
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Proiectarea, dezvoltarea și caracterizarea unor noi biomateriale compozite pentru o eficacitate sporită în aplicațiile biomedicale actuale și viitoare

Doctorand **Cristian LUJERDEAN**

Conducător de doctorat **Prof. dr. Daniel Severus
DEZMIREAN**



INTRODUCERE

Prezenta lucrare subliniază extinderea semnificativă a cercetării în domeniul biomaterialelor din ultimii ani și importanța lor în medicină, datorită proprietăților lor specifice și capacității de a stimula regenerarea țesuturilor și organelor. Biomaterialele sunt utilizate tot mai des în medicina modernă pentru îmbunătățirea calității vieții și longevității atât a oamenilor, cât și a animalelor.

Introducerea prezintă o gamă largă de biomateriale, inclusiv polimeri sintetici și naturali (polimeri), evidențiind rolul acestora în ingineria tisulară și medicina regenerativă. De asemenea, se remarcă avantajele și dezavantajele biopolimerilor și polimerilor sintetici și se pune accent pe potențialul acestora combinat sub formă de materiale compozite ce combină atât *naturalul* cât și *sinteticul*.

Scopul lucrării de doctorat este de a dezvolta două materiale compozite cu proprietăți avansate, combinând cel puțin un component organic cu unul anorganic într-o structură chimică unică pentru a maximiza efectul de sinergie. Explorarea unei astfel de strategii este de o importanță deosebită în domeniul biotehnologiei și are potențialul de a schimba modul în care noi, oamenii, ne confruntăm astăzi cu anumite probleme medicale, precum infecțiile bacteriene, cancerul epitelial și vindecarea rănilor cutanate. Această abordare ar putea duce la dezvoltarea unor noi tratamente mai eficiente și mai durabile pentru a îmbunătăți sănătatea publică.

Lucrarea intitulată "Proiectarea, dezvoltarea și caracterizarea unor noi biomateriale compozite pentru o eficacitate sporită în aplicațiile biomedicale actuale și viitoare" este structurată pe două părți distincte, prima fiind reprezentată de "STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII", care cuprinde două mari capitole, respectiv **Cap. 1.** „Material sintetic cu proprietăți terapeutice - BIOSTICLA” și **Cap. 2.** „(Bio)polimeri utilizați în sinteza de biomateriale (SS, SF și NaCMC)”. Cea de-a doua parte, intitulată "CONTRIBUȚIA PERSONALĂ", cuprinde șase capitole: **Cap. 3.** „Motivația și obiectivele cercetării”, **Cap. 4.** „Metodologia cercetării”, **Cap. 5.** „Rezultate și discuții privind structura și efectul citotoxic antitumoral al sticlelor fosfatice studiate”, **Cap. 6.** „Rezultate și discuții privind caracterizarea biomaterialelor compozite” **Cap. 7.** Concluzii generale și perspective de viitor” și **Cap. 8.** Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei”. În continuare va fi prezentat rezumatul acestor capitole. De asemenea, această teză de doctorat cuprinde un număr de 15 tabele, 63 de figuri și 351 de referințe bibliografice.

1. Material sintetic cu proprietăți terapeutice - BIOSTICLA

În cardul capitolului 1 se descrie pe scurt necesitatea dezvoltării sticlelor bioactive (BGs) în lumea reală și evoluția utilizării acestora în aplicațiile biomedicale, de la regenerarea țesutului osos până la promovarea și vindecarea rănilor pielii în domeniul ingineriei țesuturilor. Prima BG, denumită Bioglass® 45S5, a fost creată de profesorul Larry Hench în 1969, care a urmărit dezvoltarea unui material capabil să se lege de os fără a provoca reacții adverse din partea sistemului biologic (Hench, 2006). În anii '80, s-a descoperit că BGs pot interacționa și cu țesuturile conjunctive moi (Li et al., 2019). De atunci, au urmat progrese semnificative în ceea ce privește BG, incluzând noi metode de producție, utilizarea de ioni formatori/modificatori, precum și crearea de schele 3D pentru diverse aplicații în ingineria tisulară (Kondo et al., 2024; K. Zhang et al., 2022).

Un tip de sticlă bioactivă care se remarcă în cercetarea actuală datorită proprietăților sale excelente de biocompatibilitate și biodegradabilitate sunt sticlele fosfatice (PGs) (Monmaturapoj et al., 2022). Aceste sticle sunt de mare interes în domeniul biomedical pentru o varietate de aplicații. În plus, prin doparea lor cu diferite metale de tranziție (MT), acestea devin adevărate rezervoare de ioni biologici activi care pot fi eliberați în organismul țintă odată cu degradarea lor (Lapa et al., 2020).

2. (Bio)polimeri utilizați în sinteza de biomateriale (SS, SF și NaCMC)

Capitolul 2 subliniază importanța polimerilor naturali, cum ar fi mătasea (SS și SF), și a polimerilor sintetici, precum carboximetilceluloza de sodiu (NaCMC), în dezvoltarea materialelor compozite. De asemenea, acest capitol explorează cele mai recente cercetări în sinteza de noi materiale compozite bazate pe acești (bio)polimeri în domeniul biomedical, punând accent pe inovație în metodologia de sinteză, caracterizarea structurală avansată, precum și evaluarea performanțelor biologice ale acestor materiale.

Mătasea naturală, produsă de viermele de mătase *Bombyx Mori* L., este un biopolimer remarcabil datorită proprietăților sale structurale, mecanice și chimice deosebite. Viermele de mătase al dudului trece printr-un ciclu evolutiv complet, care cuprinde patru stadii: ou, larvă, crisalidă și fluture; având o viață adultă de aproximativ 10 zile. În timpul metamorfozei spre crisalidă, larvele produc coconi (gogoși de mătase naturale), alcătuiți dintr-un singur fir lung de mătase fiecare (Koh et al. 2015). Secreția mătăsii este realizată prin intermediul aparatului sericigen, care cuprinde două glande

sericigene: presa și filiera. Firul de mătase este compus din două glicoproteine principale: sericina și fibroina (Chirila et al., 2013).

Sericina din mătase (SS), este o proteină solubilă în apă care în trecut era considerată un produs secundar al industriei textile. Astăzi, SS, a căpătat o importanță deosebită în cercetarea științifică datorită proprietăților sale mecanice și biologice remarcabile. Printre acestea se amintim: capacitatea de reglare a umidității, rezistența la radiație UV, permeabilitate ridicată pentru oxigen, biocompatibilitate excelentă, efect de stimulare al creșterii celulare și efect mitogenic (Arango et al., 2021). La ora actuală, SS este recunoscut ca un material versatil în diverse aplicații, inclusiv în sinteza de noi biomateriale, ingineria tisulară și livrarea de medicamente, dezvoltarea de produse cosmetice, precum și în tratamentul rănilor acute (Munir et al. 2023). Pentru extracția SS din firul de mătase (proces numit degumificare) există mai multe tehnici: tratamente chimice, metode enzimatiche și tratamentul cu apă la temperatura de fierbere.

Fibroina din mătase (SF) reprezintă până la 60-80% din compoziția firului de mătase și este responsabilă pentru rezistența și durabilitatea acestuia. SF prezintă numeroase proprietăți remarcabile (biocompatibilitate, porozitate, biodegradabilitate și duritate mecanică etc.) care îl plasează în topul materialelor apreciate în ingineria tisulară. Mai mult, SF poate fi prelucrată sub diverse forme (produse) inclusiv: hidrogel, geluri, schele, fibre, bureți poroși sau pelicule (Ma et al., 2021). În plus față de asta, SF este deosebit de benefică pentru simularea microambientului pielii, eliminarea cicatricelor și ameliorarea dermatitei atopice. Aceste proprietăți au atras interesul cercetătorilor în ingineria țesuturilor pentru dezvoltarea pansamentelor destinate tratării rănilor (Yang et al., 2017). Cu toate acestea, acest biopolimer, necesită un proces complex pentru dizolvare și poate forma diverse morfologii de fibroină regenerată (RSF), în funcție de solvenții utilizați. Este insolubil în majoritatea solvenților, inclusiv apă, și necesită soluții speciale pentru a fi manipulat și depozitat pe termen lung. Metodele de procesare includ abordări chimice și enzimatiche, precum și tratamente avansate pentru a modifica structura SF pentru diverse aplicații în ingineria tisulară.

Carboximetilceluloza de sodiu (CMC sau NaCMC) este un polizaharid derivat din celuloză. Proprietățile sale, cum ar fi solubilitatea, puterea de legare și vâscozitatea sunt influențate de gradul de puritate și substituție al acesteia. NaCMC poate fi de grad alimentar, industrial sau farmaceutic, fiecare categorie având aplicații specifice (Rahman et al., 2021). De asemenea, se prezintă principalele metode de caracterizare a NaCMC. Materialele pe bază de NaCMC au o aplicabilitate extinsă, deoarece sunt biodegradabile, non-toxice, biocompatibile și rețin apa, având aplicații în agricultură, ambalarea alimentelor, textile, tratamentul apei, ingineria tisulară și bioprintare 3D (Tyagi & Thakur 2023). De asemenea, NaCMC are un potențial uriaș în ingineria tisulară ca matrice pentru creșterea celulară și țesuturilor noi (Zennifer et al., 2021).

NaCMC este utilizată în sinteza de pansamente noi, sisteme de eliberare controlată a medicamentelor și hidrogeluri pentru sinteza tisulară de novo (Moreira et al., 2024).

3. Motivația și obiectivele cercetării

Capitolul 3 surprinde scopul și obiectivele acestei teze de doctorat. Știința materialelor compozite a devenit crucială în studii multidisciplinare, datorită complexității elaboratei acestor materiale care combină elemente naturale și sintetice.

Scopul principal al investigațiilor din această teză de doctorat a constat în proiectarea, dezvoltarea și caracterizarea a două materiale compozite avansate cu proprietăți speciale, orientate către aplicații biomedicale. În atingerea scopului propus, au fost definite două obiective generale și anume:

- (i) Sinteza și caracterizarea a două sisteme oxidice vitroase dopate cu ioni ai metalelor tranziționale (MT).
- (ii) Dezvoltarea și caracterizarea a două materiale avansate cu potențiale aplicații medicale.

4. Metodologia cercetării

În cadrul acestui capitol sunt explicate în detaliu aspectele legate de: materialul biologic folosit în această cercetare; substanțele, reactivii și materialele prime utilizate în prepararea sticlelor și în sinteza materialelor compozite; metodele de extracție aplicate; echipamentele și tehnicile utilizate în caracterizarea acestora; software-ul utilizat în prelucrarea datelor, precum și o descriere detaliată a metodologiei de sinteză a celor două biomateriale compozite.

5. Rezultate și discuții privind structura și efectul citotoxic antitumoral al sticlelor fosfatice studiate

- Acest capitol prezintă rezultatele experimentelor privind structura sticlelor fosfatice a celor două sisteme oxidice sintetizate și evaluarea *in vitro* a proprietăților lor biologice, în special caracterul antitumoral. Pe scurt, proprietățile solubile a celor două sisteme fosfatice au fost testate în funcție de concentrația de dopaj adăugată. În acest scop, s-au folosit atât probe de sticle sub formă de bucăți de sticlă, cât și sticlă sub formă de pulbere. Rezultatele au arătat că viteza de dizolvare a sticlelor fosfatice a fost crescută în mediu apos (DIW) pentru ambele sisteme, mai puțin proba C8 cu $x = 16$ mol% CuO (Oosterbeek et al. 2021; Edathazhe & Shashikala 2018; Zhang & Cresswell 2016). Măsurările de pH efectuate în soluția de PBS au indicat o reactivitate imediată a sticlelor studiate, evidențiind o scădere a valorii pH-ului dependentă cu timpul de incubare. Acest fenomen fiind rezultatul unui schimb ionic (rapid) între ionii

modificatori de rețea atașați la unitățile NBOs și HO din soluția de PBS. De asemenea, au fost efectuate măsurători de densitate bazate pe principiul lui Arhimede, evidențiind rolul modificador al ionilor dopanți (V și Cu). În plus, în cazul sistemului $xV_2O_5 \cdot (100-x)[0.2CaF_2 \cdot 0.6P_2O_5 \cdot 0.2CaO]$ unde $0 \leq x \leq 16$ mol%, ionii de vanadiu au avut un rol dual, atât de formator cât și de modificador .

Analizele XRD au evidențiat structura vitroasă a sticlelor din cele două sisteme, în timp ce analizele FT-IR și RES au subliniat modificările importante din structura acestora. Aceste modificări structurale au fost mai evidente la concentrații mai mari de dopaj ($x \geq 4$ mol%)(Ferraa et al. 2021; Kowalski, Wyrzykowski et al. 2020). Cartografierea EDX a arătat structura omogenă a sticlelor, iar măsurătorile SEM-EDX au evidențiat numeroase fragmente de sticlă cu formă neregulată și o distribuție neuniformă a acestora, cel mai probabil ca efect al măcinării probelor de sticlă, confirmând totodată prezența elementelor constitutive conform rețetei de preparare.

Studiile *in vitro* privind efectul citotoxic antitumoral al sticlelor fosfatice s-au realizat folosind soluții apoase de probe de sticle, denumite în continuare tratamente pe bază de sticlă. Din fiecare sistem oxidic vitros s-a ales câte o singură probă de sticlă, alături de matricea, pentru evaluarea caracterului tumoral, astfel: pentru sistemul cu vanadiu s-au ales probele V7 și M, iar pentru sistemul cu cupru s-au ales probele C6 și M. Au fost testate mai multe linii celulare umane, atât canceroase cât și normale: linia celulară de melanom A-375 [A375] (CRL-1619™) și linia celulară de adenocarcinom de colon Caco-2 [Caco2] (HTB-37™) de la ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD, SUA), iar linia celulară de carcinom ovarian A2780 și linia normală celulară umană de fibroblaste Hs-27 de la ECACC (European Collection of Authenticated Cell Cultures, Salisbury, UK).

Pentru ambele sisteme oxidice vitroase, tratamentele pe bază de matrice (M) au prezentat un efect proliferativ asupra celulelor canceroase testate. În contrast, tratamentele pe bază de V7 și C6 (dopate cu ioni metalici) au demonstrat un efect antiproliferativ puternic, dependent de concentrația tratamentului. Având în vedere rezultatele obținute asupra liniilor tumorale, tratamentul pe bază de matrice (M) a fost testat și pe celulele normale de piele Hs-27 (fibroblaste), dovedindu-se a fi un material non-toxic, capabil să susțină atașarea și proliferarea acestor celule datorită naturii sale (Azizi et al., 2021).

6. Rezultate și discuții privind caracterizarea biomaterialelor compozite (hibride)

Capitolul 6, cuprinde informații privind sinteza și rezultatele caracterizării celor două biomateriale compozite (hidrogel și cremă) astfel:

În cazul hidrogelurilor compozite NaCMC/CA/BG, reticularea acestora a fost

confirmată folosind analiza FT-IR, prin prezența a două vârfuri distincte suplimentare la aproximativ 1716 cm^{-1} și 1743 cm^{-1} , ambele atribuite întinderii grupării carbonil ($\text{C}=\text{O}$), iar un alt vârf a fost observat la $\sim 1217\text{ cm}^{-1}$ asociat cu vibrația $\text{C}-\text{O}$ a grupării carboxilice nereacționare ($\text{C}-\text{O}$). Analiza SEM-EDX a evidențiat structura omogenă, poroasă și 3D a hidrogelurilor. Acești pori sunt cu adevărat importanți pentru ca apa să difuzeze ușor în rețeaua de hidrogel și să faciliteze migrarea celulelor (Ngadi et al. 2008). În plus, proprietățile mecanice ale mediului poros (texturii) sunt strâns legate de dimensiunea, forma, tipul și distribuția porilor, ceea ce îi fac o caracteristică vitală în aplicațiile de inginerie tisulară (Tang et al., 2014).

Studiile reologice au relevat un caracter newtonian, pseudoplastic și tixotropic pentru toate hidrogelurile analizate, indicând astfel o performanță injectabilă excelentă. De asemenea, s-a confirmat că aceste hidrogeluri pot fi extrudate fără probleme dintr-o seringă, fără a întâmpina obstrucții. Acest lucru demonstrează că hidrogelurile sunt injectabile, permițându-le să se conformeze îndeaproape marginilor leziunilor pielii și să minimizeze invazia țesuturilor înconjurătoare (Cui et al., 2022; Wang et al., 2019).

Activitatea antimicrobiană a hidrogelurilor preparate a fost investigată utilizând metoda difuzimetrică Kirby-Bauer împotriva a șase tulpini bacteriene, incluzând atât Gram-negative cât și Gram-pozitive. Rezultatele acestor teste au furnizat informații valoroase despre capacitatea hidrogelurilor de a inhiba creșterea și proliferarea acestor tulpini bacteriene, subliniind astfel caracterul lor antibacterian și potențialul lor ca biomateriale pentru diverse aplicații biomedicale. De menționat este faptul că singura bacterie care nu a prezentat nicio zonă de inhibiție, a fost *E. faecalis*.

În cazul cremelor compozite Gly/BG/SS, o parte din analize s-au concentrat pe caracterizarea individuală a sericinei din mătase (SS) și a biosticlei (BG). Studiile de spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR) au confirmat prezența grupărilor funcționale specifice fiecărei creme în funcție de natura acesteia. În plus, în cazul cremelor compozite au fost observate vârfuri de absorbție tipice grupărilor funcționale caracteristice proteinelor de mătase. În schimb, benzile caracteristice ale BG nu au putut fi observate în aceste spectre FT-IR, datorită concentrației reduse de BG utilizată (0,33% w/v), fiind astfel nedetectabilă în probele analizate. Măsurătorile de pH au relevat bioactivitatea cremelor prin scufundarea acestora într-un fluid corporal ce simulează plasma din sânge. În cadrul acestui experiment, scăderea pH-ului a fost direct proporțională cu timpul de incubare și s-a datorat procesului de degradare, care a implicat reacții între ionii eliberați din probă și ionii din soluția SBF. Cu toate acestea, modificările de pH cauzate de cremele compozite au rămas într-un interval sigur pentru corpul uman. Aceasta demonstrează că formulările compozite Gly/BG/SS au o bioactivitate echilibrată și pot fi utilizate ca produse de uz topic.

Studiile reologice au demonstrat că formulările compozite Gly/BG/SS au proprietăți ideale pentru aplicarea topică, oferind o consistență stabilă care previne

scurgerea. Aceste caracteristici susțin scopul aplicativ al cremelor, asigurând o utilizare eficientă pe pielea umană (Manian et al., 2022).

Testele antibacteriene nu au demonstrat caracterul antibacterian ale cremelor compozite împotriva celor două tulpini bacteriene testate (*S. aureus* și *E. coli*). Cu toate acestea, rezultatele sugerează posibilitatea unui efect bacteriostatic. Pentru a confirma această ipoteză, sunt necesare analize și teste *in vitro* suplimentare.

7. Concluzii generale și perspective de viitor

7.1. Concluzii generale

Activitatea de cercetare desfășurată în cadrul acestei lucrări de doctorat, a condus la următoarele concluzii generale privind:

I. SISTEMELE DE STICLĂ

- Au fost preparate și studiate două sisteme oxidice vitroase pornind de la o matrice fosfatică (**M**) cu sistemul $0.2\text{CaF}_2 \cdot 0.6\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 0.2\text{CaO}$:

$S_1 \rightarrow x\text{V}_2\text{O}_5 \cdot (100 - x) [0.2\text{CaF}_2 \cdot 0.6\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 0.2\text{CaO}]$ unde $0 \leq x \leq 16$ mol%;

$S_2 \rightarrow x\text{CuO} \cdot (100 - x) [0.2\text{CaF}_2 \cdot 0.6\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 0.2\text{CaO}]$ unde $0 \leq x \leq 16$ mol%.

- Analiza celor două sisteme fosfatice s-a realizat utilizând o varietate de tehnici, inclusiv: difracție cu raze X (XRD), spectroscopie în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR), rezonanță electronică de spin (RES), microscopie electronică cu scanare și analiză a dispersiei de energie (SEM-EDX), măsurători de pH, măsurători de densitate, teste de dizoluție, precum și evaluări *in vitro* privind caracterul antitumoral al acestora.

- Pentru cele două sisteme (S_1 și S_2), analiza XRD a confirmat prezența structurii vitroase. Testele de dizolvare au evidențiat solubilitatea lor crescută în DIW, cu excepția probei C8 din a sistemul S_2 ($x = 16\%$ mol).

- Măsurătorile SEM au confirmat structura omogenă a sticlelor din cele două sisteme și au arătat că acestea nu au suferit modificări semnificative odată cu creșterea concentrației ionilor dopanți.

- Cele două sisteme fosfatice (S_1 și S_2) au determinat o scădere a valorii de pH în soluția de PBS, dovedind astfel reactivitatea lor.

- Densitatea (ρ) sticlelor testate a crescut, iar volumul molar (V_m) a scăzut odată cu creșterea conținutului de dopant din structura vitroasă a celor două sisteme. Structura rețelei fosfatice fiind semnificativ afectată pentru ambele sisteme.

- Atât spectrele IR, măsurătorile de densitate, cât și cele RES ale sistemului fosfatic dopat cu vanadiu au pus în evidență rolul dual al V_2O_5 , acela de modificador de rețea la concentrații mici ($x < 1$ mol%) și formator de rețea la concentrații mari ($x \geq 1$ mol%).

- Pentru sistemul dopat cu CuO, spectrele FT-IR au evidențiat contribuția

oxidului de cupru asupra structurii sticlei, acesta acționând ca un modificator al rețelei determinând formarea de NBOs. Rezultatele EPR au indicat o sensibilitate foarte mare a ionilor Cu^{2+} la mediul local, în special pentru $x \geq 4 \text{ mol}\%$.

- Studiile *in vitro* de citotoxicitate ale probelor de sticlă V7 (din sistemul S_1) și respectiv C6 (din sistemul S_2) au demonstrat un efect antitumoral puternic asupra linilor celulare A375, A2780 și Caco-2 și respectiv A375. În contrast, tratamentul pe bază de matrice (M, fără dopant) a arătat o biocompatibilitate bună, cu o viabilitate de peste 70% pentru toate concentrațiile utilizate în cazul ambelor sisteme.

II. MATERIALE COMPOZITE

- Cele două materiale compozite au fost preparate folosind o metodă de sinteză ecologică.

- Caracterizarea materialelor compozite a implicat utilizarea unui set divers de tehnici analitice, inclusiv spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FT-IR), studii de reologie, testul MTT (bromură de 3-2,5-difenil-2H-tetrazoliu), microscopia electronică cu scanare și analiză a dispersiei de energie (SEM-EDX), teste de biodegradabilitate, precum și metoda difuzimetrică (Kirby-Bauer) pentru evaluarea proprietăților antibacteriene. Această abordare cuprinzătoare a permis o investigare detaliată a compoziției, structurii și proprietăților funcționale ale celor două materiale compozite.

HIDROGEL COMPOZIT

- Analiza FT-IR a confirmat reticularea hidrogelurilor compozite cu CA, arătând legarea grupărilor carboxilice ale CA la cele hidroxil ale celulozei.

- Rezultatele studiilor de reologie au arătat că toate hidrogelurile analizate au avut un comportament newtonian, pseudoplastic și tixotrop, indicând astfel o performanță injectabilă bună a acestora.

- Analiza SEM-EDX a demonstrat structură poroasă, omogenă și 3D a hidrogelurile compozite liofilizate. Reticularea hidrogelurilor cu CA a condus la compactarea structurii acestora. Analiza EDX a confirmat prezența tuturor elementelor conform rețetei de preparare.

- Activitatea antibacteriană a hidrogelurilor a fost testată împotriva tulpinilor bacteriene atât Gram-pozitive, cât și Gram-negative. Rezultatele au evidențiat caracterul antibacterian puternic a hidrogelurilor compozite NaCMC/CA/BG. *Enterococcus faecalis* a fost singura bacterie care a prezentat rezistență, inclusiv la antibiotic (GEN).

CREMĂ COMPOZITĂ

- În cadrul cremelor compozite, componenta sintetică (BG) a fost analizată

separat. Studiile de biocompatibilitate *in vitro* au demonstrat că materialul de BG este inofensiv din punct de vedere toxic și că are capacitatea de a susține atașarea și creșterea celulelor (Hs-27).

- Analiza FT-IT a arătat că între sericina din mătase extrasă și proba din comerț nu au existat diferențe semnificative. Totodată, spectrele FT-IR au confirmat prezența SS în structura cremelor compozite Gly/BG/SS.

- Testele de biodegradabilitate *in vitro* au arătat că modificările pH-ului soluției SBF cauzate de cremele compozite au rămas într-un interval sigur pentru corpul uman, ceea ce sugerează că acestea pot fi utilizate ca produs de uz topic.

- Studiile reologice au arătat că adăugarea de SS în structura glicerinei (matricea cremei) a crescut vâscozitatea și stabilitatea structurală a cremelor compozite. SS a fost componenta cheie în determinarea texturii cremei. De asemenea, cremele Gly/BG/SS au prezentat un comportament vâscoelastic solid.

- Testele antibacteriene nu au evidențiat caracterul antibacterian al cremelor compozite. Cu toate acestea, rezultatele obținute au sugerat posibilitatea existenței unui efect bacteriostatic. În acest sens, sunt necesare analize și teste *in vitro* suplimentare pentru a confirma această ipoteză.

7.2. Perspective de viitor

Cum orice cercetare poate fi îmbunătățită, acest lucru este valabil și în cazul prezentei lucrări. Pe baza rezultatelor obținute, cercetarea poate fi completată cu ușurință de studiile *in vivo* asupra celor două materiale compozite obținute. În acest sens, testele pe animale (iepuri sau șobolani) și chiar cele clinice ar fi cruciale în definirea rezultatelor finale. Totodată, la pachet cu experimentele *in vivo* vin și testele de histopatologie, care sunt de mare ajutor în evaluarea răspunsului tisular prin identificarea inflamațiilor, necrozei, regenerării și integrării materialelor la nivel celular. Aceste teste permit observarea detaliată a interacțiunilor la nivel celular și tisular, oferind astfel informații esențiale despre integrarea și eficiența pe termen lung a materialelor compozite studiate.

În cazul sistemelor fosfatice, o serie de teste suplimentare ar putea întări rezultatele obținute. Studiile *in vitro* suplimentare, cum ar fi spectrofotometria UV-Vis, ar putea furniza date valoroase privind absorbția, stabilitatea și starea ionilor metalici dopați (ionii de vanadiu și cupru). Aceste informații ar fi cruciale pentru înțelegerea și optimizarea comportamentului și performanțelor sticlelor fosfatice în aplicațiile propuse. De asemenea, testele antibacteriene, de la determinarea concentrației minime inhibitorii (CMI, IC50) până la teste difuzimetrice (Kirby-Bauer), ar putea evalua potențialul antimicrobian al acestor sisteme. Mai mult, tratamentele termice aplicate sticlelor fosfatice ar putea aduce noi proprietăți, deschizând astfel noi direcții în cercetare

Astfel, integrarea acestor studii, respectiv experimente suplimentare, poate furniza o imagine mai completă și mai detaliată atât asupra comportamentului sticlelor, cât și asupra eficacității aplicării materialelor compozite. Aceasta ar contribui semnificativ la avansarea cunoștințelor în domeniul biomaterialelor și biotehnologiei.

8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Activitatea de cercetare desfășurată în cadrul acestei teze bazată pe studiul literaturii de specialitate, activitățile experimentale extinse și utilizarea diverselor tehnici fizico-chimice pentru analiza structurii produselor sintetizate, a condus la următoarele elemente de originalitate:

- ✚ Au fost sintetizate două sisteme fosfatice dopate cu metale tranziționale (MT) care prezintă o compoziție unică la nivel mondial. Elementele componente ale matricei fosfatice și rapoartele molare ale acestora au fost alese astfel încât să prezinte un grad ridicat de solubilizare și, totodată, să fie compuse doar din macroelemente (Ca, P) și oligoelemente (F).

- ✚ Biosticlele, fiind foarte solubile în mediu apos ($\geq 90\%$), au permis crearea unui extract de BG pe bază de DIW, bazat pe o metodologie proprie inspirată din literatură. Ulterior, aceste soluții (extracte) apoase au fost testate *in vitro* pentru a evalua biocompatibilitatea și citotoxicitatea asupra celulelor canceroase A275, Caco-2, A2780 și celulelor normale Hs-27.

- ✚ Crearea unei matrice vitroase (proba M) cu proprietăți excelente de adeziune și susținere celulară, care s-a dovedit a avea un efect proliferativ atât asupra liniilor celulare tumorale, cât și asupra liniei normale de fibroblaste Hs-27.

- ✚ Realizarea efectivă a celor două materiale compozite (hidrogelul și crema compozită) reprezintă un element de originalitate. Totodată, obținerea și analiza acestora pe baza unui set de date experimentale referitoare la proprietățile mecanice și biologice este un alt element de originalitate

- ✚ Alte elemente de originalitate includ: stabilirea unui program personalizat de testare a materialelor obținute; dezvoltarea produselor (atât cele sintetice, cât și cele compozite) pe baza documentației studiate; întreaga cercetare efectuată pentru atingerea scopurilor propuse, precum și interpretarea rezultatelor obținute în urma testelor efectuate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Arango, M. C., Montoya, Y., Peresin, M. S., Bustamante, J., & Álvarez-López, C. (2021). Silk sericin as a biomaterial for tissue engineering: A review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 70(16), 1115–1129. <https://doi.org/10.1080/00914037.2020.1785454>
2. Azizi, L., Turkki, P., Huynh, N., Massera, J. M., & Hytönen, V. P. (2021). Surface Modification of Bioactive Glass Promotes Cell Attachment and Spreading. *ACS Omega*, 6(35), 22635–22642. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02669>
3. Chirila, T. V., Suzuki, S., Bray, L. J., Barnett, N. L., & Harkin, D. G. (2013). Evaluation of silk sericin as a biomaterial: In vitro growth of human corneal limbal epithelial cells on Bombyx mori sericin membranes. *Progress in Biomaterials*, 2(1), 14. <https://doi.org/10.1186/2194-0517-2-14>
4. Cui, L., Li, J., Guan, S., Zhang, K., Zhang, K., & Li, J. (2022). Injectable multifunctional CMC/HA-DA hydrogel for repairing skin injury. *Materials Today Bio*, 14, 100257. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100257>
5. Edathazhe, A. B., & Shashikala, H. D. (2018). Dissolution studies of Na₂O-BaO-CaO-P₂O₅ glasses in deionized water under semi-dynamic conditions for bioactive applications. *Materials Today: Proceedings*, 5(10), 21241–21247. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.06.524>
6. Ferraa, S., Barebita, H., Moutataouia, M., Nimour, A., Elbadaoui, A., Baach, B., & Guedira, T. (2021). Effect of barium oxide on structural features and thermal properties of vanadium phosphate glasses. *Chemical Physics Letters*, 765, 138304. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2020.138304>
7. Hench, L. L. (2006). The story of Bioglass®. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(11), 967–978. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0432-z>
8. Koh, L.-D., Cheng, Y., Teng, C.-P., Khin, Y.-W., Loh, X.-J., Tee, S.-Y., Low, M., Ye, E., Yu, H.-D., Zhang, Y.-W., & Han, M.-Y. (2015). Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. *Progress in Polymer Science*, 46, 86–110. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.02.001>
9. Kondo, T., Otake, K., Kakinuma, H., Sato, Y., Ambo, S., & Egusa, H. (2024). Zinc- and Fluoride-Releasing Bioactive Glass as a Novel Bone Substitute. *Journal of Dental Research*, 103(5), 526–535. <https://doi.org/10.1177/00220345241231772>
10. Kowalski, S., Wyrzykowski, D., & Inkielewicz-Stepniak, I. (2020). Molecular and Cellular Mechanisms of Cytotoxic Activity of Vanadium Compounds against Cancer Cells. *Molecules*, 25(7), 1757. <https://doi.org/10.3390/molecules25071757>
11. Lapa, A., Cresswell, M., Jackson, P., & Boccaccini, A. R. (2020). Phosphate glass fibres with therapeutic ions release capability – a review. *Advances in Applied Ceramics*, 119(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/17436753.2018.1564413>

12. Li, H., Wu, Z., Zhou, Y., & Chang, J. (2019). Bioglass for skin regeneration. In *Biomaterials for Skin Repair and Regeneration* (pp. 225–250). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102546-8.00008-X>
13. Ma, Y., Luo, Q., Ou, Y., Tang, Y., Zeng, W., Wang, H., Hu, J., & Xu, H. (2021). New insights into the proteins interacting with the promoters of silkworm fibroin genes. *Scientific Reports*, *11*(1), 15880. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95400-0>
14. Manian, M., Jain, P., Vora, D., & Banga, A. K. (2022). Formulation and Evaluation of the In Vitro Performance of Topical Dermatological Products Containing Diclofenac Sodium. *Pharmaceutics*, *14*(9), 1892. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091892>
15. Monmaturapoj, N., Uanlee, T., Nampuksa, K., Kasiwat, A., & Makornpan, C. (2022). Preparation and properties of porous biphasic calcium phosphate/bioactive glass composite scaffolds for biomedical applications. *Materials Today Communications*, *33*, 104993. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104993>
16. Moreira, T. D., Martins, V. B., Da Silva Júnior, A. H., Sayer, C., De Araújo, P. H. H., & Immich, A. P. S. (2024). New insights into biomaterials for wound dressings and care: Challenges and trends. *Progress in Organic Coatings*, *187*, 108118. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2023.108118>
17. Munir, F., Tahir, H. M., Ali, S., Ali, A., Tehreem, A., Zaidi, S. D. E. S., Adnan, M., & Ijaz, F. (2023). Characterization and Evaluation of Silk Sericin-Based Hydrogel: A Promising Biomaterial for Efficient Healing of Acute Wounds. *ACS Omega*, *8*(35), 32090–32098. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c04178>
18. Ngadi, M., Adedeji, A., & Kassama, L. (2008). Microstructural Changes During Frying of Foods. In S. Sahin & S. Gulum Sumnu (Eds.), *Advances in Deep-Fat Frying of Foods* (Vol. 7, pp. 169–200). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420055597.ch8>
19. Oosterbeek, R. N., Margaronis, K. I., Zhang, X. C., Best, S. M., & Cameron, R. E. (2021). Non-linear dissolution mechanisms of sodium calcium phosphate glasses as a function of pH in various aqueous media. *Journal of the European Ceramic Society*, *41*(1), 901–911. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2020.08.076>
20. Rahman, Md. S., Hasan, Md. S., Nitai, A. S., Nam, S., Karmakar, A. K., Ahsan, Md. S., Shiddiky, M. J. A., & Ahmed, M. B. (2021). Recent Developments of Carboxymethyl Cellulose. *Polymers*, *13*(8), 1345. <https://doi.org/10.3390/polym13081345>
21. Tang, H., Chen, H., Duan, B., Lu, A., & Zhang, L. (2014). Swelling behaviors of superabsorbent chitin/carboxymethylcellulose hydrogels. *Journal of Materials Science*, *49*(5), 2235–2242. <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7918-0>
22. Tyagi, V., & Thakur, A. (2023). Applications of biodegradable carboxymethyl cellulose-based composites. *Results in Materials*, *20*, 100481. <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2023.100481>
23. Wang, C., Wang, M., Xu, T., Zhang, X., Lin, C., Gao, W., Xu, H., Lei, B., & Mao, C. (2019). Engineering Bioactive Self-Healing Antibacterial Exosomes Hydrogel for Promoting Chronic

- Diabetic Wound Healing and Complete Skin Regeneration. *Theranostics*, 9(1), 65–76. <https://doi.org/10.7150/thno.29766>
24. Yang, X., Fan, L., Ma, L., Wang, Y., Lin, S., Yu, F., Pan, X., Luo, G., Zhang, D., & Wang, H. (2017). Green electrospun Manuka honey/silk fibroin fibrous matrices as potential wound dressing. *Materials & Design*, 119, 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.01.023>
25. Zennifer, A., Senthilvelan, P., Sethuraman, S., & Sundaramurthi, D. (2021). Key advances of carboxymethyl cellulose in tissue engineering & 3D bioprinting applications. *Carbohydrate Polymers*, 256, 117561. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117561>
26. Zhang, K., Chai, B., Ji, H., Chen, L., Ma, Y., Zhu, L., Xu, J., Wu, Y., Lan, Y., Li, H., Feng, Z., Xiao, J., Zhang, H., & Xu, K. (2022). Bioglass promotes wound healing by inhibiting endothelial cell pyroptosis through regulation of the connexin 43/reactive oxygen species (ROS) signaling pathway. *Laboratory Investigation*, 102(1), 90–101. <https://doi.org/10.1038/s41374-021-00675-6>
27. Zhang, X., & Cresswell, M. (Eds.). (2016). Inorganic Controlled Release Technology Materials and Concepts for Advanced Drug Formulation. In *Inorganic Controlled Release Technology* (p. ix). Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-099991-3.09994-4>