



REZUMAT

TEZĂ DE DOCTORAT

Drd. Dragoș Rădulescu

Coordonator Științific: Prof. Dr. Adrian Barbilian

București, 2018



Suprafețe bioactive și nanostructurate în endoprotezele articulare



În 2015, numai în Statele Unite s-a înregistrat un număr de peste 427.000 de intervenții de artroplastie totală de șold, acestea având un rol esențial în creșterea calității vieții pacienților. Deoarece rata de eșec a implantului în momentul de față se află sub 1% pe an, 90% dintre pacienții operați păstrează o bună funcție a protezei chiar și la 10 ani postoperator [173]. Cercetarea în acest domeniu are ca scop tocmai creșterea biocompatibilității materialelor folosite în fabricarea protezelor totale de șold și, în consecință, a creșterii duratei de supraviețuire a implantului.

În ultimii ani, numărul tipurilor de proteze totale de șold a crescut enorm, existând astăzi peste 60 de astfel de proteze, care concurează pentru obținerea celor mai bune rezultate postoperatorii. Tendința actuală este de a obține o proteză ideală de utilizare viageră, dar acest lucru este încă departe de a fi realizat.

Ținând cont de faptul că, pentru un implant de șold, compoziția chimică și design-ul acesteia pot varia de la un model la altul, alegerea unei proteze ar trebui să fie realizată în urma unui studiu cu privire la implicațiile biomecanice, de biocompatibilitate, posibile efecte legate de forma implantului și mai ales de proprietățile materialelor utilizate.

Cum era de așteptat, fiecare proteză prezintă avantaje și dezavantaje. Problema care apare este legată de alegerea tipului de implant care se poate substitui mai bine caracteristicilor articulației șoldului și care se poate adapta mai bine la nevoile ulterioare ale fiecărui pacient în parte. O proteză bună ar trebui să prezinte următoarele caracteristici: rezistență adecvată pentru a putea suporta solicitările repetate ale greutății corpului pe toată durata funcționării implantului, fără să apară fracturi cauzate de oboseala componentelor acesteia; frecarea trebuie să fie minimă între suprafețele articulare; rezistență mare la uzură; fixare solidă și durabilă la nivelul osului; rezistență la coroziune sau degradare în mediul fizico-chimic activ al organismului uman; biocompatibilitate ridicată, cât și tehnologie de fabricație relativ simplă și ieftină.

Scopul și obiectivele studiului

Scopul acestui studiu a fost evaluarea ratei de succes a artroplastiei pe un eșantion de populație din România și evaluarea *in vitro* și *in vivo* a unor suprafețe bioactive cu



proprietăți biocompatibile și antimicrobiene destinate îmbunătățirii protezelor de șold, în scopul reducerii ratei de eșec.

Pentru îndeplinirea acestui scop au fost fixate următoarele **obiective**:

- realizarea unui studiu clinic de monitorizare funcțională și radiologică a evoluției pacienților cu artroplastie totală de șold pe o perioadă de 7 ani;
- obținerea, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antimicrobiene și biocompatibilității unor materiale destinate obținerii unor acoperiri optimizate pentru protezele de șold.

CAPITOLUL 2. STUDIU RETROSPECTIV DE MONITORIZARE FUNCȚIONALĂ ȘI RADIOLOGICĂ A EVOLUȚIEI PACIENȚILOR CU ARTROPLASTIE TOTALĂ DE ȘOLD

Artroplastia totală de șold este o procedură chirurgicală de succes care prezintă o rată de eșec de aproximativ 10% la 10 ani după intervenție. Cauzele eșecului chirurgical sunt în principal legate de slăbirea aseptică a uneia sau a ambelor componente din cauza uzurii suprafeței articulare sau a design-ului implantului. Studiul publicat de Barbara Bordini și colaboratorii [178] a avut ca scop identificarea factorilor de risc și efectul lor asupra complicațiilor aseptice. Studiul a fost unul variat, aplicat pe un număr de 4750 de intervenții de artroplastie totală de șold din perioada 1995 până în 2000. Aceștia afirmă faptul că supraviețuirea protezei este afectată de sexul pacientului, vârsta, patologiiile asociate, tipul de proteză folosit, cât și de experiența chirurgului. Cele mai nefavorabile condiții le întâlnim la pacienții de sex masculin, cu vârste mai mici de 40 de ani, afectați de sechele ale unor boli congenitale, operați de un chirurg ce a intervenit în cazul a mai puțin de 400 de artroplastii totale de șold de-a lungul practicii sale. În plus, componentele cimentate care sunt mai ieftine au un risc mai mare de a se degrada comparativ cu cele necimentate care sunt mai scumpe.

Singurul factor ce poate fi modificat și afectează durata de viață a protezei este tipul implantului: un cost mai mic al acestuia asociază un risc mai mare de complicații. Există neconcordanțe în ceea ce privește compararea rezultatelor riscurilor asociate



componentelor cimentate față de cele necimentate deoarece există țări unde acest tip de implant necimentat este predominant [178].

Din punct de vedere terapeutic artroplastia totală de șold este o intervenție chirurgicală foarte standardizată ce s-a dovedit foarte eficientă. Totuși, într-un număr de cazuri, artroplastia poate fi un eșec, fie imediat postoperator, sau chiar la distanță de câțiva ani de la momentul operației. O artroplastie de șold este considerată eficientă atunci când rata de succes la 10 ani postoperator este de cel puțin 90% [179] conform ghidurilor NICE.

Rezultatele studiului de evaluare a evoluției pacienților cu proteză de șold sunt prezentate separat pentru cele 2 componente: piesa acetabulară și cea femurală.

Pacienții au fost clasificați în funcție de variabilele care au fost introduse în analiza multivariată. Aceștia au primit proteze cimentate în 61,71% din cazuri, implanturi necimentate în 27,49% din cazuri și 10,80% hibriduri și hibriduri inversate din totalul implanturilor folosite. Componentele femurale și acetabulare au fost clasificate pe baza caracteristicilor lor care țin de design și materialele din care sunt confecționate (Tabelele 2, 3).

Pentru a determina factorii care influențează rata de supraviețuire a componentelor protetice am urmărit toate artroplastii totale de șold implantate în aceeași instituție. Cohorta a fost destul de mare pentru a include criterii precum vârsta, sexul, diagnosticul inițial, scorul Charnley, partea operată (stânga-dreapta), experiența chirurgului și tipul de componentă implantată (Fig. 39-50). Frecvența cu care unele variabile au fost distribuite (vârsta, experiența chirurgului) este clar diferită în funcție de tipul de implant. Prin alegerea lotului analizat între anii 2006-2010 am putut include în studiu tipuri de proteze care sunt încă moderne și în același timp au o perioadă de urmărire postoperatorie destul de îndelungată pentru a evidenția rata eșecurilor.

Din momentul în care pacienții au fost operați, ei au fost monitorizați; dacă pacienții nu se prezentau la controalele clinice periodice, ei erau contactați telefonic sau erau rugați să completeze un chestionar. Acest lucru a fost acceptat deoarece momentul de sfârșit al urmăririi implantului (revizia) a fost independent față de ultimul examen clinic. Momentul de sfârșit ales este fără discuții un parametru grosier, care nu ia în considerare

calitatea vieții pacientului și recuperarea funcției membrului operat, dar are ca punct forte caracterul obiectiv al său.

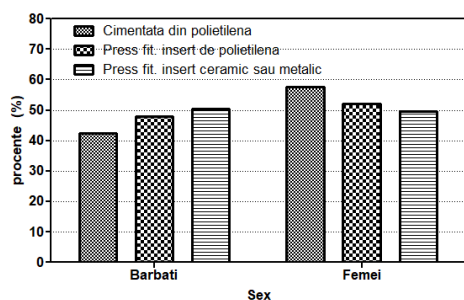


Figura 1. Reprezentarea grafică a tipului de componentă acetabulară în funcție de sex.

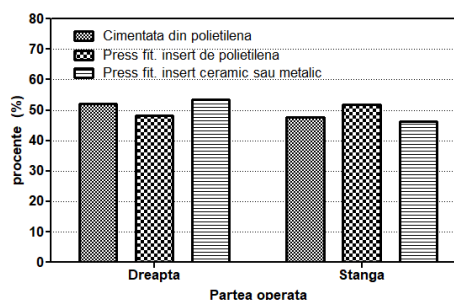


Figura 2. Reprezentarea grafică a tipului de componentă acetabulară în funcție de partea operată.

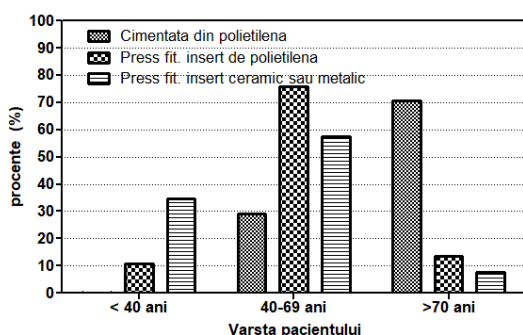


Figura 3. Reprezentarea grafică a tipului de componentă acetabulară în funcție de vârsta pacientului.

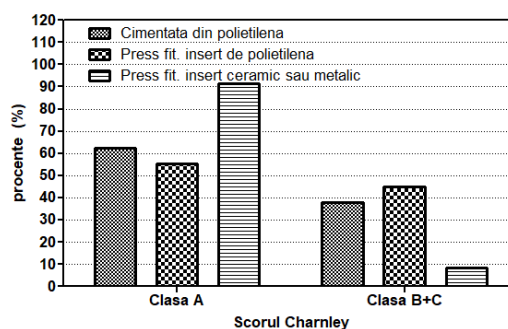


Figura 4. Reprezentarea grafică a tipului de componentă acetabulară în funcție de Scorul Charnley.

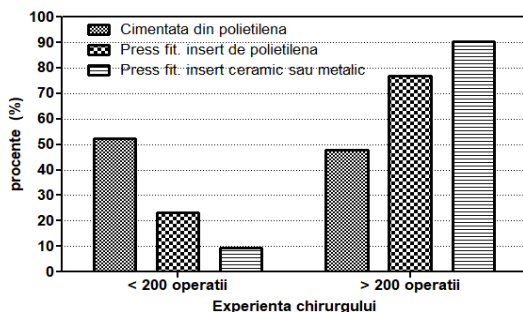


Figura 5. Reprezentarea grafică a tipului de componentă acetabulară în funcție de experiența chirurgului.

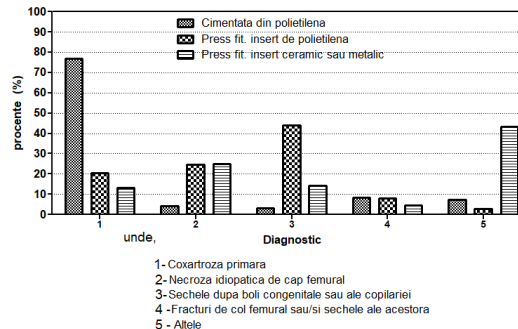


Figura 6. Reprezentarea grafică a tipului de componentă acetabulară în funcție de diagnostic.

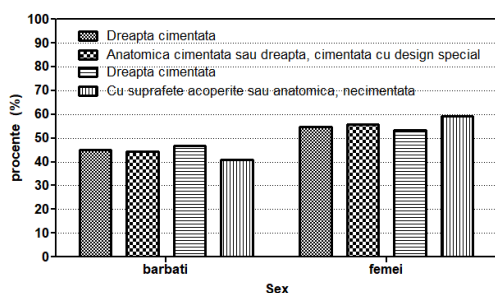


Figura 7. Reprezentarea grafică a tipului de componentă femurală în funcție de sex.

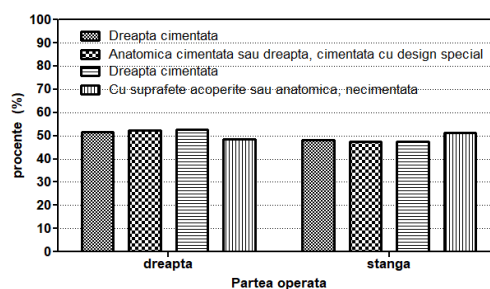


Figura 8. Reprezentarea grafică a tipului de componentă femurală în funcție de partea operată.

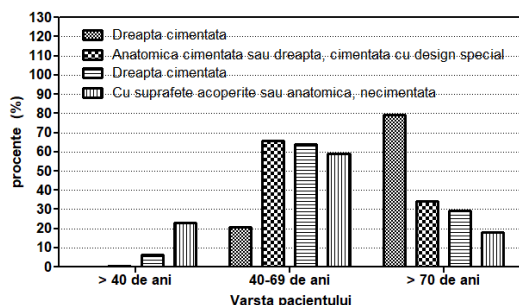


Figura 9. Reprezentarea grafică a tipului de componentă femurală în funcție de vârsta pacientului.

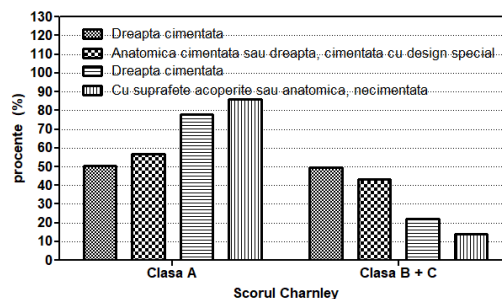


Figura 10. Reprezentarea grafică a tipului de componentă femurală în funcție de Scorul Charnley.

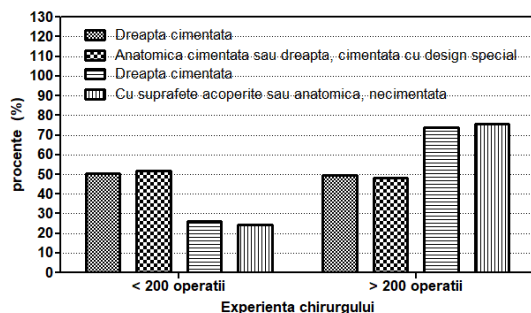


Figura 11. Reprezentarea grafică a tipului de componentă femurală în funcție de experiența chirurgului.

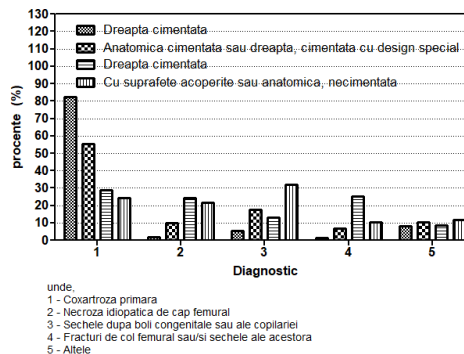


Figura 12. Reprezentarea grafică a tipului de componentă femurală în funcție de diagnostic.

Unele date obținute din această analiză susțin informații obținute de alți autori în studii comparabile. Așa cum s-a menționat și în literatura de specialitate, riscul de eșec al



implantului este crescut odată cu vârsta scăzută a pacientului, sexul masculin și anumite patologii asociate [174, 180-182]. Aceste variabile care constituie caracteristici ale pacientului nu pot fi schimbate. Totuși, cunoscând influența pe care acești factori o pot avea, acest lucru este de ajutor pentru o interpretare corectă a analizei noastre. Rezultatul interesant care a apărut în urma acestui studiu este că printre factorii ce influențează rata de eșec a implantului sunt și experiența chirurgului și tipul de fixare la os al protezei.

Eșecul artroplastiei care constă în mobilizarea uneia sau ambelor componente protetice poate fi septică (atunci când s-a constituit o infecție la nivelul interfeței dintre implant și os) sau aseptică denumită și mecanică (când nu există semne clinice sau paraclinice de infecție). Acestea pot avea tot o cauză intraoperatorie, dar simptomele nu au apărut imediat datorită unei cantități mici de germeni prezenți intraarticular, a virulenței scăzute a agentului patogen cauzator sau a unor efecte adverse locale care au întârziat colonizarea bacteriană. Cu siguranță că nu toate infecțiile precoce au cauză chirurgicală, la fel cum nu toate infecțiile tardive au o altă cauză neprecizată [178]. Centralizarea infecțiilor apărute la lotul de pacienți analizați este prezentată în Tabelul 4.

Momentul manifestării infecției este de asemenea un factor important în clasificarea infecțiilor articulației șoldului. Din punct de vedere istoric, acestea au fost clasificate în acute sau cronice. De-a lungul anilor s-a ajuns la concluzia că este necesară o diferențiere mai amănunțită a infecțiilor, în funcție de debutul exact al acestora. Astfel, infecțiile de la nivelul șoldului sunt clasificate ca fiind precoce, cu debut întârziat sau tardive. Deși acești termeni sunt acceptați în mod general există o discrepanță în ceea ce privește perioadele ce definesc această clasificare. Unii autori definesc toate infecțiile ce apar în primele 6 săptămâni postoperator ca fiind precoce, în timp ce alții extind această perioadă până la 12 săptămâni postoperator. Infecțiile precoce sunt cauzate de o contaminare intraoperatorie. Perioada dintre primele 6-12 săptămâni până la 24 de luni postoperatorii definesc infecțiile cu debut întârziat. Infecțiile tardive apar la cel puțin 2 ani postoperator. Acestea sunt dobândite hematogen în majoritatea cazurilor, 20-40% din cazuri rămânând fără o cauză precisă. În ultimii ani a fost descrisă infecția de intensitate redusă cu simptomatologie redusă locală și manifestări subacute prelungite. Rezultatele histopatologice și



microbiologice pot fi pozitive. Practic, toate aceste definiții sunt niște încercări de a separa infecțiile ce au cauză chirurgicală de cele ce nu au această cauză.

Repartizarea tipului de infecție în funcție de diferiți parametri este prezentată în figurile 51-58.

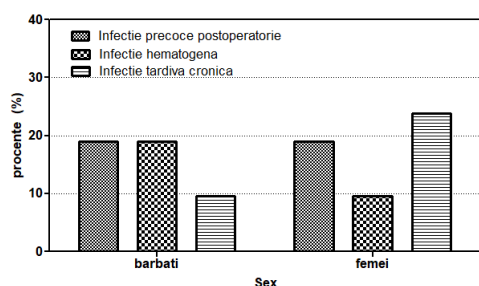


Figura 13. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de sex.

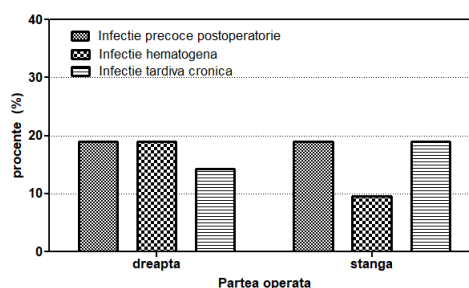


Figura 14. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de partea operată.

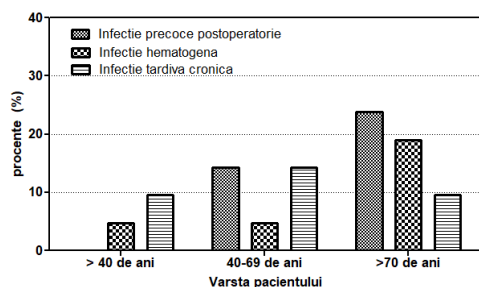


Figura 15. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de vârsta pacientului.

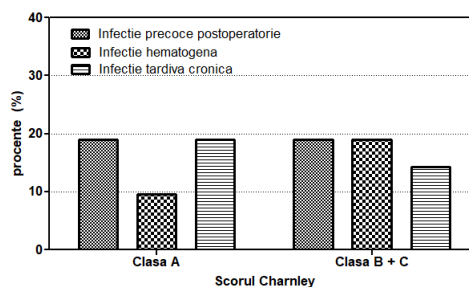


Figura 16. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de Scorul Charnley.

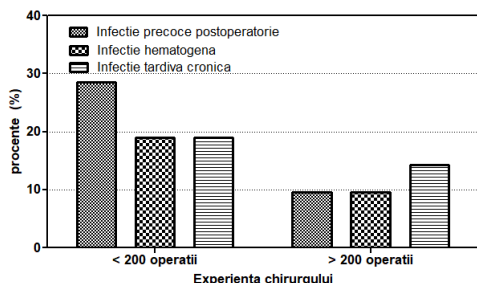


Figura 17. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de experiența chirurgului.

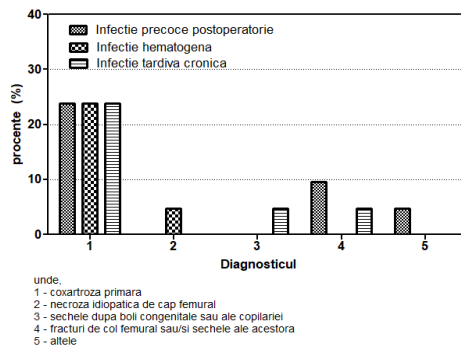


Figura 18. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de diagnostic

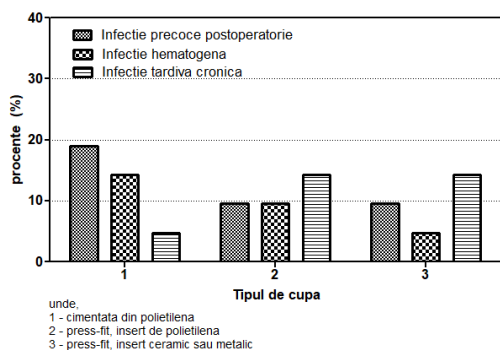


Figura 19. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de tipul de cupă

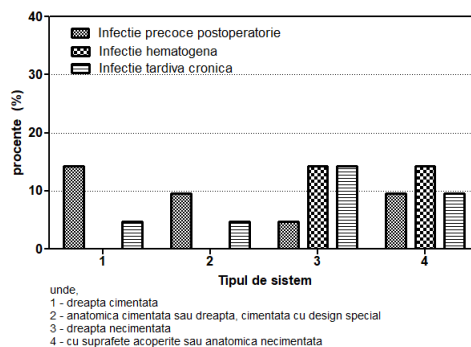


Figura 20. Reprezentarea grafică a tipului de infecție în funcție de tipul de stem.

Rata de eșec a artroplastiiilor totale de șold este mică, dar ea este variabilă și poate fi influențată de factori multipli care țin de tipul de proteză folosit, acuratețea tehnicii chirurgicale de implantare sau caracteristicile pacientului. Cum acestea din urmă nu pot fi schimbate, singurele care pot fi influențate sunt cele legate de chirurg și de alegerile acestuia. Literatura conține numeroase studii referitoare la factorii ce influențează ratele de eșec ale implanturilor, dar majoritatea sunt efectuate pe un eșantion mic de pacienți. Poon [183] a observat că atât greutatea, cât și vârsta pacienților au un efect asupra rezultatului unei artroplastii totale de șold cimentate. Kobayashi [184] a efectuat un studiu pe 293 de pacienți cărora li s-a implantat o proteză totală primară de șold Charnley și a observat că apariția uzurii rapide a polietilenei și o geometrie anormală a canalului medular al femurului pot grăbi decimentarea componentelor. Kolundzic [185] a observat că factorii



demografici explică doar în mică măsură variabilitatea ratei de supraviețuire a implantului pe un eșantion de 82 de pacienți cu cupe necimentate.

Cele mai exhaustive studii au luat în calcul mai ales pacienți tratați cu proteze totale cimentate. Printre ele se află și studiul lui Berry ce a analizat un eșantion de 2000 de pacienți protezați primar cu un implant de tip Charnley cu un “follow up” postoperator de 25 de ani. Acest studiu a demonstrat faptul că vârsta pacienților, sexul și patologiiile asociate au afectat pe termen lung supraviețuirea ambelor componente [186]. Dawson [187] a analizat 598 de cazuri de artroplastii totale cimentate și nu a descoperit diferențe semnificative între cele 2 modele de implant folosite. Așa cum s-a precizat și mai sus, slăbiciunea acestor studii pe termen lung este faptul că accesează și compară rate de succes sau eșec ale unor proteze cu tehnologii și design-uri învechite [188]. O comparație între protezele cu tipuri diferite de fixare (cimentate vs necimentate) este redusă la câteva studii clinice ce indică rezultate mai bune în cazul componentelor necimentate [189-191].

Analizele efectuate folosind registrele de pacienți din regiunea de nord a Europei explică doar parțial această problemă deoarece există o prevalență clară a implanturilor cimentate cu cuplu metal-polietilenă.

De fapt, 93.1% dintre protezele implantate la pacienți în Suedia între anii 1979 și 2004 [192], și 80% din cele folosite în Norvegia între anii 1987 și 2004 [193] au fost cimentate. Această cifră este mai mică în alte țări precum Danemarca sau Finlanda, înregistrându-se valori de 49,8% respectiv 55% între anii 1995-2004 [194] respectiv 1980-2003 [178]. Datele colectate din Marea Britanie sunt doar din anul 2004 și, deși doar 49% dintre proteze au fost cimentate, acestea nu pot fi folosite în vederea efectuării unei analize amănunțite [195].

Totuși, o analiză a datelor din registrul Norvegian a arătat că în cele peste 53.000 de intervenții chirurgicale, unele patologii precum sechele post fractură de col femural, displazie congenitală de șold sau alte boli rare pot reprezenta factori de risc pentru supraviețuirea implantului [196].

Atunci când analiza s-a limitat la pacienții tineri ce prezintă modificări artrozice, Eskelinen a arătat că vârsta sau sexul pacientului influențează rezultatul [180].

De asemenea, Registrul din Danemarca a identificat vârsta și sexul pacientului ca fiind factori importanți în evaluarea duratei de viață a implantului[195].

Din cauza naturii intervenției chirurgicale, nici una dintre aceste analize nu a luat în considerare ca factori de risc tipul de fixare al implantului. Doar atunci când a fost analizată baza de date a Finlandei, Visuri [181] a descoperit că factori precum vârsta scăzută a pacienților, sexul masculin, un implant necimentat cât și primii 10 ani postoperatori reprezintă factori de risc pentru apariția unei mobilizări a implantului.

Luând în considerare aceste lucruri am analizat datele unui eșantion de pacienți cu un follow-up de minim 7 ani ce include atât implanturi cimentate, cât și necimentate pentru a determina influența caracteristicilor pacientului, experiența chirurgului și tipul de proteză folosit asupra supraviețuirii implantului.

În analiza degradării componentelor acetabulare, numărul total de cazuri valabile a fost de 48 dintre care în 17 de cazuri nu s-a practicat nici o intervenție chirurgicală iar 31 de cazuri au fost revizuite. 27 de pacienți dintre cei 48 au prezentat și degradarea componentei femurale în același timp.

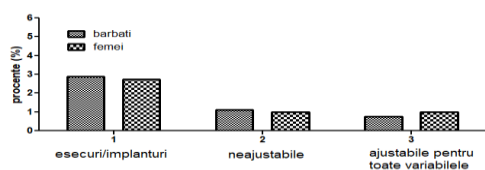


Figura 21. Reprezentarea grafică pentru esecuri ale componentei acetabulare în funcție de sex.

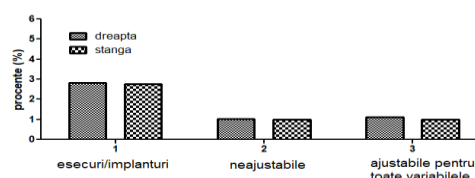


Figura 22. Reprezentarea grafică pentru esecuri ale componentei acetabulare în funcție de partea operată.

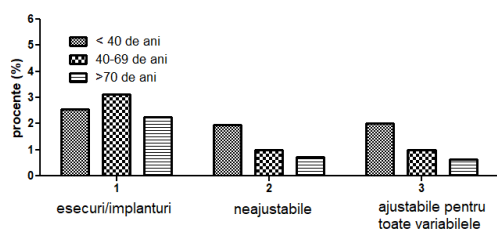


Figura 23. Reprezentarea grafică pentru esecuri ale componentei acetabulare în funcție de vârsta pacientului.

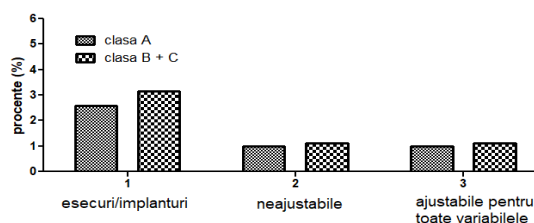


Figura 24. Reprezentarea grafică pentru esecuri ale componentei acetabulare în funcție de Scorul Charnley.

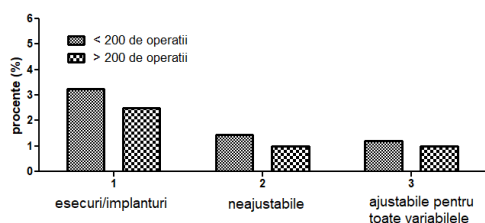


Figura 25. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei acetabulare în funcție de experiența chirurgului.

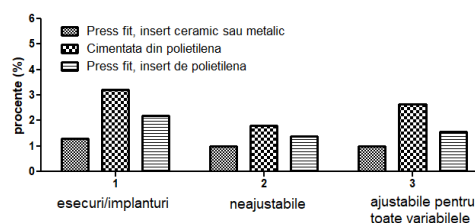


Figura 26. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei acetabulare în funcție de tipul de cupă.

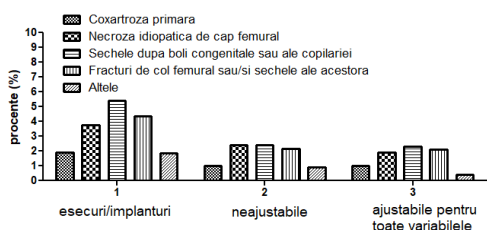


Figura 27. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei acetabulare în funcție de diagnostic.

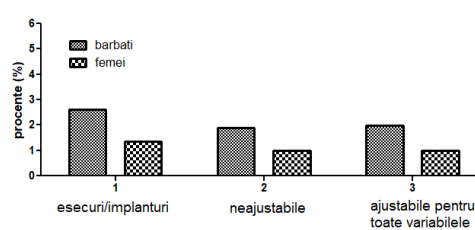


Figura 28. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei femurale în funcție de sex

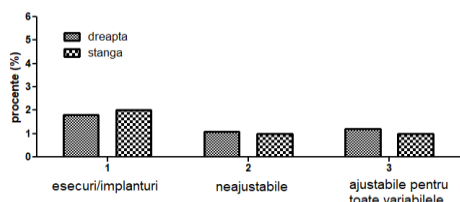


Figura 29. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei femurale în funcție de partea operată.

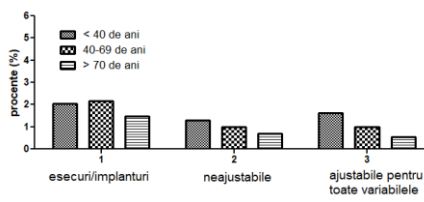


Figura 30. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei femurale în funcție de vârsta pacientului.

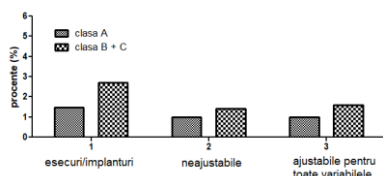


Figura 31. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei femurale în funcție de Scorul Charnley.

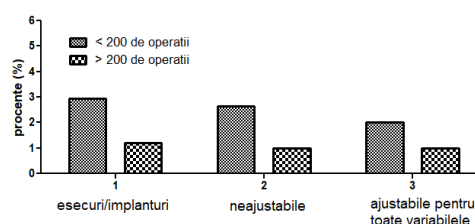


Figura 32. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei femurale în funcție de experiența chirurgului.

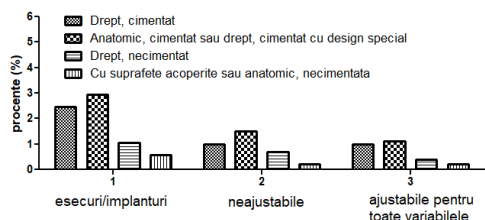


Figura 33. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei femurale în funcție de tipul de stem.

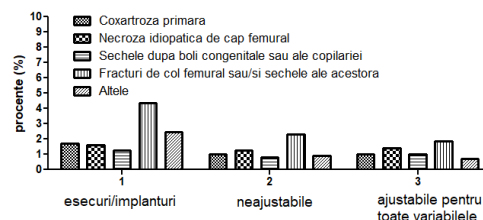


Figura 34. Reprezentarea grafică pentru eșecuri ale componentei femurale în funcție de diagnostic.

Rezultatul nu este afectat semnificativ de starea biologică și co-morbiditățile pacientului, de membrul inferior pe care s-a efectuat artroplastia (stângul/dreptul) sau de experiența chirurgului.

Durata de supraviețuire a componentei acetabulare este semnificativ scurtată de infectarea artroplastiei, dar nu există diferențe semnificative între cupele cimentate și cele necimentate sau caracteristicile lor tehnice. În analiza eșecului componentei femurale numărul total de cazuri valabile a fost de 33 dintre care în 8 cazuri nu s-a practicat nici o intervenție chirurgicală, iar 25 au fost revizuite.

Rezultatul nu este afectat semnificativ de către scorul Charnley, membrul operat (stângul/dreptul) sau diagnosticul inițial. Durata de supraviețuire a componentei femurale este semnificativ scurtată de infectarea artroplastiei, dar nu există diferențe semnificative între cozile cimentate și cele necimentate sau caracteristicile lor tehnice.

Atât cupa, cât și coada au o rată de supraviețuire scăzută atunci când vârsta pacienților este sub 40 de ani sau când fixarea componentelor este de tip cimentat. În plus, rata de supraviețuire a cupei este mai scăzută în cazul protezelor implantate pentru maladia congenitală luxantă a șoldului sau după fracturi de col femural și sechelele acestora. În schimb, supraviețuirea cozii nu este afectată de existența unei patologii asociate, dar este afectată negativ de factori precum sexul masculin sau o experiență scăzută a chirurgului.

Experiența chirurgului este un aspect extrem de delicat, care poate depinde de nivelul de încredere al spitalului în care se practică intervenția mai mult decât de



experiența lui personală. Pacienții cu risc crescut, care oricum nu pot fi internați în spitale din apropierea domiciliului, ar putea fi tratați mai bine în centre specializate. Trebuie reamintit faptul că datele prezentate în acest studiu provin din intervenții chirurgicale efectuate într-un centru ultra-specializat ce includ cazuri complexe care, în consecință, au fost tratate de chirurghi cu o foarte mare experiență.

Un alt factor important ce poate fi ameliorat este implantul protetic. Componentele necimentate sunt mult mai puțin predispuse la eșec decât cele cimentate. Totuși, rezultatele noastre par să nu fie aceleași comparativ cu celelalte registre [197]. La o citire mai atentă a datelor obținute se observă că, odată cu creșterea experienței în folosirea componentelor necimentate, diferența de rezultate obținute între cele 2 tipuri de implant scade și eficacitatea protezelor necimentate este net superioară în cazul pacienților tineri [180, 196] și de vârste medii [194].

În ceea ce privește cupa, celelalte variabile fiind egale, rata de eșec a cupei de tip press-fit cu insert de polietilenă a fost mai redusă cu 50% față de folosirea unei cupe monobloc de polietilenă și cu 66% atunci când s-a folosit o cupă de tip press-fit cu insert ceramic.

În ceea ce privește stemul, nu au existat diferențe semnificative având în vedere rata eșecului comparându-se un stem cimentat drept și un stem cimentat anatomic. În schimb, comparând rata de eșec a unui stem necimentat față de unul cimentat s-a observat o scădere a valorilor cu 60%.

În sfârșit, stemurile necimentate anatomice sau/și acoperite au o rată de eșec mai mică cu 80% față de stemurile cimentate drepte.

Studiul efectuat prezintă anumite limite intrinseci ce nu pot fi evitate din cauza ratei mici de revizii (mai puțin de 3%) post artroplastie totală de șold. Rata de revizie este din fericire mai mică decât cea admisă de NICE [179]. Din acest motiv s-a folosit o metodă statistică non-parametrică care a putut evalua corect rezultatele.

Această analiză oferă baza unei evaluări cost-eficiență ce tinde să stabilească dacă un anumit rezultat clinic poate fi obținut concomitent cu reducerea resurselor folosite. Din



punct de vedere strict etic rezultatul oferă o alegere clară a indicației, dar existența unei resurse economice compatibile poate fi determinată doar prin politica de sănătate. O analiză de cost-beneficiu trebuie să ia în calcul și faptul că această intervenție chirurgicală se efectuează la pacienți vârstnici ce necesită o durată de spitalizare mai mare cu o recuperare mai de lungă durată. Astfel, este nevoie de existența și a unor centre de recuperare care deseori lipsesc și, astfel, pacienții vârstnici trebuie de multe ori să se bazeze pe ajutorul familiei.

Pe lângă aspectele sociale nu trebuie subestimate nici dificultățile tehnice. Uneori, chirurgii sunt puși în fața unor cazuri dificile și trebuie să facă niște alegeri curajoase. Totuși, analiza cost-eficiență nu reprezintă tema acestui raport care se limitează la prezentarea unor date pentru o elaborare corectă [198, 199]. Se readuce aminte că datele provin de la o serie de pacienți și cuprind folosirea de implanturi atât cimentate, cât și necimentate spre deosebire de bazele de date mari din nordul Europei ce arată că implanturile cimentate au rezultate mai bune [200, 201] sau cel puțin la fel de bune ca cele necimentate [202]. Din moment ce implanturile cimentate sunt mai ieftine, ele sunt mai avantajoase din punct de vedere al raportului cost-eficiență. Datele prezentate ce nu includ doar costurile materialelor folosite [203] pot determina o evaluare a raportului cost-eficiență mai apropiat de realitate în țări unde folosirea protezelor necimentate este mai răspândită.

Apariția unei infecții la nivelul unei artroplastii de șold reprezintă principalul factor care influențează negativ nu numai funcționalitatea protezei, dar și starea biologică a pacientului respectiv. Gradul de dotare al blocului operator, măsurile de asepsie și antisepsie, comportamentul echipei chirurgicale precum și antibioterapia preventivă perioperatorie sunt factori care pot influența rata infecțiilor. Cu toate acestea, rate de infecție se menține în jurul valorii de 1% din cazuri, indiferent de rigurozitatea acestor măsuri. În cazul mobilizărilor aseptice și în condițiile unei tehnici chirurgicale riguroase, singura variabilă care afectează durabilitatea implantului și care poate fi modificată de chirurg este tipul protezei. Rezultatele ce țin de riscul asociat protezelor cimentate sunt parțial neconcordanțe cu studiile efectuate în țări unde protezele cimentate sunt folosite mai des decât cele necimentate.



CAPITOLUL 3. OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ ȘI BIOLOGICĂ A UNOR MATERIALE ȘI ACOPERIRI UTILIZATE PENTRU STIMULAREA FIXĂRII LA INTERFAȚA OS-IMPLANT

Procesarea laser a compușilor organici sau a materialelor compozite organic/anorganic în ultimii ani s-a îndreptat către realizarea de filme subțiri sau structuri controlate cu suprafețe funcționalizate cu scopul de a testa aplicabilitatea lor în dispozitive electronice, senzori chimici și biologici, inginerie tisulară, în domeniul bioingineriei și cel farmaceutic, sisteme de eliberare, vindecarea ulcerărilor și în multe alte aplicații [204, 205].

3.1.1. Caracterizarea fizico-chimică a suprafețelor bioactive și nanostructurate pe bază de HA pentru stimularea fixării la interfața os implant

Pentru testarea caracterului anti-aderent al acoperirii pe bază de hidroxiapatită-colagen îmbunătățită cu cefepim, s-a urmărit efectul acesteia asupra producerii de biofilme în prezența a doi agenți patogeni: *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus*.

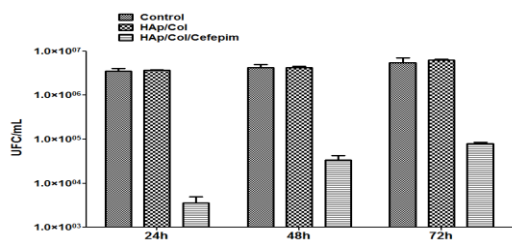


Figura 35. Formarea biofilmului de *E. coli* pe suprafețe nanostructurate pe bază de HA, collagen și agent terapeutic prin comparație cu controlul (suprafața neacoperită) la 24, 48 și 72h de la incubare la 37°C.

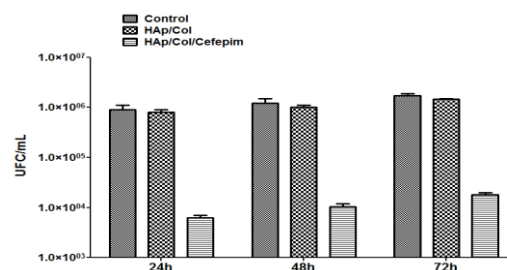


Figura 36. Formarea biofilmului de *S. aureus* pe suprafețe nanostructurate pe bază de HA, collagen și agent terapeutic prin comparație cu controlul (suprafața neacoperită) la 24, 48 și 72h de la incubare la 37°C.



Figura 101 ilustrează formarea biofilmului de *E. coli* pe suprafețele nanostructurate HA-Col, respectiv HA-Col-Cef în comparație cu controlul (suprafața neacoperită) la diferite intervale de timp: 24, 48 și, respectiv, 72 h de la incubarea la 37°C.

Se poate observa că după 24, 48 și 72 h de incubare, valoarea UFC/mL pentru suprafața pe care s-a depus doar Ha-Col este aceeași ca în cazul suprafeței neacoperite (1.0×10^6 - 1.0×10^7), suferind o ușoară creștere la o perioadă de timp de 72 h.

Pentru acoperirile îmbunătățite cu agentul terapeutic, cefepim, la 24 h de incubare este vizibilă o scădere considerabilă a nivelului de aderență microbiană, de 10^3 ori comparativ cu controlul. Odată cu creșterea timpului de inhibare se observă o dezvoltare a biofilmului, dar nu atât de mare ca în cazul probei neacoperite sau acoperite cu Ha-Col. Astfel, la 48 h aderența microbiană este inhibată de 10^2 ori mai mult decât pentru control sau pentru suprafața HA-Col. La 72 h valoarea UFC/mL este jumătate din cea determinată pentru control.

În figura 102 este evidențiată formarea biofilmului de *S. Aureus* pe suprafețele nanostructurate HA-Col, respectiv HA-Col-Cef comparativ cu controlul (suprafața neacoperită) la diferite intervale de timp: 24, 48 și 72 h de la incubarea la 37°C.

Pentru suprafețele acoperite doar cu Ha-Col, incubate 24, 48 și 72h la 37 °C, se observă aproximativ aceeași capacitate de formare a biofilmului bacterian *S. Aureus* ca pentru control (UFC/mL aprox. 1.0×10^6), dar la o valoare nu cu mult mai mică decât cea înregistrată în prezența agentului patogen *E. coli*.

La punerea în contact cu suprafața pe care a fost depusă HA-Col-Cef, capacitatea de dezvoltare a biofilmului este semnificativ inhibată raportat la proba neacoperită, pentru toate cele trei durate de timp. Creșterea perioadei de incubare, favorizează creșterea coloniilor bacteriene, la un interval de 24h, 48h, respectiv 72h, înregistrându-se o inhibare a aderenței microbiene de 10^3 , 10^2 , respectiv $10^{1.5}$ ori față de control.

În concluzie, figurile 101 și 102 evidențiază caracterul anti-aderent al acoperirii pe bază de hidroxiapatită-colagen îmbunătățită cu cefepim, fiind o alegere favorabilă împotriva dezvoltării de biofilme atât pentru *E. Coli*, cât și pentru *S. aureus*.

3.2.2. Evaluarea *in vivo* a biocompatibilității materialelor obținute

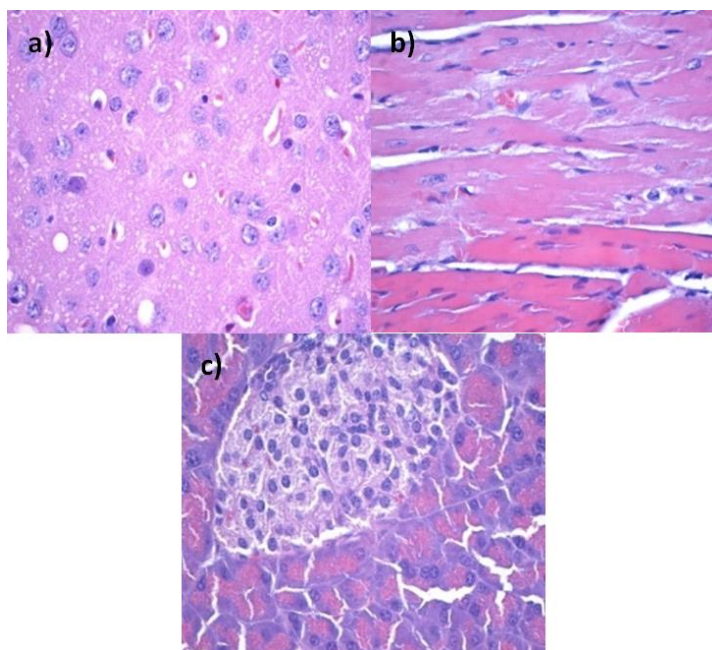


Figura 37. Examine histologice la nivelul creierului (a), miocardului(b) și pancreasului (c), x400, după 2 zile de la injectare.

Aspectele histologice ale principalelor organe interne ale șoarecilor de laborator (creier, ficat, miocard, pancreas, plămân, rinichi, splină) au fost investigate microscopic în vederea testării biocompatibilității și a biodistribuției nanocompozitului hidroxiapatită-colagen la nivelul acestora.

La două zile de la injectare, la nivelul creierului, miocardului și pancreasului, nu au fost observate nanostructuri hidroxiapatită-colagen (Figura 103 a, b, c).

După cele două zile, nanostructurile au fost prezente în ficat, plămân, rinichi și splină. Figura 104 prezintă analizele microscopice la nivelul acestor organe.

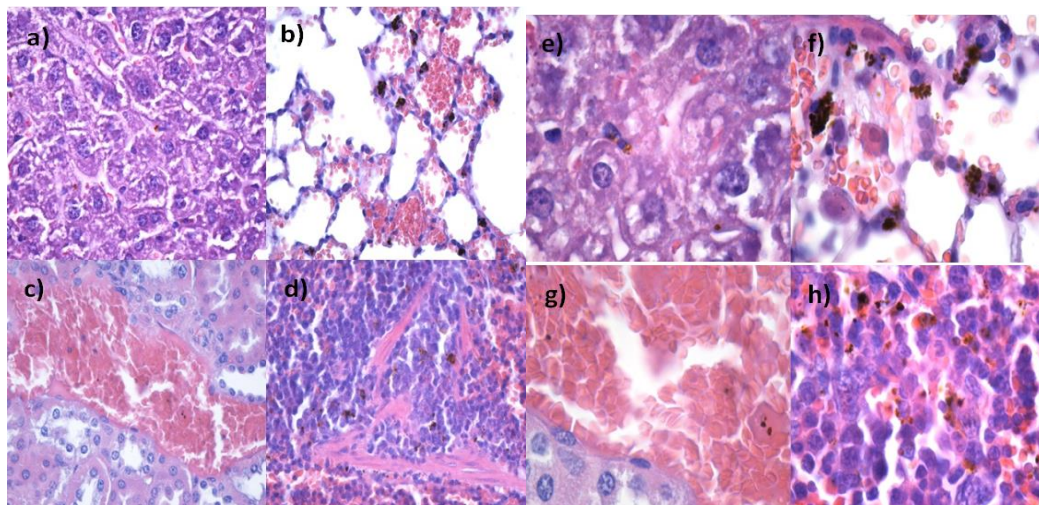


Figura 38. Examen histologice la nivel hepatic (a)x200, (e)x1000; pulmonar (b)x200, (f)x1000; renal (c)x400, (g)x1000 și în splină (d)x400, (h)x100, după 2 zile de la injectare.

La nivel hepatic, pentru cele trei probe, la două zile s-au evidențiat nanoparticule în concentrație scăzută atât în vasele de sânge, cât și în celulele Kupffer de la periferia capilarelor sinusoide hepatice. Densitatea nanoparticulelor în celulele Kupffer a fost variabilă de la o celulă la alta, direct proporțională cu dimensiunea capilarului sinusoid din parenchimul hepatic.

La nivel pulmonar, la două zile de la injectare, nanoparticulele au fost evidențiate în principal în macrofagele perivasculare și de la nivelul septurilor interalveolare. Densitatea nanoparticulelor a fost diferită în funcție de tipul celulelor. Cea mai mare densitate s-a evidențiat în macrofagele perivasculare și cea mai mică la nivelul macrofagelor din septurile interalveolare. Nanoparticulele s-au evidențiat și în celulele intravasculare ale sistemului monocito-macrofag. Se pare că celulele precursorale ale macrofagelor din măduva osoasă roșie (monocitele) au endocitat asemenea structuri, ipoteză care ar putea explica prezența nanoparticulelor și în lumenul vascular. Tot în lumenul vascular s-au evidențiat nanoparticule izolate, în afara celulelor, posibil în plachetele sanguine. De asemenea, la nivel sanguin ar putea exista transportori de nanoparticule care să aglutineze în condițiile de lucru de la obținerea preparatelor microscopice.

La nivel renal, după cele două zile de la injectare, nanoparticulele au fost identificate în concentrație scăzută, doar în vasele sanguine. În restul parenchimului renal



(glomeruli, tubi renali, stromă renală), nu s-au evidențiat nanoparticule.

În splină, la două zile, nanoparticulele au putut fi observate doar în pulpa roșie, în pulpa albă fiind absente. Cu toate acestea, este vizibilă hipertrofia pulpei albe, datorită faptului că nanoparticulele au stimulat formarea macrofagelor cu nucleu multilobular. În pulpa roșie, nanoparticulele s-au evidențiat la nivelul celulelor sistemului macrofagic atât în cordoanele Billroth, cât și în capilarele sinusoide. Nanoparticulele au apărut ca structuri granulare, aglomerate, sferice, de dimensiuni variabile, cu diametrul de până la 3 μm , de culoare cafenie-negricioasă. Densitatea nanoparticulelor a variat de la o celulă la alta, unele celule prezentând o cantitate mai mare de nanoparticule endocitate.

La zece zile de la injectare, din probele histologice au putut fi observate nanostructuri de hidroxiapatită-colagen doar la nivelul splinei.

Figura 105 demonstrează absența nanoparticulelor în celelalte organe evaluate (creier, ficat, miocard, pancreas, plămân și rinichi).

În splină, la 10 zile, nanoparticulele s-au evidențiat doar în pulpa roșie, în concentrație mai mare decât în proba recoltată la două zile (figura 106 a, b). În pulpa albă, nanoparticulele au fost absente. Și în acest caz se observă hipertrofia pulpei albe, datorită faptului că nanoparticulele au stimulat formarea macrofagelor cu nucleu multilobular. În pulpa roșie, nanoparticulele s-au evidențiat la nivelul celulelor sistemului macrofagic atât în cordoanele Billroth, cât și în capilarele sinusoide.

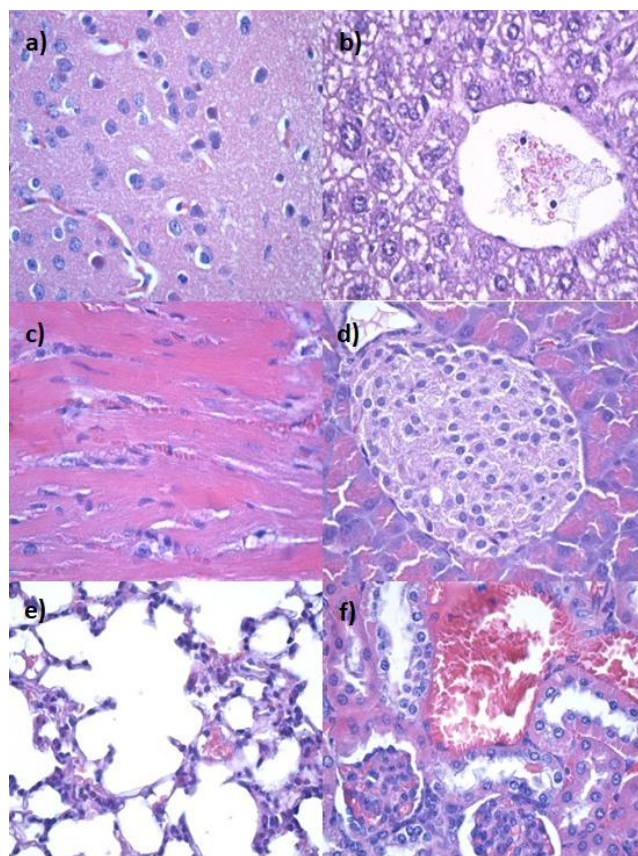


Figura 39. Examine histologice la nivelul creierului (a), ficatului(b), miocardului(c), pancreasului (d), la nivel pulmonar(e) și renal(f), x400, după 10 zile de la injectare.

Nanoparticulele au apărut ca structuri granulare, aglomerate, sferice, de dimensiuni variabile, cu diametrul de până la 3 μm , de culoare cafenie-negricioasă. Densitatea nanoparticulelor a variat de la o celulă la alta, unele celule prezentând o cantitate mai mare de nanoparticule endocitate.

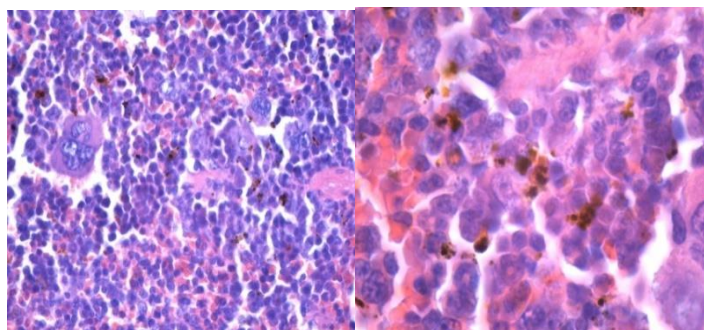


Figura 40. Examine histologice la nivelul splinei (a)x400, (b)x1000, după 10 zile.

3.2.4. Caracterizarea fizico-chimică a unor acoperiri pe bază de cefalosporine – HA – PLGA obținute prin tehnica MAPLE pentru prevenirea infecțiilor asociate implanturilor osoase

Suprafețele testate prezintă diferite caracteristici de citotoxicitate care depind în principal de fluența laser utilizată pentru depunerea MAPLE a filmelor subțiri, lucru pus în evidență de testele de biocompatibilitate *in vitro*.

Aceste date confirmă rezultatele anterioare care demonstrează că fluența laser utilizată pentru depunerea peliculelor subțiri ce conțin sfere polimerice reprezintă un element cheie în biocompatibilitatea suprafeței. Impactul diferențial observat asupra atașării celulare poate fi cauzat de diverse aspecte intrinseci ale straturilor subțiri obținute, cum ar fi: rugozitatea, potențialul de descompunere al polimerului, cât și de tipul de compuși utilizați pentru funcționalizare.

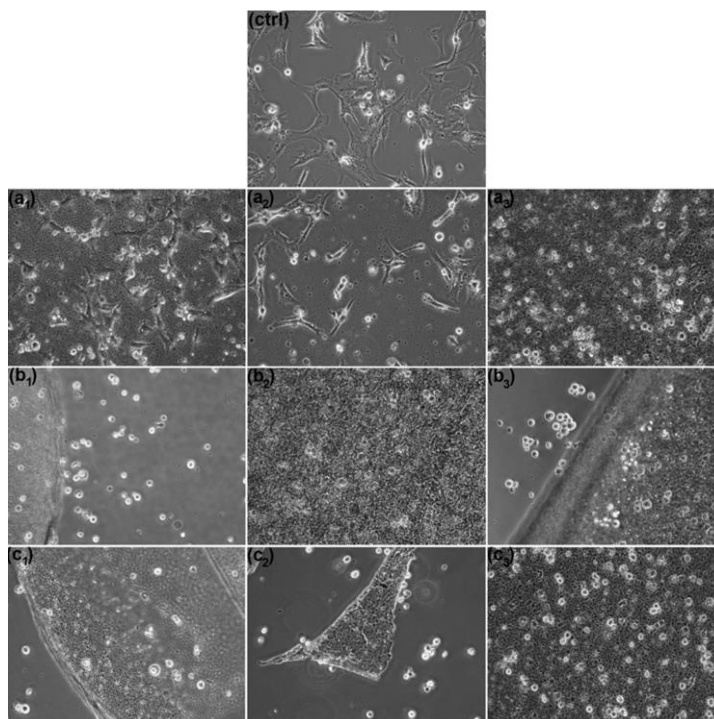


Figura 41. (a_1 – HAp/PLGA, $F = 300 \text{ mJ/cm}^2$; a_2 – HAp/PLGA, $F = 400 \text{ mJ/cm}^2$; a_3 – HAp/PLGA, $F = 500 \text{ mJ/cm}^2$; b_1 – HAp/PLGA/CFR, $F = 300 \text{ mJ/cm}^2$; b_2 – HAp/PLGA/CFR, $F = 400 \text{ mJ/cm}^2$; b_3 – HAp/PLGA/CFR, $F = 500 \text{ mJ/cm}^2$; c_1 – HAp/PLGA/CFX, $F = 300 \text{ mJ/cm}^2$; c_2 – HAp/PLGA/CFX, $F = 400 \text{ mJ/cm}^2$; c_3 – HAp/PLGA/CFX, $F = 500 \text{ mJ/cm}^2$).

Studii recente au demonstrat că filmele subțiri funcționalizate obținute prin tehnica MAPLE pot fi folosite pentru a îmbunătăți atașarea și detașarea celulelor, iar factorii cheie sunt reprezentați de compusul bioactiv utilizat pentru funcționalizare [228]. Antibioticele sunt cunoscute pentru potențialul lor de a inhiba atașarea celulelor microbale, în special dacă ele sunt incluse într-o suprafață funcțională [229]. Chiar dacă nu sunt multe studii disponibile cu privire la impactul antibioticelor pe suprafețe funcționale pentru a modula atașarea celulelor gazdă, este bine cunoscut faptul că antibioticele pot întârzia vindecarea rănilor [230, 231] și de asemenea intervin în implantarea eficientă a dispozitivelor medicale. În plus, calitatea polimerului precum și integritatea acestuia ar putea avea un impact asupra capacității de fixare a celulelor [232].

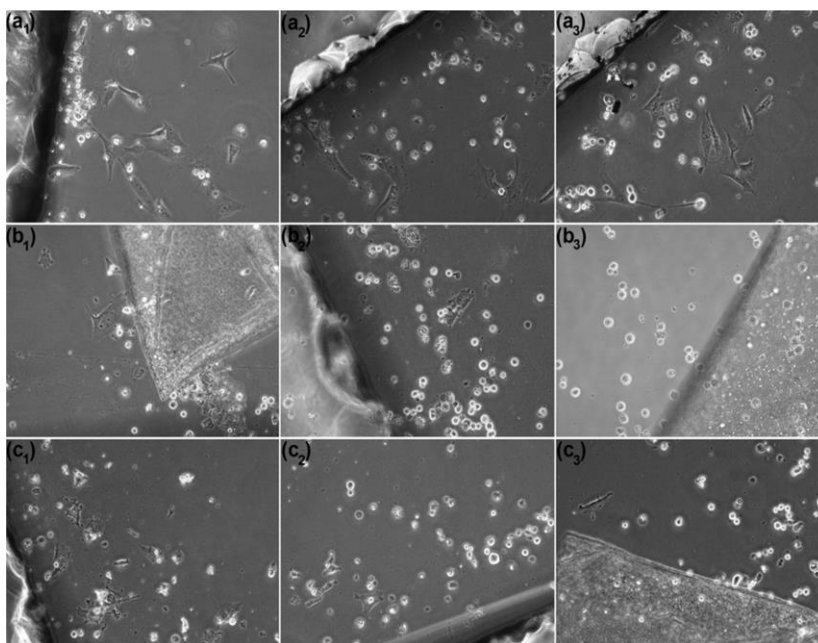


Figura 42. Imagini reprezentative de contrast de fază ale osteoblastelor hFOB la 24 de ore post-însămânțare în apropierea lamelor de sticlă (a₁– HAp/PLGA, F = 300 mJ/cm²; a₂– HAp/PLGA, F = 400 mJ/cm²; a₃– HAp/PLGA, F = 500 mJ/cm²; b₁– HAp/PLGA/CFR, F = 300 mJ/cm²; b₂– HAp/PLGA/CFR, F = 400 mJ/cm²; b₃– HAp/PLGA/CFR, F = 500 mJ/cm²; c₁–HAp/PLGA/CFX, F = 300 mJ/cm²; c₂– HAp/PLGA/CFX, F = 400 mJ/cm²; c₃– HAp/PLGA/CFX, F = 500 mJ/cm²).

A fost studiată morfologia osteoblastelor după 24 de ore de cultură pe lame de sticlă acoperite (figura 113). Se observă că cele mai multe celule aderate sunt pe suprafața HA/PLGA fără niciun antibiotic, în timp ce prezența ceftriaxonei sau cefuroximei reduc



numărul de celule atașate. Mai mult, imaginile de microscopie cu contrast de fază pun în evidență celule viabile atașate în apropierea lamei de sticlă și câteva celule moarte, mai ales în cazul suprafețelor depuse la o fluență laser $F = 500 \text{ mJ/cm}^2$. Aceste efecte diferențiale corelate cu fluența laser pot fi explicate prin rugozitatea distinctă a suprafeței și grosimea variabilă obținute în diferite condiții.

Procentul de atașament celular stabilit prin testul MTT (prin colorarea celulelor viabile aderente) a fost de aproape 77% pentru HA/PLGA depus la o fluență $F = 300 \text{ mJ/cm}^2$ și HA/PLGA pentru $F = 400 \text{ mJ/cm}^2$, iar 64% pentru HA/PLGA depus la $F = 500 \text{ mJ/cm}^2$ prin comparație cu proba martor (figura 114). Doar 20% și 17 % din osteoblastele atașate pe suprafața probelor HA/PLGA/CFR respectiv HA/PLGA/CFX obținute la o fluență a laserului $F = 300 \text{ mJ/cm}^2$ indică astfel caracteristica anti-aderentă a acestor suprafețe. De asemenea, nu au fost sesizate diferențe semnificative între antibiotice sau între acoperirile obținute la diferite fluențe laser.

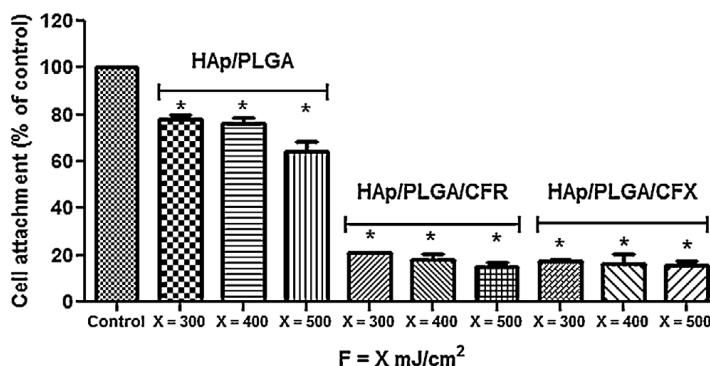


Figura 43. Procentul de celule atașate stabilit prin testul MTT după 24 ore de cultură. Valoarea de control (100%) reprezintă atașarea celulară pe lamele de sticlă neacoperite (control). Rezultatele sunt prezentate ca medie $\pm$ SD (* $p < 0.05$ comparativ cu controlul).

Viabilitatea osteoblastelor cultivate în prezența lamelelor de sticlă acoperite a fost cuantificată pe parcursul eliberării NO. Acest test este standardizat pentru evidențierea morții celulare, NO fiind un factor pro-apoptotic și un marker caracteristic inflamației. Rezultatele arată că nivelul NO eliberat a scăzut doar cu 10% și 15% în cazul HA/PLGA/CFR respectiv HA/PLGA/CFX ($F = 300 \text{ mJ/cm}^2$) în comparație cu martorul, relevând buna biocompatibilitate a acestor suprafețe acoperite. Nu au fost înregistrate modificări semnificative între suprafețele obținute la diferite fluențe laser. Aceste rezultate

sugerează că suprafețele obținute sunt potrivite pentru ingineria tisulară și pentru dezvoltarea unor potențiale implanturi cu suprafață modificată pentru integrarea osoasă.

Colonizarea microbiană poate să apară în timpul intervenției chirurgicale sau prin diseminarea hematogenă secundară în țesuturi ca urmare a bacteriemiei tranzitorii. Odată aderente la suprafața implantului, bacteriile își schimbă fenotipul, devenind extrem de rezistente la doze convenționale sau chiar maxime de antibiotice și de asemenea colonizează țesuturile din jur, inițiind reacții inflamatorii, persistența infecției și, de multe ori, cronicizarea. Prin urmare, cea mai importantă fază din punct de vedere al prevenției este etapa inițială de aderare a bacteriilor care s-ar putea întâmpla accidental în vecinătatea implantului/țesutului înconjurător. *Escherichia coli* este considerată a fi printre agenții patogeni implicați în etiologia infecțiilor periprotetice profunde.

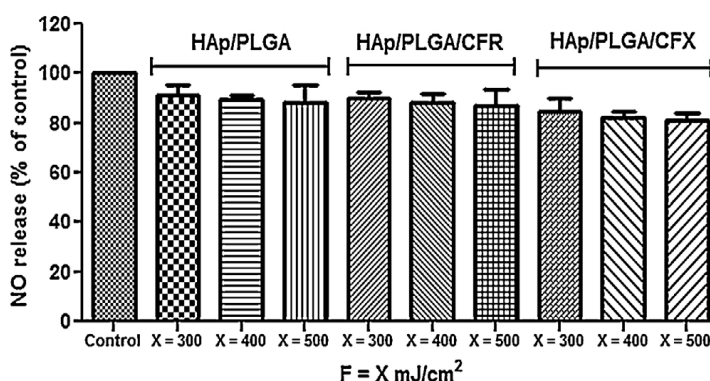


Figura 44. Metoda Griess la 24 de ore de cultură pe lamele de sticlă. Valoarea de control (100%) reprezintă eliberarea NO pe lamele de sticlă neacoperite (control). Rezultatele sunt prezentate ca medie $\pm$ SD.

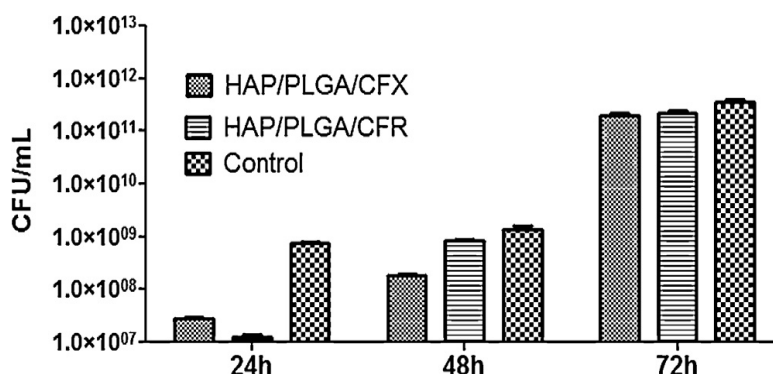


Figura 45. Reprezentarea grafică a formării biofilmului de *E. coli* dezvoltate pe suprafețele nanomodificate timp de 24, 48 și 72 ore ($F = 500 \text{ mJ/cm}^2$).

Spectrul extins beta-lactamaza (ESBL) – producător de tulpini *E. Coli* a fost de asemenea raportat în genunchi, infecții osteoarticulare protetice care duc la îndepărtarea protezei și la costuri suplimentare de îngrijire a sănătății asociate cu tratamentul prelungit cu antibiotice și cu perioada de spitalizare mai mare [233].

Acoperirile bioactive obținute ce înglobează cefalosporine de a doua generație (cefuroxim) și a treia generație (ceftriaxon) au inhibat aproape complet adeziunea inițială a celulelor bacteriene la respectivele filme subțiri după 24 de ore de creștere (figura 116).

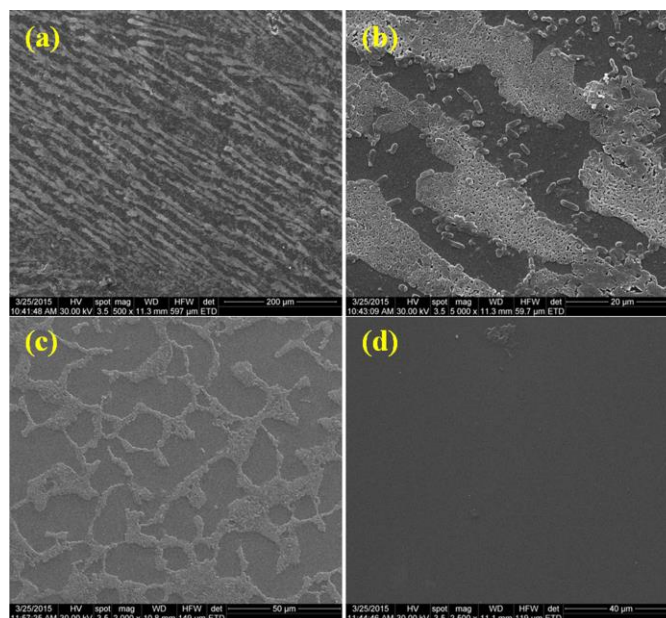


Figura 46. Imagini SEM ale formării biofilmului în diferite condiții experimentale la 24 ore: (a, b) control, (c) HA/PLGA/CFX, (d) HA/PLGA/CFR.

Cu toate acestea, acest efect protector a scăzut în timp, la 48 de ore observându-se doar un ușor efect antibacterian, efect și mai puțin evident la 72 de ore. De aceea, am putea afirma că acoperirile obținute prezintă un efect profilactic pe termen scurt împotriva colonizării suprafeței implantului. Oricum, acest interval de timp ar putea fi critic în ceea ce privește permiterea mecanismelor de apărare ale sistemului imunitar să acționeze și să curețe celulele microbiene respective ajunse în vecinătatea implantului, înainte de a adera și a-i schimba fenotipul în unul mult mai rezistent.

Efectul antimicrobian diferit al stratului polimeric bioactiv poate fi explicat prin cinetica de eliberare a medicamentului care este diferită, în funcție de antibiotic.



Nanosistemele polimerice au fost utilizate pe scară largă în ultimii ani pentru a obține suprafețe antimicrobiene îmbunătățite prin funcționalizarea cu un antibiotic eficient, a cărui eliberare poate fi controlată. Cele mai multe studii au demonstrat că cinetica de eliberare a antibioticelor din învelișul polimeric al unei suprafețe/dispozitiv medical se schimbă în timp și suprafața își menține eficiența antimicrobiană până la 72 de ore [234, 235].

Rezultatele antimicrobiene cantitative au fost confirmate de imaginile SEM, dezvăluind inhibarea drastică a dezvoltării biofilmului asupra acoperirilor cu eliberare de antibiotic (figura 117). Analiza de SEM a arătat în mod clar că, pe suprafața acoperirii bioactive, biofilmele de *E. coli* au fost afectate masiv, arhitectura lor modificându-se de asemenea. Celulele au format „clustere” limitate de celule într-un singur strat, fără a dezvolta structuri de biofilm tipice.

Pe suprafața filmelor ce conțin cefuroximă au aderat semnificativ mai puține bacterii decât în cazul celor acoperite cu ceftriaxonă (la 24 de ore). Aceste rezultate sugerează că inhibarea formării biofilmelor este puternic influențată de natura antibioticului prezent în structura filmului subțire.

3.2.5. Caracterizarea fizico-chimică a unor acoperiri de silice mezoporoasă pentru eliberarea activă a cefalosporinelor la interfața os – implant

3.2.7. Bioevaluarea acoperirilor obținute prin teste *in vivo*

Testul *in vivo* a demonstrat că la 7 zile de la contactul cu organismul, SiO₂/ZiN s-a găsit în cantități mari numai în pulpa roșie a splinei, în comparație cu celelalte organe analizate ale șoarecilor. A fost sesizată de asemenea hipertrofia pulpei albe a acestui organ deoarece structurile stimulează formarea de celule macrofage gigante cu nuclee multilobulare. În pulpa roșie a splinei, structurile s-au regăsit la nivelul sistemului celular macrofag atât în corzile Billroth, cât și în sinusoidale capilare.

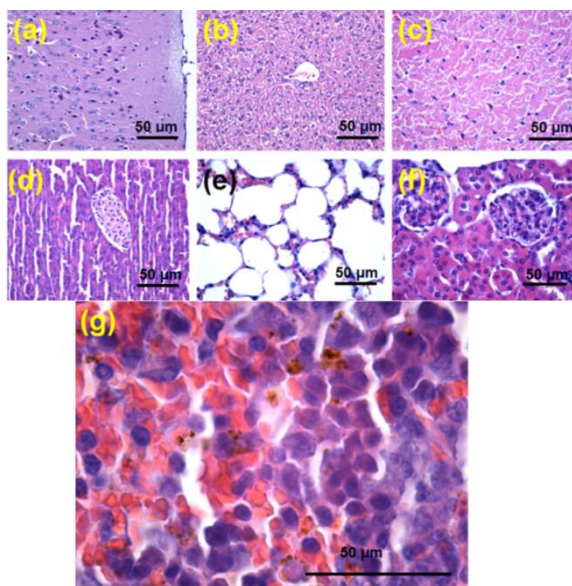


Figura 47. Examine histologice în secțiune transversală prin organele interne ale unor șoareci la 14 zile după implantarea structurilor SiO_2/ZnN : (a) creier, $\times 200$; (B) ficat, $\times 200$; (C) miocard, $\times 400$; (D) pancreas, $\times 200$; (E) plămân, $\times 400$; (F) rinichi, $\times 400$; (G) splină, $\times 1000$.

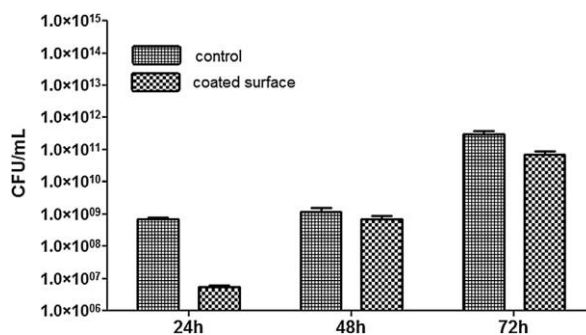


Figura 48. Reprezentarea grafică a rezultatelor privind formarea biofilmului de *E. coli* pe suprafața straturilor subțiri obținute ($F = \text{mJ}/\text{cm}^2$) timp de 24, 48 respectiv 72 de ore.

Aceste rezultate demonstrează că testele *in vivo* susțin rezultate *in vitro*, arătând că filmele subțiri prezintă o biocompatibilitate îmbunătățită, iar biodistribuția lor poate fi de asemenea controlată.

Biofilmele dezvoltate pe dispozitivele medicale au un impact semnificativ asupra calității umane, ceea ce poate duce la infecții asociate cu rate ridicate de morbiditate și mortalitate.

Tratamentul infecțiilor asociate biofilmelor necesită, de obicei, doze mari sau combinații de mai multe antibiotice, care de multe ori duc la efecte de toxicitate ridicate



asociate cu o eficiență scăzută împotriva celulelor încorporate în biofilme [236]. Prin urmare, proiectarea acoperirilor biocompatibile capabile să reziste sau să întârzie colonizarea microbiană, prin eliberarea locală a agenților antimicrobieni, reprezintă una dintre strategiile cele mai promițătoare pentru a reduce această problemă de sănătate publică.

Așa cum se poate observa din figura 96, acoperirile obținute au prezentat o activitate semnificativă împotriva etapei inițiale de formare a biofilmului de *E. coli*, reprezentată prin adeziunea bacteriană a substratului și cuantificată în studiul nostru la 24 de ore.

Substratul testat a prezentat de asemenea o activitate ușor inhibitorie asupra dezvoltării biofilmului după 48 și respectiv 72 de ore. Diferențele împotriva formării biofilmului la perioade diferite de timp pot fi cauzate de eliberarea rapidă a antibioticului din acoperiri în primele 24 de ore, precum și faptul că biofilmul matur este mai rezistent la acțiunea antibioticelor.

Acest tip de material ar putea fi totuși foarte eficient în inhibarea colonizării bacteriilor și formarea biofilmelor pe suprafața dispozitivelor medicale acoperite, reducând astfel incidența infecțiilor asociate dispozitivului.

CONCLUZII GENERALE

Studiul clinic realizat pe un lot de 1151 de pacienți a permis formularea următoarelor concluzii:

Rata de revizie post artroplastie totală de șold în cazul lotului studiat a fost de 3%, ceea ce a necesitat utilizarea unei metode statistice non-parametrice pentru evaluarea rezultatelor.

Componentele necimentate sunt mult mai puțin predispuse la eșec decât cele cimentate, mai ales în cazul pacienților tineri și de vârste medii.

Rata de eșec a cupei de tip press-fit cu insert de polietilenă a fost mai redusă cu 50% față de folosirea unei cupe monobloc de polietilenă și cu 66% atunci când s-a folosit o cupă de tip press-fit cu insert ceramic.

Rata de eșec a unui stem necimentat a fost cu 60% mai scăzută decât în cazul unui stem cimentat, iar stemurile necimentate anatomice sau/și acoperite au prezentat o rată de eșec mai mică cu 80% față de stemurile cimentate drepte.



Apariția unei infecții la nivelul unei artroplastii de șold reprezintă principalul factor care influențează negativ nu numai funcționalitatea protezei, dar și starea biologică a pacientului respectiv. Numărul de infecții raportate în acest studiu este de 21 de cazuri.

Experiența chirurgului, care depinde nu numai de experiența personală, ci și de nivelul de încredere al spitalului în care se practică intervenția, influențează rata de eșec a implantului, pacienții cu risc crescut necesitând internare în centre (ultra) specializate. O analiză de cost-beneficiu trebuie să ia în calcul și faptul că această intervenție chirurgicală se efectuează la pacienți vârstnici ce necesită o durată de spitalizare mai mare cu o recuperare mai de lungă durată. Astfel, este nevoie de existența și a unor centre de recuperare care deseori lipsesc și, astfel, pacienții vârstnici trebuie de multe ori să se bazeze pe ajutorul familiei.

În cadrul celui de al doilea obiectiv al prezentei teze de doctorat au fost obținute și caracterizate trei tipuri de materiale și acoperiri destinate îmbunătățirii proprietăților protezei la interfața cu țesutul osos și rezistenței acestuia la colonizarea microbiană și la formarea biofilmelor.

Suprafețele bioactive și nanostructurate pe bază de HA și collagen concepute pentru stimularea fixării la interfața os implant, prevenirea infecțiilor sau a apariției cancerului osos prin adăugarea agenților terapeutici: cefepim, respectiv, doxorubicină au fost obținute prin și depuse prin tehnica MAPLE.

Rezultatele au fost confirmate de inelele din pattern-ul SAED, indexate pentru planele definite de indicii Muller (002), (210), (211), (112), (300), (222), (312), (402) și (004), corespunzătoare structurii cristalografice hexagonale.

Analiza TEM a evidențiat dispunerea HA doar în interiorul masei colagenice, având o tendință redusă de a forma aglomerate.

Micrografiile SEM au evidențiat aspectul uniform, dar de grosimi diferite al acoperirilor formate precum și dimensiunea nanometrică.

Evaluarea biocompatibilității *in vitro* a demonstrat că structurile obținute nu influențează viabilitatea celulelor dermale, iar suprafețele pe bază de HA-Col-Dox induc moartea celulelor tumorale de osteosarcom G292.



Evaluarea *in vivo* a permis evidențierea prezenței compozitului HA-Col în principalele organe interne, după 2 zile, în timp ce la 10 zile de la inocularea șoarecilor de laborator compozitul a fost evidențiat exclusiv în țesutul splenic.

Suprafețele îmbunătățite cu cefepim și doxorubicină au inhibat dezvoltarea biofilmelor microbiene asociate agenților bacterieni investigați.

Acoperirile pe bază de cefalosporine – HA – PLGA obținute prin tehnica MAPLE au demonstrat un intens efect anti-biofilm corelat cu o capacitate ridicată de stimulare a atașării și creșterii osteoblastelor umane, fapt ce sugerează buna lor biocompatibilitate și facilitarea osteointegrării.

Acoperirile de silice mezoporoasă pentru eliberarea activă a cefalosporinelor la interfața os – implant au permis eliberarea într-o formă activă a antibioticelor, scăzând aderența microbiană și colonizarea suprafețelor acoperite, în timp ce testele de biocompatibilitate *in vivo* și *in vitro* au evidențiat o biodistribuție și biocompatibilitate ridicată a microsistemelor obținute.

Perspectivile studiului

Dezvoltarea acoperirilor care să potențeze fixarea os-implant, cât și optimizarea acestora cu diferite medicamente care să prevină infecțiile sau dezvoltarea cancerului post-implantare reprezintă un subiect care a atras tot mai mult atenția cercetătorilor. Prin urmare, rezultatele obținute pot sta la baza unor studii viitoare mai detaliate, pentru elucidarea mecanismelor și interacțiunilor la nivel molecular și celular.

Rezultatele obținute sugerează faptul că dispozitivele sau materialele implantabile pot fi îmbunătățite prin acoperirea cu anumite filme subțiri bioactive care pot modula răspunsul osteoblastelor și pot diminua/bloca aderența inițială a celulelor bacteriene contaminante fie prin proprietățile lor fizico-chimice, sau acționând ca sisteme de eliberare controlată a unor antibiotice sau a altor clase de substanțe bioactive, reducând astfel riscul apariției infecțiilor post-artroplastie.



PUBLICAȚII ELABORATE PE PARCURSUL REALIZĂRII TEZEI DE DOCTORAT

Lucrări ISI

1. **Dragoș Rădulescu**, Valentina Grumezescu, Ecaterina Andronesu , Alina Maria Holban, Alexandru Mihai Grumezescu*, Gabriel Socol , Alexandra Elena Oprea , Marius Rădulescu , Adrian Surdu , Roxana Trusca , Radu Rădulescu , Mariana Carmen Chifiriuc, Miruna S. Stan , Sabrina Constanda , Anca Dinischiotu: Biocompatible cephalosporin-hydroxyapatite-poly(lactic-co-glycolic acid)-coatings fabricated by MAPLE technique for the prevention of bone implant associated infections, **Applied Surface Science**, 374, 387-396, **2016**. – **Impact Factor**₂₀₁₅ = **3.150**, WOS:000375937300060
2. **Dragoș Rădulescu**, Georgeta Voicu, Alexandra Elena Oprea, Ecaterina Andronesu, Valentina Grumezescu, Alina Maria Holban, Bogdan Stefan Vasile, Adrian Vasile Surdu, Alexandru Mihai Grumezescu*, Gabriel Socol, Laurențiu Mogoantă, George Dan Mogoșanu, Paul Cătălin Balaure, Radu Rădulescu, Mariana Carmen Chifiriuc: Mesoporous silica coatings for cephalosporin active release at the bone-implant interface. **Applied Surface Science**, 374, 165-171, **2016**. – **Impact Factor**₂₀₁₅ = **3.150**, WOS:000375937300002
3. Alberto Ion, Ecaterina Andronesu, **Dragoș Radulescu**, Marius Radulescu, Florin Iordache, Bogdan Stefan Vasile, Adrian Vasile Surdu, Madalina Georgiana Albu, Horia Maniu, Mariana Carmen Chifiriuc, Alexandru Mihai Grumezescu*, Alina Maria Holban: Biocompatible regenerative 3D matrix with antimicrobial properties, **Molecules**, 21(1), 115, **2016**. – **Impact Factor**₂₀₁₅ = **2.465**, WOS:000369486800043

Capitole de carte



Oana Fufă, Ecaterina Andronescu, Alexandru Mihai Grumezescu, **Dragoș Rădulescu**, Chapter 13 - Metallic nanosystems in hard tissue implants, In Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering, William Andrew Publishing, 2016, Pages 381-412, ISBN 9780323428620, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42862-0.00013-4>.