

Rezumat pentru raport anual Program Nucleu (maxim 2 pagini format A4, Times New Roman 12, la un rand)

Titlu Faza: Studii coloidale ale hidroxiapatitei dopate cu argint și studii de citotoxicitate pe celule procariote.

Obiective:

Acest studiu s-a axat pe obținerea unor geluri de hidroxiapatita dopata cu argint (AgHAp). Stabilitatea gelurilor AgHAp sintetizate prin metoda sol-gel a fost evaluată prin intermediul studiilor coloidale. Din punct de vedere coloidal, gelurile au fost investigate prin măsurători cu ultrasunete, ceea ce reprezintă o nouă noutate în acest domeniu. Testele de biocompatibilitate au arătat că gelurile AgHAp nu prezintă nici o toxicitate față de celulele HeLa. Mai mult, studiul privind citotoxicitatea gelurilor AgHAp împotriva microorganismelor a subliniat faptul că acestea au prezentat un efect inhibitor asupra celulelor bacteriene *S. aureus* și, de asemenea, asupra celulelor fungice *C. albicans*.

Rezultate estimate inițial:

Rezultatele preconizate a fi atinse pentru realizarea obiectivului acestei faze sunt:

- obținerea unor soluții sub formă de geluri ceramice antimicrobiene AgHAp (hidroxiapatita dopată cu argint)
- evaluarea atenuării prin măsurători de ultrasunete
- determinarea stabilității soluțiilor
- corelarea stabilității particulelor cu atenuarea obținută din măsurătorile cu ultrasunete
- studii de citotoxicitate pe celule procariote

Prin studiile prezentate în acest raport s-au pus bazele obținerii unui material nou ce ar putea fi utilizat în diferite aplicații din domeniul medical.

Rezultate obținute (scurta descriere a celor mai importante rezultate, cu 1-2 imagini/grafice de impact care susțin rezultatele):

Măsurătorile cu ultrasunete ne-au permis să obținem informații privind stabilitatea gelurilor rezultate AgHAp-S1 și AgHAp-S2. Scopul a fost de a înregistra cinci ecouri pentru fiecare eșantion, indiferent de gradul de atenuare. Examinarea s-a concentrat asupra celui de-al doilea ecou, deoarece primul ecou este prea puternic. Același al doilea ecou a fost selectat pentru fiecare dintre cele două probe AgHAp-S1 și AgHAp-S2 rezultate. Același cel de-al doilea ecou înregistrat pentru fiecare din cele două probe este prezentat în Figura 1. Axa ce reprezintă momentele de înregistrare este diferită pentru cele două eșantioane, de la 300 s (AgHAp-S1) la 1600 (AgHAp-S2). Fiecare eșantion indică o perioadă de precipitații în vrac, în timpul căreia amplitudinile semnalului se schimbă lent și liniar. Apare apoi o perioadă de tranziție relativ rapidă, în timpul căreia suprafața de separare dintre suspensia precipitantă și solvent, trece în fața traductoarelor. Ultima perioadă reprezintă evoluția lentă asimptotică față de solventul pur. Variația amplitudinii semnalului în prima perioadă nu este identică pentru cele două eșantioane (Figura 4). Proba AgHAp-S1 prezintă o creștere liniară a amplitudinii în decurs de 100 de secunde (Figura 4a). Proba AgHAp-S2 a prezentat o scădere liniară a amplitudinilor în prima perioadă. Proba AgHAp-S2 are

o scădere rapidă a amplitudinii în timpul perioadei de tranziție, urmată de o creștere lentă (mai mult de 400 s) a amplitudinii către starea stabilă.

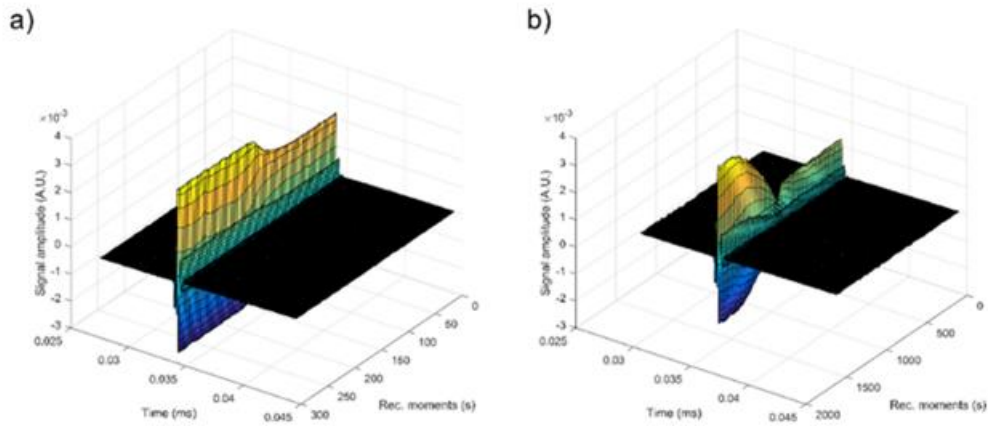


Figura 1: Acelasi al 2-lea ecou selectat pentru investigatie pentru probele AgHAp-S1(a) si AgHAp-S2 (b).

Acest fenomen este explicat printr-o posibilă concentrație a particulelor în fața suprafeței de separare, cuplată cu o variație semnificativă a vitezei undei acustice, de la valoarea vitezei în suspensie la valoarea în solvent. Rezultatele obținute în acest studiu prin tehnica cu ultrasunete privind stabilitatea gelului au arătat că amplitudinile au o variație liniară a amplitudinii semnalului în timp, în timpul primei etape și viteza undelor ultrasonice nu este monotonă cu creșterea concentrației de suspensie. Mai mult, durata primei perioade este un bun indicator al stabilității suspensiei. Pentru gelurile analizate, atât parametrul de stabilitate cât și durata primei perioade au furnizat informații relevante privind stabilitatea soluțiilor. În comparație cu metodele propuse în studiile anterioare [1-5] care măsoară atenuarea ultrasonică cvasi-statică, am propus utilizarea unui parametru de stabilitate care să surprindă comportamentul dinamic al suspensiei. Nu există o procedură standard, nici un dispozitiv dedicat, ci o cercetare în curs de desfășurare, cu rezultate promițătoare. Stabilirea stabilității gelurilor obținute prin tehnica cu ultrasunete este foarte importantă deoarece diluțiile necesare pentru utilizarea metodei tradiționale de potențial ζ pot duce la distrugerea agregatelor și la modificarea mediului de suspensie [6].

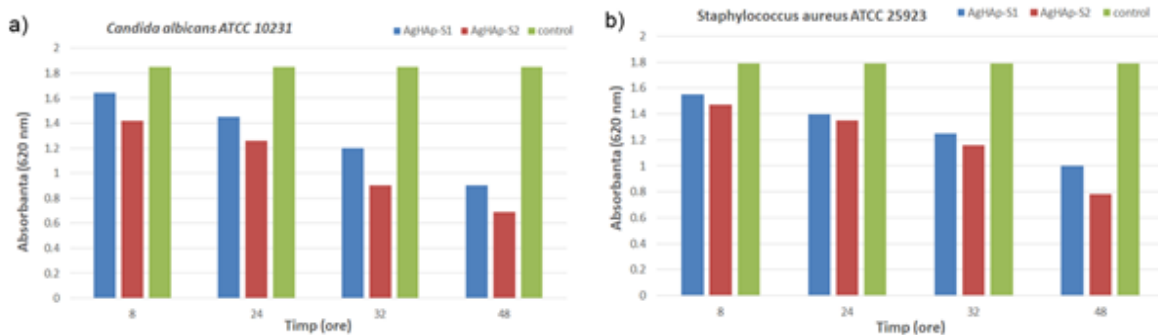


Figura 2: Teste de viabilitate celulara. a) dezvoltarea celulelor *Candida albicans* ATCC 10231 timp de 8, 24, 32 si 48 de ore in prezenta solutiilor AgHAp; b) dezvoltarea celulelor *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 timp de 8, 24, 32 si 48 de ore in prezenta solutiilor AgHAp.

Activitatea antimicrobiana a solutiilor AgHAp-S1 si AgHAp-S2 a fost evaluata prin studierea viabilitatii celulare a doua tulpini microbiene semnificative in prezenta probelor de hidroxiapatita dopata cu argint. Tulpinile microbiene alese pentru experimente sunt unele dintre cele mai frecvente microorganisme responsabile pentru infectiile prezente in viata de zi cu zi. Efectul solutiilor de AgHAp-S1 si AgHAp-S2 asupra dezvoltarii celulare a tulpinilor microbiene de *C. albicans* si *S. aureus* sunt prezentate in Figura 2.

Concluzii si perspective:

Solutii stabile de hidroxiapatita dopata cu argint au fost obtinute prin metoda sol-gel. Stabilitatea solutiilor de AgHAp a fost studiata prin masuratori de ultrasunete fara a fi necesara o dilitie prealabila. Mai mult decat atat, proprietatile antimicrobiene ale AgHAp-S1 si AgHAp-S2 au fost evaluate *in vitro* utilizand doua dintre cele mai comune tulpini microbiene, *C. albicans* si *S. aureus*. Rezultatele obtinute din studiile bazate pe masuratori cu ultrasunete au evidentiat stabilitatea suspensiilor concentrate de AgHAp. Evaluarea *in vitro* a activitatii antimicrobiene a solutiilor AgHAp au indicat ca ambele probe au inhibat dezvoltarea celulelor fungice de *C. albicans* si a celulelor bacteriene *S. aureus*. Testele de citotoxicitate împotriva celulelor microbiene au arătat AgHAp-S2 a prezentat o toxicitate mai puternică față de dezvoltarea celulelor atât pentru celulele bacteriene *S. aureus*, cât și pentru celulele fungice *C. albicans*. Rezultatele acestui studiu au aratat ca solutiile de hidroxiapatita dopate cu argint prezintă proprietăți antimicrobiene puternice si ar putea fi utilizate în dezvoltarea de agenti antimicrobieni cu proprietăți biocompatibile. Prin realizarea acestor obiective majore In viitor se vor incerca utilizarea acestor suspensii stabile cu proprietati antimicrobiene in realizarea de straturi acoperitoare c ear putea fi utilizate in industria medicala pentru acoperirea unor proteze utile in ortopedie si stomatologie si care ar putea contribui la scaderea riscului de infectii postoperatorii.

Bibliografie

1. Povey, M.J.W. Ultrasound particle sizing: A review, *Particuology*, **2013**, *11*, 135–147.
2. Stoch, A.; Jastrzebski, W.; Długon, E.; Lejda, W.; Trybalska, B.; Stoch, G.J.; Adamczyk, A. Sol-gel derived hydroxyapatite coatings on titanium and its alloy Ti6Al4V. *J. Molec. Struct.* **2005**, *744*, 633–640.
3. Zreiqata, H.; Valenzuelab, S.M.; Nissanc, B.B.; Roestc, R.; Knabed, C.; Radlanskid,R.J.; Renzd,H.; Evanse,P.J. The effect of surface chemistry modification of titanium alloy on signalling pathways in human osteoblasts. *Biomaterials* **2005**, *26*, 7579–7586.
4. Himratul-Aznita, W.H.; Mohd-Al-Faisal, N.; Fathilah, A.R. Determination of the percentage inhibition of diameter growth (PIDG) of Piper betle crude aqueous extract against oral Candida species. *J. Med. Plants Res.* **2011**, *5*, 878-884.
5. Cavalcanti, Y.W.; Wilson, M.; Lewis, M.; Del-Bel-Cury, A.A.; da Silva, W.J.; Williams, D.W. Modulation of Candida albicans virulence by bacterial biofilms on titanium surfaces. *Biofouling*, **2016**, *32*, 123–134 doi.org/10.1080/08927014.2015.1125472.
6. Franci, G.; Falanga, A.; Galdiero, S.; Palomba, L.; Rai, M.; Morelli, G.; Galdiero, M. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules* **2015**, *20*, 8856–8874.

Responsabili: Dr. D. Predoi, Dr. S.L. Iconaru