

RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL

**Materiale metalice biodegradabile inovative din sistemul Mg-Ca-Zn utilizate în aplicații ortopedice /
Novel Mg-Ca-Zn biodegradable metallic materials used in orthopedic applications**

– MagZinc –

PN-III-P1-1.1-TE-2021-0702 – TE 27/2022

Raportul științific final (max. 25 pag.) pentru întreaga perioadă de implementare a proiectului și trebuie să cuprindă următoarele aspecte:

- Obiectivele prevăzute/realizate;
- Prezentarea rezultatelor obținute, a indicatorilor de rezultat realizați; a nerealizărilor înregistrate față de rezultatele estimate prin cererea de finanțare (dacă este cazul), cu justificarea acestora;
- Impactul estimat al rezultatelor obținute, cu sublinierea celui mai semnificativ rezultat obținut.

Notă: Pe lângă cele menționate mai sus, raportul final conține și link-ul către pagina web a proiectului unde sunt prezentate succint rezultatele obținute (un text pe înțelesul publicului), astfel încât Autoritatea Contractantă să poată referenția proiectul în studii, rapoarte și comunicare publică.

Director Proiect TE27/2022,

Conf.dr.ing. Bogdan Istrate

A.1.1. Stadiul actual al implanturilor din aliaj biodegradabile pe bază de Mg având caracteristici superioare – Obiectiv îndeplinit

Biomaterialele reprezintă un domeniu vast și complex cu peste 50 de ani de existență, unde cercetările din domenii precum medicină, chimie, biologie sunt în strânsă legătură cu cele din domeniul științei materialelor.

Cuvântul biomaterial poate fi explicat în două feluri:

- “un material sintetic utilizat pentru înlocuirea unei părți din corpul uman sau pentru a funcționa direct cu un țesut viu”, [1].
- “o substanță biologic inertă destinată implantării sau încorporării în sistemele vii”, [1].

Principalele domenii de aplicații ale biomaterialelor sunt: ortopedia, chirurgia cardiovasculară, oftalmologia, stomatologia, urologia, chirurgia estetică, neurologia, materiale de șură pentru vindecarea rănilor, sisteme cu eliberarea controlată a medicamentelor [3].

Proprietățile fizice, mecanice și chimice ale materialelor biodegradabile pe bază de Mg

Magneziul pur are ca punct de topire de 650°C (923°K), punctul de fierbere de 1090°C (1363°K), numărul atomic Z egal cu 12 și respectiv masa atomică egală cu 24.305. Se încadrează în categoria metalelor ușoare, având o greutate specifică de 1738 kg/m³, fiind de aproximativ 1,6 ori mai puțin dens decât Al, de 2,6 ori mai puțin dens decât Ti și de 4,5 ori mai puțin dens decât oțelurile.

Modulul de elasticitate longitudinal al aliajelor pe bază de magneziu prezintă valori de aproximativ 50% mai scăzute decât cele ale aliajelor de titan. Acest lucru se traduce printr-o flexibilitate deosebită, ce stă la baza utilizării magneziului pentru confecționarea dispozitivelor de tip stent și a altor dispozitive medicale implantabile utilizate în domeniul ortopedic.

Magneziul (Mg) este un element chimic abundent în corpul uman, care joacă un rol crucial în metabolismul celular, în funcția membranelor și în integritatea membranelor [12]. Mg este necesar pentru fiecare sistem enzimatic implicat în procesarea ADN-ului [12]. Mg și aliajele sale sunt utilizate foarte des ca implanturi osoase biodegradabile și stenturi datorită proprietăților lor fizice și mecanice foarte bune, cum ar fi biocompatibilitatea excelentă, rezistența mecanică ridicată și modulul de elasticitate scăzut [13-16]. Avantajele/dezavantajele aliajelor biodegradabile pe bază de magneziu sunt prezentate în figura 1. Cu toate acestea, viteza rapidă de degradare a aliajelor de Mg împiedică implanturile să își îndeplinească funcția operațională înainte de a fi extrase, coroziunea locală neomogenă care pornește de la suprafața aliajelor de Mg face comportamentul de coroziune incontrollabil.

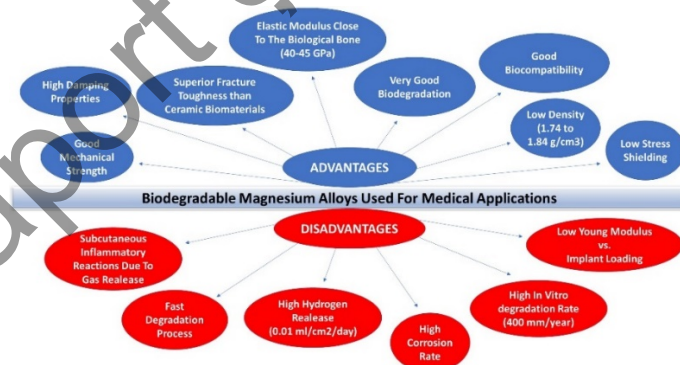


Figura 1. Principalele aspecte ale aliajelor biodegradabile de Mg utilizate în domeniul medical [17]

Calciul (Ca) este unul dintre cele mai importante elemente de aliere pentru aliajele biodegradabile. Este unul dintre cele mai abundente minerale din oasele umane [18] și este necesar pentru creșterea oaselor biologice [19]. Sistemul Mg-Ca este alcătuit în principal din două faze: α -Mg și Mg_2Ca , compus eutectic lamelar la limita dintre grăunți, care rafinează și durifică microstructura

aliajelor de Mg. Zincul (Zn) prezintă o proprietate de rafinare a microstructurii, crescând astfel rezistența mecanică a magneziului [20]. Aliajele biodegradabile Mg-Zn s-au dovedit a avea rezultate electrochimice importante în medii biologice standard în comparație cu magneziul pur, ceea ce a fost atribuit în parte capacității zincului de a forma compuși care conțin Ni- și Fe [21].

Proprietăți fizico-chimice și mecanice ale aliajelor Mg-Ca-Zn

Proprietăți microstructurale

Gong et al. [44] au studiat microstructura aliajelor de Mg-Ca-Zn cu conținut ridicat de Zn (între 0wt.% și 7,5wt.% Zn). Creșterea conținutului de Zn duce la scăderea dimensiunilor de grăunți. Figura 7 evidențiază aspectele microstructurale ale aliajelor Mg-Ca-Zn, elaborate de Gong et al. [44]. Rezultatele difracției de raze X corelate cu microstructura evidențiază eutecticul Mg_2Ca și soluția solidă α -Mg. Odată cu creșterea conținutului de Zn până la 2 wt.% apare faza $Ca_2Mg_6Zn_3$. În cazul aliajului XZ15 (4.7 wt.%Zn) au fost detectate doar vârfurile de difracție ale fazelor α -Mg și $Ca_2Mg_6Zn_3$, în timp ce vârfurile de difracție ale fazei Mg_2Ca dispar.

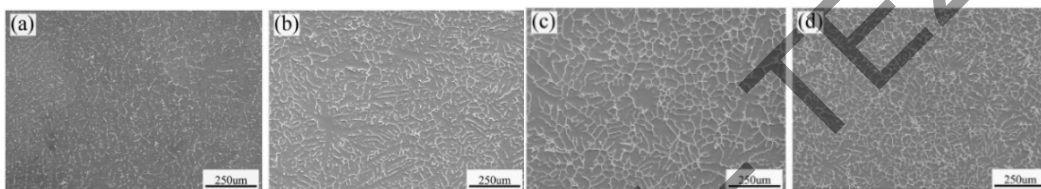


Figura 2. Imagini SEM ale unor aliaje Mg-Ca-Zn turnate:(a)XZ10;(b)XZ12;(c) XZ15;(d) XZ18 [44]

Proprietăți mecanice

Cele mai multe avantaje ale aliajelor pe bază de magneziu sunt biodegradabilitatea, biocompatibilitatea și proprietățile mecanice bune [47]. Acestea sunt considerate a fi a treia categorie de biomateriale după oțelurile inoxidabile, aliajele de Co-Cr și aliajele de Ti [48,49].

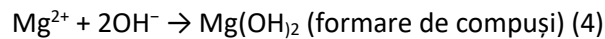
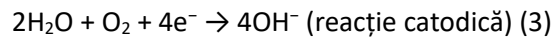
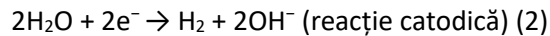
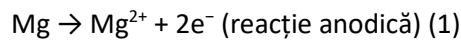
Implanturile ortopedice din Mg au un modul de elasticitate apropiat de cel al osului biologic, în timp ce rezistența la rupere la tracțiune (UTS) a magneziului este mai mare decât cea a biomaterialelor ceramice. Cu toate acestea, implantul trebuie să își prezinte sarcina fără nicio deformare.

Zn are o solubilitate ridicată în Mg (6.2 wt.% în greutate), ceea ce îl face un element de aliere important. Datorită acțiunii sale de întărire și îmbătrânire a soluției solide, acesta ajută aliajul să-și păstreze caracteristicile mecanice în timp. Rezistența la rupere și alungirea aliajelor Mg-Zn în stare turnată au crescut semnificativ odată cu creșterea concentrației de Zn până la 4 wt.% în greutate, dar dincolo de acest punct, ambele caracteristici au scăzut [22], împreună cu rezistența la coroziune a aliajului. Materialele pe bază de magneziu au modulul Young de aproximativ 40-45 GPa, care este imilar cu cel al osului biologic (5-30 GPa) și semnificativ mai mic decât alte materiale pentru implanturi permanente, cum ar fi oțelul inoxidabil (195-205 GPa), aliajele de Ti (105-115 GPa) și aliajele de Co-Cr (230 GPa) [65-66]. Liu et al. [67] au studiat rezistența la tracțiune a aliajelor extrudate de Mg-4Zn, observând că odată cu creșterea concentrației de Ca și Mn, microstructura are un proces de rafinare a grăunților mai accentuat, cu prezență de constituenți de fază secundară la scară nanometrică.

Rezistența la coroziune a aliajelor pe bază de Mg-Ca-Zn

În multe cazuri, materialele biodegradabile prezintă avantajul că nu este necesară o a doua operație de îndepărtare a implantului, economisind astfel costuri pentru sistemul de sănătate și oferind beneficii pacientului. Caracterul electrochimic de bază al magneziului, cu un potențial

standard de reducere [$E^\circ(V)$] = -2,375 volți, conduce la proprietăți scăzute de coroziune. De obicei, suprafața implanturilor de magneziu se pasivizează și creează un strat subțire de oxid de magneziu atunci când este expusă la aer, împiedicând reacțiile chimice ulterioare. Mecanismul procesului de coroziune în diferite medii (cum ar fi mediul biologic) este prezentat prin reacțiile de mai jos [68].



Evaluarea electrochimică a aliajelor de magneziu explică caracteristicile de coroziune ale acestora [69-73]. Zhang S. a observat că viteza de coroziune, folosind tehnica de imersiune pentru Mg pur, a fost de 0,26 mm/an [74]. Cel mai dificil aspect al testării coroziunii este selectarea mediului experimental. Pentru aceste studii, este esențial să se utilizeze soluții care să reproducă cât mai fidel posibil condițiile in vivo. Soluțiile Hank, SBF, EBSS și mediul MEM sunt cele mai bune medii de testare. Pentru Mg pur, viteza de coroziune măsurată prin imersiune în EBSS și raportată de Walker J. [77] a fost de 0,39 mm/an, dar a fost de 1,39 mm/an în SBF și de 2,05 mm/an în soluțiile Hank.

Gong et al. [44] au investigat procesul de degradare a unor aliaje Mg-Ca-Zn cu o variație a Zn între 0 și 7.5 wt.% în greutate Zn. Aspectul morfologic al suprafețelor imersate într-o soluție de NaCl timp de 24 h este evidențiat în figura 3. Aceștia au observat că, după imersiune, suprafața aliajului b (Mg-0.8Ca-1.7Zn) era relativ compactă. Pe de altă parte, suprafața aliajelor a (Mg-0.8Ca), c (Mg-0.8-4.6Zn) și d (Mg-0.8-7.5Zn) a prezentat produse de coroziune pe întreaga suprafață și o structură mai pronunțată a degradării. Ei au concluzionat că rezistența mai mare la coroziune a Mg_2Ca îmbogățit cu Zn duce la o coroziune uniformă cu o viteză de degradare mult mai mică.

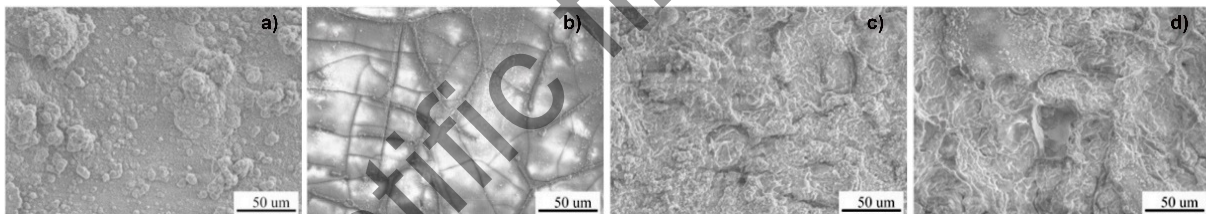


Figura 3. Aspectul morfologic al unor aliaje biodegradabile Mg-Ca-Zn imersate într-o soluție de NaCl timp de 24 h: a)Mg-0,8Ca; b)Mg-0,8Ca-1,7Zn; c)Mg-0,8-4,6Zn; d)Mg-0,8-7,5Zn [44]

După 24 de ore de imersiune, a fost descrisă morfologia coroziunii în secțiune transversală a celor patru aliaje, confirmând studiul procesului de coroziune. Faza Mg_2Ca dispersată de-a lungul limitei de grăunți este corodată preferențial, provocând o degradare neuniformă. Întreaga suprafață corodată a aliajului Mg-0,8Ca-1,7Zn (aliaj b) este mai degrabă plată, sugerând o coroziune omogenă. Faza ternară intermitentă formează un cuplu microgalvanic cu matricea de magneziu, crescând astfel coroziunea Mg-0.8-4.6Zn (aliaj c) și Mg-0,8-7,5Zn (aliaj d).

Biocompatibilitatea aliajelor biodegradabile din sistemul Mg-Ca-Zn

Corpul uman conține de obicei aproximativ 20-35 g de magneziu/70 kg de greutate corporală, iar necesarul zilnic de acest element este de aproximativ 180-350 mg/zi. În ultimii ani, datorită biocompatibilității și proprietăților mecanice similare cu osul biologic, aliajele biodegradabile pe bază de magneziu au fost introduse ca implanturi în chirurgia ortopedică și traumatologică [65]. Cercetătorii încearcă să dezvolte metale biodegradabile pentru diverse aplicații clinice, inclusiv utilizarea lor atât în industria cardiovasculară, cât și în cea ortopedică [47,84-86].

Studii anterioare au raportat că magneziul prezintă o bună remodelare osoasă și biocompatibilitate [87,88], având un comportament care se pretează la utilizarea în repararea și vindecarea fracturilor, precum și în procedurile reconstructive care necesită grefe osoase. Astfel, modul de interacțiune a materialelor biodegradabile în contact cu mediul biologic și răspunsul implantului este prezentat schematic în figura 4.

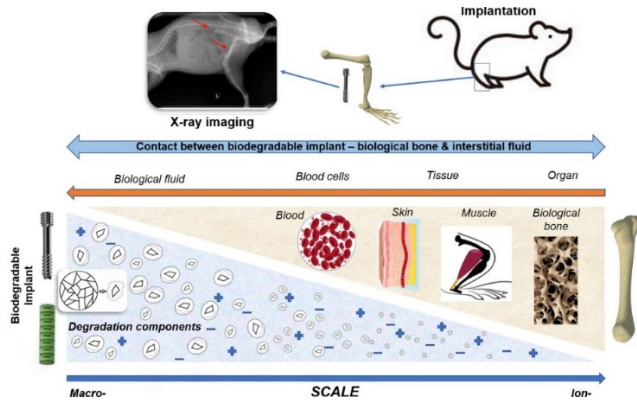


Figura 4. Modul de interacțiune a materialelor biodegradabile în contact cu mediul biologic și răspunsul implantului [89]

Alte studii efectuate de Li et al. [25] și Zhang et al. [64] au arătat că aliajele Mg-1Ca au avut proprietăți mecanice și biocompatibilitate bune printre aliajele binare Mg-Ca, iar un conținut de 1-3 wt.% Zn a crescut biocompatibilitatea între 80% și 95%.

Recent, aliajele Mg-Ca-Zn au fost identificate ca fiind candidați promițători pentru implantarea ortopedică datorită rezistenței lor ridicate, vitezei relativ scăzute de degradare și compoziției componentelor critice ale corpului uman. Zhang et al. [22] au constatat că adăugarea a 0.2 wt.% Ca a redus semnificativ cu aproximativ o treime din viteza de degradare a aliajului Mg-4Zn turnat, în timp ce rata de degradare a aliajului Mg-4Zn-xCa turnat a crescut odată cu creșterea cantității de Ca ($x = 0.2-2$ wt.%), îmbunătățind astfel semnificativ biocompatibilitatea.

Potențialele aplicații de implanturi ale aliajelor biodegradabile din sistemul Mg-Ca-Zn

În mod evident, aplicațiile au un impact direct asupra specificității criteriilor de proiectare și selecție a materialelor biodegradabile. Dispozitivele ortopedice, cum ar fi șuruburile, știfturile, acele și plăcile, sunt plasate în os pentru a asigura stabilitate mecanică timp de 12-18 săptămâni, în timp ce osul se vindecă [65]. Prin urmare, pentru a evita fenomenul "stress-shielding", aliajele pe bază de Mg ar trebui să aibă atât o rezistență ridicată, cât și un modul scăzut similar cu cel al osului.

În tendințele actuale ale industriei, după cum au declarat pacienții, șuruburile pe bază de magneziu au fost utilizate în studiile clinice pentru a vindeca/repara anomaliile osoase fără efecte negative observabile [105, 106]. Cele mai utilizate dispozitive temporare în chirurgia ortopedică sunt șuruburile osoase, șuruburile de interferență, plăcile, sârmele, știfturile și schelele [16, 107-110]. Primele șuruburi de magneziu disponibile în comerț (Magnezix, Syntellix, Hanovra, Germania) au fost accesibile în 2013, iar îndepărtarea lor la 1 până la 2 ani după implantare a fost documentată [111]. În plus, un nou șurub din aliaj MgYREZr (Milagro, DePuy Mitek, Leeds, Regatul Unit) tocmai a fost lansat pe piață [112]. În cadrul investigațiilor pe animale, s-a demonstrat că stenturile vasculare din aliaj de magneziu cu viteze scăzute de coroziune sunt viabile din punct de vedere mecanic timp de până la 6 luni, iar de atunci au fost evaluate în trialul uman [113,114].

Stenturile metalice adsorbante (AMS) constând din materiale precum WE43 și aliaje pe bază de Mg modificate și șuruburi de tip Magnezix sunt acum utilizate în aplicațiile ortopedice [118, 119]. Deși în ultimii ani s-au înregistrat progrese semnificative în dezvoltarea aliajelor biodegradabile pe bază de magneziu, aplicațiile medicale încă mai suferă de o serie de provocări de bază.

Aliajele pe bază de Mg au utilizări medicale limitate din cauza ratei ridicate de dezintegrare și a producerii rapide (din cauza degradării) de bule de hidrogen gazos, frecvent în prima săptămână după operație [120]. Cercetarea fundamentală privind metalele bioresorbabile se concentrează pe trei domenii principale: (1) analiza toxicității metalelor atât in vitro, cât și in vivo pentru studiul biocompatibilității, (2) îmbunătățirea proprietăților mecanice ale metalelor prin proiectarea aliajelor (compoziție) și prin procese metalurgice și (3) controlul comportamentului de coroziune prin modificarea substratului sau a suprafeței cu acoperiri sau alte tratamente de suprafață.

A.1.2. Elaborarea mini-lingourilor din sistemul Mg-0,5Ca-xZn în cuptoarea cu atmosferă controlată – Obiectiv îndeplinit

În vederea elaborării aliajelor biodegradabile s-a realizat o documentare amplă atât la nivel national cât și internațional asupra studiilor actuale de dezvoltare a aliajelor pe bază de magneziu, în mod special pentru cele pe bază de Mg-Ca-Zn. Astfel s-au proiectat și elaborat cinci aliaje cu compoziții diferite din sistemul Mg-0.5Ca-xZn. Inițial, în propunerea de proiect aveam expus spre elaborare sistemul Mg-0.5Ca-xZn, unde $x = 0 \text{ wt.}\% - 2 \text{ wt.}\%$, dar după studiul actual am constatat că sistemul Mg-Ca este aprofundat și am luat decizia de a nu mai elabora Mg-0.5Ca-0Zn.

Sistemul Mg-0.5Ca a fost evaluat atât din punct de vedere al coroziunii, cât și analizei in vitro (viabilitate celulară) în studii anterioare desfășurate în alte contracte de cercetare (Istrate et al., 2021 - <https://doi.org/10.3390/app11030981>; Munteanu et al., 2021 - 10.3390/ma14237262, Istrate et al. 2020 10.1016/j.ceramint.2020.03.138, Istrate et al., 2020 - 10.13111/2066-8201.2020.12.1.8, Istrate et al., 2020 - 10.3390/ma13143082), validate în articole de specialitate.

În figurile de mai jos (figurile 5-6) este evidențiată doar microstructura specifică aliajului Mg-0.5Ca prin microscopie optică, electronică și difracție de raze X. Structura este formată din grăunți poliedrici de tipul α -Mg cu prezența eutecticului lamelar de tip Mg_2Ca , la limitele grăunților. Prin urmare în continuare s-au elaborat cinci lingouri din sistemul Mg-0.5Ca-xZn, $x = 0.5/1/1.5/2/3 \text{ wt.}\%$, înlocuind aliajul Mg-0.5Ca-0Zn cu aliajul Mg-0.5Ca-3Zn.

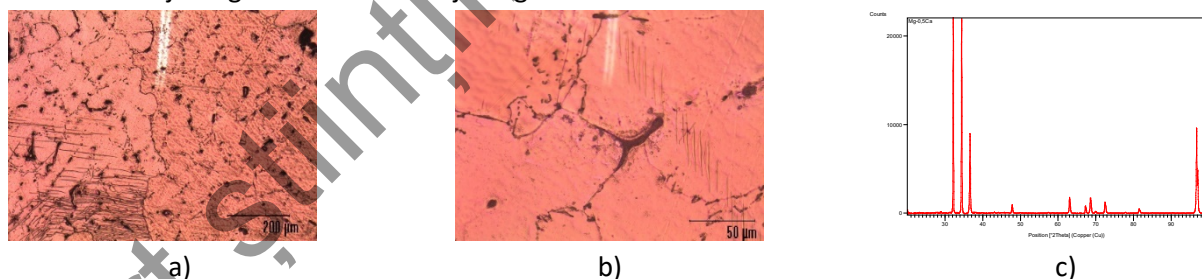


Figura 5. Imagini de microscopie optică a sistemului de baza Mg-0.5Ca (a,b) și difractograma Mg-Ca (c)

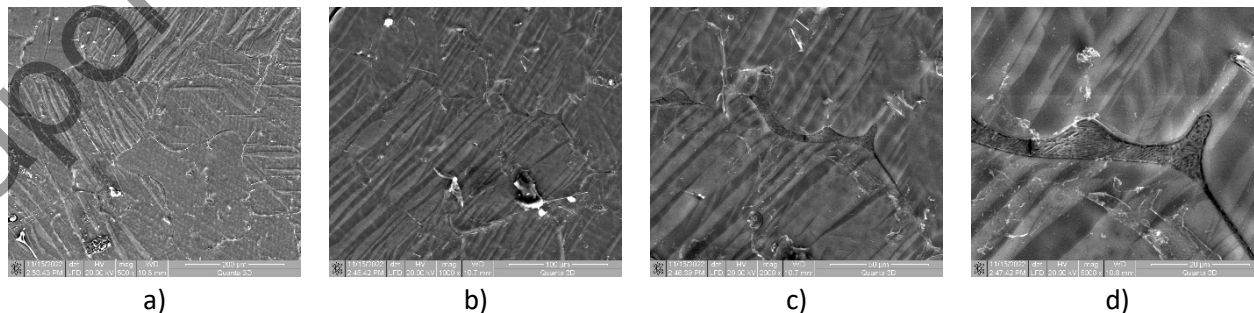


Figura 6. Imagini SEM a sistemului de baza Mg-0.5Ca

În vederea obținerii acestor aliaje de Mg-Ca-Zn s-a utilizat o instalație de topire cu rezistență electrică, în atmosferă controlată: Cuptor de laborator cu atmosferă controlată, Seria de fabricație

SY0002-2000W-1Kg din cadrul Facultății de Mecanică de la Universitatea Tehnică Gheorghe Asachi din Iasi (figura 7). Pentru elaborarea acestor compoziții, la o puritate și o calitate superioară, s-au utilizat ca materii prime, elemente de înaltă puritate precum: Mg-99,7%, cât și prealiaje cu compoziții controlate, Mg-15Ca și Mg-20Zn achiziționate de la producători.



Figura 7. Imagini ale procesului de elaborare a aliajelor proiectate experimental

La calculul încărcăturii s-a ținut cont de natura materiilor prime (prealiaje și magneziu de înaltă puritate) și de caracteristicile diferitelor elemente din compoziție și de proprietățile lor fizicochimice. S-a stabilit faptul ca pierderile prin ardere a prealiajelor introduse să fie de 2%, așa cum reiese din literatura de specialitate. Materiile prime au fost pregătite pentru topire și dozate pentru fiecare șarjă prin cântărirea cu o balanță electronică, conform calculului de șarjă. În tabelul 5 este prezentată încărcătura materiei prime utilizată care a rezultat din calculul de încărcătură pentru aliajele experimentale. Pentru elaborarea lingourilor s-au utilizat prealiaje din magneziu cu Ca (Mg-15%Ca), Zn (Mg-20%Zn) și aliaj din magneziu tehnic pur 99,7 %. S-au utilizat creuzete cilindrice din grafit, vopsite cu vopsea refractară, având următoarele dimensiuni: diametrul exterior : 50 mm, diametrul interior: 39 mm și înălțime de 100 mm. Calculul de șarjă estimat pentru umplerea creuzetelor a fost de aproximativ 100 grame. Calculele șarjelor pentru cele 5 aliaje programate experimental sunt redate în tabelul de mai jos.

Tabel 1. Calculul șarjelor pentru cele 5 aliaje experimentale

Nr. crt.	Aliaj	Mg [g]	Mg-15Ca [g]	Mg-20Zn[g]
1	Mg-0.5Ca-0.5Zn	94.17	3.33	2.5
2	Mg-0.5Ca-1Zn	91.67	3.33	5
3	Mg-0.5Ca-1.5Zn	89.17	3.33	7.5
4	Mg-0.5Ca-2Zn	86.67	3.33	10
5	Mg-0.5Ca-3Zn	81.67	3.33	15

Topirea s-a realizat prin încălzirea la 720 °C cu menținere 5 minute la această temperatură pentru omogenizare. În timpul operațiilor de topire s-a realizat purjarea creuzetului cu gaz inert (Ar). Omogenizarea s-a realizat cu ajutorul unei tije de oțel inoxidabil prin amestecarea constantă a încărcăturii. În acest fel, topirea elementelor a avut loc uniform rezultând aliaje cu o compoziții chimice precise, omogene și fără defecte macrostructurale majore.

A.1.3. Pregătirea probelor pentru analizele necesare și analiza microstructurală (OM, SEM, XRD) a materialelor biodegradabile din sistemul Mg-Ca-Zn – Obiectiv îndeplinit

În urma procesului de elaborare au rezultat 5 lingouri din sistemul Mg-0.5Ca-xZn având o greutate de aproximativ 98-99 grame fiecare. Aliajele au fost debitate cu ajutorul mașinii de debitat cu disc de 2 mm și răcire continuă Metkon Metacut 302, la dimensiuni specifice fiecărui tip de analiză experimentală. În continuare s-au înlăturat bavurile apărute după debitare, iar pentru analizele microstructurale eșantioanele s-au înglobat în rășină epoxidică utilizând aparatul Metkon Ecopress

52, timp de 4 minute la 170 °C și răcire controlată 3 minute până la 40°C. În final, cu ajutorul echipamentului Metkon Forcipol 202 prevăzut cu braț automat, s-a efectuat șlefuirea și lustruirea eșantioanelor.

Atacul metalografic s-a realizat prin imersarea pe suprafață a următorului reactiv chimic: alcool etilic – 100 ml, acid acetic 5,2 ml, timp de cateva secunde. Astfel, s-au pus în evidență constituenții microstructurali și limitele de grăunți ai aliajelor pe bază de magneziu.



Figura 8. Pregătirea eșantioanelor la dimensiunile necesare tuturor analizelor experimentale

În figura 8 sunt evidențiate pregătirea și sortarea tuturor probelor experimentale la dimensiunile solicitate de colaboratori în vederea începerii analizelor specifice de proprietăți mecanice, rezistență la coroziune, viabilitate celulară și analize in vivo, activități ce se vor desfășura în următoarele 2 etape.

În vederea stabilirii compoziției chimice a aliajelor Mg-0.5Ca-xZn s-au utilizat 2 echipamente diferite, Spectrometrul de emisie optică Hitachi Foundry Master SpArcfire cu bază de referință de Mg și Microscopul SEM VEGA TESCAN LMH II echipat cu sistemul EDS Bruker, Esprit 2.2, din dotarea Facultății de Știința și Ingineria Materialelor Iași. Astfel s-a putut evidenția omogenitatea compozițională a aliajelor experimentale. S-au efectuat longitudinal câte 5 determinări de compoziție chimică și s-a realizat o medie a acestora.

Prin spectrometrie de emisie optică s-au obținut procentele chimice pentru cele 3 elemente de bază (Mg, Ca, Zn) dar s-a putut observa și prezența și a altor elemente însoțitoare, în cantități neglijabile. Acestea provin, cel mai probabil din aliajul de Mg-tehnic pur. Rezultatele de compoziție chimică prin spectrometrie de emisie optică sunt evidențiate în tabelul 2.

Tabel 2. Rezultatele de compoziție chimică prin spectrometrie de emisie optică

Aliaj	Mg [wt.%]	Ca [wt.%]	Zn [wt.%]	Al [wt.%]	Mn [wt.%]	Ni [wt.%]	Si [wt.%]	Y [wt.%]	Ag [wt.%]
Mg-0.5Ca-0.5Zn	98.8	0.42	0.42	0.02	0.02	0.03	0.17	0.1	0.02
Mg-0.5Ca-1Zn	98.23	0.49	0.94	0.01	0.01	0.02	0.16	0.12	0.02
Mg-0.5Ca-1.5Zn	98.02	0.38	1.51	0	0.01	0.01	0.02	0.04	0.01
Mg-0.5Ca-2Zn	97.53	0.4	1.97	0	0	0.01	0.06	0.02	0.01
Mg-0.5Ca-3Zn	96.65	0.41	2.85	0	0	0.01	0.07	0	0.01

Caracterizarea structurală s-a realizat pe aceleași epruvete, pregătite în prealabil prin șlefuire, lustruire și atac cu reactivi chimici specifici, prin analiza metalografică optică, electronică și analiză de raze X. Astfel a fost utilizată aparatura din dotarea TUIASI, respectiv: Microscop optic LEICA 5000DMI, Microscop electronic SEM Quanta 200 3D, Difractometru de raze X Xpert Pro MPD.

Analizele microstructurale evidențiază structuri omogene cu formarea unor compuși chimici specifici, α -Mg, Mg_2Ca și $Mg_6Ca_2Zn_3$. Compusul Mg_2Ca este situat la limitele dintre granuții de magneziu, formând un eutectic pelicular cu magneziu. Zincul adăugat progresiv prezintă forme

globulare cu tendință de segregare, de culoare distinctă relativ uniform. Aceste aspecte sunt evidențiate în micrografiile anexate prezentului raport științific, respectiv în figura 9.

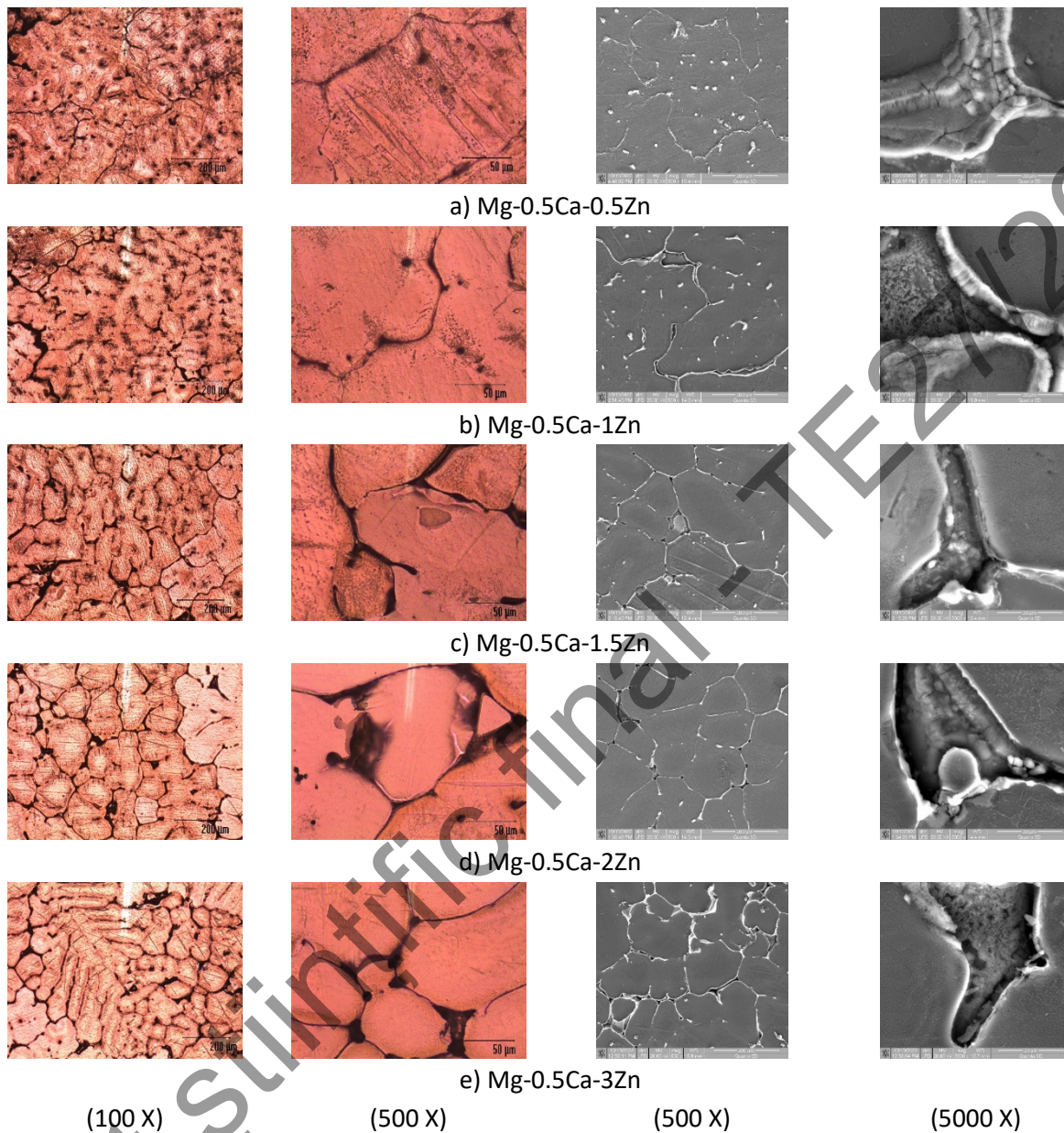


Figura 9. Microstructuri optice ale sistemului Mg-0.5Ca-xZn

Imaginile SEM indică și prezența unor puncte albe care corespund formațiunilor Mg-Zn. S-a constatat că creșterea concentrației de Zn duce la rafinarea microstructurii și la scăderea dimensională a grăunților. Rezultatele analizei XRD sunt prezentate în figura 10. Acest grafic evidențiază spectrele XRD ale aliajelor Mg-0.5Ca-xZn. Se observă că toate aliajele turnate au în principal următoarele faze: α -Mg, Mg_2Ca și $Ca_2Mg_6Zn_3$. Variația crescândă a concentrației de Zn duce la formarea de $Ca_2Mg_6Zn_3$.

Principala fază α -Mg are o structură hexagonală și este identificată cu următoarele vârfuri: $32,42^\circ$, $34,59^\circ$, $36,58^\circ$ și $68,12^\circ$. Fazele secundare de tip Mg_2Ca (structură hexagonală) apar la $59,51^\circ$ și, respectiv, $64,15^\circ$, iar cele de tip $Ca_2Mg_6Zn_3$ (structură hexagonală) sunt evidențiate la unghiurile de $28,85^\circ$, $30,97^\circ$ și $32,39^\circ$.

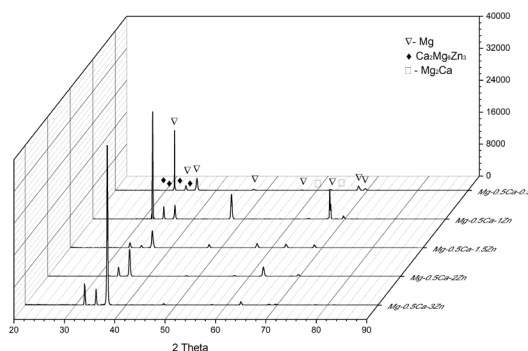


Figura 10. Spectrele de difracție de raze X ale sistemului Mg-0.5Ca-xZn

A.1.4. Diseminarea rezultatelor aferente Etapei I – Obiectiv îndeplinit

Rezultatele etapei 1/2022 (15.05.2022 – 31.12.2022) au fost diseminate după cum urmează:

- *lucrări comunicate la conferințe naționale și internaționale*: 3 (Biommedd 2022 - Bucuresti / Biomah 2022 – Roma / ROMAT 2022 - Bucuresti)

1. Istrate Bogdan, Munteanu Corneliu, Antoniac Iulian-Vasile, Lupescu Ștefan-Constantin, A review on the current research studies of Mg-Ca-Zn biodegradable alloys – prezentare orală , BiomMedD 2022 , 20-22.07.2022

2. B. Istrate, C. Munteanu, R. Cimpoesu, M. Benchea, M.S. Baltatu, J.V. Rau, Influence of Zn on properties evaluation of Mg-0.5Ca-xZn biodegradable alloys, - prezentare poster BIOMAH 3rd edition 2022, Rome, Italy 18-21.10.2022

3. Istrate Bogdan, Munteanu Corneliu, The effect of the elements Zn, Zr, Y, Mn, and Gd in the biodegradable Mg-Ca system with medical applications, - prezentare orală ROMAT 2022, București 24-26.11.2022

participare conferințe: 3 (Biommedd 2022-Bucuresti/Biomah 2022– Roma / ROMAT 2022 - Bucuresti)

- *lucrări publicate* : 1 lucrare ISI cu factor de impact: 2.67 (Q2) – ISI WoS

1. Bogdan Istrate, Corneliu Munteanu, Iulian-Vasile Antoniac, Ștefan-Constantin Lupescu, Current Research Studies of Mg–Ca–Zn Biodegradable Alloys Used as Orthopedic Implants—Review, Crystals 2022, 12(10), 1468; <https://doi.org/10.3390/cryst12101468>, Factor de impact ISI WoS: 2.67 (Q2)

- *website*: <https://istratebogdan.com/research-projects/magzinc-te27-2022/>

- *Achizitiile echipamente*: Nisa chimica de Laborator:KIM Activa 120 s.n.716/22; cons. de laborator

A.2.1. Realizarea analizelor mecanice/tribologice a aliajelor biodegradabile Mg-0.5Ca-xZn determinând modulul de elasticitate, duritatea și coeficientul de frecare – Obiectiv îndeplinit

Pentru testul de microindentare au fost utilizate epruvete cu un diametru de 20 mm și o grosime de 2 mm. S-a folosit un penetrator Rockwell cu vârful de diamant cu un unghi de deschidere de 120° la marginea sa. Pentru o mai mare precizie, s-au efectuat trei măsurători de indentare pe suprafața fiecărei probe. Analiza a constatat într-o creștere a forței de indentare de la 0 la 5 N, urmată de o revenire la poziția inițială. CETR-UMT Test Viewer a fost programul pentru testarea microindentării și a microîncrustării. Pentru testul de microzgâriere, au fost utilizate aceleași eșantioane de semidisc, iar o microlamelă a fost deplasată pe o distanță de 4 mm cu o forță constantă de 5 N. S-a calculat coeficientul de frecare aparent (COF) al fiecărui eșantion. Cu ajutorul unui microscop FEI Quanta 200 3D echipat cu un microscop electronic de scanare (SEM), a fost analizată morfologia zgârieturilor. Testarea prin microindentare este folosită pentru a determina

diferite caracteristici mecanice a materialelor cum ar fi duritatea suprafeței, modulul de elasticitate longitudinal Young sau rigiditatea contactului dintre suprafață și vârful de indentare folosit.

Testarea prin microstach este utilizată pentru a evalua aderența și rezistența de coeziune a straturilor de strat subțire și a tratamentelor de suprafață. Aceasta implică utilizarea unui vârf ascuțit pentru a realiza o microzgârietură controlată și continuă pe suprafața materialului testat în timp ce se monitorizează forța necesară pentru a face urma de zgâriere, deformarea și deteriorarea suprafeței rezultate. În plus, semnalele AE pot furniza informații despre comportamentul deplasării sarcinii materialului în timpul testului de microscratch pentru a identifica debutul mecanismelor de deteriorare a suprafeței.

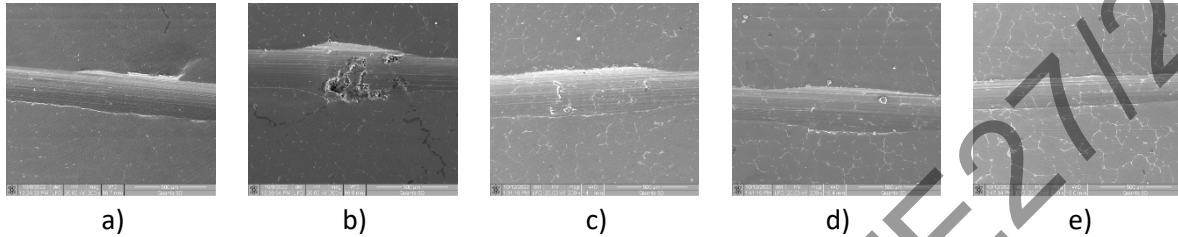


Figura 11. Imagini SEM ale urmelor de zgâriere ale probelor de Mg-Ca-Zn

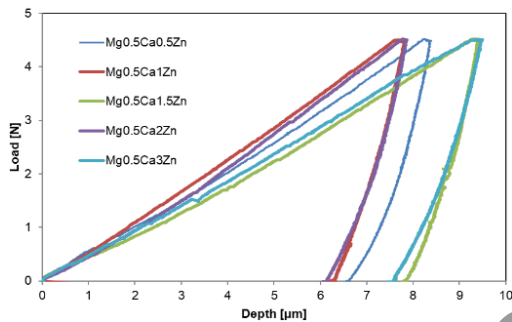


Figura 12. Grafic comparative ale aliajelor experimentale de microindentare încărcare – deformare.

Tabel 3. Rezultate comparative ale proprietăților mecanice obținute prin metoda microindentării

	Coefficient de frecare aparent	Duritate (GPa)	Modulul de elasticitate (GPa)	Rigiditate (N/μm)	Adâncime (μm)
Mg-0.5Ca-0.5Zn	0.5502	0.445	34.085	4.053	9.005
Mg-0.5Ca-1Zn	0.6571	0.450	33.110	3.940	9.069
Mg-0.5Ca-1.5Zn	0.6107	0.425	33.905	4.138	9.436
Mg-0.5Ca-2Zn	0.5809	0.519	35.395	3.943	7.888
Mg-0.5Ca-3Zn	0.4319	0.474	35.054	3.857	8.591

Din rezultatele prezentate din tabelul 3, dar și din figura 11, pentru aliajele elaborate, se observă valori în limite strânse a diversilor parametri: duritatea Rockwell între 0.4 și 0.5 Gpa; modul de elasticitate Young între 33 și 35 Gpa; rigiditatea contactului între 3.8 și 4.1 N/μm; coeficient de frecare aparent la teste de scratch între 0.4 și 0.6.

Valorile modulului Young obținute sunt foarte apropiate de cele a osului uman, duritatea ce mai mare de 0.519 GPa a rezultat pentru aliajul Mg0.5Ca1.5Zn, iar valoarea coeficientului de frecare aparent de 0.657 poate indica o rezistență la zgâriere mai bună pentru aliajul Mg0.5Ca1Zn.

Figura 13 prezintă aspectul microscopic al modelului de fractură după testarea la tracțiune. În cazul primelor trei epruvete se observă o fractură relativ oblică, cu un aspect mai pronunțat pentru epruveta de Mg-0,5Ca-1Zn, în timp ce în cazul epruvetei de Mg-0,5Ca-3Zn se observă o fractură dreaptă care evidențiază un comportament mai fragil. Această secțiune transversală tăiată în diagonală înmagazinează o energie de deformare ridicată și acest aspect evidențiază un comportament elasto-plastic.

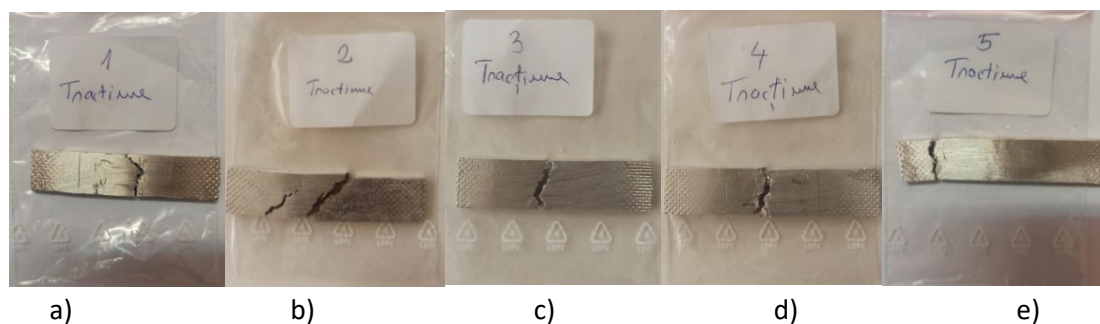


Figura 13. Epruvete supuse încercării la tracțiune: a) Mg0.5Ca0.5Zn; b) Mg0.5Ca1Zn; c) Mg0.5Ca1.5Zn d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg0.5Ca3Zn.

Tabel 4. Rezultate comparative ale proprietăților mecanice obținute prin încercarea la tracțiune

Aliaj	Rezistența la curgere (MPa)	Rezistența la rupere (MPa)
Mg-0.5Ca-0.5Zn	7.53	10.49
Mg-0.5Ca-1Zn	19.68	19.87
Mg-0.5Ca-1.5Zn	61.13	68.47
Mg-0.5Ca-2Zn	45.16	57.00
Mg-0.5Ca-3Zn	42.50	61.84

Aspectul de rupere și rezultatele obținute arată o creștere semnificativă a limitei de curgere (YS) și a rezistenței la rupere (UTS) de la 0,5 % în greutate la 1,5 % în greutate, apoi o ușoară scădere pentru 3 % în greutate. Valorile maxime ale YS, respectiv UTS sunt de 61,13 MPa și 68,47 MPa pentru aliajul cu 1,5wt.% Zn. Valorile experimentale pentru aliajele experimentale sunt evidențiate în tabelul 4.

A.2.2. Efectuarea de analize electrochimice în medii fiziologice specifice (SBF/Ringer) – Obiectiv îndeplinit

Aliajele experimentale de laborator, după șlefuirea mecanică și curățarea cu ultrasunete în alcool tehnic timp de 30 de minute, au fost imersate în soluție de lichid corporal simulat (SBF) la temperatură de 37 °C timp de cinci zile (120 de ore). Probele au fost întoarse zilnic de pe o parte pe alta pentru a expune toată suprafața electrolitului. În timpul testelor de imersie, cu ajutorul unei micropipete, pH-ul a fost corectat la fiecare 360 de minute cu HCl-1M pentru a menține valoarea apropiată de 7,4.

Experimentele au fost realizate într-o soluție simulată de fluide corporale (SBF) realizată din (cantitate în 1000 ml): NaCl: 8,035 g, NaHCO₃: 0,355 g, KCl: 0,225 g, K₂HPO₄·3H₂O: 0,231 g, MgCl₂·6H₂O: 0,311 g, HCl 1,0 M: 39,0 ml, CaCl₂ 0,292 g, Na₂SO₄ 0,072 g, ((HOCH₂)₃CNH₂) 6,118 g și HCl 1,0 M: cantitatea adecvată pentru ajustarea pH-ului la 7,4.

În figura 14 sunt prezentate aspecte ale suprafeței după imersie la scară macro, a)-c) și la scară micro, d)-f). Pe suprafața aliajului se observă un strat compact de diferiți compuși, figura 14 a)-c), cu variații ale grosimii, întreruperi și goluri. La micro-scală, figura 14 d)-f), un strat continuu cu microfisuri și diferite forme acoperă întreaga suprafață și, de asemenea, oxizii tipici pe bază de Mg, figura 14 e). Procesul de degradare se va baza în mod continuu pe pasivarea suprafeței în prima perioadă de contact, rupând stratul de pasivare în scurt timp și formând un nou strat de coroziune.

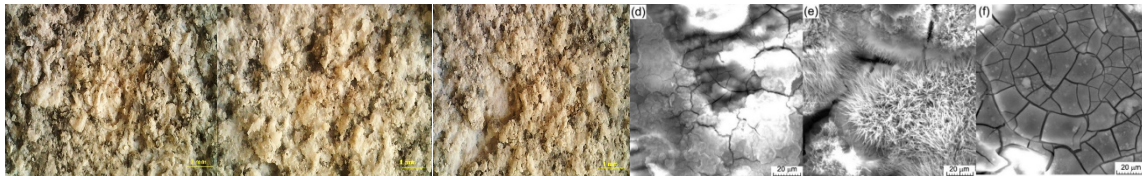


Figura 14. Starea suprafeței după imersia în SBF la 37 °C cu imagini de microscopie optică în a)-c) și microscopie electronică de baleiaj în d)-f)

$$CR = \frac{8.76 \times 10^4 W}{At\rho} \quad (1)$$

Utilizând formula din ecuația (1), s-a determinat o viteză de coroziune bazată pe pierderea de masă, care este prezentată în tabelul 5, împreună cu variația de masă a probelor după o perioadă de imersie de 5 zile. Adăugarea de zinc contribuie la reducerea vitezei de coroziune a aliajului pe bază de Mg și la scăderea la o viteză de 0,63 mm/an pentru Mg_{0,5}Ca₃Zn în condiții de imersie statică.

Tabel 5. Viteza de coroziune determinată de fiecare pierdere de masă a eșantioanelor supuse testelor de imersie și curățare ulterioară în baia cu ultrasunete. (T imersie timp de 5 zile)

Timpul de imersie/ starea eșantioanelor	Mg _{0.5} Ca _{0.5} Zn	Mg-0.5Ca-1Zn	Mg _{0.5} Ca _{1.5} Zn	Mg-0.5Ca-2Zn	Mg _{0.5} Ca ₃ Zn
Masa inițială (mg)	399.9	589.1	533.4	392.4	449.5
Masa după imersie (mg)	405.1 (+5.2)	585.2 (-3.9)	529.6 (-3.8)	359.5 (-32.9)	450.8 (+1.3)
Masa după curățarea cu ultrasunete (mg)	385.3 (-14.6)	583.4 (-5.7)	527.3 (-6.1)	355 (-37.4)	447 (-2.5)
CR (mm/an)	3.62	1.31	1.30	10.82	0.63

Standard Deviation: ±0.1 mg

Între aliajul cu 1%Zn și cel de-al doilea cu 2% Zn apreciem că un număr mai mic de compuși (micro-pile) contribuie la o degradare mai mică a Mg_{0,5}Ca₁Zn în comparație cu Mg_{0,5}Ca₂Zn. Formarea și răspândirea compușilor bi sau trifazici e confirmată prin analiză de microstructură și difracție.

Mecanismul de coroziune al aliajului MgCaZn este influențat de două procese: îmbogățirea în zinc a fazei matricei care va reduce diferența de potențial dintre matrice și fazele intermetalice, în acest caz va apărea o rezistență mai bună la coroziune, iar în al doilea rând apariția unei cantități considerabile de faze secundare, cum ar fi Mg₂Ca sau Mg₆Ca₂Zn₃, care va scădea rezistența la coroziune a aliajului. Pentru proba turnată, cel de-al doilea proces este mai probabil, iar creșterea diferenței de potențial între α-Mg și faze va scădea rezistența la coroziune.

În tabelul 6 sunt prezentați principalii parametri ai testelor de rezistență la electrocoroziune a aliajelor de MgCaZn în soluție SBF. Tendința de îmbunătățire a rezistenței la coroziune observată în urma testului de imersie este confirmată pentru rezistența la electrocoroziune. Viteza de electrocoroziune este similară pentru toate materialele, cu o valoare ușor mai mică în cazul aliajului cu 3% Zn, care poate fi atribuită efectului de pasivare a oxidului de zinc asupra rezistenței la coroziune a materialului. Reacțiile prezintă activități la ramurile catodice și anodice cu valori corespunzătoare (β_c și β_a).

Tabel 6. Parametrii de electrocoroziune (valori medii din trei determinări)

Parametrii electro- coroziune/Proba	E _{corr} (I=0) (mV)	I _{corr} (μA/cm)	R _p (kohm cm ²)	V _{corr} (mm/ an)	β _c (mV/dec)	β _a (mV/dec)
Mg-0.5Ca-0.5Zn	-1781	49.37	0.885	7.96	-156	418

Mg-0.5Ca-1Zn	-1776.1	22.78	1.10	6,12	-85	183
Mg-0.5Ca-1.5Zn	-1589	41.83	1.23	8.11	-380	404
Mg-0.5Ca-2Zn	-1416.0	40.73	1.43	8,30	-327	311
Mg-0.5Ca-3Zn	-1458	32.26	1.47	7.03	-276	287

Alierea cu Zn va influența în mod cert rezistența la electrocoroziune a materialelor pe bază de Mg. Pe baza diagramei de fază, limita maximă a solubilității solide a Zn în Mg este, în condițiile generale de obținere, în jur de 6 % în greutate. De obicei, este adăugat împreună cu alte elemente chimice ca părți de armare a matricei de Mg, mărind rezistența materialului. Reacția catodică de evoluție a hidrogenului din aliajul de Mg ar fi inhibată atunci când conținutul său de Zn este mai mic de 3 % în greutate. În același timp, adăugarea a mai mult de 5 % în greutate de Zn pare să afecteze negativ rezistența la coroziune a materialului [22].

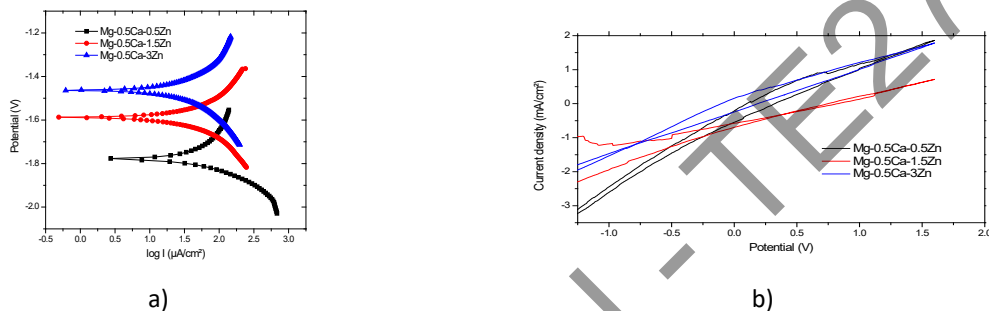


Figura 15. Rezistență la electrocoroziune a) reprezentare Tafel și b) curbe ciclice

Continuarea adaosului de Zn ar accelera dizolvarea anodică a Mg. Reacția anodică și catodică apar cu intensități similare și provoacă cu aceeași importanță degradarea materialului, tabelul 6 și figura 15. Potențialul de coroziune este mai mare pentru aliajul cu un procent mai mic de Zn, respectiv Mg0,5Ca0,5Zn.

Toate diagramele ciclice, figura 15 b), sunt similare și prezintă un tip de coroziune generalizată, fără aproape nici o diferență între ramuri. În cazul materialelor biodegradabile, coroziunea de tip pitting începe coroziunea de suprafață, figura 16, într-un ritm accelerat, iar zonele de pitting se conectează foarte repede și coroziunea capătă un aspect generalizat, observat și confirmat de testele de imersie.

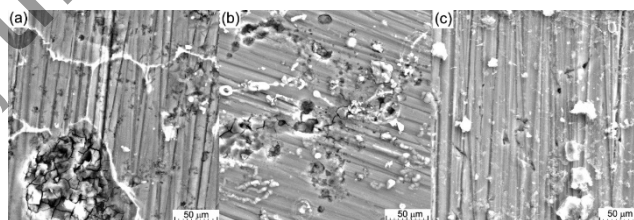


Figura 16. Imaginea SEM a suprafeței după testul de electro-corozieune în soluție SBF
a) MgCa0.5Zn, b) MgCa1.5Zn și c) MgCa3Zn

Imaginile SEM ale suprafeței aliajelor după testul de electro-corozieune și curățarea cu ultrasunete prezintă în figura 16 o suprafață corodată cu puncte de pitting, mai multe, mai mari și mai dense pe probele cu 0,5 și 1,5% wt% Zn. Pe toate suprafețele se pot observa produsele de coroziune. După cum se poate observa în figura 16 b), găurile de pitting tind să se conecteze și să formeze o fisură mare în material, de obicei sub stratul de produse de coroziune, care va spori degradarea suprafeței aliajului.

A.2.3. Realizarea de analize in vitro (teste de biodegradare, citocompatibilitate indirectă și viabilitate celulară-testare MTT, microscopie de fluorescență) asupra sistemului biodegradabil Mg-Ca-Zn – Obiectiv îndeplinit

Pentru studiul citotoxicității aliajelor, s-au utilizat osteosarcoame umane (tumorale) – MG-63 (achiziționate de la ATCC, Rockville, MD, USA). Aliajele obținute în cadrul proiectului, notate cu Aliaj 1, Aliaj 2, Aliaj 3, Aliaj 4 și Aliaj 5, au fost testate din punct de vedere al citocompatibilității prin metoda extractului.

Primul pas pentru prepararea extractelor a fost sterilizarea materialelor. Pentru aceasta, fragmente din fiecare material au fost imersate separat în alcool steril (70%). După etapa de sterilizare s-au realizat extractele propriu-zise respectând procedura stabilită de Organizația Internațională de Standardizare (ISO), Standardul ISO 10933-12 – *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale*. Pentru fiecare din cele 5 aliaje, pe lângă soluția stoc (0,2 g/mL) s-au testat încă patru concentrații: 0,15 g/mL, 0,1 g/mL, 0,05 g/mL și 0,025 g/mL.

Celulele MG-63 au fost incubate pentru 24 ore (5% CO₂, 37°C, 95% umiditate relativă) în mediu de cultură DMEM suplimentat cu 10% BFS și 1% P/S/N (mediu complet), în plăci de 96 godeuri pentru testul MTT (2 × 10³ celule/godeu), respectiv în plăci de 48 godeuri pentru studiul morfologiei celulelor (8 × 10³ celule/godeu).

Rezultatele testului MTT pentru cele cinci concentrații din fiecare extract la cei trei timpi de contact sunt prezentate în figurile 17 (a-e). Testele s-au realizat în triplicat, rezultatele fiind exprimate ca media viabilității celulare ± deviația standard.

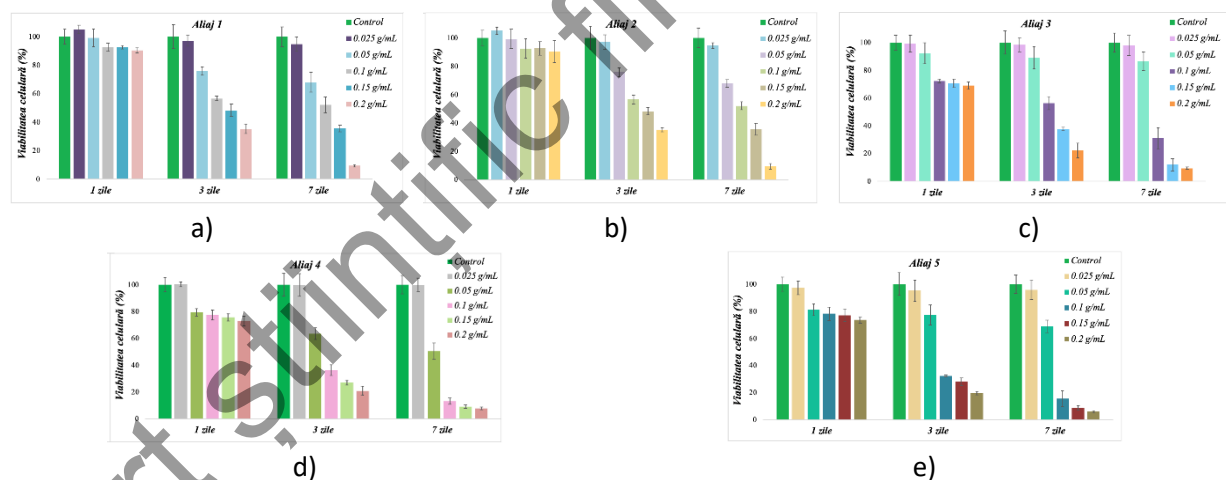


Figura 17. Viabilitatea celulară (MG-63) la 1, 3 și 7 zile de contact cu diferite concentrații din extractul aliajelor Mg-Ca-Zn: a) Mg-0.5Ca-0.5Zn; b) Mg-0.5Ca-1Zn; c) Mg-0.5Ca-1.5Zn; d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg-0.5Ca-3Zn;

Deși, cea mai mare concentrație testată (0,2 g/mL), a fost aleasă conform standardului ISO 10993, s-au testat și alte concentrații mai mici, deoarece, după cum au menționat Jablonská et al. [1] pentru materialele degradabile, o concentrație de 0,2 g/mL poate fi inadecvată. De exemplu, s-a demonstrat că pentru obținerea unor rezultate relevante de citotoxicitate *in vitro* pentru materiale pe bază de magneziu, cum este și cazul aliajelor de față, este necesar să se folosească de până la 10 ori mai mult mediu de extracție decât cel recomandat în standard, capacitatea de tamponare și osmolaritatea nefiind modificate sever.

În conformitate cu ISO 10993-5, procente de viabilitate celulară de peste 80% sunt considerate ca non-citotoxice; în interval de 80%–60% slab citotoxice; 60%–40% citotoxicitate

moderată, iar sub 40% puternic citotoxice. Pentru toate cele 5 probe și cele 5 concentrații, se poate observa o descreștere a viabilității celulare în urma contactului cu extractele acestora pe parcursul experimentului. Pentru toate cele 5 aliaje, în cazul concentrației de 0,025 g/mL, descreșterea a fost foarte mică (de doar câteva procente), pe parcursul experimentului, valorile obținute pentru 1, 3, 7 zile, indicând faptul că toate cele 5 aliajele sunt lipsite de toxicitate pentru această cantitate.

În cazul concentrație de 0,05 g/mL, pentru primul timp analizat (1 zile), valorile obținute au fost mai mari de 92%, în cazul aliajelor 1, 2 și 3, și în jur de 80% în cazul aliajelor 4 și 5. Pentru aliajele 1 și 2 s-au obținut valori de aproximativ 75%, la 3 zile de contact al extractelor cu celulele, valori ce au scăzut foarte puțin până la sfârșitul experimentului, aproximativ 3 procente în cazul aliajul 2, respectiv puțin, aproximativ 8 procente în cazul aliajului 1. În cazul aliajului 3, scăderea a fost constantă pe parcursul experimentului (aproximativ 3%), ajungându-se la o valoare de 86% după 7 zile. Deși pentru aliajul 5 s-a determinat o valoare a viabilității celulare la limita dintre non-citotoxic și slab-citotoxic (81%), pentru primul timp analizat, pe parcursul experimentului, această valoare a scăzut cu aproximativ 12%, la 7 zile de contact fiind obținută a valoare de 68%. Aliajul 4, s-a dovedit a fi cel mai toxic, pentru o concentrație de 0,05 g/mL, valorare viabilității celulare, fiind de 50% (7 zile).

În ceea ce privește concentrația de 0.1 g/mL, se poate observa o scădere bruscă a viabilității celulare de la 1 la 3 zile de contact (35% în cazul aliajului 1, până la 50% în cazul aliajului 2), pentru aliajele 1, 2, 4 și 5, iar în cazul aliajului 3, o scăderea de 16%. După 7 zile de contact, valorile obținute, încadrează aliajul 1 la materiale cu citotoxicitate moderată, aliajul 2, la limita între citotoxicitate moderată și citotoxicitate puternică, valoare determinată fiind de 39%, iar aliajele 3, 4 și 5 la materiale cu citotoxicitate puternică.

Pentru concentrațiile de 0.15 g/mL și 0.2 g/mL, valorile obținute pentru viabilitatea celulară, încadrează toate cele 5 aliaje analizate la materiale cu toxicitate puternică.

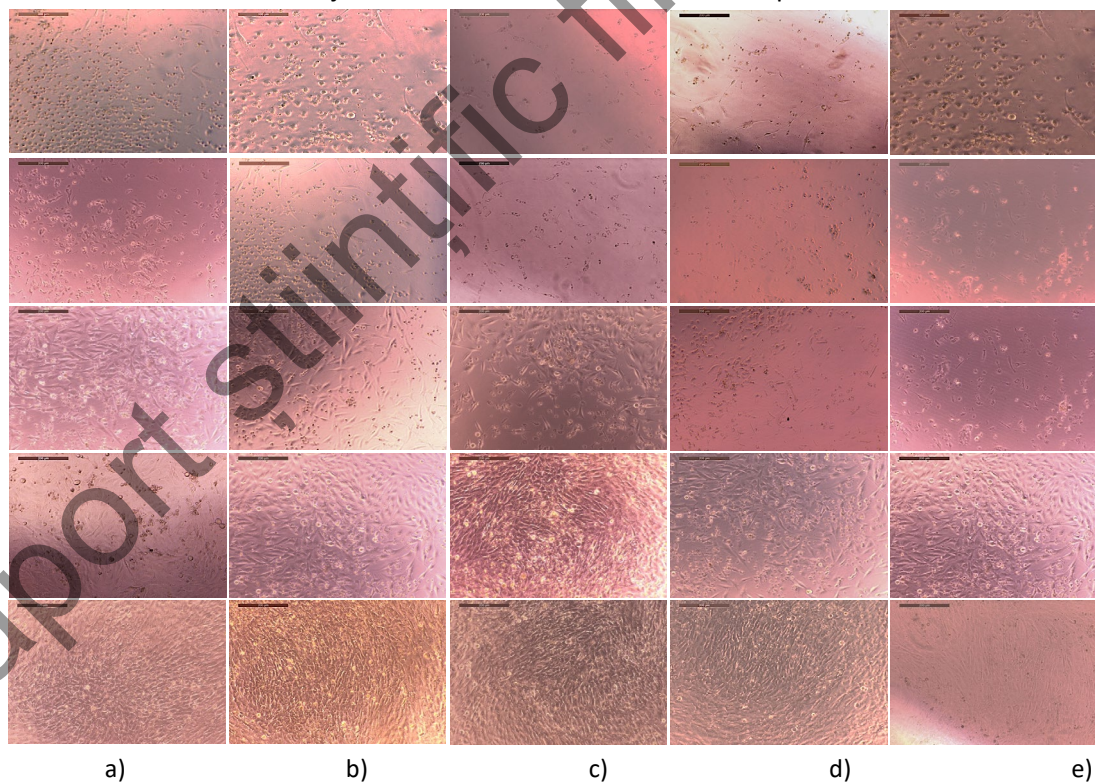


Figura 18. Structura și morfologia celulelor MG-63 din godeurile incubate cu diferite concentrații de extract realizat din aliajele Mg-Ca-Zn: a) Mg-0.5Ca-0.5Zn; b) Mg-0.5Ca-1Zn; c) Mg-0.5Ca-1.5Zn; d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg-0.5Ca-3Zn. (0.2 mg/mL; 0.15 mg/mL; 0.1 g/mL; 0.05 g/mL; 0.025 mg/mL)

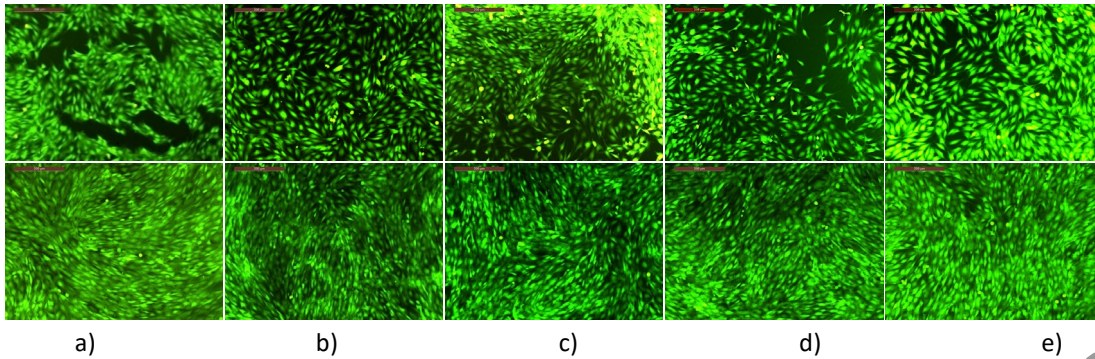


Figura 19. Structura și morfologia celulelor MG-63 din godeurile de control, marcate cu Calceină-AM: a) Mg-0.5Ca-0.5Zn; b) Mg-0.5Ca-1Zn; c) Mg-0.5Ca-1.5Zn; d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg-0.5Ca-3Zn.

În cazul tuturor celor 5 aliaje, la concentrația de 0,025 g/mL, pentru care s-au determinat prin testul MTT, valori ale viabilității de peste 90% se observă o densitate celulară comparabilă cu cea din godeurile de control. De asemenea, forma celulelor nu este modificată. În schimb, pentru concentrația de 0,05 g/mL, se observă o densitate scăzută în godeurile test, în comparație cu godeurile control, rezultate în concordanță cu cele ale testului MTT.

A.2.4. Stabilirea designului de implant necesar și efectuarea analizelor in vivo pentru aliajele biodegradabile Mg-Ca-Zn folosind modele animale conform standardelor ISO – Obiectiv îndeplinit

În acest studiu s-au folosit ca implanturi ortopedice, la șobolani, materiale de cinci concentrații diferite Mg-0,5Ca-0,5Zn-x, urmărind reacția țesutului moale în jurul materialului implantat cât și aspectele de biodegradare, folosind experimente „in vivo” și diagnostic imagistic (RX) și histopatologic pentru evaluare la 1, 2, 4 și 8 săptămâni după implantare.

Aliajele au fost obținute din Mg-0,5% Ca - X% cu cantități variabile de Zinc (x = 0.5; 1; 1.5; 2; 3 % în greutate). Aliajele sunt sub formă de lingouri de bară cilindrică și au fost tăiate în eșantioane de dimensiuni mici în ordine pentru a fi implantat la șobolani.

Aliajele au fost marcate astfel : Numarul 1 - Mg-0,5% Ca -0,5% Zn; Numarul 2 - Mg-0,5% Ca - 1,0% Zn; Numarul 3 - Mg-0,5% Ca -1,5% Zn; Numarul 4 - Mg-0,5% Ca -2,0% Zn; Numarul 5 - Mg-0,5% Ca -3,0% Zn. Implanturile folosite aveau colțurile rotunjite și erau de formă paralelipipedică, cu dimensiunile următoare: 10–13 mm lungime, 4–6 mm lățime și 1–2 mm înălțime.

În acest proiect s-au folosit 20 de șobolani din rasa Winstar, masculi, cu vârsta cuprinsă între aproximativ 30 și 32 de săptămâni, cu o greutate corporală de 350 ± 15 g și au fost împărțiți aleatoriu în cinci grupuri care corespund celor cinci concentrații luate în studiu. Animalele au fost achiziționate de la Institutul Național de Cercetare Dezvoltare Cantacuzino pentru Microbiologie și Imunologie (București, România). La nivelul regiunii femurale, au fost implantate două bucăți din fiecare aliaj. Evaluarea reacției țesutului moale din jurul materialului implantat cât și aspectele de biodegradare, s-au efectuat la 1, 2, 4 și 8 săptămâni după implantare.

În vederea implantării s-au ales două regiuni anatomice, deoarece unul dintre scopurile acestui studiu a fost de a utiliza implantul în coloana vertebrală umană și patologia oaselor lungi (fracturi). Pe același șobolan s-au folosit două implanturi, fie la nivelul ambelor membre pelvine sau la nivelul unui membru pelvin și la nivelul lombar, pentru a economisi orice viață animală.

Șobolanii au fost supuși intervenției chirurgicale în urma anesteziei generale. Anestezia a constat în injectarea acestora intramuscular cu xilazină, urmată de menținerea narcolepsiei cu un amestec inhalator de oxigen și isofluran 1-2%. După instalarea anesteziei, animalele au fost așezate în decubit sternoabdominal pe masa de operație. Regiunea abordată în vederea implantării a fost tunsă și dezinfectată cu o soluție de betadină.

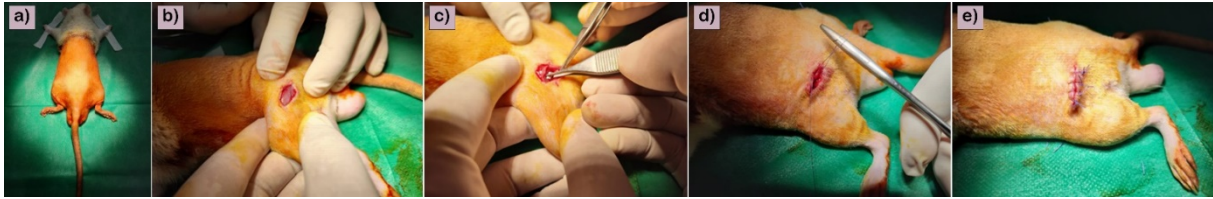


Figure 20. Etapele operatorii pentru metoda chirurgicală: a) Poziționarea șobolanilor pe masa de operație în poziție sternoabdominală; b) Incizia pielii; c) Implantarea fragmentului de aliaj în contact cu țesutul osos; d) Stratul muscular a fost suturat în fir continuu; Pielea a fost suturată în puncte separate.

Accesul operator a fost asigurat prin poziționarea șobolanilor pe masa de operație în decubit sterno abdominal. După operație animalele au fost lăsate să se miște liber în cuștile lor și au fost monitorizate zilnic pentru evaluarea vizuală a mobilității lor. Nu s-au observat efecte secundare.

A.2.5. Analize histologice, histomorfometrice, examen Rx/CT pentru analiza in vivo asupra aliajelor biodegradabile din sistemul Mg-Ca-Zn – Obiectiv îndeplinit

Animalele au fost supuse conform protocolului și investigațiilor imagistice (radiologice), acestea punând în evidență locul implantării micro-aliajelor. Astfel este detaliat mai jos comportamentul micro-aliajelor la diferite perioade de implantare.

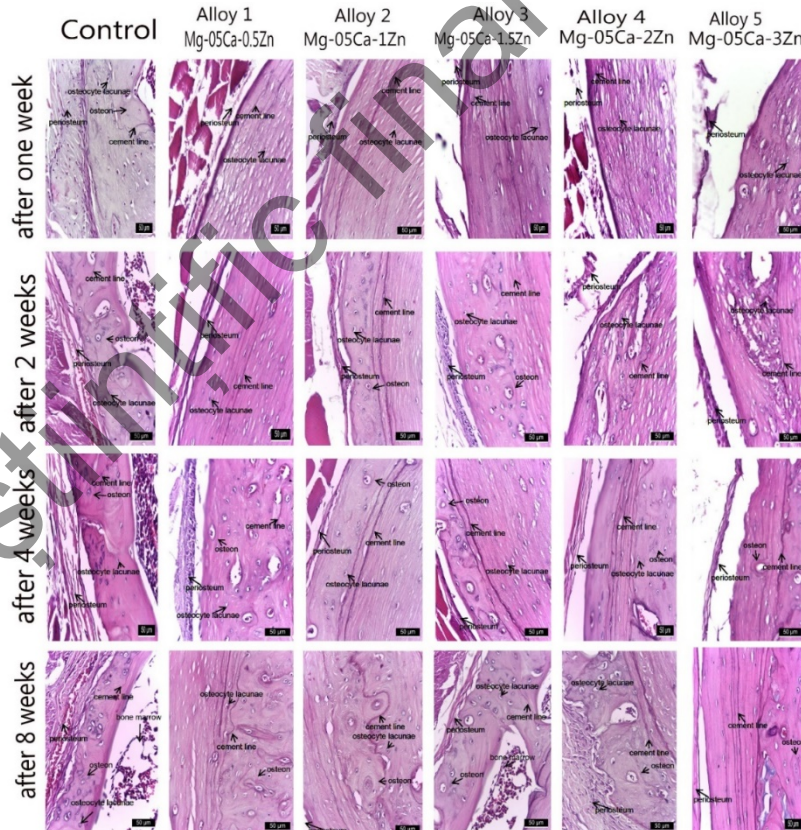


Figura 21. Imagini histologice a implanturilor din sistemul Mg-Ca-Zn

A fost evaluat procesul de vindecare a periostului și țesutului osos din vecinătatea implantului/răspunsul celular osos și performanța materialului implantat prin intermediul detaliilor histologice. Analiza histologică a început cu fazele vindecării de la 1 săptămâni, 2, 4 și 8 săptămâni post-implantare și a pus accent pe evidențierea morfologiei periostului și zonei osoase peri-

implantare. Astfel s-au luat în considerare aspecte ale osteointegrării precum proliferarea celulară, diferențierea și clasificarea tipului de celulă, neoangiogeneza, procesul de vindecare și remodelare osoasă.

La implantul 1, zona periferică, se caracterizează printr-un periost subțire în primele săptămâni și îngroșat la 8 săptămâni post implant, +cu celulele stem mezenchimale care se vor diferenția în osteoblaste, altele se deplasează în areolele țesutului osos nou format și din vecinătatea periostului (fig. a). În oseina mineralizată se delimitează lacune care în primele 2 săptămâni multe dintre acestea sunt goale. La 4 și 8 săptămâni în lacune evidențiem osteocite mari, active, implicate în metabolismul osului (fig. b). În această zonă alternează os mineralizat și nemineralizat și rare linii de mineralizare. În vecinătatea implantului s-a observat o capsulă densă fibroasă care se continuă cu țesut osos nou format, aflat în remodelare zonală despărțite de linii de ciment (fig. c). La toate cele 5 implanturi, toate modificările sunt asemănătoare, doar la implantul 5 celulele din periost sunt mai mari și mai multe comparative cu celelalte loturi. Nu au fost observate celule inflamatorii. Capsula din jurul implantului crește progresiv și este foarte vascularizată. În țesutul conjunctiv al capsulei au fost observate și celule încărcate cu pigmenți de uzură, semn al resorbției materialului implantat. În vecinătatea periostului, țesutul osos are o perioadă de 2 săptămâni de modificări reprezentate de lipsa osteocitelor din lacune, diametrul redus al periostului, absența liniilor de mineralizare și edem între periost și țesutul osos.

Vindecarea osoasă este un proces biologic complex care se desfășoară conform unui tipar specific de regenerare direct (vindecare intramembranoasă sau primară) sau indirect (vindecare secundară – atât osteogeneză intramembranoasă cât și osteogeneză endochondrală - adesea întâlnită în defecte osoase mari). Vindecarea indirectă (secundară) este cea mai frecventă formă de vindecare osoasă, mai ales în urma procedurii de implantare.

Recrutarea celulelor stem mezenchimale, proliferarea și diferențierea acestora înspre linia osteoblastică este esențială în vindecarea osoasă. Nu este pe deplin înțeles de unde provin exact aceste celule, însă majoritatea datelor indică faptul că aceste celule sunt derivate din țesuturile moi înconjurătoare și măduva osoasă.

A.2.6. Diseminarea rezultatelor aferente Etapei II – Obiectiv îndeplinit

Rezultatele etapei 2/2022 (01.01.2023 – 31.12.2023) au fost diseminate după cum urmează:

- *Articole științifice:*

1. Istrate, Bogdan; Munteanu, Corneliu; Bălțatu, Madălina-Simona; Cimpoeșu, Ramona; Ioanid, Nicoleta; Microstructural and Electrochemical Influence of Zn in MgCaZn Biodegradable Alloys; Materials, Volume 16, Issue 6, 2023 Article number 2487, Q2, FI: 3.4
2. Bogdan Istrate, Marcelin Benchea, Viorel Goanță, Corneliu Munteanu, Mădălina-Simona Bălțatu, Study of the tribological and mechanical properties of some biodegradable Mg-Ca-Zn alloys, International Journal of Modern Manufacturing Technologies, Vol. XV, No. 2, 2023, <https://doi.org/10.54684/ijmmt.2023.15.2.63>, articol BDI.
3. Ramona Cimpoesu, Bogdan Istrate, Corneliu Munteanu, Nicanor Cimpoeșu, Corrosion evaluation of MgCaZn biodegradable alloys, The 11th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2023, acceptat spre publicare – ISI Proceedings
4. Panaghie, Cătălin; Zegan, Georgeta; Sodor, Alina; Cimpoeșu, Nicanor; Lohan, Nicoleta-Monica; Istrate, Bogdan; Roman, Ana-Maria; Ioanid, Nicoleta; Analysis of Degradation Products of Biodegradable ZnMgY Alloy; Materials, Volume 16, Issue 8, 2023 Article number 3092, Q2, FI: 3.4

5. Roman, Ana-Maria; Voiculescu, Ionelia; Cimpoesu, Ramona; Istrate, Bogdan; Chelariu, Romeu; Cimpoesu, Nicanor; Zegan, Georgeta; Panaghie, Cătălin; Lohan, Nicoleta Monica; Axinte, Mihai; Murariu, Alice Mirela, Microstructure, Shape Memory Effect, Chemical Composition and Corrosion Resistance Performance of Biodegradable FeMnSi-Al Alloy, Crystals, Volume 13, Issue 1, 2023, Article number 109, Q2, FI: 2.7.

- *Lucrări comunicate și participări la conferințe:*

Modtech 2023: Bogdan Istrate, Marcelin Benchea, Viorel Goanță, Corneliu Munteanu, Mădălina-Simona Bălțatu, STUDY OF THE TRIBOLOGICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF SOME BIODEGRADABLE Mg-Ca-Zn ALLOYS, ModTech 2023 International Conference, Modern Technologies in Industrial Engineering, June 14-17, 2023, Bucharest, Romania, poster presentation

BioReMed 2023: Istrate Bogdan, Munteanu Corneliu, Mg-Ca-Zn biodegradable alloys and their importance in the medical applications and material science, International Conference on Biomaterials and Regenerative Medicine, July 19-21, 2023, Sibiu, Romania, oral presentation

MTM 2023: Istrate Bogdan, Munteanu Corneliu, Cojocaru Florina Daniela, Balan Vera, IN VITRO STUDIES ON SOME Mg-0,5Ca-xZn BIODEGRADABLE ALLOYS , 3rd INTERNATIONAL MATERIALS TECHNOLOGIES AND METALLURGY CONFERENCE 2023, 11-13 October 2023, ISTANBUL – TÜRKİYE, poster presentation.

CREMS 2023: N. Cimpoesu, B. Istrate, D.L. Chicet, R. Cimpoesu, Scanning electron microscopy used in corrosion pits characterisation of biodegradable MgCaZn alloys, a cincea ediție a Conferinței Societății de Microscopie Electronică din România, C.R.E.M.S. 2023, 18 - 21 octombrie 2023, Cluj-Napoca, România, poster presentation

EHB 2023: Ramona Cimpoesu, Bogdan Istrate, Corneliu Munteanu, Nicanor Cimpoesu, Corrosion evaluation of MgCaZn biodegradable alloys, 11-th INTERNATIONAL CONFERENCE on E-HEALTH AND BIOENGINEERING – „EHB 2023”, Online & Onsite - Bucharest, Romania, 9-10 November 2023, online presentation.

- *Website:* www.istratebogdan.com – completare raport 2

- *Achizitii echipamente și materiale consumabile:* laptop ASUS + sistem docking, videoproiector, tinta aur pentru SEM Coater, materiale pentru birotica, consumabile pentru pregătire probe (hartie abrazivă, discuri debitare, electrolit), tonere imprimante, sobolani de laborator, consumabile de laborator specifice analizelor in vitro/in vivo.

A.3.1. Sintetiza, evaluarea rezultatelor si stabilirea aliajului optim de sistem Mg-0.5Ca-xZn in urma rezultatelor obtinute – Obiectiv îndeplinit

În vederea obținerii acestor aliaje de Mg-Ca-Zn s-a utilizat o instalație de topire cu rezistență electrică, în atmosferă controlată: Cuptor de laborator cu atmosferă controlată, Seria de fabricație SY0002-2000W-1Kg din cadrul Facultății de Mecanică de la Universitatea Tehnica Gheorghe Asachi din Iasi . Pentru elaborarea acestor compoziții, la o puritate și o calitate superioară, s-au utilizat ca materii prime, elemente de înaltă puritate precum: Mg-99,7%, cât și prealiaje cu compoziții controlate: Mg-15Ca și Mg-20Zn. S-au elaborat cinci lingouri din sistemul Mg-0.5Ca-xZn, $x = 0.5/1/1.5/2/3$ wt.%, înlocuind aliajul Mg-0.5Ca-0Zn cu aliajul Mg-0.5Ca-3Zn.

Analizele microstructurale evidențiază structuri omogene cu formarea unor compuși chimici specifici, α -Mg, Mg_2Ca și $Mg_6Ca_2Zn_3$. Compusul Mg_2Ca este situat la limitele dintre granuții de magneziu, formând un eutectic pelicular cu magneziu. Zincul adăugat progresiv prezintă forme globulare cu tendință de segregare, de culoare distinctă relativ uniform. Aceste aspecte sunt evidențiate în micrografiile anexate prezentului raport științific, respectiv in figurile 22 și 23.

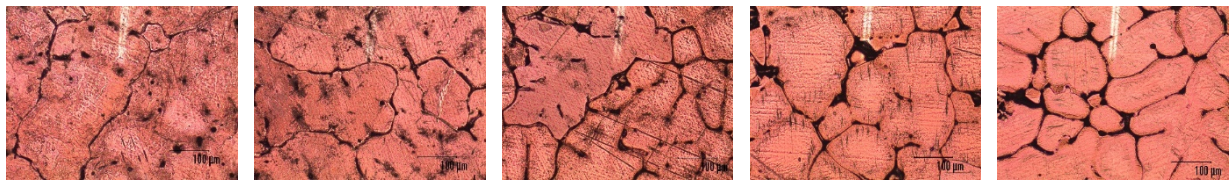


Figura 22. Microstructuri optice ale sistemului Mg-0.5Ca-xZn (200X): a) Mg-0.5Ca-0.5Zn; b) Mg-0.5Ca-1Zn; c) Mg-0.5Ca-1.5Zn; d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg-0.5Ca-3Zn.

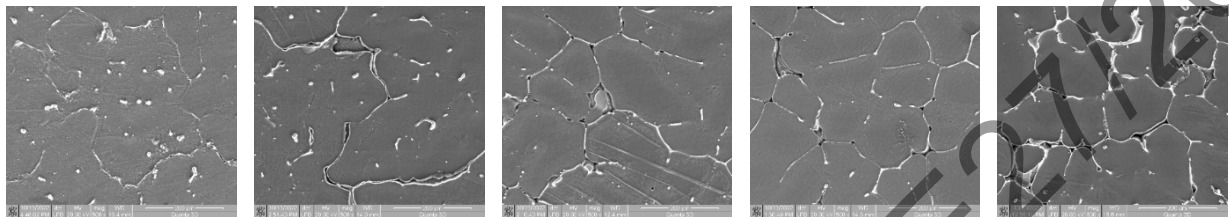


Figura 23. Microstructuri SEM ale sistemului Mg-0.5Ca-xZn (500X): a) Mg-0.5Ca-0.5Zn; b) Mg-0.5Ca-1Zn; c) Mg-0.5Ca-1.5Zn; d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg-0.5Ca-3Zn.

Imaginile SEM indică și prezența unor puncte albe care corespund formațiunilor Mg-Zn. S-a constatat că creșterea concentrației de Zn duce la rafinarea microstructurii și la scăderea dimensională a grăunților. Aliajele turnate au în principal următoarele faze: α -Mg, Mg_2Ca și $Ca_2Mg_6Zn_3$. Variația crescândă a concentrației de Zn duce la formarea de $Ca_2Mg_6Zn_3$.

Principala fază α -Mg are o structură hexagonală și este identificată cu următoarele vârfuri: $32,42^\circ$, $34,59^\circ$, $36,58^\circ$ și $68,12^\circ$. Fazele secundare de tip Mg_2Ca (structură hexagonală) apar la $59,51^\circ$ și, respectiv, $64,15^\circ$, iar cele de tip $Ca_2Mg_6Zn_3$ (structură hexagonală) sunt evidențiate la unghiurile de $28,85^\circ$, $30,97^\circ$ și $32,39^\circ$.

Testarea prin microindentare este folosită pentru a determina diferite caracteristici mecanice a materialelor cum ar fi duritatea suprafeței, modulul de elasticitate longitudinal Young sau rigiditatea contactului dintre suprafață și vârful de indentare folosit. Testarea prin microscotch este utilizată pentru a evalua aderența și rezistența de coeziune a straturilor de strat subțire și a tratamentelor de suprafață.

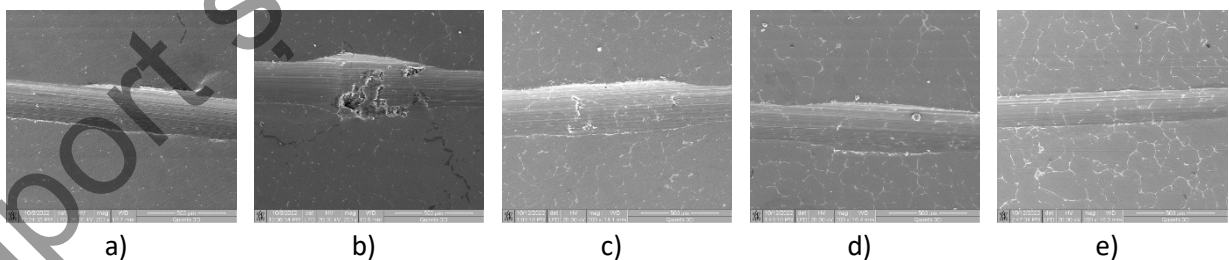


Figura 24. Imagini SEM ale urmelor de zgâriere ale probelor de Mg-Ca-Zn: Mg-0.5Ca-xZn (500X): a) Mg-0.5Ca-0.5Zn; b) Mg-0.5Ca-1Zn; c) Mg-0.5Ca-1.5Zn; d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg-0.5Ca-3Zn

Din rezultatele prezentate anterior, dar și din figura 24, pentru aliajele elaborate, se observă valori în limite strânse a diversilor parametri: duritatea Rockwell între 0.4 și 0.5 Gpa; modul de elasticitate Young între 33 și 35 Gpa; rigiditatea contactului între 3.8 și 4.1 N/ μ m; coeficient de frecare aparent la teste de scratch între 0.4 și 0.6.

Valorile modulului Young obținute sunt foarte apropiate de cele a osului uman, duritatea ce mai mare de 0.519 GPa a rezultat pentru aliajul Mg0.5Ca1.5Zn, iar valoarea coeficientului de frecare aparent de 0.657 poate indica o rezistență la zgâriere mai bună pentru aliajul Mg0.5Ca1Zn.

Tabel 7. Rezultate comparative ale proprietăților mecanice obținute prin încercarea la tracțiune

Aliaj	Rezistența la curgere (MPa)	Rezistența la rupere (MPa)
Mg-0.5Ca-0.5Zn	7.53	10.49
Mg-0.5Ca-1Zn	19.68	19.87
Mg-0.5Ca-1.5Zn	61.13	68.47
Mg-0.5Ca-2Zn	45.16	57.00
Mg-0.5Ca-3Zn	42.50	61.84

Aspectul de rupere și rezultatele obținute arată o creștere semnificativă a limitei de curgere (YS) și a rezistenței la rupere (UTS) de la 0,5 % în greutate la 1,5 % în greutate, apoi o ușoară scădere pentru 3 % în greutate. Valorile maxime ale YS, respectiv UTS sunt de 61,13 MPa și 68,47 MPa pentru aliajul cu 1,5wt.% Zn. Valorile experimentale pentru aliajele experimentale sunt evidențiate în tabel 7.

Determinarea caracteristicilor electrochimice

Experimentele pentru determinarea rezistenței la coroziune au fost realizate într-o soluție simulată de fluide corporale (SBF) realizată din (cantitate în 1000 ml): NaCl: 8,035 g, NaHCO₃: 0,355 g, KCl: 0,225 g, K₂HPO₄·3H₂O: 0,231 g, MgCl₂·6H₂O: 0,311 g, HCl 1,0 M: 39,0 ml, CaCl₂ 0,292 g, Na₂SO₄ 0,072 g, ((HOCH₂)₃CNH₂) 6,118 g și HCl 1,0 M: cantitatea adecvată pentru ajustarea pH-ului la 7,4.

În tabelul 8 sunt prezentați principalii parametri ai testelor de rezistență la electrocoroziune a aliajelor de MgCaZn în soluție SBF, cât și masa eşantioanelor după procesul de curățare cu ultrasunete. Tendința de îmbunătățire a rezistenței la coroziune observată în urma testului de imersie este confirmată pentru rezistența la electrocoroziune. Viteza de electrocoroziune este similară pentru toate materialele, cu o valoare ușor mai mică în cazul aliajului cu 3% Zn, care poate fi atribuită efectului de pasivare a oxidului de zinc asupra rezistenței la coroziune a materialului. Reacțiile prezintă activități la ramurile catodice și anodice cu valori corespunzătoare (β_c și β_a).

Tabel 8. Parametrii de electrocoroziune (valori medii din trei determinări)

Parametrii electrocoroziune/Proba	$E_{corr}(I=0)$ (mV)	I_{corr} ($\mu A/cm$)	R_p (kohm cm ²)	V_{corr} (mm/an)	β_c (mV/dec)	β_a (mV/dec)
Mg-0.5Ca-0.5Zn	-1781	49.37	0.885	7.96	-156	418
Mg-0.5Ca-1Zn	-1776.1	22.78	1.10	6,12	-85	183
Mg-0.5Ca-1.5Zn	-1589	41.83	1.23	8.11	-380	404
Mg-0.5Ca-2Zn	-1416.0	40.73	1.43	8,30	-327	311
Mg-0.5Ca-3Zn	-1458	32.26	1.47	7.03	-276	287

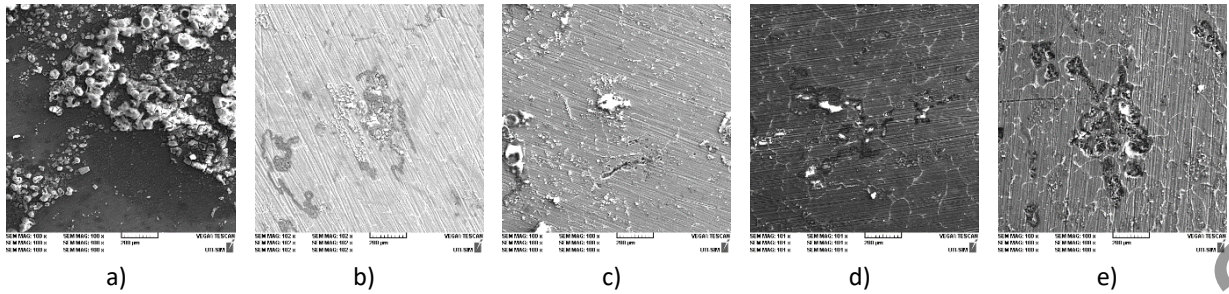


Figura 25. Imagini SEM ale suprafețelor corodate în SBF pentru probe de Mg-Ca-Zn: Mg-0.5Ca-xZn (100X): a) Mg-0.5Ca-0.5Zn; b) Mg-0.5Ca-1Zn; c) Mg-0.5Ca-1.5Zn; d) Mg-0.5Ca-2Zn; e) Mg-0.5Ca-3Zn

Alierea cu Zn va influența în mod cert rezistența la electrocoroziune a materialelor pe bază de Mg. Pe baza diagramei de fază, limita maximă a solubilității solide a Zn în Mg este, în condițiile generale de obținere, în jur de 6 % în greutate. De obicei, este adăugat împreună cu alte elemente chimice ca părți de armare a matricei de Mg, mărind rezistența materialului. Reacția catodică de evoluție a hidrogenului din aliajul de Mg ar fi inhibată atunci când conținutul său de Zn este mai mic de 3 % în greutate. În același timp, adăugarea a mai mult de 5 % în greutate de Zn pare să afecteze negativ rezistența la coroziune a materialului.

Studiul biocompatibilității aliajelor – Analiza "in vitro"

Pentru studiul citotoxicității aliajelor, s-au utilizat osteosarcoame umane (umorale) – MG-63 (achiziționate de la ATCC, Rockville, MD, USA). Celulele MG-63 au fost incubate pentru 24 ore (5% CO₂, 37°C, 95% umiditate relativă) în mediu de cultură DMEM suplimentat cu 10% BFS și 1% P/S/N (mediu complet), în plăci de 96 godeuri pentru testul MTT (2 × 10³ celule/godeu), respectiv în plăci de 48 godeuri pentru studiul morfologiei celulelor (8 × 10³ celule/godeu). După cele 24 ore mediul din plăci a fost înlocuit cu mediu proaspăt DMEM (cu 10% BFS și 1% P/S/N) în cazul controlului, respectiv cele 5 concentrații din extractele realizate.

Testul MTT s-a realizat prin metoda extractului, în conformitate cu standardul ISO, pe 3 tipuri de extracte la 3 intervale de timp. Pentru toate cele 5 probe și cele 3 concentrații, se poate observa o descreștere a viabilității celulare în urma contactului cu extractele acestora pe parcursul experimentului. În cazul concentrației de 0,025 g/mL, descreșterea a fost foarte mică (de doar câteva procente), pe parcursul experimentului, valorile obținute pentru 1, 3, respectiv 7 zile, indicând faptul că toate cele 5 aliajele sunt lipsite de toxicitate pentru această cantitate.

Valorile obținute pentru concentrația de 0,05 g/mL pe parcursul celor 7 zile de contact, încadrează aliajul 3 la non-citotoxic, aliajele 1, 2 și 5 la slab citotoxice și aliajul 4 la materiale cu citotoxicitate moderată.

După 7 zile de contact, valorile obținute, încadrează aliajul 1 la materiale cu citotoxicitate moderată, aliajul 2, la limita între citotoxicitate moderată și citotoxicitate puternică, valoare determinată fiind de 39%, iar aliajele 3, 4 și 5 la materiale cu citotoxicitate puternică.

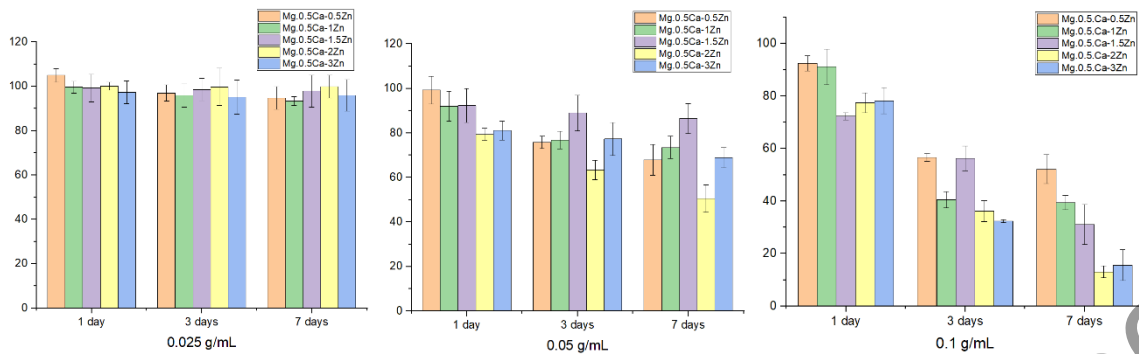


Figura 26. Rezultatele testului MTT pentru studierea viabilității celulare a fibroblastelor co-incubate cu aliajele studiate, după 1,3 și respectiv 7 zile de coincubare - Mg-Ca-Zn

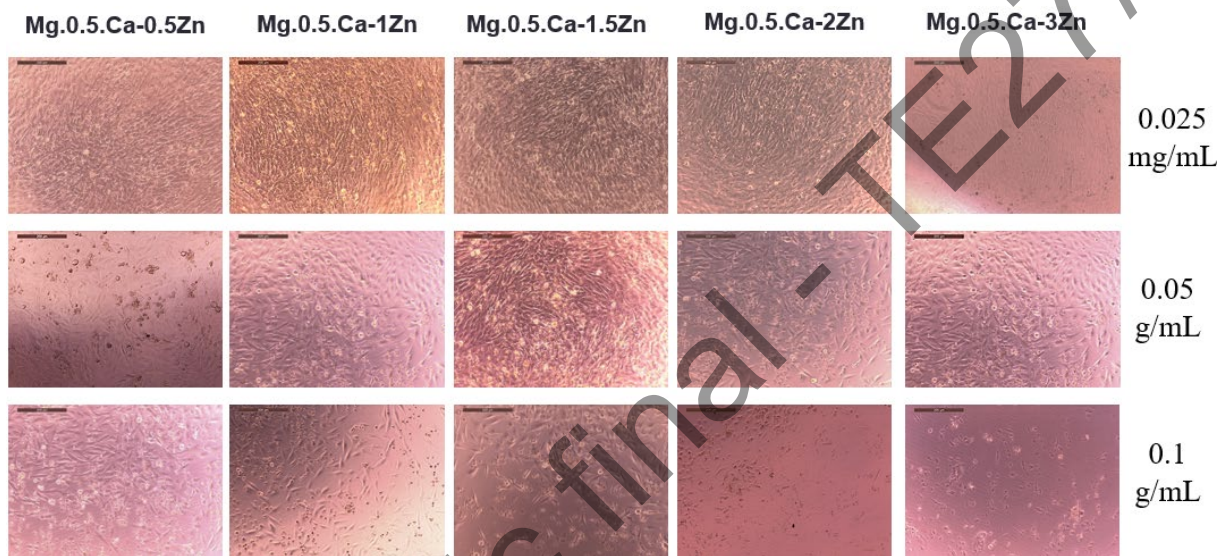


Figura 27. Structura și morfologia celulelor MG-63 în godeuri incubate cu diferite concentrații de extracte produse

În cazul tuturor celor 5 aliaje, la concentrația de 0,025 g/mL, pentru care s-au determinat prin testul MTT, valori ale viabilității de peste 90% se observă o densitate celulară comparabilă cu cea din godeurile de control. De asemenea, forma celulelor nu este modificată. În schimb, pentru concentrația de 0,05 g/mL, se observă o densitate scăzută în godeurile test, în comparație cu godeurile control, rezultate în concordanță cu cele ale testului MTT.

Studiul biocompatibilității aliajelor – Analiza "in vivo"

În cadrul acestui proiect, în vederea realizării analizelor "in vivo" s-au folosit ca implanturi ortopedice, la șobolani, materiale de cinci concentrații diferite Mg-0,5Ca-0,5Zn-x, urmărind reacția țesutului moale în jurul materialului implantat cât și aspectele de biodegradare, folosind experimente „in vivo” și diagnostic imagistic (RX) și histopatologic pentru evaluare la 1, 2, 4 și 8 săptămâni după implantare.

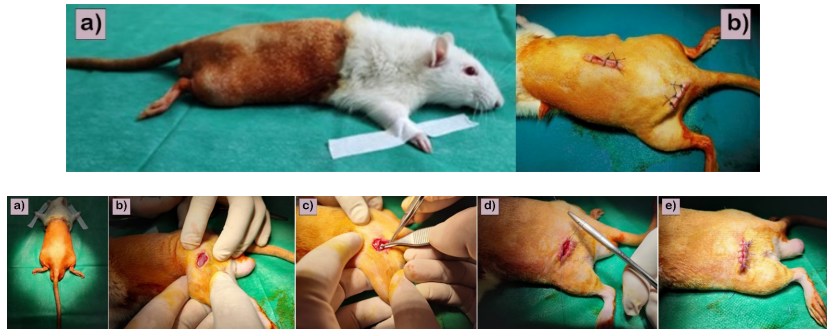
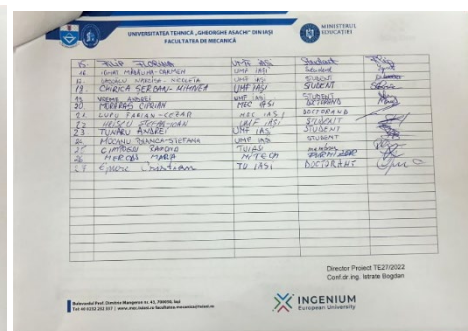
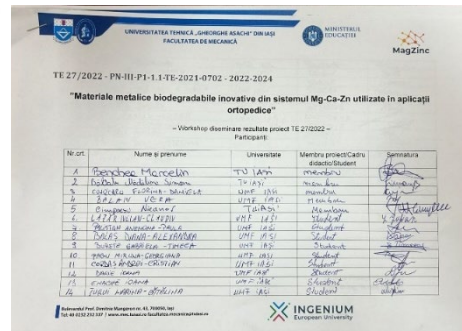
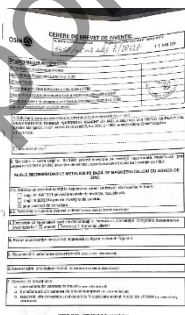


Figura 28. Etapele operatorii ale metodei chirurgicale: a) Poziționarea șobolanilor pe masa de operație în poziție sterno-abdominală; b) Incizia pielii; c) Implantarea fragmentului de aliaj în contact cu țesutul osos; d) Stratul muscular a fost suturat în fir continuu; Pielea a fost suturată în puncte separate.

În toate cele 5 implanturi, toate modificările sunt similare, cu excepția aliajului de implant 3, în care celulele periostale sunt mai mari și mai numeroase în comparație cu celelalte grupuri. Evoluția la 4 și 8 săptămâni a fost favorabilă, în cele din urmă fiind observată și o mineralizare osoasă. În acest grup apar mici osteoni nou formați. Examinarea histologică la o săptămână a arătat o bună compatibilitate pentru toate implanturile utilizate, confirmată de o reacție inflamatorie redusă, edem și foarte puțin gaz între periostul subțire și țesutul osos. La 2 săptămâni, periostul prezintă un strat subțire de celule stem mezenchimale care proliferază și care vor forma un strat îngroșat la 4 săptămâni după implantare. S-au observat bule de gaz până la 4 săptămâni. La 8 săptămâni, stratul de celule periostale este redus în comparație cu cel de la 4 săptămâni, dar este mai gros decât în grupul de control. Acest lucru sugerează că implantul din aliajul 3 are capacitatea de a induce cea mai bună remodelare osoasă în comparație cu celelalte. Restaurarea treptată a periostului, vascularizarea tecii periimplantare, a țesutului osos, formarea de linii de mineralizare lungi, complete, paralele, în număr mai mare sugerează o biocompatibilitate foarte bună a aliajului 3, urmat de aliajele 1, 2, 4, 5.

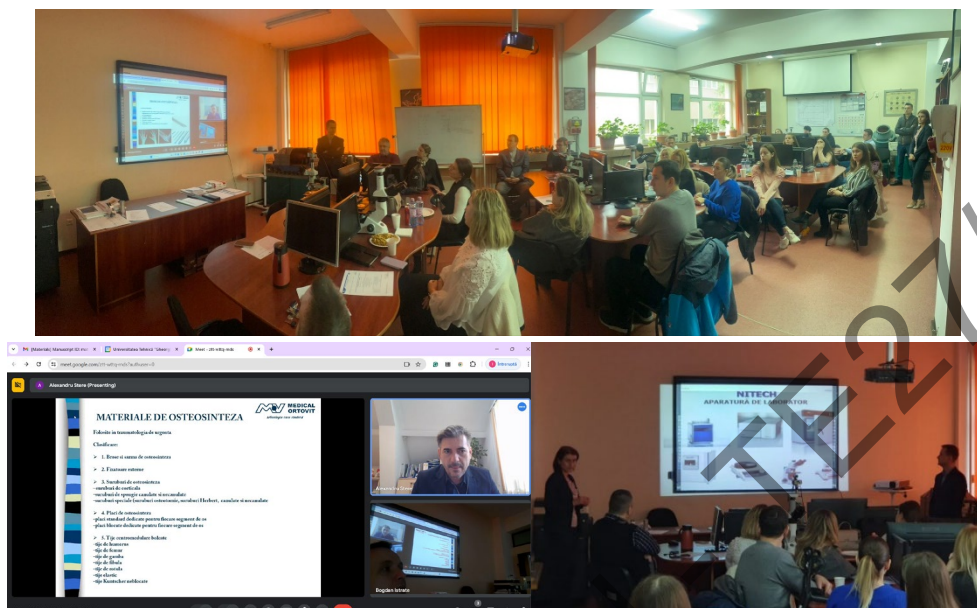
A.3.2. Realizarea cererii de brevet pentru aliajele biodegradabile Mg-0.5Ca-xZn. Organizare unui Workshop cu reprezentanți ai companiilor de profil, centrelor de ortopedie atât la nivel regional/national în scopul diseminării rezultatele cercetării – Obiectiv îndeplinit

În cadrul proiectului TE27/2022 – Activitatea A.3.2. s-a depus cererea de brevet înregistrată la OSIM cu Nr. A/00127/22.03.2024; titlul cererii de brevet este "ALIAJE BIODEGRADABILE METALICE PE BAZĂ DE MAGNEZIU-CALCIU CU ADAOS DE ZINC".



În vederea diseminării rezultatelor, a fost organizat un Workshop intitulat: "Materiale metalice biodegradabile inovative din sistemul Mg-Ca-Zn utilizate în aplicații ortopedice", iar ca

participanți au fost: - Membri echipei de proiect TE27/2022 (onsite), - Grup studenți și doctoranzi Facultatea de Mecanică (TUIASI) și Facultatea de Bioinginerie (UMF IASI) (onsite), - S.C. Medical Ortovit S.R.L. (online/onsite), - S.C. Happy Pets Place & Vet S.R.L. (online/onsite), - S.C. Nitech S.R.L. (online/onsite), - Alte persoane interesate, Link Google Meet: meet.google.com/ztt-wttq-mds.



A.3.3. Diseminarea finala a rezultatelor obtinute – Obiectiv îndeplinit

Rezultatele etapei 3/2022 (01.01.2024 – 15.05.2024) au fost diseminate după cum urmează:

- *Articole științifice*: 1 propunere de articol științific: In vitro and in vivo analysis of Mg-Ca-Zn biodegradable alloys – Journal of Functional Biomaterials, ISI WOS Impact Factor: 4.8 – under review
- *Lucrări comunicate și participări la conferințe*: 1 Conferință Internațională "13TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON MATERIALS SCIENCE & ENGINEERING" – BRAMAT 2024; Titlul lucrării prezentate: Mg biodegradable materials - present studies and future research directions in terms of alloying elements – Oral presentation;
- Cerere de brevet: "ALIAJE BIODEGRADABILE METALICE PE BAZĂ DE MAGNEZIU-CALCIU CU ADAOS DE ZINC", Nr. A/00127/22.03.2024

Workshop: "Materiale metalice biodegradabile inovative din sistemul Mg-Ca-Zn utilizate în aplicații ortopedice"

Website: www.istratebogdan.com – completare raport 3

Impactul estimat al cercetărilor efectuate în cadrul proiectului TE27/2022 este unul semnificativ deoarece își aduce aportul la literatura de specialitate prin lucrările ISI cu factor de impact peste 2.5 publicate în reviste recunoscute internațional. Prezentarea rezultatelor în conferințe naționale și internaționale de prestigiu validează noutatea și interesul cercetătorilor din domeniul biomaterialelor. Depunerea documentației de patentare a compozițiilor chimice, lucrările științifice publicate ISI Wos, cât și diseminarea în cadrul workshopului tematic sunt printre cele mai semnificative rezultate obținute.