

UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
FACULTATEA DE FIZICĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE FIZICĂ

Teză de doctorat

**Compozite pe bază de biopolimeri pentru regenerarea
țesuturilor moi la șobolani cu boală indusă experimental**

Conducători de doctorat:

Prof. dr. Lucian BAIA
Prof. dr. Ionel PAPUC

Student doctorand:

Elena-Alexandra FERARU

Cluj-Napoca

2026

Table of Contents

1. Introducere	1
1.1 Scopul tezei de doctorat.....	2
1.2 Obiectivele tezei de doctorat	2
1.3 Structura tezei de doctorat	4
2. Sinteza și caracterizarea materialelor.....	5
2.1 Sinteza compozitelor Alg-xGA (x=0; 10; 16; 26%).....	5
2.2 Sinteza compozitelor AlgGA-xCeO ₂ (x=0; 0.3; 0.65; 1%).....	6
2.3 Sinteza compozitelor BG-Alg-MCC și BGAuSP-Alg-MCC	6
2.4 Spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR).....	7
2.5 Spectroscopie Raman.....	7
2.6 Spectroscopie de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) în Stare Solidă.....	7
2.7 Difracția de raze X (XRD).....	8
2.8 Analiza termogravimetrică (TGA) și analiza termică diferențială (DTA).....	8
2.9 Microscopie electronică de transmisie (TEM)	8
2.10 Spectroscopie de Reflectanță Difuză UV-Vis (UV-Vis DRS).....	8
2.11 Potențialul Zeta	9
2.12 Microscopie Electronică cu Scanare (SEM)	9
2.13 Spectrometrie de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES).....	9
2.14 Porozitate.....	9
2.15 Degradare și mineralizare in vitro.....	10
2.16 Îngrijirea și etica animalelor.....	11
2.17 Protocolul chirurgical	11
3. Rezultate și discuții	12
3.1 Criogeluri polizaharidice anionice: interacțiunea și comportamentul <i>in vitro</i> al compozitelor alginat-gumă arabică	12
3.2 Efectul nanoceriei asupra mecanismului de reticulare alginat-gumă arabică și comportamentului in vitro ca pansament pentru răni	18

3.3 Regenerarea mușchilor scheletici folosind compozite bioactive sticlă-alginat-celuloză	24
Concluzii finale și contribuții personale	31
Activitate științifică	34
Lista lucrărilor legate de teza de doctorat	34
Alte lucrări:	34
Indexate ISI:	34
Publicații non-ISI:	35
Conferințe	35
Internaționale:	35
Premii:.....	36
Bibliografie:.....	36

1. Introducere

Consecințele pe care le aduc rănilile acute sau cronice asupra organismului au efecte nedorite atât pe termen scurt și mediu, cât și pe termen lung. Fie că este vorba de înlocuirea unei părți afectate, îmbunătățirea anumitor funcții, tratarea anomaliilor sau remediarea unor aspecte estetice, ingineria tisulară are un rol fundamental în cercetarea și dezvoltarea de noi abordări necesare în gestionarea rănililor. Accentul se pune pe materiale cu proprietăți fizice, chimice și biologice care pot fi ușor manipulate, astfel încât să se apropie cât mai mult de țesutul nativ. În contextul actual al cercetării, biomaterialele s-au remarcat printr-o interacțiune material-țesut, având avantajul de a stimula procesul de regenerare în limita unei toxicități minime.

Multe dintre biomateriale, cum ar fi bioceramicele, sticlele bioactive, polimerii, hidrogelurile și compozitele, au fost deja investigate cu succes în numeroase aplicații care implică vindecarea țesuturilor dure, în special a țesutului osos [1–3]. A existat un interes și o provocare constantă în ceea ce privește introducerea biomaterialelor pentru aplicații de reconstrucție a țesuturilor moi. Studiile au arătat că polimerii, bioceramicele sau nanoparticulele metalice au potențial în aplicații care implică regenerarea sau gestionarea rănililor în țesuturile pielii, cardiace, pulmonare, musculare sau nervoase. Însă domeniul este încă în plină dezvoltare, deoarece, în comparație cu țesutul dur, țesuturile moi necesită proprietăți biochimice și biomecanice diferite, ceea ce necesită noi abordări în sinteza și caracterizarea viitorilor înlocuitori de țesuturi.

Pierderea musculară volumetrică este o formă severă de traumatism muscular scheletic, caracterizată prin pierderea unei cantități semnificative de țesut muscular, care depășește capacitatea naturală de regenerare a organismului. Acest tip de leziune nu poate fi reparat eficient doar prin mecanisme fiziologice normale, deoarece afectează nu numai fibrele

musculare, ci și matricea extracelulară, rețeaua vasculară și inervația locală, ducând la formarea de cicatrici extinse și pierderi funcționale ireversibile. Progresele recente în domeniul biomaterialelor pentru tratamentul pierderii musculare volumetrice au fost evidențiate prin dezvoltarea de structuri biomimetice din materiale naturale sau sintetice biodegradabile, bioprintare 3D sau introducerea factorilor de creștere [4–6].

Acest studiu oferă un model animal reproductibil pentru investigarea pierderii musculare volumetrice și evidențiază potențialul terapeutic al unei abordări de medicină regenerativă bazate pe structuri biopolimerice. Implantarea țintită a structurilor compozite în interiorul defectului a fost asociată cu remodelarea constructivă a acestora, inclusiv formarea de țesut muscular scheletic specific locului afectat.

1.1 Scopul tezei de doctorat

Scopul acestei teze a fost axat pe sinteza de compozite biopolimerice cu aplicații în regenerarea ingineriei țesuturilor moi. În acest sens, au fost selectați trei biopolimeri – alginat de sodiu, gumă arabică și celuloză microcristalină. Pentru a obține materiale eficiente pentru aplicații de inginerie regenerativă, sistemele biopolimerice au fost modificate cu agenți anorganici, și anume, nanoparticule sferice de oxid de ceriu (CeO_2 NPs), sticlă bioactivă ($\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ (BG)) și sticlă bioactivă dopată cu nanoparticule de aur (BGAuSP). Caracteristicile structurale și morfologice ale materialelor sintetizate au fost investigate în detaliu prin tehnici specifice.

1.2 Obiectivele tezei de doctorat

a. Utilizarea alginatului de sodiu și a gumei arabice ca materiale principale, în care ulterior nanoparticulele de CeO_2 au fost introduse în matricea polimerică pentru a obține criogeluri poroase.

o optimizarea raportului dintre cele două polizaharide

o sinteza solvotermală a nanoparticulelor de CeO_2

- o prepararea gelurilor, utilizând trei concentrații de nanoparticule de CeO₂
 - o obținerea de structuri poroase prin procesul de liofilizare în două etape
 - o reticulare externă a matricei în prezența cationilor Ca²⁺
 - o evaluare *in vitro* pentru certificarea bioactivității și eliminarea riscului de formare a compușilor toxici
 - o caracterizarea proprietăților morfologice, structurale, termice, a porozității, a bioactivității *in vitro*, a biodegradării și a raportului de umflare
- b. Utilizarea alginatului de sodiu și a celulozei microcristaline ca materiale principale, în care ulterior BG și BGAuSP au fost introduse în matricea polimerică pentru a obține criogeluri poroase.
- optimizarea raportului dintre cei doi biopolimeri
 - sinteza prin metoda sol-gel a BG și BGAuSP
 - prepararea gelurilor, utilizând diferite concentrații de agenți anorganici
 - reticulare internă a matricei în prezența carbonatului de calciu (CaCO₃) și a acidului D-(+)-gluconic δ-lactonei (GDL)
 - obținerea de structuri poroase prin procesul de liofilizare
 - evaluare *in vitro* pentru certificarea bioactivității și eliminarea riscului de formare a compușilor toxici
 - caracterizarea proprietăților morfologice, structurale, termice, a porozității, a bioactivității *in vitro*, a biodegradării și a raportului de umflare

c. Evaluare *in vivo* pe model animal pentru a evalua eficacitatea și siguranța biomaterialelor polimerice și pentru a investiga performanța compozitelor în promovarea regenerării în cazul pierderii musculare volumetrice.

o alegerea modelului animal în funcție de relevanța și compatibilitatea acestuia cu materialele studiate

o evidențierea tuturor proprietăților demonstrate la obiectivul nr. 1, *in vivo* prin implantarea de structuri poroase

o evidențierea modificărilor aduse modelului animal prin examinări histopatologice

1.3 Structura tezei de doctorat

Prezenta teză de doctorat, intitulată „Compozite pe bază de biopolimeri pentru regenerarea țesuturilor moi la șobolani cu boală indusă experimental”, abordează sinteza și caracterizarea matricilor polimerice pe bază de biopolimeri (Alg, GA, MCC) în care au fost încorporate nanoparticule de oxid (CeO_2) și constituenți bioactivi (BG și BGAu) pentru a evalua comportamentul *in vitro* și *in vivo*, cu scopul utilizării în aplicații de inginerie a țesuturilor moi. Teza de doctorat este structurată în 4 capitole, fiecare cu subcapitole aferente și concluziile acestora, un capitol dedicat concluziilor generale și perspectivelor viitoare de cercetare, referințe bibliografice, o listă de lucrări publicate, diseminarea rezultatelor la evenimente științifice naționale și internaționale și premiile obținute.

Capitolul 1 prezintă pe scurt anatomia mușchilor, care sunt compuși din fibre musculare multinucleate, celulele satelit (responsabile de regenerare), matrice extracelulară și o rețea vasculară și neuronală complexă. Urmează o introducere în ingineria țesuturilor musculare, cu accent pe biomaterialele utilizate care își propun să imite componente structurale și funcționale și să ofere suport atât mecanic, cât și biologic pentru regenerare.

Capitolul 2 evidențiază stadiul actual al cunoștințelor în domeniul biopolimerilor și compozitelor utilizate în regenerarea musculară, precum și obiectivele generale și specifice ale acestei lucrări.

Capitolul 3 prezintă contribuțiile științifice, sub formă de articole științifice, împărțite în 3 subcapitole, fiecare detaliind investigațiile *in vitro* și *in vivo* utilizate pentru investigarea compozitelor propuse în capitolul anterior.

Capitolul 4 este adresat concluziilor finale și perspectivelor, precum și contribuției personale la dezvoltarea tezei de doctorat.

2. Sinteza și caracterizarea materialelor

2.1 Sinteza compozitelor Alg-xGA (x=0; 10; 16; 26%)

Criogelurile poroase au fost preparate în urma a două cicluri de liofilizare, fiecare cu o durată de 24 de ore. Liofilizarea a fost efectuată la $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ utilizând un liofilizator în vid (BK-FD seria 10, Biobase Biodustry, Shandong Co., Ltd., Jinan, China). Înainte de fiecare ciclu de liofilizare, probele au fost congelate la $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ timp de 24 de ore. Procesul de preparare a compozitelor s-a bazat în întregime pe metoda de reticulare ionică. Pe scurt, o soluție de alginat de sodiu (g/v) a fost preparată prin dizolvarea pulberii în 8 mL de apă ultrapură timp de 1 oră sub agitare mecanică pentru a dizolva complet alginatul. Pentru compozitele alginat-gumă arabică, soluțiile de gumă arabică cu rapoarte de greutate 10 g/v, 16 g/v și 26 g/v (Alg-10GA, Alg-16GA și respectiv Alg-26GA) au fost adăugate la amestecul de alginat și agitate timp de 1 oră până când soluția a devenit vâscoasă și omogenă. Înainte de primul ciclu de liofilizare, compozitele obținute au fost turnate ușor într-o placă cu 96 de godeuri și refrigerate timp de 24 de ore. Ulterior, acestea au fost imersate într-o soluție de CaCl_2 , care a fost utilizată ca agent de reticulare, timp de 4 ore. După aceea, probele au fost clătite ușor cu apă ultrapură și depozitate la congelator înainte de repetarea procesului de liofilizare.

2.2 Sinteza compozitelor AlgGA-xCeO₂ (x=0; 0.3; 0.65; 1%)

Formarea hidrogelului și includerea nanoparticulelor cu o concentrație de 0; 0,3; 0,65 și 1% g, abreviat ca AlgGA; AlgGA-0,3CeO₂; AlgGA-0,65CeO₂; AlgGA-1CeO₂, a fost obținută prin metoda reticulării ionice, în două etape de liofilizare. Concentrația compozitelor a fost de 3% g/g, raportul în greutate alginat:gumă arabică fiind de 85:15. Soluțiile de alginat și gumă arabică au fost preparate separat prin dizolvarea pulberilor în apă ultrapură sub agitare magnetică timp de 1 oră la temperatura camerei. Simultan, fiecare concentrație de CeO₂NPs a fost preparată ca o soluție coloidală în 1 mL de apă ultrapură și ultrasonicată timp de 1 oră. După dizolvarea completă, cele două polizaharide au fost amestecate, apoi s-au adăugat CeO₂NPs, iar agitarea magnetică a fost menținută timp de încă 30 de minute până la obținerea unei soluții vâscoase omogene. Gelul rezultat a fost imediat turnat, prin pipetare, într-o placă cu 96 de godeuri și refrigerat timp de 24 de ore la -4 °C. După congelarea completă, probele au fost liofilizate timp de 24 de ore. Pentru a stabili matricea polimerică, criogelurile poroase au fost îndepărtate de pe placa cu godeuri și reticulate ionic prin imersie în soluție de CaCl₂ (4%) timp de 4 ore. În etapa finală, probele au fost spălate ușor cu apă Milli-Q, congelate și apoi liofilizate a doua oară.

2.3 Sinteza compozitelor BG-Alg-MCC și BGAuSP-Alg-MCC

Sinteza compozitului s-a bazat pe metoda de reticulare ionică. Soluțiile de alginat de sodiu (Na-Alg) și polimer MCC 1,5% (g/v) au fost dizolvate în apă ultrapură (25 mL) sub agitare continuă. La soluția de alginat-celuloză s-au adăugat 5 mL de carbonat de calciu (CaCO₃) cu o concentrație de 112,5 mM. Amestecul a fost agitat continuu până la omogenizare (30 min). Sticlele bioactive (BG și BGAuSP) au fost ultrasonicate timp de 1 oră pentru a obține o dimensiune uniformă a particulelor, apoi au fost adăugate la soluția polimerică. Pentru a iniția ionizarea CaCO₃, s-au adăugat la amestec 5 mL de soluție de acid D-(+)-gluconic δ-lactonă (GDL), iar soluția a fost turnată imediat în placa cu godeuri. Raportul de

greutate al compozitului Alg-MCC a fost de 1:0,15. Ca referință, a fost preparată o probă de alginat pur (Alg). Sticlele bioactive au fost adăugate la amestecul polimeric într-un raport de greutate de 12% în greutate și prescurtate ca BG-Alg-MCC și BGAuSP-Alg-MCC.

2.4 Spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR)

Spectrele de absorbție FT-IR au fost înregistrate în configurație de reflexie cu un spectrometru Jasco 6600 (Jasco, Tokyo, Japonia) utilizând binecunoscuta tehnică de pelete KBr și următorii parametri: temperatura camerei, intervalul spectral 400–4000 cm^{-1} și rezoluția spectrală de 4 cm^{-1} .

2.5 Spectroscopie Raman

Spectrele Raman au fost înregistrate cu un spectrometru Raman confocal multilaser Renishaw prin intermediul unui spectrometru Reflex Raman, echipat cu un detector CCD RenCam și o rețea de 1800 linii/mm. Spectrele Raman au fost colectate utilizând un obiectiv de 0,9 NA cu mărire de 100×. Ca sursă de excitație, s-a utilizat laserul de 532 nm. Rezoluția spectrală a fost de aproximativ 4 cm^{-1} .

2.6 Spectroscopie de Rezonanță Magnetică Nucleară (RMN) în Stare Solidă

Spectrele RMN ^1H în stare solidă au fost înregistrate în condiții de rotație cu unghi magic (MAS) cu un spectrometru Bruker Avance III 500 cu diametru mare (WB) la un câmp magnetic aplicat de 11,7 Tesla. Spectrele MAS ^1H libere cu benzi laterale de rotație ale tranziției centrale au fost obținute prin angajarea unui rotor/suport de probă cu diametrul de 1,3 mm, rotit la o frecvență de 50 kHz. Deplasările chimice RMN ^1H MAS au fost raportate la adamantan în stare solidă (1,8 ppm). S-a utilizat o secvență de impulsuri unice și s-au acumulat un total de 8 scanări cu o întârziere de relaxare de 5 s. Impulsul de 90 de grade a fost obținut după o intensitate de 1,25 μs și un nivel de putere de 31,62 W. Domeniul temporal a fost setat la 2048.

2.7 Difracția de raze X (XRD)

Modelele XRD au fost obținute din substanțe pure și compozite folosind radiații $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) și filtru Ni (difractometru Shimadzu XRD 6000, Kyoto, Japonia). Analizele XRD au fost efectuate în intervalul $2\theta=10^\circ\text{--}80^\circ$ cu o viteză de scanare de $2^\circ/\text{min}$.

2.8 Analiza termogravimetrică (TGA) și analiza termică diferențială (DTA)

Analizele termogravimetrice au fost efectuate cu instrumentul Shimadzu DTG-60H (Shimadzu, Japonia), care a înregistrat curbele DTA ca diferență dintre temperatura probei de analizat și proba standard de alumină, iar curbele TG ca o modificare a greutatei probei în funcție de aceasta. Toate măsurătorile au fost înregistrate într-o atmosferă de N_2 cu un debit de $70 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Au fost adoptate viteze de încălzire de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, cu un interval de temperatură între $25\text{--}600^\circ\text{C}$, utilizând creuzete de alumină pentru probele cu mase de aproximativ 9 mg.

2.9 Microscopie electronică de transmisie (TEM)

Forma și morfologia nanoparticulelor au fost observate cu TEM. Micrografiile au fost analizate cu ajutorul unui microscop electronic de transmisie de înaltă rezoluție FEI Technai G2 F20 (instrument Philips CM 10, Amsterdam, Olanda) echipat cu catod de 200 kV. Imaginile obținute au fost interpretate cu software-ul ImageJ.

2.10 Spectroscopie de Reflectanță Difuză UV-Vis (UV-Vis DRS)

Măsurătorile UV-Vis DRS au fost efectuate pe un spectrofotometru Jasco-V780 UV-Vis (Tokyo, Japonia) echipat cu o sferă integrativă ILV-724, în intervalul de lungimi de undă de la 190 la 800 nm.

2.11 Potențialul Zeta

Un analizor de particule Malvern Nano ZS90 Zetasizer echipat cu un laser HeNe (633 nm, 5 mW) a fost utilizat pentru a examina potențialul zeta al probelor într-o suspensie apoasă. Fiecare investigație a constat în cinci seturi de 30 de măsurători, toate efectuate la un unghi de împrăștiere de 90 de grade și la o temperatură de 25 C°. Nivelul de atenuare a laserului pentru fiecare măsurare a fost ales automat de software.

2.12 Microscopie Electronică cu Scanare (SEM)

Topografia criogelurilor a fost examinată folosind SEM. Toate micrografiile au fost analizate cu un microscop cu emisie în câmp rece Hitachi S-4700 Tip II (Tokyo, Japonia) care funcționează la o tensiune de accelerație de 10 kV.

2.13 Spectrometrie de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES)

Conținutul de Ce, Ca și P a fost determinat utilizând un spectrometru de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES) Optima 5300 DV (Perkin-Elmer, Woodbridge, ON, Canada). Aproximativ 65 mg de probă utilizate în raport de (HCl 37%: HNO₃ 65%, 3:1, v:v) într-un vas închis de politetrafluoroetilenă folosind un sistem de microunde Speedwave Xpert (Berghof, Eningen, Germania). Probele au fost filtrate și diluate la 20 mL cu apă ultrapură (Elga PURELAB flex, Veolia, Wycombe, Marea Britanie).

2.14 Porozitate

Porozitatea probelor a fost calculată folosind teoria densității (Ecuația 2.11.1) și metoda deplasării lichidelor (Ecuația 2.11.2). Metoda teoriei densității implică calcularea a două valori pentru densitatea compozitelor, densitatea aparentă, fiind definită ca raportul dintre masa reală și volumul compozitelor, iar a doua reprezentând densitatea teoretică (Ecuația 2.11.3) a materiilor prime. Volumul a fost calculat ca dimensiunile medii ale celor trei probe uscate.

$$P = \left(1 - \frac{\rho_{\text{apparent}}}{\rho_{\text{theoretic}}}\right) \times 100(\%) \quad (2.11.1)$$

$$\rho_{\text{apparent}} = \frac{w}{V} \quad (2.11.2)$$

$$\rho_{\text{theoretic}} = \frac{1}{\frac{w_{GA}}{\rho_{GA}} + \frac{w_{Alg}}{\rho_{Alg}}} \quad (2.11.3)$$

unde valorile Q_{GA} și Q_{Alg} au fost obținute de la furnizor.

Pentru metoda de deplasare a lichidului [7] s-a utilizat etanol ca lichid de deplasare, iar procentul de porozitate a fost calculat conform următoarei formule:

$$P(\%) = \left[\frac{W_1 - W_0}{\rho_{EtOH} \times V_0}\right] \times 100 \quad (2.11.4)$$

unde W_0 este greutatea uscată a compozitului, W_1 este greutatea compozitului saturat cu etanol, ρ_{EtOH} este densitatea etanolului, iar V_0 este volumul inițial al compozitului.

2.15 Degradare și mineralizare *in vitro*

Experimentele controlate de degradare hidrolitică *in vitro* au fost efectuate prin imersarea structurilor polimerice cilindrice (lungime = 8 mm și diametru = 5 mm) în 10 mL de soluție SBF la pH 7,4 și o temperatură de 37 °C. La intervale regulate de timp (1, 3, 5, 7 și 14 zile), probele au fost prelevate și clătite cu apă ultrapură. După cântărire, acestea au fost uscate timp de 48 de ore la 37 °C. Absorbția de apă (Ecuția 2.12.1) și pierderea în greutate (Ecuția 2.12.2) au fost calculate conform următoarelor formule:

$$\text{Water uptake} = \left(\frac{W_s - W_d}{W_d}\right) \quad (2.12.1)$$

$$\text{Weight loss} = \left(\frac{W_0 - W_d}{W_0}\right) \times 100 \quad (2.12.2)$$

W_0 - greutate inițială; W_s - greutate după umflare; și W_d - greutate uscată

2.16 Îngrijirea și etica animalelor

Acest studiu a fost realizat în conformitate cu Legea privind bunăstarea animalelor, toate procedurile fiind aprobate de către Autoritatea Regională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor (nr. 369/13.06.2023) și în conformitate cu principiile Ghidului pentru îngrijirea și utilizarea animalelor de laborator. Liniile directoare ale Directivei 63/2010/UE au fost adaptate din Legea națională 43/2014. Șobolani Wistar masculi adulți, în vârstă de un an (300 g greutate corporală), proveniți de la o unitate de creștere autorizată (Institutul Cantacuzino, București, România) au fost adăpostiți în cuști individuale standard, întreținute cu un ciclu lumină/întuneric de 12 ore, în cadrul Unității de Animale de Laborator autorizate (Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Cluj-Napoca). Animalele au avut acces liber la hrană și apă standard pentru rozătoare pe tot parcursul studiului.

2.17 Protocolul chirurgical

Locul operației (membrul posterior stâng) a fost pregătit aseptice (Figura 2.17.1). Membrul posterior drept a fost păstrat ca martor intern. O incizie laterală, chiar sub genunchi, a fost efectuată prin piele pentru a dezvălui mușchiul tibial anterior (TA) (Figura 2.17.1A). Leziunea mușchiului TA a fost creată printr-o biopsie cu punch de 6 mm (Kai Medical) pentru a îndepărta aproximativ ~20% din masa musculară (Figura 2.17.1B și C). Un grup de animale rănite a fost tratat cu compozite BGAuSP-Alg-MCC (n = 10 per grup), în timp ce grupul rămas a fost lăsat netratat (n = 10 per grup). Acest material a fost selectat pentru combinația sa unică de componente netoxice și bioactivitate sporită. A fost considerat cea mai complexă sinteză, producând probabil efectele biologice dorite. Sângerarea a fost controlată cu presiune ușoară, iar fascia și pielea au fost închise folosind suturi întrerupte din vicryl (6-0) și prolene (6-0). Un bandaj compresiv a fost apoi înfășurat în jurul părții inferioare a piciorului timp de 5-10 minute. Animalele au fost eutanasiate uman prin

narcoză prelungită cu izofluran, urmată de dislocare cervicală, iar mușchii TA au fost recoltați la 14 și 30 de zile.

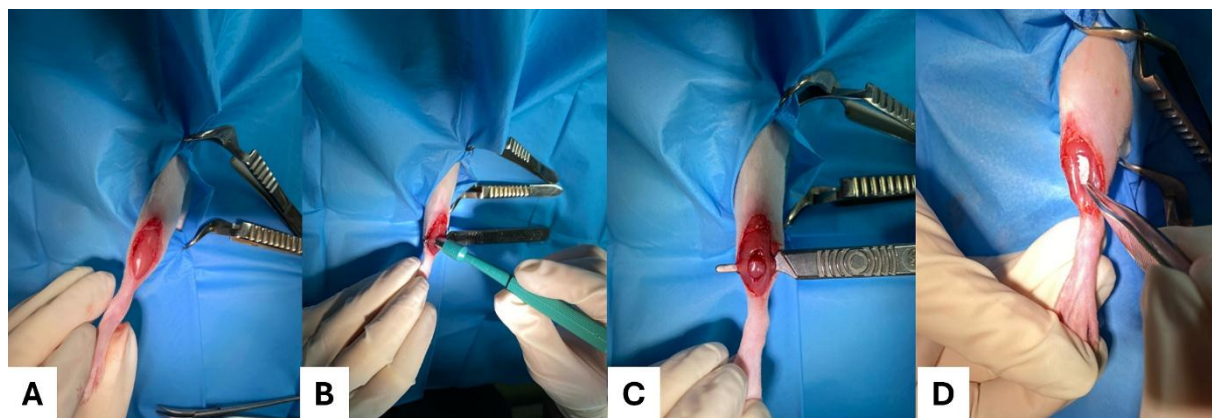


Figura 2.17.1 Defect experimental standard pentru pierderea volumetrică de masă. Modelul VML constă dintr-un defect chirurgical cu grosime completă de 6 mm la nivelul treimii medii a mușchiului TA la șobolani Wistar masculi (A-C). Tratamentul implică aplicarea unui biomaterial pentru regenerarea pierderii musculare volumetrică în leziunile musculare (D) [8].

3. Rezultate și discuții

3.1 Criogeluri polizaharidice anionice: interacțiunea și comportamentul *in vitro* al compozitelor alginat-gumă arabică

Lucrarea investighează criogeluri biopolimerice pe bază de alginat de sodiu și gumă arabică, două polizaharide anionice cu semnificație biomedicală. Scopul a fost sintetizarea și caracterizarea criogelurilor cu conținut variat de gumă arabică pentru a explora interacțiunile lor structurale, proprietățile mecanice, bioactivitatea și potențialele aplicații biomedicale - inclusiv ingineria tisulară și gestionarea rănilor.

Reticularea compozitelor alginat-gumă arabică

Investigațiile spectroscopice au arătat că reticularea ionică este mecanismul dominant care leagă alginatul și guma arabică în prezența ionilor de Ca^{2+} . O deplasare și o

modificare notabilă a intensității benzilor de întindere simetrice și asimetrice $-\text{COO}-$ în FT-IR au confirmat interacțiunile ionice dintre grupările carboxil ale ambelor polizaharide (Figura 3.1.1).

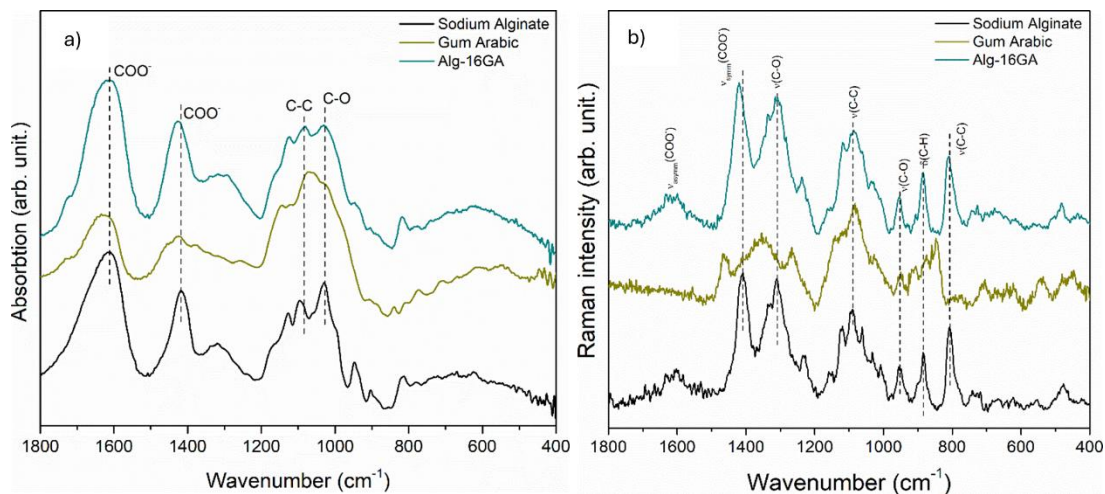


Figura 3.1.1 Spectrele FT-IR (a) și Raman (b) ale Alg pur (linie neagră), GA pur (linie galbenă) și compozit Alg-16GA reticulat (linie verde) [9].

În plus, rezultatele furnizate de RMN-MAS (Figura 3.1.2) și spectroscopia Raman au susținut faptul că cei doi polimeri formează un complex stabil, interconectat (Figura 3.1.3).

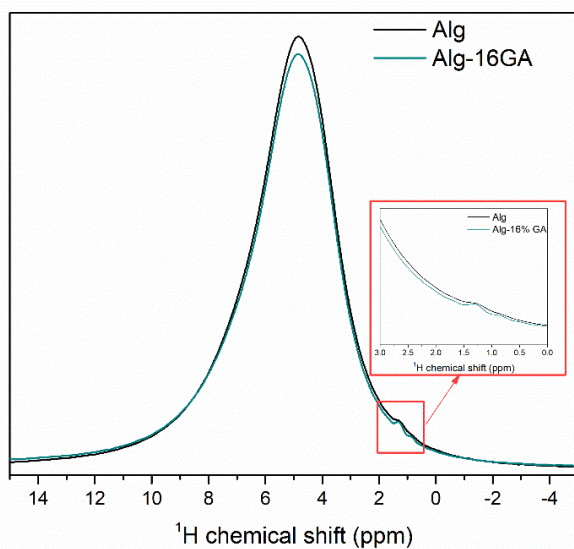


Figura 3.1.2 Spectrele ^1H -RMN ale compozitului Alg și Alg-16GA. Graficul inserat prezintă partea mărită a spectrelor ^1H -RMN [9].

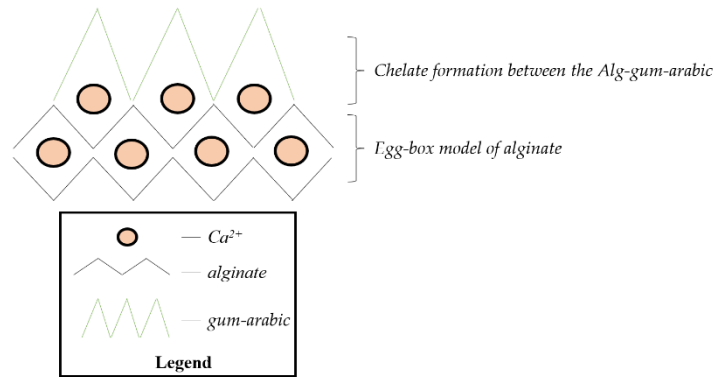


Figura 3.1.3 Mecanism de reticulare propus pentru biopolimerii Alg-GA [9].

Rezultate morfologice

Imagistica SEM (Figura 3.1.3) a relevat că toate criogelurile au prezentat o porozitate ridicată ($\approx 80\text{--}90\%$) cu o rețea interconectată - o arhitectură favorabilă ingineriei tisulare datorită infiltrării celulare îmbunătățite și a transportului de nutrienți. Creșterea conținutului de gumă arabică a dus la pori mai mici și mai definiți, creând o structură mai uniformă și mai organizată. În schimb, probele cu conținut scăzut sau deloc de gumă arabică au prezentat pori neregulați și mai largi. Acest lucru indică faptul că guma arabică nu numai că influențează proprietățile mecanice, dar reglează și microarhitectura esențială pentru performanța biomaterialului.

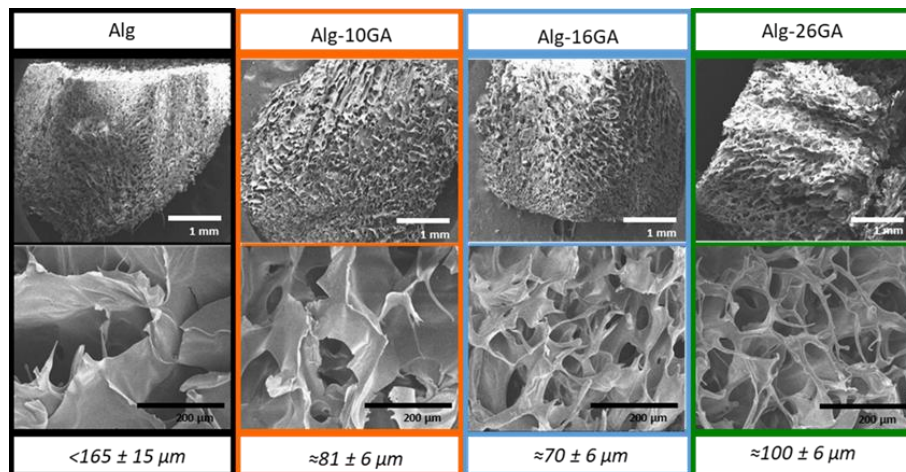


Figura 3.1.3 Micrografii SEM ale compozitelor Alg-GA reticulate cu mărimi de 1 mm și 200 μm [9].

Bioactivitate și mineralizare

Unul dintre rezultatele cheie a fost dezvoltarea unui strat de apatită pe suprafețele criogelului după imersia prelungită în fluid corporal simulat. Morfologia stratului a evoluat către o structură asemănătoare conopidei - o caracteristică a comportamentului bioactiv. Analizele XRD și SEM au indicat prezența unor faze stabile de fosfat de calciu, cu urme de oxalat de calciu, reflectând formarea de minerale similară cu mineralele osoase.

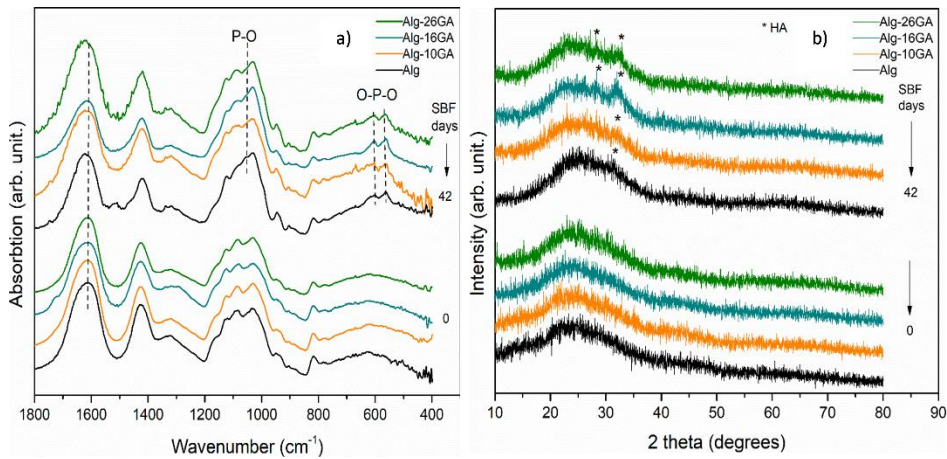


Figura 3.1.4 Spectrele FT-IR (a) și difractogramele XRD (b) ale compozitelor Alg-xGA ($x = 0, 10, 16$ și 26% greutate), înainte și după imersia în fluid biologic simulat timp de până la 42 de zile [9].

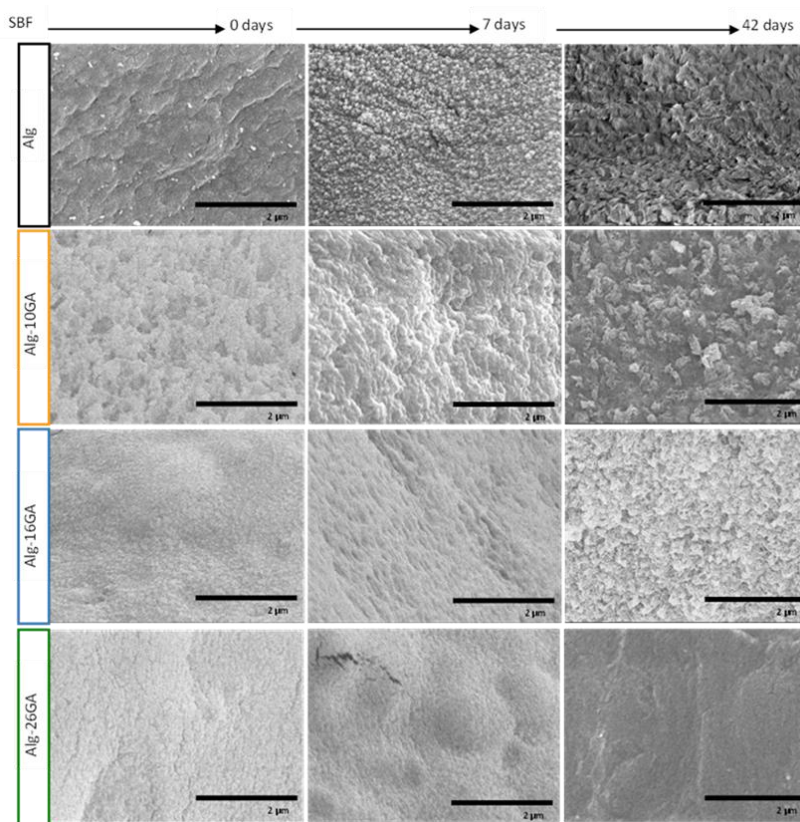


Figura 3.1.5 Micrografii SEM ale compozitelor Alg-GA reticulate, înainte și după imersia în fluid biologic simulat timp de 7 și 42 de zile [9].

Interesant este că gradul de cristalinitate a crescut odată cu conținutul de gumă arabică, în special în probele cu proporții moderate de gumă arabică comparativ cu alginatul singur. Acest lucru sugerează că prezența gumei arabice facilitează nucleația și creșterea mineralelor, o proprietate dorită pentru schelele destinate regenerării osoase sau tisulare.

Absorbția și degradarea apei

Testele de absorbție au arătat că criogelurile au absorbit rapid apa în primele zile de imersie, atingând echilibrul în aproximativ 5 zile. Capacitatea de absorbție a apei a fost influențată de conținutul de gumă arabică, rapoartele mai mari indicând o absorbție mai mare și rețele de pori mai accesibile datorită grupărilor hidrofile $-OH$ și $-COO-$.

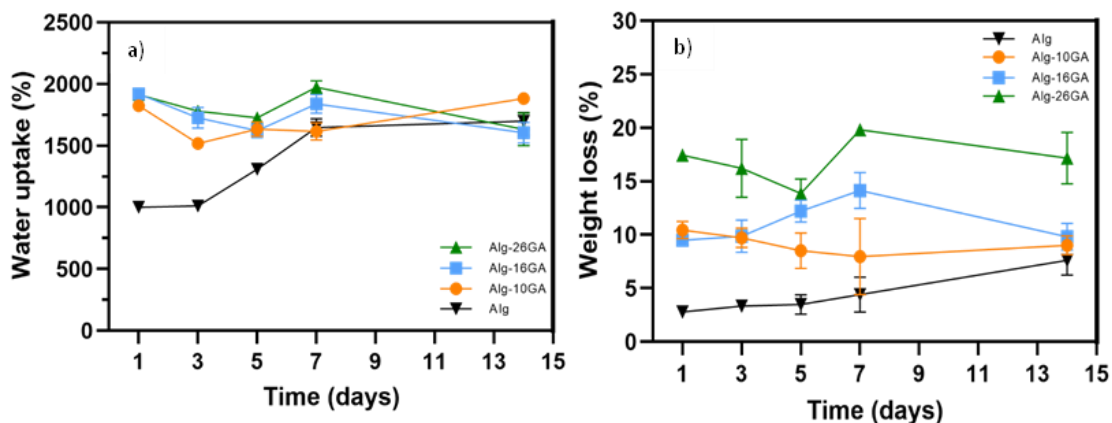


Figura 3.1.6 Absorbția de apă (a) și comportamentul degradării (b) ale compozitelor Alg-xGA ($x = 0, 10, 16$ și 26% g/g) [9].

Citotoxicitate și compatibilitate *in vitro*

Testele pe celule fibroblaste au demonstrat că toate compozitele alginat-gumă arabică au fost netoxice, menținând o viabilitate celulară ridicată după 24 de ore. Acest lucru susține biocompatibilitatea și sugerează că aceste materiale ar putea susține în siguranță atașarea și proliferarea celulară în contexte de inginerie tisulară.

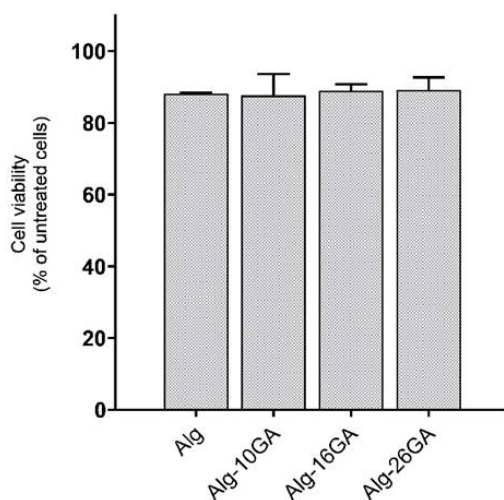


Figura 3.1.7 Viabilitatea celulelor fibroblaste după 24 de ore în prezența compozitelor Alg-xGA ($x = 0, 10, 16$ și 26% g/g) [9].

Concluzii

Alginatul și guma arabică pot fi reticulate prin mecanisme ionice în prezența Ca^{2+} pentru a produce criogeluri stabile. Guma arabică influențează semnificativ morfologia, flexibilitatea, comportamentul la umflare și bioactivitatea criogelului. Criogelurile prezintă o bioactivitate ridicată, evidențiată de formarea de apatită și mineralizarea favorabilă *in vitro*. Testele de biocompatibilitate confirmă comportamentul netoxic și potențialul pentru utilizare biomedicală.

3.2 Efectul nanoceriei asupra mecanismului de reticulare alginat-gumă arabică și comportamentului *in vitro* ca pansament pentru răni

Cercetarea investighează modul în care nanoparticulele de oxid de ceriu (nanoceria) afectează comportamentul de reticulare al unui pansament polimeric din alginat și gumă arabică și cum acesta influențează *in vitro* proprietățile fizice, chimice și biologice relevante pentru repararea țesuturilor. Lucrarea poziționează criogelurile compozite ca potențiale pansamente avansate pentru răni, cu capacități antioxidante și regenerative îmbunătățite în comparație cu materialele convenționale.

Reticularea compozitelor

Analizele spectroscopice au relevat că particulele de nanoceria au interacționat cu lanțurile de alginat și gumă arabică, prin formarea de legături ionice sau de coordonare suplimentare, care au modificat configurația rețelei polimerice. Prin adăugarea de CeO_2NP în compozit, banda dată de gruparea ionului carboxilat (COO^-) la 1425 cm^{-1} se deplasează la 1418 cm^{-1} . Aceasta indică participarea grupării hidroxil din nanoparticule la formarea legăturilor în cadrul matricei polimerice. În plus, modificările spectrale identificate prin diferite raporturi ale intensităților și forma benzilor în intervalul $1000\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ sugerează că sistemul matrice polimerică-nanoparticule preferă să interacționeze prin intermediul grupărilor funcționale O-H și $-\text{COO}$ [10]. Benzile de CeO_2 nu au fost clar

distinse în spectrele FT-IR și Raman ale compozitelor deoarece se suprapun cu benzile polimerice.

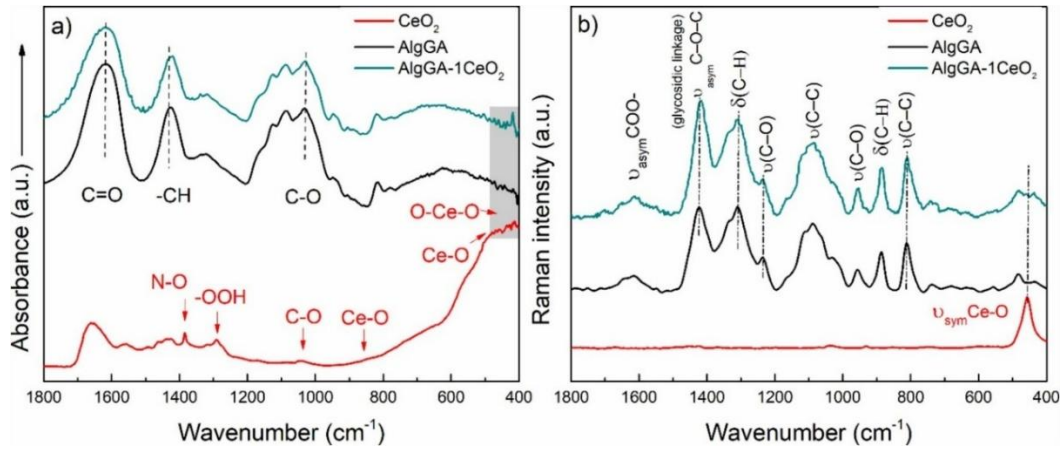


Figura 3.2.1 Spectrele FT-IR (a) și Raman (b) ale CeO₂NP (linie roșie), AlgGA reticulat (linie neagră) și AlgGA-1CeO₂ (linie cyan închis) [11].

Pentru a susține aceste rezultate, au fost efectuate măsurători spectroscopice UV-Vis și XRD. Figura 3.2.2a prezintă spectrele de absorbție DRS-UV-Vis ale nanoparticulelor de CeO₂ și criogelurilor poroase AlgGA-1CeO₂. Nanoparticulele de CeO₂ sunt caracterizate printr-o bandă de absorbție situată la 362 nm. În mod evident, banda specifică criogelurilor poroase AlgGA-1CeO₂ prezintă o absorbție intensă în domeniul UV, în special în regiunea UVA (320–400 nm), indicând faptul că matricea polimerică a păstrat proprietățile optice ale nanoparticulelor [12].

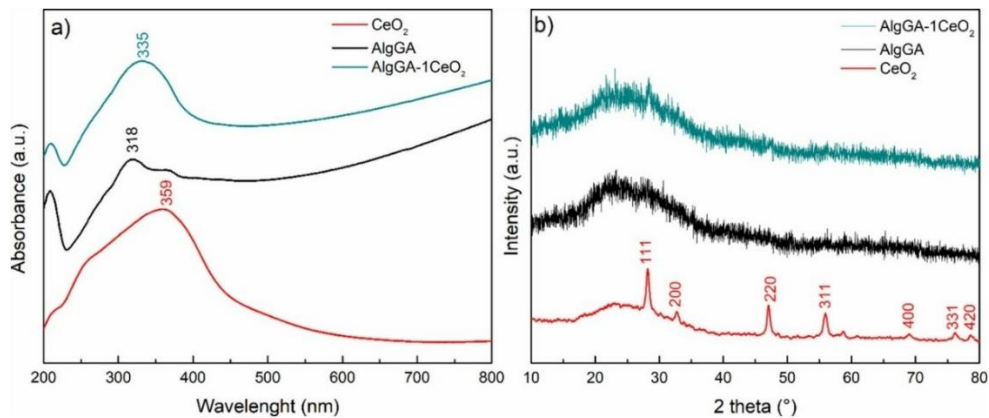


Figura 3.2.2 Spectrele DRS UV-Vis (a) și difractogramele XRD (b) CeO₂NPs (linia roșie), AlgGA reticulat (linia neagră) și AlgGA-1CeO₂ (linia cyan închis) [11].

Diafractograma compozitului AlgGA a înregistrat un vârf larg la $2\theta = 20\text{--}30^\circ$, caracteristic matricei polimerice și indică natura amorfă a compozitului (Fig. 3.2.2b). Reflexiile de la $2\theta = \approx 28^\circ$ și $\approx 47^\circ$ observate pentru proba AlgGA-1CeO₂ sunt atribuite planurilor cristalografice (111) și (220) specifice nanoparticulelor de CeO₂.

Ceriu ar putea juca rolul de agent de reticulare prin schimbul de cationi Ca²⁺. Adăugarea cationului Ce⁴⁺ în sistem ar putea rezulta într-o combinație mult mai puternică, cu un număr de coordonare mai mare al cationilor de ceriu decât al cationilor de calciu.

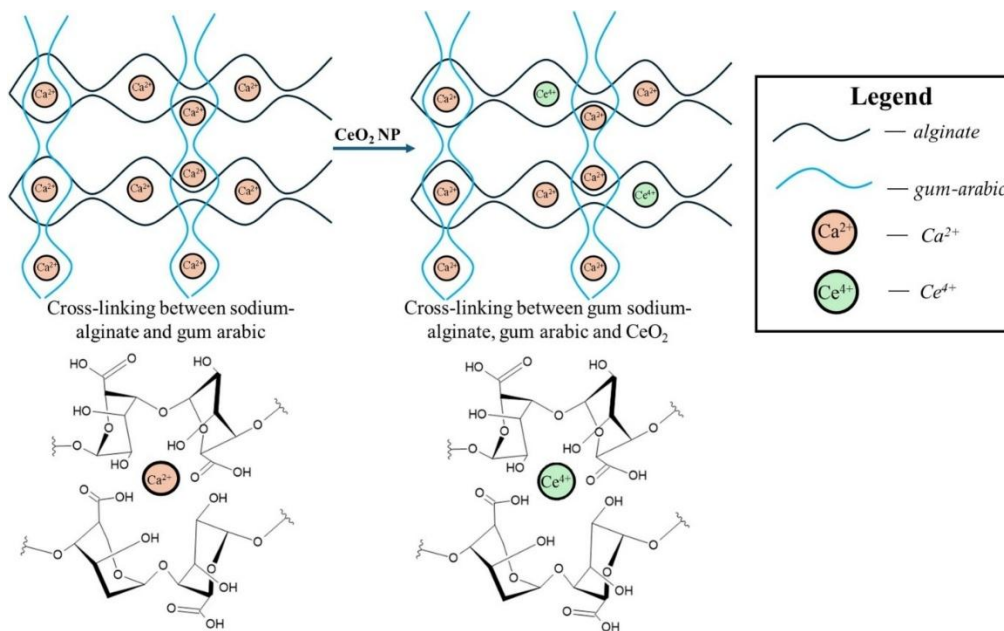


Figura 3.2.3 Mecanismul de reticulare propus pentru nanoparticulele de CeO₂ din matricea Alg-GA [11].

Caracterizarea morfologiei și structurii poroase

Compozitele de tip criogel au prezentat o structură interconectată (macro- și micropori) extrem de poroasă, favorabilă schimbului de fluide și migrației celulare. Prezența nanoceriei a dus la o distribuție mai uniformă a porilor și la o grosime modificată a peretelui în matricea polimerică.

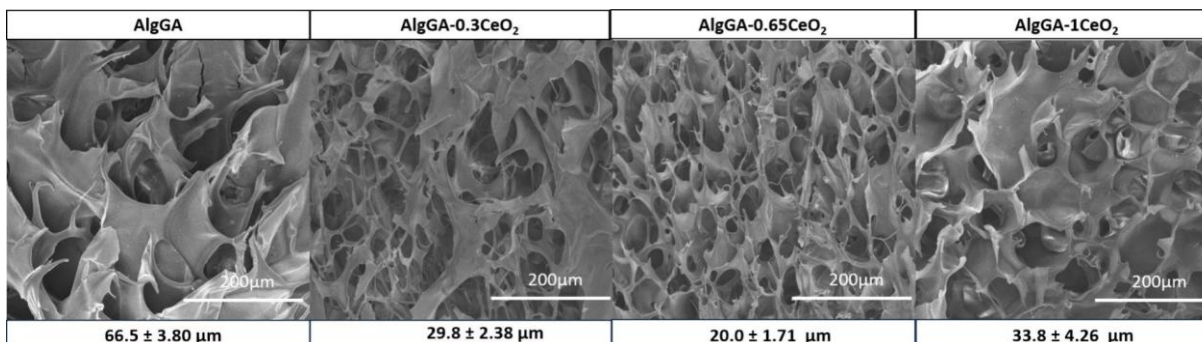


Figura 3.2.4 Micrografiile SEM ale compozitelor AlgGA, AlgGA-0.3CeO₂, AlgGA-0.65CeO₂ și AlgGA-1CeO₂. Scara de măsurare: 200 μm [11].

Conform metodei de deplasare a lichidului, rezultatele arată o valoare a porozității de 94% pentru proba de control, urmată de o ușoară creștere pentru restul probelor AlgGA-0.3CeO₂ (98%), AlgGA-0.65CeO₂ (96%) și AlgGA-1CeO₂ (97%). Studiul următor a subliniat că o porozitate mai mare de 80% este ideală atunci când structurile spongioase sunt utilizate ca schele celulare [12].

Comportamentul *in vitro* al compozitelor

Analiza FT-IR a relevat o creștere progresivă a intensității benzii la 1044 cm⁻¹ față de banda de la 1618 cm⁻¹, împreună cu apariția unui dublet caracteristic la 561–620 cm⁻¹. Aceste caracteristici spectrale indică formarea hidroxiapatitei pe suprafața probei, asociată cu precipitarea fosfatului. Acest proces este atribuit ionilor de calciu utilizați ca agenți de reticulare, care promovează nucleația și creșterea apatitei, reducând în același timp grupările funcționale hidroxil și carboxil.

Analiza prin difracție de raze X a arătat că structura inițială amorfă a biopolimerului a evoluat într-o fază semicristalină după imersie, cu reflexii de apatită observate la aproximativ 26° și 33° (2θ). Intensitatea moderată a acestor vârfuri sugerează o cristalinitate scăzută a apatitei în stadii incipiente. Imersia extinsă timp de până la 42 de zile a confirmat o creștere susținută a apatitei fără formarea de compuși toxici, validând astfel bioactivitatea și siguranța materialelor.

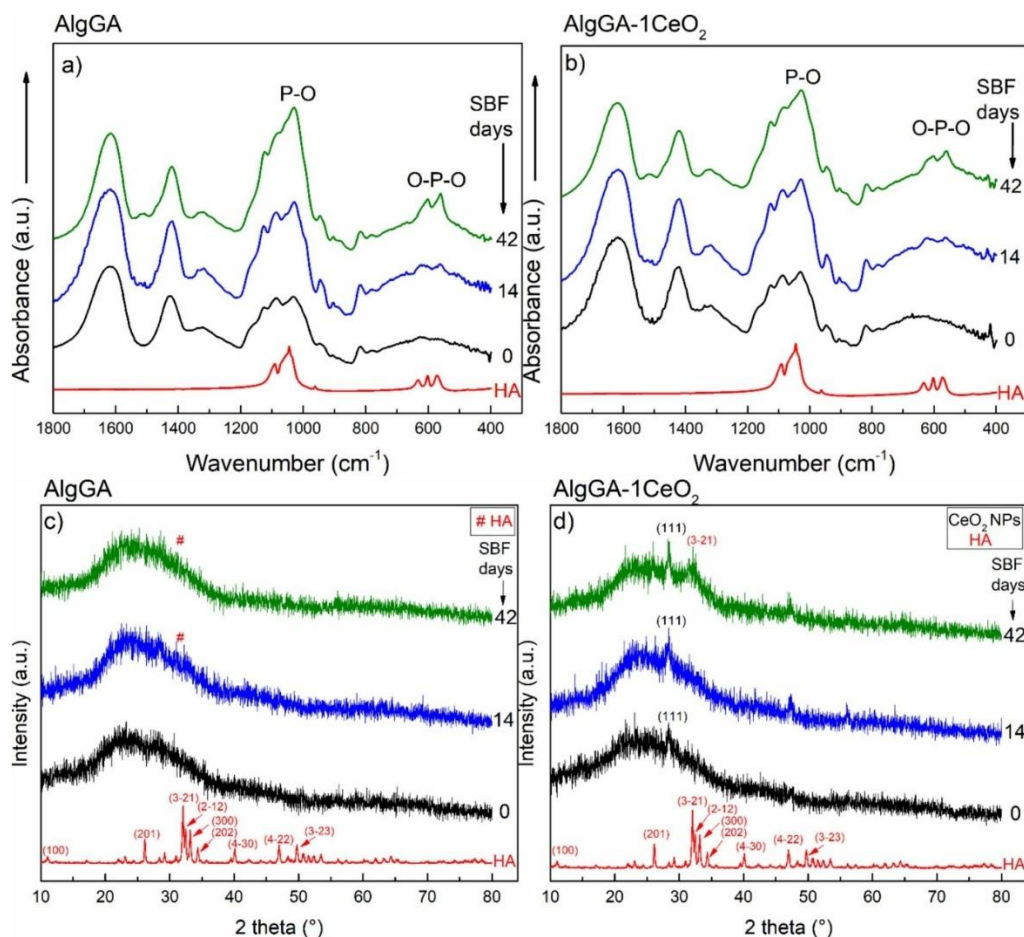


Figura 3.2.5 Spectrele FT-IR (a, b) și difractograma XRD (c, d) ale compozitelor AlgGA (a, c) și AlgGA-1CeO₂ (b, d) înainte (linia neagră), după 14 (linia albastră) și 42 de zile de imersie (linia verde). Spectrul FT-IR și difractograma XRD ale HA (linia roșie) au fost introduse în scop comparativ [11].

Viabilitatea celulară *in vitro*

Keratinocitele (HaCaT) și fibroblastele (Hs) cultivate pe compozite au prezentat o viabilitate ridicată, confirmând biocompatibilitatea *in vitro* (Figura 3.2.5). Eliberarea de nanoceră a fost graduală și a coincis cu degradarea polimerului, susținând activitatea biologică, fără citotoxicitate acută. Mediul antioxidant creat de nanoceră a favorizat atașarea și proliferarea celulară.

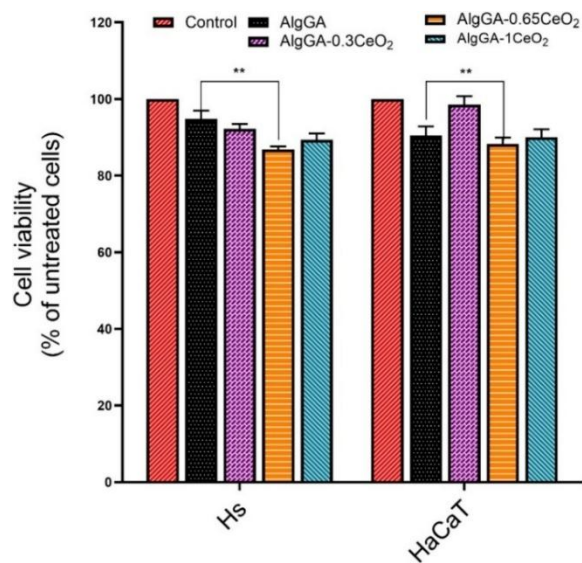


Figura 3.2.5 Viabilitatea celulară a celulelor Hs și HaCaT după 24 de ore în contact cu compozitele. Viabilitatea celulară medie obținută după testarea în triplicat a fost utilizată pentru a compara rezultatele cu controlul (culturi celulare netratate). Rezultatele sunt exprimate ca medie \pm S.D. ($n = 3$), $P < 0,05$ [11].

Testul de zgâriere a fost efectuat pentru a evalua capacitatea de vindecare a rănilor în primele 24 de ore (Figura 3.2.6). Cea mai mare suprafață necoperită a fost obținută pentru compozitul AlgGA. Prezența nanoparticulelor de CeO₂ în compozite are ca rezultat o vindecare mai rapidă a rănilor, obținându-se o valoare mai bună pentru compozitul AlgGA-0.65CeO₂.

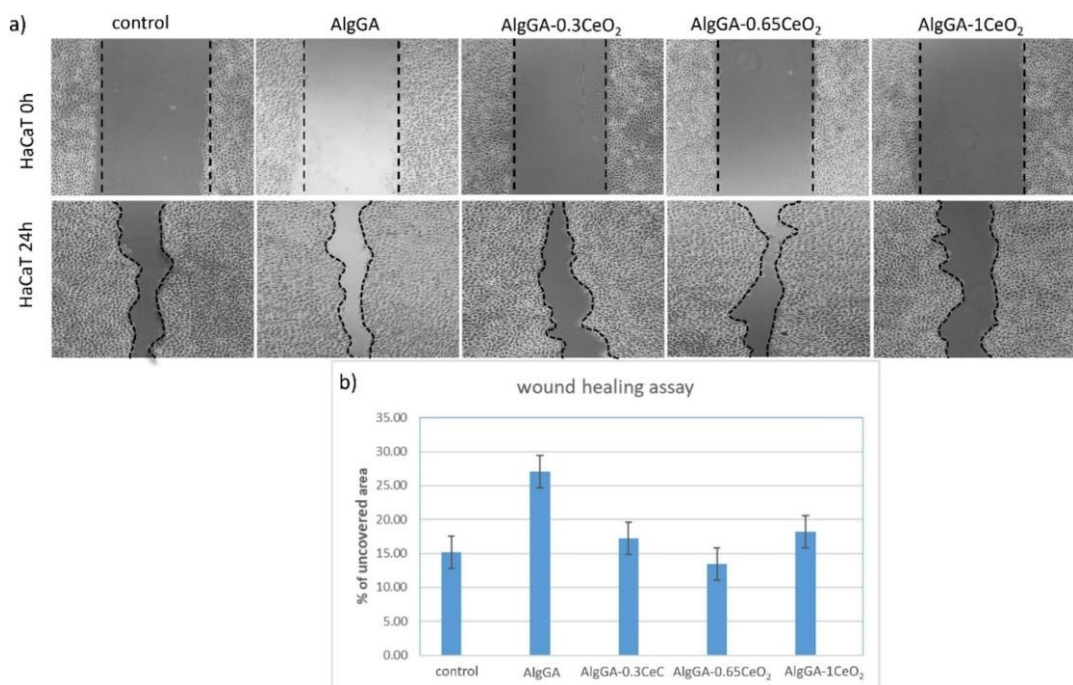


Figura 3.2.6 Vindecarea *in vitro* a plăgii prin zgârieturi cu HaCaT (a) și evaluarea vindecării plăgii prin zgârieturi în % din suprafața neacoperită (b) [11].

Concluzii

Rezultatele studiului susțin cu tărie faptul că criogelurile de alginat-gumă arabică îmbunătățite cu nanoceria sunt promițătoare ca pansamente avansate pentru răni. Structura favorabilă a porilor și gestionarea umidității, corespund cerințelor cheie de vindecare a rănilor. Biocompatibilitatea și suportul celular au arătat rezultate excelente, cu eliberarea treptată a nanoparticulelor, sugerând implicarea activă în procesul de vindecare a rănilor.

3.3 Regenerarea mușchilor scheletici folosind compozite bioactive sticlă-alginat-celuloză

Articolul investighează potențialul biomaterialelor compozite bioactive sticlă-alginat-celuloză pentru promovarea regenerării mușchilor scheletici, un domeniu de interes crescând datorită capacității limitate de autoreparare a țesutului muscular după leziunile prin pierdere volumetrică a masei musculare. Sticlele bioactive sunt cunoscute pentru capacitatea lor de a elibera ioni

terapeutici care pot stimula repararea țesuturilor și angiogeneza, în timp ce polimerii de alginat și celuloză oferă o rețea structurală biocompatibilă și de susținere mecanică.

Reticularea compozitelor bioactive sticlă-alginat-celuloză

Spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier și difracția de raze X au confirmat integrarea cu succes a tuturor componentelor și au indicat formarea de legături chimice între faza anorganică sticloasă și rețeaua de biopolimeri.

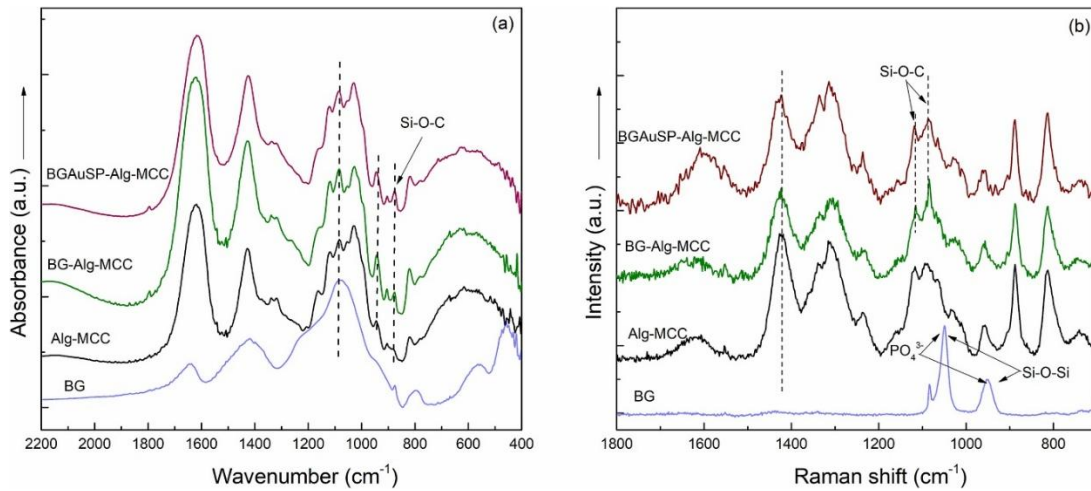


Figura 3.3.1 Spectrele FT-IR (a) și Raman (b) ale sticlei bioactive (linie albastră), Alg-MCC (linie neagră), BG-Alg-MCC (linie verde) și BGAuSP-Alg-MCC (linie vișinie) [8].

Pe baza mecanismului de reticulare care are loc între MCC și Alg și prin apariția vibrației Si-O-C în compozite, se confirmă și triplul compozit. Trebuie menționat că, deoarece reticularea nu are loc pe gruparea COO⁻, compozitele obținute sunt mai stabile deoarece legăturile au loc în locații diferite, utilizând alte grupări chimice.

O porozitate de 80% a fost obținută pentru Alg, 97% pentru compozitul Alg-MCC și 96% pentru compozitele BG-Alg-MCC și BGAuSP-Alg-MCC. Astfel, odată cu adăugarea de MCC, porozitatea probelor crește. În micrografia SEM, aceste modificări sunt evidente, în special creșterea dimensiunii porilor odată cu adăugarea de MCC de la 23 ± 2 la 53 ± 8 μm (Figura 3.3.2). Acest lucru se poate datora mai multor factori: i) formarea cristalelor de gheață în timpul procesului de liofilizare; și ii) interacțiunea dintre nanoparticulele de BGAuSP și agentul de reticulare, cationii

de Ca^{2+} , care intervin în rețeaua polimerică și creează structuri mai deschise, distrugând compactitatea; Cea mai mare dimensiune a porilor ($97 \pm 7 \mu\text{m}$) a fost obținută pentru compozitul cu BGAuSP.

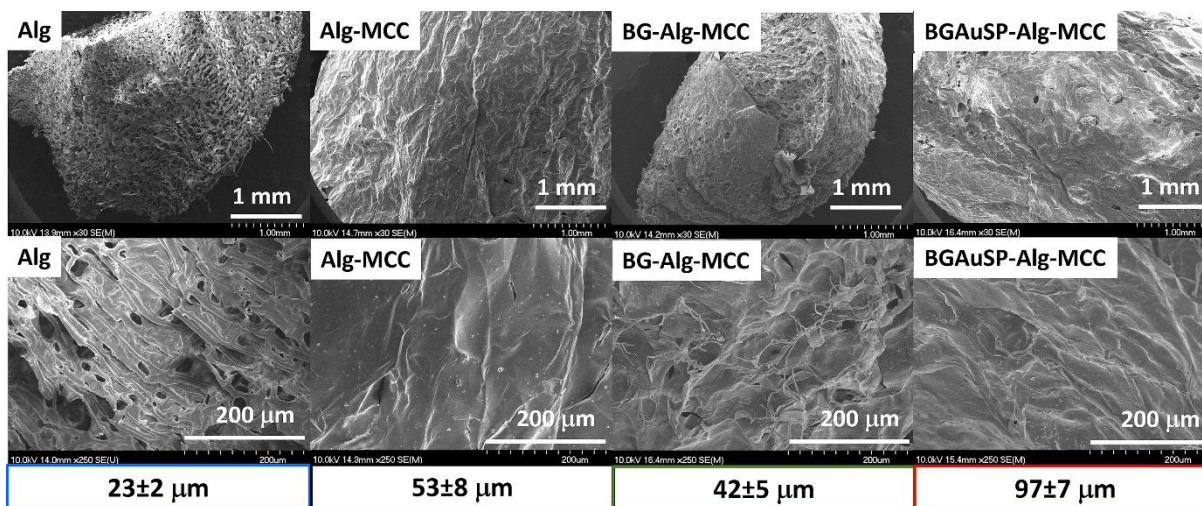


Figura 3.3.2 Micrografiile SEM ale compozitelor Alg, Alg-MCC, BG-Alg-MCC și BGAuSP-Alg-MCC. Bară de scală: 1 mm (primul rând) și 200 μm (al doilea rând) [8].

Comportamentul *in vitro*, biodegradare și absorbția apei

Atunci când au fost imersate în fluid biologic simulat, compozitele au demonstrat un comportament bioactiv, evidențiat prin formarea unui strat asemănător apatitei pe suprafața acestora. Acest strat mineral indică dizolvarea ionică din sticla bioactivă și precipitarea ulterioară a fazelor de fosfat de calciu - o interacțiune importantă care îmbunătățește atașarea celulară și promovează regenerarea. Ioni precum calciul și siliciul au fost eliberați constant din compozit pe perioade lungi de timp.

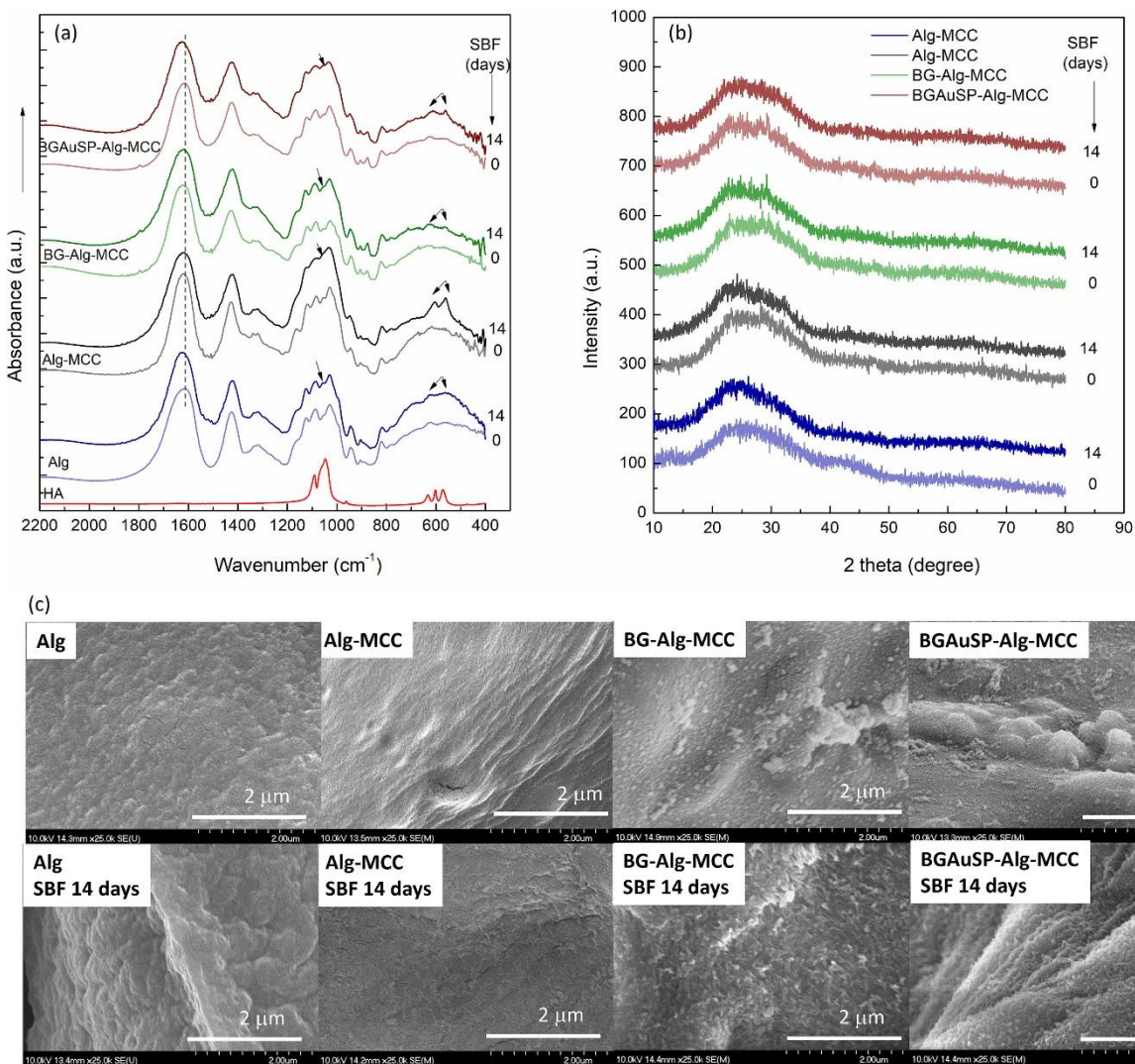


Figura 3.3.3 Difractograma XRD (a), spectrele FT-IR (b) și micrografiile SEM (c) ale Alg (linia albastră), Alg-MCC (linia neagră), BG-Alg-MCC (linia verde) și BGAuSP-Alg-MCC (linia vișinie) înainte și după imersia în fluid biologic simulat timp de 14 zile. Spectrul FT-IR al hidroxiapatitei (HA, linia roșie) a fost introdus în scop comparativ. Bare de scală: 2 μm [8].

Testele de citotoxicitate *in vitro* au confirmat un răspuns inflamator minim sau citotoxicitate scăzută, susținând în continuare caracterul adecvat al compozitului pentru implantare. Degradarea treptată și bioactivitatea susținută sugerează că matricea polimerică menține un echilibru între integritatea structurală și reactivitatea biologică, care este esențial pentru succesul regenerativ.

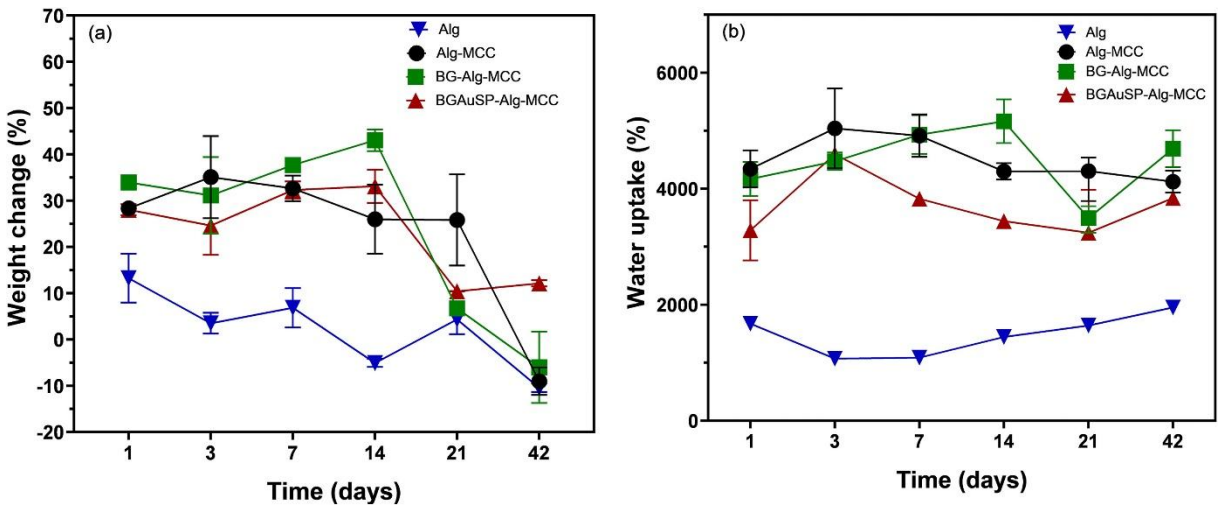


Figura 3.3.4 Degradarea (a) și gradul de absorbție al apei (b) ale compozitului Alg (linia albastră), Alg-MCC (linia neagră), BG-Alg-MCC (linia verde) și BGAuSP-Alg-MCC (linia vișinie) în funcție de timpul de degradare. $P < 0,05$ [8].

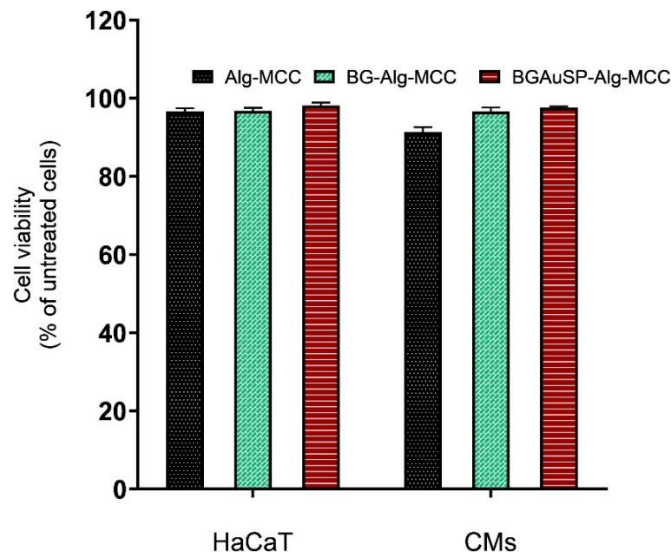


Figura 3.3.5 Viabilitatea celulelor keratinocite (HaCaT) și cardiomiocite (CMs) după interacțiunea de 24 de ore cu compozitele Alg-MCC (coloana neagră), BG-Alg-MCC (coloana verde) și BGAuSP-Alg-MCC (coloana roșie) la aceeași concentrație [8].

Evaluarea histologică a biomaterialelor implantate *in vivo*

Comparativ cu compozitele MCC-Alg, compozitele cu sticlă bioactivă au avut constant performanțe superioare în ceea ce privește proliferarea celulară, potențialul de diferențiere,

profilurile de eliberare a ionilor și promovare pro-angiogenică. Aceste diferențe evidențiază efectul sinergic al combinării sticlei bioactive cu biopolimerii naturali - valorificând punctele forte ale componentelor anorganice și organice pentru a crea o structură care imită mai bine aspectele mediilor tisulare fiziologice.

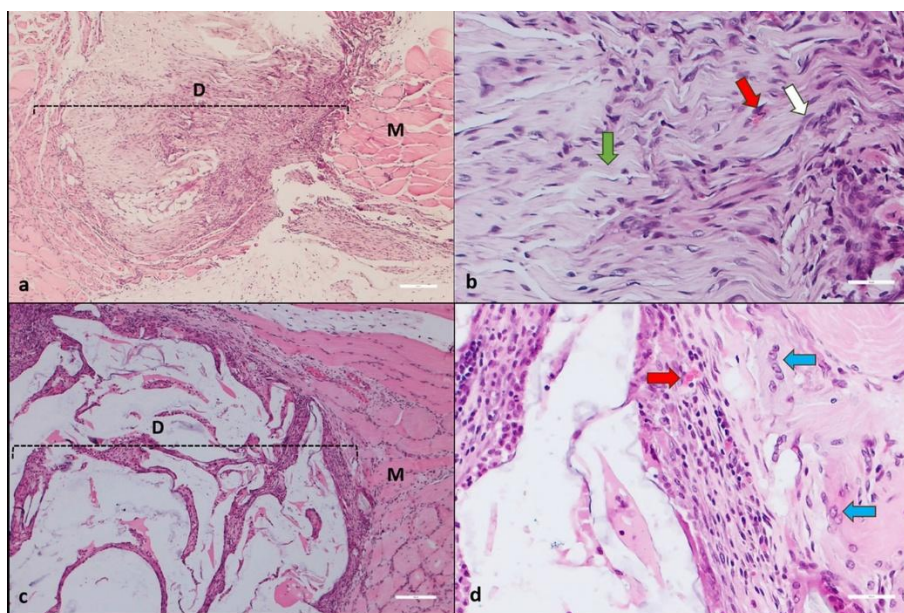


Figura 3.3.6 Evaluarea histologică a răspunsului tisular în cazul defectelor musculare la 2 săptămâni după operație la șobolanii din grupul de control negativ (a, b) și cei tratați (c, d). În grupul de control, defectul muscular (D, zona marcată) a fost înlocuit cu țesut fibros compus din fascicule de fibre groase de colagen (săgeți verzi), fibroblaste (săgeată albă) și capilare sanguine (săgeată roșie); M indică mușchiul scheletic, colorare H&E (a, b); În grupul tratat, defectul muscular (D, zona marcată) a fost ocupat de materialul implantat, conținând celule mezenchimale, canale sanguine (săgeată roșie), puține fibre de colagen și celule inflamatorii mononucleare. Câteva miofibre regenerante sunt observate la periferia materialului implantat (săgeți albastre); M indică mușchiul scheletic, colorare H&E (c, d). Bara de scală este de 50 μm (pentru a și c) și respectiv 10 μm (pentru b și d) [8].

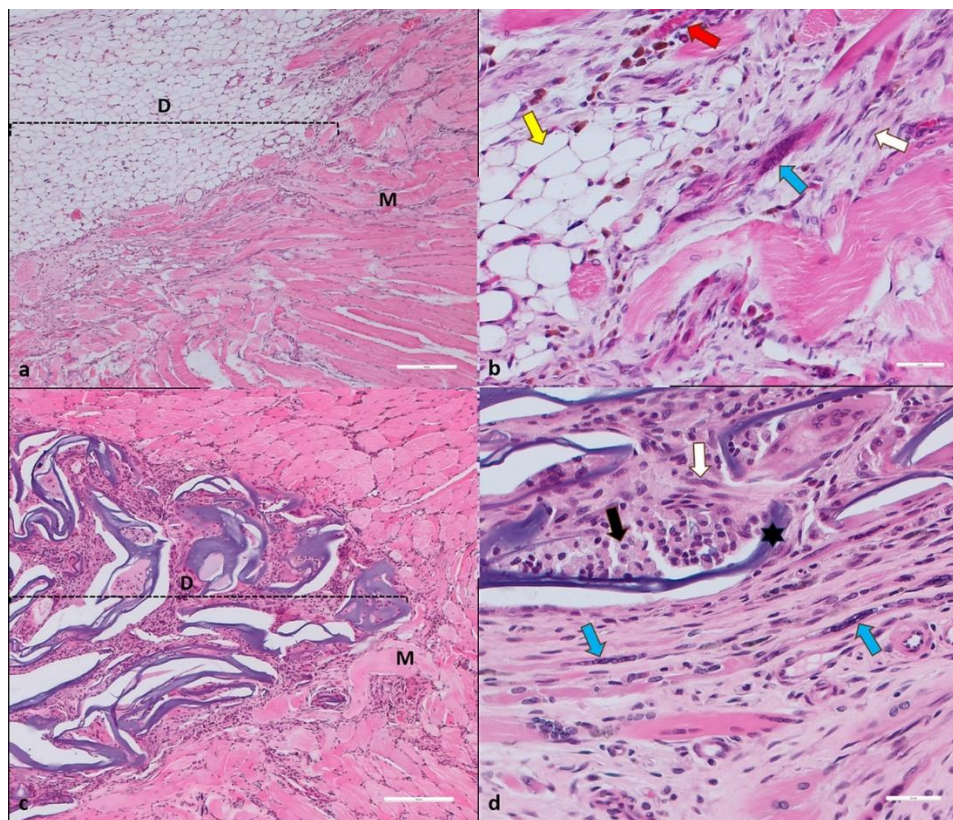


Figura 3.3.7 Evaluarea histologică a răspunsului tisular în defectele musculare la 4 săptămâni după operație la șobolanii de control negativ (a, b) și tratați (c, d). În grupul de control, defectul muscular (D, zona marcată) a fost înlocuit cu țesut fibro-adipos compus din grupuri de adipocite (săgeată galbenă), fibre de collagen și fibroblaste (săgeată albă); puține miotuburi multinucleate (săgeată albastră) și capilare sanguine (săgeată roșie) sunt prezente la periferia defectului vindecat; M indică mușchiul scheletic, colorare H&E (a, b); În grupul tratat, defectul muscular (D, zona marcată) este umplut cu fragmente de material implantat (asterisc negru), separate de celule mezenchimale (săgeată albă), canale sanguine, câteva fibre de collagen și celule inflamatorii mononucleare (săgeată neagră). Un număr semnificativ de miotuburi multinucleate sunt observate la periferia materialului implantat (săgeți roșii); M indică mușchiul scheletic, colorare H&E (c, d). Bara de scală este de 50 μm (pentru a și c) și 10 μm (pentru b și d) [8].

Concluzie

Noile compozite MCC-Alg îmbunătățite cu BG/BGAuSP au fost preparate prin metoda de reticulare ionică cu carbonat de calciu. Experimentele *in vitro* au arătat un efect non-citotoxic

asupra celulelor HaCaT și CMs, cu valori ale viabilității celulare cuprinse între 96% și 98%. Comportamentul *in vitro* al probelor a fost evaluat, iar toate probele au demonstrat capacitatea de a dezvolta un strat de apatită care a acoperit complet și omogen suprafețele compozitului după 14 zile. Testele de biodegradare au relevat o constatare notabilă: introducerea celulozei în matricea Alg a crescut semnificativ rata de degradare a polimerului, rezultând o pierdere de masă de aproape 30% după o singură zi de imersie. În plus, evaluarea *in vivo* utilizând un model murin pentru pierderea de masă volumetrică, de tibialis anterior a demonstrat că biomaterialul s-a integrat bine cu țesutul înconjurător, cu o depunere minimă de colagen și a susținut formarea de noi miofibre în timpul unei implantări de 4 săptămâni. Constatările noastre demonstrează potențialul compozitelor pentru pierderea de masă volumetrică, de a îmbunătăți regenerarea și repararea musculaturii rămase, subliniind relevanța lor clinică semnificativă. Succesul regenerării țesuturilor pe bază de structuri polimerice depinde de dezvoltarea de biomateriale care stabilesc un micromediu biocompatibil și biomimetic, favorizând interacțiunile esențiale celulă-material și funcțiile celulare, cum ar fi proliferarea și diferențierea.

Concluzii finale și contribuții personale

Capitolul 3.1 se concentrează pe dezvoltarea, optimizarea și caracterizarea criogelurilor obținute din alginat de sodiu și gumă arabică, cu potențial biomedical. Studiul a arătat că interacțiunile dintre cele două polizaharide, stabilizate de cationi de calciu, duc la formarea unor structuri poroase interconectate, a căror morfologie și proprietăți fizico-chimice depind de proporția de gumă arabică. Structura internă este alcătuită din pori interconectați (70–160 μm), iar proporția de gumă arabică influențează semnificativ dimensiunea și uniformitatea porilor. Compozitele au demonstrat o bună capacitate de absorbție, stabilitate structurală și bioactivitate, evidențiate prin formarea unui strat de apatită după imersia în soluție SBF. Testele de citotoxicitate au confirmat o bună biocompatibilitate, cu o viabilitate celulară ridicată (peste 85–90%).

Contribuții personale:

- Optimizarea raportului de polizaharide
- Elaborarea unei scheme de interpretare a procesului de chelare a cationilor de calciu în matrici mixte de polizaharide.
- Efectuarea unor teste preliminare de stabilitate și absorbție în medii apoase pentru a evalua comportamentul hidrofil al compozitelor.
- Efectuarea unei analize critice a rezultatelor, identificarea punctelor forte și a limitelor studiului și formularea unor propuneri pentru direcții de cercetare viitoare, cum ar fi extinderea testelor biologice și integrarea agenților anorganici în matricea criogelului.

Capitolul 3.2 investighează influența nanoparticulelor de oxid de ceriu (nanoceria) asupra procesului de formare, structurii și comportamentului biologic al criogelurilor compozite obținute din Na-Alg și GA. S-a demonstrat că introducerea nanoceriei modifică mecanismul de reticulare prin crearea de interacțiuni suplimentare cu grupările funcționale ale polizaharidelor, rezultând o rețea mai stabilă, poroasă și uniformă. Analizele structurale (FT-IR, Raman, SEM) au confirmat formarea unei structuri omogene și rezistente, iar testele de absorbție au indicat o creștere a capacității de retenție a fluidelor, esențială pentru gestionarea exudatului plăgii. Experimentele *in vitro* au arătat o bună biocompatibilitate și o activitate antioxidantă pronunțată datorită nanoceriei, ceea ce contribuie la reducerea stresului oxidativ și accelerarea procesului de vindecare. În concluzie, includerea nanoparticulelor de oxid de ceriu a îmbunătățit semnificativ proprietățile fizico-chimice și biologice ale sistemului Alg-GA, confirmând potențialul acestui compozit ca material inovator pentru pansamente bioactive și regenerarea țesuturilor.

Contribuții personale:

- Studierea mecanismului de reticulare a matricei polizaharidice (Alg + GA) în urma includerii nanoparticulelor de oxid de ceriu, pentru a evidenția efectul acestora asupra structurii finale.
- Evaluarea comportamentului *in vitro* al compozitelor în contextul pansamentelor pentru răni: analiza capacității de absorbție/biodegradare, eliberarea controlată a nanocerii, susținerea creșterii celulare (HaCaTs, Hs) și potențialul antioxidant (reducerea stresului oxidativ) în contextul vindecării.

Capitolul 3.3 investighează dezvoltarea de biomateriale compozite pentru regenerarea țesutului muscular, obținute prin combinarea Na-Alg și MCC cu nanoparticule bioactive de sticlă/aur. Acestea au fost caracterizate structural și morfologic, rezultatele demonstrând o rețea poroasă uniformă, stabilă și bioactivă, capabilă să formeze un strat de apatită după imersia în SBF. Includerea sticlei bioactive a crescut semnificativ gradul de mineralizare și bioactivitate, iar adăugarea de aur a îmbunătățit răspunsul celular. Testele *in vitro* au arătat o biodegradare semnificativă, un răspuns bioactiv bun și o creștere a viabilității celulare pentru celulele musculare cultivate pe suprafața compozitelor. Studiile *in vivo* efectuate pe un model volumetric de pierdere a țesutului muscular au confirmat integrarea biomaterialelor și stimularea regenerării musculare prin formarea miofibrelor și dezvoltarea rețelei vasculare. Rezultatele indică faptul că aceste compozite au un potențial semnificativ ca suporturi bioactive pentru ingineria țesuturilor musculare scheletice. Per total, cercetarea demonstrează că aceste compozite pe bază de Alg, celuloză și sticlă bioactivă îmbunătățite cu agenți anorganici reprezintă materiale promițătoare pentru aplicații în ingineria țesuturilor musculare și tratamentul defectelor musculare severe.

Contribuții personale:

- Analizarea mecanismului de formare și reticulare a compozitelor pe bază de Alg, MCC și sticlă bioactivă/Au, concentrându-se pe interacțiunea dintre matricea polizaharidă și componentele anorganice.
- Interpretarea datelor de caracterizare structurală și morfologică (FT-IR, SEM, XRD) pentru a evidenția modul în care adăugarea de nanoparticule de sticlă bioactivă și aur influențează morfologia, porozitatea și stabilitatea compozitelor.
- Evaluarea corelației dintre structura compozitelor și comportamentul lor *in vitro*, inclusiv degradarea.

Activitate științifică

Lista lucrărilor legate de teza de doctorat

1. Feraru, A.; Tóth, Z.-R.; Mureșan-Pop, M.; Baia, M.; Gyulavári, T.; Páll, E.; Turcu, R.V.F.; Magyari, K.; Baia, L. Anionic Polysaccharide Cryogels: Interaction and In Vitro Behavior of Alginate–Gum Arabic Composites. *Polymers* 2023, 15, 1844. <https://doi.org/10.3390/polym15081844> (IF: 4.9, AIS: 0.657)
2. A. Feraru, Z-R. Tóth, K. Magyari, M. Baia, T. Gyulavári, E. Páll, E. Licarete, C. Costinas, O. Cadar, I. Papuc, L. Baia, The effect of nanoceria on the alginate-gum arabic crosslinking mechanism and in vitro behavior as a wound dressing. *Int. J. Biol. Macromol.*, 288 (2025), 138569, [10.1016/j.ijbiomac.2024.138569](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138569) (IF: 8.5, AIS: 1.013)
3. A. Feraru, A. Zăvoi, K. Magyari, Z-R. Tóth, E. Bobu, E. Páll, A. Dreanca, A. Negoescu, M. Taulescu, M. Cenariu, M. Muresan-Pop, T. Gyulavári, I. Papuc, L. Baia, Skeletal muscle regeneration using bioactive glass-alginate-cellulose composites. *Int. J. Biol. Macromol.*, 330 (2025), 148032, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.148032> (IF: 8.5, AIS: 1.013)

Alte lucrări:

Indexate ISI:

- i) Magyari, K., Dreancă, A., Székely, I. et al. How does the structure of pullulan alginate composites change in the biological environment?. *J*

Mater Sci 57, 19050–19067 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10853-022-07775-8>

- ii) Tóth ZR, Feraru A, Saszet K, Veréb G, Vodnar DC, Todea M, Timar-Gabor A, Dave AK, Sand D, Dreanca A, Magyari K, Baia L. Relation between shape-tailored CeO₂ nanoparticles morphology and hemocompatibility and antimicrobial effect. *Biomater Adv.* 171, 214229 (2025). DOI: 10.1016/j.bioadv.2025.214229.

Publicații non-ISI:

- i) Zs-R Tóth, K Magyari, A Feraru, I Szekely, L Nánai, A Dreanca, L Baia, Prediction Of The Antioxidant Character By Using Photocatalytic Activity Of Differently Shaped Cerium-Oxide Nanoparticles. *Studia Universitatis Babes-Bolyai, Physica*, 2023, Vol 68, Issue 1/2, p83, ISSN 0258-8730. DOI: 10.24193/subbphys.2023.08

Conferințe

Internaționale:

- a. *DPG Spring Meeting of the Condensed Matter Section 2025*, Regensburg, Germany 16-21 March, The effect of spherical nanoceria on the anionic polysaccharides and in vitro behavior as a wound dressing, Alexandra Feraru, Zsejke-Réka Tóth, Klára Magyari, Monica Baia, Tamás Gyulavári, Emőke Páll, Emilia Licarete, Codrut Costinas, Oana Cadar, Ionel Papuc, Lucian Baia, Poster
- b. *8th China-Europe Symposium on Biomaterials in Regenerative Medicine (CESB 2024)*, Nuremberg, Germany, 15-18 September 2024, Cerium oxide nanoparticles incorporated into polymer matrices for soft tissue engineering, Alexandra Feraru, Zsejke-Réka Tóth, Monica Baia, Tamás Gyulavári, Emőke Páll, Klára Magyari, Lucian Baia, Poster
- c. *The 15th International Conference on Physics of Advanced Materials (ICPAM-15)*, Sharm El Sheikh, Egypt, The influence of gum Arabic on physical and biological properties of alginate-based biocomposites, A. Feraru, Zs-R. Tóth, M. Mureșan-Pop, M. Baia, T. Gyulavári, E. Páll, R. V.F. Turcu, K. Magyari, Baia L. Baia, Poster
- d. *33rd Conference of the European Society for Biomaterials*, 4-8 September, 2023, Davos, Switzerland, Biopolymeric Cryogels based on Alginate-gum arabic Polysaccharides as Biodegradable Macroporous Scaffolds, Alexandra Feraru, Zsejke-Réka Tóth, Alexandra Dreancă, Emma Bobu, Emilia Licarete, Lucian Baia, Klára Magyari, Poster

- e. *32nd Conference of the European Society for Biomaterials, Bordeaux, France, 4-8 September, 2022, Alginate-Based Biocomposites Hydrogels Reinforced with Natural Polymers Used in Tissue Engineering: Structural and Physicochemical Properties, Alexandra Feraru, Zsejke-Réka Tóth, Klára Magyari, Lucian Baia, Poster*
- f. *31st Conference of the European Society for Biomaterials, Porto, Portugal, 5-9 September, 2021 Online, Comparative study between the effect of AgI and Ag₂O on in vitro bioactivity and antibacterial activity, A. Feraru, Z.-R. Tóth M. Todea, D.-C Vodnar, K. Magyari, L. Baia, Poster*

Premii:

- a. *6th Autumn School on Physics of Advanced Materials (PAMS-6), November 19 – 26, 2023, Sharm El Sheikh, Egypt; Sponsor's award offered by APEL LASER for the short oral presentation entitled: In vitro evaluation of alginate-gum arabic hydrogel-based porous scaffolds loaded with cerium oxide nanoparticles, A. Feraru, Zs-R. Tóth, K. Magyari, Baia L. <https://icpams.com/main/awards/>*

Bibliografie:

- [1] Chen Q, Zhu C, Thouas GA. Progress and challenges in biomaterials used for bone tissue engineering: bioactive glasses and elastomeric composites. *Prog Biomater* 2012;1:2. <https://doi.org/10.1186/2194-0517-1-2>.
- [2] Arango-Ospina M, Boccaccini AR. Bioactive glasses and ceramics for tissue engineering. *Tissue Engineering Using Ceramics and Polymers, Third Edition* 2022:111–78. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820508-2.00019-2>.
- [3] Sergi R, Bellucci D, Cannillo V. A review of bioactive glass/natural polymer composites: State of the art. *Materials* 2020;13:1–38. <https://doi.org/10.3390/ma13235560>.
- [4] Schiltz L, Grivetti E, Tanner GI, Qazi TH. Recent Advances in Implantable Biomaterials for the Treatment of Volumetric Muscle Loss. *Cells Tissues Organs* 2024;213:486–502. <https://doi.org/10.1159/000536262>.
- [5] Nuge T, Liu Z, Liu X, Ang BC, Andriyana A, Metselaar HSC, Hoque ME. Recent advances in scaffolding from natural-based polymers for volumetric muscle injury. *Molecules* 2021;26. <https://doi.org/10.3390/molecules26030699>.

- [6] Rodriguez Ayala A, Christ G, Griffin D. Cell-scale porosity minimizes foreign body reaction and promotes innervated myofiber formation after volumetric muscle loss. *NPJ Regen Med* 2025;10:12. <https://doi.org/10.1038/s41536-025-00395-1>.
- [7] Loh QL, Choong C. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size. *Tissue Eng Part B Rev* 2013;19:485–502. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2012.0437>.
- [8] Feraru A, Zăvoi A, Magyari K, Tóth ZR, Bobu E, Páll E, Dreanca A, Negoescu A, Taulescu M, Cenariu M, Muresan-Pop M, Gyulavári T, Papuc I, Baia L. Skeletal muscle regeneration using bioactive glass-alginate-cellulose composites. *Int J Biol Macromol* 2025;330:148032. <https://doi.org/10.1016/j.IJBIOMAC.2025.148032>.
- [9] Feraru A, Tóth ZR, Mureşan-Pop M, Baia M, Gyulavári T, Páll E, Turcu RVF, Magyari K, Baia L. Anionic Polysaccharide Cryogels: Interaction and In Vitro Behavior of Alginate–Gum Arabic Composites. *Polymers (Basel)* 2023;15. <https://doi.org/10.3390/polym15081844>.
- [10] Elhoudi M, Oukhrib R, A. Celaya C, G. Araiza D, Abdellaoui Y, Barra I, Brahmi Y, Bourzi H, Reina M, Albourine A, Abou Oualid H. Comparison of green bio-based cerium/alginate vs. copper/alginate beads: a study of vibrational and thermal properties using experimental and theoretical methods. *J Mol Model* 2022;28. <https://doi.org/10.1007/s00894-022-05028-8>.
- [11] Feraru A, Tóth ZR, Magyari K, Baia M, Gyulavári T, Páll E, Licarete E, Costinas C, Cadar O, Papuc I, Baia L. The effect of nanoceria on the alginate-gum arabic crosslinking mechanism and in vitro behavior as a wound dressing. *Int J Biol Macromol* 2025;288. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138569>.
- [12] Atisme TB, Yu CY, Tseng EN, Chen YC, Hsu PK, Chen SY. Interface interactions in conjugated polymer composite with metal oxide nanoparticles. *Nanomaterials* 2019;9. <https://doi.org/10.3390/nano9111534>.