 (Figura 1.1.2a), demonstrând potențialul platformelor propuse de a contribui la protecția fibroblastelor împotriva stresului oxidativ indus de administrarea prelungită a antibioticelor.

Teste suplimentare efectuate pe linia de macrofage murine RAW 264.7 au evidențiat capacitatea sferelor compozite încărcate cu antibiotice de a spori producția de oxid nitric (NO), într-o manieră dependentă de timpul de testare și de prezența ATB în structura microsferelor (Figura 1.1.2b). Tratamentul cu microsfele, aplicat ulterior activării macrofagelor cu endotoxina bacteriană, nu a stimulat producția citokinelor IL-10, IFN- γ și IL-12p70. În schimb, încărcarea ATB în microsfelele P(3HB-3HV)-CS a dus la modificarea expresiei citokinelor proinflamatorii IL-6 și TNF- α , profilul acestora depinzând de tipul antibioticului. O creștere semnificativă a nivelului de IL-6 a fost înregistrată exclusiv în macrofagele activate expuse tratamentului cu P(3HB-3HV)-CS-Kan, în vreme ce nivelul de TNF- α a fost crescut în cazul celulelor tratate cu microsfele biopolimerice încărcate cu neomicină și kanamicină.

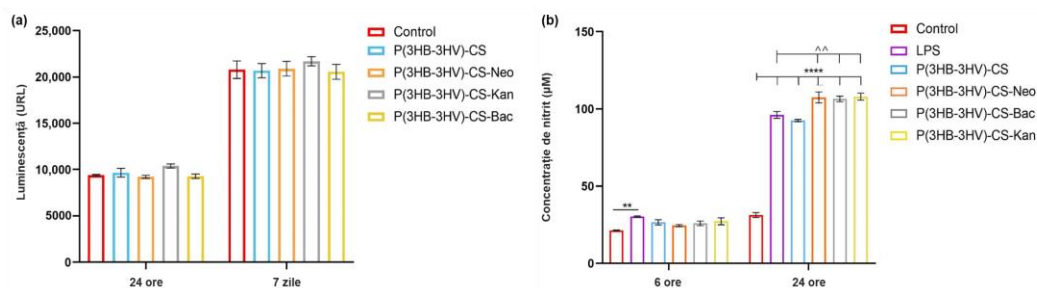


Figura 1.1.2: Nivelul de H_2O_2 în culturile de fibroblaste dermale după 24 de ore și 7 zile de tratament cu sfere P(3HB-3HV)-CS și P(3HB-3HV)-CS-ATB (a); Nivelul de nitrit (măsură a producției de NO) eliberat de macrofage în mediul de cultură după 6 ore și 24 de ore de tratament cu sfere P(3HB-3HV)-CS și P(3HB-3HV)-CS-ATB (** $p \leq 0,01$ LPS vs. control; ^^ $p \leq 0,01$ probe vs. LPS; **** $p \leq 0,0001$ probe vs. control netratat)

Sferele biopolimerice P(3HB-3HV)-CS au demonstrat efecte de potențare a acțiunii antibioticelor biosintetizate (Bac, Neo și Kan), în timp ce au susținut proliferarea și creșterea normală a fibroblastelor dermale umane. În plus, sferele compozite nu au afectat ultrastructura celulară normală și nu au indus stres oxidativ în culturile de fibroblaste. Microsferele hibride P(3HB-3HV)-CS-Kan au demonstrat efecte proinflamatorii reduse asupra macrofagelor, evidențiate prin monitorizarea nivelurilor de citokine IL-6 și TNF- α .

1.2. Sisteme hibride de poli(lactidă-co-glicolidă), chitosan și nanoparticule de magnetită conjugate cu antiinflamator nesteroidian

În cadrul acestui studiu a fost evaluat potențialul sferelor biopolimerice de poli(lactidă-co-glicolidă), PLGA, încărcate cu ibuprofen (IBUP) și cu aport variabil de nano-magnetită de a fi utilizate ca platforme de livrare a medicamentelor. A fost demonstrată multifuncționalitatea sistemele nanostructurate PLGA-Fe₃O₄-IBUP pentru aplicații locale antiinflamatorii și antitumorale, precum și anti-infecțioase (în cazul sistemelor PLGA-CS-Fe₃O₄-IBUP) [20].

Analiza SEM a sistemelor PLGA-Fe₃O₄-IBUP, obținute prin adăugarea a 10 /20 / 50 mg de nano-pulbere (IBUP10, IBUP20 și IBUP50), a evidențiat structuri individuale bine definite, cu morfologie preponderent sferică și dimensiuni comparabile. În cazul IBUP10 și IBUP20, microsfelele au prezentat suprafață predominant netedă și distribuție dimensională mai îngustă, aspect corelat cu înglobarea eficientă a NPs în matricea polimerică. În schimb, microsfelele IBUP50 au prezentat suprafață texturată și dimensiuni variabile. Spectrele IR aferente sistemelor PLGA-Fe₃O₄-IBUP au confirmat obținerea de microsfele compozite nanostructurate.

Ulterior testării microsferelor în condiții biologice simulate, în regim dinamic, modificările compoziționale și microstructurale evidențiate la finalul perioadei de testare de 21 de zile au fost minime în cazul particular al sistemelor IBUP10.

În continuare, a fost evaluat potențialul de utilizare a microsferelor PLGA-Fe₃O₄-IBUP în aplicații de hipertermie, vizând identificarea compoziției adecvate pentru obținerea unui efect termic maximal în condiții de siguranță. Un caz particular a fost observat pentru sistemele nanostructurate IBUP10, efectul de încălzire fiind comparabil indiferent de puterea câmpului magnetic aplicat (Figura 1.2.1, sus). Spectrele UV-Vis ale supernatantelor rezultate din testarea în câmp magnetic a sistemelor PLGA-Fe₃O₄-IBUP (Figura 1.2.2, jos) au relevat faptul că cel mai important efect de eliberare a IBUP a fost atribuit sistemelor IBUP20 expuse la puterea

maximală a câmpului magnetic, urmate de sistemele IBUP10 expuse câmpului magnetic în radiofrecvență cu puterea cea mai mică (1,2 kW).

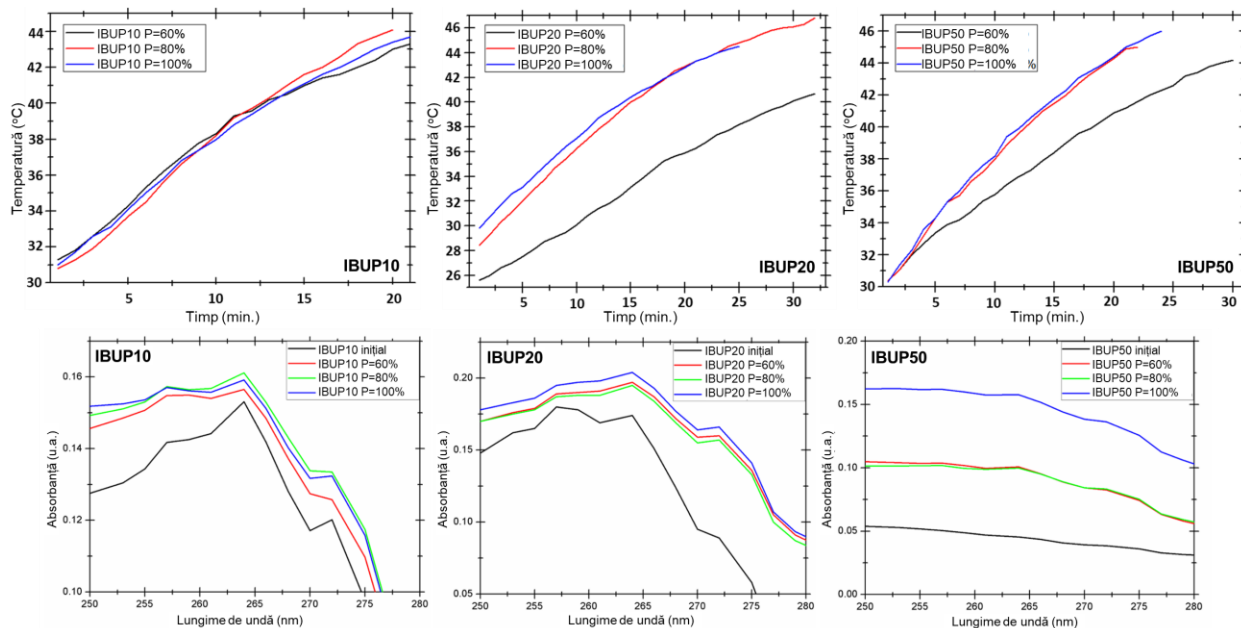


Figura 1.2.1: Răspunsul termic al sferelor PLGA-Fe₃O₄-IBUP sub acțiunea diferitelor câmpuri magnetice (sus); Spectre UV-Vis ale soluțiilor colectate după testarea sub diferite câmpuri magnetice a sferelor PLGA-Fe₃O₄-IBUP (jos)

Evaluarea biologică a filmelor de sfere biopolimerice de PLGA și nano-magnetită (S), PLGA, nano-magnetită și IBUP (IBUP10) și PLGA-CS, nano-magnetită și IBUP (IBUP10CS), a relevat rolul benefic al materialelor dezvoltate asupra viabilității, adeziunii și dezvoltării celulare normale a macrofagelor umane, efectele fiind mai pronunțate în cazul IBUP10 și IBUP10CS.

Dezvoltarea microbiană planctonică a fost considerabil inhibată în prezența substraturilor modificate cu microsfele nanostructurate. Adăugarea CS în sferile biopolimerice a cauzat cele mai pronunțate efecte inhibitorii asupra dezvoltării planctonice, indiferent de tulpină.

Rezultate complementare au demonstrat inhibiția pronunțată a dezvoltării biofilmelor în prezența materialelor care conțin CS (Figura 1.2.2).

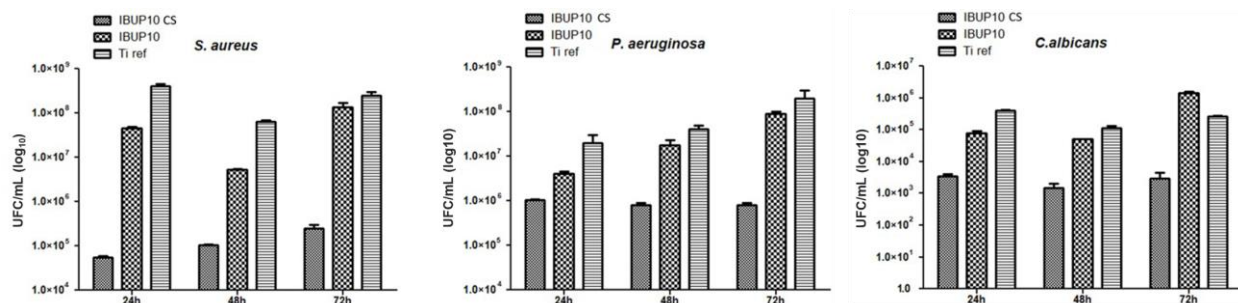


Figura 1.2.2: Potențialul anti-biofilm al sferelor biopolimerice compozite după diferite intervale de timp

Substraturile acoperite cu sfere IBUP10CS au manifestat eficiență importantă și susținută împotriva formării și maturării biofilmelor microbiene. Cele mai pronunțate efecte anti-biofilm au fost observate asupra *S. aureus*. A fost constatată capacitatea microsferelor IBUP10 de a interfera cu dezvoltarea biofilmelor microbiene, acest efect fiind mai puternic în cazul *P. aeruginosa*.

Sferele biopolimerice nanostructurate propuse în acest studiu prezintă caracteristici multifuncționale, fiind candidați promițători pentru dezvoltarea de platforme destinate terapiei controlate a bolilor severe, precum și pentru modificarea dispozitivelor implantabile destinate gestionării afecțiunilor cronice.

1.3. Acoperiri de poli(lactidă-co-glicolidă) și antiinflamator nesteroidian

În cadrul acestui studiu a fost evaluată capacitatea acoperirilor de poli(lactidă-co-glicolidă) de a acționa ca matrici active pentru înglobarea și eliberarea ibuprofenului în condiții biomimetice simulate, precum și răspunsul celular complex generat de acestea [21].

Rezultatele testării în condiții biologice simulate, în regim dinamic, a acoperirilor PLGA/IBUP au evidențiat degradarea lentă a matricei biopolimerice (pierderi masice relative între ~7,89% și ~16,75%, aferente perioadelor de testare de 2 zile, respectiv 30 de zile) și eliberarea treptată a medicamentului (concentrația IBUP eliberat a variat între ~90 $\mu\text{g/mL}$ și ~250 $\mu\text{g/mL}$). Analiza microstructurală și compozițională a acoperirilor supuse testării a relevat fenomene reversibile de gonflare în primele 2 săptămâni, urmate de degradarea ireversibilă și modificarea chimică a matricei biopolimerice după o lună. Hidroliza mediată de SBF a matricei polimerice a fost evidențiată prin modificarea poziției spectrale a grupării carbonil ($1750\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$), originând fie din PLGA (până în ziua 15), fie din unitățile LA și GA (20 și 30 de zile) (Figura 1.3.1).

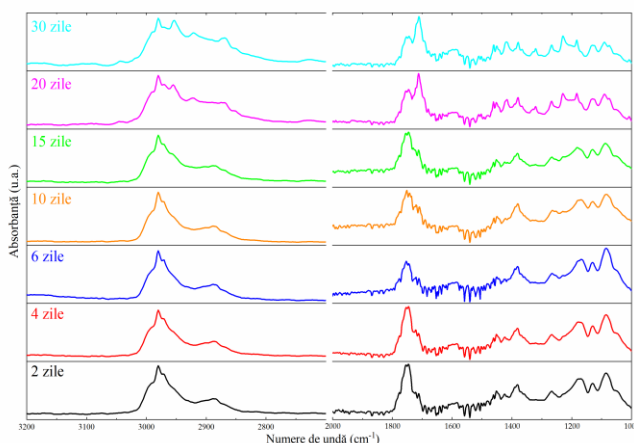


Figura 1.3.1: Spectre IR ale acoperirilor PLGA/IBUP după testarea dinamică simulată biologic

Răspunsul biologic al acoperirilor PLGA/IBUP a fost evaluat pe culturi de celule THP-1 diferențiate la macrofage. Testarea cantitativă a relevat creșterea semnificativă a viabilității la 3 zile ($p < 0,001$) pentru acoperirile pe bază de PLGA, comparativ cu timpul de testare de o zi. Efectele benefice ale materialelor asupra adeziunii, răspândirii și morfologiei celulare au fost complementar determinate prin examinare microscopică (Figura 1.3.2, sus), confirmând caracterul biocompatibil excelent al acoperirilor PLGA/IBUP în raport cu macrofagele umane.

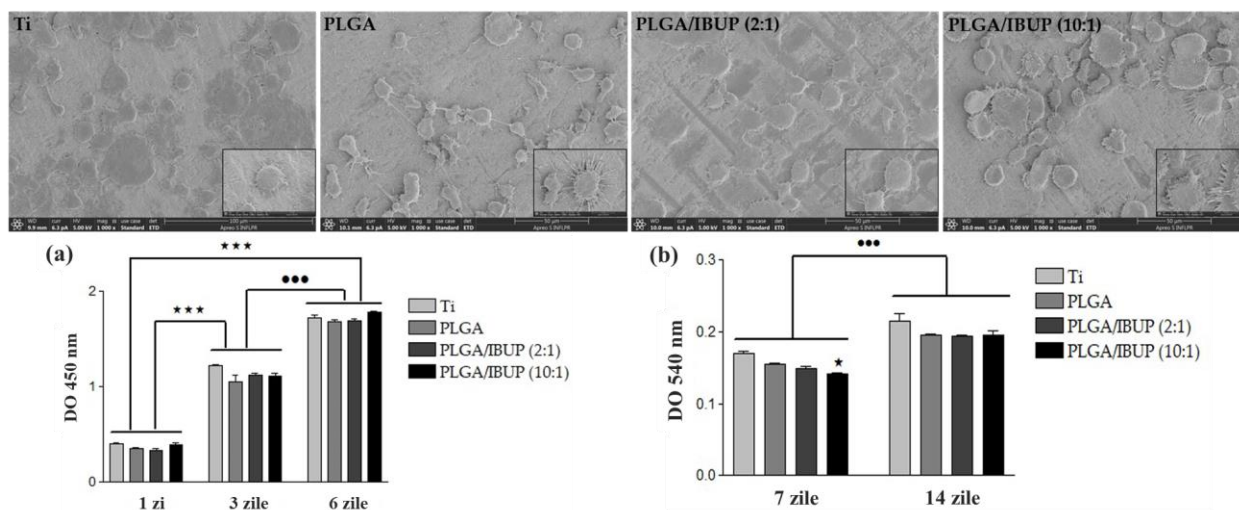


Figura 1.3.2: Aspecte morfologice ale macrofagelor după 3 zile de tratament cu acoperiri PLGA/IBUP, evidențiate prin SEM (sus); Viabilitatea și proliferarea fibroblastelor dermale după 1, 3 și 6 zile de tratament cu acoperiri PLGA/IBUP (a) (***) $p < 0,001$ vs. 1 zi; (***) $p < 0,001$ vs. 3 zile); Sinteza de collagen de către fibroblastele dermale după 7 și 14 zile de tratament cu acoperiri PLGA/IBUP (b) (*) $p < 0,05$ vs. Ti; (***) $p < 0,001$ vs. 7 zile)

Capacitatea acoperirilor PLGA/IBUP de a susține supraviețuirea și de a promova proliferarea fibroblastelor a fost determinată calitativ (vizualizarea și determinarea aportului de celule viabile) și cantitativ (evaluarea activității metabolice, Figura 1.3.2a). Studiile privind investigarea adeziunii și morfologiei celulare au confirmat citocompatibilitatea înaltă a acoperirilor PLGA/IBUP în raport cu fibroblastele umane. Mai mult, acoperirile dezvoltate au determinat o creștere în timp a sintezei de collagen de către fibroblaste (Figura 1.3.2b).

Evaluarea adeziunii și a morfologiei celulelor KERTr crescute pe acoperiri PLGA/IBUP (Figura 1.3.4) a fost realizată prin vizualizarea vinculinei (marcaj verde) și a actinei (marcaj roșu). După 24 de ore, celulele au prezentat morfologie poligonală tipică, aderențe focale sporite și cortex celular bine definit. Complementar, a fost evidențiată adaptarea celulelor la suprafețele dezvoltate și potențialul lor de a prolifera (SEM), precum și abilitatea acoperirilor de a susține viabilitatea și de a promova proliferarea normală a keratinocitelor (FM, activitate metabolică).

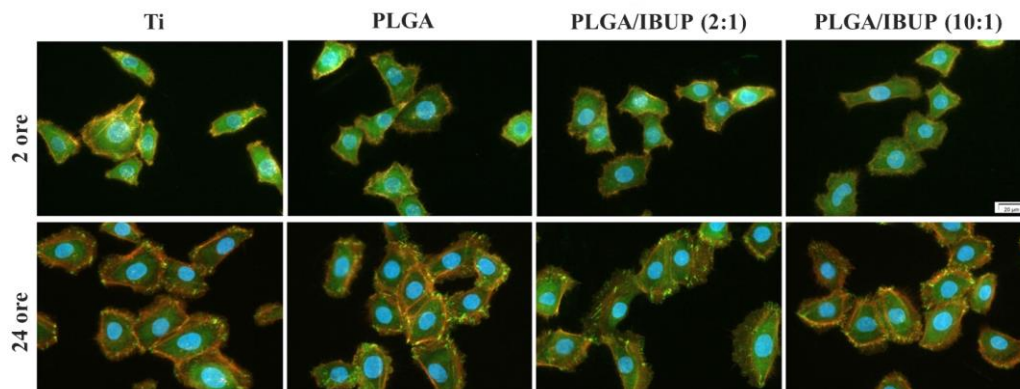


Figura 1.3.3: Aspecte morfologice ale keratinocitelor după 2 ore și 24 de ore de tratament cu acoperiri PLGA/IBUP, evidențiate prin FM

Studiul a evidențiat degradarea treptată a matricei biopolimerice, însoțită de eliberarea cumulativă a $\sim 250 \mu\text{g/mL}$ IBUP, după o lună de testare în condiții biomimetice dinamice. Citocompatibilitatea excelentă a acoperirilor PLGA/IBUP, validată pe culturi de macrofage, fibroblaste și keratinocite umane, a relevat potențialul acestora de a fi utilizate pentru modificarea suprafețelor DMI, precum implanturi metalice și pansamente destinate aplicațiilor topice.

2. Suprafețe nanostructurate antimicrobiene

2.1. Filme subțiri de polilactidă și nanoparticule de argint

Materiale nanostructurate pe bază de polilactidă (PLA) și nanoparticule de argint (AgNPs) au fost propuse în acest studiu ca acoperiri bioactive, capabile să interfere cu formarea și dezvoltarea biofilmelor microbiene pe suprafețe biomedicale relevante [22].

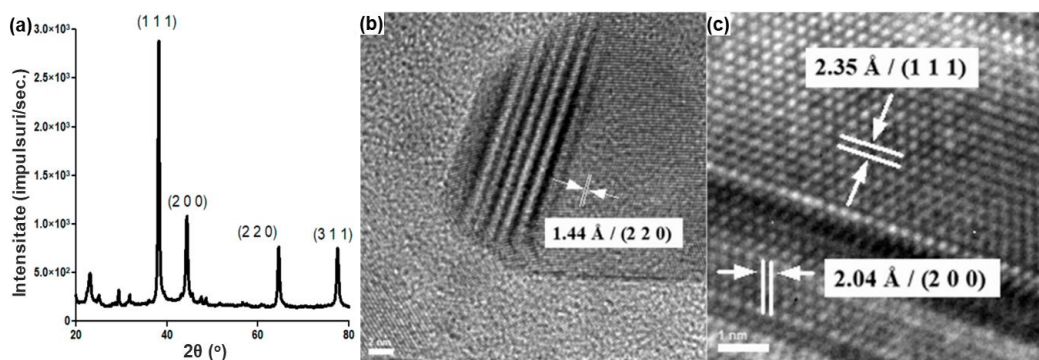


Figura 2.1.1: Difractograma de raze X a AgNPs (a); Imagini HR-TEM ale AgNPs (b,c)

Difractograma de raze X a pulberii sintetizate (Figura 2.1.1a) a confirmat puritatea probei și prezența argintului metalic drept singura fază cristalină. Nanodimensionalitatea particulelor de argint a fost confirmată prin intermediul microgafiilor TEM, pe baza acestora determinându-se

dimensiunea fizică medie a particulelor de ~49 nm. Planele cristaline anterior identificate au fost evidențiate în imaginile HR-TEM (Figura 2.1.1c,d), iar spectrul SAED a confirmat cristalizarea AgNPs în sistem cfc.

Pentru evaluarea efectelor procesării laser asupra materialului PLA/AgNP, a fost realizată analiza comparativă în IR între materialul inițial (*drop-cast*) și probele obținute prin MAPLE. Fluența laser de 400 mJ/cm² a demonstrat eficiență de transfer stoechiometric a PLA/AgNPs. Microstructura acoperirilor PLA/AgNPs astfel obținute a fost investigată prin SEM, imaginile colectate evidențiind formarea de acoperiri continue, înglobarea AgNPs în matricea polimerică și morfologia neregulată a suprafeței. Grosimea acoperirilor PLA/AgNPs a fost de ~500 nm.

Răspunsul secțiunilor de cateter venos central modificate cu acoperiri PLA/AgNPs a fost evaluat în prezența celulelor endoteliale EA.hy926. Suprafețele nanostructurate nu au avut efecte citotoxice asupra celulelor umane, rezultatele demonstrând metabolismul normal și creșterea normală a celulelor endoteliale, precum și lipsa modificărilor la nivelul ciclului celular (Figura 2.1.2a). Acoperirile PLA/AgNPs au interferat, în special, cu dezvoltarea biofilmului asociat tulpinii Gram-pozitive (Figura 2.1.2b), populația bacteriană fiind redusă cu peste 2,5 ordine de mărime.

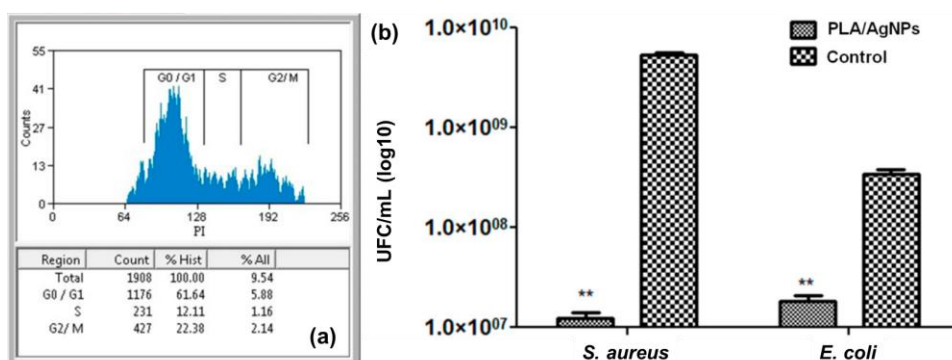


Figura 2.1.2: Analiza ciclului celular al celulelor endoteliale după 48 de ore de tratament cu acoperiri PLA/AgNPs (a); Potențialul anti-biofilm al acoperirilor PLA/AgNPs asupra *S. aureus* și *E. coli*, după 24 de ore (b) (** $p \leq 0,01$ probe vs. control)

Rezultatele microbiologice au evidențiat eficiența acoperirilor PLA/AgNPs în etapele de formare și maturare a biofilmelor bacteriene. Materialele nanostructurate propuse pot reprezenta o strategie fezabilă privind modificarea suprafețelor dispozitivelor cu utilizare clinică scurtă sau medie.

2.2. Filme subțiri de polilactidă și nanoparticule de magnetită conjugate cu ulei esențial

În scopul revalorificării principiile fitochimice utilizând particule nanodimensionate de magnetită și al optimizării suprafețele dispozitivelor de uz clinic prin modificare cu acoperiri

antimicrobiene, au fost obținute și testate filme subțiri de acid polilactic (PLA) încărcate cu nanoparticule de magnetită conjugate cu ulei esențial de eucalipt (*Eucalyptus globulus*) [23].

Conjugarea *Eucalyptus globulus* (EG) pe suprafața particulelor de Fe_3O_4 a fost demonstrată prin analiză în infraroșu și prin studii termice, realizate prin TGA și DSC (Figura 2.2.1a). Derivatograma probei native (Fe_3O_4) a evidențiat o pierdere masică totală de 2,81%, realizată în 3 etape: (i) proces exoterm datorat oxidării Fe^{2+} la Fe^{3+} (100–200°C); (ii) eveniment exoterm datorat degradării reziduurilor organice (300–400°C, reducere masică de 1,27%); și (iii) fenomen exoterm, corelat cu o scădere masică de 0,73% și rezultat din transformarea izomorfă a oxidului de fier [24,25]. Eliminarea moleculelor de apă adsorbite la suprafața particulelor s-a înregistrat la valori termice sub 100°C (proces endoterm foarte slab), iar eliminarea grupelor hidroxil a fost mascată de prima tranziție izomorfă a oxidului de fier. Traseul termic al probei $\text{Fe}_3\text{O}_4@EG$ a fost similar, însă amplitudinea procesului de la ~300°C a fost mai mare și însoțită de o pierdere masică de 1,92% (rezultat al degradării moleculelor de EG conjugate pe suprafața particulelor). În cazul acestei probe, pierderea masică totală a fost de 3,17%.

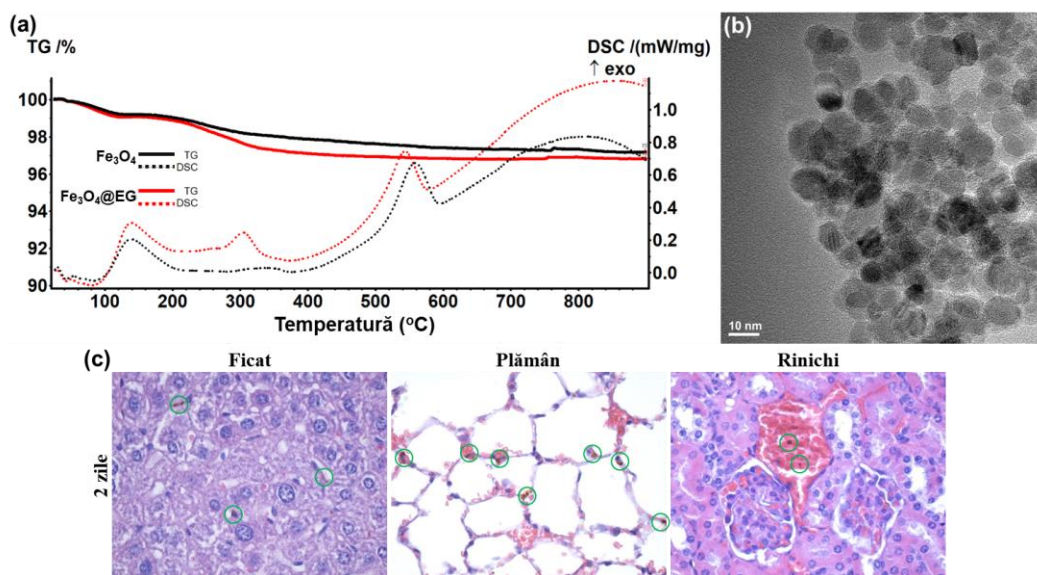


Figura 2.2.1: Derivatogramele Fe_3O_4 și $\text{Fe}_3\text{O}_4@EG$ (a); Imagine TEM a $\text{Fe}_3\text{O}_4@EG$ (b); Aspecte histologice ale fragmentelor tisulare hepatice, pulmonare și renale recoltate după tratamentul timp de 2 zile cu $\text{Fe}_3\text{O}_4@EG$ (c)

Analiza TEM (Figura 2.2.1b) a evidențiat nanodimensionalitatea ($7,5 \pm 2,5$ nm), morfologia cvasi-sferică și structura de tip *core/shell* a particulelor $\text{Fe}_3\text{O}_4@EG$. Analiza SAED a permis identificarea probei drept magnetită cfc cu structură de spinel. Complementar, a fost determinat faptul că nanoparticulele $\text{Fe}_3\text{O}_4@EG$ au prezentat suprafață încărcată negativ (potențial ζ de $-1,7$ mV) și diametre hidrodinamice între 200,9–247 nm.

Evaluarea histologică a fragmentelor tisulare murine prelevate ulterior administrării sistemice a suspensiilor de nanoparticule funcționalizate a relevat retenția preferențială a acestora. După 2 zile, agregate de culoare maronie au fost identificate la nivelul macrofagelor specifice ale țesuturilor hepatice și pulmonare, dar și la nivelul capilarelor renale. Cu toate acestea, nu au fost identificate alterări histologice în nici unul dintre fragmentele tisulare (Figura 2.2.1c). După 10 zile, sistemele $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$ au fost absente la nivel hepatic, pulmonar și renal, iar fragmentele tisulare nu au prezentat modificări ultrastructurale sau alterări funcționale. Retenția splenică a $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$ a determinat hipertrofia pulpei albe.

Utilizând fluența laser de 300 mJ/cm^2 , a fost realizat transferul omogen (hărți IR) și stoechiometric (spectre IR) al materialului $\text{PLA/Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$. Analiza SEM a evidențiat acoperirea completă a substratului (Figura 2.2.2a), înglobarea eficientă și distribuția uniformă a agregatelor de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$ în matricea de PLA (Figura 2.2.2b). Acoperirile $\text{PLA/Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$ au favorizat dezvoltarea normală a celulelor stem derivate din fluid amniotic (AFSCs), după 3 zile (Figura 2.2.2c). Inhibiția dezvoltării biofilmelor bacteriene în prezența acoperirilor a fost comparabilă pentru toate intervalele investigate, efectele fiind mai puternice împotriva tulpinii Gram-pozitive.

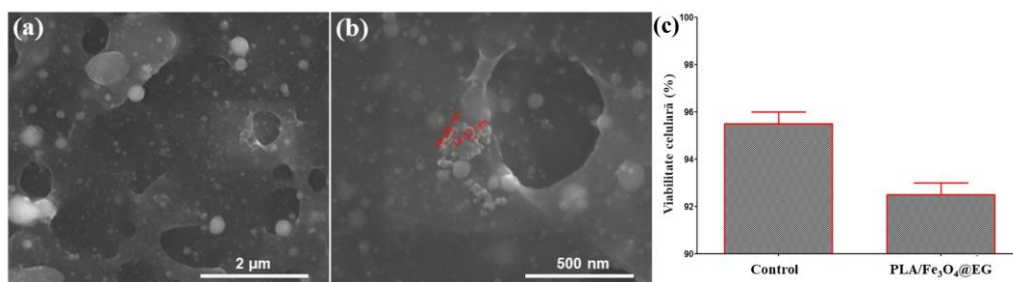


Figura 2.2.2: Imagini SEM de ansamblu ale filmelor $\text{PLA/Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$ (a,b); Viabilitatea celulelor stem mezenchimale după 72 de ore de tratament cu acoperiri $\text{PLA/Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$ (c)

Rezultatele biologice au evidențiat biocompatibilitatea acoperirilor $\text{PLA/Fe}_3\text{O}_4@\text{EG}$ în raport cu celulele umane, iar datele microbiologice au indicat potențialul acestor materiale pentru modificarea anti-biofilm a suprafețelor biomedicale implantabile.

2.3. Filme subțiri de poli(lactidă-co-glicolidă) și nanoparticule de magnetită conjugate cu antibiotic

În scopul modificării suprafețelor de interes clinic cu acoperiri bioactive cu eficiență antimicrobiană, în cadrul acestui studiu a fost propusă înglobarea nanoparticulelor de magnetită funcționalizate cu cefepimă ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CEF}$) în filme de poli(lactidă-co-glicolidă), PLGA [26].

Conform fișei ICDD 19-0629 și rezultatelor de specialitate [27,28], planele de difracție identificate la valori ale unghiului 2θ de 30° , $35,80^\circ$, $44,10^\circ$, 54° , $57,50^\circ$ și $63,80^\circ$ au fost atribuite magnetitei cristalizate în sistem cubic cu fețe centrate (cfc) (Figura 2.3.1a). Pe baza pierderilor masice reziduale aferente probelor Fe_3O_4 și $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CEF}$ (înregistrate prin analiză termică), cantitatea estimată a antibioticului conjugat la suprafața NPs a fost de $3,53 \pm 0,1\%$. A fost evidențiată morfologia preferențial sferică a particulelor, cu o dimensiune medie de ~ 7 nm (Figura 2.3.1b).

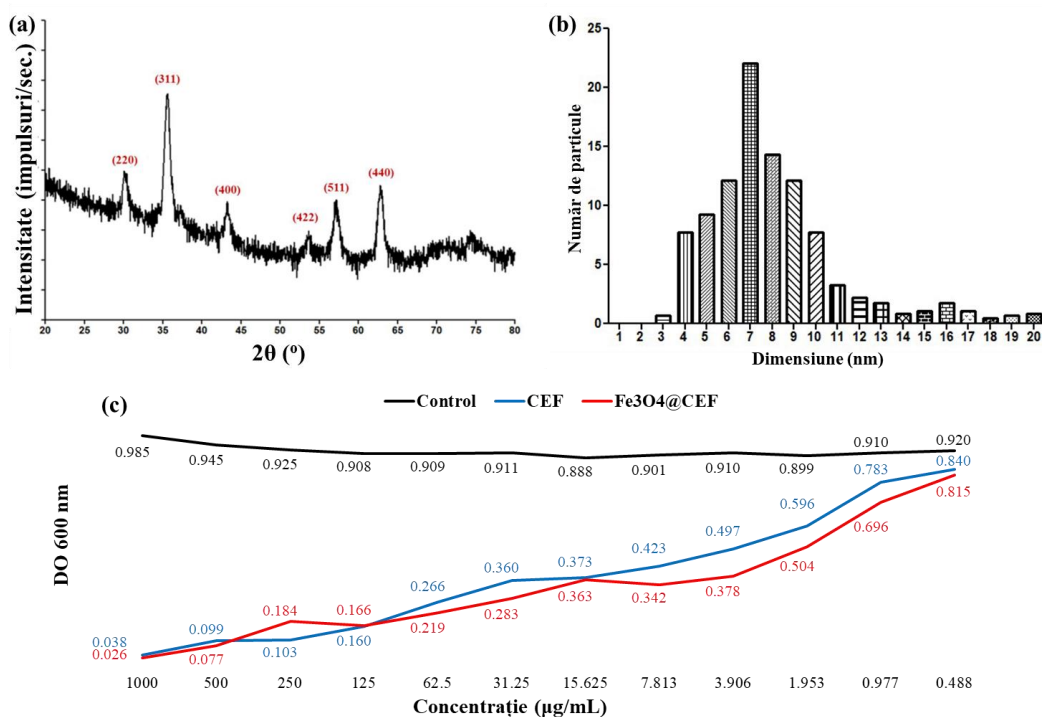


Figura 2.3.1: Difractograma de raze X a $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CEF}$ (a); Histograma dimensiunii particulelor (b); Potențialul bacteriostatic al $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CEF}$ asupra *S. aureus*, raportat la concentrații echivalente de CEF (c)

Efectele antimicrobiene ale NPs funcționalizate au evidențiat un răspuns bacteriostatic dependent de concentrația nanostructurilor, acesta fiind cel puțin comparabil cu răspunsul antibioticului liber. Pentru concentrații între 0,9 și 7,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a fost înregistrată o inhibiție medie a microorganismelor planctonice Gram-pozitive de $\sim 10\%$ (Figura 2.3.1c), demonstrând capacitatea de potențare a magnetitei nanodimensionate asupra efectelor antibioticului.

Cartografierea în IR (Figura 2.3.2, sus) a fost realizată prin monitorizarea benzilor de absorbție caracteristice vibrațiilor grupărilor $\text{C}=\text{O}$ ($\sim 1780 \text{ cm}^{-1}$) și CH_2 ($\sim 2950 \text{ cm}^{-1}$), variațiile de culoare fiind direct proporționale cu intensitatea absorbției. Hărțile IR ale filmului obținut prin *drop-cast* au evidențiat predominant zone de culoare albastră și verde, urmare a distribuției

neuniforme a PLGA/Fe₃O₄@CEF pe suprafața substratului. Hărțile IR ale materialelor procesate MAPLE au evidențiat îmbunătățirea distribuției grupărilor funcționale monitorizate, indiferent de valoarea fluenței laser. În ceea ce privește distribuția uniformă și transferul stoichiometric al materialelor, cele mai bune rezultate au fost atribuite acoperirilor procesate la 400 mJ/cm².

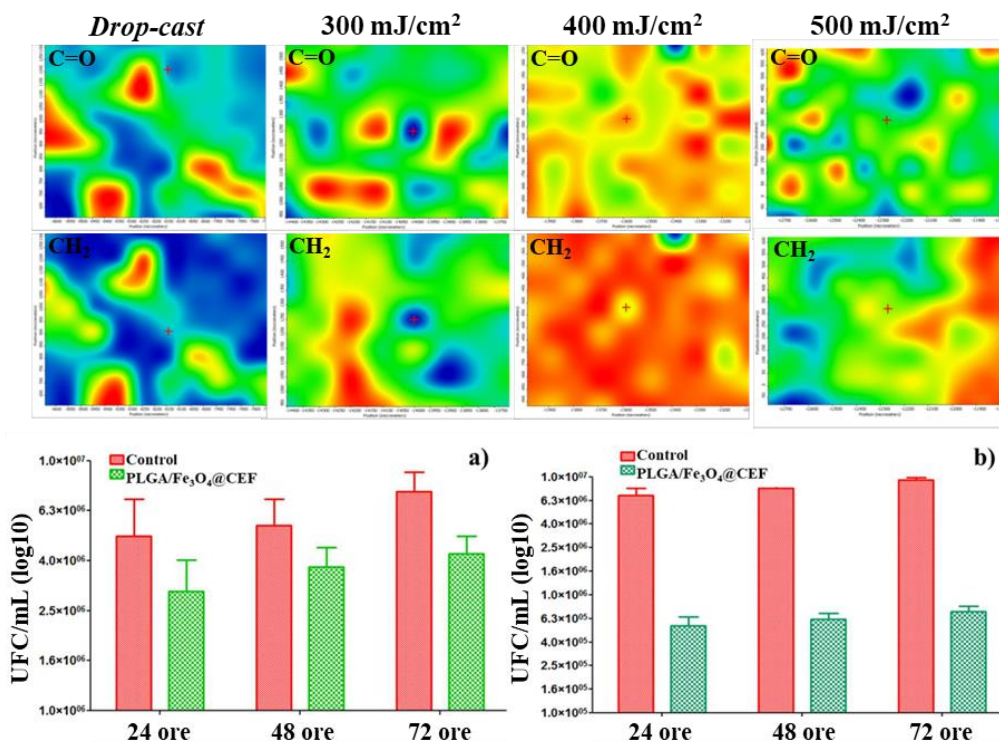


Figura 2.3.2: Hărți IR ale materialului inițial PLGA/Fe₃O₄@CEF și ale filmelor PLGA/Fe₃O₄@CEF obținute la diferite fluențe laser (sus); Potențialul anti-biofilm al acoperirilor PLGA/Fe₃O₄@CEF (jos) asupra *E. coli* (a) și *S. aureus* (b)

Evaluarea cantitativă a biocompatibilității acoperirilor nanostructurate, determinată pe culturi de AFSCs, a relevat rezultate comparabile probelor control după 3 zile de incubare, variația viabilității celulare fiind mai redusă de 2%. Acoperirile PLGA/Fe₃O₄@CEF au inhibat etapele de formare și maturare a biofilmelor bacteriene, indiferent de perioada de testare (Figura 2.3.2, jos). În cazul *E. coli* a fost înregistrată o eficiență moderată, dar susținută în timp, a compozitelor împotriva biofilmului bacterian. Materialele PLGA/Fe₃O₄@CEF au prezentat eficiență sporită și de lungă durată împotriva dezvoltării biofilmului stafilococic.

În urma acestui studiu, a fost evidențiat potențialul acoperirilor PLGA/Fe₃O₄@CEF de a fi utilizate ca alternativă antimicrobiană pe termen scurt și mediu, dat fiind efectul puternic inhibitor asupra colonizării microbiene și formării biofilmelor, evidențiat pentru o perioadă de cel puțin 3 zile (perioadă critică în ocurența infecțiilor asociate dispozitivelor implantabile).

2.4. Acoperiri de microsferă de poli(lactidă-co-glicolidă) și nanoparticule de magnetită conjugate cu antibiotic

În scopul modificării suprafețelor biomedicale cu straturi de acoperire capabile să susțină procesele fiziologice ale celulelor umane normale și să perturbe etapele de contaminare și colonizare microbiană, în cadrul acestui studiu au fost obținute și evaluate acoperiri pe bază de sfere biopolimerice de poli(lactidă-co-glicolidă) încărcate cu nanoparticule de magnetită funcționalizate cu lincomicină (PLGA/Fe₃O₄@LINC) [29].

Nanoparticulele Fe₃O₄@LINC (dimensiune fizică medie de ~8 nm, morfologie cvasisferică și structură de tip *core/shell*) au fost eficient înglobate în matricea sferelor polimerice în urma procesului de microemulsie, conform observațiilor microstructurale (Figura 2.4.1.a) și compoziționale. În comparație cu datele aferente particulelor Fe₃O₄@LINC, spectrele IR ale microsferelor PLGA/Fe₃O₄@LINC (Figura 2.4.1.b) au evidențiat prezența suplimentară a următoarelor vibrații: întinderea simetrică a grupării carbonil din structura copolimerului, suprapunerea întinderilor asimetrice ale C–O (din PVA) și C–O–C (din PLGA), suprapunerea vibrațiilor de întindere asimetrică ale –CH₃ și –CH₂– din structura LINC și PLGA (medalion).

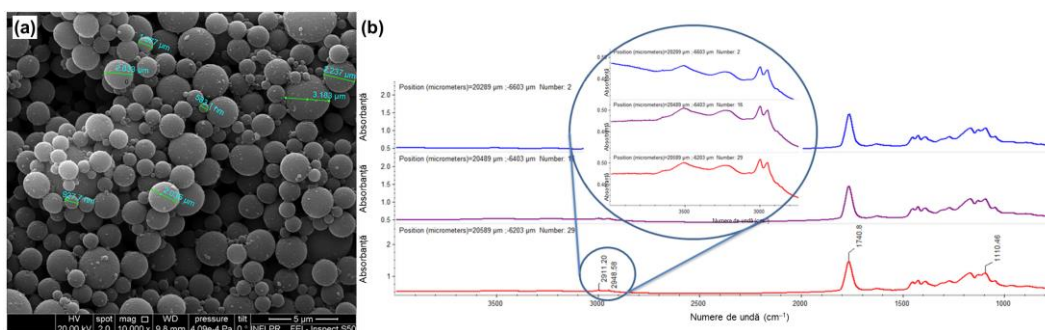


Figura 2.4.1: Imagine SEM a sferelor PLGA/Fe₃O₄@LINC (a); Spectre IR ale sferelor PLGA/Fe₃O₄@LINC și regiune în detaliu pentru evidențierea vibrațiilor C–H (b)

Valoarea de 400 mJ/cm² s-a dovedit optimă pentru obținerea de acoperiri PLGA/Fe₃O₄@LINC, atât din punct de vedere al integrității chimice, cât și din punct de vedere al transferului adecvat de material.

Potențialul acoperirilor nanostructurate de a promova adeziunea și de a susține creșterea celulelor stem derivate din țesut adipos (hASCs) a fost evaluat cantitativ. După 24 de ore, a fost evidențiată o viabilitate bună a hASCs, indiferent de tipul acoperirii. După 48 de ore, a fost observată o scădere a viabilității în cazul acoperirilor PLGA/Fe₃O₄@LINC (500 mJ/cm²) și Fe₃O₄@LINC. Pentru suprafețele PLGA/Fe₃O₄@LINC (300 mJ/cm²) și PLGA/Fe₃O₄@LINC

(400 mJ/cm²) a fost înregistrată o creștere statistic semnificativă a proliferării, evidențiind faptul că ambele tipuri de acoperiri nanostructurate au susținut proliferarea hASCs.

Complementar, evaluarea calitativă a răspunsului biologic (Figura 2.4.2) a relevat aportul considerabil mai mare al celulelor viabile (marcaj verde) în cazul acoperirilor nanostructurate PLGA/Fe₃O₄@LINC (300 mJ/cm²) și PLGA/Fe₃O₄@LINC (400 mJ/cm²). În cazul suprafețelor PLGA/Fe₃O₄@LINC (500 mJ/cm²) și Fe₃O₄@LINC nu a fost observată o creștere a numărului de celule moarte (marcaj roșu), concluzionând astfel faptul că, deși permit adeziunea inițială a hASCs, aceste tipuri de materiale eșuează în etapa de susținere a proliferării celulare.

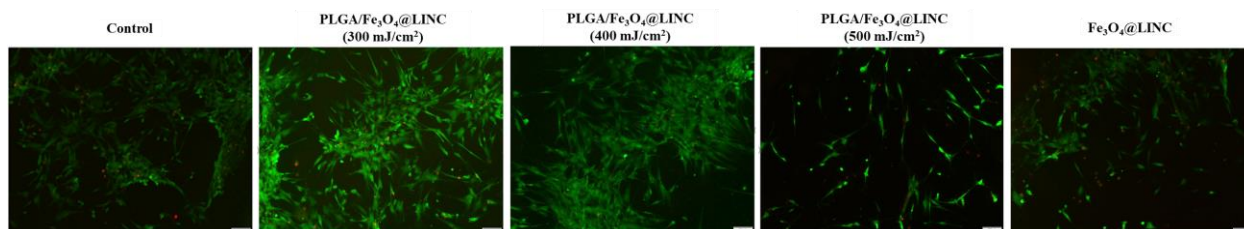


Figura 2.4.2: Viabilitatea și proliferarea celulelor stem după 48 de ore de tratament cu acoperiri de sfere PLGA/Fe₃O₄@LINC (300 mJ/cm², 400 mJ/cm² și 500 mJ/cm²) și de nanoparticule Fe₃O₄@LINC

Micrografiile de fluorescență, evidențiind filamente de actină (verde) și nuclei celulare (albastru), au evidențiat abilitatea acoperirilor PLGA/Fe₃O₄@LINC procesate la fluențele laser de 300 mJ/cm² și 400 mJ/cm² de a susține morfologia tipică a hASCs și de a promova dezvoltarea acestora, odată cu trecerea timpului (Figura 2.4.3).

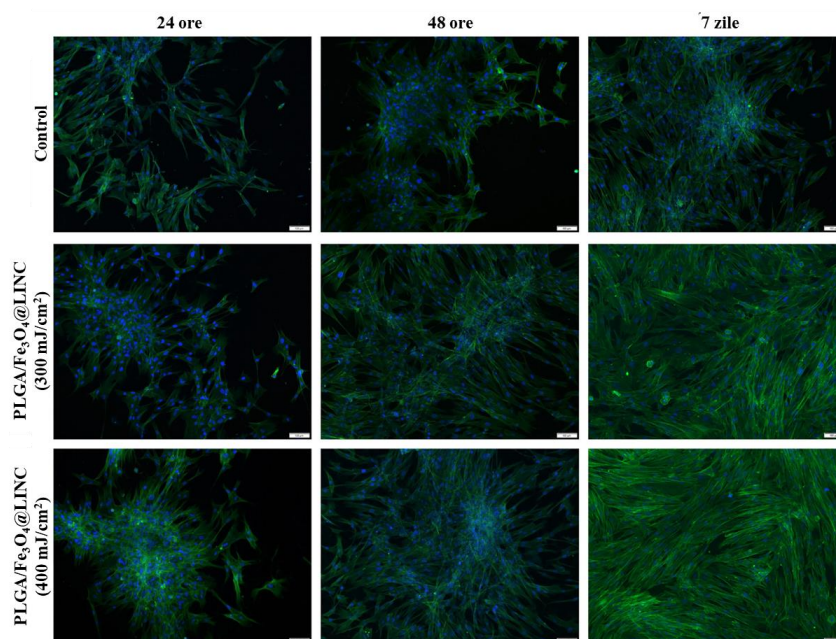


Figura 2.4.3: Morfologia globală a celulelor stem tratate timp de 1, 2 și 7 zile cu acoperiri de sfere PLGA/Fe₃O₄@LINC (300 mJ/cm²) și PLGA/Fe₃O₄@LINC (400 mJ/cm²)

Considerând rezultatele fizico-chimice și datele biologice experimentale, fluența laser de 400 mJ/cm^2 a fost selectată drept valoarea optimă pentru obținerea de acoperiri compozite nanostructurate pe bază de sfere PLGA/Fe₃O₄@LINC cu aplicabilitate în domeniul biomedical.

Testele antimicrobiene au evidențiat capacitatea ridicată a acoperirilor de a inhiba dezvoltarea biofilmului de *S. aureus*. A fost înregistrată diminuarea populațiilor bacteriene cu peste 5 log (24 de ore), respectiv cu peste 4 ordine de mărime (48 de ore).

A fost raportat potențialul acoperirilor Fe₃O₄@LINC și PLGA/Fe₃O₄@LINC în extinderea tratamentelor pe bază de LINC către gestionarea complicațiilor asociate contaminării și colonizării microbiene a dispozitivelor medicale. Mai mult, a fost evidențiat faptul că acoperirile nanostructurate pe bază de microsferă PLGA/Fe₃O₄@LINC pot reprezenta candidați cu potențial clinic în strategiile de modificare biocompatibilă a suprafețelor biomedicale, oferind suplimentar eficiență ridicată și susținută împotriva contaminării și colonizării stafilococice.

3. Acoperiri nanostructurate biomimetice

3.1. Acoperiri de hidroxiapatită, nanoparticule de argint conjugate cu uleiuri esențiale și factor de creștere

Vizând sporirea bioactivității biomaterialelor metalice și modularea fenomenelor de contaminare și colonizare oportunistă, în cadrul acestui studiu au fost dezvoltate acoperiri nanostructurate pe bază de HAp, nanoparticule de argint conjugate cu uleiuri esențiale (Ag@EOs) și proteină morfogenetică osoasă (BMP4).

Studiul nano-argintului conjugat cu EO de salvie (*Salvia officinalis* – S) și scorțișoară (*Cinnamomum aromaticum* – C) a fost realizat comparativ între probele obținute prin reducere chimică clasică (Ag@S și Ag@C) și reducere asistată de ultrasunete (Ag@SU și Ag@CU) [30].

Indiferent de tipul uleiului esențial și de condițiile de sinteză, analiza XRD (Figura 3.1.1) a evidențiat prezența de maxime de difracție intense la valori 2θ de $38,2^\circ$, $44,3^\circ$ și $64,5^\circ$. În conformitate cu fișa PDF 00-004-0783 și cu datele de specialitate [31,32], aceste maxime au fost atribuite planelor de difracție (1 1 1), (2 0 0) și (2 2 0) ale argintului cristalizat în sistem cfc, acesta reprezentând singura fază cristalină identificată.

Comportamentul termic al probelor a fost influențat de tipul EO. În cazul particulelor obținute în prezența *Salvia officinalis* au fost înregistrate pierderi masice totale de 2,443% (Ag@S) și 1,824% (Ag@SU), indicând caracterul predominant metallic al probelor. În cazul particulelor

sintetizate în prezența *Cinnamomum aromaticum*, au fost înregistrate pierderi masice totale de 48,339% (Ag@C) și 40,625% (Ag@CU), indicând aportul considerabil al moleculelor organice conjugate la suprafața nanoparticulelor.

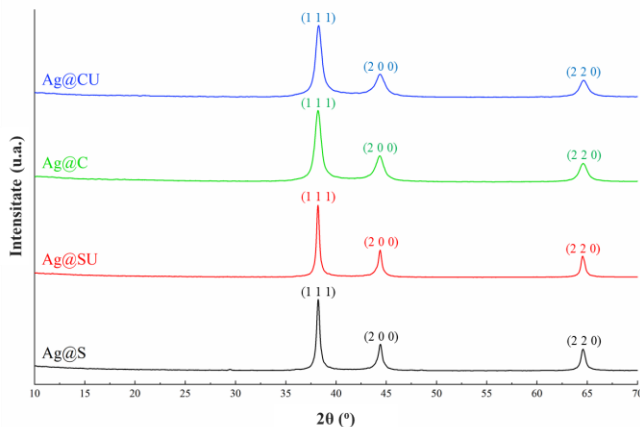


Figura 3.1.1: Difractogramele de raze X ale Ag@EOs

Imaginile TEM au evidențiat morfologia sferică a nanostructurilor Ag@EOs. Un număr redus de particule cu morfologie alungită a fost identificat în cazul Ag@S și Ag@SU, aspect atribuit monoterpenelor și sescviterpenelor cu structură și configurație chimică variabile din EO de salvie. Dimensiunea fizică medie a particulelor a fost de ~25 (Ag@S), ~27 nm (Ag@SU), ~16 nm (Ag@C) și ~19 nm (Ag@CU). Imaginile HR-TEM au evidențiat structura de tip *core/shell* a particulelor, relevând prezența unui strat organic uniform la suprafața acestora. Grosimea peliculei organice a fost de ~2 nm (Ag@S și Ag@SU), respectiv de ~5 nm (Ag@C și Ag@CU).

Ulterior administrării sistemice pe model murin și examinării histologice a organelor vitale, a fost observată retenția tisulară preferențială a Ag@EOs. În cazul țesuturilor cerebral, miocardic și pancreatic nu au fost identificate modificări morfologice sau alterări ultrastructurale, nici structuri străine, indiferent de perioada de testare (2 și 10 zile).

În cazul țesuturilor hepatice și pulmonare, a fost observată internalizarea nanostructurilor la nivelul macrofagelor rezidente (macrofage hepatice stelate, respectiv pneumocite și macrofage alveolare). Agregatele de Ag@C și Ag@CU au fost reduse dimensional. Urmare a stabilității ridicate, agregate de dimensiuni mai mici au fost identificate și în cazul sistemelor sintetizate sonochimic, după ambele perioade de evaluare.

În cazul țesuturilor renale, agregate anorganice au fost identificate exclusiv în vasele de sânge, dimensiunea și distribuția acestora fiind semnificativ reduse după 10 zile de la injectare.

Prezența agregatelor de Ag@EOs la nivelul pulpei roșii a splinei a fost dependentă de timp. Chiar dacă au fost absente la nivelul pulpei albe, retenția nanostructurilor a determinat hipertrofia acestora, ca urmare a hiperproducției de macrofage multinucleate.

Utilizând fluența laser de 500 mJ/cm^2 , a fost realizat transferul eficient și stoechiometric de acoperiri uniforme și compacte pe bază de hidroxiapatită și nanoparticule de argint (HAp/Ag@EOs), acestea prezentând grosime submicronică și topografie nanorugosă.

Acoperirile HAp/Ag@EOs au manifestat efecte anti-biofilm considerabile și susținute în timp, eficiență sporită de inhibiție a biofilmelor microbiene fiind remarcată în cazul HAp/Ag@S și HAp/Ag@C.

Din punct de vedere calitativ, acoperirile HAp/Ag@EOs nu au interferat cu dezvoltarea celulelor osoase MG-63 după 48 de ore, fiind substraturi benefice pentru adeziunea, răspândirea și creșterea normală a acestora (conform FM și SEM).

Rezultatele cantitative ale osteoblastelor crescute pe suprafețele nanostructurate au evidențiat caracterul citocompatibil al acoperirilor HAp/Ag@EOs. Adiția proteinei morfogenetice osoase (BMP4) în acoperirile nanostructurate a determinat îmbunătățirea considerabilă a viabilității celulare, procentele de celule viabile înregistrând creșteri semnificative statistic între 8% și 24%.

În cadrul acestui studiu, a fost evidențiată activitatea anti-biofilm a acoperirilor compozite HAp/Ag@EOs, precum și abilitatea acestor suprafețe nanostructurate de a susține viabilitatea, adeziunea și dezvoltarea normală a celulelor osoase. Mai mult, evaluarea acoperirilor HAp/Ag@EOs/BMP4 a relevat rolul benefic al prezenței proteinei osteoinductive asupra viabilității osteoblastelor, demonstrând potențialul superior al materialelor dezvoltate pentru modificarea de suprafață a implanturilor utilizate în aplicații ortopedice și ortodontice.

3.2. Acoperiri de hidroxiapatită, antibiotic și factor de creștere

În scopul îmbunătățirii bioactivității dispozitivelor implantabile destinate restaurării sau înlocuirii țesutului osos și al modulării fenomenelor oportuniste de contaminare și colonizare microbiană, în cadrul acestui studiu au fost dezvoltate acoperiri compozite pe bază de hidroxiapatită (HAp), kanamicină (KAN) și factor de creștere fibroblastică (FGF2) [33].

În concordanță cu fișa PDF 01-071-5048 și cu rezultatele de specialitate [34,35], difractograma de raze X (Figura 3.2.1a) a evidențiat prezența HAp cristalizate în sistem hexagonal drept singura fază cristalină a pulberii obținute. Pulberea de HAp a constat din agregate poliedrale

ascuțite formate din particule individuale cu aspect acicular caracteristic și dimensiuni nanometrice (Figura 3.2.1b). Analiza TEM (Figura 3.2.1.c) a relevat prezența de agregate de nanoparticule cu morfologie plată sau bastonaș (lungime sub 100 nm și lățime cuprinsă între 5–25 nm).

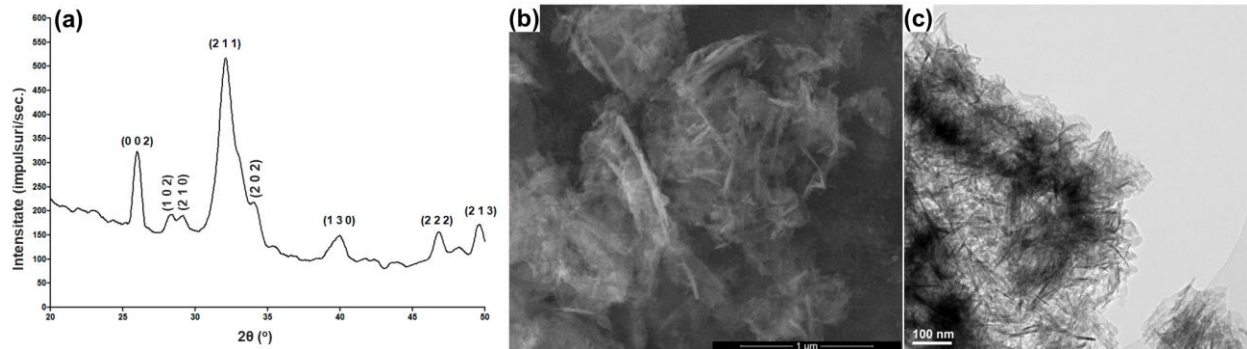


Figura 3.2.1: Difractograma de raze X a HAp (a); Imagine SEM a HAp (b); Imagine TEM a HAp (c)

Din punct de vedere al transferului uniform și eficient al materialelor compozite (hărți IR) și al conservării integrității chimice (spectre IR), rezultate optime au fost evidențiate utilizând valoarea de 300 mJ/cm^2 a fluenței laser. Analiza SEM a acoperirilor HAp/KAN/FGF2 a evidențiat transferul nealterat și uniform al agregatelor compozite. A fost observată morfologia preferențială de tip bastonaș, precum și prezența unui strat exterior de intensitate redusă la suprafața particulelor de apatită.

Comportamentul biologic al discurilor de Ti modificate cu acoperiri pe bază de HAp (fluență laser de 300 mJ/cm^2) a fost evaluat pe culturi de celule preosteoblaste MC3T3-E1. Activitatea metabolică a celulelor cultivate pe discurile acoperite a fost comparabilă cu cea a controlului, variațiile viabilității celulare fiind sub 10%. Complementar, suprafețele nanostructurate nu au indus eliberarea NO, nivelul acestuia fiind apropiat de valoarea aferentă controlului.

De asemenea, a fost observat faptul că acoperirile pe bază de HAp au fost benefice pentru adeziunea și răspândirea uniformă a celulelor MC3T3-E1 (Figura 3.2.3). Celulele au prezentat morfologie normală și caracteristici fenotipice de tip osteoblast (structură aplatizată, filamente de actină alungite, extensii multiple ale citoscheletului și nuclei centrali proeminenți).

Capacitatea acoperirilor încărcate cu KAN de a interfera cu dezvoltarea biofilmelor bacteriene a fost demonstrată în prezența *S. aureus* și *P. aeruginosa*, acțiune inhibitorie mai pronunțată fiind înregistrată asupra tulpinii Gram-pozitive. În ambele situații, efecte inhibitorii mai pronunțate au fost produse de materialele HAp/KAN și HAp/KAN/FGF2 după 48 de ore. Faptul că efectele antimicrobiene au fost menținute, chiar intensificate după 48 de ore de

incubare, a fost corelat cu stabilitatea ridicată a acoperirilor nanostructurate. Acest interval de timp este esențial în studiul biofilmelor microbiene, deoarece – în condiții optime – perioada necesară pentru maturarea și dispersia microorganismelor sesile nu depășește 24 de ore.

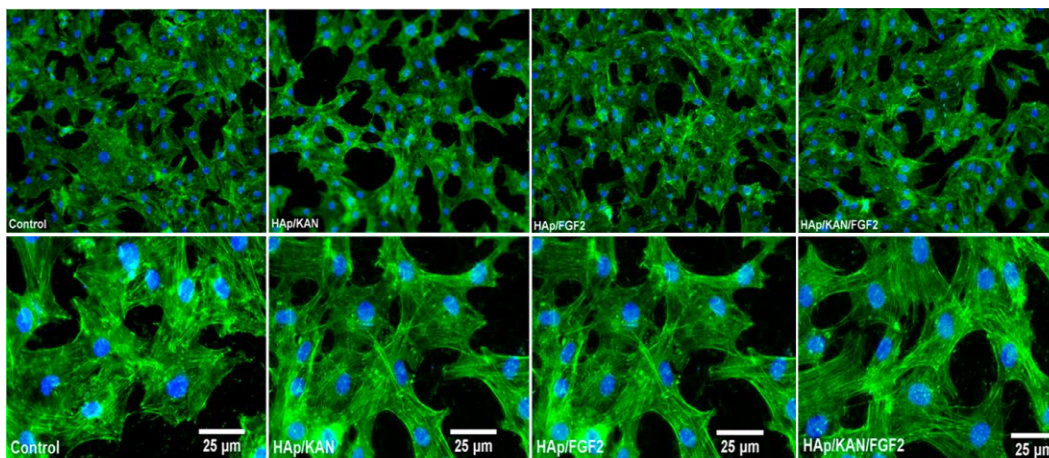


Figura 3.2.2: Morfologia globală a celulelor osteoprogenitoare după 24 de ore de tratament cu acoperiri HAp/KAN, HAp/FGF2 și HAp/KAN/FGF2

Acoperirile compozite dezvoltate în acest studiu au dovedit activitate biologică prelungită, biocompatibilitate ridicată și eficiență anti-biofilm susținută, aspecte esențiale ce vizează aplicabilitatea în ingineria țesuturilor dure și implantologia ortopedică și ortodontică.

3.3. Acoperiri de polilactidă, hidroxiapatită și factor de creștere

Scopul acestui studiu a fost de a evalua răspunsul biologic al acoperirilor pe bază de polilactidă (PLA), hidroxiapatită (HAp) și proteină osteogenică (BMP4), destinate modificării suprafețelor implanturilor ortopedice și ortodontice.

Analiza XRD a evidențiat prezența HAp hexagonale drept singura fază cristalină a pulberii obținute. În spectrul IR au fost identificate benzi de absorbție caracteristice grupării PO_4^{3-} : întindere asimetrică și simetrică a P–O, deformare asimetrică a O–P–O. Imaginile SEM au evidențiat prezența de agregate formate din particule individuale nanodimensionate de morfologie aciculară (lățime de ~10 nm, lungime de ordinul zecilor – sutelor de nm).

Din punct de vedere al integrității compoziționale și al transferului eficient, fluența laser de 300 mJ/cm^2 a fost identificată drept valoarea optimă pentru procesarea PLA/HAp/BMP4. Analiza SEM a evidențiat transferul uniform și compact al materialului compozit, distribuția uniformă a agregatelor de HAp în matricea polimerică și formarea de acoperiri continue, de grosime submicronică.

Capacitatea acoperirilor nanostructurate PLA/HAp/BMP4 de a susține adeziunea, viabilitatea și proliferarea celulelor osteoprogenitoare MC3T3-E1 a fost investigată după 2 și 7 zile de la însămânțare. Rezultele evaluării calitative au evidențiat capacitatea crescută a celulelor de a se atașa la suprafața materialului PLA/HAp/BMP4, celulele viabile acoperind uniform și aproape complet substratul. Investigarea activității metabolice a evidențiat capacitatea acoperirilor de a susține proliferarea celulară, fiind observată o creștere semnificativă a viabilității la 7 zile de la cultivare, comparativ cu cea înregistrată după 2 zile. Efectele benefice ale interacției celulelor MC3T3-E1 cu materialele studiate au fost demonstrate și prin investigarea morfologiei celulare.

În cadrul acestui studiu, a fost raportată eficiența acoperirilor nanostructurate PLA/HAp/BMP4, fabricate prin procesare laser, de a susține adeziunea, viabilitatea și proliferarea celulelor osteoprogenitoare, fără a interfera cu dezvoltarea celulară normală.

Concluzii generale

Activitatea de cercetare aferentă tezei de doctorat a avut ca scop principal dezvoltarea de platforme nanostructurate bioactive cu aplicabilitate în terapia anti-infecțioasă și în ingineria tisulară, studiile realizate vizând sinteza, optimizarea și evaluarea de noi biomateriale, precum: (i) sisteme biopolimerice (particule și filme) destinate potențării efectelor farmacologice ale principiilor active antimicrobiene și antiinflamatorii; (ii) filme subțiri nanostructurate destinate prevenirii și limitării fenomenelor de contaminare și colonizare microbiană a suprafețelor biomedicale; și (iii) acoperiri nanostructurate modificate cu molecule bioactive destinate modulării proceselor infecțioase și potențării efectelor regenerative ale implanturilor metalice.

Contribuțiile originale ale primei secțiuni experimentale, cu titlul *Formulări bioactive farmacoterapeutice*: (i) potențarea eficacității antibioticelor polipeptidice și aminoglicozidice prin înglobare în microsferă compozite P(3HB-3HV)-CS; (ii) modularea eliberării principiilor bioactive și a hipertermiei activate magnetic prin înglobarea biosubstanțelor în microsferă nanostructurate PLGA-Fe₃O₄; (iii) dezvoltarea de noi platforme cu activitate antimicrobiană și anti-biofilm, de tipul sistemelor hibride PLGA-(CS)-Fe₃O₄-IBUP; (iv) modularea interacțiunilor celulare complexe de la interfața implant/țesut, prin modificarea suprafețelor dispozitivelor implantabile cu acoperiri bioactive PLGA/IBUP. Rezultatele obținute au confirmat multifuncționalitatea microsferelor hibride P(3HB-3HV)-CS-ATB și PLGA-(CS)-Fe₃O₄-IBUP și a acoperirilor PLGA/IBUP, acestea

reprezentând candidați promițători pentru dezvoltarea de platforme farmacoterapeutice eficiente destinate tratamentului controlat al patologiilor infecțioase și inflamatorii, precum și sporirii performanțelor dispozitivelor implantabile cu rol restaurativ și/sau regenerativ.

Contribuțiile originale ale celei de-a doua secțiuni experimentale, având titlul *Suprafețe nanostructurate antimicrobiene*: (i) potențarea efectelor anti-patogenice ale substanțelor fitochimice și antibioticelor de sinteză prin conjugarea acestora de nanoparticule de magnetită; (ii) obținerea de suprafețe nanostructurate antimicrobiene pe bază de poliesteri biodegradabili și particule nanodimensionate de argint sau magnetită funcționalizată cu principii bioactive; (iii) obținerea de acoperiri hibride antimicrobiene pe bază de microsferă biopolimerice încărcate cu nano-magnetită funcționalizată cu medicament; (iv) modularea bioactivității și a susceptibilității de contaminare și colonizare microbiană a suprafețelor biomedicale prin modificarea acestora cu acoperiri obținute prin MAPLE; (v) utilizarea tehnicii MAPLE pentru fabricarea de noi platforme destinate terapiei anti-infecțioase. Rezultatele studiilor realizate au confirmat potențialul materialelor nanostructurate obținute de a fi utilizate ca acoperiri biocompatibile pentru suprafețele biomedicale, asigurând în același timp prevenirea și limitarea fenomenelor de contaminare și colonizare microbiană.

Contribuțiile originale ale ultimei secțiuni experimentale, intitulată *Acoperiri nanostructurate biomimetice*: (i) conjugarea moleculelor bioactive de origine naturală pe suprafața nano-argintului, utilizând protocoale clasice și sonochimice de reducere a sărurilor metalice; (ii) creșterea stabilității chimice a nanoparticulelor de argint și creșterea stabilității termice a uleiurilor esențiale prin sinteza de nanostructuri Ag@EOs; (iii) modularea bioactivității și a fenomenelor de contaminare și colonizare microbiană a suprafețelor implanturilor metalice prin modificarea acestora cu acoperiri nanostructurate biomimetice și antimicrobiene; (iv) utilizarea tehnicii MAPLE pentru transferul de molecule bioactive de tipul factorilor de creștere. În completarea studiilor care raportează eficiența biomaterialelor modificate cu factori de creștere prin procedee chimice blânde, a fost demonstrată – pentru prima dată – eficiența procesării MAPLE asupra fabricării de acoperiri modificate cu factori de creștere. Rezultatele studiilor realizate au demonstrat potențialul promițător al acoperirilor nanostructurate încărcate cu BMP4 și FGF2 în modularea bioactivității implanturilor metalice.

Rezultatele obținute în activitatea de cercetare aferentă tezei de doctorat, susținute de diseminarea acestora în jurnale de specialitate indexate Clarivate și cotate cu factor de impact,

confirmă și validează multifuncționalitatea materialelor nanostructurate dezvoltate, acestea fiind candidați promițători pentru aplicații care vizează terapia anti-infecțioasă controlată, modularea proceselor infecțioase asociate dispozitivelor implantabile și sporirea performanțelor biofuncționale ale implanturilor ortopedice și ortodontice.

Diseminare rezultate

Contribuțiile originale ale activității de cercetare desfășurate pe perioada studiilor doctorale au fost concretizate prin diseminarea rezultatelor obținute în articole științifice (lucrări publicate în jurnale de specialitate recunoscute internațional, indexate Clarivate și cotate ISI) și prin participarea la conferințe de specialitate, naționale și internaționale. De asemenea, articolele de tip *review* și capitolele de carte publicate în această perioadă au reprezentat parte din contribuția personală la progresul științific al domeniilor de cercetare vizate.

Articole științifice:

1. **Gherasim O.**; Grumezescu A.M.; Grumezescu V.; Negut I.; Dumitrescu M.F.; Stan M.S.; Nica I.C.; Holban A.M.; Socol G.; Andronescu E. *Bioactive coatings based on hydroxyapatite, kanamycin, and growth factor for biofilm modulation*. *Antibiotics* 2021, 10, 160 (IF₂₀₂₀ = 4,639)
2. **Gherasim O.**; Grumezescu A.M.; Fikai A.; Grumezescu V.; Holban A.M.; Gălățeanu B.; Hudiță A. *Composite P(3HB-3HV)-CS spheres for enhanced antibiotic efficiency*. *Polymers* 2021, 13, 989 (IF₂₀₂₀ = 4,329)
3. **Gherasim O.**; Popescu-Pelin G.; Florian P.; Icriverzi M.; Roseanu A.; Mitran V.; Cimpean A.; Socol G. *Bioactive ibuprofen-loaded PLGA coatings for multifunctional surface modification of medical devices*. *Polymers* 2021, 13, 1413 (IF₂₀₂₀ = 4,329)
4. **Gherasim O.**; Popescu R.C.; Grumezescu V.; Mogoșanu G.D.; Mogoantă L.; Iordache F.; Holban A.M.; Vasile B.Ș.; Bîrcă A.C.; Oprea O.-C.; Grumezescu A.M.; Andronescu E. *MAPLE coatings embedded with essential oil-conjugated magnetite for anti-biofilm applications*. *Materials* 2021, 14, 1612 (IF₂₀₂₀ = 3,623)
5. **Gherasim O.**; Grumezescu A.M.; Mogoșanu G.D.; Vasile B.Ș.; Bejenaru C.; Bejenaru L.E.; Andronescu E.; Mogoantă L. *Biodistribution of essential oil-conjugated silver nanoparticles*. *Romanian Journal of Morphology and Embriology* 2020, 61(4), 1099-1109 (IF₂₀₁₉ = 1,411)

6. **Gherasim O.**; Grumezescu A.M.; Grumezescu V.; Iordache F.; Vasile B.S.; Holban A.M. *Bioactive surfaces of polylactide and silver nanoparticles for the prevention of microbial contamination*. *Materials* 2020, 13(3), 768 (IF₂₀₁₉ = 3,057)
7. Popescu R.C.; Savu D.I.; Olarescu A.D.; **Gherasim O.**; Banita Ș.; Straticiu M.; Mirea D.; Andrei R.F.; Trusca R.; Vasile B.Ș.; Socol G.; Andronescu E. *In vitro magnetic targeted delivery of doxorubicin using iron oxide nanoparticles leads to enhanced cell death in glioblastoma*. *U.P.B. Scientific Bulletin Series B: Chemistry and Materials Science* 2020, 82(4), 73-84
8. Visan A.I.; Popescu-Pelin G.; **Gherasim O.**; Mihailescu A.; Socol M.; Zgura I.; Chiritoiu M.; Sima L.E.; Antohe F.; Ivan L.; Vranceanu D.M.; Cotrut C.M.; Cristescu R.; Socol G. *Long-term evaluation of dip-coated PCL-blend-PEG coatings in simulated conditions*. *Polymers* 2020, 12, 717 (IF₂₀₁₉ = 3,426)
9. **Gherasim O.**; Puiu R.A.; Bîrcă A.C.; Burdușel A.-C.; Grumezescu A.M. *An updated review on silver nanoparticles in biomedicine*. *Nanomaterials* 2020, 10, 2318 (IF₂₀₁₉ = 4,324)
10. Grumezescu V.; **Gherasim O.**; Negut I.; Banita S.; Holban A.M.; Florian P.; Icriverzi M.; Socol G. *Nanomagnetite-embedded PLGA spheres for multipurpose medical applications*. *Materials* 2019, 12, 2521 (IF₂₀₁₈ = 2,972)
11. Grumezescu V.; Negut I.; **Gherasim O.**; Birca A.C.; Grumezescu A.M.; Hudita A.; Galateanu B.; Costache M.; Andronescu E.; Holban A.M. *Antimicrobial applications of MAPLE processed coatings based on PLGA and lincomycin functionalized magnetite nanoparticles*. *Applied Surface Science* 2019, 484, 587-599 (IF₂₀₁₈ = 5,155)
12. Visan A.I.; Popescu-Pelin G.; **Gherasim O.**; Grumezescu V.; Socol M.; Zgura I.; Florica C.; Popescu R.C.; Savu D.; Holban A.M.; Cristescu R.; Matei C.E.; Socol G. *Laser processed antimicrobial nanocomposite based on polyaniline grafted lignin loaded with gentamicin-functionalized magnetite*. *Polymers* 2019, 11, 283 (IF₂₀₁₈ = 3,164)
13. Teleanu R.I.; **Gherasim O.**; Gherasim T.G.; Grumezescu V.; Grumezescu A.M.; Teleanu D.M. *Nanomaterial-based approaches for neural regeneration*. *Pharmaceutics* 2019, 11(6), 266 (IF₂₀₁₈ = 4,773)
14. Ficai D.; Grumezescu V.; **Fufa O.M.**; Popescu R.C.; Holban A.M.; Ficai A.; Grumezescu A.M.; Mogoanta L.; Mogosanu G.D.; Andronescu E. *Antibiofilm coatings based on PLGA and nanostructured cefepime-functionalized magnetite*. *Nanomaterials* 2018, 8, 633 (IF₂₀₁₇ = 3,504)

15. Popescu-Pelin G.; **Fufă O.**; Popescu R.C.; Savu D.; Socol M.; Zgură I.; Holban A.M.; Vasile B.Ș.; Grumezescu V.; Socol G. *Lincomycin-embedded PANI-based coatings for biomedical applications*. Applied Surface Science 2018, 455, 653-666 (IF₂₀₁₇ = 4,439)
16. Burdușel A.-C.; **Gherasim O.**; Grumezescu A.M.; Mogoanta L.; Fikai A.; Andronescu E. *Biomedical applications of silver nanoparticles: An up-to-date overview*. Nanomaterials 2018, 681 (IF₂₀₁₇ = 3,504)
17. **Fufă O.**; Socol M.; Preda N.; Grigorescu S.; Croitoru S.; Socol G. *MAPLE deposition of PLGA microspheres for medical applications*. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 2017, 12(1), 73-80 (IF₂₀₁₆ = 0,836)
18. Rașoga O.; Sima L.E.; Chirițoiu M.; Popescu-Pelin G.; **Fufă O.**; Grumezescu V.; Socol M.; Stănculescu A.; Zgură I.; Socol G. *Biocomposite coatings based on poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/calcium phosphates obtained by MAPLE for bone tissue engineering*. Applied Surface Science 2017, 417, 204-212 (IF₂₀₁₆ = 3,387)

Capitole de carte:

1. **Gherasim O.** & Grumezescu A.M. *Silver nanoparticles in medicine*. Capitol 3 în: Torchilin V. (Ed.), Handbook of Materials for Nanomedicine: Metal-based and Other Nanomaterials 2020, Jenny Stanford Publishing (Singapore), 111-146 (ISBN 9789814800938)
2. **Gherasim O.**; Grumezescu V.; Socol G.; Fikai A. *Nanoarchitectonics prepared by laser processing and their biomedical applications*. Capitol 2 în: Grumezescu A.M. (Ed.), Nanoarchitectonics in Biomedicine 2019, Elsevier (Oxford, UK), 23-53 (ISBN 9780128162002)
3. **Gherasim O.**; Popescu R.C.; Gherasim T.G.; Grumezescu V.; Andronescu E. *Pharmacotherapy and nanotechnology*. Capitol 1 în: Grumezescu A.M. (Ed.), Nanoparticles in Pharmacotherapy 2019, Elsevier (Oxford, UK), 1-21 (ISBN 9780128165041)
4. Bîrca A.; **Gherasim O.**; Grumezescu V.; Grumezescu A.M. *Introduction in thermoplastic and thermosetting polymers*. Capitol 1 în: Grumezescu V. & Grumezescu A.M. (Eds.), Materials for Biomedical Engineering: Thermoset and Thermoplastic Polymers 2019, Elsevier (Oxford, UK), 1-28 (ISBN 9780128168745)
5. Burdusel A.C.; **Gherasim O.**; Grumezescu V.; Grumezescu A.M. *Degradation versus resorption*. Capitol 1 în: Grumezescu V. & Grumezescu A.M. (Eds.), Materials for Biomedical Engineering: Absorbable Polymers 2019, Elsevier (Oxford, UK), 1-18 (ISBN 9780128184158)

6. **Fufă O.**; Vlăsceanu G.M.; Dolete G.; Cabuzu D.; Puiu R.A.; Cîrjă A.; Bogdan N.; Grumezescu A.M. *Nanostructured composites based on biodegradable polymers and silver nanoparticles*. Capitol 19 în: Thakur V.K.; Thakur M.K.; Kessler M.R. (Eds.), *Handbook of Composites from Renewable Materials: Nanocomposites – Science and Fundamentals 2017*, Wiley (Massachusetts, SUA), 585-621 (ISBN 9781119224365)
7. **Fufă O.**; Popescu R.C.; Gherasim T.G.; Grumezescu A.M.; Andronescu E. *Silver-based nanostructures for cancer therapy*. Capitol 16 în: Fikai A. & Grumezescu A.M. (Eds.), *Nanostructures in Therapeutic Medicine Series: Nanostructures for Cancer Therapy 2017*, Elsevier (Oxford, UK), 405-428 (ISBN 9780323461443)
8. Popescu R.C.; **Fufa O.**; Apostol A.I.; Popescu D.; Grumezescu A.M.; Andronescu E. *Antimicrobial thin coatings prepared by laser processing*. Capitol 9 în: Fikai A. & Grumezescu A.M. (Eds.), *Nanostructures in Therapeutic Medicine Series: Nanostructures for Antimicrobial Therapy 2017*, Elsevier (Oxford, UK), 223-236 (ISBN 9780323461528)
9. **Fufă M.O.M.**; Popescu R.C.; Grumezescu A.M.; Holban A.M. *Microorganisms: New trends in environment-friendly and energy-saving water purification*. Capitol 7 în: Grumezescu A.M. (Ed.), *Nanotechnology in the Agri-Food Industry: Water Purification 2017*, Elsevier (Oxford, UK), 263-288 (ISBN 9780128043004)
10. Popescu R.C.; **Fufă M.O.M.**; Grumezescu A.M.; Holban A.M. *Nanostructured membranes for the microbiological purification of drinking water*. Capitol 12 în: Grumezescu A.M. (Ed.), *Nanotechnology in the Agri-Food Industry: Water Purification 2017*, Elsevier (Oxford, UK), 421-446 (ISBN 9780128043004)

Manifestări științifice:

1. Florian P.; Icriverzi M.; Grumezescu V.; **Gherasim O.**; Socol G.; Roseanu A. *Ibuprofen and hyaluronic acid – loaded chitosan:PEG coatings for wound healing promotion*. International Symposium on Priorities of Chemistry for a Sustainable Development (PRIOCHEM), octombrie 2021 (ePoster)
2. Duta L.; Chifiriuc M.C.; Grumezescu V.; Stan G.E.; **Gherasim O.**; Popescu-Pelin G.; Craciun V.; Oktar F.N. *Cytocompatible biological-derived hydroxyapatite coatings presenting antimicrobial activity*. European Materials Research Society (E-MRS) Fall Meeting, septembrie 2021 (prezentare orală)

3. **Gherasim O.**; Grumezescu A.M.; Grumezescu V.; Negut I.; Stan M.S.; Holban A.M.; Andronescu E. *Bioactive coatings based on hydroxyapatite for biofilm modulation*. E-MRS Spring Meeting, iunie 2021 (ePoster)
4. Grumezescu V.; **Gherasim O.**; Negut I.; Dorcioman G.; Grumezescu A.M.; Basil H.; Holban A.M. *Fe₃O₄ nanoarchitectures functionalized with eugenol for modulation of virulence and biofilm formation*. E-MRS Spring Meeting, iunie 2021 (ePoster)
5. Duta L.; Grumezescu V.; Stan G.E.; **Gherasim O.**; Popescu-Pelin G.; Oktar F.N. *Influence of thermal treatments on the morpho-structural and mechanical characteristics of biological-derived HA coatings*. E-MRS Spring Meeting, iunie 2021 (ePoster)
6. Duta L.; Grumezescu V.; Chifiriuc M.C.; Stan G.E.; **Gherasim O.**; Chioibas D.; Popescu A.C.; Oktar F.N. *Pulsed laser deposition of cytocompatible biological-derived hydroxyapatite coatings with antimicrobial activity*. E-MRS Spring Meeting, iunie 2021 (ePoster)
7. Visan A.I.; Popescu-Pelin G.; **Gherasim O.**; Mihailescu A.; Socol M.; Zgura I.; Chiritoiu M.; Sima L.; Antohe F.; Radulescu L.; Vranceanu D.; Cotrut C.; Cristescu R.; Socol G. *Surface functionalization with anticorrosive and antimicrobial biodegradable polymeric implants*. Corrosion and Materials Degradation Web Conference, mai 2021 (prezentare orală)
8. Popescu R.C.; Olarescu A.D.; **Gherasim O.**; Banita S.; Straticiu M.; Mirea D.A.; Andrei R.F.; Vasile B.S.; Socol G.; Andronescu E.; Savu D.I. *In vitro magnetic targeted delivery of doxorubicin using iron oxide nanoparticles leads to enhanced cell death*. International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD), iulie 2020 (ePoster)
9. Visan A.I.; Popescu-Pelin G.; **Gherasim O.**; Mihailescu A.; Socol M.; Zgura I.; Chiritoiu M.; Sima L.E.; Antohe F.; Ivan L.; Vranceanu D.M.; Cotruț C.M.; Cristescu R.; Socol G. *Dip-coated PCL-blend-PEG coatings degradation compartment in simulated conditions*. National Online Conference of Biophysics (CNB), iunie 2020 (prezentare orală)
10. Icriverzi M.; Florian P.; Moisei M.; **Gherasim O.**; Popescu-Pelin G.; Trif M.; Socol G.; Roșeanu A. *Composite coatings based on PLGA for topical treatment*. PRIOCHEM, noiembrie 2019, București, România (poster)
11. Icriverzi M.; Florian P.; Moisei M.; **Gherasim O.**; Popescu-Pelin G.; Trif M.; Socol G.; Roșeanu A. *New composite coatings for topical treatment*. The Annual International Conference of the Romanian Society of Biochemistry and Molecular Biology (RSBMB), septembrie 2019, Iași, Romania (poster)

12. Vișan A.; Popescu-Pelin G.; **Gherasim O.**; Grumezescu V.; Socol M.; Zgura I.; Florica C.; Popescu R.C.; Savu D.; Holban A.M.; Cristescu R.; Matei C.E.; Socol G. *Electric field-sensitive polymers as controlled Gentamicin sulfate delivery platforms*. E-MRS Spring Meeting, mai 2019, Nisa, Franța (prezentare orală)
13. Popescu-Pelin G.; **Fufă O.**; Popescu R.C.; Savu D.; Socol M.; Zgură I.; Holban A.M.; Vasile B.Ș.; Grumezescu V.; Socol G. *Synthesis and characterization of Lincomycin-embedded PANI-based coatings*. RSBMB, septembrie 2018, București, România (poster)
14. **Fufă O.** *Acoperiri biocompatibile procesate laser*. Metode și componente electronice. Aplicații și transfer tehnologic. Centrul de Cercetări Avansate pentru Materiale, Produse și Procese Inovative (CAMPUS-UPB), mai 2018, București, România (prezentare orală)
15. **Fufă O.**; Popescu-Pelin G.; Socol M.; Mogoantă L.; Popescu R.C.; Holban A.M.; Socol G.; Crăciun V.; Grumezescu A.M.; Andronescu E. *HAp/AgNPs coatings for titanium-based implants*. International Conference on Advanced Materials (ROCAM), iulie 2017, București, România (prezentare orală)
16. **Fufă O.**; Popescu-Pelin G.; Trușcă R.; Vasile B.Ș.; Socol M.; Zgură I.; Popescu R.C.; Holban A.M.; Grumezescu A.M.; Andronescu E.; Socol G.; Crăciun V. *Bionanostructured CaPs/AgNPs coatings for titanium-based materials*. ROCAM, iulie 2017, București, România (poster)
17. **Fufă O.**; Stăncălie A.; Miroiu M.; Mihăiescu D.E.; Crăciun V.; Axente E. *Compositional and morphological characterizations of metal implants used in dentistry by spectroscopic techniques*. ROCAM, iulie 2017, București, România (poster)
18. **Fufă O.**; Vasile B.Ș.; Trușcă R.; Socol M.; Mogoantă L.; Popescu R.C.; Popescu-Pelin G.; Socol G.; Grumezescu A.M.; Andronescu E. *HAp-Ag bionanostructured coatings for titanium implants*. Conference of the Romanian Electron Microscopy Society (CREMS), mai 2017, Sinaia, România (poster)
19. **Fufă O.**; Socol G.; Grumezescu A.M.; Andronescu E.; Trușcă R.; Vasile B.Ș.; Socol M.; Popescu R.C.; Holban A.M. *Biocompatible protective HAp-Ag coatings for titanium implants*. Symposium of the Romanian Chemical Engineering Society (SICHEM), septembrie 2016, București, România (prezentare orală)
20. **Fufă O.**; Socol G.; Grumezescu A.M.; Andronescu E.; Socol M.; Popescu R.C.; Holban A.M. *Biocompatible HAp-Ag nanostructured coatings for titanium implants*. International

Conference on Photo-Excited Processes and Applications (ICPEPA), septembrie 2016, Braşov, România (poster)

Premii:

Premiul *Molecular Systems Design & Engineering* pentru posterul *Bionanostructured CaPs/AgNPs coatings for titanium-based materials*, acordat de către Royal Society on Chemistry, în cadrul International Conference On Advanced Materials – ROCAM (2017)

Selecție bibliografică

1. Tran, T.T. & Tran, P.H. *Nanoconjugation and encapsulation strategies for improving drug delivery and therapeutic efficacy of poorly water-soluble drugs*. *Pharmaceutics* **2019**, 11(7), 325.
2. Spirescu, V.A.; Chircov, C.; Grumezescu, A.M.; Andronescu, E. *Polymeric nanoparticles for antimicrobial therapies: An up-to-date overview*. *Polymers* **2021**, 13(5), 724.
3. Huang, H.; Feng, W.; Chen, Y.; Shi, J. *Inorganic nanoparticles in clinical trials and translations*. *Nano Today* **2020**, 35, 100972.
4. Zheng, K. & Xie, J. *Engineering ultrasmall metal nanoclusters as promising theranostic agents*. *Trends in Chemistry* **2020**, 2(7), 665-679.
5. Sponchioni, M.; Palmiero, U.C.; Moscatelli, D. *Thermo-responsive polymers: Applications of smart materials in drug delivery and tissue engineering*. *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications* **2019**, 102, 589-605.
6. Mitchell, M.J.; Billingsley, M.M.; Haley, R.M.; Wechsler, M.E.; Peppas, N.A.; Langer, R. *Engineering precision nanoparticles for drug delivery*. *Nature Reviews Drug Discovery* **2021**, 20(2), 101-124.
7. Begines, B.; Ortiz, T.; Pérez-Aranda, M.; Martínez, G.; Merinero, M.; Argüelles-Arias, F.; Alcudia, A. *Polymeric nanoparticles for drug delivery: Recent developments and future prospects*. *Nanomaterials* **2020**, 10(7), 1403.
8. Woepfel, K.; Yang, Q.; Cui, X.T. *Recent advances in neural electrode-tissue interfaces*. *Current Opinion in Biomedical Engineering* **2017**, 4, 21-31.
9. Rupp, F.; Liang, L.; Geis-Gerstorfer, J.; Scheideler, L.; Hüttig, F. *Surface characteristics of dental implants: A review*. *Dental Materials* **2018**, 34(1), 40-57.
10. Skoog, S.A.; Kumar, G.; Narayan, R.J.; Goering, P.L. *Biological responses to immobilized microscale and nanoscale surface topographies*. *Pharmacology and Therapeutics* **2018**, 182, 33-55.
11. Graziani, G.; Boi, M.; Bianchi, M. *A review on ionic substitutions in hydroxyapatite thin films: Towards complete biomimeticism*. *Coatings* **2018**, 8(8), 269.
12. Su, Y.; Cockerill, I.; Zheng, Y.; Tang, L.; Qin, Y.X.; Zhu, D. *Biofunctionalization of metallic implants by calcium phosphate coatings*. *Bioactive Materials* **2019**, 4, 196-206.
13. Rey, C.; Combes, C.; Drouet, C.; Cazalbou, S.; Grossin, D.; Brouillet, F.; Sarda, S. *Surface properties of biomimetic nanocrystalline apatites; applications in biomaterials*. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* **2014**, 60(3-4), 63-73.
14. García-Gareta, E.; Coathup, M.J.; Blunn, G.W. *Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration*. *Bone* **2015**, 81, 112-121.
15. Gherasim, O.; Grumezescu, A.M.; Ficaï, A.; Grumezescu, V.; Holban, A.M.; Gălăţeanu, B.; Hudiţă, A. *Composite p(3hb-3hv)-cs spheres for enhanced antibiotic efficiency*. *Polymers* **2021**, 13(6), 989.
16. Mutlu, G.; Calamak, S.; Ulubayram, K.; Guven, E. *Curcumin-loaded electrospun phbv nanofibers as potential wound-dressing material*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2018**, 43, 185-193.
17. Mazur, K.; Singh, R.; Friedrich, R.P.; Genç, H.; Unterweger, H.; Sałasińska, K.; Bogucki, R.; Kuciel, S.; Cicha, I. *The effect of antibacterial particle incorporation on the mechanical properties, biodegradability, and biocompatibility of pla and phbv composites*. *Macromolecular Materials and Engineering* **2020**, 305(9), 2000244.
18. Manivasagan, P.; Khan, F.; Hoang, G.; Mondal, S.; Kim, H.; Hoang Minh Doan, V.; Kim, Y.M.; Oh, J. *Thiol chitosan-wrapped gold nanoshells for near-infrared laser-induced photothermal destruction of antibiotic-resistant bacteria*. *Carbohydrate Polymers* **2019**, 225, 115228.

19. Manivasagan, P.; Hoang, G.; Santha Moorthy, M.; Mondal, S.; Minh Doan, V.H.; Kim, H.; Vy Phan, T.T.; Nguyen, T.P.; Oh, J. *Chitosan/fucoidan multilayer coating of gold nanorods as highly efficient near-infrared photothermal agents for cancer therapy*. Carbohydrate Polymers **2019**, 211, 360-369.
20. Grumezescu, V.; Gherasim, O.; Negut, I.; Banita, S.; Holban, A.M.; Florian, P.; Icriverzi, M.; Socol, G. *Nanomagnetite-embedded plga spheres for multipurpose medical applications*. Materials **2019**, 12(16), 2521.
21. Gherasim, O.; Popescu-Pelin, G.; Florian, P.; Icriverzi, M.; Roseanu, A.; Mitran, V.; Cimpean, A.; Socol, G. *Bioactive ibuprofen-loaded plga coatings for multifunctional surface modification of medical devices*. Polymers **2021**, 13(9), 1413.
22. Gherasim, O.; Grumezescu, A.M.; Grumezescu, V.; Iordache, F.; Vasile, B.S.; Holban, A.M. *Bioactive surfaces of polylactide and silver nanoparticles for the prevention of microbial contamination*. Materials **2020**, 13(3), 768.
23. Gherasim, O.; Popescu, R.C.; Grumezescu, V.; Mogoșanu, G.D.; Mogoantă, L.; Iordache, F.; Holban, A.M.; Vasile, B.Ș.; Bîrcă, A.C.; Oprea, O.C.; Grumezescu, A.M.; Andronescu, E. *Maple coatings embedded with essential oil-conjugated magnetite for anti-biofilm applications*. Materials **2021**, 14(7), 1612.
24. Mohammed, H.B.; Rayyif, S.M.I.; Curutiu, C.; Birca, A.C.; Oprea, O.C.; Grumezescu, A.M.; Ditu, L.M.; Gheorghie, I.; Chifiriuc, M.C.; Mihaescu, G.; Holban, A.M. *Eugenol-functionalized magnetite nanoparticles modulate virulence and persistence in pseudomonas aeruginosa clinical strains*. Molecules **2021**, 26(8), 2189.
25. Lai, C.W.; Low, F.W.; Tai, M.F.; Abdul Hamid, S.B. *Iron oxide nanoparticles decorated oleic acid for high colloidal stability*. Advances in Polymer Technology **2018**, 37(6), 1712-1721.
26. Ficai, D.; Grumezescu, V.; Fufă, O.M.; Popescu, R.C.; Holban, A.M.; Ficai, A.; Grumezescu, A.M.; Mogoanta, L.; Mogosanu, G.D.; Andronescu, E. *Antibiofilm coatings based on plga and nanostructured cefepime-functionalized magnetite*. Nanomaterials **2018**, 8(9), 633.
27. Bruno, A.J.; Correa, J.R.; Peláez-Abellán, E.; Urones-Garrote, E. *A novel method for the functionalization of aminoacids l-glycine, l-glutamic acid and l-arginine on maghemite/magnetite nanoparticles*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials **2018**, 456, 87-91.
28. Cursaru, L.M.; Piticescu, R.M.; Dragut, D.V.; Morel, R.; Thébault, C.; Carrière, M.; Joisten, H.; Dieny, B. *One-step soft chemical synthesis of magnetite nanoparticles under inert gas atmosphere. Magnetic properties and in vitro study*. Nanomaterials **2020**, 10(8), 1500.
29. Grumezescu, V.; Negut, I.; Gherasim, O.; Birca, A.C.; Grumezescu, A.M.; Hudita, A.; Galateanu, B.; Costache, M.; Andronescu, E.; Holban, A.M. *Antimicrobial applications of maple processed coatings based on plga and lincomycin functionalized magnetite nanoparticles*. Applied Surface Science **2019**, 484, 587-599.
30. Gherasim, O.; Grumezescu, A.M.; Mogoșanu, G.D.; Vasile, B.Ș.; Bejenaru, C.; Bejenaru, L.E.; Andronescu, E.; Mogoantă, L. *Biodistribution of essential oil-conjugated silver nanoparticles*. Romanian Journal of Morphology and Embryology **2020**, 61(4), 1099-1109.
31. Thiruvengadam, V. & Bansod, A.V. *Characterization of silver nanoparticles synthesized using chemical method and its antibacterial property*. Biointerface Research in Applied Chemistry **2020**, 10(6), 7257-7264.
32. Wang, M.; Li, H.; Li, Y.; Mo, F.; Li, Z.; Chai, R.; Wang, H. *Dispersibility and size control of silver nanoparticles with anti-algal potential based on coupling effects of polyvinylpyrrolidone and sodium tripolyphosphate*. Nanomaterials **2020**, 10(6), 1042.
33. Gherasim, O.; Grumezescu, A.M.; Grumezescu, V.; Negut, I.; Dumitrescu, M.F.; Stan, M.S.; Nica, I.C.; Holban, A.M.; Socol, G.; Andronescu, E. *Bioactive coatings based on hydroxyapatite, kanamycin, and growth factor for biofilm modulation*. Antibiotics **2021**, 10(2), 160.
34. Fang, C.H.; Lin, Y.W.; Lin, F.H.; Sun, J.S.; Chao, Y.H.; Lin, H.Y.; Chang, Z.C. *Biomimetic synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite composites: Therapeutic potential and effects on bone regeneration*. International Journal of Molecular Sciences **2019**, 20(23), 6002.
35. Ciocca, L.; Giorgio, L.I.; Sara, R.; Sabrina, G.; Andrea, V.; Annapaola, P.; Alessandro, S.; Barbara, D.; Paolo, M.; Adriano, P.; Giovanna, I.; Achille, T.; Paolo, B. *Nanostructured surface bioactive composite scaffold for filling of bone defects*. Biointerface Research in Applied Chemistry **2020**, 10(2), 5038-5047.