

OBȚINEREA ȘI EXPERTIZAREA UNOR NOI MATERIALE BIOCOMPATIBILE PENTRU APLICAȚII MEDICALE

–MedicalMetMat –

**PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0239
60PCCDI/2018**

**-Raport Științific Tehnic –
ETAPA II**



Proiect P1 - "Aliaje biodegradabile pe bază de Mg pentru implanturi ortopedice - ORTOMAG"

Etapa 2-1. Elaborarea aliajelor biodegradabile în sistemele ternare Mg-Ca/Mn/Gd, caracterizare fizico-chimică și mecanică, testare parțială in vitro și in vivo - rezumat –

În data de 18.05.2019, în cadrul conferinței Euroinvent - 2019, în sala Voievozilor, la ora 10:00 a avut loc Workshopul proiectului complex 60PCCDI/2018 pentru etapa II. La eveniment au participat responsabilii parteneri și directorii de proiecte componente de la fiecare partener în parte, cât și membrii acestora. S-au pus în dezbatere rezultatele etapei I conform activităților din planul de realizare, indicatorii de rezultat realizați de fiecare partener în parte, cât și sincopel pe care le-au întâmpinat fiecare instituție în parte. Directorul de proiect, Prof. Munteanu Corneliu a prezentat activitățile desfășurate de fiecare instituție și contribuțiile acestora la realizarea indicatorilor de rezultat. Deasemenea au fost stabilite țintele și obiectivele pentru îndeplinirea atribuțiilor aferente etapei II.



Figura 1. Imagini de la Workshop-ul 60PCCDI – 2018 – etapa II a proiectului complex și a proiectelor componente [Euroinvent –ICIR 2019]

În cadrul prezentei etape partenerul **USAMV Iași** a efectuat determinări in vivo pe model animal evidențiind faptul că observațiile clinice efectuate la 24 de ore au pus în evidență o reacție tisulară pronunțată pentru trei aliaje cu Mn: în regiunea lombară Mn 3.3 și în regiunea femurală Mn 3.4 și Mn 3.5. Reacția tisulară medie a fost observată la cinci dintre aliajele implantate lombar (Zr 1.2, Zr 1.3, Zr 1.4; Y 2.3 și Mn 3.2) și pentru nouă aliaje implantate în regiunea femurală (Zr 1.2, Zr 1.4; Y 2.2, Y 2.3, Y2.4 și Mn 3.1, Mn 3.2, Mn 3.3, Mn 3.4). O ușoară reacție tisulară a fost observată la restul loturilor.

După o săptămână reacția tisulară medie a fost prezentă, în regiunea lombară la: Zr 1.2, Zr 1.4 și Mn 3.3 și regiunea lombară la: Zr 1.4 și în regiunea femurală la: Zr 1.2, Y 2.3, Mn 3.3, Mn 3.4, Mn 3.5. O ușoară reacție tisulară a fost observată la restul loturilor cu excepția Y 2.5 la care reacția locală a fost absentă.

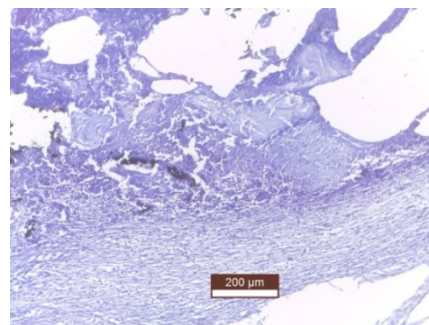
În cea de-a doua săptămână s-a observat reacție locală medie în regiunea lombară

pentru Zr 1.2, Mn 3.3 și regiunea femurală Mn 3.3, Mn 3.4. O reacție ușoară a fost prezentă în regiunea lombară: Zr 1.4, Y 2.3, Y 2.4, Mn 3.5 și în regiunea femurală: Zr 1.2, Zr 1.4, Y 2.1, Y 2.2, Y 2.3, Y 2.4, Mn 3.1, Mn 3.2 și Mn 3.3.

La patru săptămâni au prezentat ușoară reacție locală lombară: Zr 1.2, Zr 1.4, Y 2.3, Mn 3.3 și în reg. femurală: Zr 1.2, Y 2.2, Mn 3.2 și Mn 3.4.

La opt săptămâni reacția locală a fost absentă la loturile cu Zr și Y.

Rezultatele examenelor clinice au constatat o reacție locală puternică majoritar pentru aliajele cu Mn comparativ cu cele cu Zr și Y la care au fost prezente reacții locale medii sau ușoare. Ratele de formare și absorbție ale hidrogenului gazos în cazul implanturilor, care au conținut Mangan au fost mai rapide, în timp ce pentru implanturile cu Ytriu și Zirconiu a fost evaluată o formare mai mică de bule de gaz.



Rezultatele examenelor imagistice

Examenele imagistice efectuate, radiologic și CT, au confirmat prezența gazelor peri-implant, precum și în țesuturile adiacente. Cantități mici de aliaj și de hidrogen gazos au fost confirmate și în cea de-a opta săptămână pentru toate loturile, deși reacția locală a fost absentă. O resorbție mai bună a aliajului pentru loturile Zr 1.2, Zr 1.4, Y 2.3, Mn 3.3, Mn 3.4 și Mn 3.5.

Rezultatele examenelor histologice

Examenle histologice realizate la o săptămână au pus în evidență pentru toate aliajele implantate reacția inflamatorie intensă, fiind reprezentată de prezența macrofagelor și neutrofile în jurul materialului implantat, cât și de o reacție periferică importantă tradusă prin hiperplazia fibroblastelor și a fibrelor de collagen. Sunt prezente în jurul materialului implantat spații goale corespunzătoare, acumulărilor de gaz provenite din resorbția materialului. Zone de material implantat resorbit parțial, delimitate de o reacție fibroasă periferică; vacuole mari delimitate de țesutul conjunctiv neoformat în apropierea materialului.

Examenle histologice realizate la o lună au pus în evidență o resorbție mai intensă a materialului implantat și prezenta în spații intratisulare vacuolare mari, ocupate, de gaze rezultate din descompunerea/resorbția tisulară a materialului utilizat pentru aliajele cu Mn comparative cu cele cu Zirconiu și Ytriu.

Examenle histologice realizate la două luni pentru aliajele cu Zirconiu și Ytriu au evidențiat biocompatibilitate a materialului implantat, evidențiată prin lipsa procesului inflamator și prin țesutul conjunctiv peri-implant. Resorbție importantă a materialului implantat cu eliberare de gaze (spații goale delimitate de țesut conjunctiv) și inflamație subacută-cronică periferică pentru aliajele cu Ytriu comparativ cu cele cu Zirconiu.

În cadrul Etapei Nr. 2, echipa partenerului – **UMF Iași** a realizat testele de citocompatibilitate ale aliajelor din sistemele $Mg_{100}-(n+x)-Ca(n)-Y(x)$ și $Mg_{100}-(n+x)-Ca(n)-Mn(x)$, prin incubarea celulelor de tip fibroblastic (la 37°C, în atmosferă cu umiditate 95% și 5% dioxid de carbon) cu aliajele studiate, pentru intervale de timp de 1, 3 și 5 zile (după prealabila curățare și sterilizare a eșantioanelor), iar ulterior au fost realizate studii de viabilitate celulară (test colorimetric cantitativ cu MTT) și morfologie celulară (prin marcaj fluorescent al celulelor cu calceină și achiziție de imagini prin microscopie de fluorescență). Testele de citocompatibilitate s-au realizat prin aplicarea unei metode intermediare (prin care aliajele au fost imersate/suspendate în godeu) între testul prin contact direct și cel prin contact indirect, iar în acest caz celulele nu au fost expuse doar la un extract, ci la suma fenomenelor care au loc la contactul probelor cu mediul de cultură.

Cele mai semnificative rezultate și concluziile corespunzătoare se prezintă în

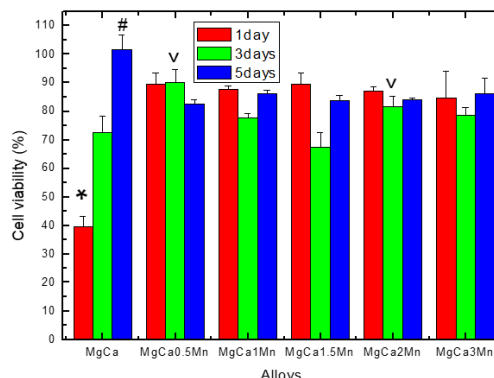
continuare:

1. Activitatea A.2.2. Studiul citocompatibilității in vitro a aliajelor elaborate din sistemul Mg100-(n+x)-Ca(n)-Y(x)

Faptul că nivelul viabilității înregistrat la 3 zile pentru aliajele în sistemul Mg-Ca-Y cu un conținut de Y de 1.5%, 2% și respectiv 3% a fost la valori de peste 70% ne permite să apreciem că aceste aliaje nu au un caracter citotoxic și aceasta cu atât mai mult cu cât testele de citocompatibilitate s-au realizat prin aplicarea unei metode prin care celulele au fost expuse la suma fenomenelor care au loc la contactul aliajelor cu mediul de cultură (degradare și eliberare de hidrogen și ioni metalici). Mai mult, scăderea viabilității celulare după 5 zile până la valori apropiate de 50% mai ales în cazul aliajelor cu un conținut de Y de 1.5%, 2% și respectiv 3% (și sub 50% în cazul celorlalte aliaje) ar putea fi pusă pe seama unui cumul de factori (modificarea pH-ului ce poate afecta activitatea metabolică, eliberarea masivă de ioni din aliaj și precipitarea de săruri cu efect inhibitor ori toxic, creșterea osmolarității drept consecință a reactivității ce poate conduce la șoc hiperosmotic) întrucât testele in vitro se desfășoară într-un sistem static, dar este posibil ca in vivo, în condițiile unui micromediu guvernat de procese de transport activ, fenomenele fizico-chimice ce însoțesc biodegradarea aliajelor pe bază de magneziu să fie foarte bine echilibrate, iar rezultate de biodegradare in vivo și osteointegrare să fie unele optime.

2. Activitatea A.2.6. Studiul citocompatibilității in vitro a aliajelor elaborate din sistemul Mg100-(n+x)-Ca(n) -Mn(x)

Întrucât nivelul viabilității înregistrat atât după 1 zi (84,82 – 89,65%) cât și după 5 zile (82,43 – 86,20%) de coincubare a fost statistic similar pentru toate aliajele Mg-Ca-Mn studiate, putem aprecia (în baza standardului ISO 10993-5) că aliaje Mg-Ca-Mn studiate nu au pe termen lung un caracter citotoxic și aceasta ținând cont de condițiile de realizare a testelor, prin expunerea celulelor la ansamblul fenomenelor fizico-chimice ce au loc cu ocazia degradării aliajelor în mediul de cultură (eliberare de hidrogen și ioni metalici, care pot modifica pH-ul și osmolaritatea). Mai mult, rezultatele par să indice faptul că este suficient un procent de doar 0.5% Mn pentru a se îmbunătăți stabilitatea chimică și prin aceasta citocompatibilitatea și din acest punct de vedere, ar putea oferi o oarecare flexibilitate în alegerea aliajului adecvat pentru o aplicație medicală specifică în funcție și de parametrii mecanici și de rezistență la coroziune specifici fiecărui aliaj în parte.

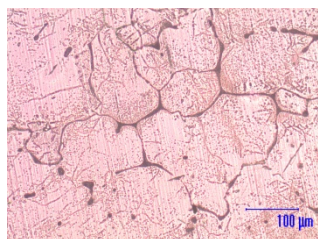


În proiectul ***Aliaje biodegradabile pe baza de Mg pentru implanturi ortopedice***–acronim **ORTOMAG**, etapa 2 a debutat la 01 ianuarie 2019, partener **P8 - INCDFIT Iasi** a fost implicat în realizarea a **trei activități** astfel: **Act.2.5** în cadrul activităților de cercetare privind identificarea și consolidarea cunoștințelor privind determinarea frecvențelor și a modurilor de rezonanță US pentru esantioane cu geometrii simplificate și proprietăți de material similare cu cele ale implanturilor ortopedice a fost elaborat **un model fizic** care permite *predictia frecvențelor de rezonanță*, analiza *amplitudinii semnalului US* și *variația acestuia* funcție de *gradul de porozitate* și de *prezența discontinuităților* (fisuri, elemente de aliere netopite, incluziuni) pentru forme geometrice simple de aliaje din clasa Mg 0.5Ca-xMn cu x=[0.5;1;1.5;2;3] %wt. S-a ales ca model un paralelipiped cu latura de 10mm excitat pe diagonala principală, pe diagonalele fetelor și pe fete deoarece modelul dezvoltat pentru calculul frecvențelor de rezonanță asigură în timpul vibrațiilor un cuplaj slab elastic senzorilor US. Suplimentar în aplicarea tipică a metodei, o probă cubică sau paralelipipedică este susținută de senzori de US la două colțuri opuse. S-au determinat prin măsurătorile de US

valorile vitezelor de propagare în materiale, modulele de elasticitate, forfecare și coeficienții Poisson pentru fiecare tip de aliaj, rezultatele fiind încărcate în simulator pentru predicția de timp de viață pe baza variației coeficientului Poisson a modurilor de oscilație. Aliajele Mg 0.5Ca-xMn evaluate prin metoda RUS sau prin US care prezintă pori/grupuri de pori (văzute ca un singur por) la suprafață sau la 1.0 mm sub suprafață, produce o scădere de 15% a rezonanței totale a materialului în domeniul intervalului rezonant spectral și o modificare în amplitudine cu mutarea spre frecvențe joase a spectrului. În toate aliajele s-a găsit o asimetrie de deformare (diferențe între tensiune și stresul de compresie). Aceasta asimetrie scade odată cu scăderea măririi graunților și, oarecum și cu conținutul din ce în ce mai mare de solut, precum Mn. S-a observat prin utilizarea tehnicii *de emisie acustică* că, prin adăugarea de Mn în aliajul binar Mg-0.5Ca, rezistența la compresie și alungirea pot fi îmbunătățite semnificativ. **Act.2.9** a avut ca obiectiv măsuratori utilizând tehnici US pentru aliaje din sistemul Mg0.5Ca-xGd. S-a determinat rezistența la compresie, modulul Young, coeficientul Poisson, masa volumică pentru fiecare probă. În aceste condiții rezultă că pentru $\nu = 0.30 \div 0.31$, G are valori în intervalul $[15.74 \div 18.43]$ GPa, iar modulul de elasticitate E are valori în intervalul $[41.43 \div 48.55]$ GPa; pentru concentrațiile $x = [0.5 \div 3]$ %wt Gd. Adăosul de Gd în procent stabilit a priori în aliajele Mg 0.5Ca-xGd a determinat o creștere ușoară a modulului de elasticitate și o scădere a ratei de degradare. În testarea prin metoda AE s-a observat că rata de degradare a scăzut până la 3% pentru adăosul în procent maxim 2%wt Gd. Din analiza vitezelor de propagare în probe s-a observat că adăugarea de *Gd îmbunătățește proprietățile de rezistență* prin întărirea aliajelor de Mg. **Act. 2.10** a avut ca obiectiv *diseminarea de informații*. Au fost comunicate **3 lucrări științifice la manifestări științifice internaționale** (cu publicarea integrală a conținutului lucrării-peste 4 pagini) în proceedings-ul manifestării având ISSN și publicate **3 lucrări**.

S-a urmărit obținerea unui **model teoretic** și **dezvoltarea unui cod numeric** care să permită **predicția frecvențelor proprii de rezonanță** a unor solide elastice cu forme geometrice relative simple. Modelul și codul numeric RUS, permit punerea în evidență a modurilor de vibrație pentru probe cu densitate normală și subnormală, atât pentru același nivel de frecvență cât și la frecvențe diferite, în mediul SolidWorks 2017.

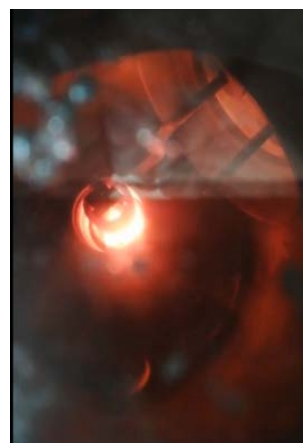
Coordonatorul proiectului component 1 – TUIASI împreună cu partenerul P1 – **UPB București** au contribuit la realizarea activităților de elaborare, analize microstructurale prin microscopie optică, electronică și difracție de raze X și identificarea proprietăților mecanice prin analize de micro-indentare și micro-scratch.



De asemenea s-au realizat teste electrochimice pentru identificarea vitezei de coroziune a aliajelor biodegradabile pe baza de magneziu-calcium-mangan/gadolinium.

Analizele microstructurale evidențiază structuri omogene cu formarea unor compuși chimici specifici, α -Mg, Mg_2Ca și $Mg_{0.975}Mn_{0.025}$, $MgGd_3$. Compusul Mg_2Ca este situat la limitele dintre grănuții de magneziu, formând un eutectic pelicular cu magneziu, iar manganul este dizolvat în soluție solidă în magneziu. Gadoliniul este evidențiat independent sub formă globulară sau aciculară, uniform distribuit în masa metalică pe bază de Mg-Ca.

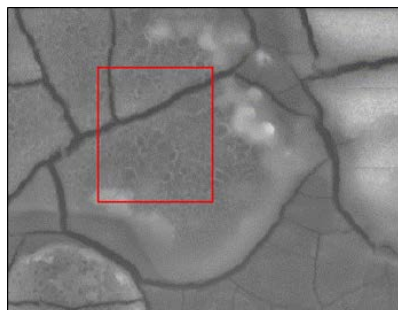
În urma încercărilor de tip mecanic s-au evidențiat faptul că valorile de duritate ale probelor Mg-Ca-Mn sunt cuprinse între în jur de 32.70 și 41.14 HV3 și se observă un caracter descrescător a valorilor odată cu creșterea concentrației de mangan. Valorile de duritate ale probelor Mg-0.5Ca-xGd sunt în jur de 42-45 HV3. Valoarea de duritate a probei



1 este 45.46 HV3, iar valoarea de duritate a probei 5 este de 37.50HV3, evidențiindu-se un caracter descrescător al valorilor odată cu creșterea concentrației de gadolinu.

Din analiza rezultatelor înregistrate în cazul experimentelor de rezistență la electrocoroziune s-a observat că cea mai mare viteză de coroziune pentru sistemul Mg-Ca-Mn o prezintă aliajul cu 0.5% Mn respectiv 0.85 mm/an iar cea mai mică aliajul cu 3% respectiv 0.55 mm/an. Curbele ciclice de polarizare indică pentru toate probele o coroziune generalizată a suprafeței mai accentuată în cazul probelor cu 1 respectiv 2%Mn.

Aliajele experimentale au prezentat, în toate cazurile, o corodare combinată între corodarea galvanică, cea intercristalină și cea în puncte. Manganul crește semnificativ rezistența la coroziune a aliajului MgCa o dată cu creșterea procentajului acestuia peste 0,5%. Prezența sărurilor pe bază de clor a fost mai mare în cazul probei cu 0.5% Mn și cea mai mică în cazul probei cu 2%Mn. Pe proba cu 3% Mn s-a format un strat mai rezistent de oxizi compuși din oxizii de magneziu și oxizii de mangan. Cu excepția probei cu 0.5%Mn toate celelalte probe prezintă procentaje mai ridicate de calciu datorită trecerii parțiale a acestuia din soluție pe suprafața aliajelor experimentale.



În cazul sistemului Mg-Ca-Gd, prin adăugarea elementului gadolinu în aliajul MgCa acesta își îmbunătățește semnificativ rezistența la electrocoroziune prin formarea fazei $MgGd_3$ dispersată omogen în masa generală de magneziu. Curbele ciclice prezintă o corodare generalizată în toate cazurile analizate cu reacții participante de oxidare și de reducere aproape în mod egal. Dispersarea acestuia în aliaj ajută la procesul de corodare generalizată a aliajului experimental formând puncte de început de corodare ce împart stratul de oxid de magneziu în arii mult mai mici.

Stratul de oxid de magneziu se găsește în diverse stadii de la dimensiuni nanometrice și foarte bine atașate substratului (prima fază de oxidare până la pasivarea suprafeței) până la straturi de ordinul zecilor de micrometri exfoliate de pe suprafață total sau parțial. Compușii pe bază de clor au fost observați pe majoritatea suprafețelor corodate (excepție făcând aliajele cu 1 respectiv 3% Cl) sub forma unor compuși aderați la substrat cu dimensiuni de la câteva zeci de nanometri la câteva zeci de micrometri.

Diseminarea rezultatelor – TUIASI, UPB, IFT, UMF, USAMV

Rezultatele etapei 2/2019 au fost diseminate după cum urmează:

- lucrări comunicate la conferințe naționale și internaționale: 11
- participare conferințe: 8
- lucrări publicate : 1 lucrare ISI cu factor de impact ; 4 lucrări ISI proceedings ;
- brevete naționale: 2

Prezentarea valorificării/ îmbunătățirii competentelor/ resurselor existente la nivelul consortului (cecuri):

- ☐ CEC în valoare de 9000 lei pentru servicii de cercetare: "Procesare și pregătire esantioane experimentale specifice cu suprafețe modificate prin metode mecanice a unor aliaje de magneziu din sistemul Mg-Ca-Mn și Mg-Ca-Mn. TUIASI - UPB
- ☐ CEC în valoare de 4140 lei pentru servicii de cercetare: "Debitarea și pregătirea unor substraturi metalice din aliaje biocompatibile aferente etapei II". TUIASI – INOE 2000
- ☐ CEC în valoare de 2768 lei pentru servicii de cercetare: "Proiectarea și realizarea în 3D a unor modele de implanturi pentru testări in vivo pentru mediul animal". USAMV – TUIASI
- ☐ CEC în valoare de 6262 lei pentru servicii de cercetare: "Testări prin emisie acustică pe aliaje de magneziu". IFT Iasi - TUIASI
- ☐ CEC în valoare de 6262 lei pentru servicii de cercetare: "Acoperirea unor probe din sistemul sistemul Mg-Ca-Mn și Mg-Ca-Gd". INOE 2000 – TUIASI

Proiect P2 - Aliaje biocompatibile pe bază de titan pentru protetică medicală din sisteme complexe microaliante – BioTIT

Etapa 2. Obținerea, pregătirea probelor și caracterizarea preliminară a aliajelor TiMoSi. Realizare loturi experimentale și optimizate - rezumat –

Activitatea 2-1. Optimizarea tehnologiei de obținere a aliajelor TiMoSi- elaborare protocol. Obținerea șarjelor optimizate de aliaje (minim 8 retete) – UPB

Procedeu de retopire cu arc în vid RAV sau VAR (Vacum Arc Remelting) este un procedeu utilizat și în România la elaborarea aliajelor. Procedeu în sine este utilizat pentru retopirea lingourilor și rafinarea structurii prin utilizarea electrozilor consumabili din titan sau aliaje de titan. Procedeu în sine poate fi utilizat și la obținerea aliajelor speciale, superaliajelor, a aliajelor de titan și zirconiu.

Au fost obținute 8 aliaje din sistemul TiMoSi, elaborarea aliajelor de TiMoSi s-a realizat cu ajutorul instalației de topire cu arc în vid. Aceasta a avut loc prin topirea elementelor, urmată de retopirea aliajului de șase ori, operație necesară în vederea rafinării și omogenizării aliajelor. Topirea elementelor a avut loc uniform rezultând aliaje cu o compoziție chimică precisă și omogenă.

După solidificare au fost obținute câte un semifabricat din fiecare aliaj sub formă de lingou, cu o cantitate suficientă pentru prelevarea epruvetelor necesare tuturor testelor de laborator propuse.

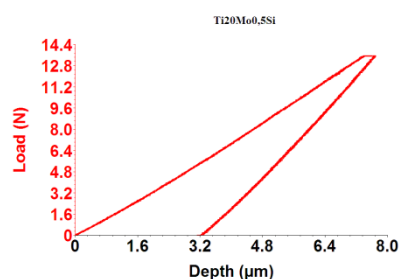
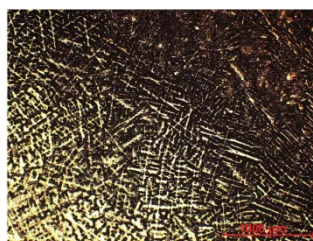
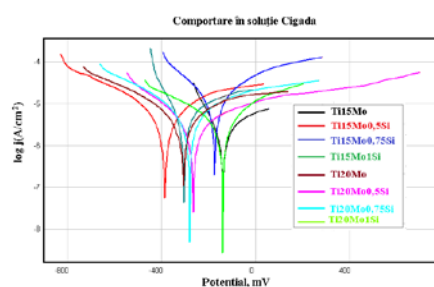
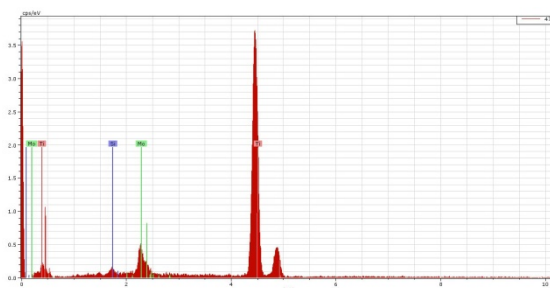


Activitatea 2-2. Caracterizarea fizico-chimică și mecanică a probelor – TUIASI

Biomaterialele trebuie să îndeplinească anumite cerințe și să se țină cont de câteva caracteristici importante. Proprietățile de interes în utilizarea acestor aliaje sunt: proprietăți mecanice, rezistență la coroziune și biocompatibilitate.

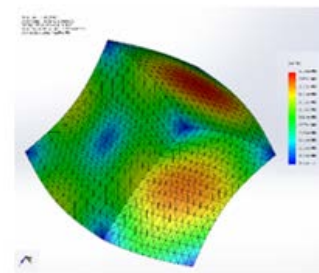
Această activitate a vizat o caracterizare a aliajelor TiMoSi elaborate, din punct de vedere structural, mecanic și chimic. Prin investigațiile de laborator realizate în această etapă, s-au obținut:

- Compoziția elementală - pentru determinarea procentelor elementelor chimice ce alcătuiesc aliajele de TiMoSi elaborate;
- Caracterizare structurală – este necesară pentru studierea microstructurii, orientarea cristalografică, textura și identificarea fazelor constituențe;
- Caracterizare mecanică – au evidențiat unele proprietăți mecanice a aliajelor de TiMoSi elaborate: duritate, modul de elasticitate;
- Rezistența la coroziune – determină stabilitatea aliajelor propuse în lichidul uman.



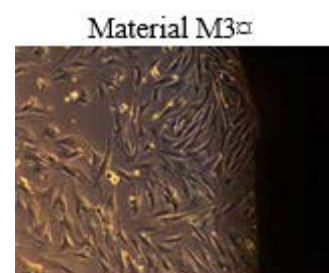
Activitatea 2-2-3 Determinarea experimentală a matricei de elasticitate, a uzurii și a vitezei de propagare a fisurilor pentru elemente de proteze din sisteme complexe microaliate – IFT

Cercetările întreprinse în această activitate se înscriu în contextul efortului internațional de investigare a proprietăților fizico-mecanice a materialelor sub formă de aliaje biocompatibile, eforturile tinzând către obținerea unor aliaje care să permită realizarea de implanturi inerte și rezistente la coroziune. Au fost dezvoltate modele teoretice și a fost utilizată experiența în domeniul evaluărilor neinvazive de materiale a partenerului P8. Combinând metodele de testare nedistructivă (NDT/E) a fost validat modelul teoretic dezvoltat prin măsurarea vitezelor de propagare a undelor elastice în materiale din *sisteme complexe microaliate* tip Ti xMo ySi unde $x=[15; 20]$ și $y=[0.5;0.75;1]\%$ wt. Pentru a pune în evidență existența neomogenităților de tip pori, care au dimensiuni mai mari de $10^{-3}\mu\text{m}$ s-a folosit tehnica US. Au fost realizate teste de punere în evidență a neomogenității materialelor din *sisteme complexe microaliate* prin utilizarea ariilor de sensori US calați pe fază, cuplați cu un echipament PHASOR XS – General Electric. A fost determinată matricea de elasticitate și elementele matricii pentru materiale din sisteme complexe microaliate, cercetările efectuate permit caracterizarea proprietăților fizico-chimice și mecanice cât și influența discontinuităților asupra calității și performanței aliajelor.



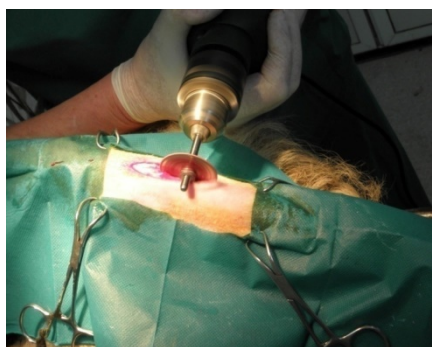
Activitatea 2-2-4. Studiul citocompatibilității in vitro a aliajelor elaborate din sistemul TiMoSi – UMF

Pentru evaluarea citotoxicității celulare, suporturile, care în prealabil au fost sterilizate, au fost aduse în contact direct cu fibroblaste și osteoblaste timp de 24h, 48h și 72h, apoi s-a analizat efectul materialelor asupra viabilității celulare și s-a analizat morfologia celulelor. Rezultatele obținute indică posibilitatea utilizării aliajelor metalice obținute în aplicații legate de implantologia în țesutul osos. Testele realizate în cadrul etapei au permis selectarea tipurilor de compoziții a aliajelor metalice și procedeele de realizare a acestora.



Activitatea 2-2-5. Stabilirea design-ului implanturilor necesare și a modelului experimental in vivo – USAMV

Experimentele s-a desfășurat în cadrul Facultății de Medicină Veterinară Iași, constând în testarea biocompatibilității unor aliaje Ti-Mo și TiMoSi în diferite procente de concentrație pe specia *Ovis aries*, utilizând exemplare de femele adulte. Exemplarele au fost cazate în cadrul Spitalizării FMV Iași pe o perioadă de 2,5 luni, perioada derulării experimentului, asigurându-se condițiile de cazare, igienă și alimentație corespunzătoare, conform Directivei EU 60/2010 și a Legii 43/2014 privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice completată de Legea 199/2018, precum și a celorlalte acte normative în vigoare la data efectuării experimentelor.

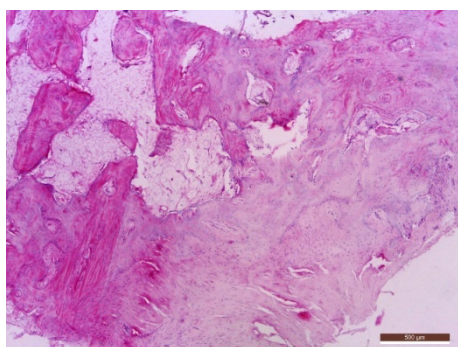


a)

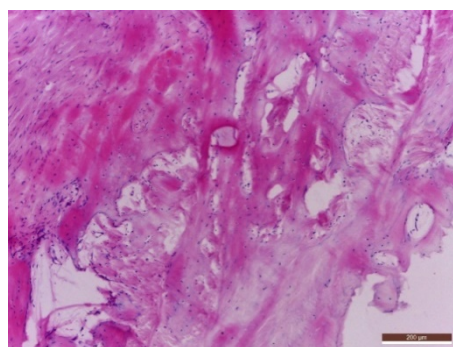


b)

a) Crearea canalului de implantare b) Decolarea periostului de pe compacta osoasă



a)



b)

Aliaj 6 Ti20Mo0,5Si Col HE: a) x40, b)x400

Tehnica de aplicare a implanturilor s-a efectuat după un protocol chirurgical specific. Loturile de oi supuse experimentului au fost cântărite, înregistrându-se greutatea, animalelor care a variat între 38 și 50 kg, acest aspect fiind extrem de important în dozarea anesteziei administrate. Liniștea operatorie s-a asigurat cu preparatul Xilazină, 0,5 mg/kgcorp.

Activitate 2-2-6. Diseminarea rezultatelor – TUIASI, UPB, IFT, UMF, USAMV

Rezultatele etapei 2/2019 au fost diseminate după cum urmează:

- lucrări comunicate la conferințe naționale și internaționale: 23
- lucrări publicate: 9

Prezentarea structurii ofertei de servicii de cercetare și tehnologice cu indicarea link-ului din platforma Erris:

Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași, prin Centrul de Cercetare și Excelență în Ingineria Materialelor (CECIM) din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Materialelor oferă servicii de cercetare și tehnologice, după cum urmează:

SERVICII DE CERCETARE:

- [Sinteza materialelor metalice](#)
- [Analize chimice și microstructurale](#)
- [termo-fizice de analiză](#)
- [Analiza mecanică](#)
- [prelucrarea metalurgică](#)
- [Obținerea și caracterizarea straturilor](#)

SERVICII TEHNOLOGICE:

- [Proiectarea, simularea și proiectarea prototip](#)
- <https://erris.gov.ro/Centrul-de-Cercetare-in-Ingi-2>

Universitatea POLITEHNICA din București, prin Centrul de Cercetare și Expertizare Materiale Speciale – CEMS din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Materialelor oferă servicii de cercetare și tehnologice, după cum urmează:

SERVICII DE CERCETARE: cercetare fundamentală și aplicativă asupra proceselor și tehnologiilor de elaborare a materialelor; cercetări fundamentale și aplicative privind prelucrarea materialelor metalice; eficientizarea proceselor din domeniul metalurgic, prin controlul inteligent cu calculatorul al proceselor de elaborare și rafinare; cercetări privind ecologizarea tehnologiilor metalurgice; analiza și investigarea structurii și proprietăților materialelor; cercetări fundamentale și aplicative asupra structurii fine a materialelor, asupra posibilităților de îmbunătățire a caracteristicilor funcționale ale materialelor prin tratamente termice, termochimice și termomecanice, prin depuneri de straturi subțiri și a proprietăților tribologice ale materialelor speciale.

SERVICII TEHNOLOGICE: elaborarea și procesarea materialelor metalice utilizate în domenii high-tech ale industriei (oțeluri, fonte, feroaliaje, materiale și aliaje neferoase, materiale compozite, materiale amorfe și nanocristaline, superplastice, biomateriale, aliaje super ușoare etc); proiectarea de noi tehnologii și materiale speciale (materiale biocompatibile, aliaje neferoase de înaltă rezistență, materiale amorfe și nanocristaline, compozite, materiale metalice speciale pentru electronică și aeronautică, oțeluri speciale); servicii de instruire și educație, stagii de lucru și specializare. <http://erris.gov.ro/FSIM-UPB>

INCDFI Iasi ofera servicii de cercetare si tehnologice astfel:

SERVICII DE CERCETARE: Analiza structurala, morfologica, topologica si compositionala a materialelor; Analiza proprietatilor electrice, magnetice si optice a materialelor; Masuratori electromagnetice si de ultrasunete

SERVICII TEHNOLOGICE: Servicii tehnologice pentru fabricarea de materiale avansate, micro- si nanomateriale, dispozitive si senzori; Servicii de instruire si educatie, stagii de lucru.

<https://erris.gov.ro/IFT-Iasi>

Universitatea de Medicină și Farmacie “Grigore T. Popa” oferă servicii de cercetare și tehnologice astfel:

Training and Research Center in Tissue Engineering

Domains of activity: Cell Culture Facilities, Materials Synthesis or Testing Facilities,

Micro and Nanotechnology Facilities

Infrastructura direct public link in ERRIS: <https://erris.gov.ro/Centrul-de-Cercetare-si-Formare->

Infrastructura disponibilă în [UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ „ION IONESCU DE LA BRAD” IASI](https://erris.gov.ro/FACULTY-OF-VETERINARY-MEDICINE), FACULTATEA DE MEDICINA VETERINARA, permite diverse activități de cercetare în domeniul științelor fundamentale, a sănătății publice, și științe clinice. Domenii de activitate: Centre de Clinical Research, Biomedical Imaging, Centre de cercetare translațională, Sănătate Publică.

<https://erris.gov.ro/FACULTY-OF-VETERINARY-MEDICINE>

Prezentarea valorificării/ îmbunătățirii competențelor/ resurselor existente la nivelul consorțiului (cecuri):

Au fost utilizate două cecuri tip A:

- CEC în valoare de 6683 lei pentru servicii de cercetare cercetare cu privire la investigații asupra aliajelor de titan, determinarea unghiului de contact a unor aliaje pe bază de titan, servicii oferite de UPB – partener în proiect;
- CEC în valoare de 9000 lei pentru servicii de cercetare privind ”Evaluarea efectului numărului de retopiri asupra caracteristicilor structural și proprietăților aliajelor dentare cu baza Co-Cr”, servicii oferite către UPB – partener în proiect.

PROIECT COMPONENT P3
- Dezvoltarea unor noi aliaje dentare cu ruteniu – BIODENTRUT

Raport științific și tehnic

Etapa II

Perioada: 01.01.2019–31.12.2019

Titlul etapei : *Obținerea, pregătirea probelor și caracterizarea preliminară a aliajelor CoCrMP și a aliajelor acoperite cu straturi subțiri. Realizare loturi experimentale și optimizate*

Activitatea 3-2-1 - Obținerea straturilor subțiri pe bază de carbonitruri pe substraturi din aliaje CrCrMP

Pentru realizarea straturilor subțiri dezvoltate în prezentul proiect, a fost aleasă metoda de depunere cu **arc catodic în atmosferă reactivă**, deoarece este o metodă versatilă, eficientă și cu productivitate mare, generând plasmă cu grad ridicat de ionizare, cu efect benefic asupra calității straturilor depuse. Straturile subțiri dezvoltate în cadrul proiectului sunt straturi de carbonitruri ale metalelor de tranziție (Ti, Cr sau combinații ale acestora, Si ca element de aliere). Astfel, natura catodului și a gazelor de lucru sunt stabilite prin condițiile inițiale impuse de natura straturilor de urmează a fi depuse. Pentru depunerea straturilor de TiCN s-a utilizat o tinta de Ti, pentru CrCN o tinta de Cr, iar pentru straturile TiSiCN și, respectiv, CrSiCN, o tinta de Ti+Si și, respectiv, Cr+Si. În vederea asigurării unei cât mai bune aderențe la substrat a straturilor, probele au fost bombardate cu ioni de Ar^+ (850 V, 10 minute). Parametrii utilizați pentru depunerea straturilor subțiri sunt dați în Tabelul 1. Presiunea reziduală din incintă trebuie întotdeauna să fie cât mai mică posibil, pentru a evita contaminarea cu oxigen (provenit din aerul atmosferic) a stratului depus. În cazul nostru presiunea maximă reziduală acceptabilă este de 2×10^{-3} Pa. Trebuie să menționăm că straturile au fost realizate în aceleași condiții ca și cele din etapa precedentă. În urma rezultatelor obținute în etapa precedentă, s-a tras concluzia că straturile depuse la o tensiune de polarizare a substratului de -150V au îndeplinit toate calitățile impuse pentru aplicația urmărită în proiect. De aceea, în cele ce urmează au fost selectate doar acele straturi obținute la -150V și caracterizate în detaliu.

Activitatea 3-2-2 - Caracterizarea fizico-chimică și mecanică a probelor din aliaje dentare optimizate și acoperite cu carbonitruri

Obținerea și caracterizarea fizico-chimică a probelor din aliaje dentare optimizate

Etapile procesului de realizare a aliajelor CoCrMP sunt aceleași, indiferent de tipul de aliaj format, respectiv: selectarea elementelor de aliere și a cantităților utilizate, omogenizarea și topirea acestora, turnarea. În această etapă au fost obținute aliajele dentare optimizate din sistemul Co-Cr-MP. Au fost realizate patru aliaje experimentale CoCrMP. Metalele prețioase utilizate ca elemente de aliere pentru dezvoltarea unor noi aliaje dentare cu bază Co-Cr optimizate cu metale prețioase (Ru, Au și Ag), alături de alte elemente (Mo, Si, Nb, Zr), în diferite variații procentuale. Compozițiile elementale ale noilor aliaje obținute, codificate CoCrMP (Co-Cr-MP1, Co-Cr-MP2, Co-Cr-MP3, Co-Cr-MP4), se regăsesc în Tabelul 2.

Aceste compoziții chimice ale aliajelor dentare optimizate sunt în curs de brevetare.

Tabel 2. Compoziția chimică a aliajelor experimentale din sistemul Co-Cr-MP, comparate cu compoziția chimică a unui aliaj dentar clasic tip Co-Cr, utilizat în stomatologie

Aliaj	Co	Cr	Mo	Si	W	Nb	Ru	Zr	Au	Ag
Co-Cr referință	63	24	2,9	1,1	8,1	0,9				
Co-Cr-MP1	50	24	6	1	-	4	1	12	-	2
Co-Cr-MP2	60	30	4	1	-	-	1	-	2	2
Co-Cr-MP3	60	30	4	1	-	-	1	-	4	-
Co-Cr-MP4	50	24	8	1	-	-	1	12	4	-

Determinarea compoziției elementale a aliajelor utilizate a fost realizată cu ajutorul a doua metode diferite de investigare: Spectrometrie de emisie optică prin excitație cu emisie prin scânteiere electrică în argon (SDAR-OES); Spectrometrie de raze X prin dispersie de energie (EDS).

Eșantioanele experimentale au fost investigate metalografic, pentru a urmări aspectele microstructurale ale noilor aliaje din sistemul Co-Cr-MP. Rezultatele investigațiilor de microscopie optică sunt prezentate în figura 2. Se remarcă faptul că majoritatea aliajelor experimentale au în general o structură dendritică bifazică formată din soluția solidă de Co, iar în spațiul interdendritic se observă prezenta eutecticului. Eutecticul interdendritic este alcătuit din mai multe faze, la care variază conținutul principalelor elemente ce compun sistemul. Aceste aspecte sunt specifice aliajelor Co-Cr turnate. Elementele de aliere noi se poziționează în general la nivelul eutecticului, în spațiile interdendritice. Din punct de vedere microstructural, doar aliajul Co-Cr-MP1 prezintă neomogenități structurale probabil datorită prezenței elementelor Zr și Nb în cantități mari. De asemenea, se mai remarcă aspectul globular al compușilor cu bază aur și distribuția lor relativ omogenă.

De asemenea, asupra aliajelor dentare experimentale din sistemul Co-Cr-MP au fost efectuate determinări de microscopie electronică de baleiaj SEM (aspect general, detaliu microstructural, mapping).

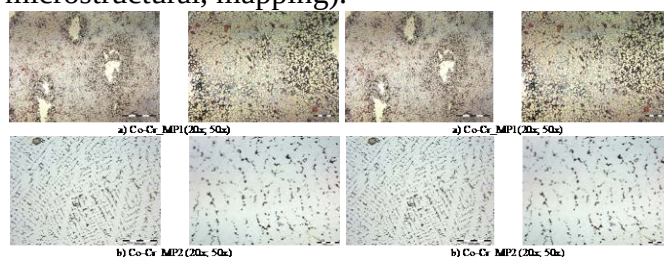


Fig. 2. Aspecte microstructurale obținute cu ajutorul microscopiei optice, corespunzător fiecărui aliaj experimental din sistemul Co-Cr-MP: a) CoCrMP1, b) CoCrMP2, c) CoCrMP3, d) CoCrMP4.

În etapa II (2019) au fost determinate următoarele proprietăți ale straturilor depuse: morfologia suprafeței; duritatea; aderența; tensiunile interne; rugozitatea.

Imaginile SEM în secțiune ale straturilor obținute pe substraturile din Si sunt prezentate în Fig. 4 (mărire x50.000). Se observă că stratul de referință TiCN prezintă structuri columnare cu coloane bine definite de diferite dimensiuni. Pentru stratul cu conținut de Si se observă o

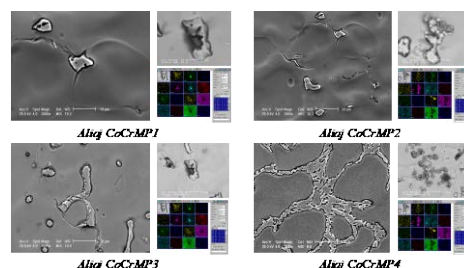


Fig. 3. Determinări de microscopie electronică de baleiaj SEM (aspect general, detaliu microstructural, mapping) corespunzător fiecărui aliaj experimental din sistemul Co-Cr-MP.

structură mai fină și mai compactă, indicand ca adaugarea de Si conduce spre amorfizare.

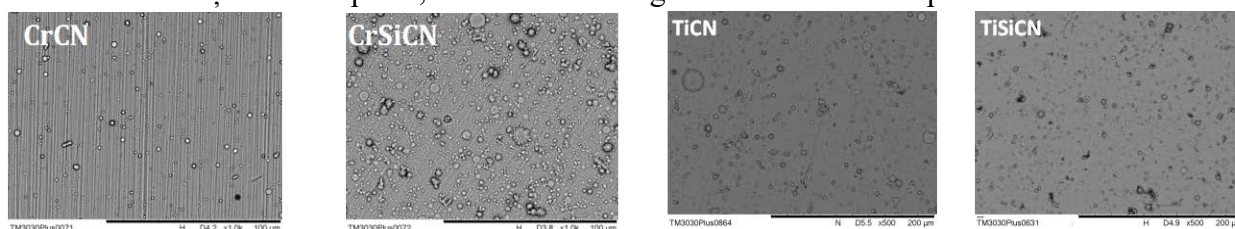


Fig.5. Imaginile SEM ale straturilor investigate

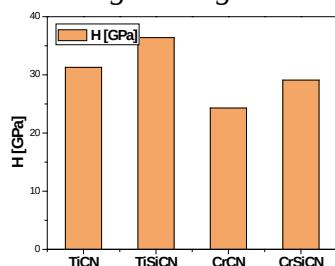


Fig. 6. Duritatile straturilor investigate tensiunile

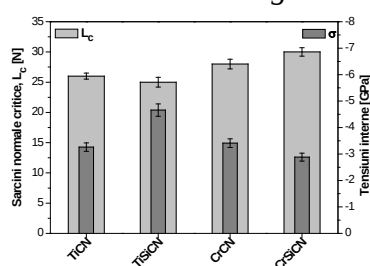


Fig. 7. Sarcinile normale critice și interne ale straturilor investigate

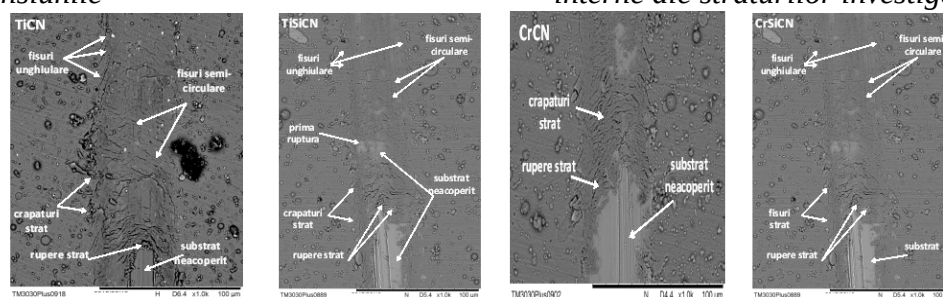


Fig. 8. Imaginile SEM ale urmelor de zgâriere pentru straturile investigate

Rezultatele obținute prin profilometria de suprafață confirmă analizele SEM și anume faptul ca suprafețele sunt rugoase datorita microparticulelor de pe suprafața. Valorile rugozității sunt cuprinse între 182 și 566 nm.

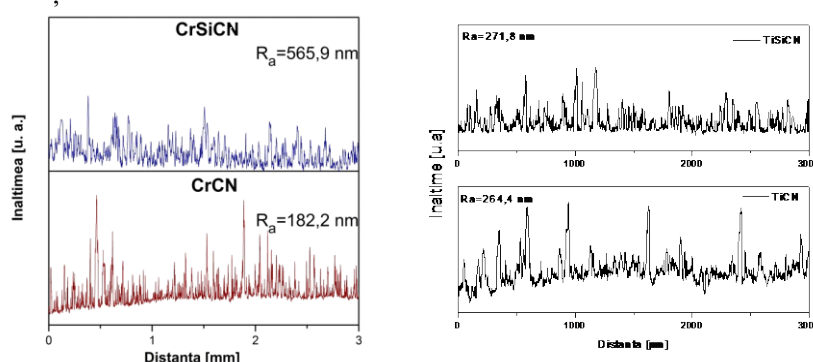


Fig. 9. Profilele de rugozitate ale straturilor studiate

Activitatea 3-2-3 - Caracterizarea rezistenței la coroziune în fluide simulate a suprafețelor probelor din aliaje dentare optimizate și acoperite cu carbonitruri

Rezistența la coroziune, atât a probelor acoperite cu straturi subțiri cât și a substraturilor, a fost determinată prin tehnica polarizării liniare, utilizând un Potentiostat/Galvanostat Parstat 4000. Pentru prezentele analize s-a folosit ca electrod de referință unul saturat de calomel (SCE), electrodul de înregistrare fiind de platina. Electrodul de lucru a constat din probele de investigat (din aliaj neacoperit și acoperit cu straturi subțiri). Probele au fost montate pe un suport din Teflon, astfel încât suprafața supusă coroziunii să aibă o arie

de 1 cm^2 . Testul s-a efectuat în mediul de soluție de salivă artificială Fusayama (compoziția: $0,4 \text{ g l}^{-1} \text{ NaCl}$, $0,4 \text{ g l}^{-1} \text{ KCl}$, $0,69 \text{ g l}^{-1} \text{ NaH}_2\text{PO}_4$, $0,795 \text{ g l}^{-1} \text{ CaCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $0,795 \text{ g l}^{-1} \text{ Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{ H}_2\text{O}$ pH=7,2), la temperatura camerei ($25 \pm 1^\circ\text{C}$). Menționăm ca testele de coroziune au fost efectuate conform standardului ASTM F2129. Înaintea testelor electrochimice, toate probele au fost menținute 60 min în electrolit (salivă artificială) pentru a se putea ajunge la un anumit echilibru la interfața proba-electrolit, înainte de a polariza proba. Din curbele de polarizare (Fig.10) au fost determinați următorii parametri ce caracterizează rezistența la coroziune a probelor: potențialul de coroziune ($E_{i=0}$), densitatea critică a curentului de coroziune (i_{cor}) și rezistența de polarizare (R_p).

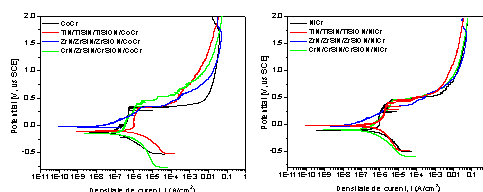


Fig. 10. Curbele potentiodynamice ale substratelor și ale straturilor investigate

În Tabelul 5 sunt prezentați principalii parametri ai procesului de coroziune electrochimică. Este recunoscut că un potențial de coroziune cu valori cât mai electropozitive, o densitate de curent de coroziune mică și o rezistență de polarizare mare indică o bună rezistență la coroziune. Dacă luăm în considerare aceste criterii, putem concluziona că toate straturile îmbunătățesc semnificativ rezistența la coroziune a substratelor. Dintre straturile investigate, se constată că cele de ZrN/ZrSiN/ZrSiON sunt cele mai rezistente la atacul coroziv al salivei, indiferent de natura substratului.

Activitatea 3-2-4 - Studiul citocompatibilității *in vitro* a tuturor variantelor de aliaje elaborate, modificate termo-mecanic și acoperite

În această etapă a fost analizată biocompatibilitatea/citotoxicitatea celor 4 noi compoziții de aliaje din sistemul Cr-Co-MP asupra fibroblastelor gingivale primare umane - linia de celule de tip fibroblast gingival uman (Human Gingival Fibroblast - HGF). Aliajele experimentale au fost codificate diferit, pentru a nu fi influențate rezultatele, astfel: (aliajul Co-Cr-MP1 codificat AC, aliajul Co-Cr-MP1 codificat AD, aliajul Co-Cr-MP1 codificat VC, aliajul Co-Cr-MP1 codificat VD).

Fibroblastele gingivale primare umane - HGF au fost cultivate în medii specifice - Fibroblast bazal mediu (ATCC PCS-201-030), completat cu kit de creștere Fibroblast - ser scăzut (ATCC PCS-201-041) în plăci de cultură de celule T-75. În timpul experimentului, celulele HGF au fost păstrate într-un incubator umidificat prevăzut cu 5% CO_2 la 37°C . Celulele au fost numărate cu ajutorul unui dispozitiv de numărare a celulelor - Contor de celule automatizat Countess™ II (Thermo Fisher Scientific, SUA), în prezența albastru Trypan. Pentru a evalua biocompatibilitatea/citotoxicitatea compușilor de testat pe fibroblastele gingivale primare umane - HGF, s-a efectuat analiza Blue Alamar. Celulele HGF au fost cultivate în plăci cu 96 de godeuri (1×10^4 celule/godeu/ $200 \mu\text{L}$) și au fost lăsate să crească până când s-a ajuns la confluența corespunzătoare (24 - 48 h). S-au adăugat concentrații diferite (50, 100 și 250 pg/ml) de compuși de testare (AC, AD, VC și VD) în mediu de cultură proaspăt, fiind menținuți timp de 24 de ore în contact cu celulele HGF. După 24 de ore, s-a adăugat $20 \mu\text{L}$ de Blue Alamar, incubat timp de 3 ore la 37°C și s-au măsurat valorile de absorbție la 570 și 600 nm, cu ajutorul spectrofotometrului xMark™ Microplate (Biorad). După cum se poate observa în figura 11, AC și AD, acestea nu au modificat forma celulelor HGF la concentrații mici - 50 și 100 pg/ml (stimulare 24 h) în comparație cu celulele de control. Celulele au fost aderente la placă și nu a fost semnalată nici o reducere a creșterii celulelor, ceea ce arată o lipsă de toxicitate. La cea mai mare concentrație testată - 250 pg/ml , s-au observat unele resturi de celule (în special pentru AC).

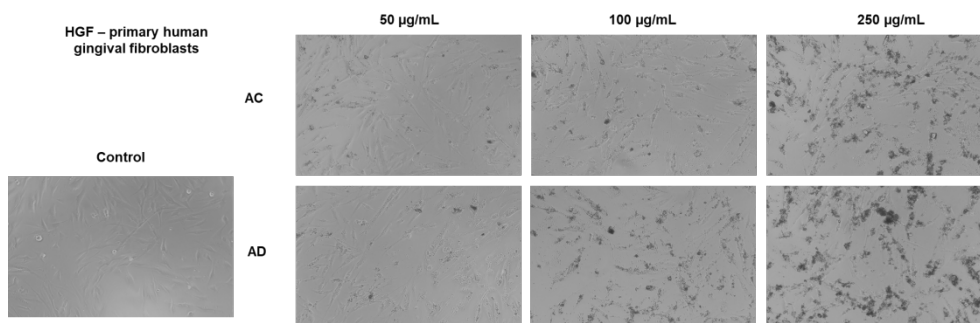


Fig. 11 Aspectul HGF - fibroblaste gingivale primare umane în cultură: Control - celule nestimulate, și celule stimulate cu diferite concentrații de AC și AD (50; 100 și 250 pg/mL) timp de 24 de ore. Imagini macroscopice, 20x

Modificări similare cu cele descrise pentru AC și AD, au fost detectate atunci când celulele au fost stimulate timp de 24 de ore cu VC și VD, la concentrații de 50; 100 și 250 µg/ml (fig. 12). Cele mai mici concentrații testate - 50 și 100 pg/ml nu au avut niciun impact toxic asupra celulelor, forma alungită a celulelor și aderarea lor fiind similară pentru celulele de control. În cazul VD - 250 pg / mL, resturile celulare au fost observate într-o măsură mai mare în comparație cu celelalte celule, ceea ce indică un potențial efect citotoxic. Evaluarea viabilității celulare efectuată cu ajutorul testului BlueAlamar a arătat că cele mai mici concentrații testate (50 și 100 pg/ml) pentru toți compușii supuși testării în acest studiu nu au avut efect citotoxic, procentul de celule viabile fiind în intervalul 95-105% (Figura 13), în comparație cu celulele de control (celule nestimulate).

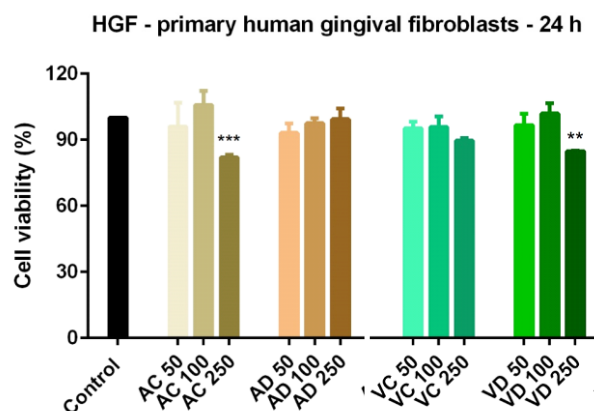


Fig. 13. Impactul compușilor de testare - AC, AD, VC și VD (50; 100 și 250 pg / ml) după stimularea de 24 h asupra fibroblastelor gingivale primare umane - HGF evaluat prin testul Alamar albastru. Datele reprezintă valorile medii $\pm$ SD pentru trei experimente independente. S-au aplicat testele unice de comparare ANOVA și post-hoc Dunnett pentru a determina diferențele statistice în raport cu celulele de control (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ și *** $p < 0,001$).

O scădere a viabilității celulelor a fost înregistrată pentru toți compușii la 250 pg/ml, dar numai în cazul AC și VD, scăderea semnificativă statistic (81,94%; 87,14% și, respectiv, 84,81%) în comparație cu grupul de control. Aceste rezultate arată că doar AC și VD au avut un efect citotoxic minor la cea mai mare concentrație testată - 250 pg/ml, în timp ce restul compușilor pot fi considerați non-citotoxici, date care sunt în concordanță cu rezultatele din evaluarea morfologiei.

În concluzie, aliajele dentare optimizate (din sistemul Co-Cr-MP) și acoperite cu carbonitruri, testate în cadrul studiului de față, pot fi considerate biocompatibile (conform ISO-10993-5, un compus care induce o viabilitate $< 70\%$ din control, are potențial citotoxic), chiar dacă profilul lor citotoxic a fost diferit.

Activitatea 3-2-5 - Placarea cu ceramică dentară a diferitelor substraturi de noi aliaje dentare cu suprafețe optimizate

Pentru cercetare am realizat cate 15 epruvete din fiecare aliaj, utilizand metoda clasică, de turnare. În acest scop am confecționat 60 de machete din ceară albastră de inlay, de formă lamelară, cu grosimea de 0,5mm și cu suprafața netedă, fără macroretenții, pentru a

evita desprinderea sau fracturarea componentei ceramice. Aceste machete au fost pregătite în vederea ambalării prin aplicarea tijelor de turnare, a canalelor de evacuare a gazelor, detensionare și degresare. Ambalarea propriu-zisă a machetei se realizează cu masă de ambalat specifică aliajelor clasice de tip Co-Cr. Acest material- Bellavest SH -se caracterizează prin faptul că se dilată cu același coeficient cu care se va contracta aliajul după turnare, în scopul obținerii unei piese protetice exacte. Materialul a fost preparat la vacuum malaxor în vederea eliminării bulelor de aer și obținerea unui tipar cu foarte fidel.

Placarea s-a realizat urmărind aceleași etape ca și în cazul protezelor metalo-ceramice: aplicarea opacului, a maselor ceramice de bază (dentină și smalț sinterizate separat, la 960°C, în vid și a stratului de glazură, sinterizat la 930°C, în condiții atmosferice normale, folosind incinta de sinterizare Vita MP 2000. Rezultatele obținute demonstrează că parametrii tehnologici sunt aceeași pentru toate cele patru aliaje, neexistând diferențe semnificative în cazul probelor obținute. Cunoașterea particularităților aliajelor și a caracteristicilor fiecărei etape tehnologice permit obținerea unor piese turnate de mare precizie, cu caracteristici biomecanice optime. Cercetarea demonstrează importanța etapelor tehnologice pentru succesul clinic al restaurărilor mixte metalo-ceramice. Realizarea unor structuri metalice cu rezistență bună și biocompatibilitate corespunzătoare, obținerea unei interfețe care să asigure o legătură metalo-ceramică optimă și edificarea corespunzătoare a componentei ceramice, respectând parametrii de sinterizare, sunt factori determinanți, ce influențează longevitatea viitoarelor construcții protetice mixte.

Activitatea 3-2-6 - Evaluarea funcțională a protezelor dentare noi obținute prin teste biofuncționale.

În vederea optimizării acurateții studiului de analiză cu element finit, s-a realizat o reconstrucție tridimensională a unei mandibule utilizând imagini CBCT. Statusul odonto-parodontal prezent este caracterizat de o edentație parțială redusă la nivel mandibular, cu lipsa unității odonto-parodontale 46, cadran 4. Reconstrucția inițială a fost realizată în soft-ul Slicer3D (<http://www.slicer.org>), ulterior fiind realizate o serie de editări în soft-urile MeshLab versiunea 2016, Autodesk Fusion360 (Autodesk, Inc., San Rafael, CA, USA) și Autodesk Inventor Professional versiunea 2017 (Autodesk, Inc., San Rafael, CA, USA) rezultând modelul mandibular de studiu final. Pentru simularea situației clinice a fost realizată o punte protetică metalo-ceramică aferentă statusului de edentație din cadranul 4, cu stâlpi pe unitățile 45 și 47, prezentând un strat ceramic, și schelet metalic de susținere, și strat de ciment. Simulările încărcării fiziologice a sistemului 3D modelat au fost realizate în soft-ul SimulationMechanical versiunea 2017 (Autodesk, Inc., San Rafael, CA, USA). Pentru fiecare analiză, a fost selectat tipul de studiu static, cu proprietăți de material liniare, isotropice elastice. S-au utilizat două caracteristici mecanice specifice pentru definirea fiecărui material din studiu în soft-ul de simulare, modulul Young și coeficientul lui Poisson. Aceste proprietăți mecanice ale materialelor atribuite sunt prezentate pentru fiecare element al ansamblului 3D de analiză în Tabelul I. S-au aplicat la nivelul ansamblului mandibular de studiu reazeme la nivelul suprafețelor articulare temporo-mandibulare, pentru a simula fixarea articulară anatomică a structurii, așa cum se poate observa în Figura 20.

Tipul de contact între implant și țesutul osos a fost definit ca etanș. Din punct de vedere clinic, tipul de contact etanș este corespunzător unei osteointegrări perfecte. Introducerea unui coeficient de frecare între cele două structuri, pentru simularea diferitelor grade de osteointegrare, poate conduce la o scădere artificială a tensiunilor la nivel periimplantar (Korabi&col.2017, Lee&col.2008). Pentru aplicarea unor forțe optime care să simuleze încărcarea masticatorie fiziologică, s-au luat în considerație mușchii principali ai procesului de masticatie, mușchii pterigoizi (P) având o forță de 145N și mușchii maseteri (M) având o forță de 151N. În Figura 21 este ilustrată distribuția de tensiune de la nivelul ansamblului mandibular complet cu detaliu pe puntea dentară metalo-ceramică. Figura 22

ilustrează distribuția de tensiune de la nivelul ansamblului mandibular complet cu detaliu pe schelet metalic de susținere.

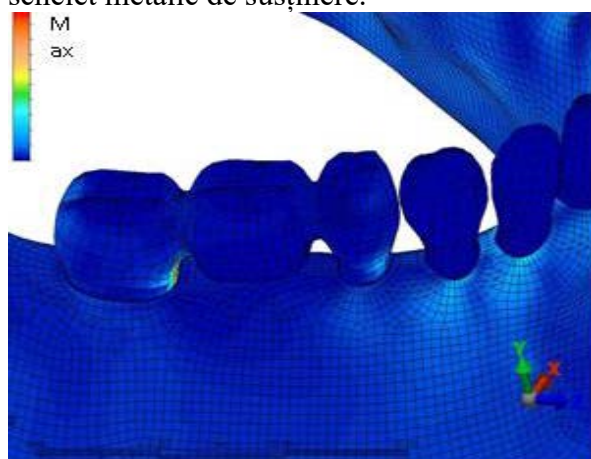


Fig. 21. Distribuția tensiunii la nivelul ansamblului mandibular complet cu vedere detaliu la nivelul punții dentare metalo-ceramice

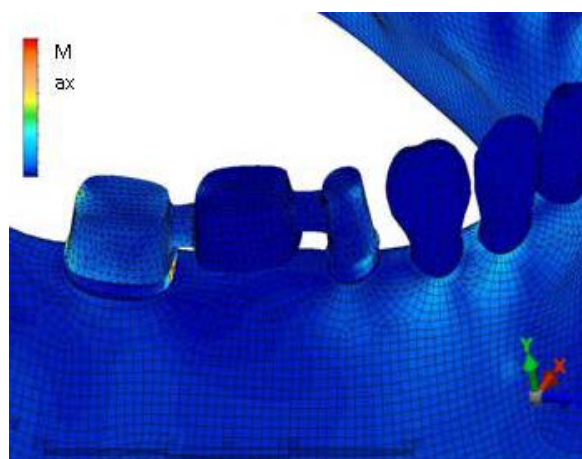


Fig. 22. Distribuția tensiunii la nivelul ansamblului mandibular complet cu vedere detaliu la nivelul scheletului metalic

Simulările realizate au evidențiat distribuțiile și valorile tensiunilor de la nivelul componentelor structurale ale punții dentare: strat ceramică și schelet metalic realizat din cele patru aliaje investigate, fără diferențe notabile. Acest lucru se datorează caracteristicilor mecanice apropiate ale celor patru aliaje. Diferențele mici între valorile modulului Young și ale coeficientului Poisson conduc la distribuții și valori apropiate ale tensiunii.

Activitatea 3-2-7 - Evaluarea modelului experimental *in vivo*, pe animale de laborator

Experimentele pe animale au fost realizate după obținerea aprobării de la comisia instituțională de cercetări pe animale de experiență. Animalele au fost ținute pentru acomodare timp de o săptămână înainte de începerea experimentului conform reglementărilor în vigoare.

Experimentele pe animal au inclus implantarea pieselor metalice produse de partenerii în proiect, la nivel subcutanat și periosos. Pentru efectuarea testelor, s-au folosit 18 loturi de câte 6 șobolani Wistar, cu repartitie uniformă pe sexe tratați conform schemei:

Implanturi subcutanate: L1 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP1 acoperit cu carbonitruri, L2 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP2 acoperit cu carbonitruri, L3 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP3 acoperit cu carbonitruri, L4 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP4 acoperit cu carbonitruri, L5 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP1, L6 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP2, L7 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP3, L8 = Implant subcutanat din aliaj CoCrMP4, L9 = Fără implant subcutanat, dar cu incizie, decolare cutanată și sutură similare cu cele de la loturile L1-L8.

Implanturi periosoase: L1' = Implant periosos din aliaj CoCrMP1 acoperit cu carbonitruri, L2' = Implant periosos din aliaj CoCrMP2 acoperit cu carbonitruri, L3' = Implant periosos din CoCrMP3 acoperit cu carbonitruri, L4' = Implant periosos din CoCrMP4 acoperit cu carbonitruri, L5' = Implant periosos din aliaj CoCrMP1, L6' = Implant periosos din aliaj CoCrMP2, L7' = Implant periosos din aliaj CoCrMP3, L8' = Implant periosos din aliaj CoCrMP4, L9' = Fără implant periosos, dar cu incizie, decolare cutanată și sutură similare cu cele de la loturile L1'-L8'.

Evoluția animalelor a fost observată pentru a se nota mortalitatea și orice alt simptom care apare după implantare, pe parcursul studiului. Greutățile individuale sunt înregistrate săptămânal pe parcursul studiului. Animalele au acces liber la apă și hrană. La intervale de 4 și 16 săptămâni din fiecare lot au fost sacrificate animale pentru a recolta probe de sânge

precum și biopsii de la nivelul implanturilor subcutanate și periosoase. Piesele implantate periosos au fost amplasate în vecinătatea unui defect de forare pentru a observa efectul biomaterialului metalic asupra procesului de regenerare osoasă normală.

După 8 săptămâni de la introducerea implanturilor s-au determinat: hemograma (cu ajutorul aparatului Hemavet HV950FS Multispecies Hematology System): numărul leucocitelor și formula leucocitară; numărul eritrocitelor; hemoglobina; hematocritul; testul NBT; activitatea complementului seric (tehnica Hartmann-Brecy). Se poate concluziona ca din punct de vedere al parametrilor urmăriți, după 8 săptămâni de la introducerea implanturilor, se constată **BIOCOMPATIBILITATE TOTALĂ** pentru loturile L1, L2, L3, L4, L1', L2', L3' și L4', și un grad acceptabil de biocompatibilitate pentru loturile L5, L6, L7, L8, L6' și L7'. Implanturile introduse periosos la animalele din lotul L5' și L8' care prezentau după o lună biocompatibilitate totală, după 2 luni au indus efecte imunopresoare și pot ridica probleme din punct de vedere al biocompatibilității.

De asemenea, au fost efectuate investigații histologice pentru eșantioanele metalice implantate periosos. Rezultatele obținute sunt prezentate în figura 23. Rezultatele investigațiilor histologice confirmă considerațiile privind biocompatibilitatea eșantioanelor experimentale din aliaje dentare Co-Cr-MP efectuate anterior.

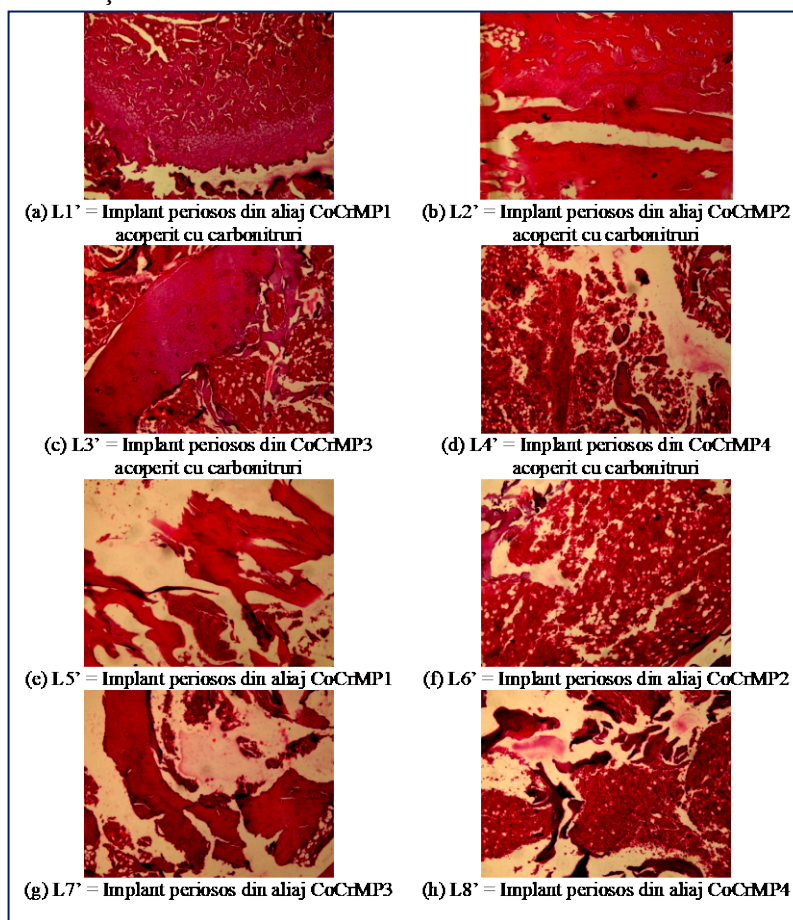


Fig. 23. Rezultatele investigațiilor histologice pentru implantele periosoase din aliaje tip CoCrMP acoperite și neacoperite.

Activitatea 3-2-8 - Diseminarea rezultatelor. Workshop intermediar. Raport științific etapă

Diseminarea este un element important al evaluării implementării proiectului, fiind prezentate activitățile de diseminare realizate de parteneri:

Lucrări științifice prezentate la conferințe de prestigiu din domeniul proiectului

Completare pagina web

Participare întâlniri de lucru a consorțiului. workshop intermediar.

PROIECT P4 - ALIAJE BIOCOMPATIBILE CU ENTROPIE RIDICATĂ PENTRU APLICAȚII MEDICALE – HEAMED

REZUMAT

București, 2019

ETAPA 4-2. OBȚINEREA LOTULUI 2 DE ALIAJE CU ENTROPIE RIDICATĂ BIOCOMPATIBILE ȘI TESTAREA ȘI CARACTERIZAREA ACESTORA ÎN VEDEREA OPTIMIZĂRII. DISEMINARE REZULTATE

Activitatea 4-2-1. Obținerea lotului 2 de aliaje cu entropie ridicată biocompatibile din sistemul din sistemul CrFeMoNbTaTiZr - UPB

Pentru obținerea aliajelor cu entropie ridicată din sistemul FeMoNbTaTiZr în instalația de retopire cu arc în vid MRF ABJ 900 din cadrul Laboratorului **ERAMET** – SIM - UPB s-a optat în această etapă pe un lot de test format din $(5 + 1) = 6$ aliaje cu entropie ridicată identice din sistemul FeMoTaTiZr și un alt lot de test format din $(5 + 1) = 6$ aliaje cu entropie ridicată identice din sistemul MoNbTaTiZr.

Procesul tehnologic s-a derulat pe placa de bază nr. 3, Imagini de la derularea procesului tehnologic și obținerea șarjelor S1 – S6 sunt prezentate în fig. 4.2.1.



Fig. 4.2.1. Încălzirea metalică pe platoul din cupru în alveolele instalației RAV.



Fig. 4.2.2. Mini-lingouri din HEA FeMoTaTiZr.



Fig. 4.2.4. Mini-lingouri din aliajul MoNbTaTiZr.

Indicatori de rezultat: Raport tehnic – 1; Documentație obținere aliaje - 1; Produse noi - 2

Activitatea 4-2-2. Tratamente termice pentru creșterea elasticității aliajelor cu entropie ridicată – Tulași

Tratamentele termice care au fost aplicate acestor aliaje experimentale au fost:

- Omogenizare la 900°C timp de 2 ore in cuptor Nabertherm, sub protecție de nisip cuarzos și înveliș din caolin+folie din aluminiu.
- Călire în apă de la temperatura de 900°C.

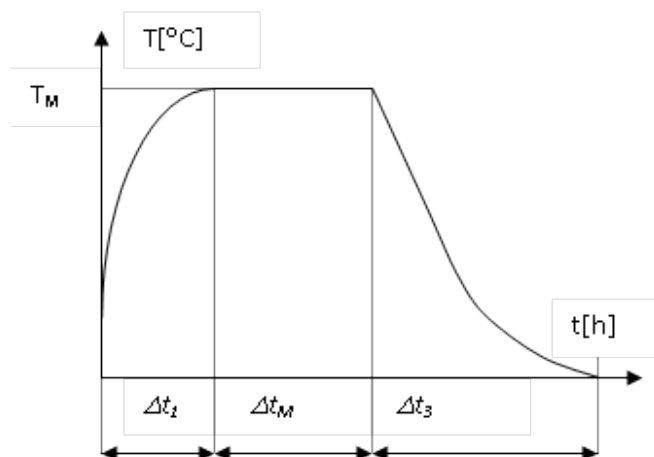


Fig. 4.2.2.1. Ciclu de tratament termic.

Activitatea 4-2-3. Depunerea straturilor de hidroxiapatită dopată cu elemente metalice (Zn) pe noile aliaje cu entropie ridicată – INOE 2000

Pentru realizarea straturilor s-a optat pentru metoda de pulverizare magnetron în regim RF, datorită avantajelor sale, întrucât permite controlarea parametrilor de depunere astfel încât se pot obține straturi subțiri uniforme, fără defecte, cu aderență foarte bună la substrat, cu rugozități scăzute, rezistente la coroziune și uzare și cu tensiuni reduse în strat, proprietăți esențiale pentru ca acestea să fie utilizabile în aplicațiile medicale. Straturile au fost preparate în următoarele condiții: material catod: ZrO + hidroxiapatită; presiunea de lucru $= 6,67 \times 10^{-1}$ Pa; atmosfera reactivă: Ar; debitul masic de Ar = 19 cm³/min; RF puterea pe catod: $P_{ZrO} = 75W$; $P_{hidroxiapatita} = 50W$; tensiunea de polarizare a substraturilor: -60V; temperatura substratului: 500°C.

Mentionăm că parametrii de obținere ai straturilor au fost stabiliți pe baza rezultatelor preliminare prezentate în etapa I.

Activitatea 4-2-4. Caracterizarea mecanică a aliajelor obținute cu și fără depunere – UPB

După efectuarea tratamentului termic probele din aliajele experimentale au fost supuse testelor microstructurale și mecanice (duritate), pentru estimarea efectelor acestora asupra caracteristicilor aliajelor biocompatibile. Probele au fost prelucrate urmând procedura de pregătire metalografică (șlefuire cu hârtii abrazive - Grit 320 – 1000), lustruire cu pulberi abrazive în suspensie - alumină alpha). Nu s-a aplicat atac chimic pentru a nu impurifica suprafețele analizate cu substanțe chimice.

Activitatea 4-2-5. Testarea comportamentului electro-chimic în soluții simulate a aliajelor obținute cu și fără depunere. Hemocompatibilitatea in vitro a noilor aliaje cu entropie ridicată (FeMoTaTiZr și MoNbTaTiZr) – USAMV Iași

Hemocompatibilitatea ca parte a fenomenului de biocompatibilitate, este un test de evaluare inițială pentru a evidenția efectele biologice ale implanturilor care vin în contact cu sângele circulant sau non-circulant. Materialele concepute pentru implanturi, ca și corpurile străine de organismul uman sau animal, cunoscute ca non-self, sunt incompatibile cu sângele, determinând trei principale alterări: hemoliza (distrugerea globulelor roșii); efectul trombogenic și procoagulant (activarea plachetelor sanguine și a factorilor plasmatici ai coagulării); inflamația (acumularea focală a globulelor albe mononucleare și polimorfonucleare implicate în procesul de apărare față de non-self).

În prezentul studiu, s-a testat hemocompatibilitatea in vitro a două aliaje cu entropie ridicată (proba S1: FeMoTaTiZr, proba S2: MoNbTaTiZr), concepute de UP București.

Probele de biomaterial folosite în testarea hemocompatibilității prezintă, conform analizelor EDS, următoarea compoziție:

Proba S1: FeMoTaTiZr - (Fe = 15,46%; Mo=20,45%; Ta=32,45%; Ti = 12,67%; Zr=18,97%) (%masice);

Proba S2: MoNbTaTiZr - (Mo=17,32%; Nb=13,07%; Ta=38,95%; Ti = 13,21%; Zr=17,45%) (%masice).

În urma secționării, din proba S1 s-au pregătit piese mici de material, cu margini neregulate și porozitate accentuată, iar din proba S2, piese mici, cu margini drepte, dar cu neregularități de suprafață. O parte dintre piese, cu diam de 0,50-1,00 cm diametru și grosime de 1-2 mm au fost polizate pentru a reduce efectul de suprafață rugoasă.

După spălare, degresare și sterilizare, piesele s-au utilizat în efectuarea testelor de hemoliză, agregabilitate și coagulare in vitro pe sânge de animal.

Probele de sânge s-au recoltat de la câini sănătoși prezentați pentru controale de rutină în cadrul clinicii de Boli Interne a USAMV Iași și de la cai aflați în îngrijire temporară în cadrul clinicii de Chirurgie a USAMV Iași.

Fenomenele de hemoliză și agregabilitate celulară s-au evidențiat prin investigații cantitative (cu ajutorul analizatorului hematologic automat VetScan HN5, aflat în dotarea Laboratorului Clinic al USAMV Iași) și calitative (prin examinarea microscopică a frotiurilor de sânge colorate Diff-Quick) ale tuturor seriilor celulare sanguine din tuburile test, menținute 3 ore la baie de apă la 37°C: T1 cu sânge martor (fără biomaterial), T2 (sânge în contact cu piesa de biomaterial rugos) și T3 (sânge în contact cu biomaterial polizat).

Rezultatele obținute evidențiază o reducere nesemnificativă a numărului de eritrocite atât la sângele de câine (o reducere a RBC cu $0,12-0,22 \times 10^6/\mu\text{l}$), cât și la cel de cal (o reducere a RBC cu $0,22-0,64 \times 10^6/\mu\text{l}$), sub influența ambelor aliaje testate.

Aliajul S1 ce conține Fe și Mo, determină scăderea corelată a HCT, deoarece eritrocitele rămân nemodificate ca volum (în cazul materialului cu suprafață rugoasă). Nu același lucru se întâmplă cu HGB care rămâne nemodificată raportată la volum total de sânge, dar înregistrează o creștere raportată la masă eritrocitară (CHEM mai ridicat în tubul test T2 cu 0,8 g/dl masă eritrocitară în sânge de câine, iar în sânge de cal, cu 1,38 g/dl masă eritrocitară). Aliajul S2 cu conținut în Mo și Nb, determină scăderea corelată a eritrocitelor, hematocritului și hemoglobinei sângelui.

total, fără a determina modificări ale VEM-ului și CHEM-ului. Aceste modificări in vitro se pot explica numai prin creșterea agregabilității celulare și excluderea de la numărare automată a elementelor agregate. Aceste aspecte sunt clar evidențiate în frotiurile de sânge efectuate din tuburile test (imagini microscopice).

In concluzie, biomaterialele cu entropie ridicată testate in vitro în contact cu sânge total de animal sunt non-hemolitice, protrombotice și procoagulante, precum și stimulatoare ale procesului de acumulare focală a polimorfonuclearelor, efecte limitate de reducerea suprafeței rugoase a acestora.

Activitatea 4-2-6. Testarea comportării după tratamentul termic a aliajelor obținute - Tulași

Măsurarea durității s-a efectuat atât pe aliajele în stare de turnare cât și pe cele tratate termic. Măsurarea durității s-a realizat conform procedurii implementate în laboratorul LAMET din UPB, utilizând microdurimetrul Shimadzu HVM2T. Aliajul FeMoTaTiZr a avut o duritate medie în stare turnată de 694HV_{0,5} iar prin tratament termic s-a durificat până la valoarea de 800 HV_{0,5}. Nivelul de durificare în cazul acestui aliaj este cu peste 10% mai mare decât valoarea obținută în stare de turnare. Aliajul MoTaNbTiZr a avut o duritate medie în stare turnată de 545HV_{0,5} iar prin tratament termic s-a durificat până la valoarea de 984 HV_{0,5}. Durificarea acestui aliaj este substanțial cu peste 40% mai mare decât cea în stare de turnare, ceea ce arată că tratamentul termic efectuat a avut efecte însemnate.

Activitatea 4-2-7. Testarea biocompatibilității (viabilitatea celulară) a aliajelor obținute cu și fără depunere – UMFTGM

În acest studiu, celulele stem mezenchimale izolate din țesut osos au fost cultivate *in vitro* în prezența aliajelor de Fier- Molibden- Tantal- Titan- Zirconiu și Molibden- Niobiu-Tantal- Titan- Zirconiu pentru evaluarea biocompatibilității, pentru utilizare ca biomateriale de implantologie. În paralel au fost efectuate teste de biocompatibilitate cu o linie celulară de fibroblaste umane.

Au fost evaluate viabilitatea și proliferarea celulară, adeziunea directă a celulelor și supraviețuirea pe suprafața aliajului și comportamentul celulelor și biomaterialelor în același mediu, în două momente: 5 zile și 10 zile.

Investigarea prin microscopie a viabilității celulare în contact direct cu aliajele de Fier- Molibden- Tantal- Titan- Zirconiu și Molibden- Niobiu-Tantal- Titan-Zirconiu prin cultivarea *in vitro* a celulelor stem mezenchimale izolate din țesut osos uman și a liniei celulare de fibroblaste umane cu piese din aceste aliaje **demonstrează biocompatibilitatea lor**. Tehnica de microscopie în epifluorescență arată că celulele stem mezenchimale au aderat la suprafața aliajului. Prin aceeași tehnică de microscopie se observă proliferarea celulară până la confluență de 100% a liniei de fibroblaste umane, atât în proximitatea aliajului, cât și pe suprafața acestuia. Testele de citotoxicitate prin determinarea activității LDH din mediile de cultură au arătat o activitate ușor crescută a LDH atât în godeurile control în care celulele au fost cultivate fără aliaj, cât și în godeurile în care celulele au fost cultivate în prezența aliajului după 10 zile. Valorile de pH au fost cuprinse între 7.6 și 7.7, similare în mediile simple, mediile incubate cu aliaje și mediile incubate cu aliaje și fibroblaste umane. În mediile incubate cu aliaje și celule stem mezenchimale s-au găsit pH-uri moderat alcaline 7.8 - 7.9, care în mod normal favorizează proliferarea și diferențierea osteogenică a acestor celule.

Activitatea 4-2-7. Caracterizarea micro-structurală a aliajelor obținute cu și fără depunere – ICPE-CA

Cercetările experimentale realizate de ICPE-CA Bucuresti au constatat în caracterizarea morfo-structurala si compositionala a lotului 2 de aliaje din clasa *High Entropy Alloys*, în sistemele multicomponente Fe-Mo-Ta-Ti-Zr si Mo-Nb-Ta-Ti-Zr, lot preparat de coordonatorul proiectului P4, Universitatea POLITEHNICA Bucuresti.

Caracterizarea morfo-structurala a fost realizata prin difracție de raze X si microscopie electronica de baleiaj, determinandu-se atat micrografii ale aliajelor în stare turnata (fig. 1a si 1b), cat si analize compositionale cu sonda EDS care sa puna în evidenta compozitia semicantitativa pentru zonele de interes din probe (fig. 2 si 4). În cazul primului aliaj, datorita neomogenitatii acestuia, structura dendritica este prezenta numai la periferia minilingoului, doar aici avand loc si procesul de aliere a elementelor (miezul este format din Mo). În cazul celui de-al doilea aliaj a fost evidentiata prezenta unei microstructuri dendritice, omogene si mult mai rafinate, explicatia constand în prezenta Nb în aliaj.

Caracterizarea structurala a celor doua aliaje, realizata prin investigatii prin difracție de raze X, a oferit detalii suplimentare, în sensul ca în matricea din cazul aliajului Fe-Mo-Ta-Ti-Zr coexista doi constitienti: $(\text{Ti}_7\text{Zr}_3)_{0,2}$ si Ti_2Fe , iar în matricea din cazul aliajului Nb-Mo-Ta-Ti-Zr coexista Ti_4Nb , $\text{Ti}_{0,879}\text{Nb}_{0,121}$ si Ta.

Caracterizarea morfologica aliajelor Fe-Mo-Ta-Ti-Zr si Mo-Nb-Ta-Ti-Zr în stare turnata a fost realizata prin microscopie electronica cu baleiaj. În cazul primului aliaj, datorita neomogenitatii acestuia, structura dendritica este prezenta numai la periferia minilingoului, doar aici avand loc si procesul de aliere a elementelor (miezul este format din Mo). În cazul celui de-al doilea aliaj a fost evidentiata prezenta unei microstructuri dendritice, omogene si mult mai rafinate, explicatia constand în prezenta Nb în aliaj. Analiza compositionala, realizata prin intermediul sondei cu energie dispersiva, a relevat în cazul aliajului Fe-Mo-Ta-Ti-Zr formarea unor dendrite pe baza de Mo si Ta, dispersate într-o matrice constituita din Ti, Fe si Zr.

În cazul aliajului Mo-Nb-Ta-Ti-Zr, pe langa Mo si Ta, în compozitia dendritelor apare si Nb, matricea în care acestea sint dispersate continand Ti, Fe, Zr si Nb. Prezenta Fe, Al si Si în aliajul 2 ar putea fi explicata prin faptul ca alierea cu Nb s-a realizat prin utilizarea fero-niobiului, feroaliaj ce poate contine ca impuritati Al si Si. Caracterizarea structurala a celor doua aliaje, realizata prin investigatii prin difracție de raze X, a oferit detalii suplimentare, în sensul ca în matricea din cazul aliajului Fe-Mo-Ta-Ti-Zr coexista doi constitienti: $(\text{Ti}_7\text{Zr}_3)_{0,2}$ si Ti_2Fe , iar în matricea din cazul aliajului Nb-Mo-Ta-Ti-Zr coexista Ti_4Nb , $\text{Ti}_{0,879}\text{Nb}_{0,121}$ si Ta.

Proiect P5 - „Cresterea biocompatibilitatii si a osteointegrarii implanturilor metalice prin acoperiri si sisteme de aerosoli – SOLION”

**Etapă 2. Obținerea unor noi sisteme de aerosoli si realizarea de depuneri pe nanostructuri ca pelicule continue, uniforme si reticulate pe materiale de implant.
Studiul comportarii noilor sisteme - rezumat –**

ACTIVITATEA 1 - Obținerea si caracterizarea de noi diafragme pentru generarea de aerosoli activi cu viața lungă/stabili în timp

În studiu s-au utilizat diafragme tip grătar deptunghiular interschimbabile, încărcate cu granule din cloruri de sodiu, potasiu, calciu, iod și magneziu, în raporturi gravimetrice impuse, obținute prin spargere/macinare a blocurilor de săruri sau prin recristalizare din soluții suprasaturate ale amestecului de săruri în concentrații prestabilite.

Raporturile gravimetrice al pudretei de săruri utilizată la obținerea soluției suprasaturate sunt:

NaCl: KI = 99,5:0,5 NaCl:MgCl₂:CaCl₂ = 85:10:5 NaCl:MgCl₂:KCl:KI = 85:8,5:6:0,5.

Pudreta de saruri obtinuta din recristalizarea solutiilor suprasaturate poate fi utilizata pentru masuratori ale nivelelor de aerosoli si in cartuse pentru masti de respirat. Aerosolii uscati de NaCl, nou generati sau proaspăt preparati, cu dimensiuni nanometrice au comportament de aeroioni negativi, care au un rol deosebit în stingerea și destabilizarea aeroionilor pozitivi, mai ales a celor proveniți din activități umane (transpirație, respirație, fumat, tuse, strănut etc.), realizând ambienturi optime lipsite de surse de contaminare.



Fig. 1. Granule de saruri si sistem tip diafragma generatoare de aerosoli salini

Activitatea II - Studiu privind obținerea si caracterizarea generala a unor depuneri nanostructurate cu arhitecturi, reformulari si compozitii de pelicule continue, uniforme si reticulate

Depunerile straturilor de HAp nedopata si dopata cu Ag si/sau Mg prin tehnici asistate electrochimic galvanostatice in pulsuri din solutii apoase pe substrat de Ti6Al4V au fost realizate in **Laboratorul de Electrochimie si Functionalizare a Suprafetelor** din cadrul Facultatii **Știința și Ingineria Materialelor (SIM-UPB)**.

Tabel 1. Compozitia electrolitului utilizat in acoperirile electrochimice

Substrat	Tip acoperire	Codificare acoperire	Compozitie chimica electrolit			pH	(Ca+M)/P
			Ca(NO ₃) ₂ *4H ₂ O	NH ₄ H ₂ PO ₄	Mg(NO ₃) ₂ *6H ₂ O		
Ti6Al4V	HAp simpla	H	10,5 mM	6,25 mM	-	5	1,67
	HAp dopata cu Mg	H-Mg1	9,45 mM		1,05 mM		
		H-Mg1,5	8,92 mM		1,58 mM		

		H-Mg2	8,40 mM		2,10 mM		
	HAp dopata cu Ag	H-Ag	10,475 mM		0,025 mM		

Tabel 2. Condițiile experimentale utilizate pentru depunerile electrochimice

Depunere electrochimica galvanica in pulsuri	i_{ON}; t_{ON}	0,85 mA/cm ² ; 1 s
	i_{OFF}; t_{OFF}	0 mA/cm ² ; 1 s
	Timp	40 min
	temperatura	75 °C

Straturile subțiri dezvoltate prin procedee PVD sunt straturi de carburi ale metalelor de tranziție (Ti, Zr, Nb sau combinații ale acestora). Astfel, natura catodului și a gazelor de lucru sunt stabilite prin condițiile inițiale impuse de natura straturilor de urmează a fi depuse. Pentru depunerea straturilor de TiC, ZrC și NbC s-au utilizat câte o țință confecționată din Ti (catod 1), Zr (catod 2) și, respectiv, Nb (catod 3). În vederea asigurării unei cât mai bune aderențe la substrat a straturilor, probele au fost bombardate cu ioni de Ar⁺ (850 V, 10 minute).

Tabel 3. Parametrii de depunere pentru straturile subțiri dezvoltate

Parametrii de depunere	TiC	ZrC	NbC
Presiunea reziduală	2 x 10 ⁻³ Pa		
Presiunea de lucru	1 x 10 ⁻¹ Pa	6 x 10 ⁻² Pa	1 x 10 ⁻¹ Pa
Debitul de metan	120 cm ³ /min		
Intensitatea curentului pe catodi	90 A	130 A	90 A
Tensiunea de polarizare a substratului, V _s	-150 V		

ACTIVITATEA 3 - Metode și tehnici instrumentale implicate în studiul aerosolilor salini și a depunerilor pe materialele metalice de implant

Caracterizarea acoperirilor obtinute

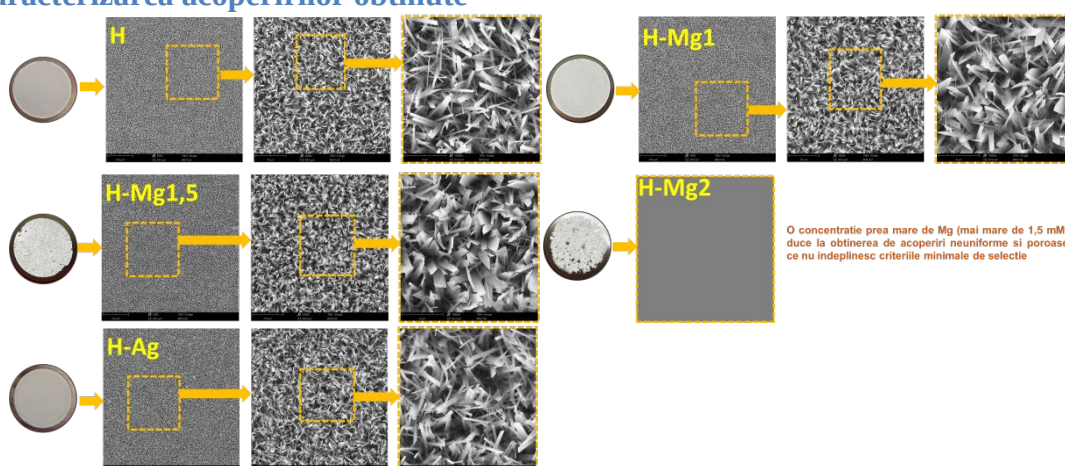


Fig. 2. Imagini macroscopice și SEM ale acoperirilor HAp nedopata și dopata diferite puteri de marire

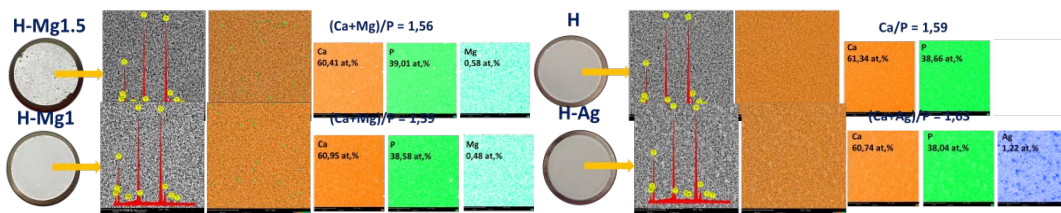


Fig. 3. Imagini SEM, distributia elementelor si spectrele EDS pentru acoperirile obtinute

Tabelul 4. Principalii parametri electrochimici obtinuti in urma testelor electrochimice

Proba	E_{oc} (mV)	E_{cor} (mV)	i_{cor} (nA/cm ²)	β_c (mV)	β_a (mV)	R_p (k Ω cm ²)
H	-49	-57	22,45	34,23	35,98	339,70
H-Mg1	-102	-110	53,70	55,67	53,22	220,30
H-Mg1,5	-160	-180	43,26	133,39	122,33	641,25
H-Ag	16	-28	138,76	54,55	88,13	105,57

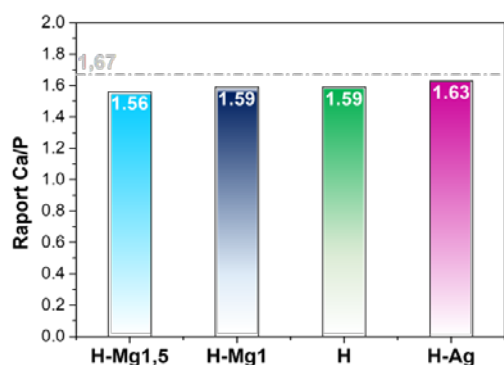


Fig. 4. Evolutia raportului Ca/P pentru acoperirile obtinute

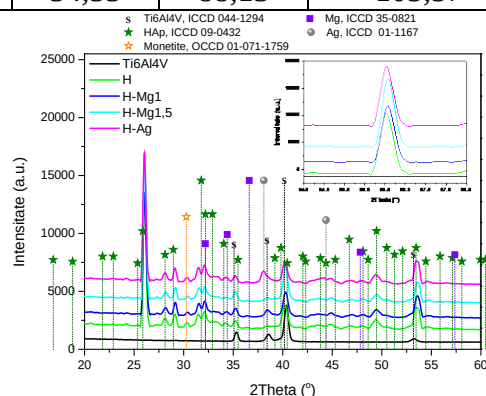


Fig. 5. Difractograma de

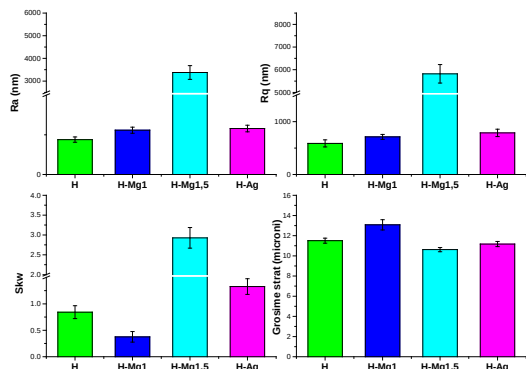


Fig.6. Reprezentarea principalilor parametri de rugozitate (Ra, Rq si Skw) si grosimea de strat a acoperirilor obtinute electrochimic

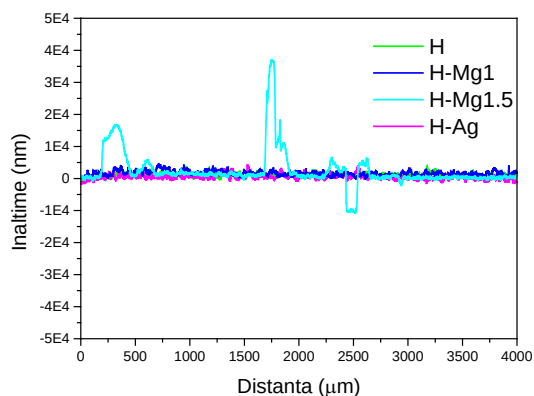


Fig. 7. Profilele acoperirilor obtinute electrochimic

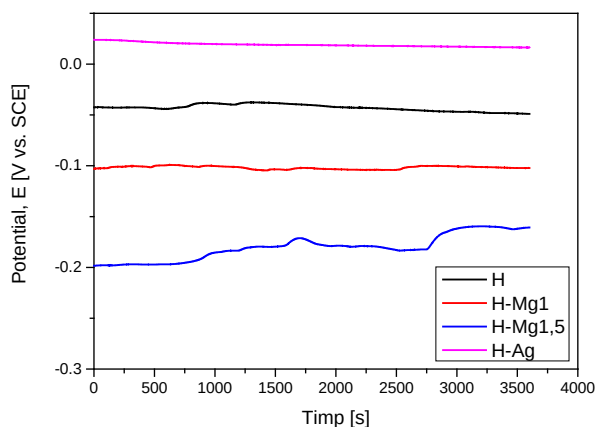


Fig. 8. Evoluția potențialului de circuit deschis (E_{oc}) pentru toate probele investigate

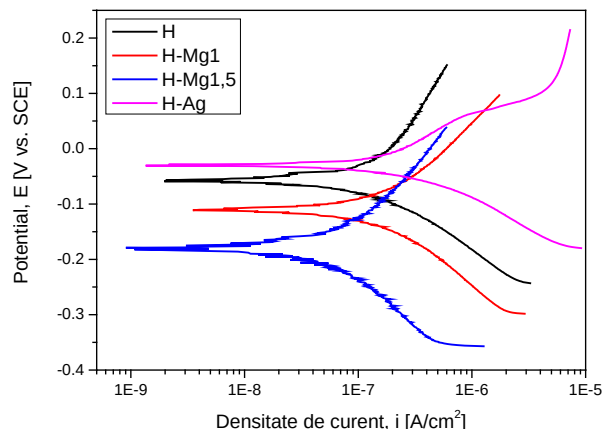


Fig. 9. Curbele Tafel ale tuturor probelor investigate

ACTIVITATEA 4 - Determinarea influenței factorilor endogeni și a factorilor exogeni asupra nivelului concentrației de aerosoli și a stabilității lor în timp

Datele experimentale indica faptul ca pentru obtinerea unor medii terapeutice simulate eficiente, cu densitati optime de aerosoli, in regim static, sunt indicate temperaturi de 20-22 °C si umiditati intre 75 - 80 %. Temperaturi si umiditati mai ridicate, desi ar putea creste concentratia aerosolilor, pot crea discomfort termic si afecta in cazul unei expuneri indelungate. De asemenea, o temperatura ridicata provoaca fenomene de transpiartie si implicit bioaerosoli, cu incarcare pozitiva care anihileaza solionii electronegativi. Prezenta unor concentratii cu nivele asemanatoare intre cele 3 tipuri dimensionale de particule (nu sunt variatii bruste sau diferente foarte mari pentru 1 PPM, 2,5 PPM, 4 PPM) indica faptul ca mediul terapeutic are o puritate inalta, aeroinonii intalniti fiind in marea lor majoritate de tipul aerosolilor salini. In cazul generarii de aerosoli salini in regim dinamic (curent de aer si jet de apa/barbotina) concentratia creste mult, fiind solutia cea mai potrivita pentru tratament cu eficienta ridicata, aerosolii fiind de tipul Solion (aerosol umed). Totusi, stabilitatea aerosolilor in acest caz (solioni) este mai redusa, densitatea mare si incarcarea cu umiditate genereaza forte de atractie electrostatice care duc la aglomerari de particule si cresterea lor in dimensiune, cu o eficienta mai redusa. De aceea, inhalarea/expunerea pacientilor trebuie sa se realizeze cat mai aproape de sursa de formare a solionilor.

ACTIVITATEA 5 - Optimizarea tehnologiei de obtinere a diafragmelor pentru generarea de aerosoli activi cu viața lungă/stabili si de realizare a depunerilor pe implanturi metalice pentru diminuarea riscurilor cercetării

Masuratorile si experimentele efectuate pentru depunerile PVD indica faptul ca straturile sunt stoichiometrice. Pe suprafata probelor nu se regasesc defecte, ci doar micropicaturi, care apar in timpul procesului de depunere. Picaturile sunt mai mici de 5 μm si au o forma sferica, sau elipsoidala.

Toate tipurile de straturi prezinta o buna aderenta la substrat avand forte normale critice cuprinse intre 18 si 30 N. Nu au fost observate diferente semnificative intre aderenta straturilor de TiZrC si ZrC. Straturile de TiNbC au avut cea mai buna aderenta (forte normale critice de ~ 30 N), probabil datorita faptului ca stratul are cea mai mica rugozitate. Este de subliniat faptul ca rezultatele masuratorilor nu au diferit semnificativ de la o zona la alta, demonstrand omogenitatea depunerilor. Cel mai important rezultat este acela ca prin acoperirea cu straturi subtiri, duritatea substratului creste semnificativ. Se remarca in primul rand faptul ca valorile coeficientilor de frecare pentru probele acoperite sunt substantial mai

mici decat in cazul probelor neacoperite, indiferent de natura stratului. Dintre straturi, cea mai buna comportare la frecare a avut-o cel de TiNbC, urmat de ZrC si apoi TiC. Se observa ca variatia in timp a coeficientului de frecare are o evolutie relativ stabila indiferent de natura stratului. Se mai remarca un anumit zgomot al semnalului captat, care este cauzat de rugozitatea mare, efect mai accentuat in cazul stratului de TiC.

In ceea ce priveste rata de uzare, se observa ca toate probele acoperite cu straturi au o rata de uzare mult mai mica fata de cea a probelor neacoperite. Cele mai scazute rate de uzare le-au avut depunerile de TiNbC si ZrC Coreland aceste rezultate cu cele referitoare la aderenta, duritate si rugozitate, este de remarcat ca straturile cele mai rezistente la uzare sunt in același timp și cele mai aderente, dure si mai putin rugoase. Acest comportament sugereaza faptul ca mecanismul de uzare este de tip eroziv.

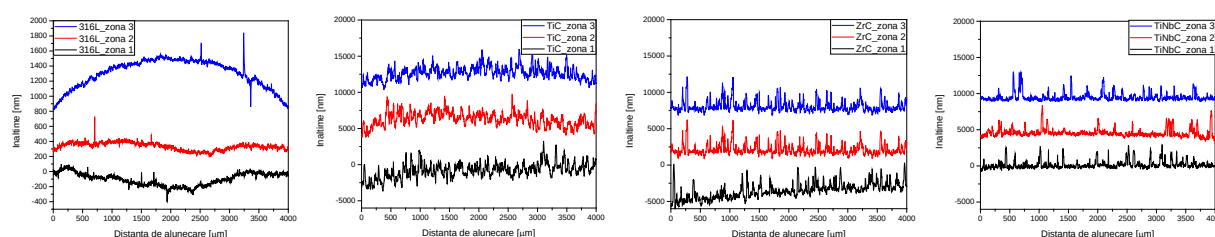


Figura 10. Profilele suprafețelor substratului neacoperit si acoperit cu straturile dezvoltate

Rezultatele obținute in urma cercetarilor experimentale efectuate au permis formularea unor concluzii originale in legatura cu solutiile propuse. Toate proprietatile straturilor s-au dovedit a fi puternic influentate de natura stratului. Pe ansamblu, straturile de TiNbC si ZrC au avut caracteristici superioare celor determinate pentru substratul neacoperit și pentru straturile de TiC, dovedind astfel ca acestea pot deveni un real candidat pentru acoperirea oțelului 316L in aplicatiile medicale unde este necesara o buna rezistenta la coroziune si uzare.

ACTIVITATEA 6 Studiul unor noi metode si tehnici de analiza, prin sisteme de coasistare si coroborare interdisciplinara, a evolutiei nivelelor de aerosoli pe perioada experimentelor de compatibilizare si osteointegrare

In cazul nostru, particulele saline nu interactioneaza direct cu materialul de implant, ci cu organismul uman, la nivel tegumentar, al mucoaselor si bronho-pulmonar, (in special cele tip SOLION- particule foarte mici, sub 2,5 ppm), care ajunse la nivelul sistemelor osos si muscular, prin procese reversibile recrystalizare/delicvescență datorate structurii si compozitiei, permit o bună compatibilitate bioactivă cu țesuturile, dinamizand o serie de procese membranare in vivo.

Datele obtinute pana acum impun utilizarea surselor generatoare de aerosoli ce respecta retetele propuse ($\text{NaCl: KI} = 99,5:0,5$, $\text{NaCl:MgCl}_2:\text{CaCl}_2 = 85:10:5$, $\text{NaCl:MgCl}_2:\text{KCl:KI} = 85:8,5:6:0,5$), iar masuratorile vor fi realizate cu numarator laser de particule DUSTTRACK Aerosol Monitor 8532.

Analiza datelor va fi integrata intr-un sistem de monitorizare prin programarea functionarii echipamentului in regim continuu, pe perioade prestabilite de intervale orare, cu logare de o secunda si timp masurare 60 secunde. Astfel, vom monitoriza evolutia nivelelor de aerosoli, functie de tipul dimensional al particulei si sursa de generare, tinand cont de factorii exogeni (temperatura, presiune, umiditate, viteza curenților de aer).

ACTIVITATEA 7 Evaluarea nivelor optime de concentratie a aerosolilor implicati in biocompatibilizare si osteointegrare

Evaluarea nivelor optime de concentratie a aerosolilor trebuie sa tina cont de tipul de sursa si factorii de mediu, avand drept reper mediile saline naturale. Datele utilizate au

avut în atenție măsurători în salina naturală de la Tg. Ocna și halocamera artificială experimentală. Analiza mediului salin artificial s-a realizat prin măsurarea densității de particule (aerosoli) în încălta camerei climatice, în prezența sursei de aerosoli tip diafragma salină sub curent de apă.

Se observă că în domeniul particulelor 1 ppm și 2,5 ppm valorile densităților sunt apropiate, tipul de particule fiind de aceeași natură, aerosoli de tip umed, Solioni. Deși mediul este riguros controlat, densitatea mare de particule 10 ppm este pusă pe seama faptului că solionii, în timp, sub acțiunea forțelor electromagnetice, se aglomerează, natura lor electronegativă neutralizându-se în prezența celorlalți aerosoli electropozitivi.

Astfel, pentru realizarea unor medii terapeutice eficiente, în domeniul particulelor mici, nivelul optim de concentrație/densitate trebuie să se situeze peste 0,050 mg/m³, intervalul recomandat fiind 0,050-0,100 mg/m³.

Pentru particule 10 ppm, densitatea poate fi între 0,100 – 0,180 mg/m³.

➤ **Diseminare rezultatelor etapei 2**

- Lucrări științifice publicate în reviste cotate ISI : 4
- Lucrări publicate în volumele conferințelor: 3
- **Lucrări invitate:3**
- Postere: 5
- Premii la saloane de inventica: 9