



Universitatea Națională  
de Știință și Tehnologie  
POLITEHNICA BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ  
ȘTIINȚA ȘI INGINERIA MATERIALELOR

313 Splaiul Independenței, Sector 6, București, 060042  
Tel/fax: 021 402 9624; <http://www.sdsim.upb.ro>



# Rezumatul tezei de doctorat

**Cercetări privind influența acoperirilor compozite pe bază de acetat de celuloză asupra biodegradării aliajelor de magneziu tip Mg<sub>3</sub>Nd**

---

**Doctorand: Ing ALEXANDRU V. STREZA**

**Conducător de doctorat: Prof. Univ. Habil. Dr. Ing. ANTONIAC VASILE IULIAN**

## COMISIA DE DOCTORAT

<b>Președinte</b>	<b>Prof.dr. ing. Ghiban Brândușa</b>	<b>Universitatea Națională de Știință și Tehnologie Politehnica București</b>
<b>Conducător de doctorat</b>	<b>Prof. Habil. Univ. Dr. Ing. ANTONIAC Vasile Iulian</b>	<b>Universitatea Națională de Știință și Tehnologie Politehnica București</b>
<b>Referenți științifici</b>	<b>Prof. dr. Med. Ciocan Toma Lucian</b>	<b>Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București</b>
	<b>Prof. dr. ing. Popescu Violeta</b>	<b>Universitatea Tehnică din Cluj Napoca</b>
	<b>Prof. dr. ing. Predescu Cristian</b>	<b>Universitatea Națională de Știință și Tehnologie Politehnica București</b>

București 2023

## CUPRINS

### PARTEA TEORETICĂ

**Capitolul 1. Stadiul actual al cercetărilor privind aliajele de magneziu utilizabile ca materiale de implant** 5

**Capitolul 2. Acoperiri pentru controlul degradării aliajelor de magneziu utilizate ca materiale de implant** 7

### PARTEA EXPERIMENTALĂ

**Capitolul 3. Metodologia cercetării** 7

3.1. Scopul lucrării, materialele experimentale și planul de lucru 7

**Capitolul 4. Caracterizarea microstructurală a aliajelor de magneziu Mg3Nd** 9

4.1. Determinări de microscopie optică 10

4.2. Determinări de microscopie electronică de baleiaj (SEM) cuplată cu spectroscopie cu raze X cu dispersie de energie (EDS) 11

4.3. Determinări de difracție de raze X 12

**Capitolul 5. Obținerea și caracterizarea acoperirilor pe bază de acetat de celuloză** 13

5.1. Obținerea acoperirilor pe bază de acetat de celuloză 13

5.3. Caracterizarea morfologică și structurală a acoperirilor pe bază de acetat de celuloză 13

5.3.1. Caracterizarea acoperirilor prin microscopie electronică de baleiaj (SEM) cuplată cu spectroscopie cu raze X cu dispersie de energie (EDS) 13

5.3.2. Caracterizarea acoperirilor prin spectroscopie FTIR 15

5.3.3. Caracterizarea acoperirilor prin spectroscopie RAMAN 16

5.3.4. Analiza termogravimetrică 17

5.4. Caracterizarea funcțională a acoperirilor pe bază de acetat de celuloză 18

5.4.1. Determinarea pierderii de masă și a ratei de gonflare 18

5.4.2. Testarea in vitro a biocompatibilității prin testul MTT și testul de viabilitate celulară cu Calceină-AM 19

<b>Capitolul 6. Modificarea suprafeței aliajelor de magneziu Mg<sub>3</sub>Nd prin realizarea de acoperiri compozite pe bază de acetat de celuloză prin metoda de acoperire prin imersie</b>	22
6.1. Protocolul de lucru experimental pentru obținerea aliajelor Mg <sub>3</sub> Nd acoperite	22
6.2. Caracterizarea aliajelor Mg <sub>3</sub> Nd acoperite prin microscopie electronică de baleiaj (SEM)	23
6.3. Determinarea proprietăților de suprafață a aliajelor Mg <sub>3</sub> Nd acoperite și neacoperite	24
6.3.1. Umectabilitatea	24
6.3.2. Rugozitatea	25
6.4. Testarea funcțională a aliajelor de magneziu Mg <sub>3</sub> Nd acoperite și neacoperite	26
6.4.1. Determinarea comportamentului la coroziune a aliajelor experimentale de magneziu Mg <sub>3</sub> Nd, înainte și după acoperire, prin teste de imersie	26
6.4.2. Determinarea comportamentului la coroziune a aliajelor experimentale de magneziu Mg <sub>3</sub> Nd, înainte și după acoperire, prin teste electrochimice	29
6.4.3. Testarea in vivo a biocompatibilității aliajelor de magneziu Mg <sub>3</sub> Nd acoperite și neacoperite	30
<b>Concluzii</b>	32
C1. Concluzii generale	32
C2. Contribuții originale	33
C3. Perspective de dezvoltare ulterioară	34
<b>Valorificarea rezultatelor cercetării</b>	35
<b>Indexul de figuri</b>	36
<b>Indexul de tabele</b>	40
<b>Bibliografie selectivă</b>	41

## **Mulțumiri**

*Această teză nu ar fi putut fi realizată fără ajutorul, sprijinul, îndrumarea cât și înțelegerea unor oameni care, prin modul lor de a fi, au contribuit la formarea mea ca om și a-mi crea noi modele de urmat. În primul rând, vreau să mulțumesc conducătorului științific al acestei teze de doctorat, domnului Prof.Univ.Habil.Dr.Ing. Vasile-Iulian Antoniac de la Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București, pentru încredere, profesionalism și calitatea științifică oferită, dar mai ales pentru timpul, răbdarea, înțelegerea și nu în ultimul rând prieteniei de care a dat dovadă.*

*Le mulțumesc membrilor comisiei de doctorat, respectiv Prof.Dr.Med. Ciocan Toma Lucian de la Universitatea de Medicină și Farmacie Carol-Davila București, Prof.Dr.Ing. Violeta Popescu de la Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca, Prof.Dr.Ing. Cristian Predescu de la Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București, pentru timpul acordat evaluării tezei de doctorat.*

*De asemenea, le mulțumesc membrilor comisiei de îndrumare doctorală, respectiv Prof.Habil.Dr.Ing. Marian Miculescu, Prof.Dr.Ing. Brândușa Ghiban, Ș.L.Dr.Ing. Octavian Trante, pentru timpul alocat și sugestiile utile primite pe toată perioada stagiului doctoral. Nu în ultimul rând, îi mulțumesc și directorului SDSIM, Prof.Habil.Dr.Ing. Florin Miculescu, pentru suportul tehnic acordat.*

*Această teză de doctorat nu ar fi fost completă fără ajutorul semnificativ al unor cadre didactice de la Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București, respectiv Prof.Habil.Dr.Ing. Marian Miculescu, Prof.Habil.Dr.Ing. Ștefan-Ioan Voicu, Prof.Habil.Dr.Ing. Florin Miculescu, Conf.Dr.Ing. Cosmin-Mihai Cotruș, S.L.Dr.Ing. Robert Ciocoiu, S.L.Dr.Ing. Alina Robu; Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova - Prof.Dr.Med. Horia Manolea și Universitatea de Medicină și Farmacie Gr.T.Popa Iași - Prof.Dr.Med. Liliana Vereștiuc, cărora le mulțumesc pentru atât timpul și ajutorul acordat, cât și pentru discuțiile științifice fructuoase.*

*De asemenea, îi mulțumesc doamnei C.S.III. Aurora Antoniac, de la Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București pentru îndrumarea permanentă și sfaturile științifice, dar mai ales pentru răbdarea arătată pe parcursul realizării acestei teze de doctorat, contribuind astfel la formarea mea profesională și ca om.*

*Doresc să le mulțumesc părinților mei, Maria Streza și Vasile Streza, care de-a lungul timpului mi-au călăuzit pașii în viață, și care mi-au insuflat dorința de a cunoaște, de a mă perfecționa, de a învăța lucruri noi, și de a urca un pic mai sus.*

*Mulțumiri tuturor colegilor doctoranzi și cadre didactice din Departamentul Știința Materialelor Metalice Metalurgie Fizică, Facultatea de Știința și Ingineria Materialelor, Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București, care m-au încurajat și susținut permanent în activitățile mele științifice.*

*Cu deosebită recunoștință și dragoste, dedic această teză soției mele Elena Streza și fiului meu Eduard Streza, care au fost alături de mine, mi-au arătat afecțiunea lor, dar mai ales au avut răbdare cu mine. Le mulțumesc tuturor celor care au avut răbdare să citească și să corecteze această teză și care m-au ajutat în toată perioada stagiului doctoral.*

*Cu considerație,  
Streza Alexandru*

## REZUMAT

Prezenta teză de doctorat cuprinde atât un studiu teoretic, cât și o serie de cercetări experimentale proprii efectuate cu scopul de a caracteriza și testa două aliaje de magneziu experimentale de tip Mg3Nd, cu un mic conținut variabil de alte elemente, potențial utilizabile la execuția de implante ortopedice.

Aliajele metalice pe bază de magneziu reprezintă în prezent noua generație de materiale metalice biodegradabile cu bune proprietăți de osteointegrare. Principala limitare a aliajelor de magneziu este eliberarea de hidrogen la nivelul țesuturilor și o degradare prea rapidă, necesitând astfel corelarea vitezei și ratei de coroziune cu procesul de reparare a țesutului osos afectat. Prin urmare, în astfel de aplicații este necesară îmbunătățirea rezistenței la coroziune a aliajelor de magneziu, care este posibilă prin utilizarea unor acoperiri bioceramice, polimerice sau compozite.

Utilizarea acestor acoperiri ajută și la o osteointegrare mai bună, în cazul implantelor ortopedice. Obiectivul principal al cercetărilor experimentale desfășurate în cadrul prezentei teze de doctorat a fost evaluarea influenței unor acoperiri compozite pe bază de acetat de celuloză, ranforsate cu particule de magneziu, respectiv cu particule de hidroxipatită, asupra biodegradării aliajelor de magneziu tip Mg3Nd.

A fost urmărit și potențialul acestor aliaje inovative de magneziu, de tip Mg3Nd, de a fi utilizabile la execuția de implante ortopedice.

A fost efectuată o caracterizare complexă din punct de vedere microstructural al aliajelor de magneziu experimentale, utilizând microscopia optică, difracția de raze X și microscopia electronică de baleiaj. Pentru testarea funcțională, au fost efectuate determinări privind rezistența la coroziune în medii simulate și teste de biocompatibilitate *in vitro* și *in vivo* atât asupra acoperirilor, cât și asupra aliajelor experimentale de magneziu Mg3Nd, înainte și după acoperirea cu materiale compozite.

În concluzie, rezultatele experimentale obținute au demonstrat faptul că aliajele experimentale de magneziu Mg3Nd, după acoperirea cu materiale compozite pe bază de acetat de celuloză, ranforsate cu particule de magneziu, respectiv cu particule de hidroxipatită, s-au dovedit a fi biocompatibile ca urmare a testelor de biocompatibilitate *in vivo* efectuate pe șobolani de laborator, și au o rată de biodegradare favorabilă utilizării la execuția implantelor ortopedice.

### **Cuvinte-cheie:**

aliaje de magneziu, Mg3Nd, compozite, acetat de celuloză, acoperiri, biodegradare.

## PARTEA TEORETICĂ

### CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRIILOR PRIVIND ALIAJELE DE MAGNEZIU UTILIZABILE CA MATERIALE DE IMPLANT

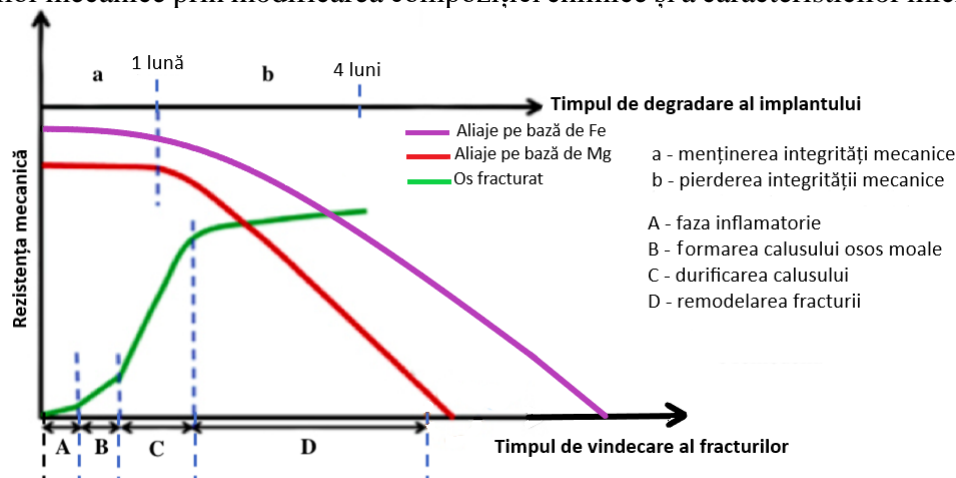
Până în prezent sunt produse diferite categorii de dispozitive medicale utilizând diferite sisteme de fabricație, dar principala provocare pentru ingineria materialelor este reprezentată de alegerea adecvată a materialelor pentru producerea acestor dispozitive medicale implantabile.

În acest scop, au fost utilizate diferite tipuri de materiale, cum ar fi polimerii naturali sau sintetici, ceramicile, metalele, compozitele și hidrogelurile, pentru a se observa diferențele dintre acestea. Mai mult decât atât, este important, atunci când se planifică sau se determină caracterul adecvat al unui eșantion, evaluarea faptului dacă acesta îndeplinește următoarele cerințe cheie: biocompatibilitate, bioactivitate și biodegradabilitate.

Biocompatibilitatea reprezintă complexul de fenomene care au loc la interacțiunea biomaterialelor, sub forma de dispozitive medicale, cu țesuturile vii. De asemenea, prin biocompatibilitate se definește proprietatea unui material de a fi compatibil cu organismele vii, adică de a fi acceptat de către organism în totalitate, fără a genera reacții adverse [2]. Aceasta reprezintă un criteriu esențial ce trebuie îndeplinit obligatoriu de orice dispozitiv cu aplicație în domeniul medical.

Bioactivitatea reprezintă capacitatea unui biomaterial de a interacționa cu țesutul înconjurător, asigurând adeziunea, proliferarea și diferențierea celulelor. În general, materialele care sunt formate din oligoelemente existente în corpul uman au o bioactivitate mai mare și pot promova recunoașterea celulară evocând răspunsul celular specific pentru a susține creșterea țesutului. În acest scop, este posibil să se modifice suprafața biomaterialului prin adăugarea unei matrice extracelulare din macromolecule de collagen, fibronectină și laminină, pentru a produce un mediu biomimetic echivalent cu țesutul nativ capabil să influențeze comportamentul celular.

Din categoria biomaterialelor metalice biodegradabile fac parte Fe (Fe pur, aliaje Fe-Mn) și magneziul (Mg – aliaje Mg-Ca, Mg-Ca-Zn, Mg-Ca-Zr) care sunt recomandate aplicațiilor medicale din domeniul cardiovascular (stenturi coronariene) sau ortopedic (plăcuțe și șuruburi de fixare osoasă, tije centromedulare). Metalele biodegradabile trebuie să asigure un suport mecanic adecvat pentru a susține procesul de vindecare pe perioada de implantare, însă dificil să fie definită o perioadă de activitate suport a implantului cât mai apropiată de realitatea medicală. Se remarcă faptul că strategia de proiectare a unor implanturi metalice biodegradabile executate din aliaje pe bază de Fe sau de Mg trebuie să abordeze atât problema vitezei de degradare, cât și creșterea proprietăților mecanice prin modificarea compoziției chimice și a caracteristicilor microstructurale.



**Figura 1.1.** Corelație între degradarea implanturilor biodegradabile și refacerea fracturilor (caz ideal) [7]

Performanța materialelor în organismul uman poate fi clasificată în mai multe moduri, dar un biomaterial este utilizat pentru a realiza funcționarea dispozitivelor medicale într-un mod sigur, fiabil, economic și acceptat într-o manieră fiziologică. Biomaterialele au o aplicabilitate răspândită în domeniul medicinei regenerative, iar în tabelul următor sunt exemplificate destinația, funcțiile și rolul pentru care acestea sunt dezvoltate în funcție de sfera de activitate [5,9].

Dezavantajul major al utilizării Mg în multe aplicații ingineresti este rezistența la coroziune scăzută, în special în medii electrolitice, în care se degradează rapid. Atunci când magneziul pur, neprotejat chimic este expus la aerul atmosferic umed, dezvoltă un strat amorf gros, format din hidroxid de magneziu ( $Mg(OH)_2$ ). Rata de oxidare a acestui strat protector este de obicei de aproximativ 0,01 mm/an, în timp ce rata de oxidare în apa sărată este de aproximativ 0,30 mm/an [30].

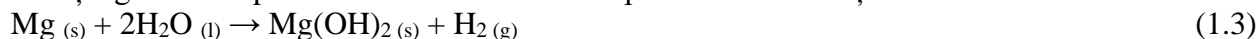
Adevărata cauză a proceselor de coroziune constă în instabilitatea metalelor din punct de vedere termodinamic care tind să revină la starea inițială de compuși metalici. Din cauza structurii lor caracterizată prin prezența electronilor liberi în rețeaua cristalină, materialele metalice reacționează extrem de ușor cu mediile apoase uzuale, deci și cu cele biologice, fiind alterate prin coroziune de aceste medii [31].

Coroziunea în mediul biologic este mai complexă decât cea din mediile industriale, deoarece viteza de coroziune este influențată de mai mulți factori, precum: pH-ul fluidelor corporale și variații ale acestuia, concentrația de ioni, prezența proteinelor și a adsorbției proteinelor pe implant, reacțiile care au loc între mediul biologic și materialul metalic; existența unor solicitări statice sau dinamice. În orice proces de degradare, prezența unor tensiuni statice sau ciclice pot accelera aceste procese [2].

Coroziunea magneziului în mediul fiziologic poate fi exprimată în cadrul următoarelor ecuații [1.3]:



Reacția generală a procesului de coroziune este prezentată în ecuația următoare:



O altă consecință nedorită a procesului de coroziune în aliajele de magneziu este formarea bulelor de hidrogen din cauza mediului bogat în cloruri, care apar în general în prima săptămână după intervenția chirurgicală, dispărând apoi după 2 - 3 săptămâni. A fost demonstrat că dacă viteza de coroziune a Mg poate fi reglată astfel încât rata de evoluție a hidrogenului să fie sub valoarea de 0,01 ml/cm<sup>2</sup> pe zi, implantul nu va reprezenta o amenințare din acest punct de vedere.

Procesul coroziv al Mg în organism este un fenomen complex, iar principalii produși ai coroziunii sunt hidrogenul gazos și  $Mg(OH)_2$ . Atunci când  $Mg(OH)_2$  se află în condiții standard de mediu, acesta formează un strat parțial protector pe suprafața aliajelor din Mg. Dizolvarea rapidă a substratului de Mg care generează gaz  $H_2$  și ioni  $HO^-$  [35–37].

În plus, există din ce în ce mai multe dovezi că în acest proces are loc reacția de reducere a oxigenului (ORR) (ecuația 1.4).



Această reacție nu este reflectată în procesul total al coroziunii catodice a Mg, deși poate fi utilizată pentru a compara rezistența corozivă a aliajelor din Mg cu valorile similare de degradare.

Reacțiile stratului solid din Mg și stratului superficial de  $Mg(OH)_2$  cu ionii de clor în mediul apos sunt prezentate în ecuațiile următoare [38]:





Astfel, magneziul se descompune în ionii  $Mg^{2+}$ , care se dizolvă și reacționează cu apa. În urma reacțiilor se creează grupe hidroxilice și se generează bule de hidrogen ce au ca efect secundar mărirea pH-ului local din organism. pH-ul ridicat inhibă proliferarea celulelor și formarea țesuturilor. Într-o soluție statică, pH-ul poate crește până la zece. În timpul coroziunii, pentru Mg pur, se dizolvă 1 ml de  $H_2$  pentru fiecare 1 mg de Mg dizolvat.  $Mg^{2+}$  reacționează cu grupările hidroxil ( $HO^-$ ) și precipită sub formă de hidroxid de magneziu ( $Mg(OH)_2$ ). Totodată, se formează un strat intermediar pasiv de hidroxid de Mg sau oxid de Mg ( $MgO$ ) pe suprafața de degradare [39].

## **CAPITOLUL 2. ACOPERIRI PENTRU CONTROLUL DEGRADĂRII ALIAJELOR DE MAGNEZIU UTILIZATE CA MATERIALE DE IMPLANT**

Numeroase cercetări au arătat că modificările de suprafață, cum ar fi lustruirea, oxidarea, pasivarea, implantarea ionică, acoperirile, au o influență considerabilă asupra proprietăților și activității funcționale a unui biomaterial implantabil. Aceste tehnici îmbunătățesc biocompatibilitatea și osteointegrarea implanturilor metalice. Proprietățile mecanice ale substratului se mențin, de obicei, după modificarea suprafeței. Acoperirile sunt utilizate pentru a minimiza coroziunea localizată a magneziului și a aliajelor acestuia, în special în stadiul inițial după implantare. Deoarece acoperirea cu straturi este temporară, acestea se pot dizolva treptat in vivo fără a produce efecte nocive asupra țesuturilor înconjurătoare [75].

În general, principiul de modificare a suprafeței aliajelor de magneziu pare relativ simplu, deoarece presupune împiedicarea contactului direct dintre substratul de aliaj de magneziu și mediul uman, astfel că fenomenele de coroziune sunt inhibitate sau întârziate.

*Acoperirile de conversie* sunt realizate *in situ*, prin reacții care au loc între materialul de bază și mediu (intracelular). De obicei, suprafețele substratului sunt convertite în timpul procesului chimic sau electrochimic într-un strat de oxid. În raport cu suprafața metalică originală, stratul de oxid crește în interior și în exterior la același nivel și prin urmare geometria componentei se schimbă. Straturile produse sunt anorganice și prezintă un caracter ceramic

*Acoperirile prin depunere* se pot obține cu ajutorul unor metode fizice și chimice foarte diversificate; tehnicile de acoperire folosite fiind în strânsă legătură cu materialele de acoperire. Cu toate acestea, pentru aliajele de Mg, în cazul aplicării unei acoperiri organice, datorită alcalinității ridicate a suprafeței, este necesar un tratament special de suprafață [77,79].

O altă clasificare generală a metodelor de acoperire presupune împărțirea lor în metode uscate (vid) și umede (soluții). Metodele uscate sunt clasificate în două categorii: metode fizice de depunere din stare de vapori (PVD) în vid și în plasmă și metode chimice de depunere din stare de vapori (CVD). Metodele umede sunt metode chimice de depunere din soluții, cum ar fi sol-gel, auto-asamblare chimică sau polielectrolitică, depunere electrochimică.

## **PARTEA a II-a – PARTEA EXPERIMENTALĂ**

### **CAPITOLUL 3. METODOLOGIA CERCETĂRII**

#### **3.1. Scopul lucrării, materialele experimentale și planul de lucru**

Obiectivul principal al cercetărilor experimentale desfășurate în cadrul prezentei teze de doctorat a fost evaluarea influenței unor acoperi compozite pe bază de acetat de celuloză, ranforsate cu pulbere de magneziu, respectiv cu pulbere de hidroxiapatită, asupra biodegradării aliajelor de magneziu tip Mg3Nd.

Pe parcursul dezvoltării tezei au fost urmărite și alte obiective, precum determinarea influenței elementelor de ranforsare asupra caracteristicilor morfo-structurale și a proprietăților funcționale ale acoperirilor compozite experimentale, evaluarea efectului indus de fiecare tip de acoperire asupra biodegradării și biocompatibilității aliajelor de magneziu din sistemul Mg3Nd, cu



scopul de a îndeplini cerințele funcționale impuse de utilizarea lor la execuția de implanturi ortopedice temporare.

Pentru realizarea obiectivului principal al prezentei lucrări, au fost parcurse mai multe etape:

- Selectarea sistemului de aliaje de magneziu potențial utilizabile la execuția de implanturi ortopedice temporare pe baza unor criterii specifice de biofuncționalitate, respectiv a aliajelor de magneziu experimentale Mg3Nd\_A și Mg2Nd\_B;
- Selectarea metodei optime de modificare a suprafeței aliajelor de magneziu experimentale Mg3Nd\_A și Mg2Nd\_B, respectiv prin imersie în soluții polimerice de acetat de celuloză și compozite cu matrice polimerică de acetat de celuloză ranforsată cu pulbere de magneziu și de hidroxiapatită;
- Caracterizarea microstructurală complexă a aliajelor din sistemul Mg3Nd, respectiv Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B;
- Depunerea de acoperiri polimerice compozite cu matrice polimerică de acetat de celuloză ranforsată cu pulbere de magneziu și de hidroxiapatită pe suprafața aliajelor de magneziu experimentale Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B;
- Caracterizarea acoperirilor polimerice compozite cu matrice polimerică de acetat de celuloză ranforsată cu pulbere de magneziu și de hidroxiapatită prin:
  - Demonstrarea funcționalității acoperirilor compozite prin determinarea ratei de gonflare, ratei de degradare în soluție PBS;
  - Demonstrarea funcționalității acoperirilor polimerice compozite prin efectuarea unor teste de biocompatibilitate *in vitro* pe culturi celulare;
  - Caracterizarea suprafeței aliajelor Mg3Nd acoperite;
  - Demonstrarea funcționalității aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite prin determinarea cantității de hidrogen eliberate și a pierderii de masă prin teste de imersie;
  - Demonstrarea funcționalității aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite prin efectuarea unor teste de coroziune electrochimică;
  - Demonstrarea funcționalității aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite prin efectuarea unor teste de biocompatibilitate *in vivo* pe șobolani de laborator, rasa Whistar.

Materialele experimentale care au fost utilizate în cadrul acestei teze de doctorat sunt:

- Aliaje de magneziu Mg3Nd cu conținut variabil de Ytriu (Y), codificate Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B, obținute în cadrul companiei Dead Sea Magnesium Company (Beersheva, Israel) utilizându-se metoda prin turnare gravitațională în creuzete sau matrite din nisip. Pentru a caracteriza, testa și demonstra funcționalitatea aliajelor Mg3Nd obținute s-au realizat și pregătit metalografic probe cu dimensiunile de  $15 \times 15 \times 5 \text{ mm}^3$  (lățime  $\times$  lungime  $\times$  înălțime).
- Acetat de celuloză (CA, 30% grad de acetilare, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SUA), N, N'-dimetil formamidă (DMF, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SUA), particule de hidroxiapatită (granulație < 200 nm, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SUA) și particule de magneziu (puritate 99%, granulație ~ 50  $\mu\text{m}$ , STREM CHEMICALS Inc., SUA), utilizate pentru obținerea acoperirii polimerice pe bază de acetat de celuloză (codificată CA) și a acoperirilor compozite pe bază de acetat de celuloză ranforsate cu particule de hidroxiapatită (HAp) și magneziu (Mg) (codificate CAHAp, CAMg, CAHApMg).
- Aliaje de magneziu, Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B, acoperite cu strat compozit pe bază de acetat de celuloză (codificate Mg3Nd\_A\_CAHAp și Mg3Nd\_A\_CAMg, Mg3Nd\_B\_CAHAp și Mg3Nd\_B\_CAMg). Pentru a caracteriza, testa și demonstra funcționalitatea aliajelor Mg3Nd acoperite s-au utilizat probe din aliaje Mg3Nd cu dimensiunile de  $15 \times 15 \times 5 \text{ mm}^3$  (lățime  $\times$  lungime  $\times$  înălțime) acoperite.

## Planul de lucru

- Selectarea, pe baza criteriilor de biofuncționalitate, a aliajelor de magneziu potențial utilizabile ca biomateriale ortopedice (**două aliaje de magneziu biodegradabile din sistemul Mg3Nd cu conținut diferit de Y, respectiv Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B**);
- Selectarea metodei optime de modificare a suprafeței aliajelor Mg3Nd experimentale (**acoperiri polimerice compozite pe bază de acetat de celuloză, cu ajutorul metodei de imersie**);
- Caracterizarea microstructurală a două aliaje experimentale din Mg3Nd, respectiv Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B, prin: MO, SEM-EDS, XRD;
- Depunerea de acoperiri polimerice compozite, cu ajutorul metodei de imersie, la suprafața aliajelor de magneziu experimentale Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B;
- Caracterizarea acoperirilor polimerice compozite prin: SEM-EDS, FTIR, RAMAN;
- Determinarea proprietăților de suprafață a acoperirilor polimerice compozite prin metoda unghiului de contact;
- Analiza termogravimetrică a acoperirilor polimerice compozite;
- Testarea funcțională a acoperirilor polimerice compozite, în soluția PBS, prin determinarea pierderii de masă și a ratei de gonflare;
- Testarea funcțională a acoperirilor polimerice compozite prin efectuarea unor teste de biocompatibilitate *in vitro*, urmărindu-se citotoxicitatea celulară (testul MTT și testul de viabilitate celulară cu Calceină AM);
- Caracterizarea aliajelor Mg3Nd acoperite prin SEM-EDS;
- Determinarea proprietăților de suprafață a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite prin metoda unghiului de contact și profilometrie;
- Testarea funcțională a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite, în soluție de fluid fiziologic simulat - SBF, prin: determinarea cantității de hidrogen eliberată, determinarea pH-ului, determinarea pierderii de masă;
- Testarea funcțională a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite, în soluție de fluid fiziologic simulat - SBF, prin efectuarea unor teste de coroziune electrochimică;
- Testarea funcțională a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite prin efectuarea unor teste de biocompatibilitate *in vivo*, pe șobolani de laborator, rasa Whistar.

## **CAPITOLUL 4. CARACTERIZAREA STRUCTURALĂ A ALIAJELOR DE MAGNEZIU Mg3Nd**

Compoziția aliajelor experimentale Mg3Nd selectate pentru a fi caracterizate și testate cu scopul de a evalua potențialul lor ca materii prime în fabricarea implanturilor ortopedice pentru traumatologie este prezentată în Tabelul 4.1.

**Tabelul 4.1.** Compoziția chimică a aliajelor Mg3Nd

Aliaje	Compoziție (wt. %)				
	Zn	Zr	Y	Nd	Mg
Mg3Nd_A	0,3	0,6	2,10	3,2	Bal.
Mg3Nd_B	0,3	0,4	0,21	3,1	Bal.

Zincul (Zn) este al doilea cel mai abundent metal de tranziție în corpul uman și este un element esențial pentru funcțiile biologice, cum ar fi metabolismul acidului nucleic, reglarea apoptozei, modularea excitabilității creierului, reglarea sistemului endocrin [4]. Adăugarea limitată de Zn (până la 4 wt.%) în aliajele pe bază de Mg poate provoca, o reducere a ratei de coroziune [5]. Cu toate acestea, solubilitatea maximă pentru Zn în Mg este de 6,2 wt.% la temperatura eutectică, și devine mai scăzută la temperatura camerei. Cu cât conținutul de zinc crește (peste 4

wt.%) rezistența la coroziune scade datorită fazelor de precipitare crescute la limitele de grăunte și efectului galvanic sporit [6].

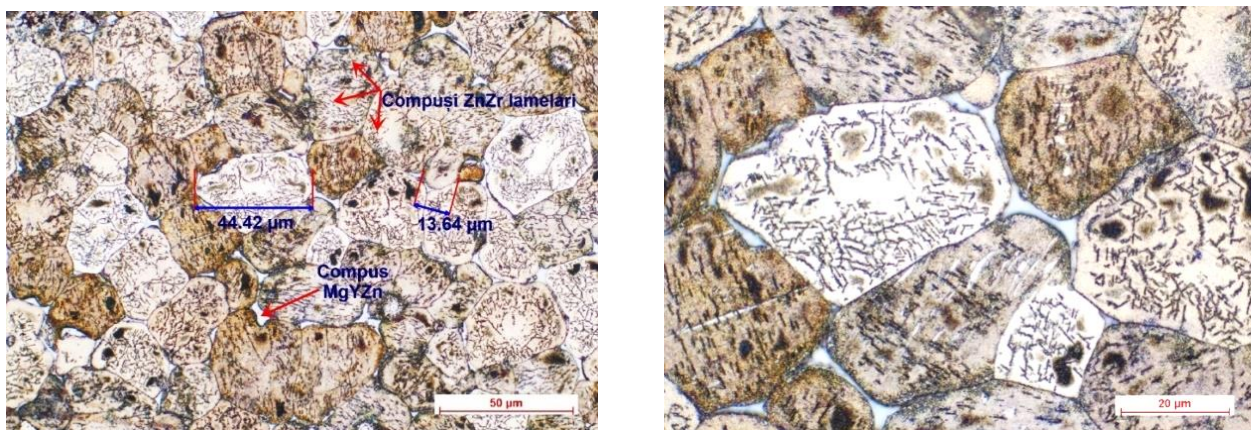
Rolul principal al zirconiu (Zr) este de a rafina microstructura aliajelor de magneziu [7,8]. Influența acestuia asupra ratei de coroziune depinde în primul rând de concentrația și distribuția acestuia în structura aliajului. Un conținut ridicat de Zr în soluțiile solide (~0,5 wt.%) poate activa reacții anodice, accelerând astfel coroziunea generală a matricei aliajului de magneziu și măbind pe termen lung viteza de coroziune [9-12]. Cu toate acestea, în mai multe aliaje ternare (și de ordin superior), adăugarea de Zr s-a arătat că poate duce la stabilizarea soluției solide de magneziu, inactivând materialul în timpul dizolvării anodice și reducând degajarea hidrogenului catodic [13,7,14].

Pământurile rare (RE) contribuie la îmbunătățirea proprietăților mecanice, având o influență importantă asupra texturii aliajului și a comportamentului de coroziune. În [16,17] s-a observat că adăugarea de pământuri rare îmbunătățește funcționarea aliajelor la temperaturii ridicate. Cele mai utilizate pământuri rare ca elemente de aliere cu Mg sunt ceriu (Ce), neodim (Nd), ytriu (Y), gadolinu (Gd), lantan (La) și praseodim (Pr). Pământurile rare formează un compus eutectic ternar Mg-Zn-RE, care îmbunătățește rezistența la fluaj și turnarea în forme a aliajelor Mg-Zn-Zr [18]. Loss și colaboratorii [19] au investigat biocompatibilitatea ytriului pe baza testelor *in vitro* și *in vivo* realizate pe eșantioane din stent-uri de Mg. S-a observat că în cazul utilizării unei concentrații mari de Y acesta se poate acumula în bilă și în ficat. De asemenea Y poate determina creșterea nivelului de eozinofile în sânge având un efect negativ asupra biocompatibilității implantului. Alte studii au demonstrat că adăugarea de Nd trebuie făcută doar între anumite limite pentru a controla formarea fazei binare Mg<sub>3</sub>Nd în aliajele Mg-Nd, deoarece în caz contrar această fază determină o creștere a ratei de coroziune.

#### 4.1. Determinări de microscopie optică

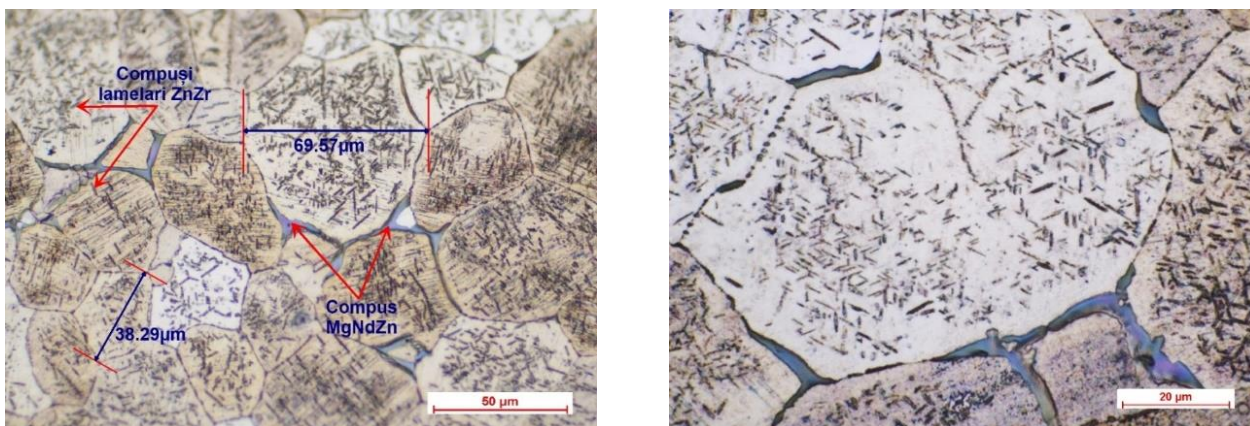
În pregătirea probelor din aliajele Mg<sub>3</sub>Nd\_A și Mg<sub>3</sub>Nd\_B, pentru evaluarea microstructurală, se parcurg următoarele etape: Etapa I - Debitarea probelor; Etapa a II-a - Înglobarea; Etapa a III-a - Șlefuirea / Lustruirea; Etapa a IV-a - Atacul metalografic.

Figurile 4.3 și 4.7. prezintă imaginile de microscopie optică, la diferite mărimi, corespunzătoare aliajelor Mg<sub>3</sub>Nd\_A și Mg<sub>3</sub>Nd\_B înainte și după atacul metalografic.



**Figura 4.3.** Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg<sub>3</sub>Nd\_A (10×, 50×) după atacul chimic





**Figura 4.7.** Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd\_B (10×, 50×) după atacul chimic

Microstructura aliajelor este formată din grăunți poliedrici fini și uniformi de  $\alpha$ -Mg, în care sunt precipitate faze secundare, cu morfologii diferite, de la formă aciculară până la cea globulară, uniform distribuite în interiorul grăunților de  $\alpha$ -Mg.

Micrografiile evidențiază, de asemenea, o fază distinctă la limita de grăunte, cel mai probabil un compus intermetalic multicomponent.

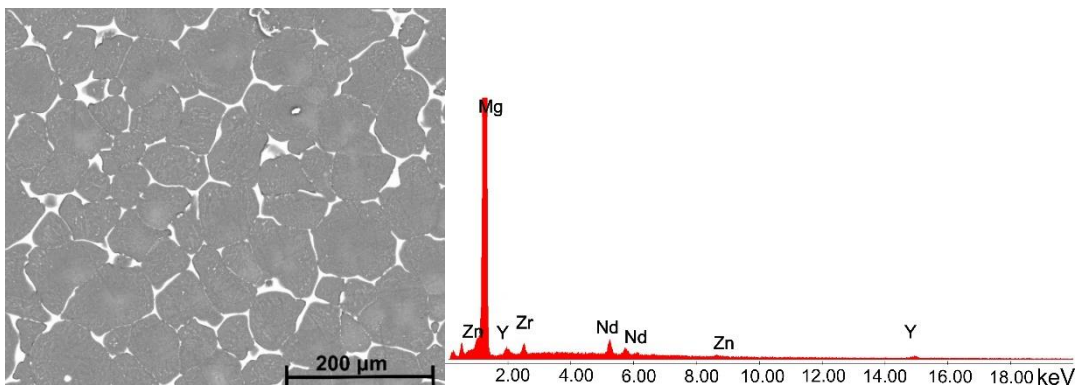
În aliajul Mg3Nd\_A, comparativ cu aliajul Mg3Nd\_B, grăunții sunt mai mici și mai uniformi ca mărime, gradul de precipitare intragranular este mai mare, iar compușii aciculari (icosaedrici) sunt majoritari, având tendința de a se grupa „în pachete” ceea ce va crește considerabil proprietățile mecanice ale aliajelor.

Efectul prezenței unei cantități mai mari de Y în compoziția chimică a aliajului Mg3Nd\_A, se concretizează prin rafinarea microstructurii aliajului, o micșorare a dimensiunii grăunților și uniformizare a acestora.

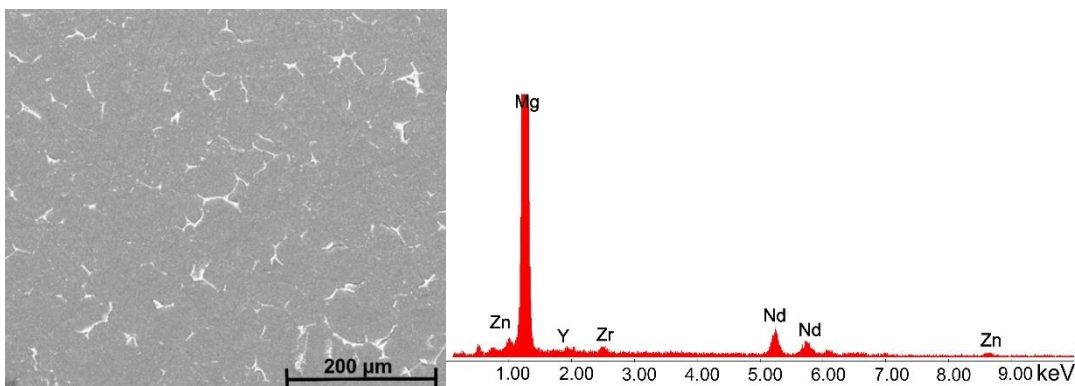
De asemenea, proporția fazei la limitele de grăunte este vizibil redusă în aliajul Mg3Nd\_B, devenind insulară, ceea ce va crește ductilitatea aliajului.

#### **4.2. Determinări de microscopie electronică de baleiaj (SEM) cuplată cu spectroscopie cu raze X cu dispersie de energie( EDS)**

Figurile 4.9 și 4.10. evidențiază imaginile SEM și analiza EDS pe aliajele Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B, la diferite mărimi.



**Figura 4.9.** Imaginea SEM și spectrul EDS pentru aliajul Mg3Nd\_A



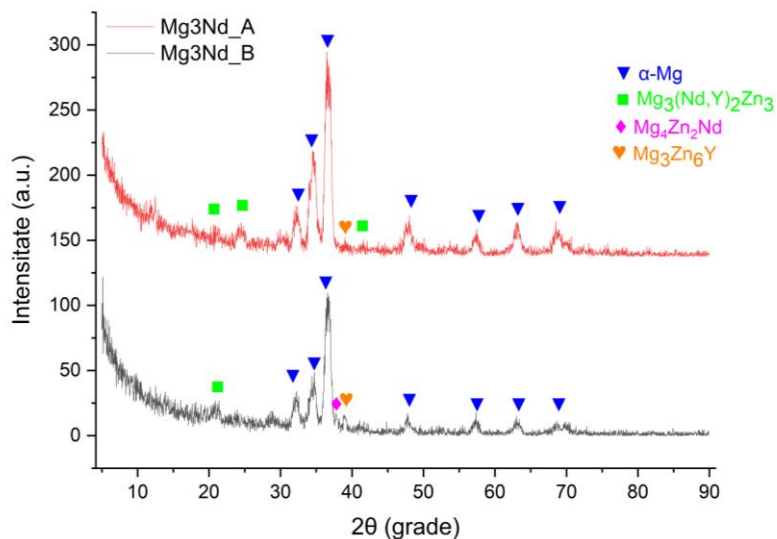
**Figura 4.10.** Imaginea SEM și spectrul EDS pentru aliajul Mg3Nd\_B

Rezultatele susțin investigația de microscopie optică, evidențiind morfologia și distribuția fazelor secundare.

Conform rezultatelor EDS pentru aliajul Mg3Nd\_B, faza identificată la limita de grăunte s-a dovedit a fi bogată în Mg, Zn și Nd. Prin creșterea cantității de Y din compoziția aliajului (aliaj Mg3Nd\_A) se observă formarea unei limite de grăunte bogate în Mg, Zn, Nd și Y. Elkaimy et al. [63] și Zengin și colaboratorii [62] a propus ca faza să fie identificată ca  $Mg_3(Nd, Y)_2Zn_3$ . Mai mult, compușii granulari prezenți în structura aliajului conțin pământuri rare (Y și Nd), în timp ce compușii aciculari sunt formați din Zr și Zn.

#### 4.3. Determinări de difracție de raze X

În Figura 4.15. sunt prezentate diagramele de difracție XRD ale aliajelor Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B obținute prin turnare gravitațională. După cum se poate observa în figură aliajul Mg3Nd\_B (0,21 wt.% Y) prezintă maxime de difracție corespunzătoare fazei  $\alpha$ -Mg, fazei ternare Mg-Zn-Nd și fazei ternare Mg-Zn-Y. Yang și colab. [16] au observat, de asemenea, prezența fazei Mg-Zn-Nd în aliajele  $Mg_{4.5}Zn_xNd$  cu morfologie și compoziție similară fazei Mg-Zn-Nd din aliajul Mg3Nd\_B și le-au identificat ca fiind faze  $Mg_4Zn_2Nd$  (faza T). Astfel, se poate deduce că fazele ternare Mg-Zn-Nd din aliajul Mg3Nd\_B corespund fazei T cu formula chimică de  $Mg_4Zn_2Nd$ .



**Figura 4.15.** Difractograma XRD pentru aliajele Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B

Prin creșterea cantității de Y (aliajul Mg<sub>3</sub>Nd\_A) se observă că fazele secundare conțin o cantitate mai mare de Mg, Zn și Y, dar Nd mai puțin în comparație cu aliajul Mg<sub>3</sub>Nd\_B.

Astfel, în aliajul Mg<sub>3</sub>Nd\_A se observă prezența maximelor de difracție corespunzătoare fazei α-Mg, Mg<sub>3</sub>Zn<sub>6</sub>Y și Mg<sub>3</sub>(Nd,Y)<sub>2</sub>Zn<sub>3</sub>. Prin creșterea conținutului de Y intensitățile maximelor de difracție pentru faza Mg<sub>3</sub>(Nd,Y)<sub>2</sub>Zn<sub>3</sub> au crescut.

## **CAPITOLUL 5. OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA ACOPERIRILOR PE BAZĂ DE ACETAT DE CELULOZĂ**

### **5.1. Obținerea acoperirilor pe bază de acetat de celuloză**

Au fost sintetizate acoperiri din acetat de celuloză (CA) și acoperiri compozite pe bază de CA ranforsate cu particule de hidroxiapatită sau magneziu având drept scop reducerea procesului de coroziune inițial al aliajelor de magneziu Mg<sub>3</sub>Nd. Acetatul de celuloză este un ester important din familia celulozei având avantajele de a fi biocompatibil, bioresorbabil și de asemenea, accesibil pe scară largă și mai ieftin decât alți potențiali polimeri utilizați pentru acoperirea implanturilor metalice cum ar fi acidul polilactic sau policaprolactona.

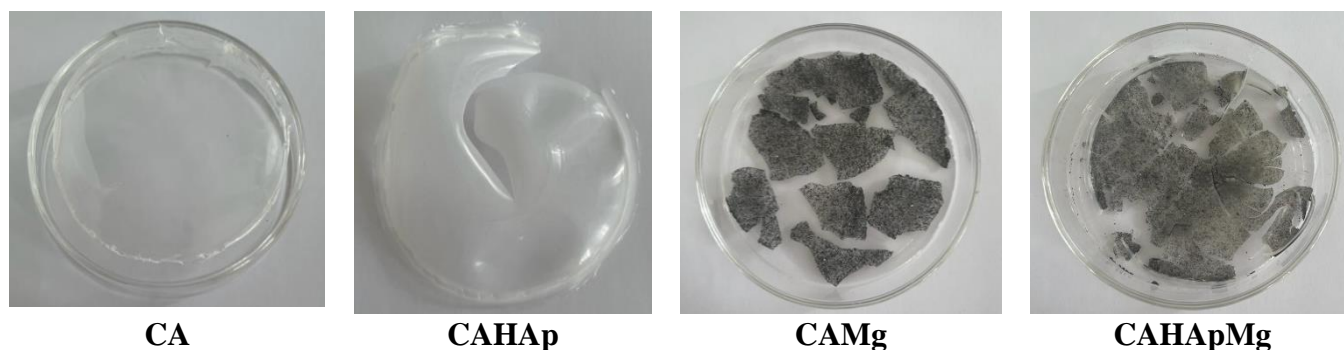
Acoperirile din acetat de celuloză și cele compozite au fost obținute prin metoda evaporării de solvent.

Codificarea probelor experimentale este prezentată în tabelul 5.1.

**Tabelul 5.1.** Codificarea probelor experimentale

<b>Cod Proba</b>	<b>Compoziție</b>
<b>CA</b>	acetat de celuloză
<b>CAHAp</b>	acetat de celuloză + 5% hidroxiapatită
<b>CAMg</b>	acetat de celuloză + 5% particule de Mg
<b>CAHApMg</b>	acetat de celuloză+5% hidroxiapatită + 5% particule de Mg

Aspectul acoperirilor din CA și a acoperirilor compozite pe bază de CA cu particule de hidroxiapatită și magneziu, după menținerea în etuvă, este prezentat în Figura 5.2.

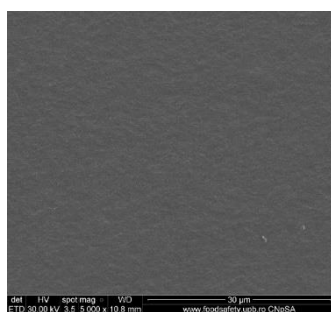


**Figura 5.2.** Aspectul acoperirilor obținute

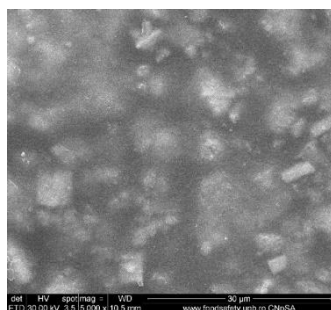
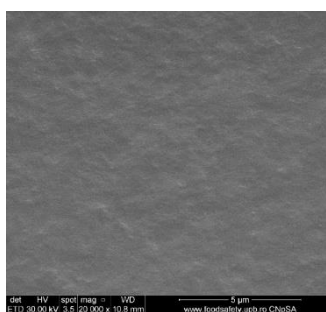
### **5.3. Caracterizarea morfologică și structurală a acoperirilor pe bază de acetat de celuloză**

#### **5.3.1. Caracterizarea acoperirilor prin microscopie electronică de baleiaj (SEM) cuplată cu spectroscopie cu raze X cu dispersie de energie (EDS)**

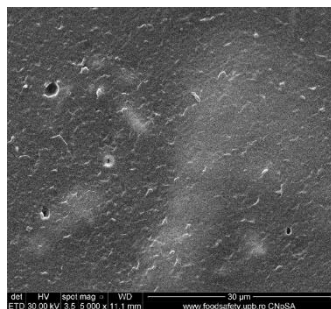
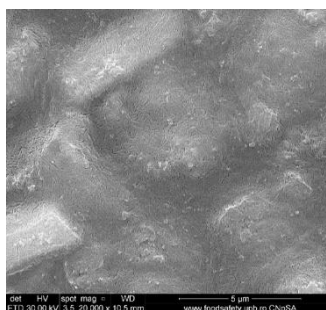
Caracteristicile morfologice ale acoperirilor obținute au fost analizate prin microscopie electronică de baleiaj în vederea investigării aspectelor generale ale suprafeței, după cum se poate observa în Figura 5.7.



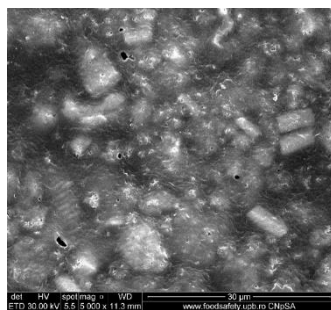
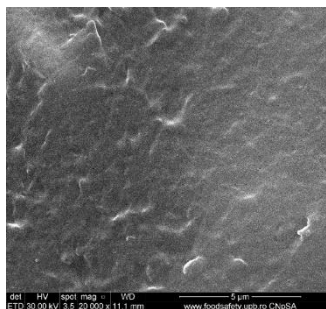
(a) CA



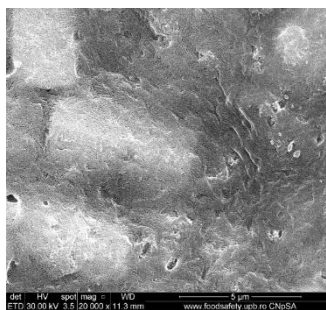
(a) CAHAp



(b) CAMg



(c) CAHApMg

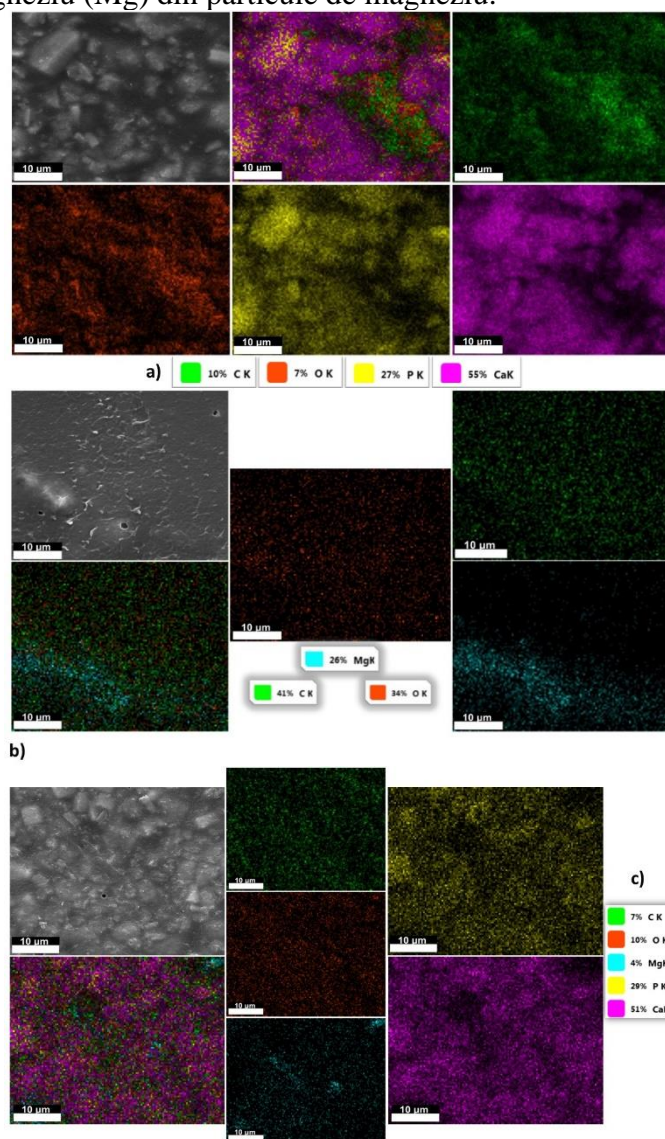


**Figura 5.7.** Caracterizarea acoperirilor: (a) CA, (b) CAHAp, (c) CAMg, (d) CAHApMg

În imaginile SEM realizate pe acoperirea polimerică din CA, se observă după evaporarea solventului obținerea unui film polimeric compact și omogen, o suprafață netedă. Prin adăugarea de particule de magneziu în soluția polimerică (probele CAMg, CAHApMg), putem observa apariția unor pori pe suprafața probelor investigate. Mai mult, imaginile SEM arată că porii au dimensiuni neregulate și sunt distribuiți în mod neuniform. Porozitatea există datorită acțiunii moleculelor de solvent pe filmul polimeric în timpul procesului de evaporare, ceea ce duce la formarea de canale. Particulele de magneziu se dispersează mai uniform în toată masa polimerului (proba CAMg) decât particulele de hidroxiapatită (proba CAHAp). Particulele de hidroxiapatită apar atât în formă dispersată, cât și sub formă de aglomerate (cristale mari).



Compoziția elementală a acoperirilor din CA și a acoperirilor compozite a fost determinată prin metoda Spectroscopie de raze X cu dispersie după energie (EDS). Analiza EDS confirmă prezența și distribuția particulelor de hidroxiapatită și de magneziu în structura acoperirilor compozite. Spre deosebire de proba din acetat de celuloză în al cărei spectru EDS (Figura 5.8.) s-a identificat doar elementele carbon (C) și oxigen (O) din structura polimerului, în cazul acoperirilor compozite (Figura 5.9.), s-a identificat și prezența calciului (Ca) și fosfor (P) din hidroxiapatită și a magneziu (Mg) din particule de magneziu.



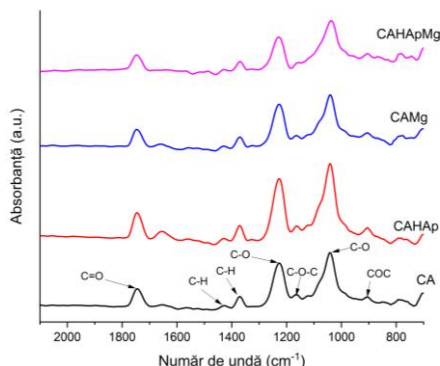
**Figura 5.9.** Imagini SEM și mapping EDS pentru: (a) CAHAp, (b) CAMg, (c) CAHApMg

Astfel, s-a evidențiat că particulele de magneziu se dispersează mai uniform în toată masa polimerului (proba CAMg) față de particulele de hidroxiapatită (proba CAHAp). Particulele de hidroxiapatită apar atât în formă dispersată, cât și sub formă de aglomerate (cristale mari).

### 5.3.2. Caracterizarea acoperirilor prin Spectroscopie FTIR

Spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR) a fost utilizată pentru a identifica grupările funcționale specifice sau legăturile chimice existente în probele experimentale investigate (Figura 5.10.), evidențind diferențe ușoare între spectrul acoperirii din acetat de celuloză (CA) și spectrele acoperirilor compozite. Spectrele evidentiază prezența benzilor caracteristice pentru

acetatul de celuloză la  $\sim 1745 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) atribuite vibrației de alungire a esterului carbonil ( $\text{C=O}$ ) din gruparea acetil, la  $\sim 1230 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{C-O}}$ ) atribuită vibrației de alungire a legăturii C-O din grupa acetil și la  $\sim 1370 \text{ cm}^{-1}$  și  $\sim 1430 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta_{\text{C-H}}$ ) benzi datorate vibrației de încovoiere a legăturii C-H din grupele  $-\text{CH}_3$  (grup acetil) și  $-\text{CH}_2$  (inelul piranozic).



**Figura 5.10.** Spectrele FTIR pentru acoperirile polimerice investigate

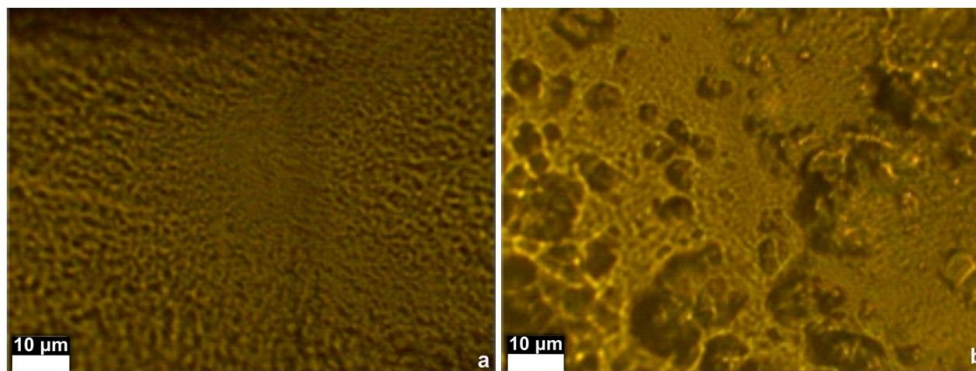
Spectrele acoperirilor compozite (probe CAMg, CAHAp, CAHApMg) sunt aproape similare cu spectrul acoperirii din acetat de celuloză. Banda corespunzătoare vibrației legăturii C-O de la  $1040 \text{ cm}^{-1}$  s-a deplasat spre dreapta în cazul acoperirilor compozite CAHAp și CAHApMg datorită influenței grupărilor  $\text{PO}_4^{3-}$  din hidroxiapatită care apar în aceeași regiune a spectrului.

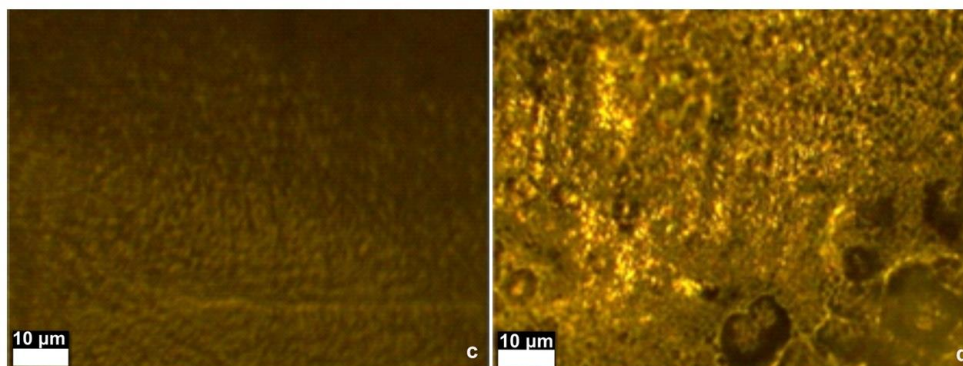
În spectrele FTIR ale acoperirilor compozite, nu există două benzi distincte pentru vibrațiile legăturilor C-O și P-O datorită conținutului mic de particule anorganice conținute și suprapunerii benzilor de vibrație caracteristice hidroxiapatitei în intervalul  $600\text{-}1100 \text{ cm}^{-1}$  cu benzile polimerice corespunzătoare.

### 5.3.3. Caracterizarea acoperirilor prin Spectroscopie RAMAN

Din Figura 5.11. se observă că acoperirea din CA și acoperirea compozită CAMg au morfologii similare. Aceasta indică faptul că particulele de Mg sunt distribuite uniform în acoperire, în directă corelație cu aspectele evidențiate de microscopia electronică de baleiaj.

În schimb, adăugarea particulelor de HAp duce la zone segregate, arătând un grad ridicat de conglomerare. Acest fapt poate fi legat de cristalizarea și segregarea particulelor de HAp din soluție. Și proba CAHApMg prezintă un anumit grad de segregare, deși chimia poate fi diferită din cauza prezenței particulelor de Mg.

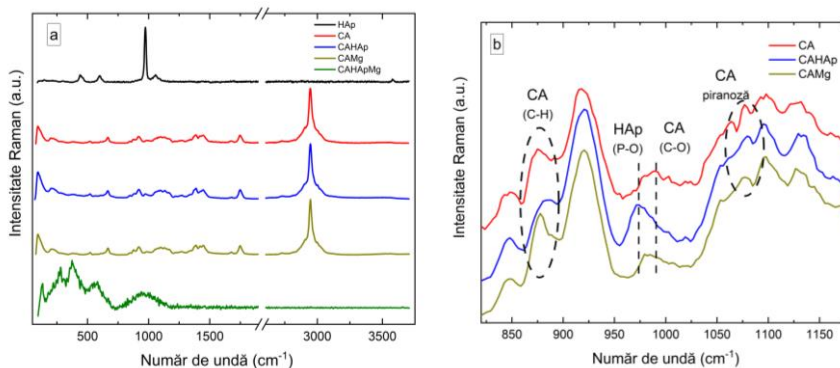




**Figura 5.11.** Imagini (50X) obținute pentru (a) proba de CA, (b) proba de CAHAp, (c) proba de CAMg și (d) proba de CAHApMg

Spectrul Raman al hidroxiapatitei (HAp) prezintă principalele caracteristici asociate grupărilor  $\text{PO}_4^{3-}$  și  $\text{OH}^-$  [6]. Gruparea  $\text{PO}_4^{3-}$  este caracterizată de banda datorată vibrației de alungire simetrică (P–O) de la  $973 \text{ cm}^{-1}$ , banda datorată vibrației de îndoire (O–P–O) de la  $430\text{--}450 \text{ cm}^{-1}$ , banda datorată vibrației de alungire asimetrică (P–O) de la  $1020\text{--}1080 \text{ cm}^{-1}$  și banda datorată vibrației de îndoire (O–P–O) de la  $585\text{--}610 \text{ cm}^{-1}$ . Prezența grupării OH<sup>-</sup> determină apariția benzilor datorate vibrației de alungire de la  $3600 \text{ cm}^{-1}$ , a benzii vibraționale de la  $630 \text{ cm}^{-1}$  și a benzii de translație de la  $340 \text{ cm}^{-1}$ .

În Figura 5.11.a, spectrul Raman al acoperirilor din CA este asociat cu benzile de vibrație de la  $2945 \text{ cm}^{-1}$  și  $1129 \text{ cm}^{-1}$  [7]. Ele sunt atribuite vibrației de alungire a legăturii C–H și vibrației de alungire asimetrică a legăturii glicozidice C–O–C. În plus, contribuția inelului de piranoză se observă la  $1081 \text{ cm}^{-1}$ . Banda de vibrație asociată legăturilor C–OH se observă la  $1272 \text{ cm}^{-1}$ . Semnalele Raman caracteristice pentru gruparea acetil pot fi observate la  $1744$ ,  $1443$  și  $1390 \text{ cm}^{-1}$ , corespunzătoare vibrațiilor grupării carbonil (C=O) și vibrațiilor asimetrice și simetrice ale legăturii C–H. Benzile de vibrație la  $986$ ,  $914$ ,  $842$  și  $667 \text{ cm}^{-1}$  sunt asociate cu legăturile C–O, C–H, O–H și, respectiv, C–OH.



**Figura 5.12.** Spectrele Raman ale (a) HAp, acoperirii CA și acoperirilor compozite; (b) CA, CAHAp, CAMg în domeniul  $800\text{--}1200 \text{ cm}^{-1}$

#### 5.3.4. Analiza termogravimetrică

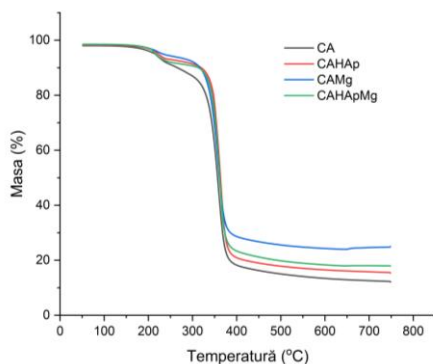
Analiza termogravimetrică (TGA) a fost utilizată pentru a studia efectul particulelor de hidroxiapatită și magneziu asupra termostabilității polimerului. Figura 5.13. ilustrează curbele TGA ale acoperirii din acetatul de celuloză (CA) și ale acoperirilor compozite (CAHAp, CAMg, CAHApMg). Conform figurii, toate probele prezintă un profil similar cu două etape de degradare. Prima etapă de degradare corespunde evaporării urmelor de solvent (între  $150 \text{ }^\circ\text{C}$  și  $230 \text{ }^\circ\text{C}$ ) din



acoperirile polimerice, iar a doua, se datorează descompunerii lanțului polimeric (de la 250 °C la 370 °C).

Termostabilitatea cea mai scăzută este prezentată de acoperirea cu acetat de celuloză, rezistența termică crescând odată cu adăugarea particulelor de umplură. Aceasta a fost testată prin măsurarea temperaturii de descompunere după ce s-a pierdut 10% din masa probelor investigate ( $T_{d10\%}$ ). Valorile  $T_{d10\%}$  sunt: 265,71 °C pentru acoperirea CA; 319,59 °C pentru acoperirea CAHAp; 317,10 °C pentru acoperirea CAMg și 313,3 °C pentru acoperirea CAHApMg.

Proba CAHApMg care conține ambele tipuri de particule (hidroxiapatită și magneziu) are un comportament intermediar, termostabilitatea fiind dată de o competiție între cele două mecanisme.

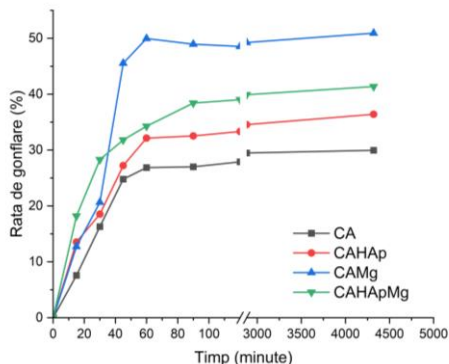


**Figura 5.13.** Curbele TGA pentru acoperirile experimentale (CA, CAHAp, CAMg și CAHApMg)

#### 5.4. Caracterizarea funcțională a acoperirilor pe bază de acetat de celuloză

##### 5.4.1. Determinarea pierderii de masă și a ratei de gonflare

Rata de gonflare a acoperirilor investigate pentru o perioadă de până la 72 de ore este prezentată în Figura 5.14. Din figura se poate observa că în primele 45 de minute, rata de gonflare crește rapid pentru toate acoperirile investigate, dar este mai pronunțată pentru cele care conțin particule de magneziu (CAMg și CAHApMg). Probele ajung la o stare de echilibru după 90 de minute, cu o gonflare de aproximativ 48% pentru proba CAMg, 38% pentru proba CAHApMg și 32% pentru proba CAHAp.

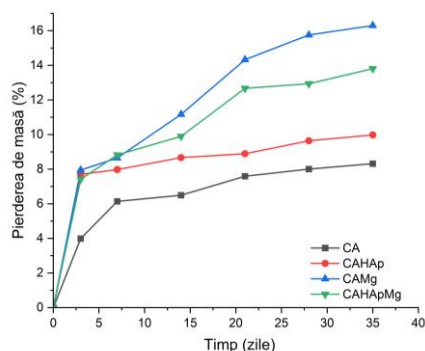


**Figura 5.14.** Rata de gonflare a acoperirilor, pe o perioadă de 72 de ore, în soluția de PBS

Comportamentul la degradare al acoperirilor experimentale a fost evaluat prin măsurarea pierderii de masă. Evoluția pierderii de masă evaluată la 3, 7, 14, 21, 28 și 35 de zile de imersie în PBS este prezentată în Figura 5.15.

În studiul pierderii de masă, utilizat pentru evaluarea profilului de degradare a acoperirilor s-a constatat ca procesul de degradare a avut loc mai rapid în primele 3 zile de imersie pentru toate acoperirile investigate. În următoarele perioade, acoperirea din CA și acoperirea compozită cu

particule de hidroxiapatită CAHAp, prezintă rate de degradare mai mici, creșterea de la un interval la altul fiind mai mică și constantă.

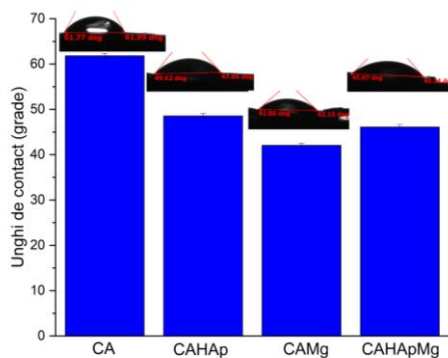


**Figura 5.15.** Profilul de degradare al acoperirilor, pe o perioadă de 35 de zile de imersie, în soluția de PBS

Umectarea suprafeței, cuantificată prin măsurătorile valorii unghiului de contact (Tabelul 5.2.), reprezintă un factor important în funcționalitatea și biocompatibilitatea dispozitivelor implantabile [8,9]. Cele mai mici valori ale unghiului de contact au fost obținute pentru probele care conțin particule de magneziu (CAHApMg și CAMg), ceea ce demonstrează că prin adăugarea acestora se obțin suprafețe hidrofile favorabile integrării biologice.

**Tabelul 5.2.** Valorile unghiului de contact

Probe	Unghi de contact (grade)
CA	61,80±0,53
CAHAp	48,54±0,62
CAMg	42,05±0,49
CAHApMg	46,09±0,55



**Figura 5.16.** Valorile unghiului de contact și forma picăturii de apă pe acoperirile investigate

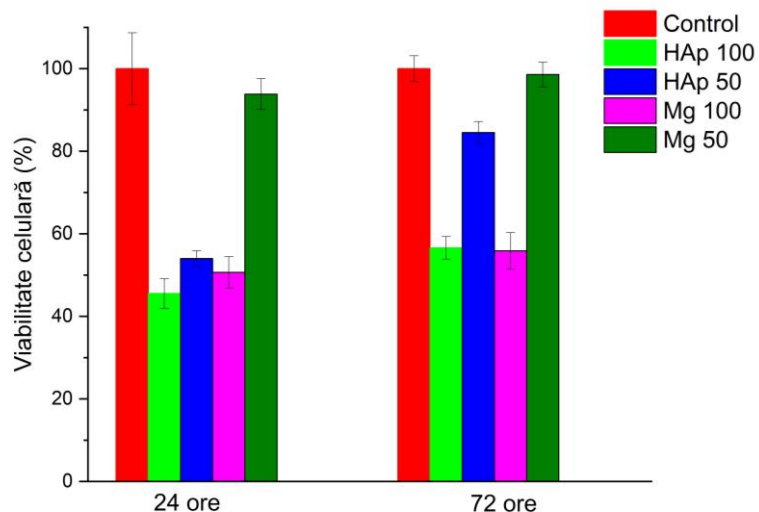
#### 5.4.2. Testarea in vitro a biocompatibilității prin testul MTT și testul de viabilitate celulară cu Calceină-AM

##### Testul MTT

Rezultatele testului MTT sunt prezentate în Figura 5.17. Analizând rezultatele obținute pe particulele anorganice testate, este clar că extractul de 100 % este citotoxic, valorile obținute la 24 de ore fiind de 45,54 % pentru particulele de HAp și 50,65 % pentru particulele de Mg, în timp ce la 72 de ore s-a constatat că viabilitatea celulară este de 56,58 % pentru particulele de HAp și 55,86 % pentru particulele de Mg. În cazul particulelor de HAp, comportamentul citotoxic a fost menținut și pentru extractul de 50 % la 24 de ore (54 % viabilitate), dar s-a observat un fenomen interesant la 72 de ore, când viabilitatea celulară a crescut semnificativ la 84,53 %, sugerând un

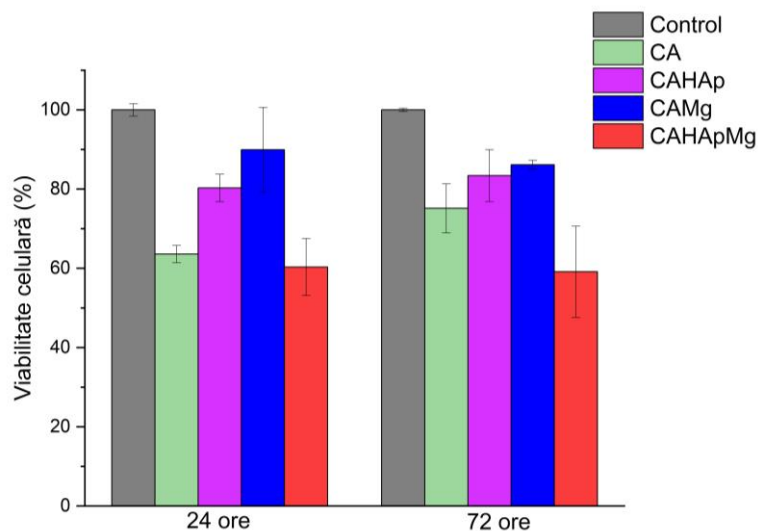
efect toxic ușor inițial. În ceea ce privește particulele de Mg, se poate afirma că acest material este necitotoxic la o concentrație de 50 % extract pentru ambii timpi de contact.

Pentru acoperirile pe bază de CA experimentale testate în contact direct cu celulele, rezultatele sunt reprezentate în Figura 5.18. Pentru acoperirea polimerică CA (din acetat de celuloză) la 24 de ore, viabilitatea celulară a fost de 63% iar la 72 de ore a crescut la 75%



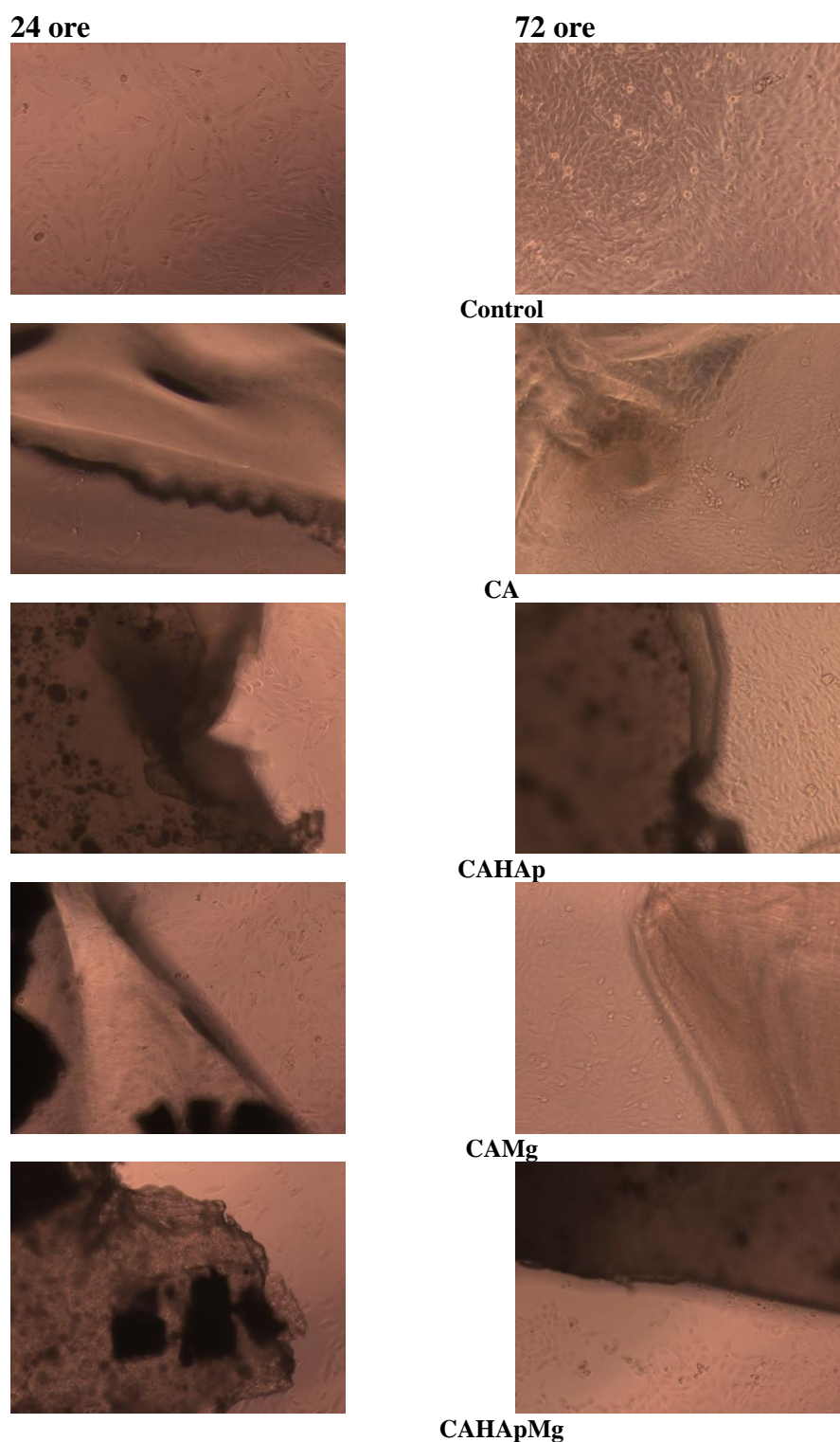
**Figura 5.17.** Viabilitatea celulară, măsurată prin testul MTT, prin contact indirect (extracte)

Introducerea în soluția de CA atât a particulelor de HAp cât și a particulelor de Mg scade viabilitatea celulară și sunt necesare, pe viitor, de realizarea mai multor teste pentru a stabili raportul optim în care acestea trebuie combinate pentru ca acoperirea să nu aibă efect citotoxic.



**Figura 5.18.** Viabilitatea celulară, măsurată prin testul MTT pentru contact direct

Imaginile de microscopie optică ale liniei celulare MG-63 aflate în contact direct (la 24 și la 72 de ore) cu acoperirile experimentale sunt prezentate în Figura 5.19. Imaginile au fost captate cu un microscop confocal cu fluorescență, Leica, Germania (obiectiv 10×).

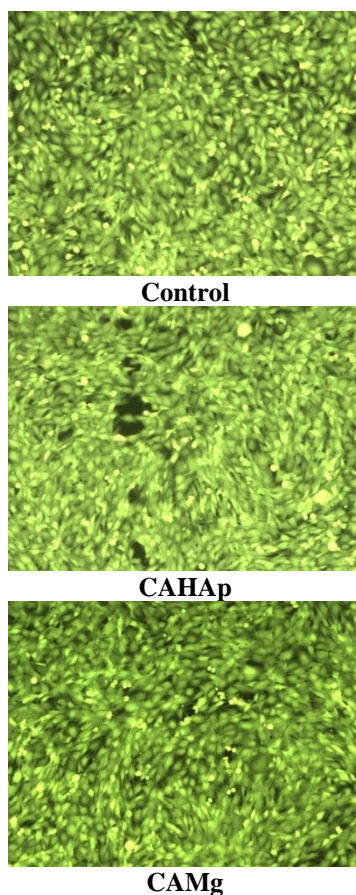


**Figura 5.19.** Imagini de microscopie optică ale liniei celulare MG-63 în contact direct (24 și 72 de ore) cu probele experimentale

**Testul de viabilitate celulară cu Calceină AM.**

Testele MTT au evidențiat faptul că viabilitatea celulelor incubate cu CAHAp a fost de 83% și cu CAMg a fost de 86% după 72 de ore de contact direct; în ambele cazuri, testul de viabilitate celulară cu Calceină-AM a confirmat valorile.





**Figura 5.20.** Imagini de microscopie de fluorescență pentru acoperirile CAHAp și CAMg în contact cu culturile celulare timp de 72 de ore (colorant Calcein AM). Imagini obținute cu microscopul confocal cu fluorescență, Leica, Germania (obiectiv 10×).

Analizele efectuate pe acoperirile experimentale compozite au evidențiat efectul pozitiv al particulelor de magneziu și hidroxiapatită atunci când sunt utilizate singure. Nu se recomandă utilizarea ambelor tipuri de particule (hidroxiapatită și magneziu) ca umplutură hibridă.

## **CAPITOL 6. MODIFICAREA SUPRAFEȚEI ALIAJELOR DE MAGNEZIU Mg3Nd PRIN REALIZAREA DE ACOPERIRI COMPOZITE PE BAZĂ DE ACETAT DE CELULOZĂ PRIN METODA DE ACOPERIRE PRIN IMERSIE**

### **6.1. Protocolul de lucru experimental pentru obținerea aliajelor Mg3Nd acoperite**

În urma studiului realizat pe acoperirile din acetat de celuloză (CA) și acoperirile polimerice pe bază de acetat de celuloză cu particule de hidroxiapatită și magneziu (CAHAp, CAMg, CAHApMg) s-au selectat două acoperiri care corespund din punct de vedere al proprietăților morfo-structurale, de suprafață și funcționale pentru a putea fi utilizate în acoperirea aliajelor de magneziu Mg3Nd. Aceste acoperiri sunt: CAHAp, acoperirea compozită pe bază de CA cu particule de HAp și CAMg, acoperirea compozită pe bază de CA cu particule de Mg.

Depunerea de acoperiri pe suprafața aliajelor Mg3Nd s-a realizat prin imersia probelor de aliaje în soluția de acetat de celuloză cu particule de hidroxiapatită sau magneziu. Prin această metodă se obțin acoperiri uniforme cu grosimi variabile datorită controlului parametrilor procesului și permite realizarea straturilor pe o multitudine de materiale cu geometrie variabilă

Soluția de polimer a fost obținută, sub agitare mecanică puternică, prin dizolvarea acetatului de celuloză în N,N'-dimetilformamidă. Particulele de hidroxiapatită (HAp) și magneziu (Mg) au

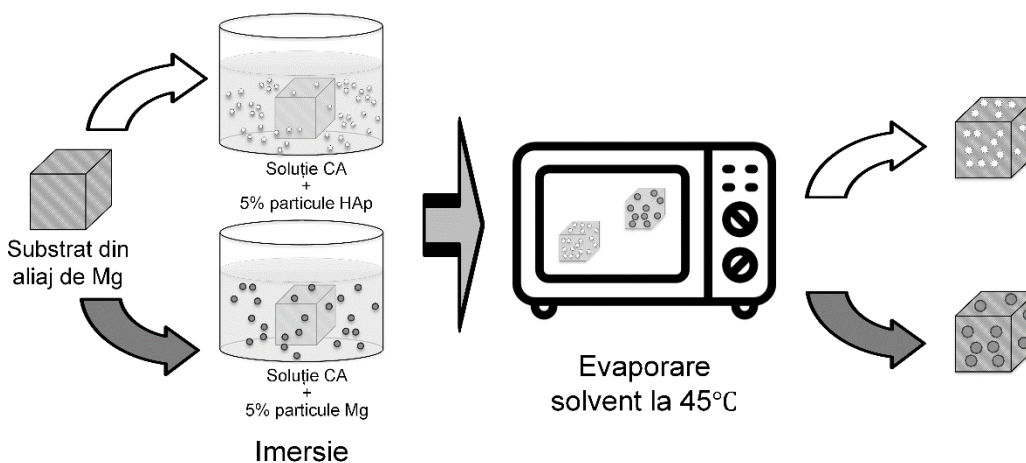
fost dispersate, prin ultrasonare timp de 30 minute, în soluția de polimer într-o proporție de 5 wt.% raportat la cantitatea de acetat de celuloză. Pentru acoperirea aliajelor Mg3Nd, probe cu dimensiunile de 15×15×5 mm<sup>3</sup> (lungime × lățime × înălțime) au fost scufundate în soluția de polimer obținută, extrase și menținute timp de 3 zile, la o temperatură de 45°C, pentru evaporarea solventului. Pentru a obține o acoperire omogenă, operația s-a repetat de trei ori.

După procesul de acoperire, eșantioanele au fost codificate după cum urmează:

- **Mg3Nd\_A\_CAHAp** – aliaj Mg3Nd\_A cu acoperire compozită pe bazată pe CA ranforsat cu HAp;
- **Mg3Nd\_A\_CAMg** - aliaj Mg3Nd\_A cu acoperire compozită pe bazată pe CA ranforsat cu Mg;
- **Mg3Nd\_B\_CAHAp** – aliaj Mg3Nd\_B cu acoperire compozită pe bazată pe CA ranforsat cu HAp;
- **Mg3Nd\_B\_CAMg** – aliaj Mg3Nd\_B cu acoperire compozită pe bazată pe CA ranforsat cu Mg.

Înainte de caracterizare și testare, eșantioanele experimentale au fost spălate cu etanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SUA).

Protocolul de lucru pentru obținerea aliajelor de Mg3Nd acoperite este prezentat schematic în Figura 6.2.

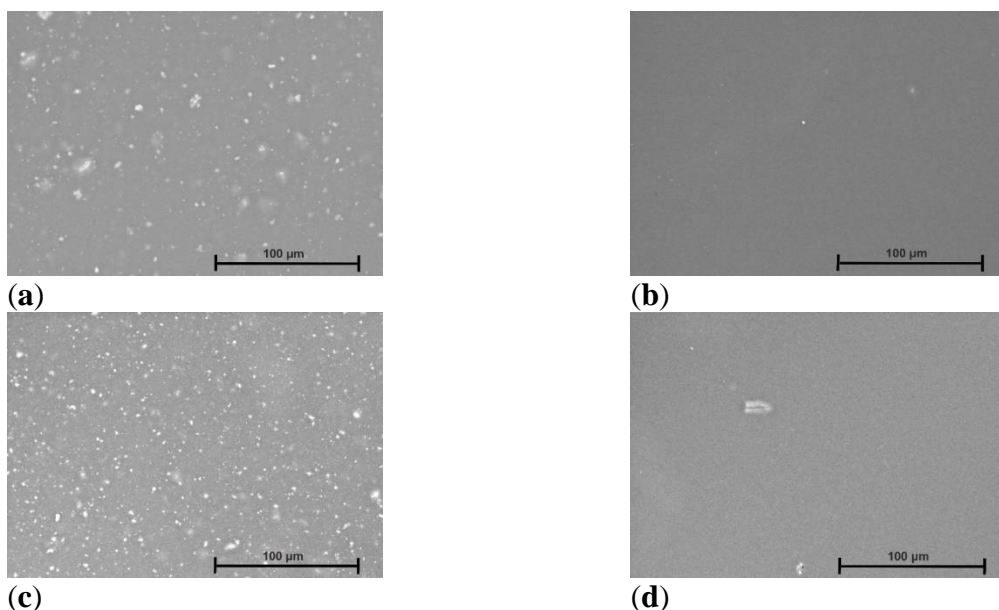


**Figura 6.2.** Schema procesului de obținere a probelor din aliaj de magneziu Mg3Nd acoperite

### 6.2. Caracterizarea aliajelor Mg3Nd acoperite prin microscopie electronică de baleiaj (SEM)

Morfologia suprafeței aliajelor Mg3Nd acoperite și grosimea stratului au fost evidențiate folosind microscopia electronică de baleiaj (SEM) Figura 6.3.

Imaginile SEM pe acoperirile polimerice compozite cu HAp (Mg3Nd\_A\_CAHAp și Mg3Nd\_B\_CAHAp) pe aliajele Mg3Nd evidențiază o distribuție omogenă a particulelor în matricea polimerică. Prin evaporarea solventului, s-au format acoperiri compozite polimerice foarte compacte cu pori de diametru mic, conferind un caracter neted suprafeței. Porozitatea există datorită acțiunii moleculelor de solvent, N,N'-dimetilformamidă, pe acoperirea compozită în timpul procesului de evaporare, ceea ce duce la formarea de canale. Concluzia principală care se extrage este că acoperirile dezvoltate sunt bine realizate, parametrii de lucru au fost bine aleși cu o suprafață mult mai netedă în cazul acoperirii compozite cu particule de Mg.



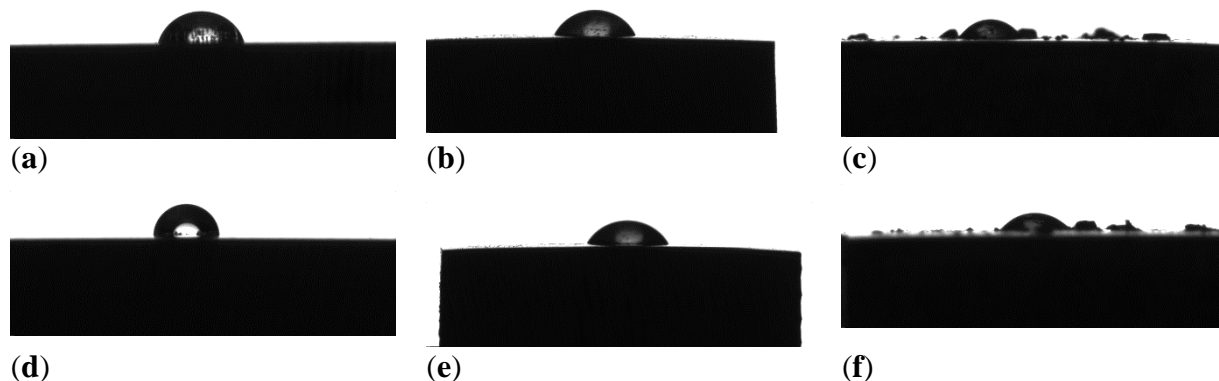
**Figura 6.3.** Imagini SEM ale aliajelor Mg3Nd acoperite: (a) Mg3Nd\_A\_CAHAp; (b) Mg3Nd\_A\_CAMg; (c) Mg3Nd\_B\_CAHAp; (d) Mg3Nd\_B\_CAMg

### 6.3. Determinarea proprietăților de suprafață a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite

#### 6.3.1. Umectabilitatea

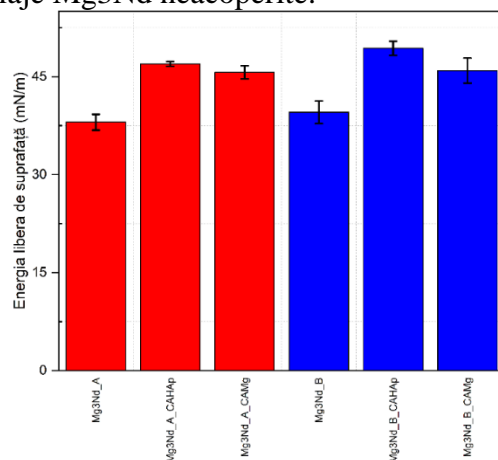
Figura 6.5. prezintă aspectul picăturilor pe suprafața aliajelor Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B, în cazul utilizării apei ca agent de umectare, pentru probele martor (probe neacoperite, Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B) și probe acoperite. Se poate observa că în cazul aliajelor Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B, acoperirile compozite pe bază de CA cu particule de HAp sau Mg transformă suprafața aliajului într-una mai hidrofilă cu cea mai mică valoare a unghiului de contact ( $52,79^\circ$ ) obținută pentru proba Mg3Nd\_B\_CAMg. Particulele de HAp incluse în acoperirea compozită determină un comportament hidrofil al suprafeței cu un unghi de contact de aproximativ  $57,21^\circ$  (Mg3Nd\_B\_CAHAp) și  $64,23^\circ$  (Mg3Nd\_A\_CAHAp).

Se poate concluziona că procedura de acoperire în cazul ambelor aliaje Mg3Nd este direct legată de o hidrofilizare a suprafeței cu un efect mult mai predominant, în cazul aliajului Mg3Nd\_B.



**Figura 6.5.** Forma picăturii și valorile medii obținute pentru probele experimentale. Pentru Mg3Nd\_A: (a) probă martor ( $70,37 \pm 2,52^\circ$ ); (b) Mg3Nd\_A\_CAHAp ( $64,23 \pm 1,19^\circ$ ); (c) Mg3Nd\_A\_CAMg ( $53,89 \pm 1,98^\circ$ ); pentru Mg3Nd\_B; (d) proba martor ( $85,91 \pm 2,02^\circ$ ); (e) Mg3Nd\_B\_CAHAp ( $57,21 \pm 1,95^\circ$ ); (f) Mg3Nd\_B\_CAMg ( $52,79 \pm 2,62^\circ$ )

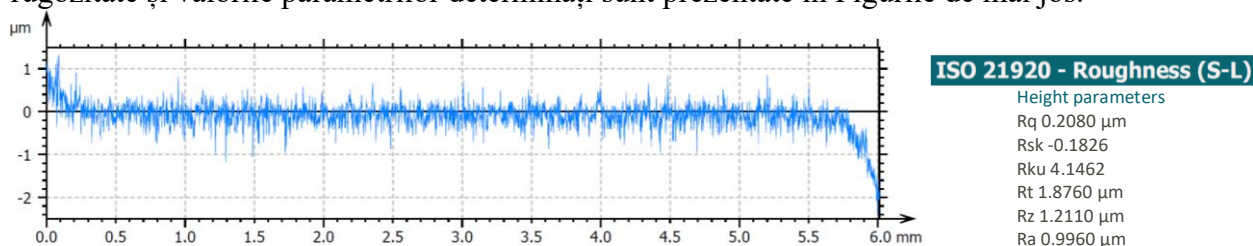
Pe baza faptului că etilenglicolul (EG) și apa (W) sunt considerate lichide polare, în timp ce diiodometanul (DIM) este un lichid nepolar/dispersiv, iar componentele lor de energie de suprafață sunt cunoscute așa cum este raportat în [57], am calculat energia liberă de suprafață (SFE) a aliajelor acoperite și neacoperite aplicînd metoda OWKR. Valorile obținute pentru energia liberă de suprafață sunt prezentate în Figura 6.7. În cazul nostru, probele de aliaj Mg3Nd acoperite cu stratul compozit pe bază de CA cu particule de HAp (Mg3Nd\_A\_CAHAp și Mg3Nd\_B\_CAHAp) au prezentat cele mai mari valori ale energiei libere de suprafață, iar valoarea cea mai mică a SFE este specifică probelor din aliaje Mg3Nd neacoperite.



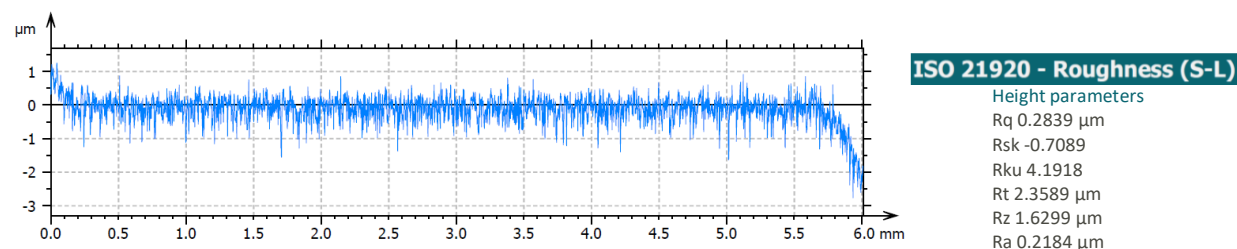
**Figura 6.7.** Valorile energiei libere de suprafață (SFE) ale probelor investigate, calculate cu metoda OWKR

### 6.3.2. Rugozitatea

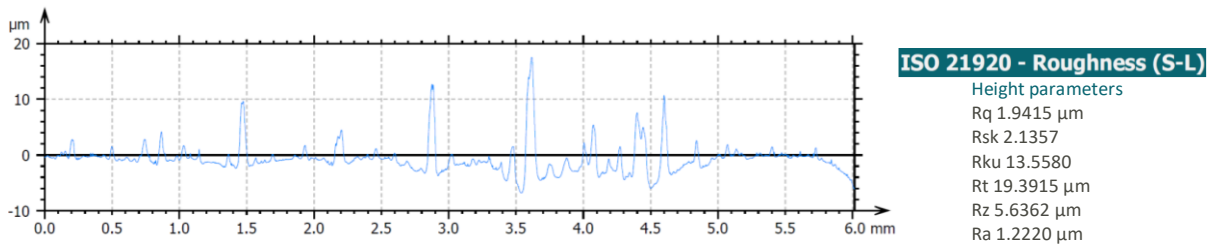
Rugozitatea suprafeței pentru probele elaborate în cadrul acestei teze de doctorat (aliaje Mg3Nd acoperite și neacoperite) a fost investigată pe baza analizei profilometrice. Profilele de rugozitate și valorile parametrilor determinați sunt prezentate în Figurile de mai jos.



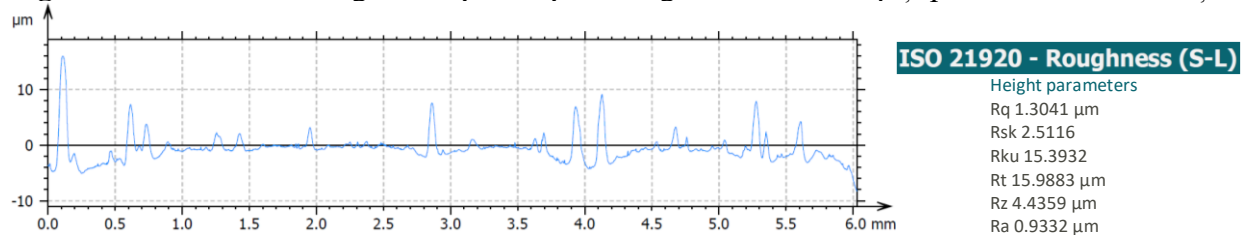
**Figura 6.9.** Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_A și parametrii determinați



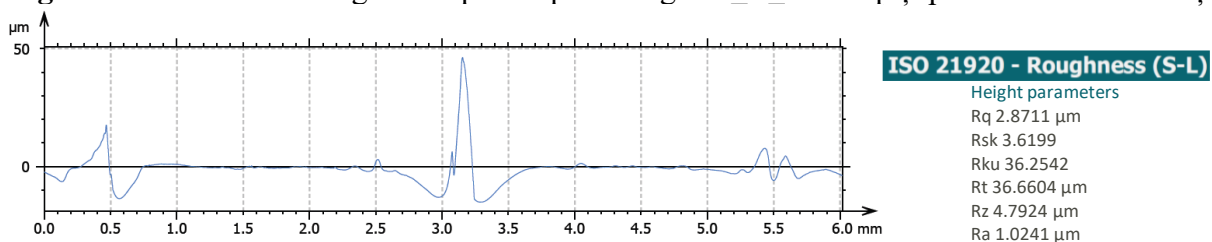
**Figura 6.10.** Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_B și parametrii determinați



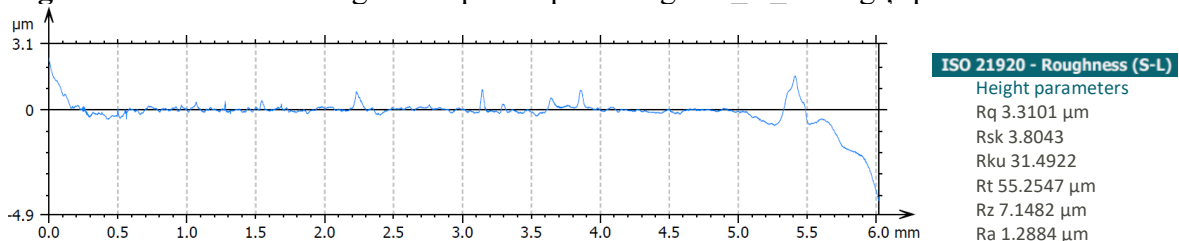
**Figura 6.11.** Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_A\_CAHAp și parametrii determinați



**Figura 6.12.** Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_B\_CAHAp și parametrii determinați



**Figura 6.13.** Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_A\_CAMg și parametrii determinați



**Figura 6.14.** Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_B\_CAMg și parametrii determinați

Rezultatele noastre au arătat că probele din aliajele Mg3Nd neacoperite au avut cele mai mici valori ale parametrilor  $R_a$  și  $R_q$  (Mg3Nd\_A:  $R_a = 0,996 \pm 0,021 \mu\text{m}$ ,  $R_q = 0,208 \pm 0,023 \mu\text{m}$ ; Mg3Nd\_B:  $R_a = 0,218 \pm 0,022 \mu\text{m}$ ,  $R_q = 0,284 \pm 0,026 \mu\text{m}$ ).

O corelație între rugozitatea suprafeței și gradul de umectare a fost dată în literatură de modelul Wenzel [86]. Această teorie afirmă că o creștere a rugozității va determina o scădere a unghiului de contact în cazul suprafețelor hidrofiele. Această corelație este valabilă în cazul nostru pentru ambele aliaje. S-a observat o creștere a rugozității suprafețelor aliajelor Mg3Nd după acoperire concomitent cu o scădere a valorii unghiului de contact (s-au obținut suprafețe mai hidrofiele) ceea ce va genera o mai bună osteointegrare a implantului realizat din aceste materiale

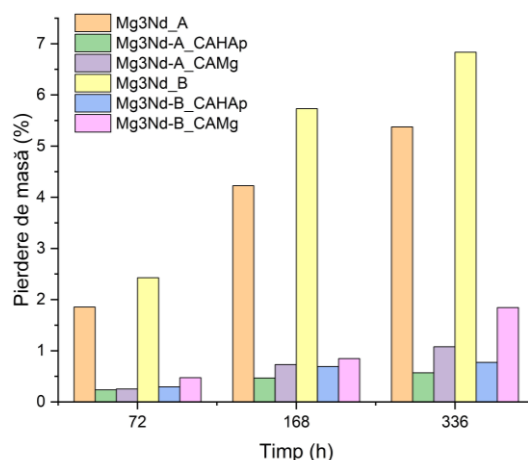
## 6.4. Testarea funcțională a aliajelor de magneziu Mg3Nd acoperite și neacoperite

### 6.4.1. Determinarea comportamentului la coroziune a aliajelor experimentale de magneziu Mg3Nd, înainte și după acoperire prin teste de imersie

#### Determinarea pierderii de masă

Evaluarea comportamentului la coroziune prin, testul de imersie, s-a realizat în soluția de fluid fiziologic simulat, la o temperatură de 37 °C. Valorile pierderii de masă obținute după 72, 168 și 336 de ore de imersie sunt prezentate în Figura 6.16.





**Figura 6.16.** Evoluția pierderii de masă a aliajelor Mg3Nd neacoperite și acoperite în soluția SBF

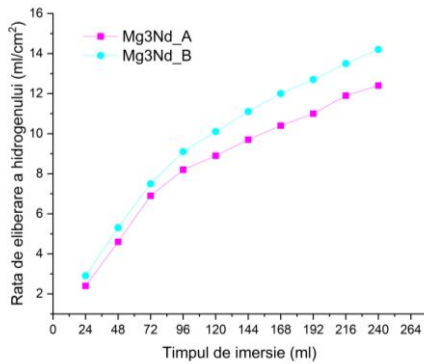
Cele mai mici valori au fost înregistrate pentru aliajele pe bază de Mg acoperite cu acoperiri compozite pe bază de acetat de celuloză cu particule de HAp (0,56% pentru Mg3Nd\_A\_CAHAp la 336 ore și 0,77% pentru Mg3Nd\_B\_CAHAp la 336 ore). Pentru aliajele neacoperite, pierderea de masă la 336 de ore este de 5,37% pentru aliajul Mg3Nd\_A și 6,83% pentru aliajul Mg3Nd\_B. Rezultatele evidențiază efectul benefic al ytriului asupra comportamentului la coroziune al aliajelor. O proporție mai mare de Y (2,10% în aliajul Mg3Nd\_A comparativ cu 0,21% în aliajul Mg3Nd\_B) generează o pierdere mai mică de masă și, prin urmare o rezistență mai mare la coroziune, datorită rafinării microstructurii aliajului. De asemenea, rezultatele arată că acoperirile compozite realizate pe suprafața aliajelor Mg3Nd oferă protecție împotriva mediului de testare. Rezultatele obținute pentru probele Mg3Nd\_A\_CAHAp și Mg3Nd\_B\_CAHAp sunt de 10 și, respectiv, de 9 ori mai mici decât aliajele neacoperite, iar pentru probele Mg3Nd\_A\_CAMg și Mg3Nd\_B\_CAMg de 5 și respectiv de 4 ori mai mici decât aliajele neacoperite.

### **Determinarea cantității de hidrogen eliberat**

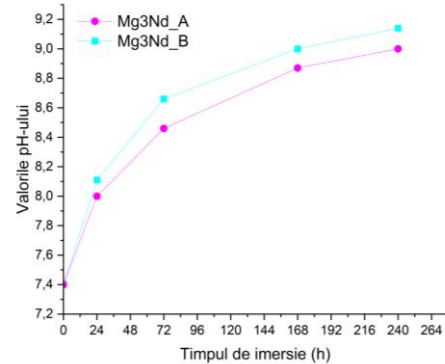
Pentru a estima viteza corozivă a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite, a fost efectuat testul de evaluare a cantității de hidrogen eliberat de probele investigate utilizând ca mediu de testare soluția de fluid fiziologic simulat (SBF) pe parcursul a 10 zile. Experimentele privind evoluția hidrogenului au fost efectuate monitorizând și evoluția pH-ului în mediul de testare.

Evoluția ratei de eliberare a hidrogenului și a pH-ului pentru aliajele neacoperite Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B sunt prezentate în Figurile 6.19. și 6.20.

Din Figura 6.19. ce prezintă evoluția ratei de eliberare a hidrogenului pe probele din aliaje neacoperite se observă o rată de eliberare, după 24 ore de imersie, de 2,4 ml/cm<sup>2</sup> pentru proba Mg3Nd\_A respectiv de 2,9 ml/cm<sup>2</sup> pentru proba Mg3Nd\_B, ceea ce sugerează că probele au început să degaje hidrogen imediat după contactul cu soluția de testare (SBF), datorită potențialului electrochimic scăzut pe care îl are magneziu. Cea mai mare cantitate de hidrogen s-a eliberat, în cazul ambelor probe din aliaje Mg3Nd, în primele 5 zile de imersie, 8,9 ml/cm<sup>2</sup> pentru proba Mg3Nd\_A cu o alcalinizare a mediului până la o valoare a pH-ului de 8,55 și respectiv 10,1 ml/cm<sup>2</sup> pentru proba Mg3Nd\_B la un pH de 8,78. Rezultatele obținute indică o rezistență la coroziune mai mare în cazul aliajului Mg3Nd\_A, cu conținut mai mare de Y, datorită rafinării microstructurii acestuia (grăunți de dimensiuni mai mici).

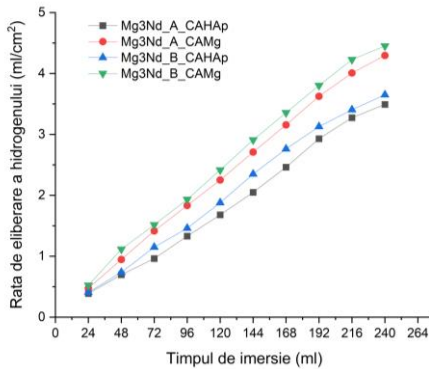


**Figura 6.19.** Rata de eliberare a hidrogenului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B

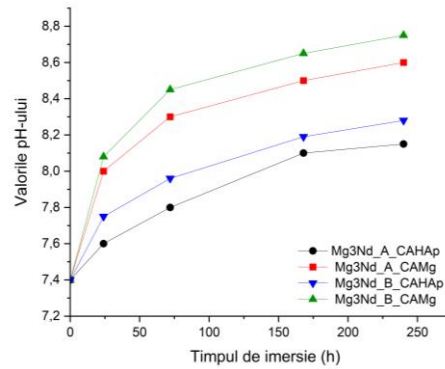


**Figura 6.20.** Variația pH-ului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B

Evoluția ratei de eliberare a hidrogenului și a pH-ului pentru aliajele Mg3Nd sunt prezentate în Figurile 6.21. și 6.22.



**Figura 6.21.** Rata de eliberare a hidrogenului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd acoperite

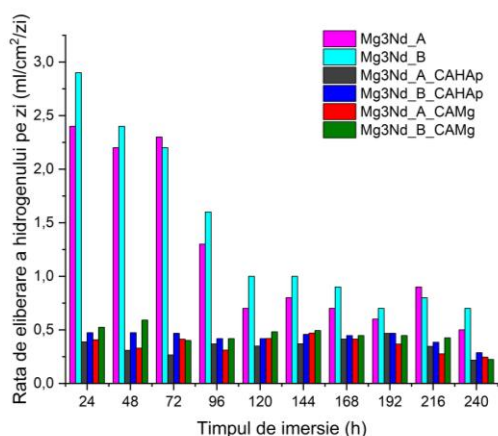


**Figura 6.22.** Variația pH-ului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd acoperite

Pentru probele din aliaje Mg3Nd acoperite rata de eliberare a hidrogenului a scăzut considerabil înregistrând, la 24 ore de imersie, pentru aliajul Mg3Nd\_A acoperit valori de 0,38 ml/cm<sup>2</sup> (aliajul Mg3Nd\_A acoperit cu strat pe bază de CA și particule de HAp, Mg3Nd\_A\_CAHAp) și 0,47 ml/cm<sup>2</sup> (aliajul Mg3Nd\_A acoperit cu strat pe bază de CA și particule de Mg, Mg3Nd\_A\_CAMg), iar pentru aliajul Mg3Nd\_B acoperit valori de 0,40 ml/cm<sup>2</sup> (aliajul Mg3Nd\_B acoperit cu strat pe bază de CA și particule de HAp, Mg3Nd\_B\_CAHAp) și 0,52 ml/cm<sup>2</sup> (aliajul Mg3Nd\_B acoperit cu strat pe bază de CA și particule de Mg, Mg3Nd\_B\_CAMg).

În ceea ce privește evoluția pH-ului, se observă o alcalinizare mai puternică a probelor din aliaje de magneziu neacoperite față de cele acoperite. Prezența particulelor de magneziu în acoperirea compozită CAMg depusă pe aliajele de magneziu (probele Mg3Nd\_A\_CAMg și Mg3Nd\_B\_CAMg) determină o alcalinizare mai puternică a mediului de testare și rate de eliberare a hidrogenului mai mari față de acoperirea compozită cu particule de HAp. În Figura 6.23. sunt prezentate valorile ratei de eliberare a hidrogenului pe zi pentru aliajele de magneziu Mg3Nd acoperite și neacoperite.



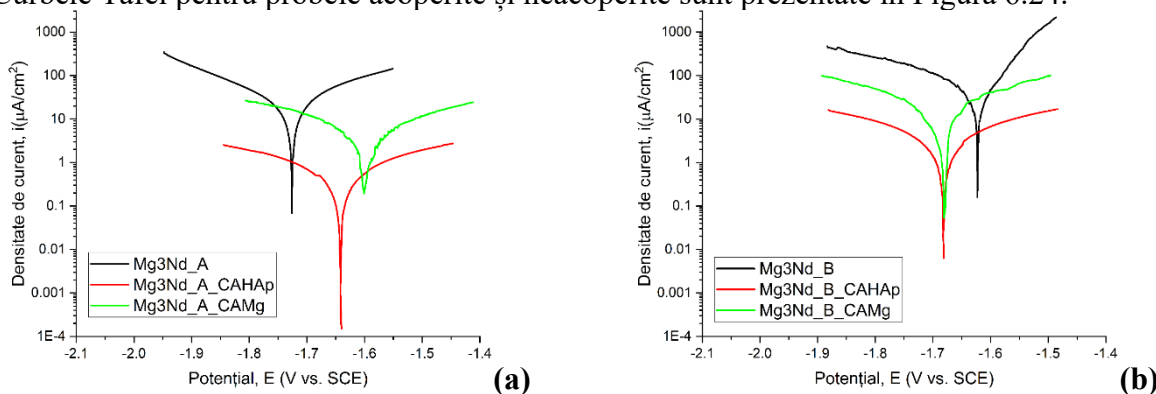


**Figura 6.23.** Rata de eliberare a hidrogenului pe zi, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd neacoperite și acoperite

Valorile obținute pentru aliajele neacoperite sunt, în primele 3 zile de imersie, mai mari decât valorile maxime tolerate de către corpul uman după care în următoarele zile scad, fapt ce face necesară depunerea la suprafața acestora a unui strat de protecție împotriva coroziunii.

#### 6.4.2. Determinarea comportamentului la coroziune a aliajelor experimentale de magneziu Mg3Nd, înainte și după acoperire prin teste electrochimice

Curbele Tafel pentru probele acoperite și neacoperite sunt prezentate în Figura 6.24.



**Figura 6.24.** Curbele Tafel ale probelor neacoperite și acoperite: (a) Mg3Nd\_A; (b) Mg3Nd\_B

Parametrii electrochimici obținuți pentru aliajele Mg3Nd neacoperite și acoperite sunt prezentate în Tabelul 6.1.

**Tabelul 6.1.** Parametrii procesului de coroziune prin testare electrochimică obținuți pe aliajele Mg3Nd acoperite și neacoperite

Cod probă	$E_{oc}$ (V)	$E_{corr}$ (V)	$i_{corr}$ ( $\mu A/cm^2$ )	$\beta_c$ (mV)	$\beta_a$ (mV)	CR (mm/an)	$P_e$ (%)	$R_p$ ( $k\Omega cm^2$ )
Mg3Nd_A	-1,765	-1,720	38,918	266,60	280,011	0,885	-	1,530
Mg3Nd_A_CAHAp	-1,647	-1,641	4,497	2637	1371	-	99,63	87,210
Mg3Nd_A_CAMg	-1,610	-1,605	16,684	625,154	676,912	-	98,66	8,469

Mg3Nd_B	- 1,698	- 1,699	55,689	268,870	87,419	1,266	-	0,535
Mg3Nd_B_CAHAp	- 1,683	- 1,681	14,971	1008	788,346	-	98,54	12,847
Mg3Nd_B_CAMg	- 1,696	- 1,678	20,607	297,275	242,764	-	97,99	2,819

Rezistența la coroziune a probelor din aliaje Mg3Nd neacoperite și acoperite a fost analizată pe baza diferitelor criterii de evaluare. Este bine cunoscut faptul că o valoare mai electropozitivă a potențialului de circuit deschis ( $E_{oc}$ ) este direct legată de un caracter mai nobil din punct de vedere electrochimic și de un comportament la coroziune mult mai bun în SBF. Analizând valorile prezentate în Tabelul 6.1., se poate observa că toate probele acoperite au prezentat o rezistență la coroziune mai bună decât aliajele neacoperite. Viteza de coroziune, calculată numai în cazul probelor din aliaje Mg3Nd neacoperite, evidențiază că Mg3Nd\_A a avut o valoare mai mică (0,885 mm/an) decât Mg3Nd\_B (1,266 mm/an), deci o rezistență mai bună la coroziune. Eficiența de protecție trebuie să aibă o valoare mai mare pentru a indica efectul protector al acoperirii împotriva fenomenului de coroziune. Acest parametru poate fi calculat numai în cazul probelor acoperite. Pentru fiecare tip de aliaj Mg3Nd se poate observa că cea mai bună eficiență de protecție este oferită de acoperirile compozite pe bază de CA cu HA<sub>p</sub> (Mg3Nd\_A\_CAHA<sub>p</sub> și Mg3Nd\_B\_CAHA<sub>p</sub>). Ca o observație finală din punctul de vedere al efectului protector al acoperirii, cea mai bună eficiență de protecție pentru ambele aliaje Mg3Nd este oferită de acoperirea compozită pe bază de CA cu particule HA<sub>p</sub>. Cele două filme dezvoltate au determinat o rezistență crescută la coroziune și au un potențial mare de a fi utilizate ca acoperiri pentru implanturi pe bază de aliaje de magneziu.

#### 6.4.3. Testarea in vivo a biocompatibilității aliajelor de magneziu Mg3Nd acoperite și neacoperite

Evaluarea clinică a fost realizată imediat după eutanasierea animalului de laborator. Din totalul de 24 de animale de laborator, 2 exemplare au murit imediat post intervențional, datorită traumei chirurgicale și anestezice. Pentru toate celelalte animale nu au fost observate semne ale unei suferințe sistemice. În general nu au identificate semne de inflamație locală, iar atunci când au existat acestea au avut o intensitate minimă sau moderată, fiind limitate la țesuturile moi adiacente, fără a putea fi corelate cu un anumit lot. De altfel, am remarcat o variabilitate individuală atât în ceea ce privește reacțiile inflamatorii locale cât și viteza de dezintegrare a probelor.



**Figura 6.25.** Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_A



**Figura 6.27.** Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_B



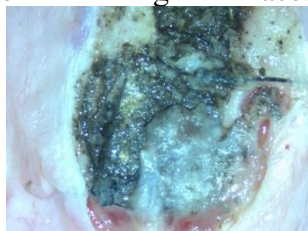
**Figura 6.28.** Aspect al feței externe a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp



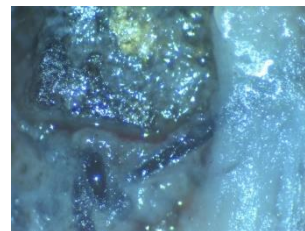
**Figura 6.29.** Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_B\_CAHAp

### Evaluarea clinică microscopică.

Aspectul probei din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp (Figura 6.35.) observat pe fața externă a calvariei după decolarea tegumentului evidențiază degradarea parțială a probei și înlocuirea cu țesutul fibrinos de reparație. În Figura 6.37. ce evidențiază detaliu unei probe din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei în apropierea unui fir de sutură folosit pentru susținerea probei se observă acoperirea acesteia de un țesut conjunctiv lax, dar și țesutul conjunctiv mai dens, de culoare albă, bogat în fibre situat la periferia probei, care are tendința de a-l înlocui pe măsura degradării acestuia.



**Figura 6.35.** Aspect al probei de aliaj din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei după decolarea tegumentului (10x)

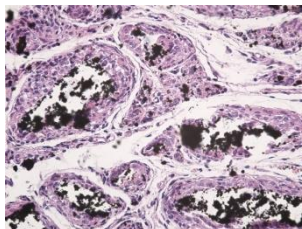


**Figura 6.37.** Detaliu al unei probe de aliaj din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei în apropierea unui fir de sutură folosit pentru susținerea probei (40x)

Pentru aliajul Mg3Nd\_B acoperit cu CAHAp, imaginile de microscopie optică preluate la 1 săptămână evidențiază pentru proba 1SAliajMg3Nd\_B\_CAHAp, pe fața externă a calvariei după decolarea tegumentului, formarea unui bogat țesut conjunctiv fibros cu aspect gelatinos care acoperă proba. În imaginile de detaliu s-a observat particule de probă în țesutul conjunctiv de reparație, aflat în diferite stadii de la o structură mai laxă la o structură gelatinoasă, fibroasă.

### Evaluarea histologică

În cazul probelor biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_A se observă în apropierea unei margini osoase zonele de aliaj rezidual delimitate de țesut conjunctiv. Pentru probele biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_B se observă dispunerea concentrică în jurul fragmentelor de aliaj a unui țesut conjunctiv bogat în celule în special în jurul particulelor dezintegrate, celule cu o bogată activitate metabolică evidențiată prin prezența unor nuclei de mari dimensiuni, zonele de țesut celular cu activitate macrofagică fiind delimitate de fibrele conjunctive cu un aspect lax (Figura 6.42.).



**Figura 6.42.** Aspect al unei probe biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_B, Col HE 20x

Probele analizate au dovedit în general o bună biocompatibilitate, fără manifestări sistemice decelabile la animalele de laborator folosite și cu manifestări inflamatorii clinice locale reduse. În general am remarcat o mare variabilitate interindividuală legată de viteza de evoluție a procesului de degradare a probelor/aliajelor de magneziu și de formare și maturare a țesutului conjunctiv de reparație, dar și coexistența diferitelor etape evolutive în cadrul aceluiași caz, fără a putea face aprecieri specifice unui singur lot. În loturile la care sacrificarea animalelor de laborator s-a făcut la o săptămână de la inserarea aliajului, proba introdusă a fost regăsită întotdeauna într-un volum de 50-80% din volumul inițial (50% din volumul inițial pentru probele de aliaj MG3Nd\_A și Mg3Nd\_B și respectiv de 80% pentru probele Mg3Nd\_A\_CAHAp și Mg3Nd\_B\_CAHAp), în timp ce la probele recoltate la trei săptămâni au fost identificate fragmente dispersate din proba inițială și o impregnare a particulelor de probă în structurile biologice adiacente fără a le afecta funcționalitatea.

## **CONCLUZII**

### **C1. Concluzii generale**

- În partea teoretică a tezei a fost realizat un amplu studiu de literatură despre stadiul actual al cercetărilor privind tipurile și proprietățile magneziului și ale aliajelor sale, cât și despre tipurile de aliaje de magneziu utilizate în medicină, precum și despre metodele de modificare a suprafețelor biomaterialelor degradabile utilizate în realizarea implanturilor ortopedice.
- Aliajele de magneziu prezintă, față de biomaterialele metalice care au fost utilizate până în prezent pentru execuția de implanturi ortopedice (oțeluri inoxidabile și aliajele de titan), mai multe avantaje deoarece sunt biodegradabile, biocompatibile și au proprietăți mecanice similare cu ale țesutului osos. Însă, degradarea prea rapidă a aliajelor de magneziu comerciale, ca urmare a coroziunii lor în corpul uman, le limitează aplicabilitatea clinică, deoarece o viteză de degradare mare provoacă o deteriorare prematură a funcționalității lor în organismul uman.
- Studiile de literatură au arătat că aliajele de magneziu stimulează formarea și creșterea de țesut osos nou, datorită faptului că magneziu se regăsește în compoziția țesutului osos și intervine în procesele metabolice. Din acest motiv, există multe studii și cercetări legate de utilizarea aliajelor de magneziu în execuția de implanturi pentru chirurgia ortopedică și traumatologică.
- În urma studiului de literatură complex efectuat, s-a demonstrat că aliajele de magneziu care conțin elemente chimice din categoria pământurilor rare, zinc și zirconiu au un potențial bun pentru a putea fi utilizate la execuția de implanturi ortopedice biodegradabile. Se consideră că Nd trebuie să fie utilizat ca element principal de aliere datorită combinației optime dintre solubilitatea excelentă în soluția solidă, disponibilitatea pe piață și costul său.
- Studiile și cercetările privind acoperirile polimerice ale aliajelor de magneziu biodegradabile, cu rol în reducerea și controlul ratei de degradare, constituie un subiect de mare actualitate. Varietate mare de metode utilizate în obținerea de acoperiri polimerice și faptul că fenomenele care au loc nu sunt pe deplin elucidate, susțin faptul că fiecare contribuție adusă în acest domeniu va aduce un plus la dezvoltarea acestei direcții de cercetare.
- Proprietățile stratului polimeric depus pe aliaje de magneziu biodegradabile și adeziunea acestuia la substrat depind de metoda selectată în realizarea acoperirii și de condițiile de lucru.
- În urma studiului de literatură efectuat, o metodă avantajoasă din punct de vedere al uniformității stratului depus și al adeziunii stratului la substrat, o reprezintă metoda imersiei într-o soluție pe bază de acetat de celuloză cu și fără particule de hidroxiapatită sau magneziu.

## C2. Contribuții originale

- Comportamentul la degradare al aliajelor de magneziu și viteza lor de coroziune depind și de proprietățile de suprafață ale acestora. Influența parametrilor de procesare și a geometriei implantului asupra proprietăților funcționale și comportamentului implanturilor ortopedice în timpul degradării sunt încă investigate.
- În dezvoltarea de noi aliaje de magneziu utilizate pentru producerea de implanturi ortopedice biodegradabile, proprietăți ca biocompatibilitatea și rezistența la coroziune trebuie avute în vedere ca prime cerințe deoarece degradare implanturilor nu trebuie să afecteze funcțiile biologice ale organismului.
- În prezent, pentru a reduce viteza la coroziune a aliajelor de magneziu, se utilizează mai multe posibilități tehnologice, și anume adăugarea elementelor de aliere și realizarea depuneri de straturi biocompatibile, cum ar fi polimeri bioresorbabili deoarece au o bună compatibilitate cu țesutul osos.
- Obiectivul principal al cercetărilor experimentale a fost determinarea influenței elementelor de ranforsare asupra caracteristicilor structurale, morfologice, compoziției chimice, ratei de 123 gonflare și a ratei de degradare a unor acoperiri compozite cu matrice polimerică pe bază de acetat de celuloză.
- Alt obiectiv al cercetărilor experimentale a fost determinarea efectului acoperirilor compozite asupra caracteristicilor structurale, morfologice și proprietăților funcționale ale probelor din aliaje de magneziu.
- A fost efectuată o caracterizare complexă a structurii aliajelor din sistemul Mg3Nd (Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B) prin microscopie optică, microscopie electronică de baleiaj (SEM) cuplată cu spectrometrie EDS și difracție de raze X (XRD).
- Au fost obținute patru tipuri diferite de acoperiri, o probă de control realizată din acetat de celuloză, o probă pe bază de acetat de celuloză și element de ranforsare particule de HAp, o probă pe bază de acetat de celuloză și element de ranforsare particule de Mg și o probă pe bază de acetat de celuloză și elemente de ranforsare particule HAp și particule de Mg.
- Au fost analizate particulele de hidroxiapatită și magneziu utilizate în obținerea acoperirilor polimerice prin SEM, EDS, FT-IR, XRD.
- În cazul acoperirilor, pentru evaluarea proprietăților de suprafață s-a utilizat microscopia electronică de baleiaj (SEM), pentru evaluarea compoziției elementale s-a utilizat spectroscopia de raze X cu dispersie după energie (EDS), iar pentru evaluarea caracteristicilor structurale s-a utilizat spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR) și spectroscopia RAMAN. De asemenea, s-a realizat analiza termogravimetrică, s-a determinat rata de gonflare și rata de degradare a acoperirilor. Biocompatibilitatea acoperirilor obținute a fost evaluată prin testul MTT și testul de viabilitate celulară cu Calceină-AM.
- Au fost obținute, prin metoda imersiei, patru tipuri de probe de aliaje de magneziu acoperite: aliajul Mg3Nd\_A cu acoperire compozită cu HAp, aliajul Mg3Nd\_A cu acoperire compozită cu Mg, aliajul Mg3Nd\_B cu acoperire compozită cu HAp și aliajul Mg3Nd\_B cu acoperire compozită cu Mg.
- Evaluarea proprietăților de suprafață a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite a fost realizată prin microscopie electronică de baleiaj (SEM), prin determinarea unghiului de contact și a parametrilor de rugozitate.
- A fost efectuată testare funcțională atât a aliajelor de magneziu Mg3Nd, cât și a aliajelor de magneziu Mg3Nd acoperite cu strat polimeric compozit, pentru evaluarea biodegradării și



rezistenței la coroziune prin determinarea cantității de hidrogen eliberate, teste de imersie și teste electrochimice, în soluția SBF.

➤ Rezultatele au arătat că acoperirea polimerică cu particule de hidroxiapatită conduce la micșorarea ratei de coroziune, indiferent de tipul de aliaj din sistemul Mg3Nd utilizat ca substrat.

➤ Au fost efectuate teste de evaluare a biocompatibilității in vivo și in vitro. Evaluarea in vitro a biocompatibilității s-a realizat pe acoperirile polimerice obținute prin testul MTT și testul de viabilitate celulară cu Calceină-AM. Evaluarea in vivo a biocompatibilității s-a realizat pentru aliajele Mg3Nd neacoperite și cu acoperite cu strat polimeric compozit cu particule de hidroxiapatită utilizându-se șobolani de laborator, rasa Whistar. Testele in vitro de citotoxicitate au demonstrat faptul că acoperirile polimerice compozite cu particule din HAp sau Mg sunt biocompatibile și pot fi utilizate în acoperirea aliajelor de magneziu. Testele in vivo au evidențiat pentru loturile la care sacrificarea animalelor de laborator s-a făcut la o săptămână de la inserarea aliajului că proba introdusă a fost regăsită întotdeauna într-un volum de 50-80% din volumul inițial (50% din volumul inițial pentru probele de aliaj Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B și respectiv de 80% pentru probele Mg3Nd\_A\_CAHAp și Mg3Nd\_B\_CAHAp), în timp ce la probele recoltate la trei săptămâni au fost identificate fragmentate dispersate din proba inițială și o impregnare a particulelor de probă în structurile biologice adiacente fără a le afecta funcționalitatea. Pe lamele histologice studiate au putut fi identificate aspectele morfologice specifice unor tipuri celulare 124 variate de la celule mezenchimale nediferențiate și fibroblaști în țesutul de reparație la polimorfonucleare neutrofile, monocite și macrofage în apropierea fragmentelor de probe

➤ Studiile efectuate ne permite să concluzionăm că obiectivul principal al tezei de doctorat a fost îndeplinit, și anume a fost evaluat potențialul aliajelor Mg3Nd cu conținut diferit de Y (Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B), de a fi utilizabile la execuția de implanturi de osteosinteză. De asemenea, a fost demonstrat efectului pozitiv indus de acoperirea acestor aliaje cu acoperiri polimerice compozite cu particule de HAp, prin metoda de imersie, asupra caracteristicilor de biodegradare și biocompatibilitate ale acestora.

➤ Menționez faptul că partea experimentală a fost efectuată preponderent în laboratoarele din Departamentul Știința Materialelor Metalice și Metalurgie Fizică, Facultatea Știința și Ingineria Materialelor, Universitatea Națională de Știință și Tehnologie Politehnica din București, dar au fost efectuate determinări experimentale și în alte laboratoare. Testele de evaluare a biocompatibilității in vitro au fost efectuate la Universitatea de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa Iași, Facultatea de Bioinginerie Medicală, iar testele de evaluare a biocompatibilității in vivo la cadrul Biobazei Universității de Medicină și Farmacie Craiova.

### **C3. Perspective de dezvoltare ulterioară**

Prezenta teză de doctorat are perspective de dezvoltare ulterioară în mai multe direcții.

➤ Este posibilă extinderea studiilor privind funcționalitatea aliajelor de magneziu experimentale din sistemul Mg3Nd prin efectuarea unor teste mecanic complexe, pe eșantioane experimentale aflate în diferite stadii de degradare, ca urmare a imersiei în fluide biologice simulate;

➤ Pot fi realizate și alte acoperiri compozite cu bază de acetat de celuloză pentru funcționalizarea aliajelor de magneziu biodegradabile, prin adaosul unor factori de creștere sau medicamente cu rol antibacterian;

➤ Cercetările experimentale pot fi extinse și prin testarea biofuncționalității in vivo pe modele animale specifice, pentru evaluarea gradului de reparare a fracturilor osoase.

➤ Se asemenea, poate fi evaluat mai exact rolul jucat de acoperirile compozite în sensul evoluției suprafețelor degradate din punct de vedere al compușilor care se formează la suprafață și al osteointegrării, în cazul testelor de biofuncționalitate pe model animal.

## VALORIFICAREA REZULTATELOR CERCETĂRII

### Articole în reviste indexate și cotate ISI pe domeniul tezei de doctorat

1. **Streza, A.**; Antoniac, A.; Manescu, V.; Paltanea, G.; Robu, A.; Dura, H.; Verestiuc, L.; Stanica, E.; Voicu, S.I.; Antoniac, I.; et al. *Effect of Filler Types on Cellulose-Acetate-Based Composite Used as Coatings for Biodegradable Magnesium Implants for Trauma*. *Materials*, (Q1), 2023, 16, 554.

2. Fosca, M.; **Streza, A.**; Antoniac, V.I.; Vadalà G.; Rau, J.V.; *Ion-Doped Calcium Phosphate-Based Coatings with Antibacterial Properties*. *Journal of Functional Biomaterials*, (Q1), 2023, 14(5), 1-44.

3. Dragomir (Nicolescu), L.; Antoniac, V.I.; Manescu (Paltanea), V.; Antoniac, A.; Miculescu, M.; Trante, O.; **Streza, A.**; Fornă, D.A. *Microstructure and Corrosion Behaviour of Mg-Ca and Mg-Zn-Ag Alloys for Biodegradable Hard Tissue Implants*. *Crystals*, (Q2), 2023, 13(8), 1213.

4. **Streza, A.**; Antoniac, A.; Manescu (Paltanea), V.; Ciocoiu, R.; Cotruș, C.M.; Miculescu, M.; Miculescu, F.; Antoniac, V.I.; Fosca, M.; Rau, J.V.; Dura, H. *In vitro studies regarding the effect of cellulose acetate-based composite coatings on the functional properties of the biodegradable Mg<sub>3</sub>Nd alloys*, *Biomimetics*, 2023 (în proces de recenzare).

### Participări la conferințe internaționale:

E1. **Alexandru Streza**, Antoniac Aurora, Alina Robu, Diana Popescu, Voicu Stefan, Robert Ciocoiu, Antoniac Iulian - Characterization of the polylactic acid for magnesium alloys - 9th International Conference “Biomaterials, Tissue Engineering & Medical Devices” BIOMMEDD’2022, București, Romania

E2. **Alexandru Streza**, Iulian Antoniac, Voicu Stefan, Aurora Antoniac, Alina Robu, Robert Ciocoiu - Characterization of the cellulose acetate coatings for magnesium alloys - Biomaterials and Novel Technologies for Healthcare, BIOMAH 2022, Roma, Italia

E3. Andrei Scripcaru, Paul Dan Sirbu, Robert Ciocoiu, Ramona Turcu, Octavian Trante, Iulian Antoniac, Alina Robu, **Alexandru Streza** - A wetting study on the surface of stressed humerus fixation plates - 9th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2022, București, Romania

E4. Iulian Spânu, Aurora Antoniac, Alina Robu, Daniela Gheorghiiță, **Alexandru Streza**, Iulian Antoniac - Antimicrobial Copper - Based Coatings: Potential Biomedical Applications - 9th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2022, București, Romania

E5. Iulian Spânu, Aurora Antoniac, Alina Robu, **Alexandru Streza**, Iulian Antoniac Surface properties for the thermal spray copper-based coatings on different metallic alloys - International Conference BioReMed 2023, Sibiu, Romania 126

E6. **Alexandru Streza**, Aurora Antoniac, Stefan Ioan Voicu, Vasile Iulian Antoniac, Degradation and Biocompatibility Studies on Cellulose-Acetate-Based Composite used as Coatings for Biodegradable Magnesium Implants; prezentare orală; 6th International Conference on Functional Materials -ICFM 2023, March 18-21, 2023, Hammamet, Tunisia.

E7. **Alexandru Streza**, Iulian Antoniac, Veronica Păltânea, Robert Ciocoiu, Cosmin Nicolescu In vitro evaluation of corrosion behavior for two polymer-coated Mg-3Nd alloys - International Conference BioReMed 2023, Sibiu, Romania.

### Premii științifice internaționale

Best Poster Award – Characterization of the cellulose acetate coatings for magnesium alloys - Biomaterials and Novel Technologies for Healthcare, BIOMAH 2022, Roma, Italia.



## Indexul de figuri

Figura 1.1. Corelație între degradarea implanturilor biodegradabile și refacerea fracturilor (caz ideal)	2
Figura 1.2. Aliaje de magneziu binare și ternare, potențial utilizabile ca biomateriale	7
Figura 1.3. Diagramele de echilibru, binare ale sistemelor: (a) Mg-Al, (b) Mg-Ag, (c) Mg-Ca și (d) Mg-Zn [20,21]	8
Figura 1.4. a) Diagrama Pourbaix: echilibrul sistemului Mg – H <sub>2</sub> O în prezența H <sub>2</sub> la 25°C; b) Reprezentarea schematică a degradării Mg	11
Figura 1.5. Formarea micro-fisurilor în prezența tensiunilor mecanice	12
Figura 1.6. Reprezentare schematică a coroziune în puncte, în cazul unui aliaj de magneziu imersat într-un fluid fiziologic	12
Figura 1.7. Reprezentare schematică a coroziunii galvanice	13
Figura 1.8. Reprezentarea schematică a unor posibile interacțiuni între o suprafață de aliaj de Mg corodat și fluidul fiziologic simulat	14
Figura 1.9. Reprezentarea schematică a efectului diferitelor medii de testare asupra coroziunii magneziului și aliajelor sale	15
Figura 1.10. Corelații între rezultatelor testelor in vitro și in vivo în cazul unui aliaj Mg-Zn-Mn având suprafața modificată prin acoperire compozită (PLGA+MAO)	18
Figura 2.1. Metode de obținere a acoperirilor de conversie	20
Figura 2.2. Caracteristicile tensiunii curenți ale regiunii apropiate de electrod (A) și ale filmului dielectric de la suprafața electrodului (B) în timpul procesului de electroliză în plasmă	22
Figura 2.3. Ilustrare schematică a fenomenelor de descărcare în plasmă din timpul celor trei etape ale procesului PEO: (A) anodizarea convențională, (B) etapa de tranziție, (C) descărcarea în plasmă	23
Figura 2.4. Reprezentare schematică a unui echipament de implantare ionică	24
Figura 2.5. Principiul metodei PVD	25
Figura 2.6. Etapele procesului de imersie	27
Figura 2.7. Structura chimică a acoperirilor de polimer reprezentative pe aliaje de Mg	30
Figura 2.8. Producția de coroziune și eliberarea de hidrogen a aliajului AZ31 în SBF [150]	31
Figura 2.9. Reprezentare schematică a mecanismului de auto-degradare a acoperirilor compozite MAO/CS pe aliajele Mg <sub>4</sub> LiCa în soluție Hank [155]	32
Figura 2.10. Reprezentarea schematică a efectului straturilor de acoperire cu rol antibacterian	34
Figura 2.11. Reprezentarea schematică a mecanismului de ucidere a bacteriilor ca urmare a acoperirilor antibacteriene Ag-CP	36
Figura 3.1. Schema unui sistem de analiză termogravimetrică	45
Figura 3.2. Detașarea lamboului muco-periostal pentru realizarea cavității osoase receptoare	51
Figura 3.3. Expunerea calvariei pentru realizarea cavității osoase receptoare	51
Figura 3.4. Prepararea cavității cu ajutorul unei freze sferice	52
Figura 3.5. Aspectul cavității osoase receptoare realizate la nivelul calvariei	52
Figura 3.6. Fixarea probei de lamboul muco-periostal pe patul osos	52
Figura 3.7. Fixarea probei de lamboul muco-periostal pe patul osos	52
Figura 3.8. Aspectul suturii tegumentare	52
Figura 3.9. Aspectul unei probe de calvarie obținută după eutanasierea animalului de laborator	53

Figura 3.10. Decolarea tegumentului supraiacent zonei de inserare pentru evidențierea probei și a țesuturilor înconjurătoare	53
Figura 3.11. Probă secționată în vederea studiului histologic	54
Figura 4.1. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_A (10×)	58
Figura 4.2. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_A (50×)	58
Figura 4.3. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_A (10×) după atacul metalografic	59
Figura 4.4. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_A (50×) după atacul metalografic	59
Figura 4.5. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_B (10×)	60
Figura 4.6. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_B (50×)	60
Figura 4.7. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_B (10×) după atacul metalografic	61
Figura 4.8. Imaginile de microscopie optică pentru aliajul Mg3Nd_B (50×) după atacul metalografic	61
Figura 4.9. Imaginea SEM și spectrul EDS pentru aliajul Mg3Nd_A	62
Figura 4.10. Imaginea SEM și spectrul EDS pentru aliajul Mg3Nd_B	62
Figura 4.11. Imaginea SEM și spectrele EDS pe zonele corespunzătoare săgeților marcate în cazul probei din aliaj Mg3Nd_A	63
Figura 4.12. Imaginea SEM și spectrele EDS pe zonele corespunzătoare săgeților marcate în cazul probei din aliaj Mg3Nd_B	63
Figura 4.13. Analiza elementară EDS pe aliajul Mg3Nd_A	64
Figura 4.14. Analiza elementală EDS pe aliajul Mg3Nd_B	65
Figura 4.15. Difractograma XRD pentru aliajele Mg3Nd_A și Mg3Nd_B	66
Figura 5.1. Structura chimică a acetatului de celuloză [231]	68
Figura 5.2. Aspectul acoperirilor obținute	69
Figura 5.3. Difractogramele de raze X pentru particulele de HAp și magneziu	70
Figura 5.4. Spectrele FTIR pentru particulele de HAp și magneziu	71
Figura 5.6. Imagini ale caracterizării particulelor de Mg prin SEM, EDS și DLS	73
Figura 5.7. Caracterizarea acoperirilor: (a) CA, (b) CAHAp, (c) CAMg, (d) CAHApMg	75
Figura 5.8. Rezultatele determinărilor de SEM și EDS pe proba CA76	
Figura 5.9. Imagini SEM și mapping EDS pentru probele: (a) CAHAp, (b) CAMg,	77
Figura 5.10. Spectrele FTIR pentru acoperirile polimerice investigate	78
Figura 5.11. Imagini (50X) obținute pentru (a) proba de CA, (b) proba de CAHAp, (c) proba de CAMg și (d) proba de CAHApMg	79
Figura 5.12. Spectrele Raman ale (a) HAp, acoperirii CA și acoperirilor compozite; (b) CA, CAHAp, CAMg în domeniul 800-1200 cm <sup>-1</sup>	80
Figura 5.13. Curbele TGA pentru acoperirile CA, CAHAp, CAMg și CAHApMg	82
Figura 5.14. Rata de gonflare a acoperirilor în soluția de PBS	83
Figura 5.15. Profilul de degradare al acoperirilor în soluția de PBS	84
Figura 5.16. Valorile unghiului de contact și forma picăturii de apă pe acoperirile investigate	85
Figura 5.17. Viabilitatea celulară, măsurată prin testul MTT, prin contact indirect (extracte)	86
Figura 5.18. Viabilitatea celulară, măsurată prin testul MTT pentru contact direct	86

- Figura 5.19. Imagini de microscopie optică ale liniei celulare MG-63 în contact direct (24 și 72 de ore) cu probele experimentale 88
- Figura 5.20. Imagini de microscopie de fluorescență pentru acoperirile CAHAp și CAMg în contact cu culturile celulare timp de 72 de ore (colorant Calcein AM). Imagini obținute cu microscopul confocal cu fluorescență, Leica, Germania (obiectiv 10×) 89
- Figura 6.1. Tehnica de acoperire prin imersie – reprezentare schematică 92
- Figura 6.2. Schema procesului de obținere a probelor din aliaj de magneziu Mg3Nd acoperite 93
- Figura 6.3. Imagini SEM ale aliajelor Mg3Nd acoperite: (a) Mg3Nd\_A\_CAHAp; (b) Mg3Nd\_A\_CAMg; (c) Mg3Nd\_B\_CAHAp; (d) Mg3Nd\_B\_CAMg 94
- Figura 6.4. Dimensiunea straturilor de acoperire depuse pe suprafețele aliajului Mg3Nd, conform determinărilor SEM: (a) Mg3Nd\_A\_CAHAp; (b) Mg3Nd\_A\_CAMg; (c) Mg3Nd\_B\_CAHAp; (d) Mg3Nd\_B\_CAMg 95
- Figura 6.5. Forma picăturii și valorile medii obținute pentru probele experimentale. Pentru Mg3Nd\_A: (a) probă martor ( $70,37 \pm 2,52^\circ$ ); (b) Mg3Nd\_A\_CAHAp ( $64,23 \pm 1,19^\circ$ ); (c) Mg3Nd\_A\_CAMg ( $53,89 \pm 1,98^\circ$ ); pentru Mg3Nd\_B; (d) proba martor ( $85,91 \pm 2,02^\circ$ ); (e) Mg3Nd\_B\_CAHAp ( $57,21 \pm 1,95^\circ$ ); (f) Mg3Nd\_B\_CAMg ( $52,79 \pm 2,62^\circ$ ) 96
- Figura 6.6. Valorile unghiurilor de contact pentru aliajele Mg3Nd acoperite și neacoperite, corespunzătoare celor trei agenți de umectare: (a) apă; (b) diiodometan; (c) etilenglicol 97
- Figura 6.7. Valorile energiei libere de suprafață (SFE) ale probelor investigate, calculate cu metoda OWKR 98
- Figura 6.8. Valorile lucrului mecanic de adeziune pentru probele investigate 98  
(agent de umectare – apa) 98
- Figura 6.9. Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_A și parametrii determinați 99
- Figura 6.10. Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_B și parametrii determinați 99
- Figura 6.11. Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_A\_CAHAp și parametrii determinați 100
- Figura 6.12. Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_B\_CAHAp și parametrii determinați 100
- Figura 6.13. Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_A\_CAMg și parametrii determinați 100
- Figura 6.14. Profilul de rugozitate pentru proba Mg3Nd\_B\_CAMg și parametrii determinați 100
- Figura 6.15. Parametrii de rugozitate Ra și Rq pentru probele investigate 101
- Figura 6.16. Evoluția pierderii de masă a aliajelor Mg3Nd neacoperite și acoperite în soluția SBF 103
- Figura 6.17. Imagini SEM privind suprafața aliajului Mg3Nd\_A neacoperit și acoperit după determinarea pierderii de masă, în soluția SBF după 14 zile de imersie 104
- Figura 6.18. Imagini SEM privind suprafața aliajului Mg3Nd\_B neacoperit și acoperit după determinarea pierderii de masă, în soluția SBF după 14 zile de imersie 105
- Figura 6.19. Rata de eliberare a hidrogenului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B 107
- Figura 6.20. Variația pH-ului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd\_A și Mg3Nd\_B 107
- Figura 6.21. Rata de eliberare a hidrogenului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd acoperite 108

- Figura 6.22. Variația pH-ului, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd acoperite 108
- Figura 6.23. Rata de eliberare a hidrogenului pe zi, în soluția SBF, pentru aliajele Mg3Nd neacoperite și acoperite 109
- Figura 6.24. Curbele Tafel ale probelor neacoperite și acoperite: (a) Mg3Nd\_A; (b) Mg3Nd\_B 110
- Figura 6.25. Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_A 113
- Figura 6.26. Aspectul clinic după decolarea mucoasei pe un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_A 113
- Figura 6.27. Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_B 113
- Figura 6.28. Aspect al feței externe a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp 114
- Figura 6.29. Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 1S Mg3Nd\_B\_CAHAp 114
- Figura 6.30. Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 3S Mg3Nd\_A 114
- Figura 6.31. Aspect clinic al feței interne a calvariei în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 3S Mg3Nd\_B 114
- Figura 6.32. Aspect clinic în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 3S Mg3Nd\_A\_CAHAp 115
- Figura 6.33. Aspect clinic în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 3S Mg3Nd\_A\_CAHAp observat după decolarea planului tegumentar 115
- Figura 6.34. Aspectul clinic în cazul unei probe biologice recoltate de la un exemplar din lotul 3S Mg3Nd\_B\_HAp 115
- Figura 6.35. Aspect al probei de aliaj din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei după decolarea tegumentului (10x) 116
- Figura 6.36. Detaliu al unei probe de aliaj din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei (20x) 116
- Figura 6.37. Detaliu al unei probe de aliaj din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei în apropierea unui fir de sutură folosit pentru susținerea probei (40x) 116
- Figura 6.38. Aspect al probei de aliaj din lotul 1S Mg3Nd\_B\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei după decolarea tegumentului (10x) 116
- Figura 6.39. Detaliu al unei probe din lotul 1S Mg3Nd\_B\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei (20x) 117
- Figura 6.40. Detaliu al unei probe din lotul 1S Mg3Nd\_B\_CAHAp observat pe fața externă a calvariei (40x) 117
- Figura 6.41. Aspect de ansamblu al unei probe biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_A, 117
- Figura 6.42. Aspect al unei probe biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_B, Col HE 20x 118
- Figura 6.43. Detaliu al unei probe biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_B, Col HE 40x 118
- Figura 6.44. Aspect de ansamblu al unei probe biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp, Col HE 4x 118
- Figura 6.45. Detaliu al unei probe biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd\_A\_CAHAp, Col HE 20x 118

Figura 6.46. Aspect de ansamblu al unei probe biologice recoltate din lotul 1S Mg3Nd_B_CAHAp, Col HE 4x	119
Figura 6.47. Aspect de ansamblu al unei probe biologice recoltate din lotul 3S Mg3Nd_A, Col HE 10x	119
Figura 6.48. Detaliu al unei probe biologice recoltate din lotul 3S Mg3Nd_A, Col HE 40x	119
Figura 6.49. Aspect de detaliu al unei probe biologice recoltate din lotul 3S Mg3Nd_B, Col HE 40x	120
Figura 6.50. Aspect de ansamblu al unei probe biologice recoltate din lotul 3S Mg3Nd_A_CAHAp, Col HE 4x	120
Figura 6.51. Detaliu al unei probe biologice recoltate din lotul 3S Mg3Nd_A_CAHAp, Col HE 20x	120
Figura 6.52. Aspect al unei probe biologice recoltate din lotul 3S Mg3Nd_B_CAHAp, Col HE 4x	121

## **Indexul de tabele**

Tabelul 1.1. Proprietățile fizico-mecanice ale unor biomaterialelor	3
Tabelul 1.2. Utilizarea biomaterialelor în diferite domenii din industria medicală	4
Tabelul 1.3. Proprietățile fizico-mecanice ale magneziului	5
Tabelul 1.4. Compoziția chimică a unor aliaje reprezentative pe bază de magneziu	6
Tabelul 1.5. Compararea ratelor de coroziune în cadrul testelor in vivo și in vitro cu privire la aliajele din Mg	16
Tabelul 3.1. Metodele de caracterizare și echipamentele utilizate	42
Tabelul 3.2. Substanțele și cantitățile utilizate pentru prepararea a 500 ml PBS	46
Tabelul 3.3. Loturile experimentale utilizate în evaluarea biocompatibilității in vivo	51
Tabelul 4.1. Compoziția chimică a aliajelor Mg3Nd	56
Tabelul 5.1. Codificarea probelor experimentale	69
Tabelul 5.2. Valorile unghiului de contact	84
Tabelul 6.1. Parametrii procesului de coroziune a aliajelor Mg3Nd acoperite și neacoperite, obținuți ca urmare a testelor electrochimice	111



## Bibliografie selectivă

3. Prakasam, M.; Locs, J.; Salma-Ancane, K.; Loca, D.; Largeteau, A.; Berzina-Cimdina, L. Biodegradable Materials and Metallic Implants—A Review. *J Funct Biomater* **2017**, *8*, 44, doi:10.3390/jfb8040044.
15. Antoniac, I.; Miculescu, M.; Dinu, M. Metallurgical Characterization of Some Magnesium Alloys for Medical Applications. *Solid State Phenomena* **2012**, *188*, 109–113, doi:10.4028/www.scientific.net/SSP.188.109.
47. Esmaily, M.; Svensson, J.E.; Fajardo, S.; Birbilis, N.; Frankel, G.S.; Virtanen, S.; Arrabal, R.; Thomas, S.; Johansson, L.G. Fundamentals and Advances in Magnesium Alloy Corrosion. *Prog Mater Sci* **2017**, *89*, 92–193, doi:10.1016/j.pmatsci.2017.04.011
49. Xin, Y.; Hu, T.; Chu, P.K. Influence of Test Solutions on In Vitro Studies of Biomedical Magnesium Alloys. *J Electrochem Soc* **2010**, *157*, C238, doi:10.1149/1.3421651.
50. Antoniac, I.; Miculescu, M.; Mănescu (Păltânea), V.; Stere, A.; Quan, P.H.; Păltânea, G.; Robu, A.; Earar, K. Magnesium-Based Alloys Used in Orthopedic Surgery. *Materials* **2022**, *15*, 1148, doi:10.3390/ma15031148.
68. Burmester, A.; Willumeit-Römer, R.; Feyerabend, F. Behavior of Bone Cells in Contact with Magnesium Implant Material. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **2017**, *105*, 165–179, doi:10.1002/jbm.b.33542.
69. Fischer, J.; Pröfrock, D.; Hort, N.; Willumeit, R.; Feyerabend, F. Improved Cytotoxicity Testing of Magnesium Materials. *Materials Science and Engineering: B* **2011**, *176*, 830–834, doi:10.1016/j.mseb.2011.04.008.
81. Hornberger, H.; Virtanen, S.; Boccaccini, A.R. Biomedical Coatings on Magnesium Alloys – A Review. *Acta Biomater* **2012**, *8*, 2442–2455, doi:10.1016/j.actbio.2012.04.012.
142. Neacsu, P.; Staras, A.; Voicu, S.; Ionascu, I.; Soare, T.; Uzun, S.; Cojocar, V.; Pandele, A.; Croitoru, S.; Miculescu, F.; et al. Characterization and In Vitro and In Vivo Assessment of a Novel Cellulose Acetate-Coated Mg-Based Alloy for Orthopedic Applications. *Materials* **2017**, *10*, 686, doi:10.3390/ma10070686.
193. Heise, S.; Virtanen, S.; Boccaccini, A.R. Tackling Mg Alloy Corrosion by Natural Polymer Coatings—A Review. *J Biomed Mater Res A* **2016**, *104*, 2628–2641, doi:10.1002/jbm.a.35776.
218. Bairagi, D.; Mandal, S. A Comprehensive Review on Biocompatible Mg-Based Alloys as Temporary Orthopaedic Implants: Current Status, Challenges, and Future Prospects. *Journal of Magnesium and Alloys* **2022**, *10*, 627–669, doi:10.1016/j.jma.2021.09.005.
238. Quan, P.H.; Antoniac, I.; Miculescu, F.; Antoniac, A.; Manescu, V.; Robu, A.; Bița, A.I.; Miculescu, M.; Saceleanu, A.; Bodog, A.D.; et al. Fluoride Treatment and In Vitro Corrosion Behavior of Mg-Nd-Y-Zn-Zr Alloys Type. *Materials* **2022**, *15*, doi:10.3390/ma15020566
245. Abdal-hay, A.; Dewidar, M.; Lim, J.K. Biocorrosion Behavior and Cell Viability of Adhesive Polymer Coated Magnesium Based Alloys for Medical Implants. *Appl Surf Sci* **2012**, *261*, 536–546, doi:10.1016/j.apsusc.2012.08.051.
266. Mareci, D.; Bolat, G.; Izquierdo, J.; Crimu, C.; Munteanu, C.; Antoniac, I.; Souto, R.M. Electrochemical Characteristics of Bioresorbable Binary MgCa Alloys in Ringer’s Solution: Revealing the Impact of Local PH Distributions during in-Vitro Dissolution. *Materials Science and Engineering: C* **2016**, *60*, 402–410, doi:10.1016/j.msec.2015.11.069.
271. Zemková, M.; Minárik, P.; Dittrich, J.; Bohlen, J.; Král, R. Individual Effect of Y and Nd on the Microstructure Formation of Mg-Y-Nd Alloys Processed by Severe Plastic Deformation and Their Effect on the Subsequent Mechanical and Corrosion Properties. *Journal of Magnesium and Alloys* **2023**, *11*, 509–521, doi:10.1016/j.jma.2023.01.012.