Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București

Școala Doctorală a Facultății de Inginerie Chimică și Biotehnologii

Teză de doctorat

Hidrogeluri cu componente bioactive și nanostructurate pentru regenerare osoasă personalizată

- Rezumat extins -

Autor:
Ing. Carmen-Valentina NICOLAE

Conducător de doctorat:
Prof. Dr. Ing. Izabela-Cristina STANCU

Comisie

Președinte	**Prof. dr. ing. Ileana RĂU**	de la	**Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București**
Conducător de doctorat	**Prof. dr. ing. Izabela-Cristina STANCU**	de la	**Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București**
Referent	**Prof. dr. ing. Georgeta VOICU**	de la	**Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București**
Referent	**Conf. dr. Sorina DINESCU**	de la	**Universitatea din București**
Referent	**CS II dr. Valentin-Victor JERCA**	de la	**Institutul de Chimie Organică și Supramoleculară „Costin D. Nenițescu”** **Academia Română**

2025

Cuprins

Listă figuri și tabele 2
Rezumat 7
1. Context și fundamente teoretice 7
1.1. Introducere 7
1.2. Hidrogeluri utilizate în regenerarea osoasă 8
1.3. Nanoparticule și compuși bioactivi pentru funcționalizarea hidrogelurilor 9
1.4. Ranforsarea hidrogelurilor cu componente nanofibrilare 11
2. Obiective generale și specifice 13
3. Contribuții originale 14
4. Concluzii generale 17
5. Diseminarea rezultatelor 18
6. Bibliografie selectivă 20

Listă figuri și tabele

Capitolul 1. Introducere și studiu critic al datelor de literatură

Figura 1.1. Diagrama schematică a procesului de proiectare a scaffoldurilor personalizate, de la diagnosticare până la implantare.

Figura 1.2. Sinteza GelMA prin reacția de acilare a gelatinei cu anhidrida metacrilică. Condițiile de reacție corespund protocolului adaptat din Zhu și colab. [1], folosind tampon carbonat-bicarbonat (CB) pentru dizolvarea gelatinei și o temperatură de 55°C pentru reacția de metacrilare.

Tabelul 1.1. Hidrogeluri pe bază de GelMA destinate regenerării țesutului osos

Figura 1.3. Structura chimică a alginatului, compusă din reziduuri repetitive sau alternante de acid guluronic (G) și mannuronic (M). Reprodusă din [55] sub licență CC BY.

Tabelul 1.2. Hidrogeluri pe bază de alginat destinate regenerării țesutului osos.

Figura 1.4. Structura chimică a gumei gellan (GG). Reprodusă din [96] sub licență CC BY.

Tabelul 1.3. Hidrogeluri pe bază de GG destinate regenerării țesutului osos.

Figura 1.5. Caracterizare morfologică și structurală a particulelor de ND. Reprezentare schematică a a) unei particule de ND cu dimensiuni de aproximativ 5 nm, respectiv a b) agregatelor auto asamblate de ND cu dimensiuni intre 50-200 nm, adaptate din [121] cu permisiune. Imagini de microscopie electronică prin transmisie de înaltă rezoluție (HR-TEM) ale c) particulelor de ND utilizate în această teză și ale d) agregatelor formate, e) difracție de electroni pe arie selectată (eng. selected area electron diffraction, SAED). Imaginile c-e reprezintă rezultate originale obținute în cadrul acestei teze și sunt discutate în detaliu în Capitolul 5.

Figura 1.6. Caracterizarea morfologică și structurală a particulelor de MgHA cu morfologie aciculară. a, b) Reprezentări schematice ale particulelor de MgHA, cu dimensiuni de aproximativ 200 nm și diametre de 50 nm, reproduse din [142] sub licență CC-BY. Micrografii HR-TEM evidențiind c) rețeaua cristalină a MgHA aciculară și d) morfologia lor, alături de e) tiparul specific SAED. Imaginile c-e reprezintă rezultate originale obținute în cadrul acestei teze și sunt discutate în detaliu în Capitolul 5.

Figura 1.7. Structura chimică a icariinei (ICA). Adaptată din [161] sub licență CC-BY.

Tabelul 1.4. Exemple de materiale termoplastice utilizate în MEW și parametrii de procesare raportați.

Capitolul 2. Dezvoltarea de hidrogeluri pe bază de GelMA încărcate cu componente bioactive din Aloe Vera ca potențiale biomateriale pentru regenerarea țesutului osos

Figura 2.1. Procesarea frunzelor de Aloe Vera Barbadensis Miller pentru extracția gelului de AV și ACE.

Figura 2.2. Reprezentarea schematică a a) sintezei de GelMA și a b) formării de hidrogelurilor pe bază de GelMA și compuși AV prin fotopolimerizare.

Figura 2.3. Spectre ATR-FTIR reprezentative pentru compușii de Aloe vera (AV): pulbere comercială de AV (AV-P), gel de AV extras și liofilizat (AV-L) și acemannan (ACE); săgețile indică vibrația de întindere a legăturii C=O prezentă în compușii de AV.

Figura 2.4. Fracția de gel în probele de hidrogel, indicând eficiența de reticulare în procesul de formare a rețelei (**p = 0.001, ns - diferență nesemnificativă statistic).

Figura 2.5. Comportament reologic reprezentativ al a) precursorilor de hidrogel și al hidrogelurilor compozite: b) GelMA/AV-C, c) GelMA/AV-P, d) GelMA/AV-L.

Figura 2.6. Caracteristicile compoziționale ale GelMA și ale hidrogelurilor dezvoltate: hidrogel încărcat cu pulbere comercială de AV (GelMA/AV-P), hidrogel încărcat cu gel de AV liofilizat (GelMA/AV-L) și hidrogel GelMA martor (GelMA/AV-C). Săgețile indică semnale caracteristice pentru GelMA (suprapunerea vibrațiilor de întindere O-H și N-H la 3523 cm^{-1}, vibrația de întindere C-H din inelele aromatice la 3075 cm^{-1}) și pentru compușii de AV (legătura C=O din monomerii de carbohidrați la 1798 cm^{-1}).

Figura 2.7. Efectele antibacteriene ale hidrogelurilor încărcate cu AV, ilustrând zonele de inhibiție pentru martor (GelMA/AV-C), proba încărcată cu pulbere (GelMA/AV-P) și proba încărcată cu gel liofilizat (GelMA/AV-L).

Capitolul 3. Ranforsarea hidrogelurilor subțiri cu elemente fabricate prin melt electrowriting (MEW), cu potențial în reconstrucția suprafețelor osoase

Figura 3.1. Conceptul propus pentru utilizarea scaffoldurilor subțiri, multistrat, cu componente de hidrogel ranforsate cu plase din PCL, pentru regenerarea suprafețelor osteonecrotice.

Figura 3.2. Parametrii structurali ai plaselor fabricate prin MEW: a) dimensiunile elementelor ranforsante, b) dimensiunile celulelor formate prin depunerea straturilor succesive de material cu un unghi de 90º între straturile succesive de material, c) designurile BioCAD™ corespunzătoare densităților de rețea dorite, d) imagine de microscopie optică din timpul procesului de MEW, evidențiind depunerea fibrelor (mărire 20×).

Tabelul 3.1. Factori de influență în procesul de MEW.

Tabelul 3.2. Testele experimentale cuprinse în modelul de design explorat.

Figura 3.3. Micrografii optice reprezentative ale rezultatelor obținute pentru rundele experimentale propuse, ilustrând stabilitatea sistemelor testate. O lățime mai redusă a filamentului indică un proces MEW stabil, în timp ce procesele instabile generează filamente cu lățimi mai mari. Testele 5 și 6 nu au condus la depunerea de fibre pe colector.

Tabelul 3.3. Rezultatele analizei de varianță (ANOVA) pentru modelul experimental selectat.

Figura 3.4. Grafice 3D de suprafață care ilustrează influența interacțiunilor dintre factorii de influență selectați asupra lățimii filamentului scaffoldurilor fabricate prin MEW: a) distanța și tensiunea, b) distanța și presiunea, c) tensiunea și presiunea.

Figura 3.5. a) Tensiunea maximă a elementelor de ranforsare din PCL cu morfologie fibroasă întreținută și aliniată (**$p < 0.002$), b) Modulul Young la 1% deformare (*$p < 0.04$), c) Curbe efort deformare pentru rețele fibroase întreținute și aliniate, cu dimensiuni ale celulei de 250 μm, 500 μm, 750 μm și 1000 μm.

Figura 3.6. Imagini reprezentative de microtomografie computerizată (stânga) și microscopie optică (dreapta) ale rețelelor cu dimensiuni ale celulei de a) 1000 μm, b) 750 μm, c) 500 μm și d) 250 μm. Etapele de deformare la care au fost supuse probele sunt indicate pentru fiecare eșantion (0 mm, 0.5 mm, 1 mm și 1.5 mm). Săgețile albe indică punctele de rupere și de întindere ale filamentelor.

Tabelul 3.4. Analiză dimensională ce reflectă raportul suprafață-volum al probelor cu densități de rețea diferite, investigat pe un volum de interes de 180 mm^3.

Tabelul 3.5. Valori ale unghiului de contact obținute pentru probe de PCL tratate în plasmă la diferite valori ale puterii de descărcare.

Figura 3.7. Modificările de suprafață induse asupra PCL tratarea în plasmă cu CO_2 la presiune joasă, utilizând o putere de descărcare de 10%, evaluate prin a) măsurători ale unghiului de contact și b) SEM (micrografii reprezentative ale filamentelor multifibrilare întrețesute, înainte și după tratamentul cu plasmă).

Figura 3.8. a) Imagini reprezentative ale scaffoldurilor compozite subțiri fabricate prin turnare în cutii Petri de mici dimensiuni, utilizând GelMA/CA (HG) și plase din PCL tratate în plasmă, cu dimensiuni ale celulei de 250 μm, 500 μm, 750 μm și 1000 μm. Scaffoldurile au diametrul de 20 mm și înălțimea de 1 mm; b) imagini SEM ale scaffoldurilor de hidrogel ranforsate și uscate; c) comportamentul la gonflare al scaffoldurilor ranforsate cu plase din PCL cu densități variate, încorporate în matricea de hidrogel, incluzând imagini reprezentative ale hidrogelurilor ranforsate.

Figura 3.9. Imagini reprezentative obținute prin microscopie digitală și optică ale a) hidrogelului martor și ale scaffoldurilor compozite ranforsate cu elemente MEW cu densități diferite: b) 250 μm, c) 500 μm, d) 750 μm și e) 1000 μm.

Capitolul 4. Fabricarea de scaffolduri pe bază de gumă gellan (GG) ranforsate cu NP de diamant (ND) și bioactivate cu icariină (ICA)

Figura 4.1. Prepararea și formarea filamentelor din cernelurile GG_ND: a) reprezentare schematică a procesului de preparare a formulărilor nanostructurate, b) compoziția celor cinci formulări cu concentrații reduse de ND (0 - 3% w/v), c) fotografii reprezentative din timpul testului de formare a filamentului.

Figura 4.2. Caracterizarea reologică și modelarea matematică a comportamentului formulărilor GG_ND: a) viscozitatea în funcție de viteza de forfecare; b) test de tixotropie în trei intervale (3ITT); c) modelarea matematică a datelor reologice experimentale pe modelele Power law și Carreau pentru fiecare compoziție; d) parametrii obținuți pentru cele două modele matematice.

Figura 4.3. Simulări CFD (computational fluid dynamics) pentru formulările GG_ND: a) distribuția vitezei de forfecare și b) tensiunea de forfecare la perete în interiorul cartușului și al acului, c) gradientul de presiune și d) profilul viscozității dinamice de-a lungul acului.

Figura 4.4. Efectele structurale și mecanice ale încărcării cu ND în scaffoldurile pe bază de GG: a) reprezentare schematică a compozițiilor GG (violet) și ND (gri), cu concentrații crescătoare de ND; b) micrografii SEM reprezentative ale scaffoldurilor uscate, c) fracția ariei porilor (%) și d) ariei medii a porilor (μm^2) (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$); (e-g) reconstrucții μCT ale scaffoldurilor hidratate e) înainte de compresie și f) după compresie uniaxială până la 40% deformare; g) suprapunere evidențiind regiunile deformate; h-i) măsurători reologice oscilatorii variind h) amplitudinea și i) frecvența oscilațiilor; j) modulul de compresie al scaffoldurilor hidratate (****$p < 0.0001$).

Figura 4.5. Investigarea in vitro a biocompatibilității în funcție de conținutul de ND încărcat în scaffoldurile din GG: a) evaluarea activității metabolice a celulelor MC3T3-E1 utilizând testul MTT; b) determinarea citotoxicității prin testul LDH (* $p < 0.05$, *** $p < 0.005$); testul Live/Dead indicând celulele vii (reprezentate cu verde) și moarte (colorate în roșu) aflate în contact cu scaffoldurile GG_ND după c) 1 zi și d) 7 zile de cultură in vitro; e) distribuția 3D a celulelor după 7 zile de cultură.

Figura 4.6. Influența conținutului de ND asupra rigidității locale și adeziunii preosteoblastelor MC3T3-E1: a) modulul local de stocare măsurat prin nanoindentare pe scaffoldurile hidratate încărcate cu concentrații crescătoare de ND; b) imagini reprezentative de microscopie de fluorescență ale celulelor MC3T3-E1 după 48 h de cultură, colorate cu faloidină-FITC (filamente de actină, colorate în verde) și Hoechst 33342 (nucleii celulari, colorați în albastru) (*$p < 0.05$); c) cuantificarea ariei celulare și d) intensitatea fluorescenței filamentelor de actină; e) corelația între aria celulară și valorile maxime înregistrate local pentru modulul de stocare.

Figura 4.7. Spectre ATR-FTIR ilustrând caracteristicile compoziționale ale materiilor prime (GG, ND, ICA) și ale formulărilor selectate (GG_ND2%, GG_ICA și GG_ND2%_ICA). Săgețile portocalii indică vibrațiile de întindere O-H în componența ICA (3262 cm-1) și în GG_ND2%_ICA (deplasate la 3344 cm-1); săgețile albastre marchează vibrațiile de întindere cetonică C=O ale ICA și prezența lor conservată în GG_ICA și GG_ND2%_ICA; săgețile roșii corespund vibrației C-O-C observate atât în ICA, cât și în GG_ND2%_ICA.

Figura 4.8. Efectul funcționalizării cu ICA asupra viabilității și mineralizării de suprafață a scaffoldurilor GG_ND2%: a,b) cuantificarea viabilității și activității metabolice a celulelor MG-63 cultivate pe scaffoldurile GG_ND2%, GG_ICA și GG_ND2%_ICA, evidențiind a) intensitatea fluorescenței obținute prin marcarea Live/Dead în zilele 1 și 7; b) variația relativă a activității metabolice la ziua 7 comparativ cu ziua 1; c,d) marcarea Live/Dead a celulelor MG-63 cultivate pe scaffolduri după c) 1 zi și d) 7 zile de cultură in vitro; e,f) imagini SEM reprezentative ale suprafeței scaffoldurilor după e) 1 zi și f) 7 zile de cultură.

Capitolul 5. Dezvoltarea de formulări multicomponente încărcate cu NP, destinate bioprintării de constructe cu proprietăți osteoinductive

Tabelul 5.1. Sinteza formulărilor multicomponente dezvoltate.

Figura 5.1. Reprezentare schematică a procesului de preparare a formulării compozite G4, bioprintării 3D și formării hidrogelului prin fotoinițiere post-printare.

Figura 5.2. Caracterizarea reologică a precursorilor de hidrogel. a) Viscozitatea formulărilor de hidrogel în funcție de temperatură, măsurată între 20 și 40°C; b) dependența viscozității de viteza de forfecare aplicată; c) curbele de recuperare tixotropică a viscozității la viteze de forfecare joase și ridicate.

Tabelul 5.2. Coeficienți obținuți pentru modelele matematice explorate, pe diferite intervaluri de viteze de forfecare.

Figura 5.3. Date experimentale și ajustările la modelele Power law și Carreau pentru formulările G1-G4 la 26°C: a) interval complet de viteze de forfecare (0-100 s^{-1}), b) regiunea de forfecare redusă și c) regiunea de forfecare ridicată. Datele experimentale (puncte albastre) au fost comparate cu ajustările modelului Power law (linii roșii) și Carreau (linii albastre).

Figura 5.4. Simulări de dinamica fluidelor computațională (CFD), ilustrând condițiile induse de-a lungul acului și cartușului în timpul printării prin extrudare a formulărilor dezvoltate, incluzând a) distribuția vitezei de forfecare, b) distribuția tensiunii de forfecare, c) profilurile de presiune și d) variațiile viscozității dinamice.

Figura 5.5. Spectre ATR-FTIR ale a) componentelor individuale și b) formulărilor injectabile dezvoltate.

Figura 5.6. Caracterizarea morfologică, structurală și la scară nanometrică a scaffoldurilor compozite: a) imagini de stereomicroscopie ale scaffoldurilor cu patru straturi imediat după fabricare; b) imagini digitale ale structurilor printate (cilindri și conuri); c) indicele de printabilitate (Pr) și indicele de extindere al filamentului (Sr) al scaffoldurilor fabricate (***$p < 0.001$, ****$p < 0.0001$); d) imagini HRTEM ale ND și MgHA, cu inserții reprezentând tiparele SAED corespunzătoare. Liniile întrerupte evidențiază NP individuale; e) imagini HRSEM (mărire 40 000×) ale suprafeței scaffoldurilor, evidențiind distribuția NP în matrice. Săgețile galbene indică aglomerate de ND, iar săgețile albastre evidențiază agregatele de MgHA în cadrul matricei polimerice.

Figura 5.7. Micrografii HRSEM ale structurilor bioprintate, prezentând detalii ale morfologiei de suprafață. Casetele punctate galbene din imaginile la mărire mai mică indică regiunile afișate la mărire mai mare (dreapta).

Figura 5.8. Mapări elementare EDX ale scaffoldurilor bioprintate (G1-G4). Sunt prezentate suprapunerile și canalele individuale pentru carbon (C), oxigen (O), calciu (Ca) și fosfor (P). Distribuția elementelor evidențiază matricea organică (C/O) în G1 și G2, asocierea Ca/P cu MgHA în G3 și zonele eterogene de co-localizare a ND și MgHA în G4.

Figura 5.9. Proprietăți mecanice globale și nanolicalizate ale hidrogelurilor: măsurători reologice oscilatorii ale G' și G'' în funcție de a) amplitudinea și b) frecvența oscilațiilor; c) proprietăți nanomecanice locale ale scaffoldurilor printate și rehidratate (n = 5).

Figura 5.10. Stabilitatea dimensională și modificările morfologice ale scaffoldurilor printate după 8 h de incubare in CM la 37°C: a) imagini reprezentative ale scaffoldurilor pre- și post-incubare, evidențiind conservarea structurii de tip grilă; b) variațiile ariei porilor, ale lățimii filamentelor și ale dimensiunilor (lățime și lungime) scaffoldurilor printate după incubare, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0,001, ****p<0,0001; c) micrografii SEM ilustrând morfologia scaffoldurilor post-incubare.

Figura 5.11. Degradarea și deformarea scaffoldurilor bioprintate pe parcursul a 21 de zile: d) masa remanentă și modificările e) ariei porilor și f) lățimii filamentelor în intervalul ziua 1 - ziua 21. *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, **p < 0.0001.

Figura 5.12. Extinderea și proliferarea celulelor MG-63 bioprintate: a) marcarea LIVE/DEAD a celulelor bioprintate pe diferite scaffolduri la zilele 1 și 7, b) morfologia citoscheletului celulelor bioprintate (F-actina și nucleii celulari sunt marcate cu verde, respectiv albastru), c) activitatea metabolică a celulelor bioprintate, exprimată prin intensitatea fluorescenței (a.u.)). *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001.

Rezumat

1. Context și fundamente teoretice

1.1. Introducere

Defectele osoase de dimensiuni critice reprezintă o problemă majoră în practica ortopedică și în chirurgia reconstructivă, depășind capacitatea intrinsecă de regenerare a țesutului osos. **Etiologia** acestora este variată, incluzând traumatisme severe, rezecții tumorale osoase, malformații congenitale sau afecțiuni degenerative precum osteonecroza. În lipsa unor soluții eficiente, aceste leziuni conduc la **pierderea funcționalității segmentului osos** afectat, limitarea mobilității și **reducerea calității vieții pacienților**. În plus, dincolo de provocările clinice și terapeutice complexe, managementul defectelor osoase generează un **impact socio-economic semnificativ** la nivelul sistemelor de sănătate [2].

Abordările terapeutice convenționale prezintă numeroase **limitări**. Deși autografele sunt frecvent utilizate datorită proprietăților lor osteogenice, osteoconductive și osteoinductive, acestea sunt limitate de morbiditatea la locul de recoltare, disponibilitatea redusă a țesutului pentru transplant, timpul operator prelungit și posibilele complicații chirurgicale, conducând la un disconfort crescut pentru pacient [3]. Alografele pot genera reacții imunologice sau infecțioase, iar xenografele oferă adesea o integrare deficitară și pot genera reacții de corp străin. Astfel, performanța lor pe termen lung rămâne deficitară, în special în cazurile cu morfologie anatomică complexă sau medii biologice compromise.

Astfel, în cazul defectelor osoase de dimensiuni critice, definite drept cele mai mici defecte care nu pot fi reparate prin regenerare osoasă naturală, intervenția chirurgicală și utilizarea structurilor pe bază de biomateriale este indispensabilă pentru restaurarea integrității structurale și funcționale ale zonei afectate [4].

În acest context, **ingineria tisulară osoasă** oferă o alternativă promițătoare, prin dezvoltarea de **scaffolduri bioactive**, ce pot fi încărcate cu celule și factori biochimici, capabile să ghideze regenerarea tisulară. Un astfel de construct destinat regenerării osoase trebuie să îndeplinească simultan cerințe complexe: să ofere suport mecanic adecvat, să prezinte o porozitate și un grad de hidratare ridicat, care să permită migrarea celulară și vascularizarea și să furnizeze semnale biologice necesare osteogenezei și remodelării tisulare. În mod ideal, aceste structuri suport oferă sprijin structural, ghidează diferențierea celulară osteogenă,

favorizează vascularizarea și prezintă o rată de degradare sincronizată cu rata de formare a noului țesut osos.

Complexitatea defectelor osoase și diversitatea situațiilor clinice impun **dezvoltarea unor soluții adaptate pacientului**. În cazul reconstrucțiilor craniofaciale, al defectelor segmentare post-rezecții tumorale sau al osteonecrozei capului femural, implanturile standardizate nu pot oferi o restaurare anatomică și funcțională satisfăcătoare.

Progresele în imagistica medicală, modelarea tridimensională și tehnologiile de fabricare aditivă au deschis posibilitatea proiectării și realizării de implanturi personalizate. Beneficiile implanturilor personalizate pentru BTE, concepute să corespundă formei și dimensiunilor defectului, includ reducerea necesității modificărilor intraoperatorii (de pildă, extirparea de material osos sănătos pentru a asigura compatibilitatea zonei afectate cu geometria unui implant metalic de serie), scurtarea timpului operator și limitarea pierderilor sanguine, diminuarea riscului de apariție a complicațiilor și integrarea biologică îmbunătățită [5, 6].

1.2. Hidrogeluri utilizate în regenerarea osoasă

Hidrogelurile reprezintă una dintre cele mai studiate clase de biomateriale pentru aplicații regenerative, datorită asemănărilor structurale și funcționale cu matricea extracelulară naturală (ECM). Acestea sunt alcătuite din **rețele polimerice tridimensionale** capabile să rețină cantități mari de apă, asigurând permeabilitate pentru nutrienți și metaboliți și un micromediu propice adeziunii și proliferării celulare.

Prin ajustarea gradului de reticulare și a compoziției lor, proprietățile mecanice, rata de degradare și stabilitatea hidrogelurilor pot fi controlate pentru aplicații specifice. Cu toate acestea, hidrogelurile simple prezintă o rezistență mecanică insuficientă pentru defecte osoase mari sau localizate în regiuni supuse solicitărilor mecanice pronunțate, alături de proprietăți osteoinductive limitate. În consecință, este evidențiată necesitatea unor soluții bazate pe **ranforsare nanostructurată** și **funcționalizare cu diferiți agenți bioactivi**, care să combine avantajele structurale cu efectele biologice dorite pentru crearea unor constructe eficiente, destinate regenerării țesutului osos.

Pe baza proprietăților menționate anterior și a compatibilității cu metodele moderne de procesare, au fost selectați mai mulți polimeri ca materiale de bază pentru dezvoltarea de cu potențial în regenerarea osoasă, incluzând **gelatina metacril(amid)ată (GelMA), alginatul**

(Alg) și guma gellan (GG), aleși pentru biocompatibilitatea lor, gelifierea ajustabilă și adaptabilitatea la metode de fabricare avansate, precum turnarea în matriță, printarea 3D prin extrudare și bioprintarea.

- **GelMA**

GelMA este un derivat fotoreticulabil al gelatinei, care păstrează secvențe bioactive favorabile adeziunii celulare și permite ajustarea proprietăților mecanice prin controlul gradului de metacrilare și al condițiilor de fotopolimerizare. Este biocompatibilă, biodegradabilă și compatibilă cu bioprintarea.

În concentrații ce pot susține viabilitatea celulară, hidrogelurile pe bază de GelMA prezintă rezistență mecanică redusă și osteoinductivitate insuficientă, ceea ce evidențiază necesitatea funcționalizării sale cu diferiți compuși.

- **Alg**

Alg este un polizaharid natural extras din alge brune, utilizat pe scară largă datorită capacității sale de a forma geluri stabile prin reticulare ionică în prezența ionilor divalenți, în special Ca^{2+}. Acesta se caracterizează prin biocompatibilitate ridicată și procesare facilă, fiind frecvent utilizat în printare. În forma sa nativă, alginatul se distinge printr-un caracter bioinert, care îi limitează interacțiunile directe cu celulele. Din acest motiv, este frecvent funcționalizat chimic sau combinat cu alți polimeri naturali sau compuși bioactivi pentru a promova adeziunea și diferențierea celulară.

- **GG**

GG este un polizaharid anionic utilizat pentru obținerea de hidrogeluri stabile prin gelifiere ionică facilă. Stabilitatea rețelei tridimensionale formate și comportamentul reologic favorabil determină utilizarea sa pentru aplicații injectabile și pentru procesare prin extrudare. Totuși, la fel ca și în cazul Alg, lipsa grupărilor bioactive impune asocierea sa cu nanoparticule, compuși bioactivi sau molecule osteoinductive pentru a-i crește funcționalitatea biologică.

1.3. Nanoparticule și compuși bioactivi pentru funcționalizarea hidrogelurilor

Integrarea nanoparticulelor și a compușilor bioactivi în matrici polimerice constituie o direcție strategică în proiectarea hidrogelurilor multifuncționale destinate regenerării osoase. Această abordare permite simultan creșterea performanțelor mecanice și inducerea unor

răspunsuri biologice specifice, conducând la dezvoltarea unor platforme hibride capabile să favorizeze regenerarea osoasă.

În cadrul acestei teze au fost explorate multiple opțiuni, dintre care **nanoparticulele de diamant (ND)** și **nanohidroxiapatită dopată cu magneziu (MgHA)** au acționat preponderent ca agenți de ranforsare structurală și de inducere a osteoconductivității, în timp ce moleculele bioactive naturale, precum **extractele din *Aloe vera* (AV)** și **icariina (ICA)**, au contribuit prin efecte osteoinductive, antioxidante sau antibacteriene.

- **ND**

ND sunt nanoparticule carbonice cu suprafață funcționalizabilă, bogată în grupări funcționale, care contribuie la îmbunătățirea proprietăților mecanice și pot favoriza interacțiunile celulare inițiale. Înglobate în matrici de hidrogel, acestea pot forma insule cu rigiditate ridicată, ce pot funcționa ca agenți de ranforsare nanolocalizată.

Astfel, prin crearea unor microdomenii rigide în matricile moi de hidrogel, ND induc reorganizarea citoscheletală și transmit semnale de mecanotransducție asociate cu stimularea diferențierii osteogenice și cu promovarea depunerii de matrice mineralizată, aspecte esențiale pentru aplicațiile în regenerarea osoasă [7].

- **MgHA**

MgHA este o bioceramică bioactivă cu rol osteoconductiv și osteoinductiv, capabilă să elibereze ioni de Mg^{2+}, implicați în procesele de mineralizare. MgHA reprezintă o variantă avansată de nanohidroxiapatită modificată, cu capacități osteoinductive și osteoconductive îmbunătățite, resorbție controlabilă și proprietăți fizico chimice favorabile integrării în hidrogeluri sau sisteme de bioprintare 3D. În plus, complementar activității biologice, MgHA poate contribui la îmbunătățirea proprietăților mecanice ale hidrogelurilor [8].

- **Compuși bioactivi din AV**

AV este o plantă medicinală utilizată de mii de ani pentru proprietățile sale antiinflamatoare, antioxidante și regenerative, datorită conținutului său complex în polizaharide, aminoacizi, vitamine și compuși fenolici [9]. Compușii activi se găsesc în gelul din interiorul frunzelor mature de AV, unde predomină polizaharidul acemannan (ACE), fiind asociat cu o mare parte din efectele terapeutice documentate. Cu toate acestea, efectele benefice observate în regenerarea osoasă provin dintr-un sinergism complex al întregului extract de AV,

care poate susține modularea simultană a proceselor de proliferare și diferențiere celulară, a răspunsului inflamator și a formării de ECM [10].

Complementar efectelor sale osteogene, extractele de AV au un rol important în modularea proceselor imunologice și inflamatorii, reducând secreția de citokine specifice și modulând activitatea macrofagelor, susținând vindecarea leziunilor osoase [11]. Mai mult, componentele extractului de AV pot modula proprietățile fizico-chimice ale compozitelor pe bază de hidrogeluri în care sunt încărcate, prin creșterea capacității de adsorbție și retenție a apei, concomitent cu o permeabilitate superioară [10]. Acești parametri favorizează difuzia eficientă a nutrienților prin rețeaua hidrogelului și contribuie la menținerea viabilității celulare.

- **ICA**

ICA este un bioflavonoid natural cu efecte asupra diferențierii osteogene și angiogenezei, utilizat în medicina tradițională chineză pentru tratarea osteoporozei. Concomitent, ICA exercită un efect inhibitor asupra diferențierii și activității osteoclastice, prin reducerea expresiei markerilor asociați resorbției osoase [12]. În plus, ICA poate stimula angiogeneza prin promovarea migrației, proliferării și organizării celulelor endoteliale în structuri capilare, facilitând astfel formarea de noi vase de sânge [13].

Încorporarea ICA în hidrogeluri și compozite printate 3D permite eliberarea sa controlată, conferind scaffoldurilor osteoinductivitate comparabilă sau chiar superioară proteinei morfogenetice osoase 2 (BMP-2) în stimularea mineralizării și a expresiei markerilor osteogenici [14].

1.4. Ranforsarea hidrogelurilor cu componente nanofibrilare

Pe lângă integrarea nanoparticulelor anorganice și a compușilor bioactivi naturali, o altă direcție de cercetare urmărește consolidarea matricilor polimerice prin incorporarea de componente nanofibrilare. Această strategie se bazează pe analogia structurală cu ECM osoasă nativă, caracterizată printr-o arhitectură complexă de fibre de colagen mineralizate, care conferă osului atât rezistență mecanică, cât și semnale biologice esențiale.

Nanostructurile fibrilare polimerice sau biopolimerice pot îmbunătăți simultan stabilitatea mecanică, controlul porozității și transmiterea semnalelor de mecanotransducție atunci când sunt integrate în hidrogeluri [15]. Prin orientarea și organizarea lor, aceste componente pot ghida migrarea celulară și depunerea de ECM, aspecte critice pentru regenerarea osoasă [16].

În cadrul acestei teze au fost investigate două strategii de ranforsare nanofibrilară: **incorporarea nanofibrilelor de celuloză** pentru obținerea de compozite omogene cu proprietăți mecanice și reologice superioare și **integrarea structurilor micro- și nanofibrilare fabricate prin melt electrowriting (MEW).**

- **Ranforsarea prin încorporarea de nanofibrile de celuloză (CNF)**

Nanofibrilele de celuloză (CNF) au atras un interes considerabil ca agenți de ranforsare nanostructurată datorită raportului crescut lungime/diametru, suprafeței specifice ridicate, biocompatibilității și biodegradabilității intrinseci [17]. Oxidarea mediată de TEMPO crește dispersibilitatea și stabilitatea coloidală a CNF prin introducerea grupărilor carboxil, generând fibrile mai subțiri și mai bine individualizate (TO-CNF) [18]. Acestea formează rețele poroase și hidrofile, similare ECM, care favorizează adeziunea și diferențierea celulară, cu aplicabilitate în regenerarea osoasă.

În plus, CNF prezintă rezistență mecanică ridicată, datorită densității mari de grupări capabile să formeze legături de hidrogen, alături de proprietăți reologice de subțiere la forfecare și de recuperare a viscozității, avantajoase pentru (bio)printare 3D. Alinierea fibrilelor în timpul extrudării îmbunătățește integritatea constructelor, iar oxidarea TEMPO reduce frecarea și permite procesarea la presiuni scăzute, protejând componentele biologice. Prin urmare, integrarea CNF în matrici de hidrogel constituie o strategie eficientă pentru obținerea de compozite cu proprietăți mecanice și bioactive superioare.

- **Ranforsarea prin încorporarea de elemente micro- și nanofibrilare fabricate prin MEW**

MEW este o tehnologie de fabricare aditivă de înaltă rezoluție, capabilă să producă fibre micro- și nanometrice cu depunere ordonată conform unor modele predefinite. Controlul arhitecturii scaffoldurilor prin MEW influențează direct răspunsul celular, orientarea fibrelor modificând forma celulelor și semnalizarea mecanică intracelulară [19]. Reușita procesului depinde de parametri precum masa moleculară a polimerului, conductivitatea electrică, tensiunea aplicată, presiunea de extrudare și distanța ac-colector. Policaprolactona (PCL) este materialul cel mai utilizat, datorită procesabilității sale, stabilității termice facile, costului redus și aprobării pentru uz clinic, având o rată de degradare lentă (2–4 ani) [20].

Integrarea rețelelor fibrilare cu arhitecturi precise obținute prin MEW în matrici moi de hidrogel conduce la compozite cu rigiditate crescută. Visser și colab. [21] au folosit un hidrogel din GelMA infiltrat într-o rețea de microfibre de PCL dispuse ordonat. Structura compozită a

prezentat o creștere semnificativă a rigidității, comparativ cu hidrogelul simplu. Astfel, prin posibilitatea de a controla diametrul fibrelor și arhitectura rețelelor, MEW permite obținerea unor structuri fibroase eficiente pentru ranforsarea hidrogelurilor, conferindu-le rigiditate și stabilitate superioară, cu impact asupra mecanobiologiei celulare și a proceselor de regenerare tisulară.

Pe baza acestor premise teoretice și a limitărilor evidențiate în literatura de specialitate, teza de doctorat și-a propus formularea și investigarea unor strategii experimentale integrate pentru proiectarea și caracterizarea hidrogelurilor compozite nanostructurate destinate regenerării osoase personalizate.

2. Obiective generale și specifice

Obiectivul general al tezei a constat în proiectarea, **dezvoltarea și caracterizarea unor hidrogeluri compozite nanostructurate** cu proprietăți mecanice și biologice optimizate, capabile să susțină regenerarea osoasă personalizată. În acest scop, cercetarea a fost structurată pe patru direcții complementare, fiecare având ca finalitate dezvoltarea unor strategii inovatoare de ranforsare și funcționalizare a matricilor de hidrogel.

Prima direcție a vizat elaborarea de **hidrogeluri pe bază de GelMA funcționalizate cu extracte bioactive din AV**. Obiectivul a fost de a investiga rolul polizaharidelor din AV asupra formării rețelelor polimerice și al proprietăților reologice și antibacteriene, pentru a valida potențialul acestor formulări ca biomateriale cu funcționalitate extinsă.

A doua direcție s-a concentrat pe **integrarea unor structuri fibrilare fabricate prin MEW în hidrogeluri subțiri**, obținându-se compozite hibride cu arhitectură controlată și rezistență mecanică superioară. Aceste sisteme au fost concepute în special pentru aplicații în **reconstrucția suprafețelor osteonecrotice**, unde hidrogelurile simple nu pot oferi suportul necesar.

Cea de-a treia direcție a urmărit dezvoltarea unor **scaffolduri pe bază de GG, ranforsate cu ND și bioactivate cu ICA**. Această combinație a permis investigarea efectelor complementare dintre ranforsarea mecanică indusă de ND și stimularea biologică generată de ICA, în vederea obținerii unor structuri cu performanțe funcționale și biologice superioare.

În cea de-a patra direcție, au fost dezvoltate **formulări multicomponente pe bază de GelMA**, **TO-CNF și Alg, încărcate cu nanoparticule de ND și MgHA**. Scopul a fost

obținerea unor biocerneluri compatibile cu procesarea prin bioprintare 3D, care să combine printabilitatea și stabilitatea cu inducerea unor răspunsuri osteogenice relevante.

Prin convergența acestor direcții, teza a urmărit validarea unor strategii complementare, constând în funcționalizarea cu molecule bioactive naturale, integrarea de nanoparticule și elemente de ranforsare pentru **obținerea unor sisteme hibride multiscale, procesabile și osteoinductive, cu aplicabilitate în regenerarea osoasă personalizată**.

3. Contribuții originale

Contribuțiile originale ale acestei teze de doctorat se înscriu în domeniul biomaterialelor polimerice pentru regenerarea osoasă și propun patru direcții complementare de cercetare, care explorează strategii distincte de funcționalizare și ranforsare a hidrogelurilor, cu scopul de a obține sisteme compozite capabile să combine procesabilitatea, stabilitatea structurală și stimularea biologică.

O primă contribuție a constat în dezvoltarea de hidrogeluri pe bază de gelatină metacril(amid)ată funcționalizată cu compuși extrași din *Aloe Vera Barbadensis Miller*. Originalitatea acestei direcții derivă din utilizarea unui extract natural complex, bogat în ACE și alți compuși bioactivi, care a permis obținerea unor materiale cu proprietăți îmbunătățite. Analiza compozițională a confirmat prezența ACE și a altor compuși bioactivi în structura hidrogelurilor, iar integrarea acestora în rețeaua polimerică a condus la modificări ale proprietăților reologice și la o capacitate crescută de hidratare. Totodată, formulările obținute au prezentat activitate antibacteriană împotriva *Escherichia coli*, demonstrând posibilitatea realizării unor biomateriale multifuncționale, care combină caracteristicile structurale cu efecte biologice suplimentare. Astfel, a fost validată o strategie de funcționalizare naturală, care adaugă valoare biologică unei matrici polimerice consacrate.

Rezultatele acestui studiu au fost publicate integral pe parcursul studiilor doctorale și pot fi consultate în articolul: Carmen-Valentina Nicolae, Iulia-Maria Iordache, Adela Banciu, Izabela-Cristina Stancu, ***Aloe Vera-loaded gelatin methacryloyl hydrogels as potential bone biomaterials***, publicat în U.P.B. Sci. Bull., Series B, Vol. 86, Iss. 4, 2024, ISSN 1454-2331, WOS:001380943500010,https://old.scientificbulletin.upb.ro/rev_docs_arhiva/full116_952338.pdf, IF_{2024}=0.3, Q4.

Aceast studiu a fost realizat în cadrul proiectului *Integrarea printării 3D modulate mecanic cu noi multi(nano)materiale bioactive pentru următoarea generație de scaffolduri*

pentru regenerare osoasă, PN-III-P4-PCE-2021–1240, nr. PCE 88/2022.

A doua contribuție a vizat integrarea structurilor fabricate prin MEW în hidrogeluri subțiri, pentru a obține compozite hibride cu arhitectură controlată și stabilitate mecanică superioară. Noutatea acestei direcții constă în utilizarea unor plase din PCL obținute prin parametri optimizați prin design experimental și adaptarea interfeței hidrogel–polimer prin tratarea în plasmă a elementelor fibrilare, ceea ce a permis consolidarea interacțiunii dintre cele două faze. Rezultatele au demonstrat că integrarea rețelelor MEW conduce la o creștere semnificativă a rigidității hidrogelurilor subțiri, ceea ce deschide perspective pentru aplicarea acestor sisteme în regenerarea suprafețelor osteonecrotice. Această abordare aduce o contribuție originală prin corelarea arhitecturii controlate a structurilor MEW cu comportamentul compozitelor hidrogel–polimer, demonstrând potențialul sinergic al acestor sisteme.

Rezultatele acestui studiu au fost publicate integral pe parcursul studiilor doctorale și pot fi consultate în articolul: Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olăreț, Adriana-Elena Bratu, Adriana Lungu, Izabela Cristina Stancu, Bogdan Stelian Mastalier Manolescu, ***Reinforcing melt electrowritten elements with entangled multifibrillar strands for thin hydrogels with potential in bone resurfacing***, publicat în revista *Materials & Design (Elsevier)*, Volume 237, 2024, 112545, ISSN 0264-1275, WOS:001138868400001, https://doi.org/10.1016/j.matdes.2023.112545, IF_{2024}=7.9, Q1.

Acest studiu a fost realizat în cadrul proiectului *Integrarea printării 3D modulate mecanic cu noi multi(nano)materiale bioactive pentru următoarea generație de scaffolduri pentru regenerare osoasă*, PN-III-P4-PCE-2021–1240, nr. PCE 88/2022. Experimentele de melt electrowriting, tratament cu plasmă, unghi de contact și µCT au fost realizate cu sprijinul proiectului ERDF/COP 2014–2020, ID P_36_611, MySMIS 107066, INOVABIOMED.

A treia contribuție a constat în dezvoltarea de scaffolduri pe bază de GG ranforsate cu ND și bioactivate cu ICA. Originalitatea acestei direcții derivă din asocierea între ranforsarea nanostructurală localizată și bioactivarea naturală, două strategii rar investigate concomitent în literatura de specialitate. Experimentele au evidențiat faptul că un conținut redus de ND este suficient pentru a îmbunătăți proprietățile mecanice și nanomecanice ale scaffoldurilor, iar adsorbția ICA pe suprafața ND a condus la o stimulare osteogenă pronunțată, cu depunerea de ECM mineralizată. Prin corelarea proprietăților nanomecanice și răspunsului celular, această

direcție aduce o contribuție originală la înțelegerea modului în care nanoparticulele și moleculele bioactive pot acționa complementar pentru a genera sisteme eficiente în regenerarea osoasă.

Rezultatele acestui studiu au fost publicate integral pe parcursul studiilor doctorale și pot fi consultate în articolul: Carmen-Valentina Nicolae, Masoumeh Jahani Kadousaraei, Elena Olăreț, Andrada Serafim, Mehmet Serhat Aydin, Ioana-Teodora Bogdan, Adriana Elena Bratu, Raluca-Elena Ginghină, Alexandra Dobranici, Sorina Dinescu, Kamal Mustafa, Izabela-Cristina Stancu, **Enhancing cellular interactions through bioactivation and local nanomechanical reinforcement in nanodiamond-loaded 3D printed gellan gum scaffolds**, publicat în revista *Materials (MDPI)*, în numărul special *Engineering the Future: Advances in 3D Printing Formulations for Biomedical Solutions*, 2025, WOS:001569946100001, https://doi.org/10.3390/ma18174131, IF_{2024}=3.2, Q2.

Acest studiu a fost realizat în cadrul proiectului PN-IV-P7-7.1-PED-2024-2663, nr. PED44/2025.

A patra contribuție a vizat elaborarea unor biocerneluri multicomponente pe bază de GelMA, TO-CNF și Alg, funcționalizate cu ND și MgHA, concepute pentru bioprintarea de constructe cu proprietăți osteoinductive. Noutatea constă în formularea și caracterizarea unor sisteme complexe, care combină proprietăți reologice favorabile (subțiere la forfecare, tixotropie) cu stabilitate structurală și bioactivitate crescută. Bioprintarea a permis obținerea unor structuri cu fidelitate geometrică ridicată și porozitate interconectată, iar testele biologice au demonstrat că includerea concomitentă a ND și MgHA are un efect complementar asupra proliferării celulare și a expresiei markerilor osteogenici a celulelor MG-63 încapsulate. Prin aceasta, cercetarea aduce o contribuție originală în direcția validării unor biocerneluri multicomponente cu potențial real pentru aplicații clinice personalizate.

Rezultatele acestui studiu au fost publicate integral pe parcursul studiilor doctorale și pot fi consultate în articolul: Carmen-Valentina Nicolae, Masoumeh Jahani Kadousaraei, Shuntaro Yamada, Mehmet Serhat Aydin, Niyaz Al-Sharabi, Elisabetta Campodoni, Monica Sandri, Doris Steinmüller-Nethl, Kristin Syverud, Bogdan Ștefan Vasile, Ahmad Rashad, Izabela-Cristina Stancu, Kamal Mustafa, **Nanostructured Multicomponent Bioinks with Nanodiamond and Magnesium-Doped Nanohydroxyapatite for Enhanced Bone Tissue Engineering**, publicat în revista *Materials & Design (Elsevier)*, https://doi.org/10.1016/j.matdes.2026.115510, IF_{2024}=7.9, Q1.

Acest studiu a fost finanțat de Research Council of Norway prin proiectele 3DPRENT (Grant nr. 302043) și Cellu4Heal (Grant nr. 353453), precum și cu sprijinul bursei internaționale SPIRE, acordată de către Universitatea din Bergen.

În ansamblu, aceste contribuții demonstrează că integrarea compușilor bioactivi naturali, a nanoparticulelor și a structurilor fibrilare obținute prin tehnologii avansate de fabricare constituie o strategie originală pentru dezvoltarea de hidrogeluri compozite ca și platforme pentru susținerea regenerării osoase. Teza confirmă faptul că prin abordări multiscale este posibilă armonizarea cerințelor de procesabilitate, stabilitate mecanică și inducere a răspunsurilor biologice favorabile, rezultând sisteme de hidrogel cu proprietăți superioare hidrogelurilor convenționale. Rezultatele obținute validează ipotezele propuse și deschid perspective pentru transferul către aplicații clinice în tratamentul personalizat al defectelor osoase complexe.

4. Concluzii generale

Cercetarea realizată în cadrul acestei teze de doctorat a demonstrat fezabilitatea dezvoltării unor sisteme de hidrogel compozite și nanostructurate, procesabile prin tehnici moderne de fabricare, capabile să răspundă cerințelor complexe ale regenerării osoase personalizate. Prin abordări complementare de funcționalizare cu compuși naturali, integrare de nanoparticule anorganice și carbonice, respectiv ranforsare arhitecturală prin structuri fibrilare fabricate aditiv, au fost obținute biomateriale hibride cu proprietăți superioare la nivel structural, mecanic și biologic. Rezultatele obținute confirmă valoarea adăugată a acestor strategii și relevă potențialul lor de translatare către aplicații clinice, în special în tratamentul defectelor osoase critice, unde soluțiile convenționale rămân insuficiente.

Teza contribuie la consolidarea domeniului ingineriei tisulare prin furnizarea unor dovezi experimentale solide privind eficiența sistemelor hibride multiscale, capabile să îmbine procesabilitatea și stabilitatea structurală cu stimularea răspunsurilor biologice specifice osteogenezei. În același timp, direcțiile explorate conturează noi perspective pentru extinderea cercetării către modele preclinice și clinice, precum și pentru adaptarea strategiilor dezvoltate la alte tipuri de țesuturi sau aplicații regenerative complexe. Astfel, rezultatele obținute susțin rolul biomaterialelor nanostructurate și al tehnologiilor avansate de fabricare în tranziția către medicina regenerativă personalizată.

5. Diseminarea rezultatelor

Publicații:

1. **Carmen-Valentina Nicolae**, Iulia-Maria Iordache, Adela Banciu, Izabela-Cristina Stancu, **Aloe Vera-loaded gelatin methacryloyl hydrogels as potential bone biomaterials**, *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, Vol. 86, Iss. 4, 2024, ISSN 1454-2331, https://old.scientificbulletin.upb.ro/rev_docs_arhiva/full116_952338.pdf, **IF2024 = 0.3, Q4.**
2. **Carmen-Valentina Nicolae**, Elena Olăreț, Adriana-Elena Bratu, Adriana Lungu, Izabela-Cristina Stancu, Bogdan Stelian Mastalier Manolescu, **Reinforcing melt electrowritten elements with entangled multifibrillar strands for thin hydrogels with potential in bone resurfacing**, *Materials & Design (Elsevier)*, Vol. 237, 2024, 112545, ISSN 0264-1275, https://doi.org/10.1016/j.matdes.2023.112545, **IF2024 = 7.9, Q1.**
3. **Carmen-Valentina Nicolae**, Masoumeh Jahani Kadousaraei, Elena Olăreț, Andrada Serafim, Mehmet Serhat Aydin, Ioana-Teodora Bogdan, Adriana Elena Bratu, Raluca-Elena Ginghină, Alexandra Dobranici, Sorina Dinescu, Kamal Mustafa, Izabela-Cristina Stancu, **Enhancing cellular interactions through bioactivation and local nanomechanical reinforcement in nanodiamond-loaded 3D printed gellan gum scaffolds**, *Materials (MDPI)*, *18*(17), 2025, 4131, în numărul special *Engineering the Future: Advances in 3D Printing Formulations for Biomedical Solutions,* https://doi.org/10.3390/ma18174131, **IF2024 = 3.2, Q2**.
4. **Carmen-Valentina Nicolae**, Masoumeh Jahani Kadousaraei, Shuntaro Yamada, Mehmet Serhat Aydin, Niyaz Al-Sharabi, Elisabetta Campodoni, Monica Sandri, Doris Steinmüller-Nethl, Kristin Syverud, Bogdan Ștefan Vasile, Ahmad Rashad, Izabela-Cristina Stancu, Kamal Mustafa, **Nanostructured multicomponent bioinks with nanodiamond and magnesium-doped nanohydroxyapatite for enhanced bone tissue engineering,** *Materials & Design (Elsevier)***,** Vol. 262, 2026, 115510, ISSN 0264-1275, https://doi.org/10.1016/j.matdes.2026.115510**, IF2024 = 7.9, Q1.**

Conferințe:

1. **Melt Electrowritten Scaffolds as Reinforcing Elements for Bone Surface Reconstruction**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olaret, Izabela-Cristina Stancu - *RICCCE 2022 - A 22-a Conferință Internațională Română de Chimie și Inginerie Chimică, Sinaia, România,* 7-9 septembrie 2022 - prezentare orală; **Premiul *„Profesor Sorin Roșca”*** în competiția de prezentări scurte pentru tineri cercetători.

2. **Melt Electrowritten Scaffolds as Reinforcing Elements for Bone Surface Reconstruction**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olaret, Izabela-Cristina Stancu - *EmergeMAT, A 5-a Conferință*

Internațională privind Tehnologiile Emergente în Ingineria Materialelor, 20-21 octombrie 2022*, București, România* - prezentare poster.

3. **Bone Surface Reconstruction Using Melt Electrowritten Reinforced Thin Scaffolds**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olaret, Izabela-Cristina Stancu - *BEHEALTH - Eveniment Internațional Online în Domeniul Sănătății,* 25-27 octombrie 2022 - prezentare orală*;* **Premiul III** acordat de comitetul RSMI.

4. **Melt electrowritten scaffolds for bone surface reconstruction**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olăreț, Izabela-Cristina Stancu - *BPC, A 3-a Conferință Internațională de Bioinginerie și Știința Polimerilor,* 7-10 iunie 2023*,* București, România - prezentare poster.

5. **Development of bioinspired printable nanostructured formulations for bone tissue regeneration**, Carmen-Valentina Nicolae, Andrada Serafim, Cristina-Elena Stavarache, Raluca-Elena Ginghină, Doris Steinmüller-Nethl, Justus Lackner, Kristin Syverud, Monica Sandri, Kamal Mustafa, Ahmad Rashad, Izabela-Cristina Stancu - *BPC, A 3-a Conferință Internațională de Bioinginerie și Știința Polimerilor,* 7-10 iunie 2023*,* București, România - prezentare orală.

6. **Enhanced Bone Surface Reconstruction Using Thin Melt Electrowritten Reinforced Scaffolds**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olăreț, Izabela-Cristina Stancu - *CheMeet,* 26-28 iunie 2023, online - prezentare orală.

7. **Nanodiamond-driven potential modulation of cellular response through local (nano)mechanical reinforcement of 3D printed gellan gum scaffolds**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olăreț, Raluca-Elena Ginghină, Sorina Dinescu, Andrada Serafim, Izabela-Cristina Stancu - *Eveniment Transnațional de Multiplicare,* 18-19 octombrie 2023*, online* - prezentare poster.

8. **The Potential of Nanodiamond Particles to Orchestrate the Cellular Behavior and Modulate the (Nano)Mechanical Properties of 3D Printed Scaffolds**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olăreț, Raluca-Elena Ginghină, Sorina Dinescu, Andrada Serafim, Izabela-Cristina Stancu - ESB2023 - *A 33-a Conferință Anuală a Societății Europene de Biomateriale,* 4-8 septembrie 2023*,* Davos, Elveția - prezentare poster și prezentare orală tip „Rapid Fire".

9. **Exploring potential nanoparticle effects on cellular response in 3D printed scaffolds through local nanomechanical reinforcement,** Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olăreț, Raluca Elena Ginghină, Sorina Dinescu, Andrada Serafim, Izabela Cristina Stancu **-** *TUIASI 2024 - Conferința Națională a Școlii Doctorale, Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi" din Iași,* 15-17 mai 2024**,** online **-** prezentare orală.

10. **Enhancing Cellular Interactions through Bioactivation and Local Nanomechanical Reinforcement in Nanodiamond-loaded 3D Printed Scaffolds**, Carmen-Valentina Nicolae, Elena Olăreț, Raluca-Elena Ginghină, Sorina Dinescu, Andrada Serafim, Masoumeh Jahani Kadousaraei, Mehmet Serhat Aydin, Kamal Mustafa, Izabela-Cristina Stancu - *RICCCE 2024 - A 23-a Conferință Internațională Română de Chimie și Inginerie Chimică,* 4-7 septembrie 2024*,* Constanța, România - prezentare orală.

11. **Nanostructured Multicomponent Bioinks with Synergistic Nanodiamond and Magnesium-Doped Hydroxyapatite for Enhanced Bone Tissue Engineering**, Carmen-Valentina Nicolae, Masoumeh Jahani Kadousaraei, Mehmet Serhat Aydin, Shuntaro Yamada, Niyaz Al-Sharabi, Ahmad Rashad, Elisabetta Campodoni, Monica Sandri, Doris Steinmüller-Nethl, Kristin Syverud, Kamal Mustafa, Izabela-Cristina Stancu - *NanoBioMat 2024 - Aplicații ale Chimiei în Nanostiințe și Ingineria Biomaterialelor,* 27-29 noiembrie 2024, București, România - prezentare orală. **Premiul pentru cea mai bună lucrare**.

6. Bibliografie selectivă

[1]. I. Kurian, P. Dileep, S. Ipshita, A. Pradeep, Comparative evaluation of subgingivally-delivered 1% metformin and Aloe vera gel in the treatment of intrabony defects in chronic periodontitis patients: A randomized, controlled clinical trial, J Investig Clin Dent, 9 (3), 2018. 10.1111/jicd.12324

[2]. E. Hernlund, A. Svedbom, M. Ivergård, J. Compston, et al., Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA), Archives of osteoporosis, 8 (1), 136, 2013. 10.1007/s11657-013-0136-1

[3]. J. R. Perez, D. Kouroupis, D. J. Li, T. M. Best, et al., Tissue Engineering and Cell-Based Therapies for Fractures and Bone Defects, Frontiers in bioengineering and biotechnology, 6 105, 2018. 10.3389/fbioe.2018.00105

[4]. A. Kengelbach-Weigand, C. Thielen, T. Bäuerle, R. Götzl, et al., Personalized medicine for reconstruction of critical-size bone defects - a translational approach with customizable vascularized bone tissue, NPJ Regenerative medicine, 6 (1), 49, 2021. 10.1038/s41536-021-00158-8

[5]. R. Xu, H. Zhang, S. Duan, H. Liang, et al., Combining 3D printing technology with customized metal plates for the treatment of complex acetabular fractures: A retrospective study, PloS one, 20 (2), e0317496, 2025. 10.1371/journal.pone.0317496

[6]. S. D. Dutta, K. Ganguly, J. Hexiu, A. Randhawa, et al., A 3D Bioprinted Nanoengineered Hydrogel with Photoactivated Drug Delivery for Tumor Apoptosis and Simultaneous Bone Regeneration via Macrophage Immunomodulation, Macromolecular bioscience, 23 (9), e2300096, 2023. 10.1002/mabi.202300096

[7]. X. Wang, L. Ji, J. Wang, C. Liu, Matrix stiffness regulates osteoclast fate through integrin-dependent mechanotransduction, Bioactive Materials, 27 138-53, 2023. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.03.014

[8]. K. Zhang, Y. Liu, Z. Zhao, X. Shi, et al., Magnesium-Doped Nano-Hydroxyapatite/Polyvinyl Alcohol/Chitosan Composite Hydrogel: Preparation and Characterization, International journal of nanomedicine, 19 651-71, 2024. 10.2147/ijn.s434060

[9]. A. N. Abid Aslam Maan, Muhammad Kashif Iqbal Khan, Tahir Ahmad, Rabia Zia, Misbah Murid, Muhammad Abrar, The therapeutic properties and applications of Aloe vera: A review, Journal of Herbal Medicine, 12 (1), 1-10, 2018. https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.01.002
[10]. J. H. Hamman, Composition and applications of Aloe vera leaf gel, Molecules, 13 (8), 1599-616, 2008. 10.3390/molecules13081599
[11]. M. H. Radha, Laxmipriya, N.P., Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of aloe vera: A systematic review, Journal of Traditional and Complementary Medicine, 5 21-6, 2015.
[12]. L. Zhong, Z. Xu, Y. Peng, S. Li, et al., Therapeutic mechanisms of icariin in intervertebral disc degeneration: A critical narrative review, Biochemistry and Biophysics Reports, 42 102047, 2025. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2025.102047
[13]. Y. Wu, L. Cao, L. Xia, Q. Wu, et al., Evaluation of Osteogenesis and Angiogenesis of Icariin in Local Controlled Release and Systemic Delivery for Calvarial Defect in Ovariectomized Rats, Scientific Reports, 7 (1), 5077, 2017. 10.1038/s41598-017-05392-z
[14]. Zhang, X, Liu, T, Huang, Y, Zheng, Y, Liu, T, Wismeijer, D & Liu, Y 2015, 'Osteogenic potential of icariin compared with recombinant human bone morphogenetic protein 2 in vitro: a preliminary study', Journal of Biomaterials and Tissue Engineering, vol. 5, no. 3, pp. 226-233. https://doi.org/10.1166/jbt.2015.1302,
[15]. H. Ma, C. Yang, Z. Ma, X. Wei, et al., Multiscale Hierarchical Architecture-Based Bioactive Scaffolds for Versatile Tissue Engineering, Advanced Healthcare Materials, 11 (13), 2102837, 2022. https://doi.org/10.1002/adhm.202102837
[16]. J. Visser, B. Peters, T. J. Burger, J. Boomstra, et al., Biofabrication of multi-material anatomically shaped tissue constructs, Biofabrication, 5 (3), 035007, 2013. 10.1088/1758-5082/5/3/035007
[17]. K. Oesef, E. D. Cranston, Y. Abdin, Current advances in processing and modification of cellulose nanofibrils for high-performance composite applications, Materials & Design, 247 113417, 2024. https://doi.org/10.1016/j.matdes.2024.113417
[18]. S. Iwamoto, A. Isogai, T. Iwata, Structure and Mechanical Properties of Wet-Spun Fibers Made from Natural Cellulose Nanofibers, Biomacromolecules, 12 (3), 831-6, 2011. 10.1021/bm101510r
[19]. K. F. Eichholz, D. A. Hoey, Mediating human stem cell behaviour via defined fibrous architectures by melt electrospinning writing, Acta Biomaterialia, 75 140-51, 2018. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.05.048
[20]. A. Cipitria, A. Skelton, T. R. Dargaville, P. D. Dalton, et al., Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review, Journal of Materials Chemistry, 21 (26), 9419, 2011. 10.1039/c0jm04502k
[21]. J. Visser, F. P. Melchels, J. E. Jeon, E. M. Van Bussel, et al., Reinforcement of hydrogels using three-dimensionally printed microfibres, Nat Commun, 6 6933, 2015. 10.1038/ncomms7933