



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00489

(22) Data de depozit: 11/08/2022

(41) Data publicării cererii:
30/01/2023 BOPI nr. 1/2023

(71) Solicitant:
• SPIN OFF HYNAMAT S.R.L.,
BD.BIRUINȚEI, NR.102, LABORATOR
CERCETARE, CAMERA 13, PANTELIMON,
IF, RO

(72) Inventatori:
• CURSARU LAURA MĂDĂLINA,
ALEEA ISTRU, NR.2B, BL.A14C, SC.5,
ET.4, AP.75, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• PUSCASU MARIA ELIZA,
BD.RÂMNICU SĂRAT, NR.8, BL.21A, SC.1,
ET.1, AP.11, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;

• CHIRIAC ȘTEFANIA, STR. BRUTĂRIEI,
NR.19, SAT JIJILA, COMUNA JIJILA, TL,
RO;
• PITICESCU RADU ROBERT,
ȘOS. NICOLAE TITULESCU NR. 155,
BL.21, SC. C, ET. 2, AP. 90, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• NEGROIU GABRIELA,
CALEA CRÂNGAȘI, NR.52, BL.5, SC.3,
ET.6, AP.99, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• FILIMON ANCA, STR. SOLDAT STELIAN
MIHALE, NR.10, BL.X16, AP.42, ET.10,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(54) MATERIALE HIBRIDE BIOCOMPATIBILE PE BAZĂ
DE HIDROXIAPATITĂ ȘI POLIMERI SINTETICI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor materiale hibride sub formă de structuri 2D cu proprietăți biocompatibile cu aplicații în ingineria țesutului osos. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: preparare prin sinteza hidrotermală a pulberii hibride de hidroxiapatită/poliuretan-diol la temperatura de 80...110°C și presiune de 70...110 bar, uscare a suspensiei prin liofilizare, presare a pulberii sub formă de pastile 2D cu diametrul d=14 mm și înălțimea h=3 mm,

eventual, amestecare cu alcool vinilic și dispersie apoasă de poliuretan și presare a pastei în matrice, rezultând structuri 2D compacte cu di=14 mm și h=2 mm, care sunt supuse testării biocompatibilității *in vitro*.

Revendicări: 4

Figuri: 3



MATERIALE HIBRIDE BIOCOMPATIBILE PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ ȘI POLIMERI SINTETICI

Invenția se referă la obținerea unor materiale hibride pe bază de hidroxiapatită și polimeri sintetici, cu proprietăți biocompatibile, sub formă de pastile 2D prin presare pulberi sau sub formă de structuri 2D prin turnare paste în matrițe personalizate.

Hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HA), ca una dintre componentele principale ale osului, poate crește concentrația de Ca^{2+} local, care poate activa proliferarea osteoblastelor și favorizează creșterea și diferențierea celulelor stem mezenchimale (MSC) [1]. Datorită proprietăților sale non-imunogene, biocompatibilitate, bioactivitate și conductivitatea osoasă bună, HA a fost utilizată pe scară largă în repararea osoasă [2-5]. Până acum au fost studiate și obținute diverse tipuri de materiale pe bază de HA, cum ar fi HA pură, HA dopată cu ioni și compozite HA/polimer. Totuși, unele dezavantaje ale hidroxiapatitei, precum fragilitatea materialului și agregarea ușoară a particulelor încă există [6]; prin urmare, mai este un drum lung de parcurs până la obținerea unor materiale satisfăcătoare pe bază de HA care să poată fi utilizate în ingineria țesutului osos [7].

Diversitatea compozitelor HA/polimer investigate ca materiale de tip scaffold a fost determinată de compoziția structurală și funcția polimerilor, precum și de imunogenitatea și transmiterea agenților patogeni [8]. De-a lungul timpului, au fost dezvoltate numeroase compozite HA/polimer, atât cu polimeri naturali (chitosan, colagen, alginat, celuloză, acid hialuronic, etc.) cât și cu polimeri sintetici (poli (acid lactic) – PLA, policaprolactonă – PCL, polivinilpirolidonă – PVP, polihidroxibutirat – PHB, poliuretani, etc.) [9, 10]. Deși osul uman este alcătuit din aproximativ 70% hidroxiapatită, 25 % colagen și 5% apă, majoritatea lucrărilor au studiat compozite pe bază de matrice polimerică și 10%-40% hidroxiapatită.

În cererea de brevet **US 2010/0152317 A1 (Biocompatible ceramic-polymer hybrids)**, M. Aizawa și M. Rikukawa au descris un material hibrid pe bază de hidroxiapatită și poli (L-acid lactic), PLLA în care polimerul sintetic biodegradabil (PLLA) intră în porii structurii ceramice de hidroxiapatită (cu o porozitate de 40-70% în volum).

Intr-o primă etapă se obține structura poroasă de hidroxiapatită, după care PLLA se obține prin polimerizare direct în porii HA.

O altă cerere de brevet **US 2010/0160467 A1 (Organic-inorganic hybrid scaffolds with surface-immobilized nano-hydroxyapatite and preparation method thereof)** prezintă un monostrat de nano-HA imobilizată pe suprafața poroasă a unui substrat de

chitosan. Se obține prin sinteză chimică hidroxiapatită cu grupări tiol pe suprafață, după care se polimerizează etilenglicol metacrilat fosfat (EGMP) în prezența suspensiei de HA-tiol, rezultând hibridul Poli(EGMP)-HA denumit hidroxiapatită modificată pe suprafață. Acest hibrid a fost apoi amestecat cu suportul poros de chitosan, obținându-se HA modificată pe suprafață cu poli(etilenglicol metacrilat fosfat) și imobilizată pe substratul de chitosan.

În cererea de brevet US 2018/0311413A1 (**Nanocrystalline hydroxyapatite/polyurethane hybrid polymers and synthesis thereof**), materialul hibrid pe bază de HA și poliuretan este obținut prin reacția particulelor de HA nanocristalină (nHA) cu tri-izocianat derivat de lizină (LTI), care conduce la formarea unui prepolimer hibrid nHA/LTI, având 65% nHA și 35% LTI. Prin reacția acestui prepolimer cu tiocetaldiol (TK) se obține rețeaua polimeră hibridă nHA/poli(uretantiocetal).

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția se referă la obținerea unor materiale hibride pe bază de HA și poliuretan sintetic (poliuretan diol), având o compoziție asemănătoare cu cea a osului uman (50-80% HA), sub formă de pastile/structuri 2D cu potențiale aplicații în ingineria țesutului osos. Aceste materiale se prepară prin metoda hidrotermală în condiții blânde de temperatură (80-110°C) și presiune (70-110 bar), se usucă prin liofilizare și apoi fie se presează sub forma unor pastile cu diametrul $d=14$ mm și înălțimea $h=3$ mm, fie se amestecă cu alcool polivinilic (APV) 5% și Baymedix FD 103 (dispersie apoasă de poliuretan), rezultând paste care se toarnă în matrițe de plastic cu diametrul interior $d_i=14$ mm și înălțimea $h=2$ mm.

Spre deosebire de brevetul RO 128603 B1 (**Pulberi hibride nanostructurate pentru aplicații medicale**) în care s-a descris obținerea prin sinteză hidrotermală a unor materiale (sub formă de pulberi) pe bază de hidroxiapatită și poliuretan funcționalizat cu grupări tiol (PU-SH), caracterizate printr-un raport în greutate HA:PU-SH=4:1, respectiv 1:4, prezenta invenție se referă la obținerea unor materiale pe bază de HA și PU-dioli sub formă de structuri 2D rezultate prin presarea unor pulberi HA/PU-dioli cu rapoarte de greutate 4:1, 2.33:1, respectiv 1:1.

Prin aplicarea invenției, se înlătură dezavantajul materialelor revendicate în brevetul RO 128603 B1, și anume utilizarea poliuretanului funcționalizat cu grupări finale tiol, sintetizat în laborator, ceea ce limitează cantitatea de pulbere hibridă ce poate fi obținută și crește costurile de fabricație ale materialului hibrid cu raportul de greutate HA:PU-SH=1:4. De asemenea, prezenta invenție se referă la materiale HA/PU-dioli sub formă compactă (pastile 2D) care ar putea fi utilizate ca atare, spre deosebire de pulberi.

Ca o noutate față de brevetul RO 132753 B1 (Structuri tridimensionale pe bază de hidroxiapatită și poliuretan-diol, obținute prin tehnica 3D printing), prezenta invenție se referă la obținerea unor materiale pe bază de HA și PU-diol sub formă de structuri 2D create prin amestecarea unor pulberi HA/PU-diol având rapoarte de greutate 4:1, 2.33:1 și respectiv 1:1, cu alcool polivinilic (APV) 5% și Baymedix FD 103 (dispersie apoasă de poliuretan) și formarea unor paste. Aceste paste se toarnă apoi în matrițe de plastic cu diametrul interior $d_i=14$ mm și înălțimea $h=2$ mm.

Prin aplicarea invenției, se înlătură dezavantajul procedurii descris în brevetul RO 132753 B1, și anume sinteza hidrotermală la presiuni ridicate (1000 – 3000 bar) și amestecarea mecanică a pulberii hibride HA/PU-diol cu lianți comerciali precum Baymedix FD 103. Prezenta invenție utilizează un mixer planetar centrifugal pentru prepararea unor paste omogene pe bază de pulberi hibride, APV și Baymedix FD 103.

Pentru realizarea materialelor biocompatibile pe bază de hidroxiapatită și polimeri sintetici conform invenției se poate utiliza poliuretan-diol comercial (proveniență Sigma Aldrich). Procesul de sinteză hidrotermală al pulberii hibride pe bază de HA/PU-diol are loc la temperaturi cuprinse între 80 °C și 110°C și presiuni în intervalul 70 bar – 110 bar. Principalele avantaje constau în consumul redus de energie, desfășurarea reacțiilor hidrotermale în condiții etanșe (fără degajarea unor compuși volatili toxici în timpul sintezei), favorizarea interacțiunilor între componenta anorganică – HA și cea organică – PU-diol, datorită presiunii create deasupra mediului de reacție, prin barbotarea de gaz inert (argon), obținerea într-o singură etapă a unor materiale nanocristaline, lucrul în suspensii apoase (fără utilizarea de solvenți organici). Suspensia rezultată în urma sintezei se usucă prin liofilizare și se mojarază, rezultând o pulbere fină. Pulberea astfel obținută fie se presează la 2 tf, sub forma unor pastile cu diametrul de 14 mm și înălțimea de 3 mm, fie se amestecă într-un mixer planetar centrifugal la 1000-3000 rpm, timp de 2 min, cu soluție de alcool polivinilic 5% și suspensie apoasă de poliuretan Baymedix FD103, rezultând o pastă care este turnată într-o matriță de plastic cu diametrul interior de 14 mm și înălțimea de 2 mm. Atât pastilele presate cât și structurile 2D compacte formate prin turnarea pastei în matrițe sunt supuse testării biocompatibilității *in vitro*.

Testele de biocompatibilitate au inclus analiza citotoxicității unor eventuali compuși solubili rezultați din structura biomaterialelor cât și capacitatea de adeziune și proliferare a celulelor pe suprafața acestor structuri 2D. Au fost utilizate celule embrionare de rinichi uman, linia HEK293T (de la ATCC – American Type Culture Collection) și celule stem

mezenchimale umane izolate din măduva osoasă (hMSC) după o procedură descrisă anterior [11] crescute în mediu DMEM complet suplimentat cu penicilină, streptomycină și fungizone.

Testarea citotoxicității compușilor solubili – Biomaterialele au fost incubate timp de 48h în mediul de cultură complet. În paralel celulele au fost placate și crescute timp de 48h în mediul rezultat de la incubarea prealabilă cu biomateriale. La finalul perioadei, celulele au fost detașate cu tripsină și numărate. Rezultatele au fost exprimate procentual în raport cu o probă reprezentând celule crescute în condiții standard.

Testarea adeziunii și proliferării în contact cu biomaterialele-Biomaterialele incubate timp de 48h în mediu complet au fost spălate cu PBS și trecute în alte plăci de cultură având suprafața capitonată în prealabil cu agaroză 1%. Acest tratament are rolul de a preveni aderarea celulelor la suprafața vasului de cultură rămasă liberă. O suspensie celulară a fost pipetată pe suprafața biomaterialelor și incubată cu acestea timp de 48h. La finalul perioadei de incubare biomaterialele au fost analizate prin microscopie optică. Ulterior celulele aderate au fost recuperate prin detașare cu tripsină și numărate. Rezultatele au fost exprimate procentual în raport cu o probă reprezentând celule crescute în condiții standard.

Figurile atașate reprezintă :

- Figura 1. Spectru în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR) pentru pulberile hibride nanostructurate cu rapoarte de greutate HA:PU-diol=4:1; 2.33:1; 1:1.
- Figura 2. Testarea citotoxicității compușilor solubili din structuri 2D pe bază de hidroxiapatită și poliuretan (HPU). Celulele HEK293T și hMSC, au fost crescute în mediul rezultat de la incubarea cu trei variante de biomateriale denumite convențional BioMSC34, BioMSC35, BioMSC36 (structuri 2D pe bază de pulberi nanostructurate cu rapoarte de greutate HA:PU-diol=4:1; 2.33:1; respectiv 1:1) și condiționate ca structuri 2D obținute din paste prin metoda prezentată mai sus.
- Figura 3. Aderarea și proliferarea celulelor HEK293T crescute în contact direct cu suprafața biomaterialelor BioMSC34, BioMSC35, BioMSC36. Biomaterialele au fost spălate pentru îndepărtarea celulelor adsorbite și examinate la microscopul optic când s-au identificat grupuri de celule aderate la suprafața biomaterialelor (A). Celulele recuperate de pe suprafața biomaterialelor au fost numărate și evaluate comparativ cu o probă crescută în condiții standard (B).

Conform invenției, pulberea hibridă pe bază de HA și poliuretan sintetic (poliuretan diol) prezintă interacțiuni intermoleculare de tip legături de hidrogen între gruparea OH din HA și gruparea uretan (NH-C=O-O-) din PU-diol, aspect reliefat prin analiza spectrală în infraroșu cu transformată Fourier (figura 1).

Figura 1 evidențiază următoarele aspecte:

- vibrația grupei OH (bandă ascuțită) de la $3564-3568\text{ cm}^{-1}$ este prezentă sub forma unui umăr (intensitatea benzii este mică), ceea ce se datorează probabil interacțiunii cu PU-diol;
- banda de la $3389-3450\text{ cm}^{-1}$ se poate datora atât vibrației de întindere ν (O-H) din HA cât și vibrației de întindere ν (N-H) din PU-diol;
- vibrațiile caracteristice hidroxiapatitei, atribuite grupării $(\text{PO}_4)^{3-}$ de la 1097 cm^{-1} , 1038 cm^{-1} , respectiv 962 cm^{-1} , se pot observa în toate cele 3 tipuri de materiale (HA:PU-diol=4:1; 2.33:1, respectiv 1:1).

Conform invenției, structurile 2D eliberează în mediul de cultură compuși solubili cu citotoxicitate ne semnificativă, ce permit proliferarea de 81% și 85% a celulelor HEK293T și respectiv hMSC din valoarea maximă reprezentată de mediul de cultură proaspăt (condiții standard). Structurile 2D permit aderarea celulelor HEK și hMSC care pot fi trecute în soluție prin detașarea cu tripsină și evaluate cantitativ prin numărare comparativ cu o probă standard la valori între 98% -93% și respectiv 71% - 83% .

Se prezintă, în continuare, două exemple de realizare a invenției, fără ca acestea să limiteze utilizarea acestui procedeu în domeniul tehnic propus.

Exemplul 1

Pentru a obține 50 g de material hibrid nanostructurat, în care raportul de greutate HA:PU-diol=2.33:1, se cântăresc, cu exactitate 82,25 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ și 24,04 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, care se dizolvă, sub agitare magnetică, în 2500 mL apă distilată. Se adaugă 15 g PU-diol sub formă de soluție apoasă, se amestecă și apoi se adaugă un volum bine determinat de amoniac, soluție 25 %, astfel încât pH-ul soluției să ajungă la 10, unde are loc precipitarea HA amorfe. Suspensia astfel obținută se introduce în autoclavă pentru sinteza hidrotermală la temperatura 80...100°C și presiunea 75...100 bar, timp de 3 ore. După tratamentul hidrotermal, suspensia se spală și se filtrează până la pH=7, apoi se liofilizează pentru îndepărtarea apei. Se obține o pulbere fină, de culoare albă, care este mojarată, cântărită și etichetată. 1.5 g din această pulbere este presată cu ajutorul unei prese hidraulice la 2 tf, sub forma unei pastile 2D cu diametrul de 14 mm și înălțimea de 3 mm. Pastila 2D este testată *in vitro*.

Exemplul 2

Pentru a obține 50 g de material hibrid nanostructurat, în care raportul de greutate HA:PU-diol=4:1, se cântăresc, cu exactitate 94,05 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ și 27,49 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, care se dizolvă, sub agitare magnetică, în 2500 mL apă distilată. Se adaugă 10 g PU-diol sub formă de soluție apoasă, se amestecă și apoi se adaugă un volum bine determinat de amoniac, soluție 25 %, astfel încât pH-ul soluției să ajungă la 10, unde are loc precipitarea HA amorfe. Suspensia astfel obținută se introduce în autoclavă pentru sinteza hidrotermală la temperatura 80...100°C și presiunea 75...100 bar, timp de 3 ore. După tratamentul hidrotermal, suspensia se spală și se filtrează până la pH=7, apoi se liofilizează pentru îndepărtarea apei. Se obține o pulbere fină, de culoare albă, care este mojarată, cântărită și etichetată. 2,5 g pulbere mojarată se amestecă cu 1 ml APV 5% și 2.6 ml Baymedix FD 103 într-un mixer planetar centrifugal la 2000 rpm, timp de 4 min, apoi se dezaerează la 2000 rpm, timp de 2 min, rezultând o pastă care se toarnă apoi în matrițe cu dimensiuni de 14 mm diametru interior și 2 mm înălțime. Pasta este lăsată să se usuce în matriță în condiții normale de temperatură și presiune, rezultând o structură 2D care este testată *in vitro* conform cu procedurile descrise la pagina 4.

Bibliografie

1. Chen, W.-C.; Cheng, I.-T.; Chang, K.-C.; Haung, S.-M.; Chen, J.-C.; Shih, C.-J. Heparin as a biomimetic template on nanoapatite rods with tunable aspect ratio: Synthesis and biocompatibility. *J. Aust. Ceram. Soc.* 2021, 1–10.
2. Chang, K.-C.; Chen, J.-C.; Cheng, I.-T.; Haung, S.-M.; Liu, S.-M.; Ko, C.-L.; Sun, Y.-S.; Shih, C.-J.; Chen, W.-C. Strength and biocompatibility of heparin-based calcium phosphate cement grafted with ferulic acid. *Polymers* 2021, 13, 2219.
3. Wang, J.; Gong, X.; Hai, J.; Li, T. Synthesis of silver–hydroxyapatite composite with improved antibacterial properties. *Vacuum* 2018, 152, 132–137.
4. Krithiga, G.; Sastry, T.P. Preparation and characterization of a novel bone graft composite containing bone ash and eggshell powder. *Bull. Mater. Sci.* 2011, 34, 177–181.
5. Haung, S.-M.; Chen, J.-C.; Chang, K.-C.; Ko, C.-L.; Lin, D.-J.; Chen, W.-C. Synthesis of nanorod apatites with templates at critical micelle concentration and in vitro evaluation of cytotoxicity and antimicrobial activity. *J. Asian Ceram. Soc.* 2021, 1–12.
6. Wu, Y.R.; Chang, C.W.; Chang, K.C.; Lin, D.J.; Ko, C.L.; Wu, H.Y.; Chen, W.C. Effect of micro-/nano-hybrid hydroxyapatite rod reinforcement in composite resins on strength through thermal cycling. *Polym. Compos.* 2019, 40, 3703–3710.
7. Shi, H.; Zhou, Z.; Li, W.; Fan, Y.; Li, Z.; Wei, J. Hydroxyapatite Based Materials for Bone Tissue Engineering: A Brief and Comprehensive Introduction. *Crystals* 2021, 11, 149.
8. Huang, S.-M.; Liu, S.-M.; Ko, C.-L.; Chen, W.-C. Advances of Hydroxyapatite Hybrid Organic Composite Used as Drug or Protein Carriers for Biomedical Applications: A Review. *Polymers* 2022, 14, 976.
9. Ramesh, N., Moratti, S. C., & Dias, G. J. Hydroxyapatite-polymer biocomposites for bone regeneration: A review of current trends. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 2017, 106(5), 2046–2057.
10. Sultan, M. Hydroxyapatite/polyurethane composites as promising biomaterials. *Chemical Papers*, 2018. 72(10), 2375–2395.
11. Negroiu, G.; Piticescu, R.M.; Chitanu, G.C.; Mihailescu, I.N., Zdrentu, L.; Miroiu, M. Biocompatibility evaluation of a novel hydroxyapatite-polymer coating for medical implants (in vitro tests), *J Mat Sci, Mat Med*, 2008, 19, 1537-44; DOI 10.1007/s10856-007-3300-6.

Revendicări

1. Pastile 2D pe bază de pulberi hibride biocompatibile, **caracterizate prin aceea că** sunt obținute prin presarea pulberii de hidroxiapatită/ poliuretan-diol, cu un raport de greutate HA:PU-diol=4:1, în care pastila are un diametru de 14 mm și o înălțime de 3 mm, iar proliferarea celulelor HEK293T în prezența mediului pus în contact cu această pastilă este de 80 %.
2. Pastile 2D pe bază de pulberi hibride biocompatibile, **caracterizate prin aceea că** sunt obținute prin presarea pulberii de hidroxiapatită/ poliuretan-diol, cu un raport de greutate HA:PU-diol=2.33:1, în care pastila are un diametru de 14 mm și o înălțime de 3 mm, iar proliferarea celulelor HEK293T în prezența mediului pus în contact cu această pastilă este de 80...100 %.
3. Structuri 2D pe bază de pulberi hibride biocompatibile, **caracterizate prin aceea că** sunt obținute din pastă având 35.3 % pulbere hidroxiapatită/ poliuretan-diol, într-un raport de greutate HA:PU-diol=4:1, 50.4 % Baymedix FD 103 și 14.3 % APV. Structura 2D are un diametru de 14 mm și o înălțime de 2 mm. Proliferarea celulelor HEK293T în prezența mediului ce a stat în contact cu această structură este de 85.1 %, iar proliferarea celulelor h MSC în prezența mediului ce a stat în contact cu această structură este de 100 %.
4. Structuri 2D pe bază de pulberi hibride biocompatibile, **caracterizate prin aceea că** sunt obținute din pastă având 35.3 % pulbere hidroxiapatită/ poliuretan-diol, într-un raport de greutate HA:PU-diol=2.33:1, 50.4 % Baymedix FD 103 și 14.3 % APV. Structura 2D are un diametru de 14 mm și o înălțime de 2 mm. Structurile 2D eliberează în mediul de cultură compuși solubili cu citotoxicitate nesemnificativă, ce permit proliferarea de 81% și 85% a celulelor HEK293T și respectiv hMSC din valoarea maximă reprezentată de mediul de cultură proaspăt (condiții standard). Structurile 2D permit aderarea celulelor HEK și hMSC care pot fi trecute în soluție prin detașarea cu tripsină și evaluate cantitativ prin numărare comparativ cu o probă standard la valori între 98% -93% și respectiv 71% - 83% .

Figuri

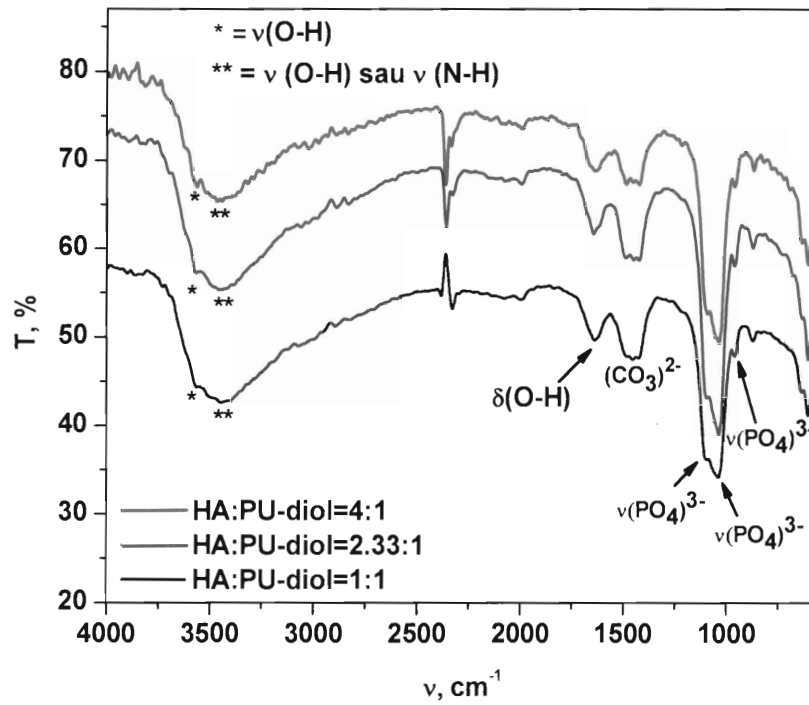


Figura 1. Spectru în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR) pentru pulberile hibride nanostructurate cu rapoarte de greutate HA:PU-diol=4:1; 2.33:1; 1:1.

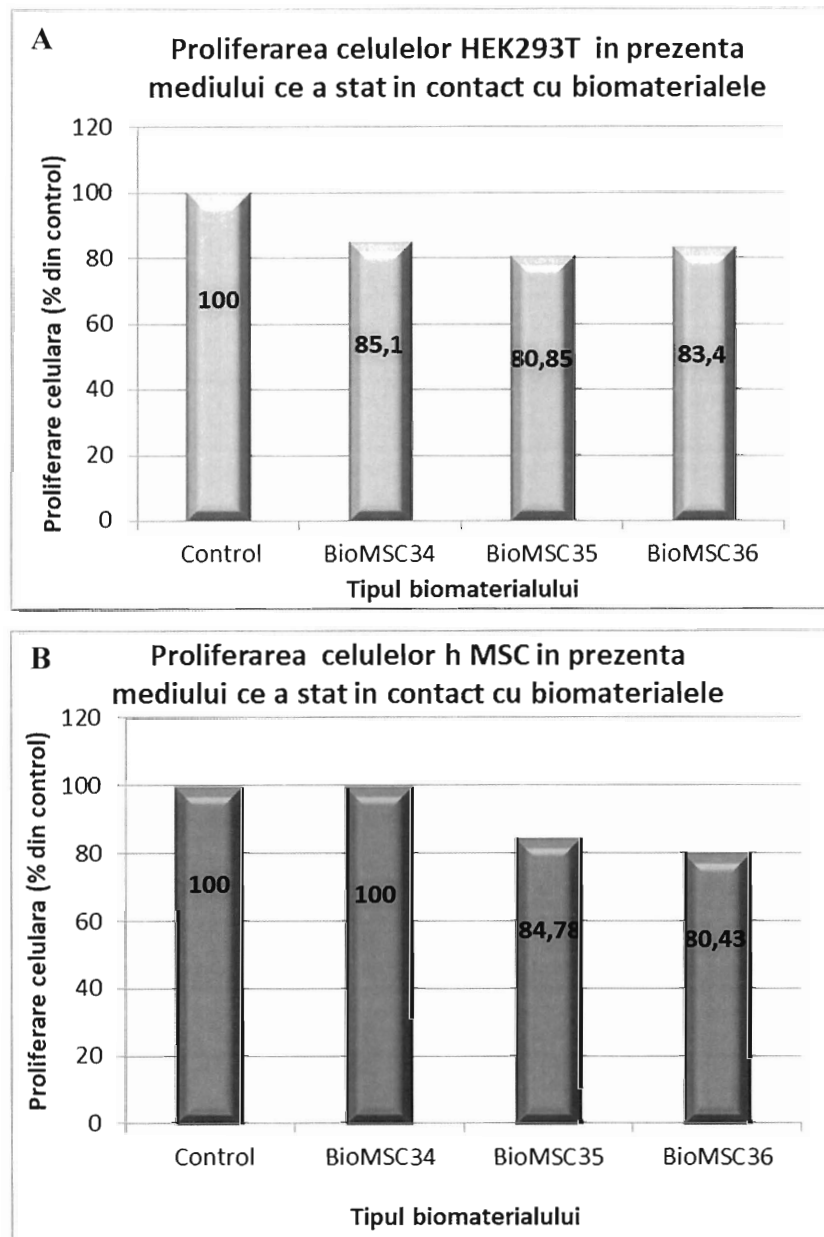
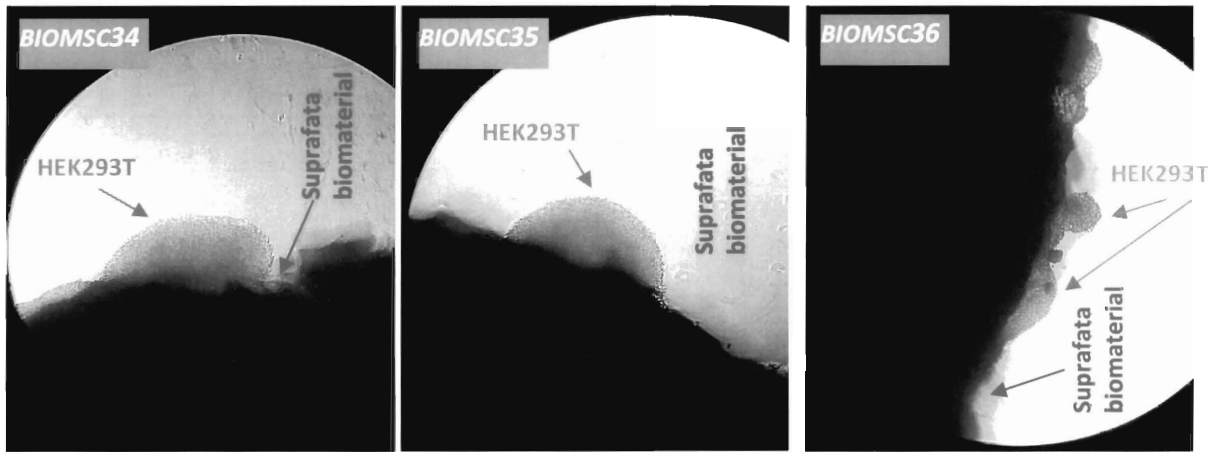


Figura 2. Proliferarea celulelor HEK293T (A) si hMSC (B) crescute în prezența mediului rezultat de la incubarea cu BioMSC34, BioMSC35, BioMSC36 (structuri 2D obținute din paste).

A



B

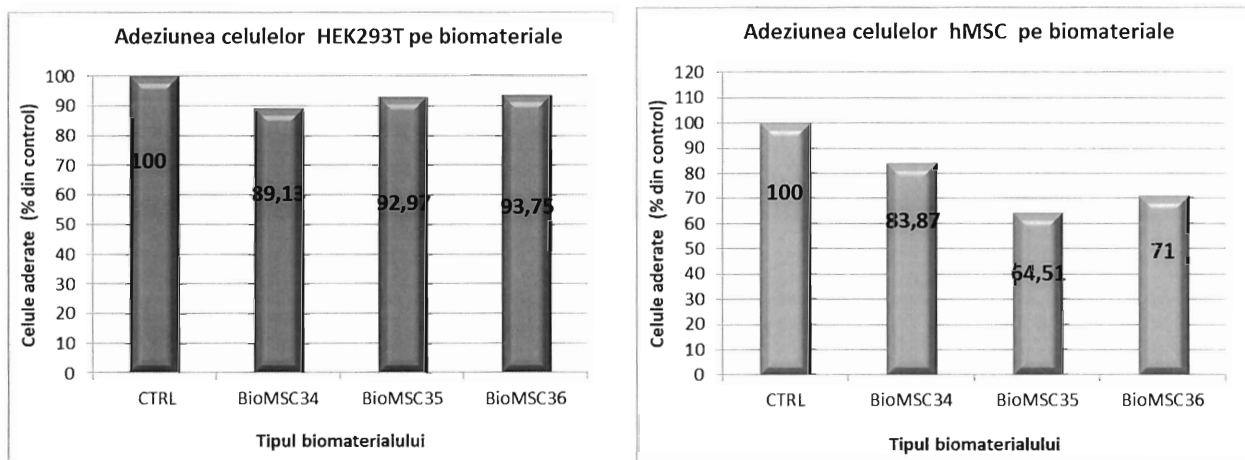


Figura 3. Adeziunea celulelor HEK293T și hMSC pe biomaterialele BioMSC34, BioMSC35 și BioMSC36 investigate prin microscopie optică (A) și prin determinarea numărului de celule detașate din structura biomaterialelor (B).