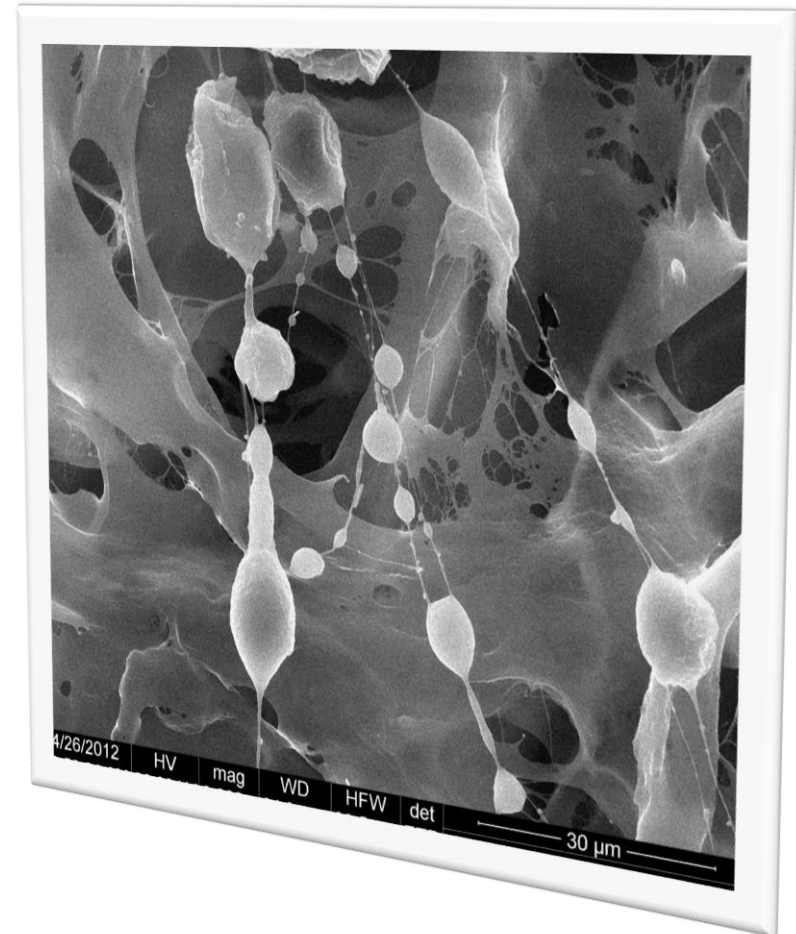
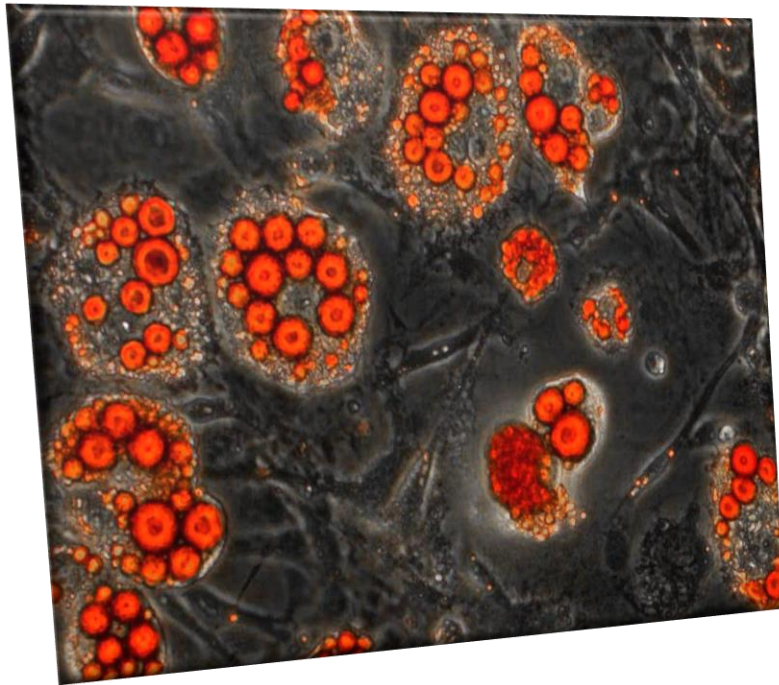


**NOI CONCEPTE SI STRATEGII PENTRU DEZVOLTAREA CUNOASTERII  
UNOR NOI STRUCTURI BIOCOMPATIBILE IN BIOINGINERIE**

**PCCE248/2010**

**BIO ENG**



***Povesti complexe despre IDEI complexe si oameni de  
succes, Bucuresti, 12 decembrie 2012***

# CONSORTIUL

*Povesti complexe despre IDEI complexe si oameni de succes, Bucuresti, 12 decembrie 2012*

P1

Universitatea Bucuresti: Departamentul de Biochimie si Biologie Moleculara

• **Director Proiect: Prof. Dr. Marieta Costache**

P2

Institutul de Biologie si Patologie Celulars “Nicolae Simionescu”

• **Responsabil Proiect: Acad. Dr. Maya Simionescu**

P3

UPB: Facultatea de Chimie Aplicata si Stiinta Materialelor

• **Responsabil Proiect: Prof. Dr. Horia Iovu**

P4

UPB: Centrul de Cercetari pentru Protectia Mediului si Tehnologii Ecologice

• **Responsabil Proiect: Prof. Dr. Ioana Demetrescu**

P5

Institutul de Chimie Fizică “Ilie Murgulescu”

• **Responsabil Proiect: Dr. Mihai Vasile Popa, Dr. Ecaterina Vasilescu**

P6

Universitatea Babeş Bolyai Cluj-Napoca: Facultatea de Fizica

• **Responsabil Proiect: Prof. Dr. Viorica Simon**

P7

ICECHIM Bucureşti

• **Responsabil proiect: Dr. Ing. Doina Dimonie**

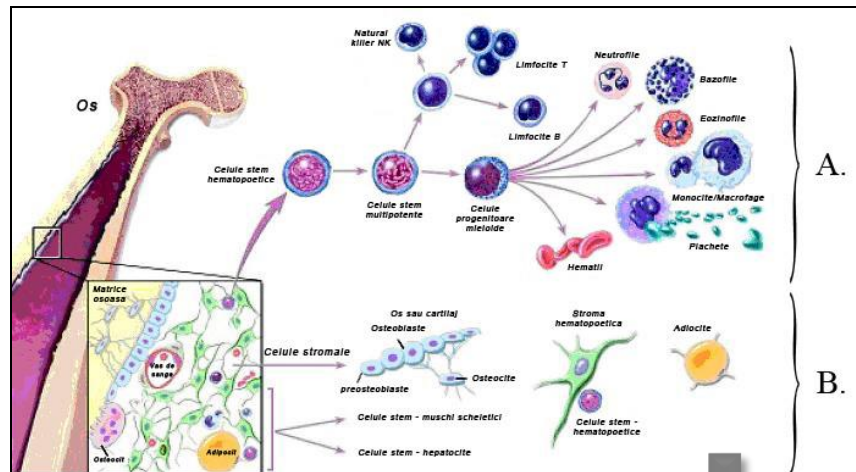
Realizarea unei **cercetări fundamentale în domeniul interacțiilor bio și non-bio ale celulelor cu noi materiale** în vederea generării de noi cunoștințe pentru progresul științific și tehnologic.

**Consolidarea unui grup de cercetare interdisciplinar de specialiști** care colaborează la inițierea studiilor fundamentale de proiectare a unor construcții de inginerie tisulară în România

Expertiza și facilitățile consorțiului sunt focalizate pe cercetare, **rezolvarea unor probleme nemedicale și pregătirea profesională** a tinerilor biologi, chimisti, fizicieni și ingineri.

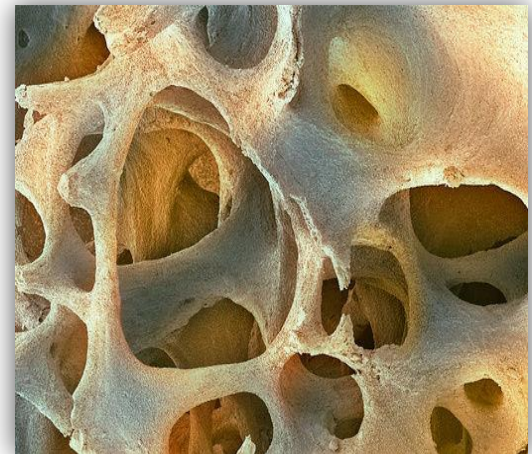
## Ob 1

- Obținerea de **noi structuri suport 3D** destinate cultivării de **osteoblaste** și **celule stem** din **maduva osoasă** umană, în vederea obținerii de construcții celule-suport caracterizate arhitectural și mecanic, utilizabile în **ingineria țesutului osos**



P2, P3, P4, P5 și P6

Osteogeneza



### Celule stem adulte din maduva:

A: celule stem hematopoietice (HSC)

B: celule stem mezenchimale din măduva osoasă (BM-MSC)

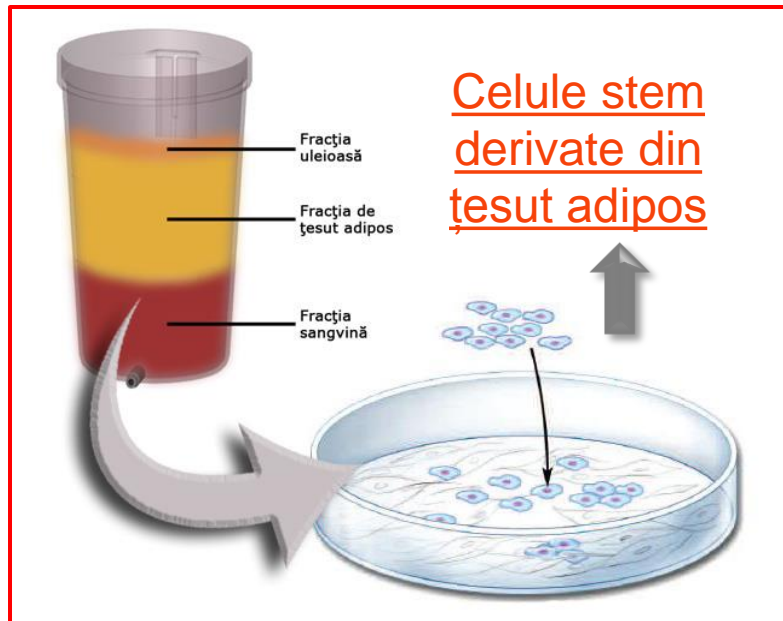


## Ob 2

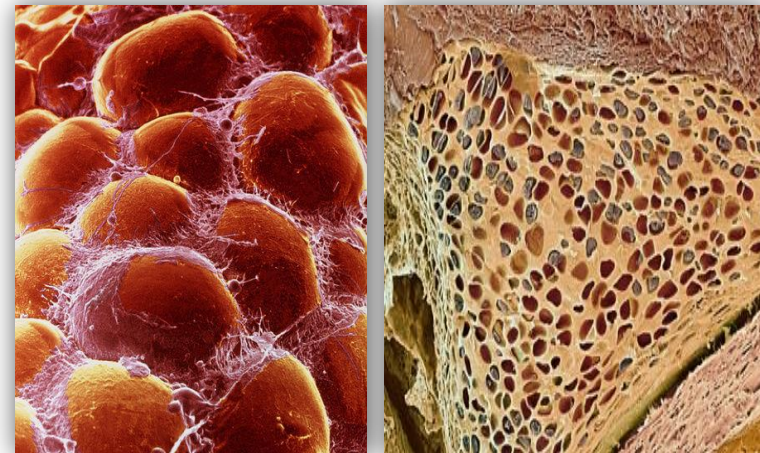
- Dezvoltarea unor strategii de **regenerare a tesutului adipos** prin implantarea **celulelor stem adulte derivate din tesut adipos** uman in structuri **scaffold 3D**, ce mimeaza matricea extracelulara, destinate **reconstrucției unor defecte ale tesuturilor moi**

## Ob 3

- Studiul efectelor cultivării in **sistem 3D** si a factorilor de crestere asupra **diferențierii condrogenice a celulelor stem adulte** in vederea obtinerii unor modele de investigare a potentialului lor de **regenerare a tesutului cartilagos**



Adipogeneza    Condrogeneza



**P1, P3 și P7**

PCCE248/2010

# RECONSTRUCTIE/ REGENERARE TISULARA



Inductia diferentierii osteogenice, adipogenice si condrogenice a celulelor stem aflate in contact cu noile biomateriale.



Izolarea celulelor stem adulte din surse biologice.



Realizarea bioconstructelor biohibride celule-suport prin cultivarea celulelor stem in contact direct cu noile biomateriale.



Propagarea celulelor ex-vivo si caracterizarea culturilor celulare.



# Biomateriale

**POLIMERI**

**METALE / ALIAJE**

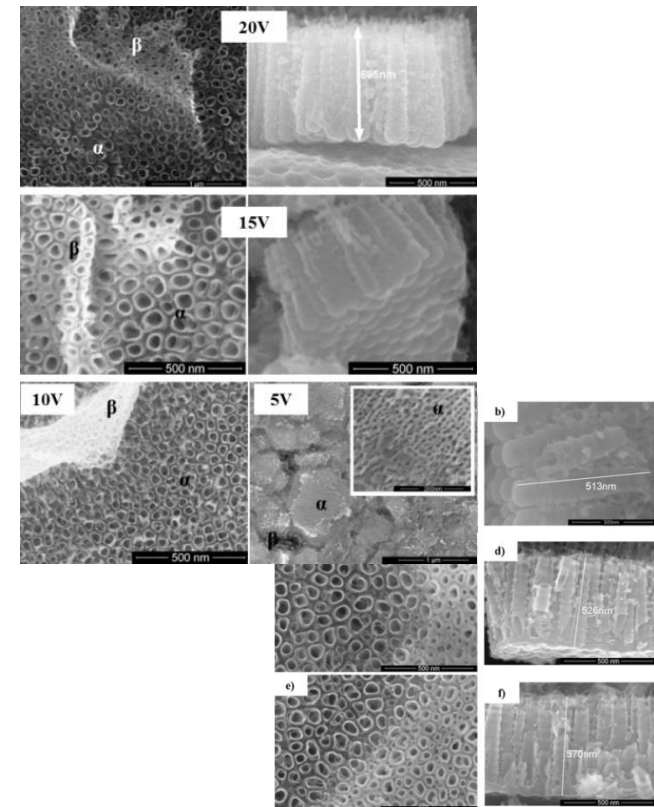
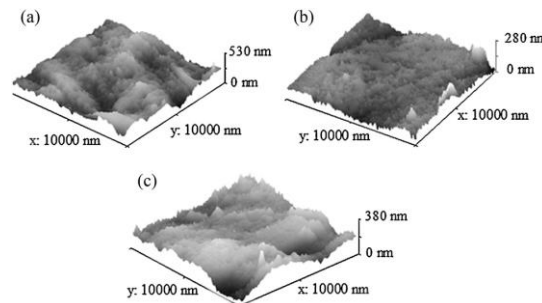
**CERAMICE**

# METALE / ALIAJE / CERAMICE

Destinate  
ingineriei  
tesutului  
**OSOS:**

## 1. Biomateriale pe baza de titan cu acoperiri anorganice:

- 5%Ti:0.5%AgO<sub>2</sub>; 5%TiO<sub>2</sub>:1%Ag; 5%TiO<sub>2</sub>:xTiO<sub>2</sub>;5%TiO<sub>2</sub>:0.3%Ag; 1%TiO
- nanotuburi de TiO<sub>2</sub> calcinate si necalcinate
- Glicerol:H<sub>2</sub>O: NH<sub>4</sub>F depus la 5V, 10V, 15V si 20V
- hidroxiapatita si polipiroli - depuse la 7 si 14 zile
- nanotuburi de TiO<sub>2</sub> depuse la 15V, 30V, 45V
- nanofibre de TiO<sub>2</sub>
- hidroxiapatita



## 2. Biosticle:

- LiCaP
- Ag<sub>2</sub>O (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>CaOTiO)
- SiCaP; SiCaPNa-300
- Poliuretan si polietilen glicol cu diferite concentratii de Zn



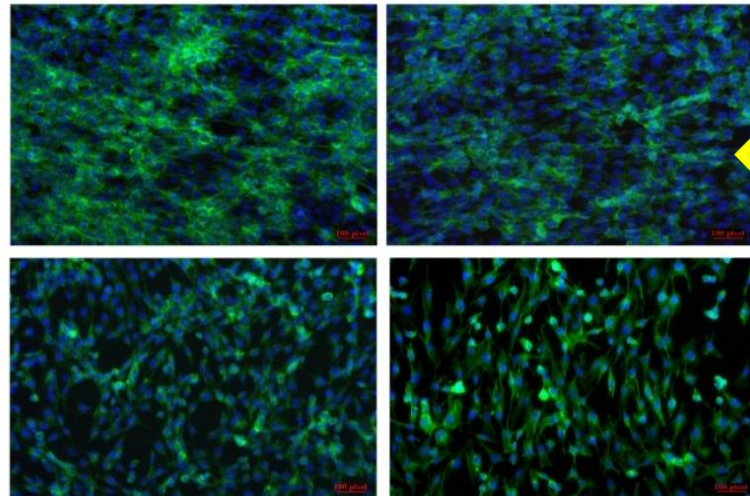
# Validarea biomaterialelor destinate ingineriei tesutului osos:

- Celule utilizate:**
- linia celulara MG63, hFOB
  - culturi primare de celule stem mezenchimale

**Tehnici utilizate:**

- determinarea viabilitatii (testul MTT)
- determinarea proliferarii (dozare ADN)
- colonizare si evidentiere a morfologiei celulare
- testarea diferentierii in osteoblaste:
  - dozare fosfataza alcalina (FA)
  - evidentierea genelor specifice osteoblastelor (PCR).

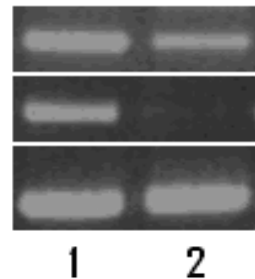
## **Biocompatibilitatea si potentialul osteoinductor al aliajelor de TiZr cu acoperiri de TiO<sub>2</sub> (de tipul nanotuburilor)**



colonizarea suporturilor de aliaje de TiZr cu sau fara acoperiri de nanotuburi de TiO<sub>2</sub>

Evidentierea expresiei markerilor osteogenici

OSTEOCALCIN  
OSTEONECTIN  
BETA ACTIN



1 2

# POLIMERI

## MATERIALE

### Polimeri naturali:

- Colagen (Coll) / Gelatina (Gel)
- Glicozaminoglicani:
  - Acid hialuronic (HA)
  - Condroitin sulfat (CS)
- Sericina (Ser) / fibroina (RSF)
- Alginat (Alg)

Polimeri sintetici: poliacrilamida (PAA)

Componenta anorganica: Hidroxiapatita (Hap)

Factori biologic-activi: factor de crestere osteoinductiva – BMP 4

## Metode de caracterizare

- ✓ spectroscopie (ATR-FTIR, XPS)
- ✓ difracție de raze X (XRD)
- ✓ analize termice (TGA/DTG și DSC)
- ✓ caracterizare morfologica (SEM)
- ✓ studii de gonflare
- ✓ degradare enzimatica (colagenaza)
- ✓ proprietati mecanice (teste de compresie)

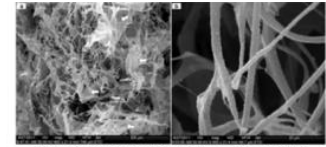
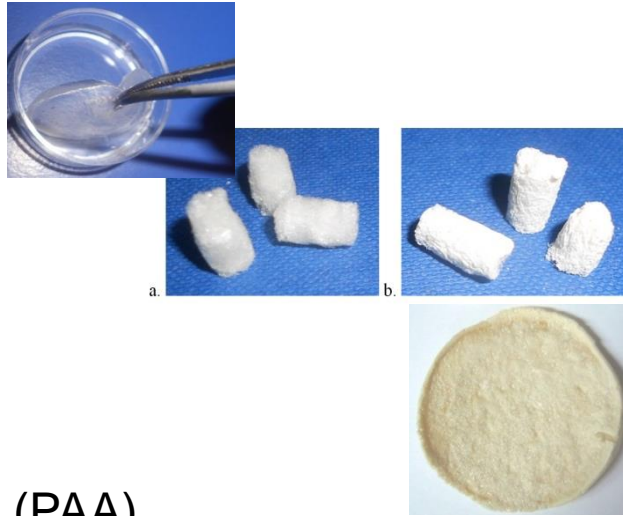


Figura 7: imagine SEM pentru suport poros Coll

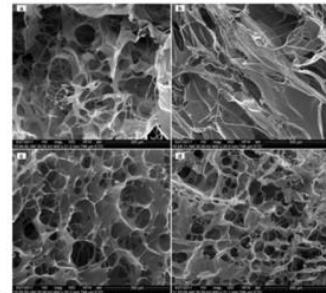


Figura 8. Imagini SEM pentru a) și b) Coll-SS1, c) Coll-SS2, (d) Coll-SS3

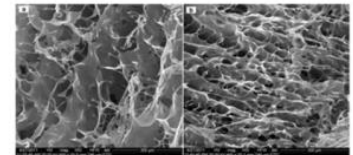


Figura 9. Morfologie SEM pentru materialul Col-SS4 (a) și Col-SS5 (b)

# POLIMERI

- au fost **sintetizate** si **caracterizate** biomateriale polimerice pentru toate cele trei obiective ale proiectului, cu **proprietati adecvate** fiecarui tip de tesut:

**Osos**

- **Coll:HA:BMP-4 si Coll:CS:BMP-4**
- **Gelatina:polihidroxietilmetacrilat**
- **Coll:Ser:HA si Coll:Ser:ceramici bioactive**
- **PAA:fibroina**

**Adipos**

- **Alginat reticulat cu gluconat de calciu**
- **Coll:Ser**

**Cartilagos**

- **Coll:Ser:HA si Coll:Ser:CS**
- **Chitosan si  $\beta$ -glicerofosfat**

# Obtinerea si validarea constructiilor biohibride: celule stem / biomateriale

## Strategii de realizare a constructiilor biohibride

**Insamantare  
pe suprafata**

- inainte de reticularea chimica, au existat monomeri cu potential efect citotoxic asupra celulelor (AA)
- agentul de reticulare utilizat posedea un potential efect citotoxic asupra celulelor (aldehida glutarica)
- designul suportului prevede liofilizarea hidrogelului dupa polimerizare

**Inglobare**

- cand nu se aplica situatiile de mai sus

## Validarea viabilitatii constructiilor hibride

• **Microscopie: SEM, Confocal, Fluorescenta, Contrast de faza**

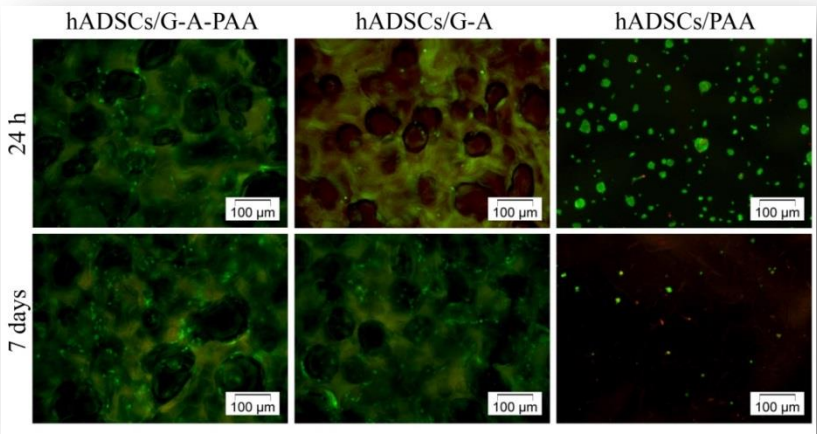
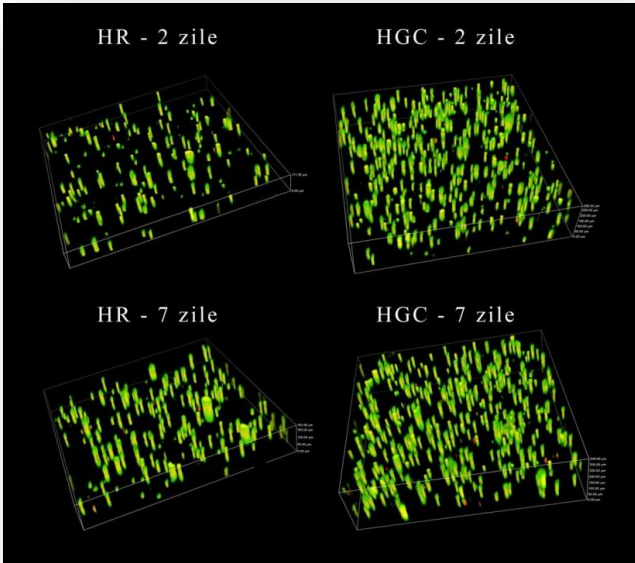
• **Citometrie in flux**

• **Spectrofotometrie**

• **ELISA**

# Biocompatibilitate suporturi polimerice destinate ingineriei tesutului adipos si cartilagos – LIVE&DEAD

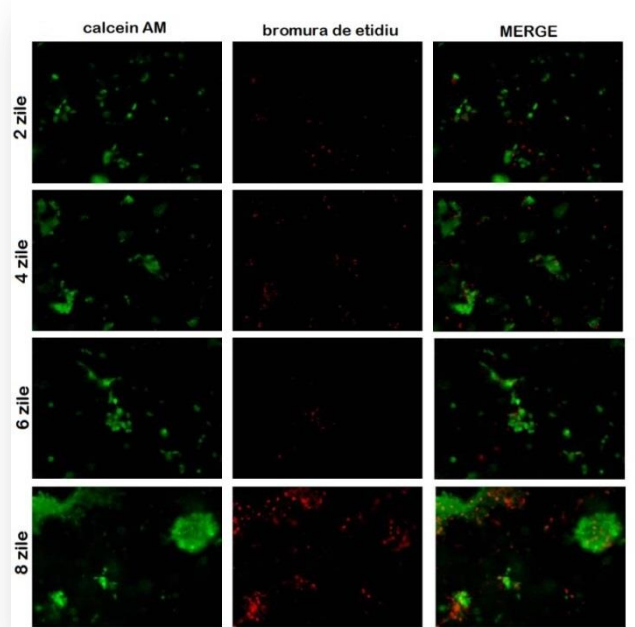
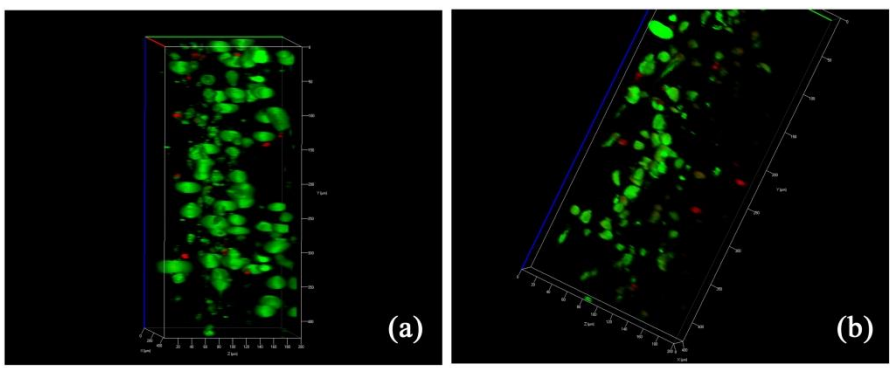
## Alginat reticulat cu gluconat de calciu



Gel-Alg-PAA

## Chitosan + β-glicerofosfat

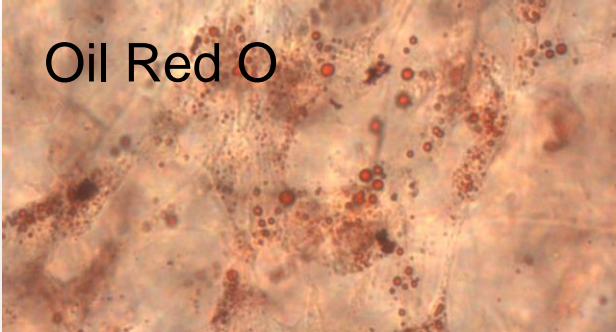
## Colagen-Sericina + HA/CS



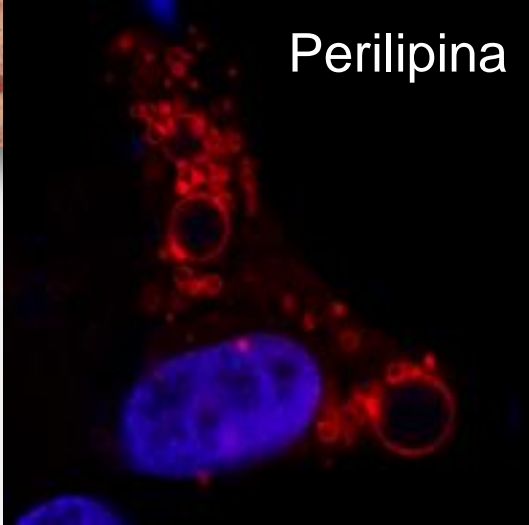


# Evidențierea potențialului adipogenic al ADSC în contact cu:

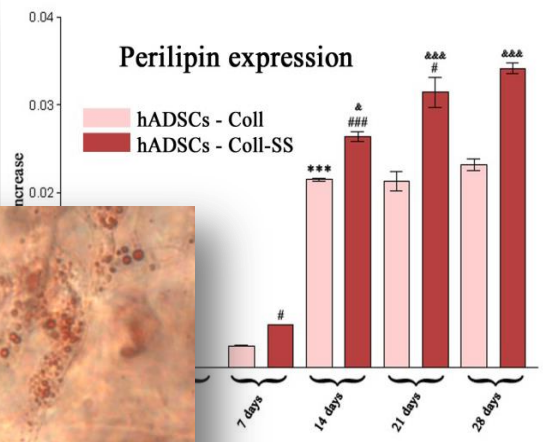
## Coll-Ser



Oil Red O

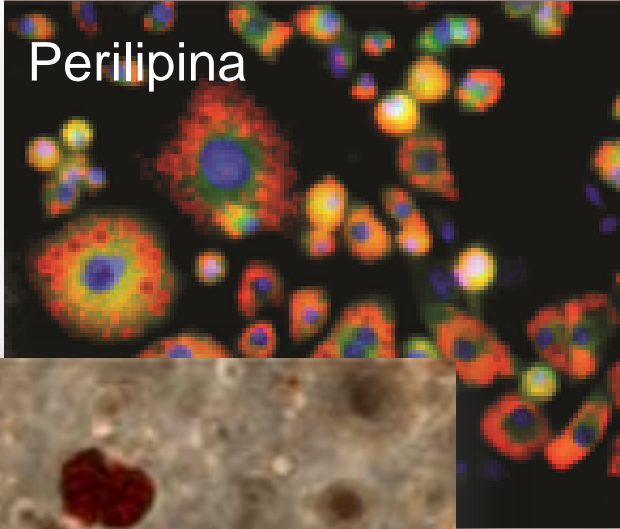


Perilipina

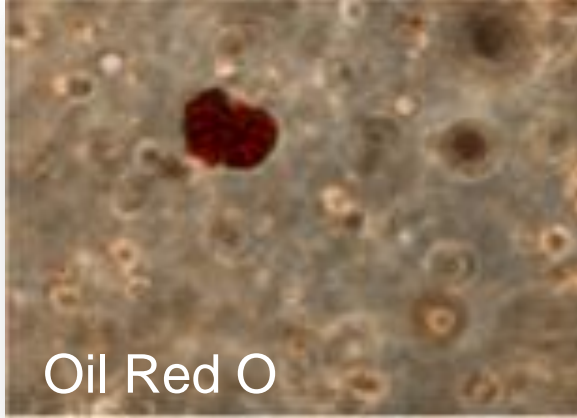


Expresie genica

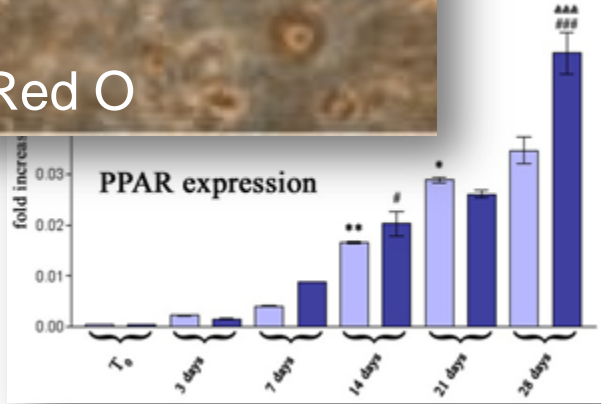
## Alginat reticulat cu gluconat de calciu



Perilipina



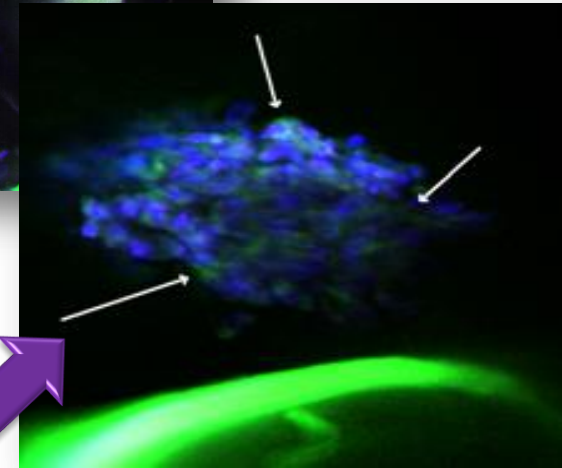
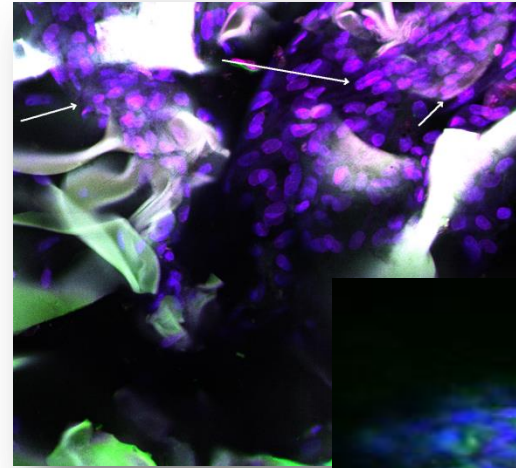
Oil Red O



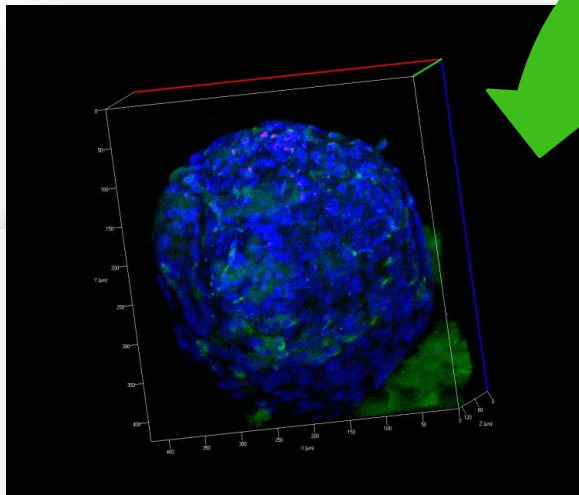
# Gel-Alg-PAA

Evidențierea potențialului **condrogenic** al celulelor stem derivate din tesut adipos, in contact cu:

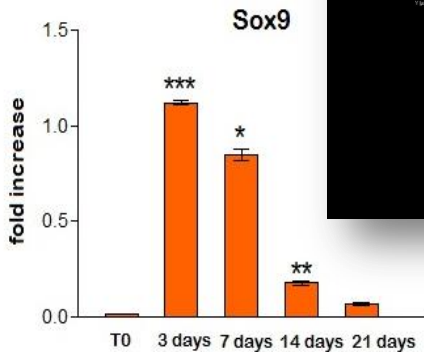
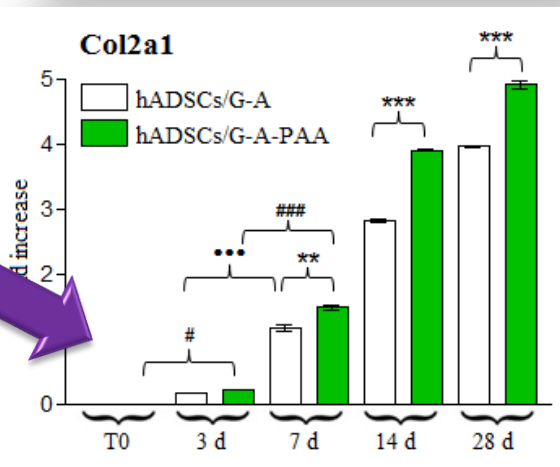
Sox9



**Chitosan +  $\beta$ -glicerofosfat**



Colagen, expresie genica si proteica



# Rezultate raportate 2010-2013

□ **50 articole ISI (ISI ~ 81, fata de 60, contractat) + 2 articole BDI**

- **2010: 8 articole, ISI: 8,66**
- **2011: 13 articole, ISI: 17,89**
- **2012: 14 articole, ISI: 29,576**
- **2013: 15 articole, ISI: 24,822**

Hindawi Publishing Corporation  
BioMed Research International  
Volume 2013, Article ID 598056, 12 pages  
http://dx.doi.org/10.1155/2013/598056



Research Article  
**Biocompatibility Assessment of Novel Collagen-Sericin Scaffolds Improved with Hyaluronic Acid and Chondroitin Sulfate for Cartilage Regeneration**

Sorina Dinescu,<sup>1</sup> Bianca Gălățeanu,<sup>1</sup> Mădălina Albu,<sup>2</sup> Adriana Lungu,<sup>3</sup> Eugen Radu,<sup>4</sup> Anca Hermenean,<sup>5,6</sup> and Marieta Costache<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Bucharest, 91-95 Splaiul Independenței, 050095 Bucharest, Romania

<sup>2</sup> Collagen Department, Leather and Footwear Research Institute, 93 km Mîrlenești, 031215 Bucharest, Romania

<sup>3</sup> Advanced Polymer Materials Group, Department of Biosources and Polymer Science, University Politehnica of Bucharest, 140 Galata Victoriei, 060072 Bucharest, Romania

<sup>4</sup> Molecular Biology and Pathology Research Lab "Molmujer", University Hospital Bucharest, 169 Splaiul Independenței, 050068 Bucharest, Romania

<sup>5</sup> Department of Histology, Faculty of Medicine, Pharmacy and Dentistry, Vasilie Goldis Western University of Arad, 1 Pășcuțului, 301096 Arad, Romania

<sup>6</sup> Department of Experimental and Applied Biology, Institute of Life Sciences, Vasilie Goldis Western University of Arad, 86 Rebreanu, 310414 Arad, Romania

Correspondence should be addressed to Marieta Costache; marietacostache@yahoo.com

Received 19 July 2013; Accepted 27 September 2013

Academic Editor: Antonio Salgado

Copyright © 2013 Sorina Dinescu et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

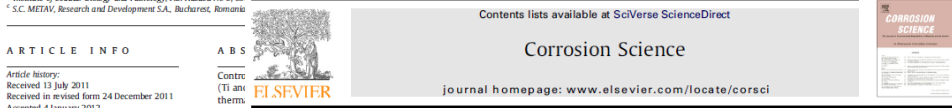
Cartilage tissue engineering (CTE) applications are focused towards the use of implantable biobrids consisting of biodegradable scaffolds combined with in vitro cultured cells. Hyaluronic acid (HA) and chondroitin sulfate (CS) were identified as the most potent prochondrogenic factors used to design new biomaterials for CTE, while human adipose-derived stem cells (ASCs) were proved to display high chondrogenic potential. In this context, our aim was not only to build novel 3D porous scaffolds based on natural compounds but also to evaluate their in vitro biological performances. Therefore, for prospective CTE, collagen-sericin (Coll-Ser) scaffolds improved with HA (5% or 10%) and CS (5% or 10%) were used as temporary physical supports for ASCs and were analyzed in terms of structural, thermal, morphological, and swelling properties and cytotoxic potential. To complete biocompatibility data, ASCs viability and proliferation potential were also assessed. Our studies revealed that Coll-Ser hydrogels improved with 10% HA and 5% CS displayed the best biological performances in terms of cell viability, proliferation, morphology, and distribution. Thus, further work will address a novel 3D system including both HA 10% and CS 5% glycoproteins, which will probably be exposed to prochondrogenic conditions in order to assess its potential use in CTE applications.

← **ISI = 2.88**



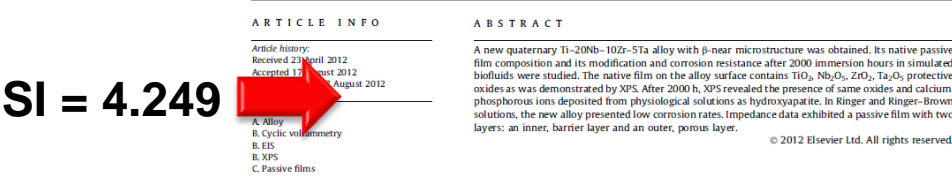
Changing bioperformance of TiO<sub>2</sub> amorphous nanotubes as an effect of inducing crystallinity  
← **ISI = 3.947**

A. Mazare<sup>a</sup>, M. Dilea<sup>a</sup>, D. Ionita<sup>a\*</sup>, I. Titorencu<sup>b</sup>, V. Trusca<sup>b</sup>, E. Vasile<sup>c</sup>  
<sup>a</sup> University Politehnica of Bucharest, Faculty of Applied Chemistry and Materials Science, Polizu no 1-7, 011061, Bucharest, Romania  
<sup>b</sup> Institute of Cellular Biology and Pathology, P.B. Hristu No 8, 05-55.C. METAV, Research and Development S.A., Bucharest, Romania



Surface analysis and corrosion resistance of a new titanium base alloy in simulated body fluids

C. Vasilescu<sup>a</sup>, S.I. Drob<sup>a\*</sup>, E.I. Neacsu<sup>a</sup>, J.C. Mirza Rosca<sup>b</sup>  
<sup>a</sup>Romanian Academy, Institute of Physical Chemistry "Ilie Murgulescu", Spl. Independenței 102, 060021 Bucharest, Romania  
<sup>b</sup>Las Palmas de Gran Canaria University, 35012 Tafira, Spain



← **ISI = 4.249**

12 articole cu ISI > 2  
4 articole cu ISI > 3  
2 articole cu ISI > 4  
5 articole in revizie cu 4 < ISI > 6  
>50 citari

# Rezultate raportate 2010-2013

- 105 conferinte nationale si internationale (comunicari orale si/sau postere)
- trei cereri de brevet depuse la O.S.I.M. dintre care **doua au fost deja aprobate**
- formarea continua a numerosi tineri cercetatori atat prin finantarea unor stagii de pregatire profesionala, cat si prin asigurarea resurselor necesare sustinerii tezelor de dizertatie si doctorat (7 teze de doctorat finalizate si 12 lucrari dizertatie master)



# Rezultate raportate 2010-2013

- **workshop-ul** "Noi concepte si strategii pentru dezvoltarea cunoasterii unor noi structuri biocompatibile in bioinginerie", Bucuresti, iunie 2012

## WORKSHOP

### "NOI CONCEPTE SI STRATEGII PENTRU DEZVOLTAREA CUNOASTERII UNOR NOI STRUCTURI BIOCOMPATIBILE IN BIOINGINERIE"

organizat de

UNIVERSITATEA DIN BUCURESTI

in colaborare cu

Institutul de Biologie si Patologie Celulara „Nicolae Simionescu”

Universitatea Politehnica Bucuresti: Facultatea de Chimie Aplicata si Stiinta Materialelor si Centrul de Cercetari pentru Protectia Mediului si Tehnologii Ecologice

Institutul de Chimie Fizica "Ilie Murgulescu"

Universitatea Babeş-Bolyai Cluj Napoca

Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Chimie si Petrochimie Bucuresti - ICECHIM

in cadrul proiectului de cercetare  
PCCE248/2010

## Comitetul stiintific:

*Prof. Dr. Marieta Costache*

*Acad. Dr. Maya Simionescu*

*Conf. Dr. Anisoara Cimpean*

*Dr. Victor Jinga*

*Prof. Dr. Horia Iovu*

*Prof. Dr. Ioana Demetrescu*

*Dr. Mihai Vasile Popa*

*Dr. Ecaterina Vasilescu*

*Prof. Dr. Viorica Simon*

*Dr. Doina Dimonie*

## Comitetul de organizare:

*Prof. Dr. Marieta Costache*

*Dr. Bianca Galateanu*

*Drd. Sorina Dinescu*

*Oana Andreea Calciu*

*Rebeca Gustin*





# Rezultate raportate 2010-2013

- **monografia:** “Advanced Biocompatible Structures for Prospective Bioengineering: Concepts and Strategies”, coordonatori Prof. Dr. Marieta Costache si Acad. Dr. Maya Simionescu, Editura Academiei Romane, ISBN 978-973-27-2317-3.



### 3 proiecte tip JRP cu Franta si Norvegia

\* “**BIO**compatible **Med**ical **IM**plants **E**laborated from nitrided **Ti**tanium-based **S**uperelastic alloys” (2013)

### Colaborari internationale

Franta –ERANET  
Argentina  
Germania –ERANET  
Spania

### Parteneriate: depuse >6 propuneri

\* “Dezvoltarea unor biomateriale compozite biopolimer-grafena pentru fabricarea scaffold-urilor pentru reparare osoasa prin combinarea tehnicilor experimentale cu modelarea moleculara la multiscala”

\* “Produse inovative pe baza de compozite din matase naturala si polimeri sintetici cu aplicatii in bioingenia tisulara”

Sustenabilitate

### Colaborari cu IMM-uri

- LMS Plastic Surgery Clinique
- Stofe Buhusi S.A.
- Tanex S.R.L.
- I.C.P.E. Bistrita S.A.
- Ortovit S.R.L.

*Dorim sa adresam calde **multumiri** dnei **Prof Dr. Dana Iordachescu** pentru conceptul proiectului, crearea consortiului si intreaga sustinere in depunerea si castigarea proiectului.*



*Multumesc*

**pentru atentie!**