

(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2021 00247

(22) Data de depozit: 12/05/2021

(41) Data publicării cererii:
29/10/2021 BOPI nr. 10/2021

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
DEZVOLTARE PENTRU FIZICA
MATERIALELOR (INCDFM),
STR.ATOMIȘTILOR, NR.405A, CP.MG-7,
MĂGURELE, IF, RO

(72) Inventatori:
• MICLEA CORNELIU FLORIN,
PIAȚA PACHE PROTOPOPESCU, NR.1,
AP.8, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;

• MICLEA CORNEL, BD.G-RAL MAGHERU,
NR.24, BL.G, ET.4, AP.5, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• CIOANGHER MARIUS CRISTIAN,
STR.RITMULUI NR.29, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
• AMARANDE LUMINIȚA, STR. SLT. POPA
NR. 7, BL. 17, AP. 15, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;
• MICLEA LUMINIȚA CLAUDIA,
PIAȚA PACHE PROTOPOPESCU, NR.1,
AP.8, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO

(54) DISPOZITIV DE TESTARE *IN VITRO* A PROLIFERĂRII
CELULARE PE MEDII STRESATE MECANIC ÎN ATMOSFERĂ
CONTROLATĂ, CU PRECIZIE RIDICATĂ A CONTROLULUI
FORȚEI APLICATE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un dispozitiv de testare *in vitro* a proliferării celulare pe medii stresate mecanic în atmosferă controlată, cu precizie ridicată a controlului forței aplicate. Dispozitivul, conform invenției, este alcătuit dintr-o celulă de presiune uni-axială realizată din oțel inoxidabil medical, atașată la un actuator acționat de un controler comandat de calculator, forța fiind aplicată de actuator la o probă (4), prin intermediul unui piston (2) și al unei coloane (3), mai departe stresul fiind preluat de o coloană (5) și un piston (6) și transmis către un senzor de forță (7) controlat de o unitate de comandă, un șurub (9) asigurând pretensionarea inițială a întregului ansamblu, pistoanele, coloanele și senzorul de presiune putând culisa liber în interiorul carcasei respective (1, 8).

Revendicări: 1
Figuri: 4

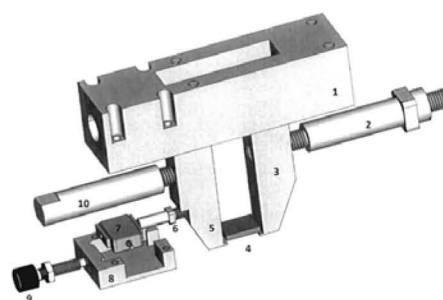


Fig. 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



Dispozitiv de testare în vitro a proliferării celulare pe medii stresate mecanic în atmosferă controlată, cu precizie ridicată a controlului forței aplicate

Corneliu Florin Miclea¹, Cornel Miclea¹, Marius Cioangher¹, Luminita Amarande¹,

Luminita Claudia Miclea²

1. Institutul National de Fizica Materialelor Atomistilor str. 405, Magurele, 077125 Ilfov, Romania.
2. Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila Disciplina Masterat de Biofizică și Biotehnologie Celulară Centru de Cercetare de Excelență în Biofizică și Biotehnologie Celulară, Blvd. Eroii Sanitari, nr 8, cod 050474, sector 5, București

Descriere generală

Prezenta invenție se referă la un dispozitiv de testare biologică, în vitro, a culturilor celulare pe medii biocompatibile stresate mecanic plasate în mediu de cultură și în atmosferă controlată specifică, cu precizie ridicată a controlului forței aplicate pentru deformarea substratului biocompatibil. Prezenta invenție este o evoluție a celei descrise în cererea de brevet OSIM A00857/04.12.2019 cu îmbunătățiri semnificative în ceea ce privește eliminarea aproape completă a deformărilor nedorite în sistemul de aplicare a forței, reducerea semnificativă a forțelor de frecare și a momentului de torsiune nedorit ce apare între proba biocompatibilă și senzorul de presiune. În consecință acest nou sistem permite un control mult mai bun al stresului aplicat, determinarea exactă și reproductibilă a forței după zeci de mii de cicluri de compresie și reduce nevoia de lubrifiere a sistemului.

Domeniul principal de aplicare al invenției este studiul proliferării celulare pe materiale piezoceramice biocompatibile pe a căror suprafață sunt induse sarcini electrice în urma stresului mecanic. De asemenea sistemul este folosit pentru studiul proprietăților unor dispozitive piezoelectrice prin determinarea sarcinilor de suprafață cu un electroscop sau osciloscop.

Pentru sistemele biologice, un rol important în generarea de țesut osos îl are efectul piezoelectric, atribuit fibrelor de colagen [1, 2]. Efectul piezoelectric direct constă în transformarea energiei mecanice în energie electrică [3]. Pentru studiul proprietăților fiziologice sunt necesare materiale biocompatibile piezoelectrice ce pot genera semnale electrice similare celor ce sunt transmise prin intermediul sinapselor electrice și chimice în țesutul osos. Modificările




de potențial electric au efect asupra osteocitelor deschizând canalele transmembranare ce au rol în intermedierea semnalelor dintre celule. Prin generarea de sarcini electrice ca răspuns la acțiunea stresului mecanic osteocitele, osteoblastele și osteoclastele interacționează, efectul biologic fiind sintetizarea de matrice extracelulară, creșterea celulară și regenerarea de țesuturi [4, 5]. Numeroase studii au contribuit la progresul în domeniul acțiunii efectului piezoelectric asupra celulelor [6-13]. Cu toate acestea, detaliile procesului de osteogeneza controlată sunt insuficient cunoscute, investigarea acestora reprezentând în continuare un deziderat important al științelor medicale în special în ceea ce privește protezarea personalizată și rezolvarea accelerată a traumatismelor osoase.

În ceea ce privește substratul piezoelectric pentru culturile celulare, titanatul de bariu (BaTiO_3) este cel mai promițător material piezoelectric fără plumb pentru folosirea în testele biologice datorită atât proprietăților piezoelectrice bune cât și faptului că este surprinzător de citocompatibil [14]. Investigații recente sugerează că acest material prezintă o biocompatibilitate mai bună decât hidroxiapatita. Pentru studiul dinamic al acestor materiale sunt necesare dispozitive adaptate testelor biologice care să aplice o tensiune mecanică bine controlată, pe probele piezoceramice în condiții aseptice specifice.

Dispozitivul prezentat permite aplicarea unei tensiuni mecanice repetate, de frecvență și intensitate reglabile, asupra unei probe rectangulare piezoelectrice bine densificată sau poroasă, pe care au fost aderate în prealabil celule. Pot fi reproduse condițiile biomecanice tipice pentru sistemul osos uman [15] cu presiuni în probă de ordinul a 2.5MPa. Pe tot parcursul studiului proba este imersată într-un mediu specific culturilor celulare. Vasul de cultură este termostatat și plasat împreună cu întreg sistemul de stresare mecanică în mediu septic, în atmosferă controlată, într-o incintă din policarbonat special construită, conectată la un incubator medical. Incubatorul controlează temperatura culturii celulare, temperatura amestecului de gaz, viteza de circulație, cantitatea de CO_2 din atmosferă și umiditatea. Ph-ul mediului celular este controlat de cantitatea de CO_2 din atmosferă.

În literatură, sunt prezentate trei sisteme destinate studiului culturilor celulare pe medii stresate mecanice:

În lucrarea [16] este prezentat un sistem de cultură celule și vasele de cultură corespunzătoare ce au fost folosite pentru evaluarea efectelor generării de sarcini electrice prin



efect piezoelectric asupra celulelor osoase medulare. Vasele de cultură au fost realizate din oțel inoxidabil și polycarbonat prevăzute cu excavații în partea superioară. Asupra structurii a fost aplicat cu ajutorul unui echipament de testare la oboseală un stres mecanic compresiv ciclic. Din parametrii prezentați în lucrare se poate observa că sistemul de cultură astfel realizat a fost supus unui stres mecanic cu caracteristici de undă sinusoidală cu frecvența de 1 Hz. Se poate observa că dispozitivul prezentat în lucrare acoperă o plajă limitată de valori ale parametrilor compresiei mecanice cum ar fi frecvența și mărimea forței. Vasul de cultură de o complexitate deosebită nu este unul standard pentru culturile medicală. În protocoalele medicale aceste vase sunt de unică folosință datorită problemelor deosebite pe care le-ar reprezenta reutilizarea. Construcția unui astfel de vas ca cel din [16] este costisitoare și dimensiunile acestuia trebuie ajustate strict în funcție de dimensiunile probelor. În plus, forța aplicată nu este distribuită direct pe probe ci este preluată și de pereții vasului făcând astfel dificilă estimarea presiunii reale. În timpul utilizării proba se mișcă în raport cu vasul fapt ce duce la uzuri ce pot contamina mediul de cultură. Aplicarea forței necesită un echipament auxiliar voluminos.

Un alt sistem descris în [17] aplică forța mecanică prin intermediul unui ax cu came și al unui resort asupra unui vas de cultură în care este imersată proba ceramică. Forța este aplicată în planul transversal al probei cu o frecvență dată de turația a motorului. Valoarea forței depinde în special de coeficientul elastic al resortului iar dependența de timp de profilul camei. Frecvența compresiilor a fost de 0-5 Hz iar forțele aplicate au avut valorile situate în intervalul 0-100 N. Dezavantajele acestui dispozitiv sunt multiple: controlul redus al parametrilor compresiei mecanice, forța este aplicată transversal pe probă, o mare parte din suprafața orizontală a probei (zona unde aderă și proliferază celulele) de studiat este obturată de dispozitivul de aplicare a forței mecanice.

Aceste dezavantaje sunt înlăturate în dispozitivul descris în cererea de brevet OSIM A00857/04.12.2019 [18]. Sistemul prezentat în [18] este alcătuit dintr-o celulă de presiune uni-axială realizată din oțel inoxidabil medical foarte rezistent la coroziune de tip W1.4404/316L, atașată unui actuator PI 238.5PG acționat de un controler PI-C863 comandat de calculator, forța fiind transmisă de actuator prin intermediul unor pistoane și coloane către suportul biocompatibil și către un senzor de forță. Acest dispozitiv prezintă avantajele unei plaje mari de valori pentru forța aplicată, este versatil în ceea ce privește dimensiunile probelor, permite ca întreaga suprafață



superioară a probei să fie disponibilă culturilor celulare, poate fi utilizat cu vase de cultură standard și este adaptat la incubator și hota biologică. În timpul testelor au fost observate și câteva dezavantaje ce trebuie înlăturate mai ales când sunt studiate materiale pentru care nu sunt indicate forțe aplicate mari. Distanța verticală substanțială dintre proba piezoelectrică și senzorul de forță creează un moment de torsiune semnificativ în sistemul de susținere al probei ce exacerbează forțele de frecare exercitate între cilindrul ce acționează senzorul și corpul principal al sistemului. În consecință, forța resimțită de senzor este puțin mai mică decât cea reală, suportată de substratul piezoelectric, în special după perioade lungi de funcționare în condiții de lubrifiere redusă. O măsurătoare tipică este de aproximativ 70000-115000 cicluri de compresie.

Prin urmare, dispozitivul poate fi îmbunătățit prin reducerea momentului de torsiune prezent în timpul utilizării, reducerea adițională a forțelor de frecare și a deformărilor prin modificarea geometriei coloanelor și pistoanelor asigurând, în consecință, o reproductibilitate mai bună a forței aplicate în timpul experimentelor îndelungate și evitând deteriorarea probelor fragile.

Dispozitivul nou prezentat în această invenție prezintă noi caracteristici ce elimină toate dezavantajele față de dispozitivul descris în [18] dar în același timp pastrează toate avantajele acestui dispozitiv față de [16, 17]. Cu ajutorul acestui dispozitiv pot fi studiate o gama diversă de materiale piezoelectrice cum ar fi titanatul de bariu simplu sau dopat, ferita de bariu, titanat de bismut și sodiu, niobatul de potasiu, niobatul de litiu, tantalatul de litiu precum și compozite ale lor chiar dacă sunt fragile din punct de vedere mecanic.

Detalii:

La baza sistemului prezentat în aceasta cerere de brevet stă o celula de presiune uniaxială realizată în întregime din oțel inoxidabil medical foarte rezistent la coroziune de tip W1.4404/316L. Aceasta celulă este atașată la carcasa unui actuator PI 238.5PG conectat la un controler PI-C863 controlat de calculator. Actuatorul permite aplicarea unei forțe maxime de 400 N, o deplasare de 50 mm cu pas variabil cu o rezoluție de 0.1 μm și viteza maximă de 30 mm/s.



Senzorul de forță este rezistiv de tip strain gauge, model Mark-10 R04, controlat de o unitate Mark-10 7i. Frecvența de citire a forței este de 14 KHz, valoarea maximă suportată de senzor de 500 N iar valorile furnizate sunt citite de calculator printr-o interfață USB.

Elementele principale ale acestei celule de presiune sunt prezentate dezasamblate, la scală, în figura 1. Figura 2 prezintă celula de presiune asamblată parțial, sistemul asamblat complet regăsindu-se în figura 3. Forța este transmisă de actuatorul 15 (fig. 3) către proba 4 (fig. 1) prin intermediul pistonului 2 și al coloanei 3 ce pot culisa în interiorul corpului principal 1. Tensiunea mecanică din probă este preluată de coloana 5 și transmisă prin intermediul pistonului 6 către senzorul de forță 7. Șurubul 9 asigură pretensionarea inițială a întregului ansamblu și este blocat printr-o contra piuliță. Senzorul de forță poate culisa în carcasa 8 atașată rigid prin șuruburi de corpul principal 1. Pistonul 10, atașat coloanei 5 se mișcă liber în interiorul carcasei 1. Toate piesele au fost prelucrate prin așchiere cu toleranțe mici și printr-un număr minim de prinderi. Lubrifierea pistoanelor este asigurată de vaselina siliconică medicală. Deplasările tipice ale pistonului 2, necesare obținerii valorilor de presiune tipice femurului uman, sunt relativ mici, de ordinul a 0.1 - 0.4 mm. Sistemul de susținere al actuatorului (placa orizontală 14 și coloanele 12 și 13 în fig. 3) este atașat rigid, prin placa 11 (fig. 2) de corpul principal 1. Canalele din placa 11 permit ajustarea poziției actuatorului în raport cu celula de presiune. Piesele 11, 12, 13 și 14 sunt de asemenea realizate din inox W1.4404/316L.

După pretensionarea inițială făcută cu ajutorul șurubului poziția sistemului se ajustează fin cu ajutorul actuatorului și al senzorului de forță. Datele furnizate de senzor sunt reprezentate grafic și salvate în calculator.

Spre deosebire de sistemul prezentat în [18] coloanele verticale 3 și 5 au o lățime dublă și o geometrie ce reduce substanțial deformarea lor. În plus cilindrul 10 centrat pe o lungime mai mare (mai mult decât dublu) în corpul principal 1 iar capătul liber al acestuia este plasat complet în afara carcasei 1 ceea ce contribuie la reducerea forțelor de frecare dintre cilindru și carcasă.

Important, distanța pe verticală dintre proba piezoelectrică și senzorul de forță este redusă la mai puțin de jumătate față de cea din [18] reducând, cu aceeași fracție momentul de torsiune ce apare în pistonul 10 în momentul aplicării forței ceea ce ajută în plus la reducerea forțelor de frecare dintre cilindrul 10 și corpul principal 1. În plus, nu a mai fost necesară implementarea unui piston



suplimentar de centrare ca în [18] ceea ce crește ușurința manipulării probelor în timpul experimentelor.

Întreg sistemul este plasat într-o carcasă de policarbonat ce se poate închide ermetic și este conectată la un incubator medical (fig. 4). Pe tubul de ieșire din cutie (tubul alb, colțul dreapta, sus al fig. 4) sunt plasați un senzor de CO₂ și un termometru ce facilitează ajustarea concentrației de CO₂ respectiv controlul temperaturii gazului circulat de incubator. Recipientul de cultură folosit este un vas Petri standard. Proba plasată între coloane este imersată în mediul de cultură (figura 4 jos). Vasul este plasat pe o masa termostatăă de către incubator cu temperatura reglabilă menținută la o temperatură specifică tipului de cultură celulară studiată. O a doua probă martor este de asemenea plasată în vas în aceleași condiții, fără a fi supusă însă stresului mecanic și pentru a servi ca referință pentru studiu. Accesul în interiorul cutiei de policarbonat se face prin intermediul unui capac frontal fixat cu șuruburi și etanșat cu ajutorul unei garnituri de silicon (figura 4 sus). Trecurile de fire (pentru cablul de date al actuatorului, alimentarea acestuia, cablul senzorului de forță și cablurile termometrului și rezistenței de încălzire a mesei termostate) au fost realizate din cauciuc siliconic turnat în matrițe cu forma specifică.

Cutia de policarbonat este plasată în interiorul unei hote biologice de flux laminar ce asigură accesul și transferul probelor în condiții sterile (figura 4). Hota este prevăzută cu o lampă de lumină ultravioletă ce asigură sterilizarea adițională a întregului sistem.

Pentru testare au fost folosite celule hFOB 1.19 (ATCC® CRL11372™), osteoblaste umane din sursa fetală, transformate pentru creștere în cultură cu SV40-large T antigen sub control de Geneticin. Celulele au fost crescute în incubator la 34°C, 5% CO₂ și menținute în cultură prin procedura standard folosind mixtura 1:1 de medii Ham's F12 și Dulbecco's Modified Eagle's Medium, suplimentată cu GlutaMax și 10% ser fetal bovin. Celulele au fost aderate în același condiții timp de 24h pe fețele superioare ale unor probe paralelipipedice, identice de BaTiO₃. După aderare probele au fost transferate în sistemul de măsură, amândouă în același vas, una dintre ele fiind supusă stresului mecanic a doua servind ca referință. După 24 h celulele de pe cele două probe au fost recoltate și investigate. Pe aceste celule au fost efectuate cu succes teste biologice specifice (viabilitate, microscopie de fluorescență, măsurători de evaluare a producției de specii reactive de oxigen ROS). Celulele au proliferat și nu au fost observate urme de infecții sau contaminare.

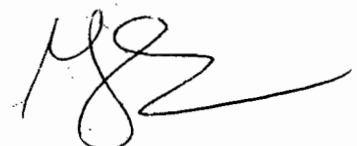


Bibliografie.

1. E. Fukada, I. Yasuda, On the piezoelectric effect of bone, *J. Phys. Soc. Japan* **12**, 1158-1162, (1957).
2. E. Fukada, Piezoelectricity of bone and osteogenesis by piezoelectric films. In: *Mechanisms of Growth Control* (Edited by Becker R. O.), Thomas, Springfield, Ill. 192-210 (1981).
3. B. Jaffe, W. R. Cook, H. Jaffe, *Piezoelectric Ceramics*. Academic Press, London and New York, (1971).
4. J. Jacob, N. More, K. Kalia, G. Kapusetti, Piezoelectric smart biomaterials for bone and cartilage tissue engineering, *Inflammation and Regeneration* **38**:2, (2018).
5. B. Miara, E. Rohan, M. Zidi, B. Labat, Piezomaterials for bone regeneration design homogenization approach. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*. **53**, 2529 (2005).
6. I. Sabree, J. E. Gough, B. Derby, Mechanical properties of porous ceramic scaffolds: Influence of internal dimensions, *Ceramics International* **41**, 8425–8432 (2015).
7. A. Przekora, Current Trends in Fabrication of Biomaterials for Bone and Cartilage Regeneration: Materials Modifications and Biophysical Stimulations, *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 435 (2019).
8. B. Tandon, Jo. J. Blaker, S. H. Cartmell, Piezoelectric materials as stimulatory biomedical materials and scaffolds for bone repair, *Acta Biomaterialia* **73**, 1-20 (2018).
9. M. Acosta, R. Detsch, A. Greunewald, V. Rojas, J. Schultheis, A. Wajda, R. W. Stark, S. Narayan, M. Sitarz, J. Koruza, A. R. Boccaccini, Cytotoxicity, chemical stability, and surface properties of ferroelectric ceramics for biomaterials, *J. Am Ceram Soc.* **101**, 440–449 (2018).
10. P. Vaněk, Z. Kolská, T. Luxbacher, J. A. L. García, M. Lehocky, M. Vandrovцова, L. Bacakova and J. Petzelt, Electrical activity of ferroelectric biomaterials and its effects on the adhesion, growth and enzymatic activity of human osteoblast-like cells, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **49**, 175403 (2016).
11. B. Fan., Z. Guo, X. Li, S. Li, P. Gao, X. Xiao, J. Wu, C. Shen, Y. Jiao, W. Hou, Electroactive barium titanate coated titanium scaffold improves osteogenesis and



- osseointegration with low-intensity pulsed ultrasound for large segmental bone defects, *Bioactive Materials* 5, 1087–1101 (2020)
12. M. Tavangar, F. Heidari, R. Hayati, F. Tabatabaei, D. Vashae, L. Tayebi, Manufacturing and characterization of mechanical, biological and dielectric properties of hydroxyapatite-barium titanate nanocomposite scaffolds, *Ceramics International* 46, 9086–9095 (2020)
 13. F. C. Kao , P. Y. Chiu , T. T. Tsai, Z. H. Lin, The application of nanogenerators and piezoelectricity in osteogenesis, *Science and Technology of Advanced Materials*, 20:1, 1103-1117 (2019)
 14. M. Acosta, N. Novak, V. Rojas, S. Patel, R. Vaish, J. Koruza, G. A. Rossetti, and J. Rödel, BaTiO₃-based piezoelectrics: Fundamentals, current status, and perspectives, *Applied Physics Reviews* 4, 041305 (2017).
 15. A. E. Yousif , M.Y. Aziz, Biomechanical Analysis of the human femur bone during normal walking and standing up, *IOSR Journal of Engineering (IOSRJEN)* 2 (8), 13-19 (2012).
 16. K. Furuya, Y. Morita, K. Tanaka, T. Katayama, E. Nakamachi, Acceleration of osteogenesis by using barium titanate piezoelectric ceramic as an implant material, *Proc. of SPIE* 7975, 79750U-1, (2011). DOI: 10.1117/12.881858.
 17. Y. Tang, C. Wu, Z. Wu, L. Hu, W. Zhang, Kang Zhao, Fabrication and in vitro biological properties of piezoelectric bioceramics for bone regeneration, *Scientific Reports* 7, 43360 (2017) DOI: 10.1038/srep43360.
 18. Miclea Corneliu Florin, Miclea Cornel, Cioangher Marius Cristian, Amarande Luminita, Miclea Luminita Claudia, Moiescu Georgeta Mihaela, Savopol Tudor, Sistem de testare în vitro a proliferării (culturilor) celulare pe medii stresate mecanic în atmosferă controlată Cerere de brevet OSIM A00857/04.12.2019



Revendicări

1. Dispozitiv de testare biologică, în vitro, a culturilor celulare pe substraturi (materiale) biocompatibile, stesate mecanic și imersate în mediul de cultură, în atmosferă controlată specifică **caracterizat prin aceea că** este alcătuit dintr-o celulă de presiune uni-axială realizată din oțel inoxidabil medical foarte rezistent la coroziune de tip W1.4404/316L ce permite controlul foarte precis al forței aplicate, atașată unui actuator PI 238.5PG acționat de un controler PI-C863 comandat de calculator, forța este transmisă de actuator către proba (4) prin intermediul pistonului (2) și al coloanei (3), mai departe stresul fiind preluat de coloana (5) și pistonul (6) către senzorul de forță (7) de tip strain gauge, model Mark-10 R04, controlat de o unitate Mark-10 7i, șurubul (9) asigură pretensionarea inițială a întregului ansamblu și este blocat printr-o contrapiuliță, pistoanele, coloanele și senzorul de presiune pot culisa liber în interiorul carcasei (1) respectiv (8), aliniamentul pistoanelor și coloanelor este asigurat de carcasa (1).



Figuri

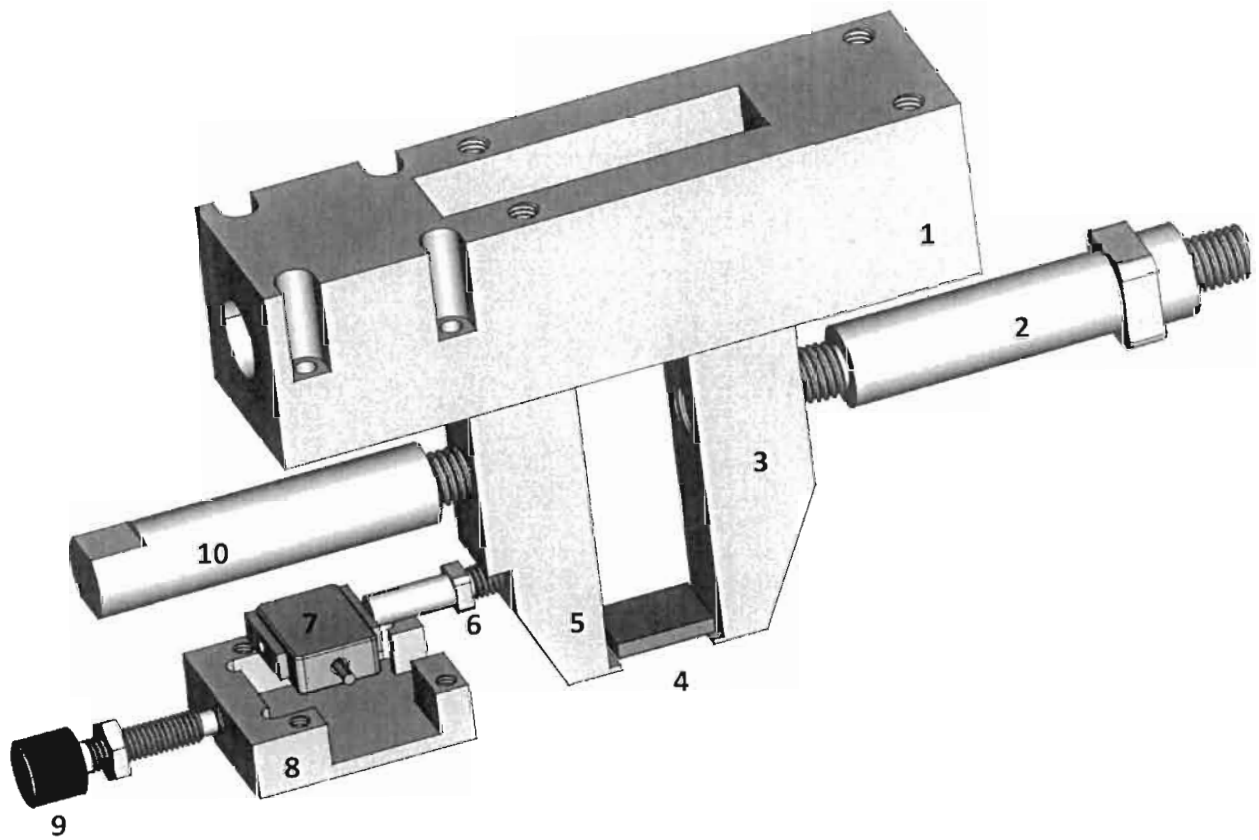


Figura 1: Reprezentare la scală a componentelor principale ale sistemului de aplicare a forței.

A handwritten signature in black ink, located in the bottom right corner of the page.

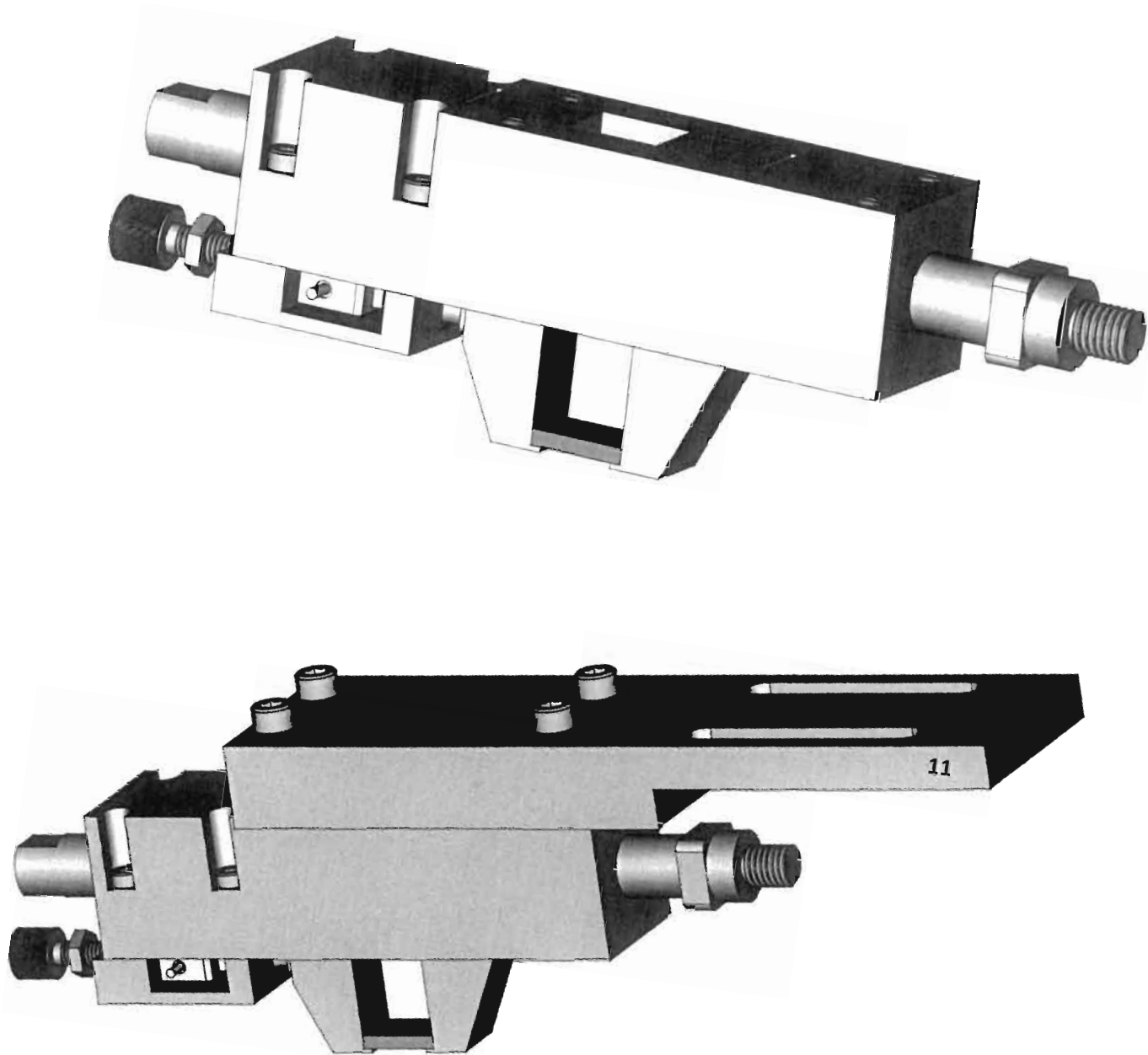


Figura 2: Componentele principale de aplicare a forței asamblate. Jos piesa 11 asigura conectarea cu suportul actuatorului.

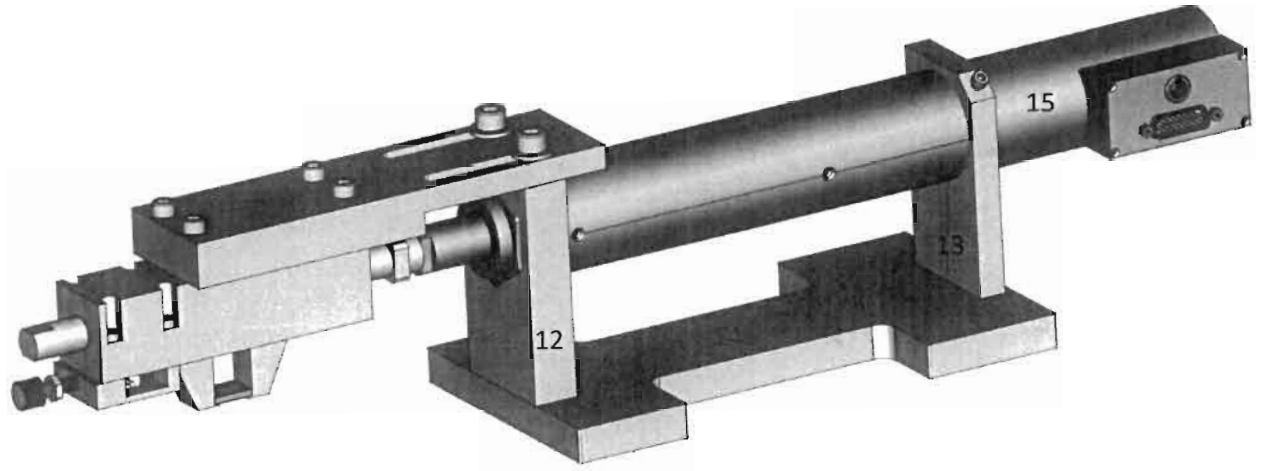


Figura 3: Întregul sistem de aplicare al forței asamblat, incluzând actuatorul (15) și suportul acestuia (12, 13, 14).

A handwritten signature in black ink, located in the bottom right corner of the page. The signature is stylized and appears to be the initials 'RZ' followed by a flourish.

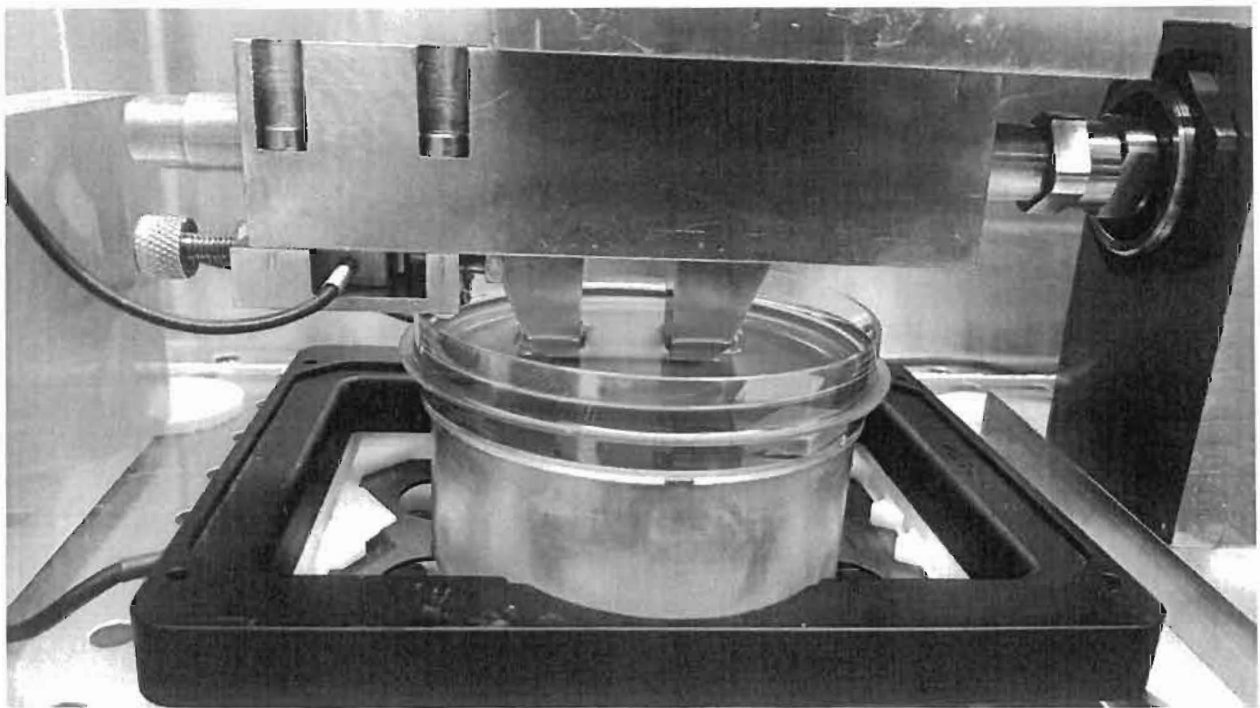


Figura 4: Sus: Întregul sistem de studiu al proliferații celulare pe straturi piezoelectrice stresate mecanic. Jos: Vasul de cultura celulară; se pot vedea cele două probe de BaTiO_3 , una comprimată între coloane, a doua, nestresată, ca referință.