

Universitatea din Bucureşti
Facultatea de Fizică

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

**SINTEZA PRIN TEHNICI LASER PULSATE DE
ACOPERIRI NANOSTRUCTURATE, ADERENTE ȘI
CONDUCTOARE, DE OXIZI METALICI,
BIOSTICLE ȘI FOSFAȚI DE CALCIU PENTRU
APLICAȚII BIOMEDICALE**

Conducător științific: Prof. Dr. Ion N. Mihăilescu

Doctorand: Ing. Duță Liviu Marian

Bucureşti, 2012

Introducere

Funcționalizarea suprafeței implanturilor este în prezent cea mai avansată abordare în domeniul implantologiei. De exemplu, filmele subțiri bioceramice sunt utilizate astăzi pentru protezele medicale cu scopul de a modifica suprafața implanturilor [Mihăilescu I.N., 2005]. În cazul patologiei crano-spinale, funcționalizarea implanturilor metalice cu filme subțiri de hidroxiapatită (HA) și biosticle (lb. eng. *Bioglasses*, BG) sunt principalele direcții vizate în cercetările recente cu scopul îmbunătățirii generale a biointegrării. Succesul final și timpul de viață al implanturilor osoase sunt determinate de calitatea interacțiunii os-implant, care este caracterizată de o integrare strânsă a osului cu suprafața implantului, urmărindu-se obținerea unei bioconexiuni interfaciale active. Realizarea unei astfel de interfețe implică procese complexe și depinde de numeroși factori, pe lângă cei chirurgicali și cei legați de pacient. Mai mult, reacția interfacială a osului în cazul implanturilor medicale și dentare depinde atât de topografia și chimia suprafeței, cât și de proprietățile mecanice ale biomaterialelor de implant utilizate.

Această lucrare este organizată în șase capitole, după cum urmează.

În **primul capitol** am trecut în revistă atât informațiile legate de biocompatibilitatea și osteointegrarea implanturilor în organism, cât și pe cele legate de reacțiile și fenomenele care se petrec la nivelul interfeței implant-țesut viu.

Capitolul 2 intitulat „Materiale, metode și dispozitive utilizate pentru sinteza de filme subțiri nanostructurate”, abordează procesele de obținere a pulberilor folosite în experimente, materialele și tehniciile laser utilizate pentru sinteza de straturi subțiri, și respectiv tehniciile de analiză aplicate pentru caracterizarea structurilor depuse.

Capitolul 3, „Sinteza de oxizi metalici prin PLD și PLD Combinatorial”, este structurat în două părți. În prima parte sunt prezentate depunerile de oxizi conductivi transparenti (ex. IZO) printr-o metodă relativ nouă, CPLD. În partea a doua, am introdus rezultatele obținute prin sinteza PLD de filme subțiri și nanoparticule (NP) de oxid de Zinc (ZnO) pe substraturi textile. Am urmărit obținerea de structuri care să asigure protecția împotriva radiațiilor Ultra-Violete (UV), a mucegaiurilor și bacteriilor și să promoveze totodată un comportament superhidrofob.

În **Capitolul 4**, „Filme subțiri de HA pure și dopate depuse prin PLD”, am reunit rezultatele privind sinteza prin PLD de filme nanostructurate osteoconductive de HA pe suport de polimetilmetacrilat (PMMA). Studiile *in vitro* au demonstrat că structurile HA/PMMA au fost compatibile cu celulele osoase umane, prezentând un puternic comportament osteoconductiv, adecvat aplicațiilor neurochirurgicale. În studii complementare am depus prin PLD filme HA de origine animală dopate și HA pură. În baza performanțelor superioare demonstate ale HA de origine animală, este de așteptat obținerea unor acoperiri cu dure de osteointegrare mai scurte și osteoconductivitate substanțial îmbunătățită.

Capitolul 5, „Studii *in vitro* și *in vivo* pe filme nanostructurate de biosticle și hidroxiapatită sintetizate prin PLD”, este structurat în trei părți. În prima parte, am prezentat rezultatele sintezei prin PLD a BG cu două compozиции de dioxid de siliciu (SiO_2). În partea a doua am reunit rezultatele sintezei prin PLD de filme HA pe implanturi comerciale 3D de titan (Ti) (șuruburi). În ultima parte am prezentat datele privind sinteza prin PLD a filmelor HA pe meșe chirurgicale de Ti. Rezultatele testelor biologice *in vitro* au validat utilizarea acestora în studii clinice *in vivo*.

Capitolul 6, „Concluzii”, sumarizează principalele contribuții originale pe care se bazează această lucrare.

CAPITOLUL 1. Considerații generale

Conceptul clasic de *biocompatibilitate* se referă la inerție, absența toxicității și toleranță. Niciun material implantat într-un țesut viu nu este de fapt inert din punct de vedere chimic, ci determină un răspuns, mai mult sau mai puțin pronunțat. *Biomaterialele* se definesc ca fiind acele materiale sintetice folosite pentru completarea sau înlocuirea unei părți a unui sistem viu și care funcționează în contact intim cu țesuturile [Williams D.F., 1999].

În știința biomaterialelor, termenul de *osteoconductivitate* definește fenomenul de creștere a țesutului gazdă către implant și formarea controlată a osului pe suprafața biomaterialelor, conducând, în final, la integrarea osoasă. Atât materialele dense cât și cele poroase stimulează creșterea țesutului osos. Procesul de osteointegrare se realizează direct pe suprafața implantului, fără apariția vreunui strat tisular fibros. În acest caz, biomaterialul are un caracter osteoconductiv [Yuan H., 2005; Elliott J.C., 1994; Suchanek W., 1998].

Crearea unei interfețe solide din punct de vedere mecanic este esențială pentru funcționarea unui implant. Aceasta este însotită de o fuziune completă între suprafața materialului și os, fără formarea de țesut fibros în jurul implantului. Astfel, înțelegerea adeziunii celulare la materiale, este necesară în cazul optimizării interfeței os-biomaterial.

CAPITOLUL 2. Materiale, metode și dispozitive utilizate pentru sinteza de filme subțiri nanostructurate

În tehniciile de depunere laser pulsată (PLD), materialul de bază, care se depune pe un substrat, trebuie preparat în forma unei pastile solide cu diametru și grosime convenabile. Calitatea și proprietățile straturilor depuse sunt determinate de caracteristicile țintei folosite.

Metoda PLD reprezintă o tehnică de depunere fizică în stare de vapor folosită în domeniul producerii de filme subțiri, din materiale și combinații de materiale de interes tehnologic care nu pot fi procesate decât cu mari dificultăți prin alte metode [Mihailescu I.N., 1999]. Metoda PLD s-a dovedit a fi o metodă competitivă pentru creșterea filmelor subțiri de calitate înaltă deoarece are capacitatea de a conserva stoichiometria oricără de complexă a compușilor depuși [Eason R., 2007; Nelea V., 2007]. Creșterea filmelor subțiri prin PLD oferă numeroase avantaje față de alte tehnici de depunere, precum: sursa de radiație laser este exterioară incintei de depunere; marea majoritate a materialelor solide pot fi ablate laser și depuse în strat subțire; rata de creștere a stratului se poate controla cu un grad mare de precizie (10^{-2} - 10^{-1} nm/puls); cantitatea de material ablată din țintă este localizată în volumul plasmei generate; stoichiometria stratului depus coincide cu cea a țintei; energia ridicată a speciilor ablate are ca efect obținerea unor straturi extrem de aderente.

Metoda PLD prezintă și câteva dezavantaje care constau în rata mică de depunere, domeniu de aplicație limitat la compuși care nu sunt sensibili la descompunerea termică și la deteriorarea survenită pe durata procesării prin expunere prelungită la radiația laser UV și aria restrânsă de depunere (nu mai mare de câțiva cm²).

Geometria montajului general (Fig. 2.1), folosită în toate experimentele, este descrisă în cele ce urmează. Un fascicul laser pulsat, de mare intensitate, generat de o sursă laser excimer KrF* ($\lambda = 248$ nm, $\tau_{FWHM} \approx 25$ ns, $v = 1$ - 50 Hz), pătrunde printr-o fereastră de cuart în camera de reacție și cade pe țintă, la un unghi de incidență de 45° . Energia pulsului laser se poate regla în domeniul (100-750) mJ.

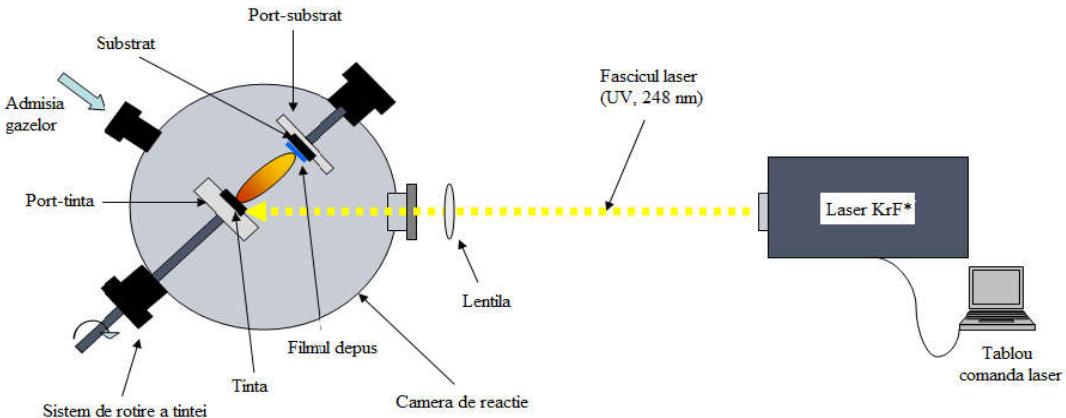


Figura 2.1 Montajul general PLD folosit în studiile experimentale

Instalația de depunere prin PLD constă în principal dintr-o sursă laser cu excimeri KrF*, model *COMPex Pro205* și o incintă de oțel inoxidabil, cuplată cu un sistem de pompaj și cu un sistem de alimentare cu gaze. Am utilizat acest montaj experimental pentru depunerea de filme subțiri pentru aplicații diferite, cum ar fi domeniul dispozitivelor opto-electronice [Socol G., 2011; Socol G., 2012], sisteme de administrare dirijată de medicamente [Cristescu R., 2009a; Cristescu R., 2009b], pile de combustie [Duță L., 2012c], diagnosticarea morfologiei suprafeței [Mirchin N., 2012; Popescu S.A., 2011; Mirchin N., 2010; Lapsker I., 2010], funcționalizarea textilelor [Dumitrescu I., 2010] și implantologie [Duță L., 2010; Mariș D.A., 2012].

Metoda PLD Combinatorială (CPLD) oferă o flexibilitate mare și este utilizată pentru modificarea graduală pe același film a compoziției chimice și crearea unor „biblioteci” cu gradienți de concentrație. În cadrul unui singur experiment, pe un substrat de câțiva cm^2 , se pot sintetiza și investiga câteva mii de compozitii diferite pentru a obține proprietățile fizice dorite [Koinuma H., 2004]. În Fig. 2.2 și 2.3 sunt prezentate montajul experimental și geometria depunerii CPLD. Sistemul carusel cu ținte multiple (Fig. 2.3) este poziționat în fața substratului. Suprapunerea filmelor subțiri are loc pe substrat, obținându-se în acest fel „biblioteca combinatorială”.

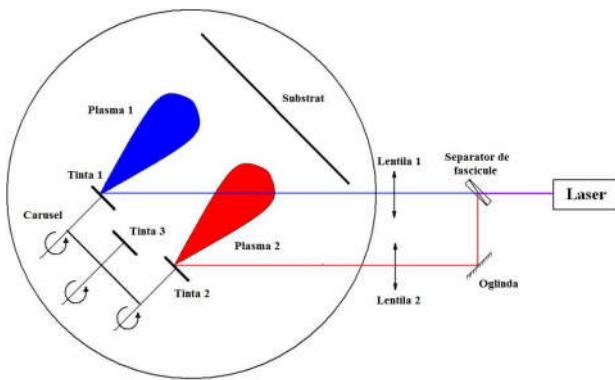


Figura 2.2 Montajul experimental CPLD

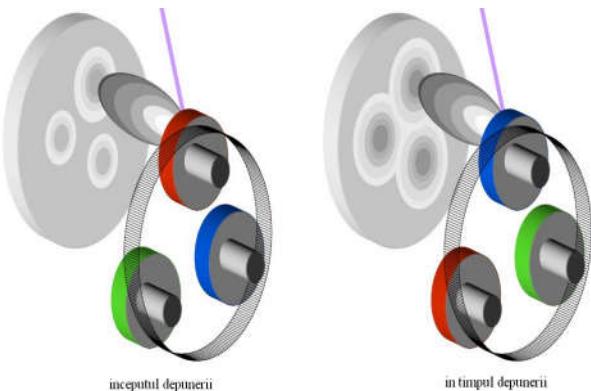


Figura 2.3 Geometria de depunere

Metoda CPLD prezintă câteva avantaje pentru fabricarea de „biblioteci”: ablația laser a materialelor din ținte reprezintă un proces de neechilibru care permite un control riguros al stoichiometriei compoziției din țintă către substrat; depunerile pot fi realizate în vid înalt sau la presiuni scăzute ale gazelor reactive; prin monitorizarea numărului de pulsuri laser, se poate controla depunerea materialelor la nivelul stratului atomic, iar prin încorporarea unei tehnici de depunere strat cu strat, se poate face design-ul și explora noi sisteme de materiale care nu există în mod natural; se poate obține un număr enorm de compuși binari sau ternari noi, având proprietăți diferite; „bibliotecile combinatoriale” de filme subțiri pot fi sintetizate într-un timp relativ scurt (câteva minute); sistemele CPLD sunt relativ ieftine și pot fi realizate rapid și ușor, cu un minim de cerințe de întreținere.

Metoda CPLD prezintă și câteva dezavantaje, cum ar fi: împărtăierea plasmei este influențată puternic de greutatea atomică a speciilor; pentru fiecare tip de material depus, trebuie să se realizeze teste compoziționale și de mapare complete.

Metodele de investigare utilizate în cadrul lucrării pentru caracterizarea straturilor subțiri biocompatibile sintetizate prin metodele PLD/CPLD se împart în mai multe categorii. Am utilizat difracția de raze X (XRD), difracția de raze X la incidență razantă (GIXRD), spectroscopie în infraroșu cu transformata Fourier (FTIR), spectroscopia de transmisie în spectrul Ultra-Violet - Vizibil (UV-VIS), elipsometria spectroscopică (SE), microscopia interferențială, măsurători ale unghiului de contact (CA), microscopia electronică de baleaj (SEM), microscopia cu forță atomică (AFM), teste de extragere forțată (*pull-off*), tehnica de măsurare în patru puncte, teste în SBF, teste în culturi de celule osteogenice, teste micologice și teste clinice *in vivo*.

CAPITOLUL 3. Sinteză de oxizi metalici prin PLD și CPLD

3.1 Proprietăți optice, compoziționale și electrice ale filmelor subțiri de $\text{In}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$ obținute prin metoda CPLD

În cadrul acestor experimente am sintetizat straturi subțiri de IZO cu rol de electrozi transparenti conductori, pentru aplicații fotovoltaice [Socol G., 2011].

Condiții experimentale

Experimentele au fost realizate în camera PLD utilizând o geometrie combinatorială (Fig. 3.1). Au fost depuse două loturi de probe utilizând ținte care au avut In în concentrații atomice, $\text{In}/(\text{In}+\text{Zn})$, de 28 și 56% sau 42 și 70%. Pulberea macinată a fost presată la 5 MPa și sinterizată timp de 12 ore la 1100 °C în aer. Fluența laser incidentă pe țintă a fost de $\sim 3 \text{ J/cm}^2$. Filmele au fost depuse la RT, la o presiune dinamică de oxigen de 1 Pa, pe lamele din sticlă de microscop, cu dimensiuni de $(7,6 \times 2,6) \text{ cm}^2$. Distanța dintre țintă și substrat a fost de 5 cm. Toate depunerile au fost realizate la o frecvență de repetiție de 10 Hz.

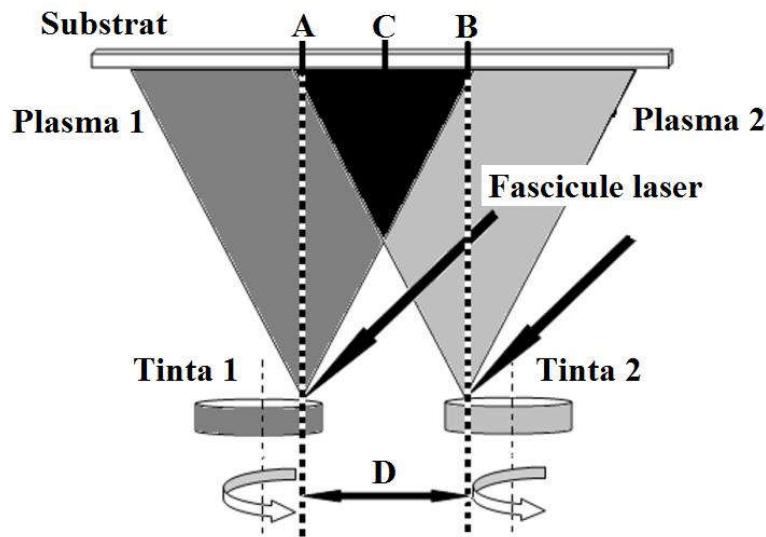


Figura 3.1 Montajul experimental utilizat pentru experimentele de depunere laser pulsată combinatorială cu ținte de IZO

Pentru comparație, pe lângă filmele obținute prin CPLD, am sintetizat filme din fiecare țintă în parte, folosind un montaj tipic PLD.

Tabel 3.1 Condițiile de depunere a filmelor subțiri prin metodele PLD și CPLD și valoarea grosimii maxime pentru fiecare probă

Proba / Geometria depunerii	Ținta 1 In/(In+Zn) [at.%]	Ținta 2 In/(In+Zn) [at.%]	Nr. de pulsuri aplicate pe Ținta 1	Nr. de pulsuri aplicate pe Ținta 2	Grosime [nm]
IZOC1 / CPLD	28	56	3000 (25x120)	3000 (25x120)	467
IZOFC1 / PLD	28	-	3000	-	280
IZOEC1 / PLD	-	56	-	3000	310
IZOC2 / CPLD	42	70	3000 (25x120)	3000 (25x120)	341
IZOFC2 / PLD	42	-	3000	-	174
IZOEC2 / PLD	-	70	-	3000	246

În cazul filmelor obținute prin metoda CPLD, pentru fiecare țintă am aplicat serii succesive de 25 de pulsuri laser în 120 de secvențe consecutive. Pozițiile A și B de pe substrat corespund pozițiilor în oglindă ale spoturilor laser pe ținta 1 (cu un conținut mai scăzut în In) și ținta 2 (cu conținut mai bogat în In), iar punctul C se află la jumătatea distanței dintre A și B. Utilizând metoda CPLD în această geometrie, am depus filme care au avut un gradient de compozиie bine definit în lungul lamelei de sticlă.

Rezultate și discuții

Spectrele optice de transmisie ale filmelor au evidențiat o bună transparență (> 95%) în domeniul vizibil și infra-roșu apropiat. Fig. 3.2 prezintă rezultatele unei scanări liniare a conținutului de In determinat de la o margine până la cealaltă a filmului depus. Concentrația atomică de In, între pozițiile A și B, a variat în domeniul 27-33% și 36-52% (pentru probele IZOC1 și IZOC2).

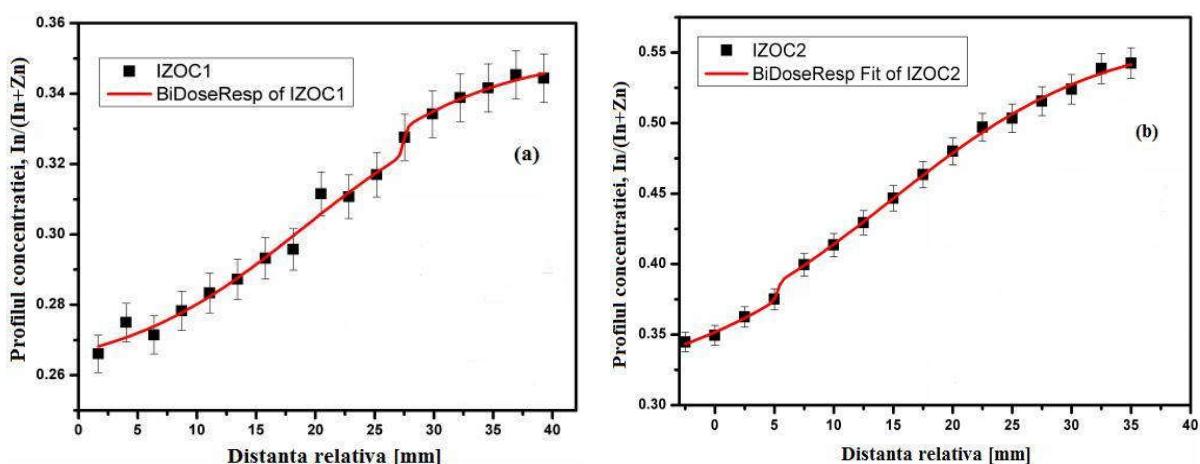


Figura 3.2 Profiluri de compoziție elementală ale probelor de IZOC1 (a) și IZOC2 (b) determinate prin EDS

Morfologia filmelor depuse prin metoda CPLD a fost investigată prin măsurători AFM, pe suprafețe de $(30 \times 30) \mu\text{m}^2$, în zone diferite situate între pozițiile A și B.

Din Fig. 3.3 se observă că descreșterea rugozității RMS se face simultan cu creșterea conținutului de In în comparație cu Zn.

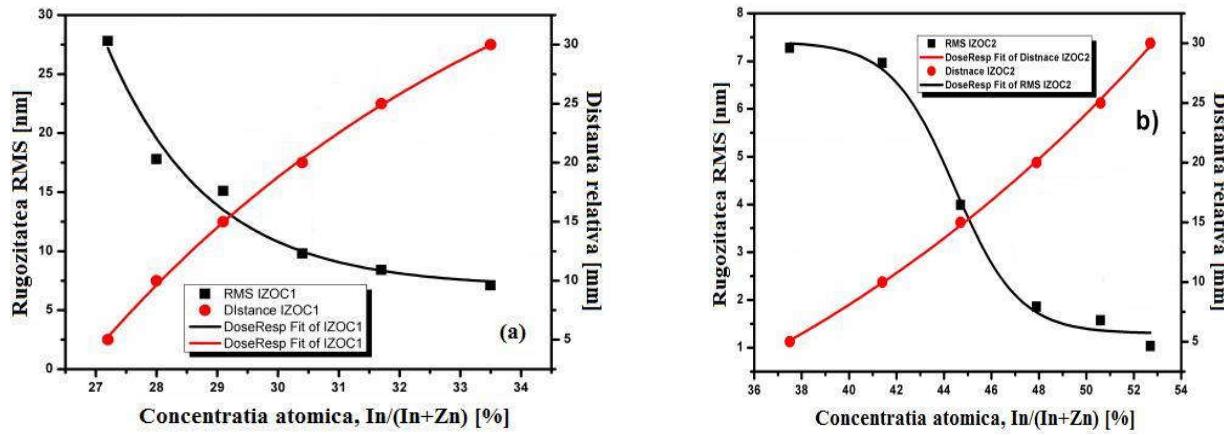


Figura 3.3 Rugozitatea RMS a filmelor subțiri depuse prin metoda combinatorială IZOC1 (a) și IZOC2 (b) în funcție de concentrația atomică de In

Variația proprietăților electrice în funcție de compoziție a fost determinată prin tehnică de măsurare în patru puncte. Utilizând profilele grosimii, am calculat rezistivitatea electrică corespunzătoare fiecărui punct.

Această dependență compozitională constând dintr-un singur sir de puncte definește o “bibliotecă compozitională”. Pentru filmul IZOC1, rezistivitatea electrică a scăzut la o valoare minimă de $2,3 \times 10^{-3} \Omega \cdot \text{cm}$ în domeniul $(28,8-29,5)\%$, în timp ce pentru filmul IZOC2, rezistivitatea a fost de $8,6 \times 10^{-4} \Omega \cdot \text{cm}$, în domeniul $(44-49)\%$.

3.2 Depuneri de filme subțiri de ZnO funcționalizate prin PLD pe substraturi textile

Depuneri de filme subțiri de ZnO pe materiale textile pentru aplicații biomedicale

Prin metoda PLD au fost sintetizate filme de ZnO pe substraturi textile cu scopul de a obține materiale inovative, care să asigure protecția împotriva radiațiilor UV și a acțiunii antifungice [Duță L., 2012a].

Condiții experimentale

Tintele de ZnO au avut un diametru de 2 cm și o grosime de 0,5 cm. Substraturile utilizate au fost textile (56% bumbac/44% poliester). Pentru depunerea unui film au fost

aplicate 10000 de pulsuri laser consecutive. Substraturile au fost plasate paralel cu ținta, la o distanță de 4 cm. Toate depunerile au fost realizate la RT, la o presiune reziduală de 2×10^{-4} Torr și o fluență de $\sim 3,3$ J/cm².

Rezultate și Discuții

Imaginile SEM (Fig. 3.4) prezintă filme netede care copiază morfologia fibrelor. O caracteristică a acestor filme a fost apariția unor crăpături foarte fine care s-au extins în lungul fibrelor. Apariția lor a fost o consecință a tensiunilor existente în filme, tensiuni care s-au dezvoltat ca efect al încovoierii fibrelor (textile).

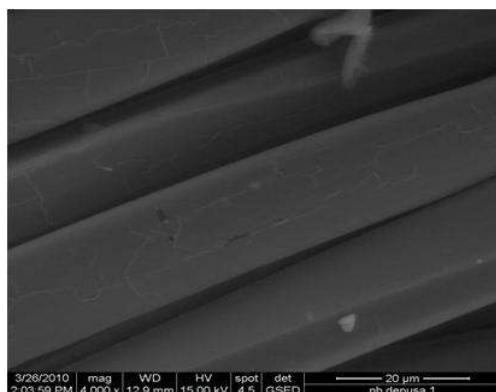


Figura 3.4 Imagine SEM tipică a filmului de ZnO depus pe substrat de Si(100)

Analizele GIXRD au evidențiat faptul că filmele depuse prin PLD au o structură monofazică hexagonală (tip wurtzit) de ZnO pur, identică cu cea a materialului de bază.

Din spectrele de reflexie s-a observat că, pentru textilele neacoperite (control), reflectivitatea a fost mare și relativ constantă pe toate domeniile spetrale investigate, în timp ce pentru textilele depuse, aceasta a scăzut la 40% în domeniul VIZ-NIR și la 50-60%, în domeniul UV. În acest context, putem presupune că scăderea reflectivității s-a datorat absorbției mult mai intense a filmelor de ZnO.

CA în cazul picăturii pipetate pe suprafața filmului a fost de $\sim 157^\circ$. Asemenea valori ridicate corespund unui caracter superhidrofob [Wang S., 2007].

După trei zile, pe textila de control a fost observată o activitate fungică (*Aspergillus niger*, AN) (Fig. 3.5a). Această activitate s-a intensificat după 14 și respectiv 28 de zile, AN proliferând pe întreaga suprafață a textilei (Fig. 3.5c,e). În cazul textilelor acoperite, activitatea fungică a fost complet stopată după trei zile (Fig. 3.5b). Nici după

28 de zile pe textile nu a fost observată activitatea fungică, acest lucru demonstrând un puternic efect antimicotic al filmelor de ZnO depuse (Fig. 3.5f).

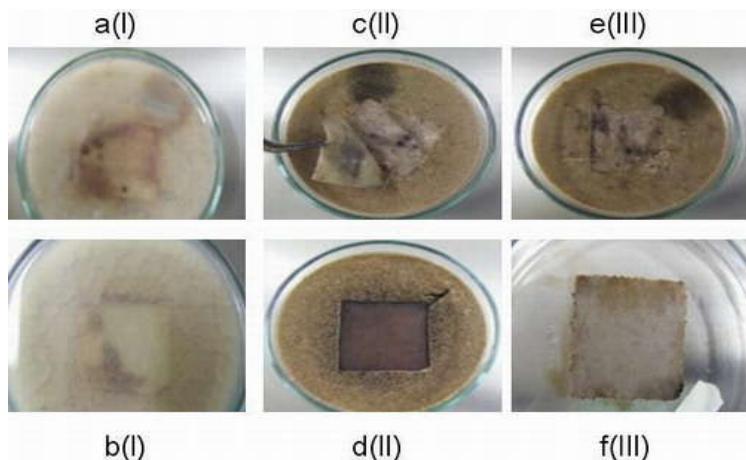


Figura 3.5 Proliferarea ciupercii *Aspergillus niger* pe textila de control (a, c, e) și pe textilele acoperite cu film de ZnO (b, d, f), după 3 (I), 14 (II) și 28 (III) zile

Modificarea radicală a comportamentului la udare al filmelor subțiri și nanoparticulelor de ZnO odată cu schimbarea presiunii în timpul procesului PLD

Am funcționalizat materiale textile cu filme subțiri (TF) sau nanoparticule (NP) de ZnO, cu scopul de a obține, într-o singură etapă, un caracter hidrofob al depunerii, fără alte tratamente post-depunere ale suprafețelor [Popescu A.C., 2011].

Condiții experimentale

Tintele PLD au fost preparate din pulberi care au fost presate la 3 MPa și sinterizate 6 h, la 1100°C. Distanța d a fost variată de la 3 la 6 cm, în timp ce fluența a fost păstrată mereu la $\sim 5 \text{ J/cm}^2$. Ca substraturi, am utilizat fie bucăți de bumbac/polieste (56%/44%), având suprafață de $(3 \times 3) \text{ cm}^2$, fie placete de Si (100), cu o suprafață de $(1 \times 1) \text{ cm}^2$. Două seturi de probe au fost preparate într-un flux de 13 Pa O₂ sau într-un vid de 4×10^{-2} Torr. Pentru analiza statistică, au fost depuse cinci probe în condiții identice.

Rezultate

Cartografia EDS a evidențiat prezența doar a ZnO în toate TF și NP, omogenitatea chimică bună a depunerilor și absența impurităților cationice. Studiile noastre nu au indicat vreun efect de ecranare al fibrelor superioare în raport cu cele inferioare.

Proprietățile de udabilitate

TF

TF depuse în flux de O₂ au fost hidrofile (Fig. 3.6a), iar cele depuse în vid au fost hidrofobe (Fig. 3.6b). Am măsurat un CA de 157°, ceea ce a calificat aceste filme ca fiind superhidrofobe.

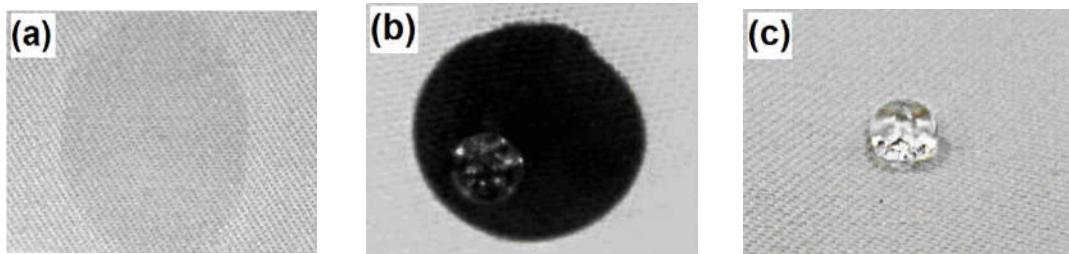


Figura 3.6 Materiale textile acoperite parțial cu nanostructuri de ZnO: filme subțiri hidrofile depuse în 13 Pa flux de O₂ (a); filme subțiri hidrofobe depuse în vid (b); NP hidrofobe depuse în vid (c). Imaginele au fost achiziționate folosind o cameră digitală CANON EOS 50D

NP

Pentru a determina densitatea optimă de NP pentru a obține cea mai hidrofobă probă, am depus NP pe substraturi de Si la trei distanțe d diferite (3, 4 sau 5 cm). Nu am putut continua cu distanțe mai mari de 5 cm, deoarece depunerea devinea nesemnificativă (greu de detectat). Pentru $d = 3$ sau 5 cm, CA a fost de 85°, scăzând la 60° pentru $d = 4$ cm. Am considerat $d = 5$ cm ca fiind distanța optimă deoarece $d = 3$ cm s-a dovedit a fi nesigură datorită caracterului aleatoriu al procesului de depunere.

În cazul substraturilor textile, la distanța $d = 5$ cm, CA măsurat a fost de 120°, confirmând caracterul hidrofob al acestor structuri.

Studii macroscopice și microscopice

TF

Micrografia SEM (Fig. 3.7b) arată că ZnO a acoperit textilele sub forma unui film continuu cu o grosime medie (măsurată prin elipsometrie) de ~ 20 nm.

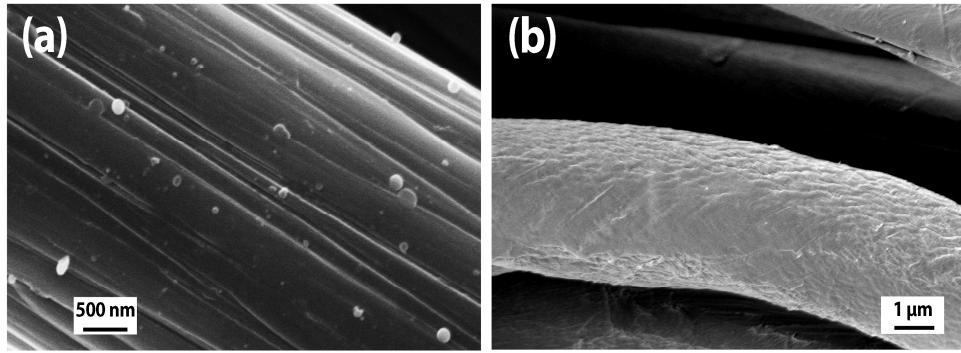


Figura 3.7 Fibre de textile acoperite cu ZnO: (a) NP depuse prin PLD cu 10 pulsuri, (b) filme subțiri depuse prin PLD cu 100 pulsuri

TF depuse în flux de O₂ au fost foarte transparente (Fig. 3.6a), în timp ce TF obținute în vid au fost opace, negre (Fig. 3.6b).

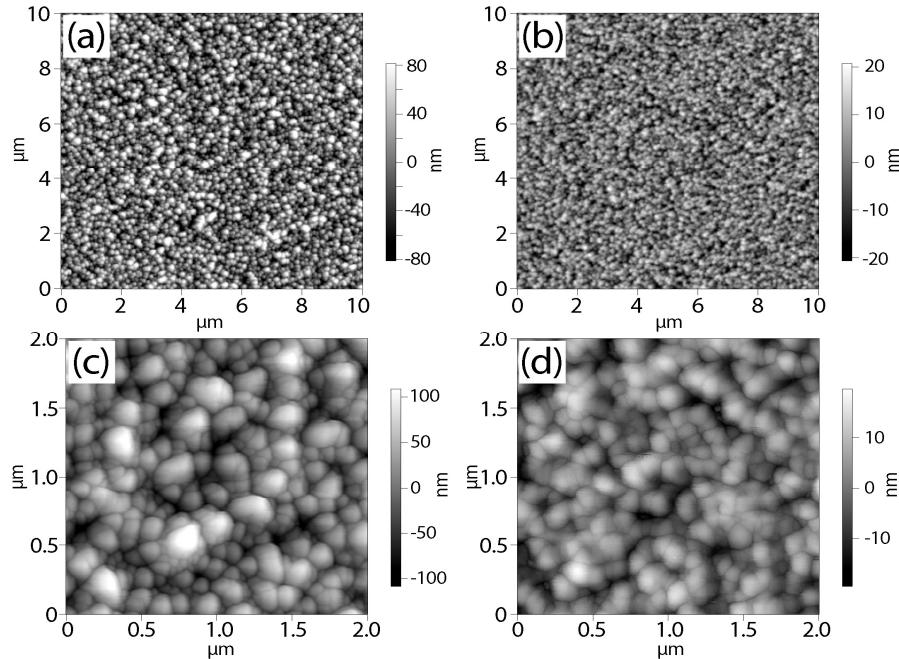


Figura 3.8 Imagini 2-D ale topografiei AFM pentru filmele subțiri depuse în 13 Pa flux de O₂ (a,c) și vid (b,d) la scale diferite: (10×10) μm^2 (a,b) și (2×2) μm^2 (c,d)

Imaginile AFM ale TF depuse în flux de O₂ sau în vid, au arătat că, la nivel micronic, în ambele cazuri, sunt prezente microstructuri dense și uniforme, constând din cristale mici, și o cantitate scăzută de pori intergranulari (Fig. 3.8 a,b).

În cazul filmelor subțiri depuse în flux de O₂, au fost obținute valori ale RMS semnificativ mai mari (aproape de 6 ori) decât cele pentru filmele depuse în vid (tabel 3.1), demonstrând un grad mai mare de cristalinitate.

Tabel 3.1 Parametrii de amplitudine RMS, S_{sk} și S_{ku} pentru filmele ZnO depuse în 13 Pa flux de O_2 sau vid

Parametrii de amplitudine	Tipul probei/ Suprafața de scanare			
	Filme subțiri depuse în O_2 / $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$	Filme subțiri depuse în O_2 / $(2 \times 2) \mu\text{m}^2$	Filme subțiri depuse în vid / $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$	Filme subțiri depuse în vid / $(2 \times 2) \mu\text{m}^2$
RMS (nm)	36,817	36,793	6,578	5,796
S_{sk}	0,404	0,421	-0,113	-0,0731
S_{ku}	0,0274	0,24	-0,375	-0,357

NP

Ambele depuneri de NP (flux de O_2 sau vid) au fost transparente și nu au putut fi observate diferențe macroscopice între ele. Micrografia SEM (Fig. 3.7a) a arătat că forma NP a fost fie sferică, fie poliedrică, cu dimensiuni ce au variat de la 50 la 100 nm.

Tabel 3.2 Dimensiunea și densitatea NP pe substrat de Si

Distanța de separare [cm]	Dimensiunea medie [nm]	Densitatea [NP x cm^{-2}]
4	$58,5 \pm 5,2$	$(55 \pm 11) \times 10^{-8}$
5	$65,5 \pm 12,4$	$(1,2 \pm 0,3) \times 10^{-8}$

Difractogramele XRD pentru cele două tipuri de depuneri au arătat oarecum diferit (Fig. 3.9). După o investigație atentă, a rezultat faptul că toate liniile de difracție asociate ale filmelor, depuse fie pe Si, fie pe textile, pot fi asociate fazei wurtzite a ZnO hexagonal. Caracteristicile care au făcut diferență între cele două structuri au fost legate de orientarea și dimensiunea medie a cristalitelor de ZnO.

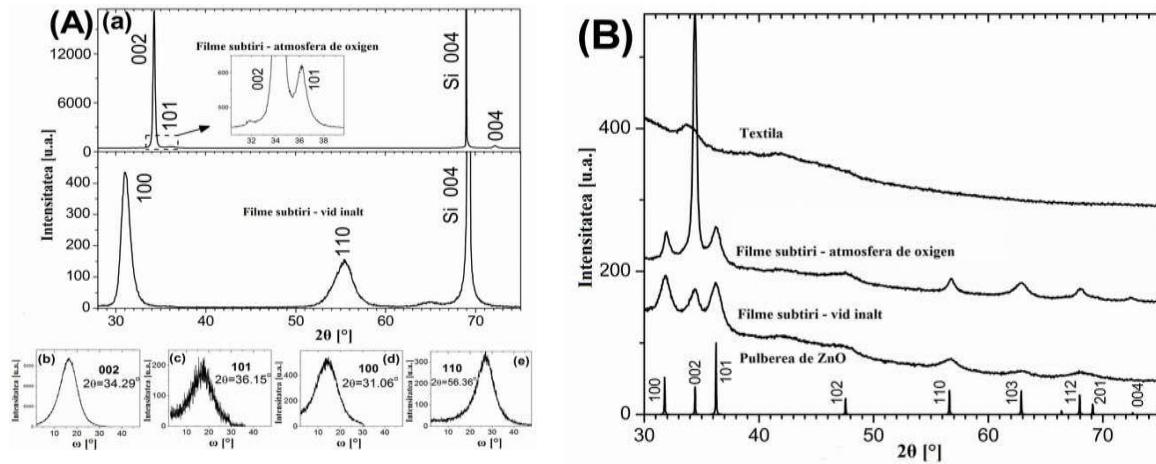


Figura 3.9 Difractogramele XRD caracteristice filmelor subțiri de ZnO depuse pe: substrat de siliciu (A) și substrat textil (B). Curbele rocking (ω scans) pentru planele cristaline implicate: 002 (b), 101 (c), 100 (d) și 110 (e)

Orientarea preferențială a fost sugerată de modificarea intensităților relative ale vârfurilor caracteristice ZnO pentru TF vs. pulberea ZnO folosită ca referință (diagrama cea mai de jos din Fig. 3.9B). Creșterea orientată a fost mult mai evidentă în cazul TF depuse pe Si, și a fost neclară în al doilea caz, datorită substratului textil.

Discuții

Corelația dintre presiunea din timpul depunerii și morfologia filmelor subțiri

Rezultatele obținute sunt concordante cu fenomenologia PLD [Chrisey D.B., 1994], diferența observată în organizarea și morfologia filmelor fiind legată de ejectiona și propagarea materialului în diferite medii ambiente. În gaze (în cazul nostru 13 Pa O₂), datorită coliziunilor intense cu atomii înconjurători, materia ejectată este confinată într-o plasmă alungită, de forma unei “țigări de foi”. În cazul depunerilor în vid, la rate mici de coliziune, materia este ejetată în toate direcțiile, expansiune descrisă ca “nor de plasmă”. Conform studiile noastre, aceste structuri sunt mult mai hidrofobe decât cele depuse în flux de O₂, diferență care poate fi atribuită schimbării în morfologia suprafeței și în special modificării în orientarea cristalină.

Model propus pentru udarea suprafeței

Studiile noastre au arătat că TF și NP depuse conțin doar ZnO pur. Observațiile macroscopice și microscopice au evidențiat o suprafață netedă în cazul TF depuse în vid. Grăunții având dimensiuni de ~ 140 nm, vizualizați prin AFM, au fost formați de fapt din cristalite foarte mici de maxim 10 nm. Numeroasele spații dintre aceste cristalite sunt umplute cu aer care se comportă ca un strat „tampon” pentru picătura de apă, aflându-se în contact cu suprafața doar în câteva locuri nanometrice. Dimpotrivă, TF depuse în flux de O₂ au prezentat cristalite mai mari și doar câțiva pori intergranulari. Stratul „tampon” de aer este astfel rarefiat, contactul dintre picătura de apă și suprafața ZnO extinzându-se pe o suprafață mai mare (Fig. 3.10). Greutatea picăturii este superioară contra-presiunii exercitată de suprafața ZnO și, în cele din urmă picătura, se “prăbușește” sub propria forță.

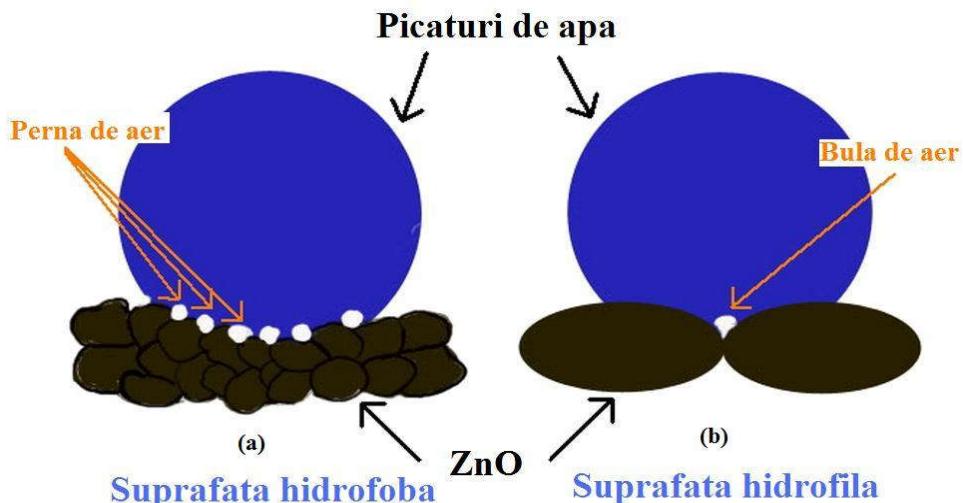


Figura 3.10 Schema picăturii de apă în contact cu suprafața de ZnO depusă în vid (a) și în 13 Pa flux de O₂ (b)

Același mecanism este activ și în cazul NP. Acest model este în concordanță cu studii recente legate de suprafețe hidrofobe ale frunzelor unor plante [Bhushan B., 2011].

Încărcarea electrică a suprafeței trebuie să fie luată în considerație pentru a explica hidrofilicitatea sau hidrofobicitatea structurilor de ZnO. Astfel, am observat prin XRD că presiunea din camera de depunere determină formarea unor combinații între atomii de Zn și O în rețeaua cristalină. În cazul TF și al NP depuse în vid, există o amestecare în fiecare plan de sarcini pozitive și negative care se compensează unele pe altele. Picătura de apă este neutră din punct de vedere electric. Prin urmare, structurile depuse nu interacționează cu ea din acest punct de vedere. Contrar, TF și NP depuse în flux de O₂ prezintă un singur tip de atomi/plan, care induc o încărcare pozitivă (Zn) sau negativă (O) a suprafeței. Depunerea interacționează din punct de vedere electric cu picătura de apă pentru a atinge starea neutră, acest lucru atrăgând buile de apă către suprafața de ZnO, provocând un stres suplimentar care contribuie în final la “prăbușirea” bulei.

CAPITOLUL 4. Filme subțiri de HA pure și dopate depuse prin PLD

4.1 Filme de HA pure depuse pe substraturi de PMMA sau Si

Scopul acestor studii a fost de a obține acoperiri osteoconductive de HA pe PMMA și Si pentru implanturi neurochirurgicale [Socol G., 2010].

Condiții experimentale

Țintele HA au fost presate la 3 MPa și sinterizate la 650 °C, timp de 6h. Experimentele s-au efectuat cu o rată de repetiție de 10 Hz, în vapori de apă, la RT, pentru a împiedica modificarea sau degradarea PMMA [Vispute R.D., 1996]. După depunere, o parte dintre filmele de HA au fost tratate în vapori de apă.

Tabel 4.1 Condiții de depunere utilizate în experimentele de sinteză prin PLD a filmelor HA pe substraturi de PMMA sau Si

Cod	Presiune (vaporii H ₂ O, Pa)	Distanță d (cm)	Fluență (J/cm ²)	Nr. pulsuri	Tratament termic
PMMA-HA.A1	30	5	1,4	6000	-
PMMA-HA.A2	30	5	1,4	6000	100°C, 4h
PMMA-HA.B	50	4	2,25	5000	-
PMMA-HA.C	30	4	2,75	5000	-

Pentru investigațiile FTIR și EDS, au fost preferate ca substraturi placete de Si(100), dublu polizate. În acest fel, benzile IR caracteristice HA au putut fi discriminate de fondul numeroaselor moduri de vibrație specifice PMMA. Pentru măsurători EDS precise, au fost necesari timpi de achiziție îndelungați și intensități de accelerare relativ mari (20 kV), ceea ce a făcut necesară utilizarea substraturilor de Si, care au suportat încălzirea aferentă.

Rezultate

A. Investigații fizico-chimice

Filmele HA au prezentat o grosime de 100-120 nm (microscopie interferențială), valori adecvate pentru acoperirile subțiri ale implanturilor osteointegratoare.

Micrografilele SEM (Fig. 4.1) au evidențiat o morfologie rugoasă și neuniformă. După cum se știe [Citeau A., 2005; Nelea V., 2007; Mihăilescu I.N., 2010], acest tip de morfologie este benefică pentru aplicații în acoperirile de implant deoarece asigură o

integrare profundă între os și acesta, prin colonizarea celulelor în microcavitatele suprafetei, și proliferarea intensă a acestora.

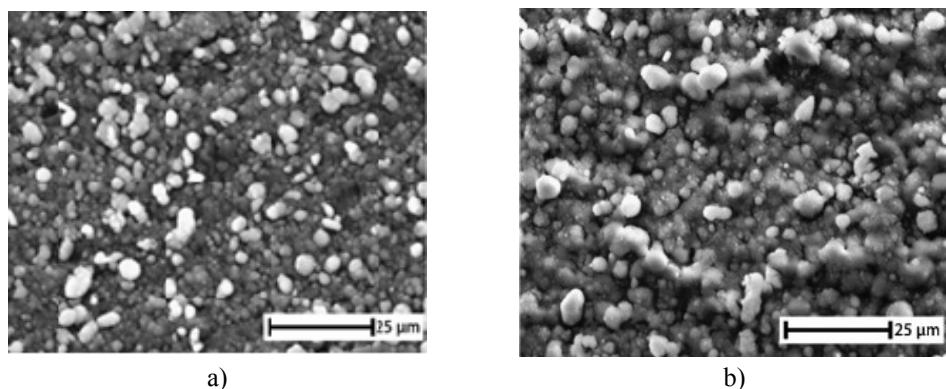


Figura 4.1 Micrografii tipice SEM ale filmelor de HA depuse prin PLD pe Si: HA.A1 (a) și HA.C (b)

Pe suprafața filmelor au fost prezente picături de dimensiuni micronice (Fig. 4.1), odată cu amplificarea fluenței laser, observându-se o creștere a dimensiunii acestora.

Analizele GIXRD au evidențiat o structură amorfă a depunerilor PLD. Această comportare era de așteptat având în vedere temperatura scăzută a substratului în aceste depunerি. În general [Nelea V., 2007; Mihăilescu I.N., 2010], filmul HA devine cristalin odată cu încălzirea substratului iar dimensiunea cristalitelor crește cu temperatura de încălzire.

În spectrele FT-IR ale filmelor HA am remarcat prezența acelorași picuri în poziții identice, fapt care a confirmat existența aceluiași compus (HA).

Valoarea măsurată a raportului atomic Ca/P a fost de 1,62, apropiată de valoarea teoretică de 1,67 care corespunde fazei pure HA [Nelea V., 2007; Mihăilescu I.N., 2010].

Pentru probele HA/PMMA a fost obținută o valoare modestă a aderenței (~ 25 MPa), posibil datorită temperaturii la care s-a realizat depunerea (RT).

B. Teste biologice *in vitro*

Pentru a estima procentul de celule viabile în probele analizate, s-a considerat că sticla borosilicat (controlul) are o viabilitate de 100%, iar viabilitatea celulelor a fost calculată ca procent din control. Cele mai bune rezultate au fost obținute în cazul probelor PMMA-HA.A1 și PMMA-HA.A2, care au prezentat o viabilitate mai mare decât cea a controlului și anume ($101,5 \pm 3\%$) și respectiv ($100 \pm 2,7\%$) (Fig. 4.3).

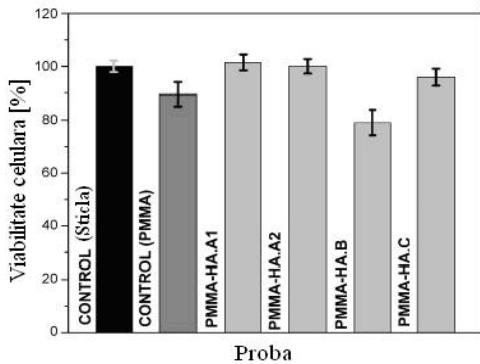


Figura 4.3 Viabilitatea celulelor *SaOs2* crescută pe structurile HA/PMMA

Adeziunea celulelor *SaOs2* a fost optimă în cazul probelor PMMA–HA.A2 (Fig. 4.5). Celulele crescute pe aceste structuri au manifestat un comportament similar și chiar superior celor crescute pe sticlă borosilicată: viabilitate crescută, proliferare bună și adeziune celulară optimă.

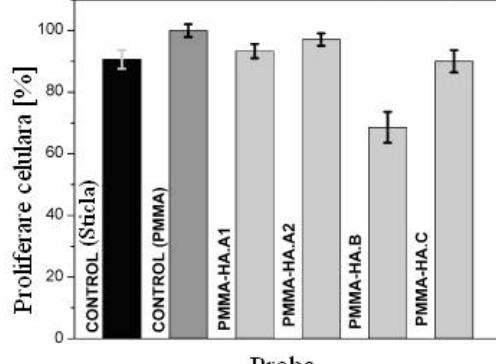


Figura 4.4 Proliferarea celulelor *SaOs2* crescută pe structurile HA/PMMA

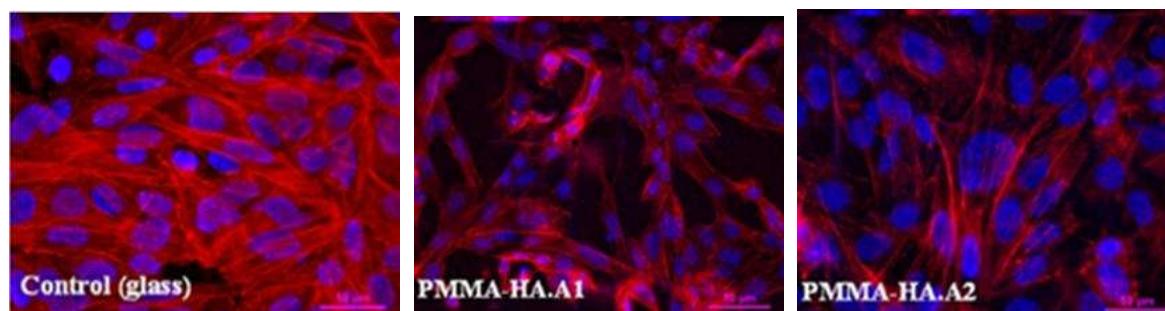


Figura 4.5 Teste de adeziune ale celulelor *SaOs2* crescute timp de 72 h pe filmele de HA raportate la probele de control. Legenda: roșu - filamente de actină; albastru - DAPI

4.2 Filme de HA pure și dopate depuse pe substraturi de Ti sau Si

În aceste experimente am făcut o comparație între proprietățile fizico-chimice ale unor filme HA de origine animală (ovine/bovine) dopate și HA de sinteză depuse prin metoda PLD pentru obținerea unei noi generații de implanturi metalice [Duță L., 2012b].

Condiții experimentale

Am folosit pulberi HA de origine ovină (Sheep HA, SHA), HA de origine bovină dopată fie cu Li₂O (BHA:Li), fie cu sticlă comercială (BHA:CIG) și HA de sinteză (HA_{syn}), care au fost presate la 5 MPa și sinterizate timp de 4h la 1000 °C în aer. Am utilizat substraturi de Ti (diametrul de 1,2 cm, grosime de 0,15 cm) și placete de Si(100)

(1x1) cm² care au fost poziționate paralel cu țintele, la o distanță de separare de 5 cm. Iradierile s-au efectuat cu o rată de repetiție de 10 Hz. Fluența laser a fost setată la ~3,3 J/cm². În timpul experimentelor, substraturile de Ti sau Si au fost încălzite și menținute la o temperatură de 500 °C. Pentru o singură depunere, au fost aplicate 15000 de pulsuri. Depunerile s-au efectuat în vapori de apă, la 50 Pa. Toate probele au fost supuse ulterior unui tratament termic (în vapori de apă) la 500 °C.

Rezultate

Micrografiile tipice ale filmelor HA prezintă o morfologie neregulată. Pe suprafața structurilor depuse se observă picături cu dimensiuni între (0,2-6) μm (Fig. 4.6).

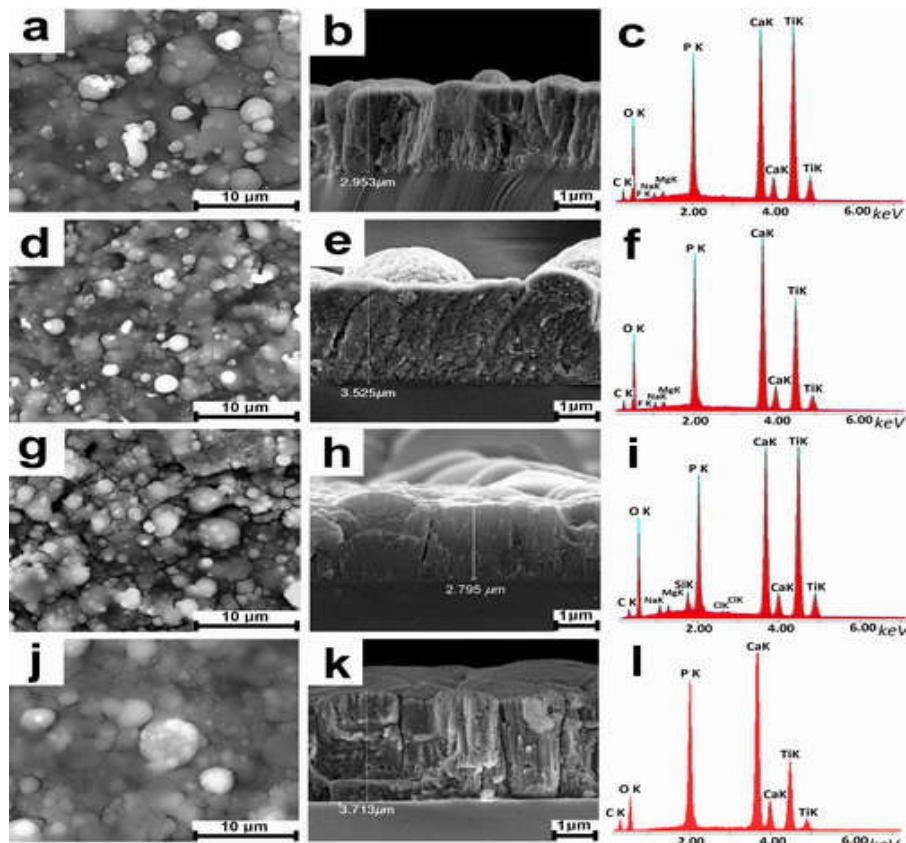


Figura 4.6 Micrografi SEM - vedere generală (a,d,g,j) și secțiune transversală (b,e,h,k) - ale filmelor de: SHA (a,b), BHA:Li (d,e), BHA:CIG (g,h) și HA_{syn} (j,k).

Spectrele EDS ale filmelor de: SHA (c), BHA:Li (f), BHA:CIG (i) și HA_{syn} (l)

Rugozitatea Ti nedepus de (0,47±0,02) μm reprezintă aproximativ jumătate din rugozitatea structurilor depuse (Tabel 4.2), diferență legată în mod evident de prezența picăturilor în cel de-al doilea caz.

Tabel 4.2 Valorile rugozității medii \pm SD a suprafeței filmelor depuse

Indicativ probă	Rugozitate medie \pm SD [μm]
SHA	0,61 \pm 0,05
BHA:Li	0,71 \pm 0,06
BHA:CIG	0,77 \pm 0,03
HA _{syn}	0,76 \pm 0,1

Imaginile SEM în secțiune transversală (Fig. 4.6-b,e,h,k) evidențiază filme cu microstructură densă. Grosimile și ratele medii de depunere ale acestor filme sunt colectate în Tabelul 4.3. Se observă că eficiența de depunere a fost cea mai mică în cazul BHA:CIG probabil datorită împrăștierii intense a luminii de către microparticulele de sticlă din dopant.

Tabel 4.3 Valorile grosimilor și ratele de depunere medii \pm SD pentru filmele depuse

Indicativ probă	Grosime medie \pm SD [μm]	Rata de depunere medie \pm SD [nm/puls]
SHA	2,95 \pm 0,21	0,2 \pm 0,02
BHA:Li	3,52 \pm 0,16	0,24 \pm 0,02
BHA:CIG	2,79 \pm 0,02	0,18 \pm 0,01
HA _{syn}	3,71 \pm 0,15	0,25 \pm 0,01

Difractogramele XRD ale țintelor sunt prezentate comparativ în Fig. 4.7. Analiza XRD a arătat că principala fază cristalină a fost HA, alături de concentrații foarte scăzute (<1%) de $[\text{HPF}_6(\text{H}_2\text{O})_6]$ și brușită $[\text{CaPO}_3(\text{OH}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$. Atât pentru filme cât și pentru ținte, în spectrele XRD au fost vizibile concentrații scăzute de F_2 .

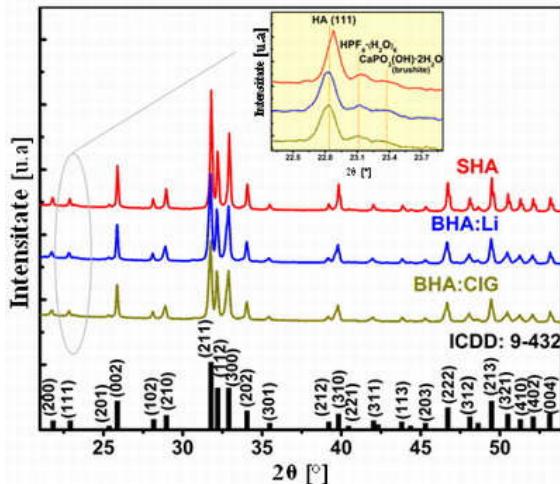


Figura 4.7 Spectrele XRD ale țintelor

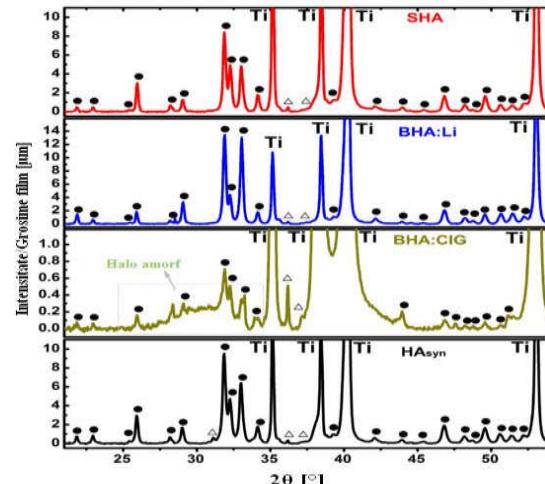


Figura 4.8 Spectrele XRD ale filmelor sintetizate prin PLD pe substraturi de Ti (● – HA; Δ – suboxizi de TiO și TiO₂)

Difractogramele XRD ale filmelor sintetizate prin PLD sunt prezentate în Fig. 4.8. Se poate observa că filmelor BHA:Li le corespunde o cristalinitate mai pronunțată. În cazul BHA:CIG, s-a putut evidenția un halo amorf, centrat la $2\theta \approx 30^\circ$, fapt care sugerează încorporarea unei cantități importante de fază sticloasă.

În Fig. 4.9a-c sunt prezentate spectrele FT-IR ale țintelor și filmelor.

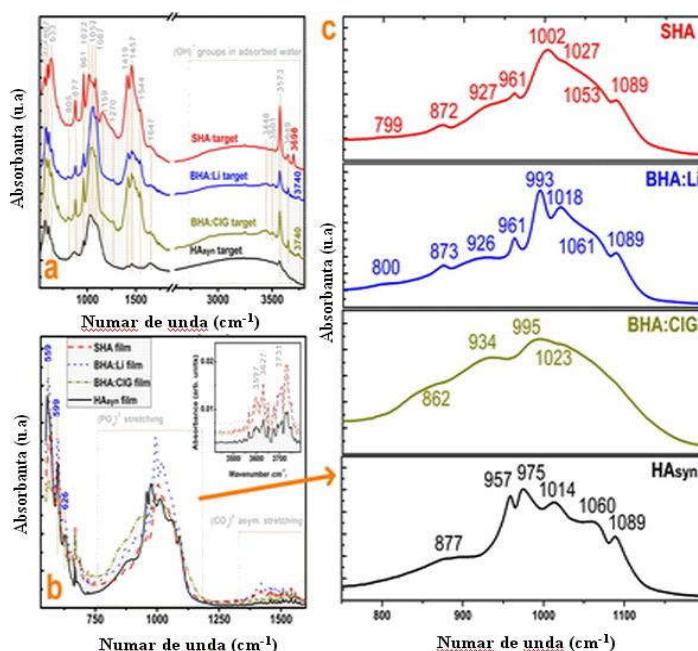


Figura 4.9 Spectrele FT-IR ale (a) țintelor și (b – spectre generale; c - detaliu) ale filmelor sintetizate prin PLD

Cartografia EDS a acoperirilor a evidențiat o distribuție omogenă a elementelor Ca și P, demonstrând absența fenomenelor de segregare. A fost evidențiată prezența, în cantități mici, a altor elemente întâlnite în mod normal în compoziția chimică a osului sănătos, cum ar fi Na, Mg, F și C (Fig. 4.6 – c,f,i,l). Compoziții similare au fost întâlnite în cazul țintelor utilizate în experimente. Mai mult, în cazul probelor BHA:CIG, a fost evidențiată prezența Si, Na și Cl, care aparțin fazei sticloase. Nu au fost detectate alte impurități.

Rapoartele Ca/P sub-stoichiometrice obținute atât pentru ținte cât și pentru filme (Tabel 4.4) indică formarea unui compus HA deficitar în Ca (CHA) sau substituirea importantă a ionilor de Ca (în cazul HA de origine animală) de alte elemente alcaline sau alcalino-pământoase, în timpul sintezei pulberii. Acest proces pare să se accentueze în

timpul sintezei filmelor prin PLD. Rezultatele compoziționale (Tabel 4.4) au prezentat, atât pentru ținte cât și pentru filme, $SD < 0.5$ at.%, ceea ce reprezintă valori acceptabile.

Tabel 4.4 Rapoarte at. Ca/P determinate prin analiza EDS pentru ținte și filme

	Rapoarte atomice Ca/P			
	SHA	BHA:Li	BHA:CIG	HA _{syn}
Tintă	$1,51 \pm 0,02$	$1,49 \pm 0,01$	$1,55 \pm 0,01$	$1,67^*$
Film	$1,37 \pm 0,02$	$1,38 \pm 0,02$	$1,41 \pm 0,01$	$1,57 \pm 0,01$

* Valoare teoretică

Pentru măsurătorile de aderență, au fost testate cinci probe. Valorile măsurate ale aderenței sunt prezentate în Tabelul 4.5 și au fost calculate ca medie \pm SD.

Tabel 4.5 Valorile aderenței în cazul filmelor HA

Indicativ probă	Valoarea aderenței [MPa]
SHA	$66,5 \pm 8,3$
BHA:Li	$74,8 \pm 3,8$
BHA:CIG	$49,3 \pm 10,0$
HA _{syn}	$42,6 \pm 7,1$

Scăderea aderenței în cazul structurii BHA:CIG poate fi atribuită fragilității fazei sticloase supusă stresului mecanic. Notăm că doar valori ale aderenței care depășesc 40 MPa sunt considerate acceptabile pentru aceste tipuri de acoperiri de implanturi [Draft International Standards, 1999; American Society for Testing and Materials, 2009; Food and Drug Administration 1997]. Conform acestui criteriu, se pot considera remarcabile valorile aderenței măsurate în cazul structurilor BHA:Li.

Discuții

Conform teoriei biomimetice, un material care este utilizat pentru repararea sistemului scheleto-vertebral trebuie să fie similar cu cel biologic în ceea ce privește morfologia, structura, compozitia și funcționalitatea. După cum se știe [Mihailescu I.N., 2005], faza anorganică prezentă în țesuturile oaselor umane este carbonată, parțial cristalizată și nestoechiometrică, datorită prezenței unui număr mare de ioni străini.

Spectrele FT-IR și difractogramele XRD au evidențiat prezența, în toate filmele depuse, a unei structuri de HA bine cristalizate. Poziția benzilor PO₄ în spectrele FT-IR a fost caracteristică, în toate cazurile, filmelor HA sintetizate prin PLD [Zeng H., 2000]. Existența ionilor ce nu sunt originari din HA sau Ti a fost confirmată de studiile EDS ale acoperirilor SHA sau BHA (dopate fie cu Li₂O sau CIG), unde au fost înregistrate

semnale pentru Na, Mg, Cl, F, O sau Si, pe lângă ionii majoritari de Ca, P și Ti. Prezența ionilor în structura HA determină ca acoperirea să se apropie de formula chimică a osului și este recunoscut faptul că acest lucru are o influență benefică asupra bioreactivității HA [Mihailescu I.N., 2010]. Foarte important, toate filmele au fost carbonatate. Este cunoscut faptul că HA care conține C este mai osteoconductivă și mai resorbabilă decât HA stoichiometrică, permisând osteoblastelor să dizolve ceramica rapid, determinând o osteosinteza mai rapidă și remodelarea osoasă [Sima L.E., 2010; Spence G., 2008]. În țintele biologice a fost detectată o concentrație scăzută de brușită. Acest lucru nu era de neașteptat deoarece acum mai bine de trei decenii Roufosse et al. [Roufosse A.H., 1979] a observat prezența acestei faze în osul embrionic de pui prin difracția de electroni și de raze X. Brușita a fost determinată ca fiind faza solidă cristalină majoritară de CaP în fracțiunile de os cu densități scăzute care conțin țesuturile osoase cel mai puțin mineralizate. Studiile acestor autori au arătat că brușita reprezintă o componentă a fazei minerale depuse inițial, fiind un precursor al HA, faza CaP caracteristică țesutului osos cel mai bine cristalizat. Subliniem că HA nestoichiometrică care prezintă rate de solubilitate ridicate este similară apatitei biologice și, ca o consecință, este mai potrivită în aplicațiile de acoperiri ale implanturilor [Mihailescu I.N., 2010].

Investigațiile SEM au evidențiat prezența semnificativă a picăturilor cu dimensiuni micronice pe suprafața filmelor depuse. Existența lor reprezintă o caracteristică a filmelor sintetizate prin PLD. Subliniem însă că, în cazul aplicațiilor biomedicale, a fost demonstrat faptul că prezența acestor picături este benefică deoarece acestea conferă o adeziune bună și o rată de proliferare ridicată celulelor osteoblaste cultivate pe suprafața filmelor depuse [Socol G., 2004].

CAPITOLUL 5. Studii *in vitro* și *in vivo* pe filme nanostructurate de biosticle și hidroxiapatită sintetizate prin PLD

5.1 Studii *in vitro* pe filme de BG depuse pe substraturi de Ti

Am sintetizat prin tehnica PLD filme de BG cu două compoziții diferite: BG57 (SiO_2 : 56.5%; Na_2O : 11%; K_2O : 3%; CaO : 15%; MgO : 8.5%; P_2O_5 : 6%) and BG61 (SiO_2 : 61.1%; Na_2O : 10.3%; K_2O : 2.8%; CaO : 12.6%; MgO : 7.2%; P_2O_5 : 6%) [Popescu A.C., 2009].

Condiții experimentale

Țintele de BG au fost preparate prin presarea pulberilor de bază la ~ 3 MPa, urmată de sinterizarea timp de 6h la 650 °C. Ca substraturi pentru depuneri au fost utilizate discuri de Ti corodate chimic, având diametrul de 1,2 cm și grosime de 0,15 cm. Fluența laser incidentă a fost de $\sim 5,7$ J/cm², la o rată de repetiție a pulsurilor de 10 Hz. Toate depunerile au fost efectuate pe substraturi încălzite la o temperatură de 400 °C. Filmele BG au fost depuse într-un flux de 13 Pa O₂. Distanța dintre țintă și substrat a fost de 4 cm. Numărul de pulsuri laser aplicate consecutiv pentru depunerea unui strat de BG, a fost de 5000. După depunere, filmele BG au fost răcite lent, în atmosfera de depunere.

Rezultate

A. Investigații morfologice și compoziționale

Am observat că depunerile efectuate din ambele tipuri de BG prezintă morfologii uniforme, alcătuite din picături, cu dimensiuni de (1 ÷ 6) μm (Fig. 5.1).

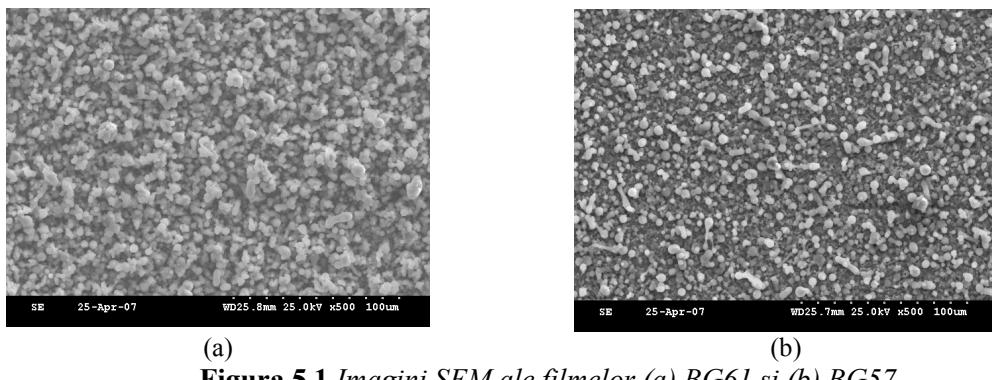


Figura 5.1 Imagini SEM ale filmelor (a) BG61 și (b) BG57

Imaginiile SEM ale osteoblastelor primare cultivate pe cele două filme BG furnizează informații asupra interacțiunii dintre celulele cultivate și suprafețele de contact. Aceste interacțiuni sunt foarte puternice, celulele aproape că fac corp comun cu picăturile de pe suprafață, prelungirile osteoblastelor infiltrându-se în material (Fig. 5.2).

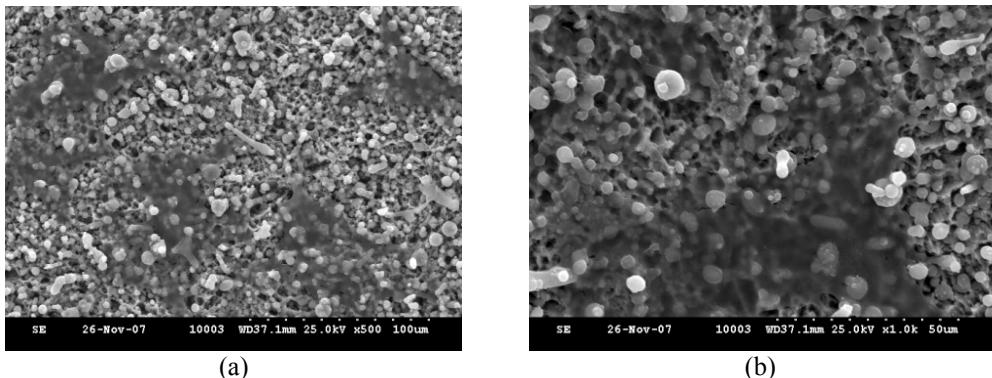


Figura 5.2 Imagini SEM ale osteoblastelor crescute timp de 72h pe filmele (a) BG61 și (b) BG57

Spectrele EDS corespunzătoare depunerilor din cele două filme de BG au indicat prezența clară a cationilor constituenți. Cartografia EDS evidențiază o distribuție uniformă a speciilor cationice în depunerii, fără segregări sau separări de microfaze.

B. Teste biologice *in vitro*

După prima zi de imersare în SBF, apar modificări importante în cazul ambelor filme (Fig. 5.3). S-au ales ca referință spectrele înregistrate înaintea imersării în SBF.

Rezultatele investigațiilor microscopice ale filmelor menținute pentru diferite perioade de timp în SBF arată că depunerile se dizolvă progresiv, astfel încât după 7 zile se regăsesc pe suprafața substratului de Ti doar câteva picături dispersate de BG.

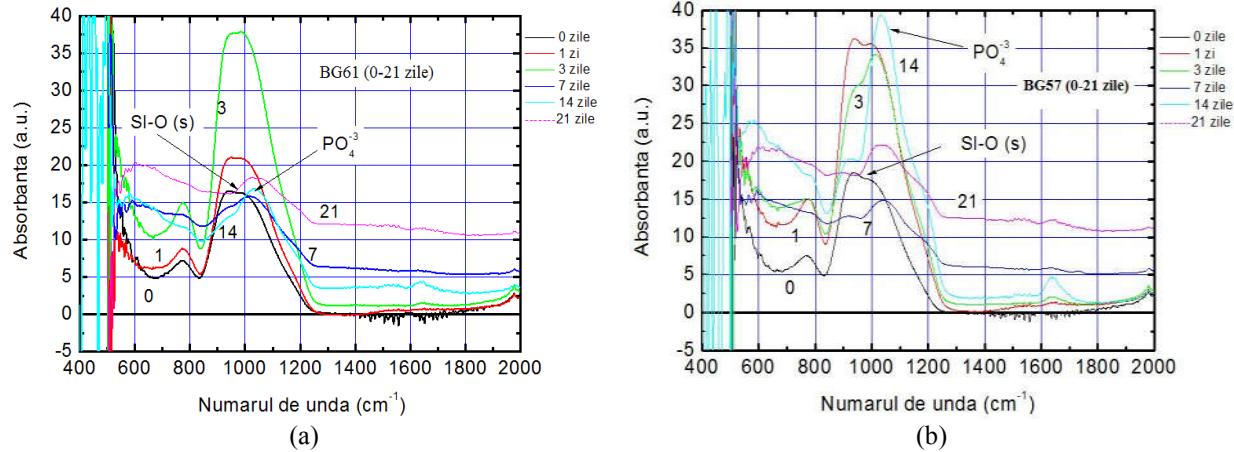


Figura 5.3 Spectrele FT-IR ale filmelor BG61 (a) și BG57 (b) după zero, unu, șapte, patruzece și douăzeci și unu zile de imersare în SBF

Pentru comparație, în Fig. 5.4 și Fig. 5.5 sunt prezentate imaginile SEM ale depunerilor de BG, înainte și după imersia în SBF. Se constată că, odată cu creșterea timpului de imersare în SBF, picăturile de BG devin din ce în ce mai mici și mai puține, până la dispariția lor aproape completă.

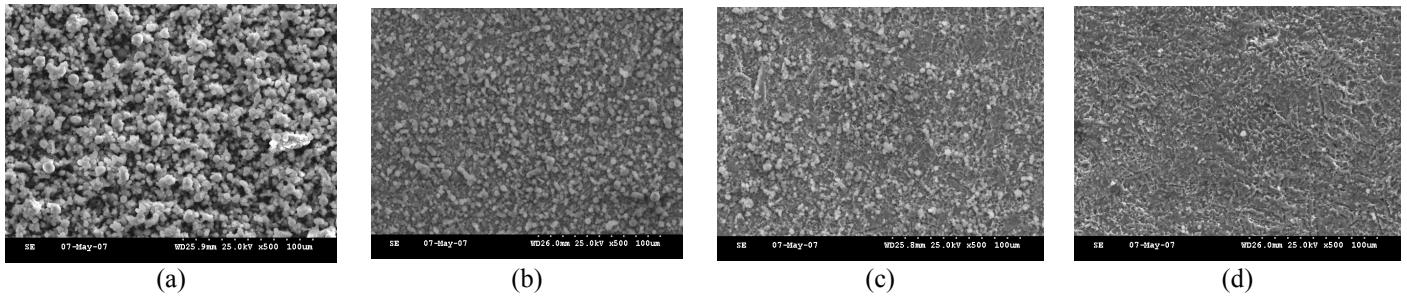


Figura 5.4 Imagini SEM ale filmului BG61: (a) înainte de imersia în SBF; (b) după 1 zi de imersie în SBF; (c) după 3 zile de imersie în SBF; (d) după 7 zile de imersie în SBF

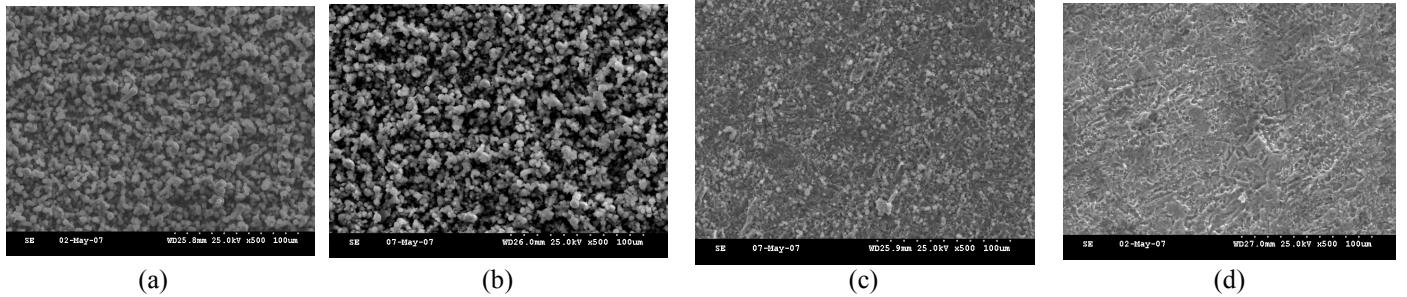


Figura 5.5 Imagini SEM ale filmului BG57: (a) înainte de imersia în SBF; (b) după 1 zi de imersie în SBF; (c) după 3 zile de imersie în SBF; (d) după 7 zile de imersie în SBF

Osteoblastele primare cultivate pe filmul BG57 au prezentat o viabilitate mai bună comparativ cu BG61 (88,7% față de 82,3%), în condițiile în care viabilitatea celulelor crescute pe controlul de sticlă a fost de 96,3% (Fig. 5.6).

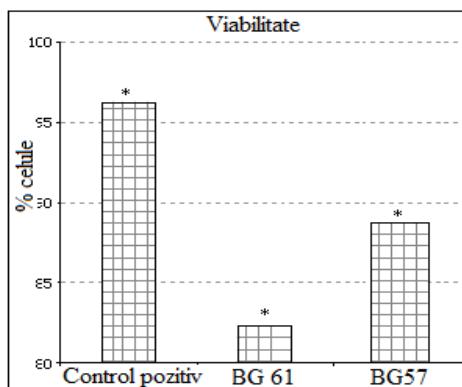


Figura 5.6 Viabilitatea osteoblastelor crescute 72h

pe suprafața filmelor BG61 și BG57

Osteoblastele cultivate pe filmele depuse prin PLD au proliferat în proporție mare, chiar mai bine decât celulele din experimentul de control (Fig. 5.7). Peste 80% din osteoblastele primare crescute pe BG s-au divizat, în comparație cu aproximativ 55% din celulele crescute pe controlul de sticlă. A fost evidentă o diferență de proliferare între cele două tipuri de materiale. Astfel, osteoblastele proliferează în număr mai mare în cazul sticlelor cu un conținut de Si mai scăzut. Diferența dintre procentul de proliferare al celulelor (87% în cazul BG57 și 83% în cazul BG61) în corelare cu determinarea viabilității, indică faptul că BG cu un conținut mai scăzut de SiO_2 reprezintă un mediu de creștere mai "prietenos" pentru celule [Lopez E.S., 2003; Hench L.L., 1993].

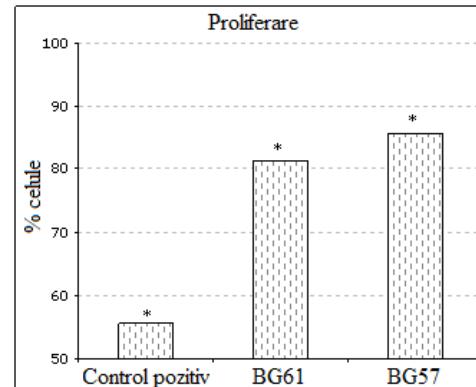


Figura 5.7 Proliferarea după șase zile a osteoblastelor crescute pe filmele BG61 și BG57

În cazul osteoblastelor primare cultivate 20h pe controlul de sticlă s-au observat elementele de adeziune inițială (Fig. 5.8). Forma celulelor este preponderent rotundă, cu mici prelungiri aderente. Fibrele de actină sunt dispuse radial și circular iar vinculina este concentrată în mare parte în centrul celulei.

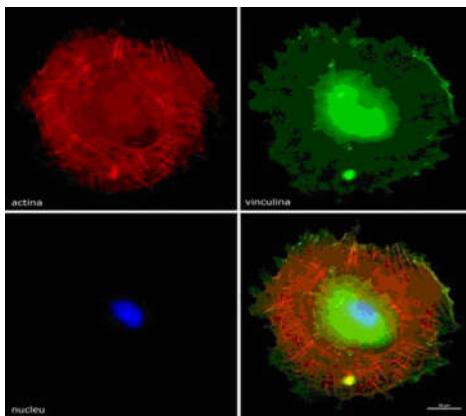


Figura 5.8 Osteoblaste marcate fluorescent după 20h de cultivare pe controlul de sticlă

După trei zile de creștere în cultură, osteoblastele primare sunt bine ancorate la substratul de sticlă (Fig. 5.9). Actina este dispusă în fibre paralele pe toată suprafața celulei iar vinculina este prezentă sub forma unor fibre scurte în capătul terminal al fibrelor de actină, în punctele de adeziune cu suprafața de contact.

După 20h de la cultivarea pe suprafața filmului BG61, osteoblastele primare au prezentat elemente de adeziune, fibrele de actină având o disperșiune paralelă.

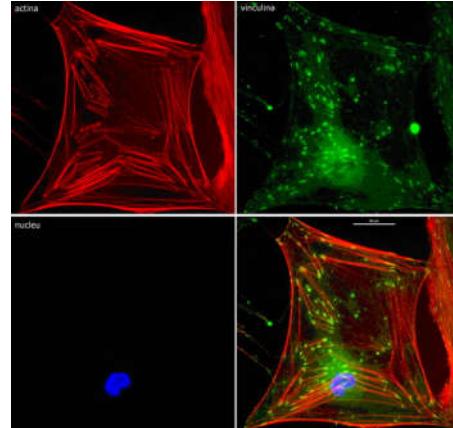


Figura 5.9 Osteoblaste marcate fluorescent după 72h de cultivare pe controlul de sticlă

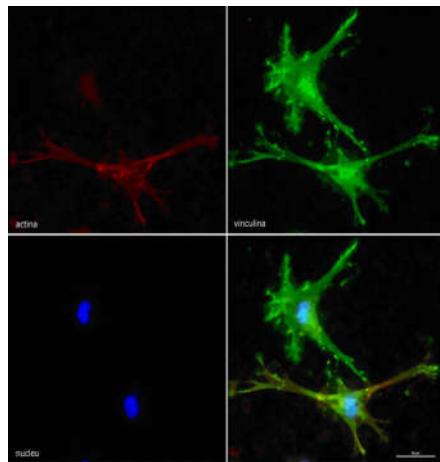


Figura 5.10 Osteoblaste marcate fluorescent după 72h de cultivare pe suprafața filmului BG61

După trei zile de creștere pe filmul BG61, osteoblastele primare au prezentat o distribuție uniformă și contacte puternice cu suprafață (Fig. 5.10). Din cauza neregularității suprafeței, celulele par că au tendință să-și îngroape protuberanțele în granularitatele acesteia. Astfel, forma celulelor este alterată. Vinculina a fost distribuită la periferia celulelor, la capătul fibrelor de actină paralele. Caracteristici asemănătoare (distribuția uniformă a celulelor, topologia osteoblastelor și adeziunea la suprafață), au

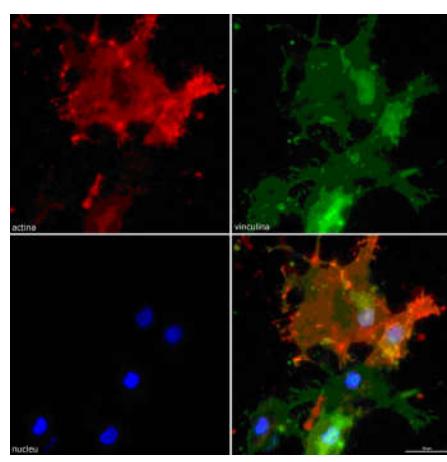


Figura 5.11 Osteoblaste marcate fluorescent după 72h de cultivare pe suprafața filmului BG57

fost observate și în cazul în care osteoblastele diferențiate au fost crescute pe filmele BG57 (Fig. 5.11).

5.2 Filme nanostructurate de HA pe meșe chirurgicale de Ti

Scopul acestor studii a fost depunerea de filme HA pe meșe chirurgicale de Ti pentru validarea acestora pentru studii *in vivo* [Chiriac A., 2010].

Condiții experimentale

Fluența laser incidentă pe țintă a fost de $\sim 5 \text{ J/cm}^2$. În timpul experimentului, substratul a fost încălzit la o temperatură de 500°C . Depunerile s-au efectuat cu o frecvență de repetiție a pulsurilor de 10 Hz. În interiorul camerei de depunere, a fost menținută constantă o presiune de $3,5 \times 10^{-1} \text{ Torr}$ (vapori de apă). Distanța țintă-substrat a fost de 5 cm. Pentru depunerea unui film de HA, s-au aplicat 20000 pulsuri. După depunere, toate probele au fost supuse unui tratament termic în vapori de apă timp de 6h. Pe durata acestuia, meșele au fost încălzite la temperatura din timpul depunerii (500°C).

Rezultate

A. Investigații fizico-chimice

Investigațiile SEM cu emisie în camp au evidențiat o microstructură densă, cu grad de uniformitate redus, constând din formațiuni aproape sferice, de dimensiuni diferite, $(1 \div 6,5) \mu\text{m}$. Difracțogramele filmelor HA depuse pe meșele de Ti au fost identice cu cea a materialului de bază (pulberea de HA). Spectrul FT-IR al filmului HA este caracteristic HA stoichiometrică [Ding S.J., 2003]. Cartografia EDS a evidențiat o bună omogenitate chimică, iar spectrul EDS a indicat puritatea avansată a filmului HA. Raportul atomic Ca/P determinat a fost ușor substoichiometric (1,57). Valorile aderenței (extragere forțată, „pull-off”) s-au situat în domeniul $(79,2 \pm 3,67) \text{ MPa}$, foarte adecvate utilizării în acoperirea de implanturi metalice [Nelea V., 2004; Sima F., 2009].

B. Teste biologice *in vitro*

Analiza SEM a evidențiat o interacțiune foarte puternică între celule și filmele HA, fapt demonstrat de aspectul plat al celulelor SaOs2 crescute pe suprafața materialelor depuse. La trei zile după cultivare, s-a efectuat un test MTS pentru a evalua efectele

materialelor funcționalizate asupra metabolismului celulelor. Am demonstrat că celulele crescute pe filme HA prezintă valori similare ale viabilității cu cele obținute pe control. Buna adeziune a fost probată de morfologia filamentelor de actină, care sunt dispuse paralel în fibre extinse în tot volumul celulei. Am observat o densitate mare de celule care acoperă întreaga structură. Imaginele SEM demonstrează o interacțiune strânsă a celulelor cu picăturile HA, ceea ce în final conferă stabilitate celulelor, capabile astfel de proliferare.

C. Teste clinice *in vivo*

În urma validării testelor *in vitro*, am continuat studiile cu teste clinice (pe pacienți umani). În mod concret, a fost efectuat un studiu privind utilizarea tehnicii de reconstrucție craniană cu meșe de Ti fixate cu ajutorul microșuruburilor. În acest studiu, a fost inclus un lot de 41 de pacienți care au beneficiat de cranioplastie cu meșă de Ti, pentru diferite defecte ale oaselor craniene. Intervențiile neurochirurgicale s-au efectuat în Clinica de Neurochirurgie a Spitalului de Urgență „Prof. Dr. N. Oblu” din Iași, în perioada 2007 - 2010. Lotul de pacienți selecționați pentru acest studiu a fost împărțit în două subgrupe, în funcție de tipul de implant utilizat: (i) grupa de pacienți cu meșă de Ti simplă; (ii) grupa de pacienți cu meșe de Ti funcționalizate cu filme HA prin metoda PLD. Lotul de pacienți a inclus un număr de 31 de bărbați și 10 femei, cu vârste cuprinse între 15 și 63 de ani, în momentul intervenției chirurgicale. Pacienții au fost monitorizați imediat după intervenția chirurgicală. Recuperarea postoperatorie clinică a fost bună pentru toți pacienții. Niciun pacient nu a prezentat vreo reacție la materialul străin implantat sau vreo infecție în locul implantării. Rezultatele estetice interpretate în urma analizei cosmetice și pe imaginile de reconstrucție 3D, au fost satisfăcătoare pentru toți pacienții.

Măsurători radiologice

Procedurile de evaluare a osteoinducției și osteoformării la nivelul implantului au fost efectuate utilizând tehnica de tomodensitometrie punctuală, raportată la scala de densitate tisulară Hounsfield (HU). Pentru fiecare pacient în parte, au fost selectate trei regiuni de interes pe imaginile de fluoroscopie achiziționate. Regiunile au fost stabilite de la marginea meșei către centrul acesteia, respectiv margine, mijloc și centru (Fig. 5.12)

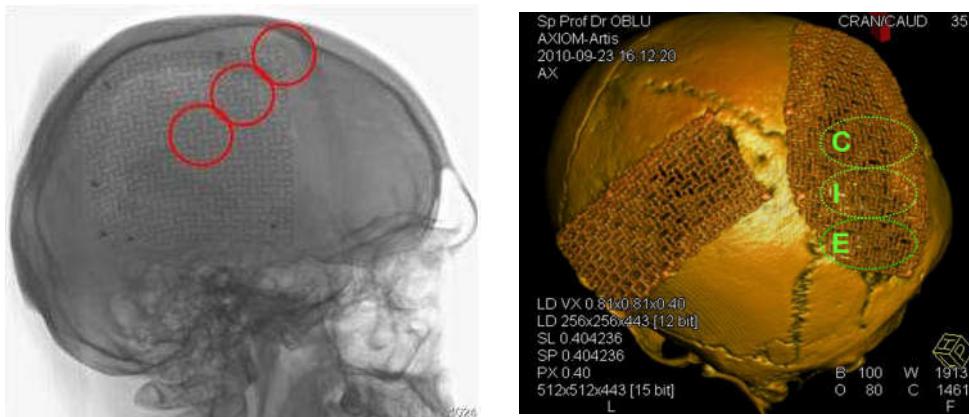


Figura 5.12 Ariile selecționate de monitorizare a osteinducției și osteointegrării meșei – implant: margine („edge”, E), mijloc („interjacent”, I) și centru („center”, C)

Pentru niciunul dintre cei 41 de pacienți nu s-a constatat la trei luni după intervenție schimbări în densitatea țesutului pe scala Hounsfield. În primele șase luni, la doi pacienți cu meșă de Ti simplă și la șase pacienți cu meșă de Ti cu suprafață bioactivă, au fost evidențiate modificări în evoluția fenomenelor de osteoinducție și osteointegrare. În cazul a doi pacienți care au beneficiat de reconstrucție craniană cu ajutorul meșei de Ti simple, au putut fi determinate modificări în densitatea țesutului pe scala Hounsfield numai în zonele marginale ale meșei (cele aflate în contact direct cu osul). Dintre cei șase pacienți cu reconstrucție craniană cu meșă de Ti cu suprafață biofuncționalizată, patru pacienți au prezentat modificări ale densității tisulare pe scala Hounsfield, atât pe marginea cât și în zona de mijloc a meșei. Niciunul dintre pacienți nu a prezentat astfel de modificări și în regiunea centrală a meșei.

Pentru grupul de pacienți care a beneficiat de meșă de Ti depusă cu HA prin PLD s-a înregistrat o valoare medie de 618 HU, în timp ce pentru grupul cu meșă de Ti simplă, valoarea a fost de numai 78 HU.

Capitolul 6

Concluzii

Principalele contribuții originale pe care se bazează această lucrare se pot sumariza după cum urmează.

Am utilizat tehnici laser pulsate avansate pentru a sintetiza acoperiri nanostructurate, aderente și conductoare, de oxizi metalici, BG sau CaP pentru aplicații biomedicale. Consider că principala contribuție pe care o aduc la dezvoltarea

cunoștințelor în domeniu constă în abordarea unor tematici de mare noutate, cu caracter interdisciplinar. În cele ce urmează, voi enumera principalele concluzii la care am ajuns în urma cercetărilor efectuate.

I. 1. Am folosit CPLD pentru a investiga proprietățile optice, compozitionale, morfologice și electrice ale sistemului $In_xZn_{1-x}O$ ($27 \leq x \leq 52$). Am depus două seturi de filme din ținte cu concentrații atomice de In diferite. Toate filmele au fost foarte transparente, cu o transmisie $> 95\%$. Rezultatele AFM au indicat o scădere a rugozității până la 1 nm odată cu creșterea conținutului de In. Analiza „bibliotecilor compozitionale” a evidențiat două valori minime ale rezistivității electrice de $2,3 \times 10^{-3} \Omega \cdot cm$ și $8,6 \times 10^{-4} \Omega \cdot cm$, care corespund unor concentrații atomice a In de (28,8 – 29,5)% și (44 – 49)%. Acest rezultat demonstrează potențialul tehnicii CPLD în optimizarea acoperirilor TCO.

2. Am sintetizat prin PLD filme subțiri de ZnO pe substrat textil, în vederea obținerii unor materiale adecvate aplicațiilor biomedicale, care să asigure protecție împotriva acțiunii fungice și a razelor UV. Am observat prin SEM filme netede care au acoperit în întregime fibrele textile. Analizele GIXRD au arătat că filmele ZnO au constat dintr-o fază hexagonală de tip wurtzit. Măsurările optice au evidențiat o creștere a reflectivității acoperirilor de ZnO, sugerând utilizarea ca straturi protectoare. Prin studiul CA și de udabilitate s-a observat un caracter superhidrofob al depunerilor ZnO. Investigațiile biologice au demonstrat inhibarea dezvoltării fungice pe textilele funcționalizate cu ZnO, ce posedă activitate antimicotică.

În studii complementare am folosit țesături textile impregnate cu hidrofobine (tip HBA și HBB). În acest caz, ZnO a format straturi continue și aderente pe suprafața textilei iar hidrofobinele au protejat în mod uniform întreaga structură. Tratamentul de funcționalizare nu a influențat în mod semnificativ permeabilitatea vaporilor de apă în materialul textil. După șapte zile, mucegaiul *Aspergillus Niger* s-a extins pe textilele netratate și respectiv acoperite cu ZnO-HBA, dar creșterea sa a fost inhibată de structura ZnO-HBB.

Am studiat comportamentul hidrofil/hidrofob al TF și NP de ZnO depuse pe substrat textil, în flux de O_2 sau vid. TF și NP și-au modificat comportamentul din

hidrofil, atunci când au fost depuse în flux de O₂, în superhidrofob (CA=157°), după depunerea în vid. Am explicat acestă modificare prin intermediul structurii cristaline a filmelor depuse. Aceste rezultate pot fi utile pentru producerea, într-un singur pas tehnologic, de textile impregnate cu puternică acțiune bactericidă și antimicotică.

II. 1. Am demonstrat versatilitatea tehnicii PLD în obținerea implanturilor neurochirurgicale din PMMA biofuncționalizate cu filme HA. Din punct de vedere biologic, regimul optim de depunere identificat s-a obținut pentru o fluență scăzută (1,4 J/cm²), presiune redusă de vapori de apă și un tratament termic post-depunere. Rezultatele testelor *in vitro* pe structurile HA/PMMA au arătat un comportament osteoinductiv cu potențial de aplicație în domeniul neurochirurgical.

2. Am efectuat studii comparative de filme HA de origine animală (ovină/bovină) dopate și HA pură de sinteză pentru a obține o nouă generație de acoperiri de implanturi metalice. Faza HA a fost prezentă în toate structurile depuse prin PLD. Filmele de origine animală erau carbonatare și conțineau Na, Mg, Cl și Si pe lângă ionii majoritari de Ca și P. Ele erau însă deficiente în Ca, fenomen asociat unei solubilități crescute. Am observat că aceste filme sunt mult mai aderente la substratul de Ti și mai rugoase (până la de două ori) în raport cu cele din HA de sinteză. Doparea cu metale sau sticle conferă o micro duritate sporită. Apreciez că aceste performanțe superioare vor asigura obținerea de acoperiri cu durate de osteointegrare mai scurte și osteoconductivitate substanțial îmbunătățită. Menționez că aceste materiale sunt ieftine și provin din surse regenerabile.

III. 1. Am depus prin PLD pe Ti filme din două tipuri de BG conținând 61% SiO₂ (BG61) și, respectiv, 57 % SiO₂ (BG57). Morfologia ambelor filme a fost uniformă și a constat din aglomerări continue de particule sferice, de dimensiuni micronice. Analiza EDS a relevat păstrarea stoichiometriei în filmele depuse, prin prezența cationilor constituENți ai BG. După imersare în SBF, filmele au prezentat un caracter bioactiv ca urmare a unor procese de dizolvare progresivă și aproape totală a BG (după șapte zile), simultan cu creșterea din fluidul biologic a unui strat de HA carbonată. Acest strat nou format cristalizează parțial și crește în timp, pe durata imersării în SBF. Comportamentul este mai accentuat pentru filmele BG57. Viabilitatea și proliferarea au fost superioare tot în cazul filmelor BG57, indicând un mediu mai "prietenos" pentru celule.

2. Am depus prin PLD HA pe implanuri 3D crano-spinale de Ti. Celulele crescute pe aceste structuri aderă intim la substrat, aşa cum s-a văzut din imaginile SEM. Citoscheletul celular nu suferă alterări prin aderare la Ti, cu care stabileşte numeroase puncte de contact. Viabilitatea celulară nu este diminuată iar biocompatibilitatea este conservată, ceea ce susține un potențial înalt de aplicabilitate al acestui tip de implanturi.

3. Am sintetizat prin PLD filme HA pe meşe chirurgicale de Ti. Microstructura filmelor depuse a fost densă, cu uniformitate redusă și constă din picături cu dimensiuni micronice. În XRD am observat o difractogramă a filmelor HA depuse pe meșele de Ti identică cu cea a materialului de bază. Studiile FT-IR au demonstrat prezența HA bine cristalizată. Cartografia EDS a evidențiat o bună omogenitate chimică, iar spectrul EDS a indicat o puritate avansată a filmului HA. Valorile măsurate ale aderenței au fost adecvate utilizării în acoperirea de implanturi metalice. Analiza SEM a demonstrat o interacțiune puternică a celulelor SaOs2 cultivate cu filmele HA. Acest comportament a conferit stabilitate celulelor care au prezentat valori ale viabilității și proliferării similare controlului. Au fost efectuate teste clinice *in vivo* de reconstrucție craniană cu meșe de Ti fixate cu ajutorul micro-șuruburilor. În cazul pacienților cu reconstrucție craniană cu meșă de Ti cu suprafața funcționalizată cu HA, s-au evidențiat modificări ale densității tisulare, atât pe marginea cât și în zona de mijloc a meșei. Nu s-au semnalat reacții adverse sau infecții iar rezultatele estetice au fost satisfăcătoare pentru toți pacienții.

Avizat,
Prof. Dr. Ion N. Mihailescu

ANEXA

A. Referințe bibliografice

- American Society for Testing and Materials [ASTM], F 1185-**03**: 514–515, 2009;
Bhushan B., Jung Y.C., Progress in Materials Science **56**, p. 1, 2011;
Chiriac A., Poeata I., Mihailescu I.N., Socol G., Duta L., Popescu A., Sima F., Miroiu M., Stan G.E., Petrescu S., Ianculescu A., patent submitted for aproval to OSIM, Bucharest, Romania, **A/01029**, 2010;
Chrisey D.B., Hubler G.K. (Ed.), Pulsed Laser Deposition of Thin Films, John Wiley & Sons Wiley-Interscience, 1st edition, New York, 1994;
Citeau A., Guicheux J., Vinatier C., Layrolle P., Nguyen T.P., Pilet P., Daculsi G., Biomaterials **26**, pp. 157–165, 2005;

- Cristescu R., Cojanu C., Popescu A., Grigorescu S., Duta L., Ionescu O.S., Mihaiescu D., Buruiana T., Andronie A., Stamatin I., Mihailescu I.N., Chrisey D.B., Applied Surface Science **255**, pag. 5605–5610, 2009a;
- Cristescu R., Cojanu C., Popescu A., Grigorescu S., Duta L., Mihailescu I.N., Caraene G., Albulescu R., Albulescu L., Andronie A., Stamatin I., Ionescu A., Mihaiescu D., Buruiana T., Chrisey D.B., Applied Surface Science **255**, pp. 5600–5604, 2009b;
- Ding S.J., Biomaterials **24**, pp. 4233–4238, 2003;
- Draft International Standards. Implants for surgery – Hydroxyapatite ceramic. Part 1 and 2. ISO/DIS, 13779, 1999;
- Dumitrescu I., Mocioiu A.M., Radulescu C., Popescu A.C., Dorcioman G., Duta L., Mihailescu I.N., Danciu M., Panzaru C., Surdu L., Proceedings of International Conference TEX TEH III, “Application of Nanotechnologies for Textiles”, pp. 28-33, 2010;
- Duta L., Socol G., Sima F., Mihailescu I.N., Stan G.E., Marcov D.A., Sima L.E., Petrescu S.M., Melinescu A., Ianculescu A., Chiriac A., Poeata I., Proceedings - 2nd Advanced Technologies for Enhanced Quality of Life, ATEQUAL, **5663611**, pp. 127-130, doi 10.1109/ATEQUAL.2010.27, 2010.
- Duta L., Popescu A.C., Dorcioman G., Mihailescu I.N., Stan G.E., Zgura I., Enculescu I., Dumitrescu I., chapter 20 in A. Vaseashta, E. Braman, P. Susmann (Eds.) “Technological Innovations in Sensing and Detection of Chemical, Biological, Radiological, Nuclear Threats and Ecological Terrorism”, NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology, Part 4, pp. 207-210, DOI: 10.1007/978-94-007-2488-4_20, 2012a;
- Duta L., Oktar F.N., Stan G.E., Popescu-Pelin G., Serban N., Luculescu C., Mihailescu I.N., Applied Surface Science, doi:10.1016/j.apsusc.2012.10.077, 2012b;
- Duta L., Dorcioman G., Popescu A.C., Mihailescu I.N. , Nita P., Mercioniu I., Birsan A., Bibicu I., Constantinescu S., Popescu-Pogriion N., Optoelectronics and Advanced Materials – Rapid Communications Vol. **6** (11-12), accepted manuscript, 2012c;
- Eason R. (Ed.), Pulsed Laser Deposition of thin films: applications-led growth of functional materials, Wiley & Sons, 2007;
- Elliott J.C., Elsevier, Amsterdam, 1994;
- Food and Drug Administration (F.D.A.), 1–14, 1997;
- Hench L.L., Anderson O., in: L.L. Hench, J. Wilson (Eds.), World Scientific Publishing Company, Singapore, pp. 41–62, 1993;
- Koinuma H., Takeuchi I., Nature Materials **3**, pp. 429-738, 2004;
- Lapsker I., Mirchin N., Gorodetsky U., Popescu S.A., Peled A., Duta L., Dorcioman G., Popescu A., Mihailescu I.N., Journal of Materials Science, **45** (23), pag. 6332-6338, aprilie 2010;
- Lopez E.S., Saiz E., Fujino S., Oku T., Suganuma K., Tomsia A.P., Journal of the European Ceramic Society **23**, pp. 2921–2930, 2003;

- Maris D.A., Maris M., Vasile E., Sarbu R., Maris M., Duta L., Dorcioman G., Mihailescu I.N., Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, **14**, No. 3-4, p. 433 – 438, March – April 2012;
- Mihailescu I.N., Gyorgy E., Pulsed Laser Deposition: An overview, in: International Trends in Optics and Photonics, T. Asakura (Ed.), Springer, Heidelberg, 1999;
- Mihailescu I.N., Torricelli P., Bigi A., Mayer I., Iliescu M., Werckmann J., Socol G., Miroiu F., Cuisinier F., Elkaim R., Hildebrand G., Applied Surface Science **248**, pp. 344–348, 2005;
- Mihailescu I.N., Ristoscu C., Bigi A., Mayer I., Advanced biomimetic implants based on nanostructured coatings synthesized by pulsed laser technologies, in: A. Miotello, M. Ossi (Eds.), Laser-Surface Interactions for New Materials Production, Tailoring Structure and Properties, Springer, New York, pp. 235–268, 2010;
- Mirchin N., Apter B., Lapsker I., Fogel V., Gorodetsky U., Popescu S.A., Peled A., Popescu-Pelin G., Dorcioman G., Duta L., Popescu A., Mihailescu I.N., Journal of Nanoscience and Nanotechnology, **12** (3), pp. 2668–2671, 2012;
- Mirchin N., Gankin M., Gorodetsky U., Popescu S.A., Lapsker I., Peled A., Duta L., Dorcioman G., Popescu A., Mihailescu I.N., Journal of Nanophotonics, **4**, 041760, 20 iulie 2010;
- Nelea V., Morosanu C., Iliescu M., Mihailescu I.N., Applied Surface Science **228**, pp. 346–356, 2004;
- Nelea V., Mihailescu I.N., Jelinek M., Biomaterials: New Issues and Breakthroughs for Biomedical Applications, Chapter 18 in: Pulsed Laser Deposition of thin films. Applications-Led Growth of Functional Materials, Ed. Robert Eason, Wiley, 2007;
- Popescu A.C., Sima F., Duta L., Popescu C., Mihailescu I.N., Capitanu D., Mustata R., Sima L.E., Petrescu S.M., Janackovic D., Applied Surface Science **255**, pp. 5486–5490, 2009;
- Popescu A.C., Duta L., Dorcioman G., Mihailescu I.N., Stan G.E., Pasuk I., Zgura I., Beica T., Enculescu I., Ianculescu A., Dumitrescu I., Journal of Applied Physics, **110** (6), 064321, doi:10.1063/1.3639297, 2011;
- Popescu S.A., Apter B., Mirchin N., Gorodetsky U., Lapsker I., Peled A., Duta L., Dorcioman G., Popescu A., Mihailescu I.N., Applied Physics A, **104** (3), pp. 997-1002, 2011;
- Roufosse A.H., Landis W.J., Sabine W.K., Glimcher M.J., Journal of Ultrastructural Research **68**, pp. 235–255, 1979;
- Sima L.E., Stan G.E., Morosanu C.O., Melinescu A., Ianculescu A., Melinte R., Neamtu J., Petrescu S.M., Journal of Biomedical Materials Research **95A**, pp. 1203-1214, 2010;
- Sima F., Ristoscu C., Stefan N., Dorcioman G., Mihailescu I.N., Sima L.E., Petrescu S.M., Palcevskis E., Krastins J., Zalite I., Applied Surface Science **255**, pp. 5312–5317, 2009;
- Socol G., Torricelli P., Bracci B., Iliescu M., Miroiu F., Bigi A., Werkmann J., Mihailescu I.N., Biomaterials **25**, pp. 2539–2545, 2004;
- Socol G., Macovei A.M., Miroiu F., Stefan N., Duta L., Dorcioman G., Mihailescu I.N., Petrescu S.M., Stan G.E., Marcov D.A., Chiriac A., Poeata I., Materials Science and Engineering B - Solid State Materials and Advanced Technology **169**, pp. 159–168, 2010;

- Socol G., Galca A.C., Luculescu C.R., Stanculescu A., Stefan N., Axente E., Duta L., Mihăilescu C.M., Craciun V., Craciun D., Sava V., Mihăilescu I.N., Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures **6** (1), pp. 107-115, 2011;
- Socol G., Socol M., Stefan N., Axente E., Popescu-Pelin G., Craciun D., L. Duta, C.N. Mihăilescu, I.N. Mihăilescu, A. Stanculescu, D. Visan, A.C. Galca, C.R. Luculescu, V. Craciun, doi:10.1016/j.apsusc.2012.02.148, **260**, pp. 42-46, Applied Surface Science, 2012;
- Spence G., Phillips S., Campion C., Brooks R., Rushton N., Journal of Bone and Joint Surgery, British Volume **90**, pp. 1635–1640, 2008;
- Suchanek W., Yoshimura M., Journal of Materials Research **13** (1), pp. 94–117, 1998;
- Vispute R.D., Naeayan J., Jagannadham K., Journal of Electronic Materials **25** (1), pp. 151–156, 1996;
- Wang S., Jiang L., Advanced Materials **19**, pp. 3423–3424, 2007;
- Williams D.F., The Williams dictionary of biomaterials, Liverpool University Press, 1999;
- Yuan H., De Groot K., NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry, Springer Netherlands **171**, pp. 37-57, 2005;
- Zeng H., W.R. Lacefield, Biomaterials **21**, pp. 23–30, 2000;

B. Lista de abrevieri

AFM – Microscopie cu Forță Atomică

AN – Aspergillus Niger

BG – Sticle bioactive

BHA:Li₂O – Hidroxiapatită de origine bovină dopată cu oxid de Litiu

BHA:CIG – Hidroxiapatită de origine bovină dopată cu sticlă comercială

C – Carbon

Ca – Calciu

CA – Unghi de contact

CaP – Fosfat de Calciu

CHA – Hidroxiapatită carbonatată

CPLD – Depunere Laser Pulsată Combinatorială

EDS – Spectroscopie cu Dispersie de Energie

FT-IR – Spectroscopie în InfraRoșu cu Transformata Fourier

GIXRD – Difracție de Raze X la Incidență Razantă

HA – Hidroxiapatită

HA_{syn} – Hidroxiapatită sintetică

HBA – Hidrofobină A

HBB – Hidrofobină B

HU – Unitate Hounsfield

IM – Microscopie Interferențială

In – Indiu

IZO – Oxid dublu de Indiu și Zinc

K₂O – Oxid de Potasiu

Mg – Magneziu

Na – Sodiu

NP – Nanoparticule

O₂ – Oxigen

P – Fosfor

PLD – Depunere Laser Pulsată

PMMA – Polimetilmetacrilat

RMS – Rugozitate Medie Pătratică

RT – Temperatura camerei

SBF – Fluide Fiziologice Simulate

SD – Deviație Standard

SE – Elipsometrie Spectroscopică

SEM – Microscopie Electronică de Baleaj

SHA – Hidroxiapatită de origine ovină

Si – Siliciu

SiO₂ – Dioxid de Siliciu

TF – Filme subțiri

Ti – Titaniu

UV – Ultra-Violet

VIS-NIR – Spectru Ultra-Violet - Vizibil

XRD – Difracție de Raze X

ZnO – Oxid de Zinc