

(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00769

(22) Data de depozit: 25/11/2022

(41) Data publicării cererii:
30/05/2024 BOPI nr. 5/2024

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
FIZICA LASERILOR, PLASMEI ȘI
RADIĂȚIEI - INFLPR, STR. ATOMIȘTILOR
NR. 409, MĂGURELE, IF, RO

(72) Inventatori:
• DINCĂ VALENTINA, STR.MĂRĂȘEȘTI,
NR.12, BL.B4, SC.2, AP.22, MĂGURELE, IF,
RO;

• NISTORESCU SIMONA, STR.MIRĂSLĂU
NR.39, MĂGURELE, IF, RO;
• BONCIU ANCA, STR. TINERETULUI,
BL. D3, SC.A, AP.10, ET.2, DRĂGĂȘANI,
VL, RO;
• DUMITRESCU NICOLETA,
STR.FLORILOR NR.40, BL.C3, AP.20,
MĂGURELE, IF, RO;
• RUSEN LAURENȚIU, STR.MĂRĂȘEȘTI,
NR.12, MĂGURELE, IF, RO

(54) NOI SUPRAFEȚE POLIMERICE MICROSTRUCTURATE
FOLOSITE CA BIOINTERFEȚE ALE CAPSULELOR
SILICONICE ÎN IMPLANTURILE MAMARE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la suprafețe polimerice microstructurate bazate pe polidimetilsiloxan care au ca și caracteristică principală o microstructurare cu formă specifică de matrici hexagonale, folosite atât pentru inhibarea creșterii fibroblastelor cât și pentru activarea monocitelor, cu aplicații directe în suprafețele siliconice folosite ca biointerfețe mamare/capsulare în implanturile mamare. Suprafețele polimerice microstructurate conform invenției sunt constituite din unități micrometrice de tip "puț" hexagonal, pe suprafețe de minim 1 cm², la temperatura camerei, iar obținerea substraturilor microtexturate cu unitatea repetitivă de tip hexagon cu dimensiuni exterioare de 50 μm și interioare de 30 μm și adâncimi de 5 μm și 10 μm grosimea de perete, se realizează prin replicare în PDMS folosind matrice obținute prin ablație laser asistată de măști de gri.

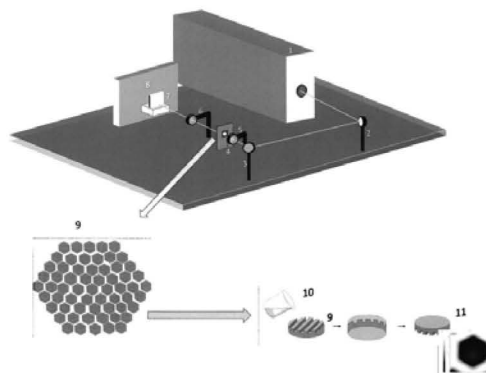


Fig. 1

Reven dicări: 5
Figuri: 6

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).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cererea de brevet de invenție	
Nr.	a 2022 00769
Data depozit	25-11-2022

19

Descrierea invenției cu titlul: Noi suprafețe polimerice microstructurate folosite ca biointerfețe ale capsulelor siliconice în implanturile mamare.

Inventatori: Dinca Valentina, Nistorescu Simona, Bonciu Anca, Dumitrescu Nicoleta, Rusen Laurentiu

Invenția se referă la obținerea unor noi platforme microstructurate bazate pe PDMS și pe o formă specifică de hexagon, folosite atât pentru inhibarea creșterii fibroblastelor, cât și pentru activarea monocitelor, cu aplicații directe în suprafețele siliconice folosite ca biointerfețe ale capsulelor siliconice în implanturile mamare. Noile platforme propuse sunt constituite prin *repetarea microstructurilor de tip puț hexagonal cu dimensiuni de 50 micrometri* obținute la temperatura camerei, prin metoda replicării. Platformele obținute au fost testate folosind următoarele tipuri de celule: fibroblaste și macrofage; determinându-le viabilitatea și evaluându-le microscopic în ceea ce privește adeziunea pe microstructuri, rezultând un comportament diferit al celor două linii celulare față de același tip de microstructură. Spre exemplu, în cazul materialelor pe bază de PDMS structurate cu unități micrometrice de tip “puț” hexagonal – (fagure) nu a fost favorizată aderența fibroblastelor dermale. Extrem de puținele celule care au fost observate pe materiale formează aglomerări de celule rotunde, foarte slab aderate, sugerând o preferință pentru interacția celulă-celulă față de interacția cu suprafața materialelor. Spre deosebire de fibroblaste, celulele THP-1 se atașează pe suprafețele testate și se diferențiază la macrofage, aspectul morfologic adaptându-se la topologia suprafeței materialelor pe bază de PDMS. Este de remarcat faptul că fenotipul morfologic al celulelor aderate nu este cel corespunzător macrofagelor stimulate cu endotoxine bacteriene (M1), ceea ce indică absența unui potențial inflamator.

Este cunoscut că răspunsul organismului față de implant este constituit de contractura capsulară ce reprezintă cea mai comună complicație care survine după o intervenție post-operatorie, de refacere a sanului [1]. Un implant cu o suprafață ideală presupune realizarea unui material ce deține caracteristici ale suprafeței (textură, hidrofilicitate/hidrofobicitate etc) capabile să asigure un răspuns imun adecvat, protecție față de contractura capsulară și biointegrarea implantului.

Interacția celulă-suprafață materialului dictează biocompatibilitatea, caracteristică ce poate fi îmbunătățită prin manipularea adeziunii celulare și reacția față de implant [2-3]. Studiile întreprinse până în prezent sugerează o frecvență semnificativ redusă a contracturii capsulare în



cazul suprafețelor texturate care încearcă „sa distruga” aranjamentul planar al FB și împiedică alterarea fenotipului lor la miofibroblaste, observate în capsula formată la suprafețele netede alături de macrofage [2-4].

Pe lângă implicarea acestor celule în procesele de reparare tisulară, remodelare, biocompatibilitate, acestea influențează sinteza de colagen a fibroblastelor prin producția de citokine, un raport fenotipic M2/M1 determinând o reducere a reacției fibrotice la implant.

În cazul implanturilor mamare, interfața dintre implant și organism este asigurată de o capsula siliconică. Dintre derivații siliconului, polidimetilsiloxanul (PDMS) este utilizat pe scară largă în implantologia mamară. PDMS-ul poate fi preparat pur și simplu prin amestecarea bazei și a agentului de întărire, unde un catalizator de platină (Pt) facilitează hidrosililarea pentru a rețicula polimerul de bază, PDMS, cu unități de metilhidrogen siloxan (din agentul de întărire), transformând lanțurile scurte de polimer într-o rețea elastomerică.

Modul de fabricare al PDMS-ului (de la kPa la MPa) poate fi controlat prin schimbarea raportului de amestecare bază-agent de întărire, a temperaturii de întărire și a timpului de reacție. De exemplu, fibroblastele 3T3 manifestă zone mai mari de răspândire celulară și aderențe focale pe substraturi rigide PDMS[5]. Strategiile curente utilizate pentru a modula PDMS pot fi utilizate numai în absența celulelor, deoarece substraturile PDMS sunt în mod normal manufacturate la temperaturi ridicate.

PDMS-ul posedă avantaje unice pentru aplicații biomedicale, inclusiv inertia fiziologică, rezistență excelentă la biodegradare, biocompatibilitate, stabilitate chimică, permeabilitate la gaz, proprietăți mecanice bune, transparență optică excelentă și fabricare simplă [6].

Datorită acestor caracteristici, PDMS-ul a fost utilizat pe scară largă în micropompe, suprafețe de cateter, pansamente și bandaje, microvalve, implanturi, microfluidică și fonică [7, 8]

Cu toate acestea, principalul dezavantaj este legat de faptul că suprafața PDMS este hidrofobă (unghi de contact $\sim 105^\circ$), ceea ce tinde să aibă ca rezultat adsorbția nespecifică a proteinelor și a altor biomolecule necesare pentru atașarea și creșterea celulelor. Deoarece contractura capsulară este inițiată de interacțiunea celulelor și proteinelor cu suprafața PDMS, au fost investigate diferite strategii de modificare fizică (prin topografierea suprafeței) sau chimică a suprafeței pentru a minimiza acest fenomen. În plus, s-a descoperit că implanturile cu suprafață texturată sunt legate de limfomul anaplazic cu celule mari asociat implanturilor mamare (BIA-

17

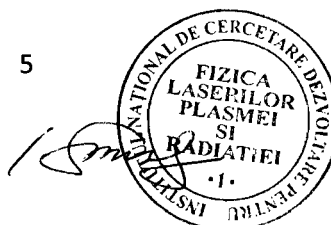
ALCL), dintre care majoritatea sunt legate de implanturi cu suprafață macrotexturată cu o dimensiune a porilor mai mare de 300 μm , mai degrabă decât de implanturi cu suprafață netedă sau implanturi de suprafață microtexturate cu o dimensiune a porilor mai mică de 100 μm . Prin urmare există o cerere pentru implanturi cu o suprafață microtexturată modificată (dimensiune <100 μm) pentru a suprima contractura capsulară și a preveni BIA-ALCL [9].

Prin urmare, modularea reacției corpului la suprafața implanturilor ar putea atenua contractura capsulară. Au fost propuse diferite metode pentru a reduce răspunsul imun excesiv împotriva implanturilor. Referitor la acest aspect, patentele [10,11] cu numărul WO 2017/093528 (Medical implants and methods of preparation thereof cross reference to related applications) și WO2020070694A1 (Scaffolding for implantable medical devices and methods of use thereof) fac referire la implanturi mamare și corelarea caracteristicilor de suprafață cu optimizarea integrării sau a „personalizării” acestora, prin folosirea de materiale variate (ex. poliuretan, poliuretan/uree, acid poliglicolic, policaprolactona sau un amestec al acestora, compuși naturali: agaroză, alginat, chitosan, colagen, fibrina, gelatina, acid hialuronic).

Medicamente precum antibioticele sau imunosupresoarele au fost administrate pacienților, însă cu o rată de succes limitată. În plus, abuzul de antibiotice provoacă rezistență bacteriană, iar antibioticele sunt daunatoare din cauza anumitor leziuni ale ficatului și sistemului nervos, cauzând o influență serioasă asupra auzului, vederii etc. [12].

Modificarea semi-permanentă a suprafeței ar putea fi benefică pentru atenuarea pe termen lung a contracturii capsulare. În acest context, folosirea de materiale precum PDMS-ul cu suprafața modificată poate reprezenta o variantă fiabilă pentru obținerea de biointerfețe adecvate cerințelor capsulelor siliconice ale implanturilor mamare. Brevetul US20120277860A1 (Lightweight breast implant material), și brevetul cu numărul 10912636 (Textured surfaces for breast implants) a inclus metodele și obținerea de suprafețe texturate într-un mod aleatoriu, dar au vizat un răspuns celular îmbunătățit comparativ cu cele netede sau texturate existente în comerț [13].

Utilizarea de PDMS ca material în domeniul biomedical prezintă un factor cheie în diminuarea dezavantajelor suprafețelor care folosesc imobilizarea directă de compuși biologici, oferind avantajele îmbunătățirii compatibilității sângelui, rezistența adsorbției proteinelor, denaturării și aderenței celulare și prevenirea aderenței bacteriene pentru ingineria țesuturilor [14].



Printre metodele de obtinere de suprafete structurate de PDMS, replicarea utilizand PDMS si matrite de replicare reprezinta una dintre optiunile promitatoare pentru realizarea strategiei de biomimetism necesara in cazul majoritatii implanturilor [7,8]. Totodata, in contextul eforturilor facute pentru evitarea sau minimizarea formarii capsulelor fibroase, pe langa metodele de prevenire cum ar fi obtinerea de invelisuri cu caracteristici de suprafata specifice, incorporarea de factori antiinflamatori si antifibrotici, folosirea de topografii care sa poata impiedica formarea fibrelor de collagen si care sa induca un raspuns inflamator minim reprezinta o optiune de interes.

Scopul inventiei este de a obtine noi substraturi microtexturate, cu o unitate hexagonala repetitiva cu caracteristici bine definite care impiedica aderenza fibroblastelor, implicit a formarii fibrelor de collagen, dar permite diferentierea THP-urilor la macrofage cu fenotip morfologic care nu este cel corespunzator macrofagelor stimulate cu endotoxine bacteriene (M1), indicand absenta unui potential inflamator.

Astfel, aceste interfete pot folosite atat pentru inhibarea cresterii de fibroblaste, cat si pentru activarea monocitelor, cu aplicatii directe in suprafetele siliconice folosite ca biointerfete ale capsulelor siliconice in implanturile mamare.

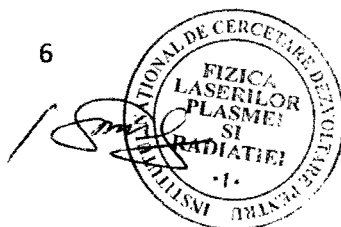
Problema pe care o rezolva inventia de fata, este obtinerea unor noi suprafete polimerice microstructurate constituite din unitati micrometrice de tip "puț" hexagonal obtinute la temperatura camerei, prin metoda replicarii, cu caracteristici laterale de 50 μm , 5 μm inaltime pereti, 10 μm grosime pereti, care pot induce o reducere a reactiei fibrotice la suprafata.

Eficienta microstructurilor a fost testata analizand adeziunea fibroblastelor pe suprafetele texturate, precum si prin analiza raspunsului macrofagelor la caracteristicile de suprafata.

Suprafetele texturate, conform inventiei, prezinta urmatoarele avantaje:

- Se pot obtine rapid, in mod reproductibil si in cantitati mari;
- impiedica aderenza fibroblastelor, implicit a formarii fibrelor de collagen;
- permit diferentierea THP-urilor la macrofage cu fenotip morfologic care nu este cel corespunzator macrofagelor stimulate cu endotoxine bacteriene (M1), ceea ce indica absenta unui potential inflamator.

Problema tehnica pe care o rezolva prezenta inventia se refera la suprafetele neadecvate ale implanturilor mamare care pot produce un raspuns inflamator acut. Abordarea acestui



brevet pentru rezolvarea acestei probleme consta in obtinerea de noi suprafete polimerice, cu caracteristici topografice bine definite bazate pe o unitate hexagonala cu dimensiunile 50 (+/- 1) micrometri diametrul exterior si caracterizate de o energie de suprafata cu componenta polara mica, capabile sa genereze o scadere a adeziunii celulelor fibroblaste pe suprafata cu 80% fata de control, implicand o inhibare a formarii fibrelor de colagen, dar care imbunatatesc interactia cu celule implicate in raspunsul imun.

Conform metodei de obtinere a substraturilor microtexturate cu unitatea repetitiva de tip hexagon cu caracteristici 50 micrometri diametru exterior, 5 um inaltime pereti, 10 um grosime pereti, acestea au fost realizate prin replicare in PDMS folosind matrite obtinute prin ablatie laser asistata de masti de gri. Eficienta microstructurilor a fost testata analizand adeziunea fibroblastelor pe suprafetele texturate, precum si prin analiza raspunsului macrofagelor la caracteristicile de suprafata.

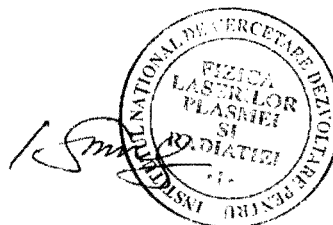
In urma testelor putem concluziona:

- substraturi microtexturate specific au fost obtinute prin metoda replicarii folosind matrite obtinute prin ablatie laser asistata de masti cu nivel de gri;
- substraturile polimerice obtinute prin replicare au efect inhibitor asupra fibroblastelor;- permitand diferentierea THP-urilor la macrofage cu fenotip morfologic care nu este cel corespunzator macrofagelor stimulate cu endotoxine bacteriene (M1), ceea ce indica absenta unui potential inflamator.

Se da in continuare, un exemplu de realizare a substraturilor microtexturate de tip fagure.

Metoda de obtinere a substraturilor microtexturate de tip fagure, descrisa in Desenul 1 (Desenul 1: Schema sistemului de obtinere de substraturi de PDMS microstructurat sub forma de fagure), presupune urmatoarele etape:

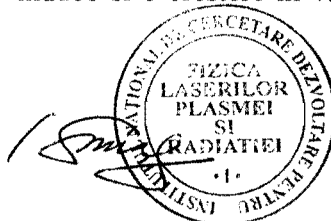
1. Obtinerea de matrite de replicare prin ablatie laser asistata de masti cu nivel de gri. Sistemul de microprelucrare cu un laser cu excimer prin proiectie cu masca a fost folosit pentru a obtine matritele in policarbonat. Setup-ul experimental contine un laser cu excimer KrF-fluorura de kripton (Exitech, PPM-601E Gen 6 Instrument)(1), cu urmatoarele caracteristici: 20ns puls, 248nm lungimea de unda si rata de repetitie de 50Hz.



2. Fasciculul laser a fost directionat printr-un sistem de oglinzi-(2,3) catre masca (5), si printr-un sistem de lentile (4,6) a fost focalizat pe un substrat de policarbonat (7) - asezat pe o masuta de translatie-(8).
3. A fost folosita o fluenta de 400 mJ/cm², un numar de 20 de pulsuri micro-modele hexagonale fiind generate pe substratul de policarbonat folosit ca matrita (7).
4. Probele de policarbonat au fost curatate cu ultrasunete timp de 10 minute, secvential, în alcool izopropilic (IPA) si apa ultrapura, urmata de uscarea cu un pistol de aer.
5. Suprafetele finale texturate(11) s-au obtinut prin turnarea PDMS-ului (10)-(Sylgard 184 Silicone Elastomer Kit; Dow Corning) (1:10) pe matrita de policarbonat (9)si pastrarea acestuia timp de 48h la temperatura camerei .

După finalizarea protocolului de lucru, probele de PDMS obținute au fost vizualizate prin microscopie electronică de baleiaj (SEM) pentru a confirma replicarea matriței (desen 2). Imaginile AFM au confirmat observatiile SEM, si, in plus, au dat informatii asupra adancimii acestor structuri de tip put hexagonal. Suprafetele obtinute folosind matritele texturate cu laser respecta design-ul acestora, fara a prezenta defecte pe suprafata, asa cum se poate observa in Desenul 2-(Desen 2: (a) Imagini de microscopie electronică de baleiaj ale structurilor de suprafață PDMS fature, cu scală de 100 μm. (b) Imagini de microscopie de forță atomică ale structurilor PDMS cu topografia corespunzătoare), unde sunt prezentate imaginile de microscopie electronică de baleiaj si de AFM. Analiza SEM detaliata a probelor structurate s-a efectuat cu ajutorul unui microscop electronic de baleiaj JSM-531, folosind 5 kV, putandu-se observa obtinerea de microstructuri cu forme bine definite, pe arie mare, fara prezentadefectelor pe suprafata.

Măsurătorile unghiului de contact și analiza energiei libere de suprafață prezentate in Desenul 3 (Desen 3. Histogramă care arată valorile unghiului de contact ale probelor PDMS. (a) Histograma care arată valorile energiilor de suprafață pentru replicile PDMS (b)) au fost efectuate pentru a evalua gradul de udare a suprafeței de contact și, respectiv hidrofobicitatea suprafetelor de PDMS. Chiar dacă unghiurile de contact PDMS au suferit o ușoară modificare odată cu topografiile regăsite pe suprafața replicilor, toate probele au rămas hidrofoabe, însă creșterea creșterea rugozitatii replicilor de PDMS induce si o creștere în valoarea unghiului de



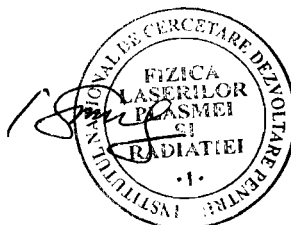
contact. Determinarea parametrilor rugozității a fost realizată prin profilometrie de contact. Valorile obținute pentru parametrii de rugozitate Ra și Rq au aratat ca microtopografiile create pe suprafețele de PDMS cresc rugozitatea biomaterialului. Astfel, au fost evidențiate modificări ale valorilor rugozității suprafeței de la $0.021 \mu\text{m}$ (Ra) și $0.032 \mu\text{m}$ (Rq) pentru PDMS neted până la $1.63 \mu\text{m}$ (Ra) și $1.84 \mu\text{m}$ (Rq) pentru proba PDMS fagure. Astfel, putem spune că rugozitatea probei de silicon a fost sporită prin microtexturarea suprafeței.

Desenul 3 (Desen 3: Histogramă care arată valorile unghiului de contact ale probelor PDMS. (a) Histograma care arată valorile energiilor de suprafață pentru replicile PDMS (b)) include informatii legate de modificarea unghiurilor de contact și a energiei de suprafață după texturare. Astfel, deși unghiurile de contact PDMS s-au schimbat cu diferitele tipuri de densități de structură, ambele suprafețe au rămas hidrofobe. Analiza a mai arătat că creșterea densității unități pe replica de PDMS microtexturată a indus o creștere a valorii unghiului de contact ($109,8^\circ$). Energia liberă de suprafață, așa cum a fost determinată prin metoda OWRK, a arătat că profilele energetice le imită pe cele hidrofobice. S-a observat faptul că energia de suprafață totală, precum și componenta dispersivă a acesteia, determinate prin metoda OWRK, scad datorită structurării PDMS, conducând la ideea unui răspuns favorabil *in vitro* al probei fagure. (Desen 3 b)

Aplicatia practica a microstructurilor obtinute prin replicare in analiza interactiei cu celule. Raspunsul caracteristic al suprafetelor la celule a fost obtinut urmarind pasii de mai jos:

1. Cultivarea celulelor. Fibroblastele dermale (FB) (CCD 1070SK, au fost cultivate in mediu alfa MEM (Gibco, Life Technologies, UK) suplimentat cu 10 % ser fetal bovin (FBS) (v/v) inactivat, 1% penicilina-streptomicina și menținute la 37°C în atmosferă cu 5% CO_2 . Celulele umane premonocitare THP-1 (ATCC, CRL-12424) au fost cultivate in mediu RPMI 1640 cu glutamina (PAN Biotech, Germany), suplimentat cu 10 % FBS (v/v) inactivat, 1% penicilina-streptomicina și menținute la 37°C în atmosferă cu 5% CO_2 . Pentru studiile biologice in vitro celulele THP-1 au fost differentiate la macrofage prin incubare cu 100 ng/mL forbol 12-miristilat 13- acetat (PMA, Sigma) timp de 72 de ore, la 37°C .

2. Viabilitatea celulara. Viabilitatea fibroblastelor dermale și a celulelor THP-1 a fost evaluata prin testul MTS (3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -5 - (3-carboximetoxifenil) - 2 - (4-sulfopenil)-2H-tetrazoliu) (CellTiter 96 ® Aqueous One Solution Proliferation Assay kit test,



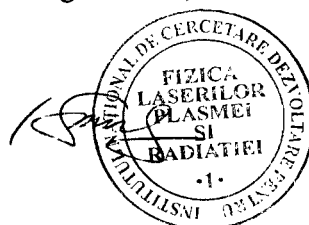
Promega) de determinare a formazanului eliberat prin actiunea dehidrogenazei prezenta în celulele metabolic active.

3. Microscopia de imunofluorescenta si SEM. Efectele induse de suprafata biomaterialelor asupra morfologiei macrofagelor THP-1 au fost investigate prin microscopie de fluorescenta urmarind distributia filamentelor de actina. Macrofagele atasate pe coverslip (ca atare sau stimulate cu LPS 18h) si respectiv pe suprafata biomaterialelor incubate timp de 24 si 48h ore au fost fixate pentru 15 minute cu PFA 4%, permeabilizate cu 0,2% Triton X-100, blocate timp de 30 minute cu 0,5 % BSAPBS si apoi spalate cu tampon PBS. Probele au fost vizualizate prin microscopie de imunofluorescenta cu obiectivul 20× folosind microscopul cu apotom Zeiss Axiocam ERc5s cu modul cursor ApoTome.2 si prin microscopie de contrast (DIC) imaginile fiind captate cu programul AxioVision Rel 4.8 ce controlează camera AxioCam MRm. Pentru examinarea prin SEM, materialele continand celule aderate au fost fixate cu glutaraldehida 2,5% in tampon fosfat (PBS) timp de 20 min. Apoi deshidratate si uscate cu etanol si HMDS (hexamethyldisilazane). Dupa uscare peste noapte in hota, imaginile SEM au fost obtinute utilizand Inspect S Electron Scanning Microscope (FEI Company).

Se poate observa din Desenul 4 (Viabilitatea fibroblastelor dermale si a macrofagelor crescute pe material timp de 48h (a,c) si respectiv 72h (b,d)) un numar semnificativ scazut de celule FB pe PDMS nestructurat dar si structurat fagure fata de control (CTRL+, celule inoculate pe coverslip) atat la 48 cat si la 72h. In cazul macrofagelor, numarul celulelor cultivate pe materialele structurate este crescut semnificativ comparativ cu cel obtinut in cazul coverslipului fapt ce atesta absenta potentialului toxic (Desen 5). Dintre materialele pe baza de PDMS, cele structurate fagure induc o crestere semnificativa a viabilitatii celulare fata de PDMS-ul nestructurat.

In desenul 5 se poate observa cum materialele pe baza de PDMS nu favorizeaza aderarea fibroblastelor dermale. Extrem de putinele celule care au fost observate pe materiale formeaza aglomerari de celule rotunde, foarte slab aderate, sugerand o preferinta pentru interactia celula-celula fata de interactia cu suprafata materialelor.

In desenul 6 (Desen 6: Morfologia celulelor aderate pe substraturile de Control, PDMS nestructurat si structurat), informatiile legate de morfologia celulara afectata de substraturile produse este interesant de remarcat ca pe PDMS nestructurat celulele sunt rotunde cu corp citoplasmatic mai mic sau mai mare. Aceasta morfologie mixta, similara cu cea intalnita la



control (CTRL+) sugereaza un fenotip de macrofag neactivat (M0), diferit de cel observat in cazul CTRL+ stimulat cu LPS, respectiv celule alungite (M1, fenotip inflamator). Spre deosebire de fibroblaste, celulele THP-1 se ataseaza pe suprafetele structurate testate si se diferentiaza la macrofage al caror aspect morfologic este adaptat la topologia suprafetei materialelor pe baza de PDMS. De remarcat faptul ca fenotipul morfologic al celulelor aderente nu este cel corespunzator macrofagelor stimulate cu endotoxine bacteriene (M1), ceea ce indica absenta unui potential inflamator.

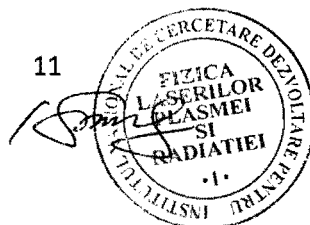
In urma analizelor efectuate pe suprafetele microstructurate obtinute si a testelor efectuate cu 2 tipuri de celule implicate in interactia implant mamara-organism, putem concludiona:

-Materialele pe baza de PDMS, indiferent de topografia de suprafata- nestructurata si structurata fagure- nu favorizeaza aderarea fibroblastelor dermale (FB) .

- Putinele celule care au fost observate pe materiale formeaza aglomerari de celule rotunde, foarte slab aderente, sugerand o preferinta pentru interactia celula-celula fata de interactia cu suprafata materialelor.

- Celulele THP-1 se ataseaza pe suprafetele testate si se diferentiaza la macrofage al caror aspect morfologic este adaptat la topologia suprafetei materialelor pe baza de PDMS.

- Fenotipul morfologic al celulelor aderente nu este cel corespunzator macrofagelor stimulate cu endotoxine bacteriene (M1), ceea ce indica absenta unui potential inflamator.

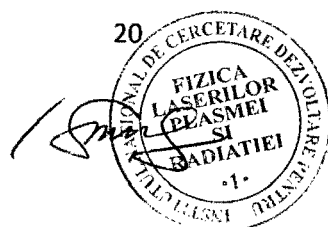


Referinte bibliografice

1. Filiciani, S.; Siemienczuk, G. F. M.D.; Etcheverry, Mariano G. M.D., Smooth versus Textured Implants and Their Association with the Frequency of Capsular Contracture in Primary Breast Augmentation, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2022 ,149, 2, 373-382.
2. Chung, L.; Maestas, D.R., Jr.; Housseau, F.; Elisseeff, J.H. Key players in the immune response to biomaterial scaffolds for regenerative medicine. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017, 114, 184–192.
3. Franz, S.; Rammelt, S.; Scharnweber, D.; Simon, J.C. Immune responses to implants—A review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials. *Biomaterials* 2011, 32, 6692–6709.
4. Ward, W.K. A review of the foreign-body response to subcutaneously-implanted devices: The role of Macrophages and cytokines in biofouling and fibrosis. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2008, 2, 768–777.
5. Y. Sun, L.-T. Jiang, R. Okada, J. Fu UV-Modulated substrate rigidity for multiscale study of mechanoresponsive cellular behaviors *Langmuir*, 28 (2012), pp. 10789-10796].
6. J. Fu, Y.-K. Wang, M.T. Yang, R.A. Desai, X. Yu, Z. Liu, C.S. Chen Mechanical regulation of cell function with geometrically modulated elastomeric substrates *Nat. Methods*, 7 2010, 733-736.
7. Miranda I, Souza A, Sousa P, Ribeiro J, Castanheira EMS, Lima R, Minas G. Properties and Applications of PDMS for Biomedical Engineering: A Review. *J Funct Biomater.* 2021 Dec 21;13(1):2. doi: 10.3390/jfb13010002. PMID: 35076525; PMCID: PMC8788510.
8. Vudayagiri, S.; Yu, L.; Hassouneh, S.; Skov, A. Hot embossing of microstructures on addition curing polydimethylsiloxane films. *J. Elastomers Plast.* 2013, 46, 623–643.
9. Nelson JA, McCarthy C, Dabic S, Polanco T, Chilov M, Mehrara BJ, Disa JJ. BIA-ALCL and Textured Breast Implants: A Systematic Review of Evidence Supporting Surgical Risk Management Strategies. *Plast Reconstr Surg.* 2021 May 1;147(5S):7S-13S. doi: 10.1097/PRS.00000000000008040. PMID: 33890875; PMCID: PMC9157223.
10. WO 2017/093528- MEDICAL IMPLANTS AND METHODS OF PREPARATION THEREOF CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

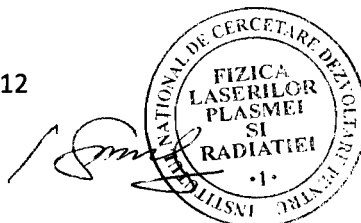


11. WO2020070694A1 (Scaffolding for implantable medical devices and methods of use thereof), 2020
12. Byrne, M.K., Miellet, S., McGlenn, A. et al. The drivers of antibiotic use and misuse: the development and investigation of a theory driven community measure. BMC Public Health 19, 1425 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12889-019-7796-8>.
13. US20120277860A1 (Lightweight breast implant material), 2012
14. Brevet 10912636 (Textured surfaces for breast implants)
15. Victor, A.H., Apolónia, S., Ribeiro, J.G., Araújo, F.F., Bragança, Portugal, Apolónia, C.S., Cefet, Reis, R.C., Janeiro, R.D., & Brasil (2019). Study of PDMS characterization and its applications in biomedicine: A review. Journal of Mechanical Engineering and Biomechanics.

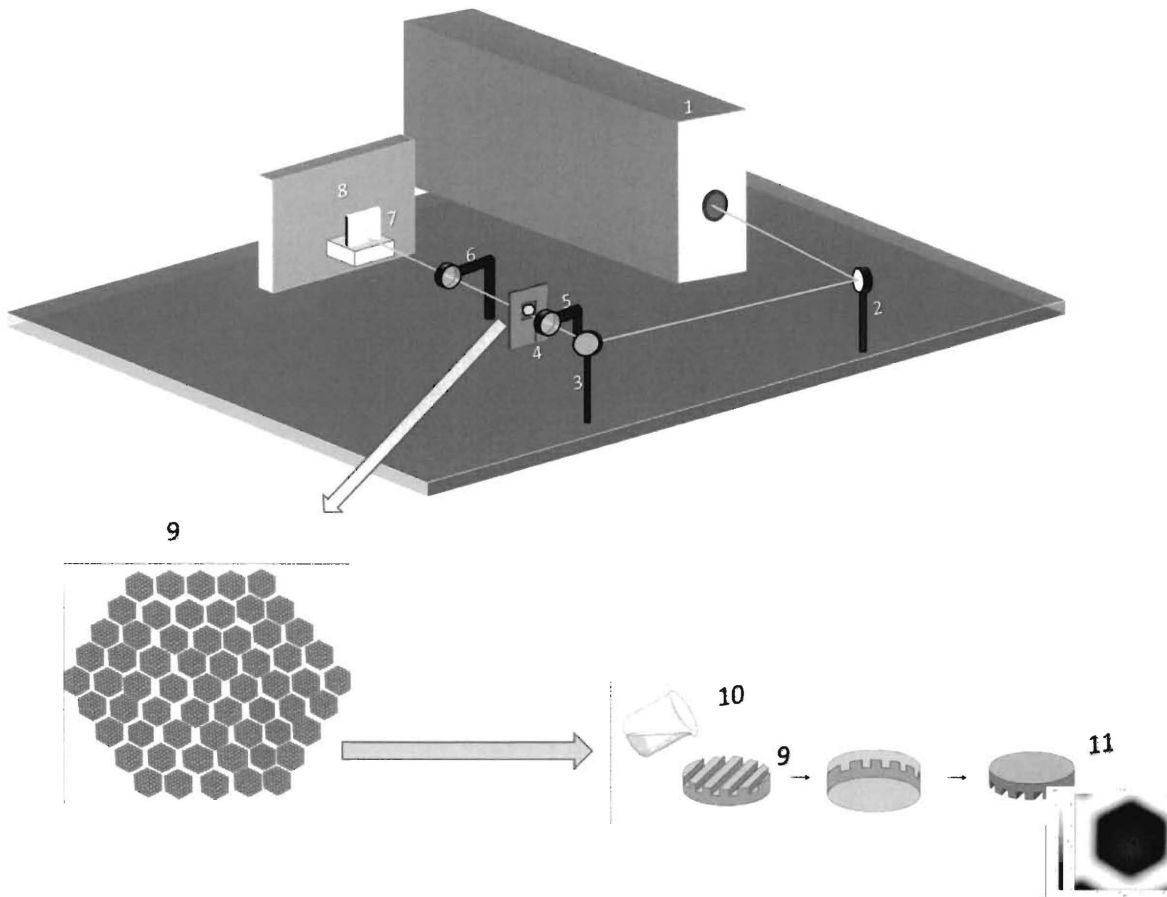


Revendicari:

1. Suprafetele finale texturate sunt caracterizate prin aceea ca pot fi obtinute matrici de structuri hexagonale tip puturi cu dimensiuni exterioare si interioare de 50, respectiv 30 μm si adancimi de 5 μm cu rol dual in minimizarea adeziunii de fibroblaste si de diferentiere a monocitelor in macroface proreparatorie.
2. Noile structuri obtinute in conditiile revendicării 1, sunt caracterizate de o crestere a rugozitatii ce induce si o crestere in valoarea unghiului de contact, dar totodata de o scadere a energiei libere de suprafata totala, precum si a componentei dispersive a acesteia.
3. Structurile obtinute in conditiile revendicării 1 sunt caracterizate prin aceea ca prezinta efect inhibitor asupra celulelor de tip fibroblast, ceea ce are implicatii directe in diminuarea fibrelor de collagen corelate cu formarea capsulei.
4. Structurile obtinute in conditiile revendicării 1 sunt caracterizate prin aceea ca permit atasarea celulelor THP-1, cat si diferentierea la macrofage al caror aspect morfologic este adaptat la topologia suprafetei materialelor pe baza de PDMS
5. Structurile obtinute in conditiile revendicării 1 sunt caracterizate prin aceea ca fenotipul morfologic al celulelor aderate nu este cel corespunzator macrofagelor stimulate cu endotoxine bacteriene (M1), ceea ce indica absentia unui potential inflamator.

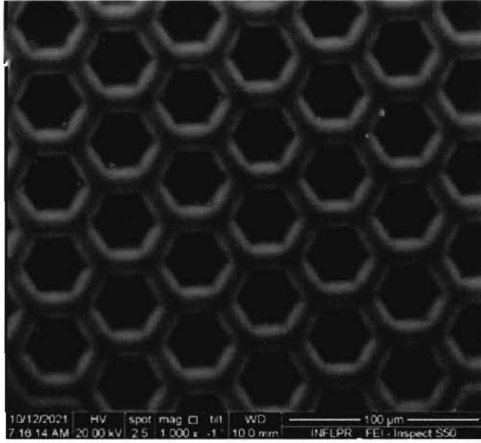


Desen 1

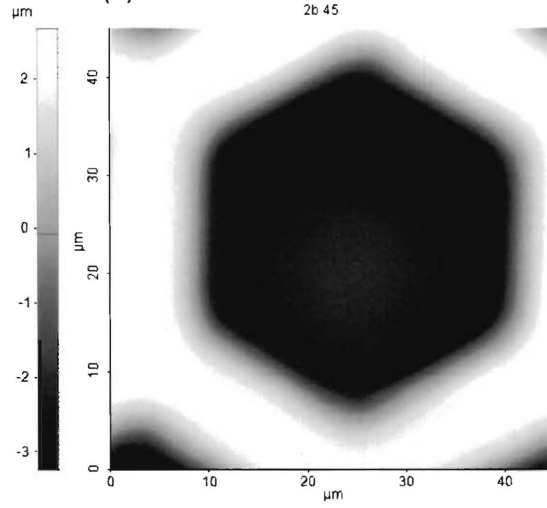


Desen 2

(a)

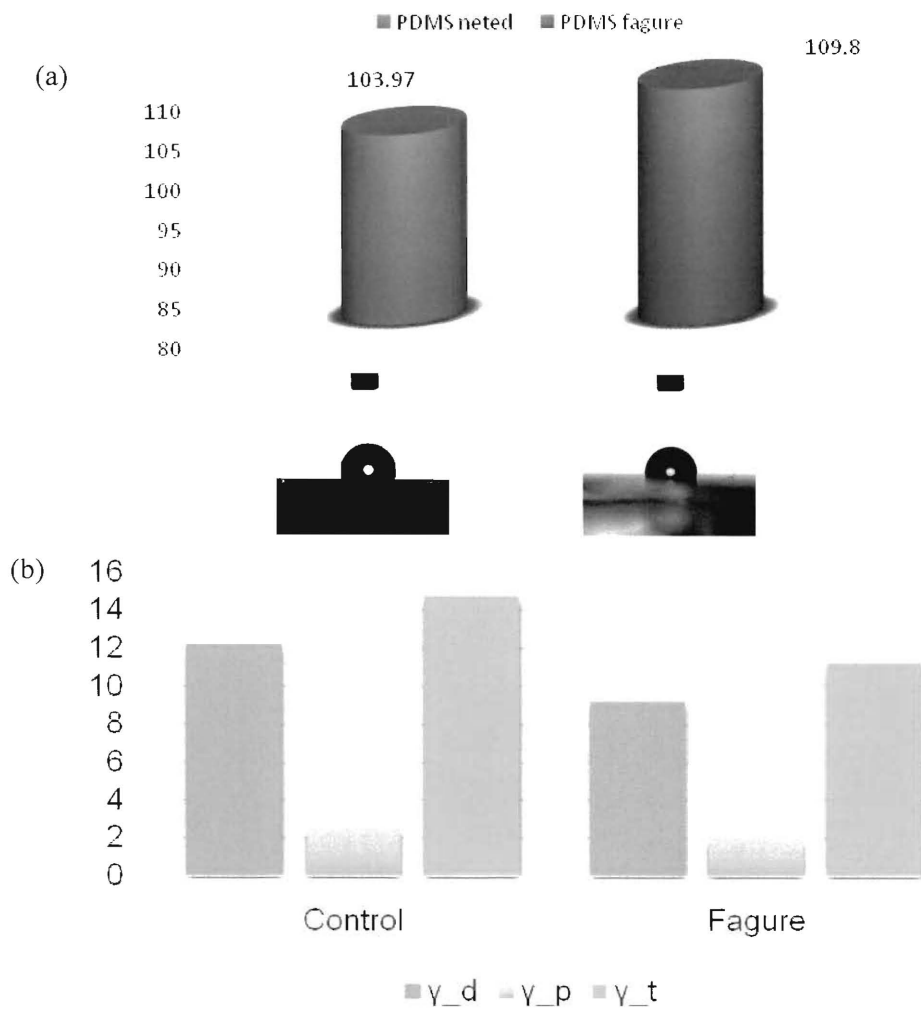


(b)



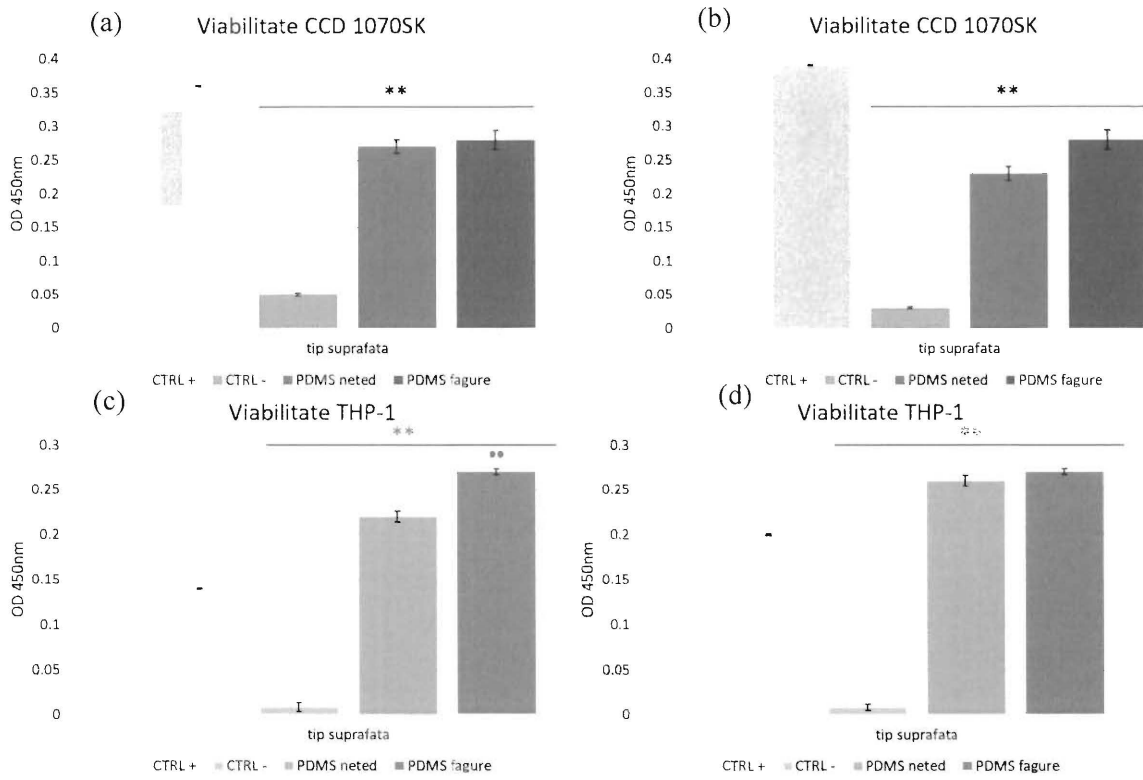
5

Desen 3

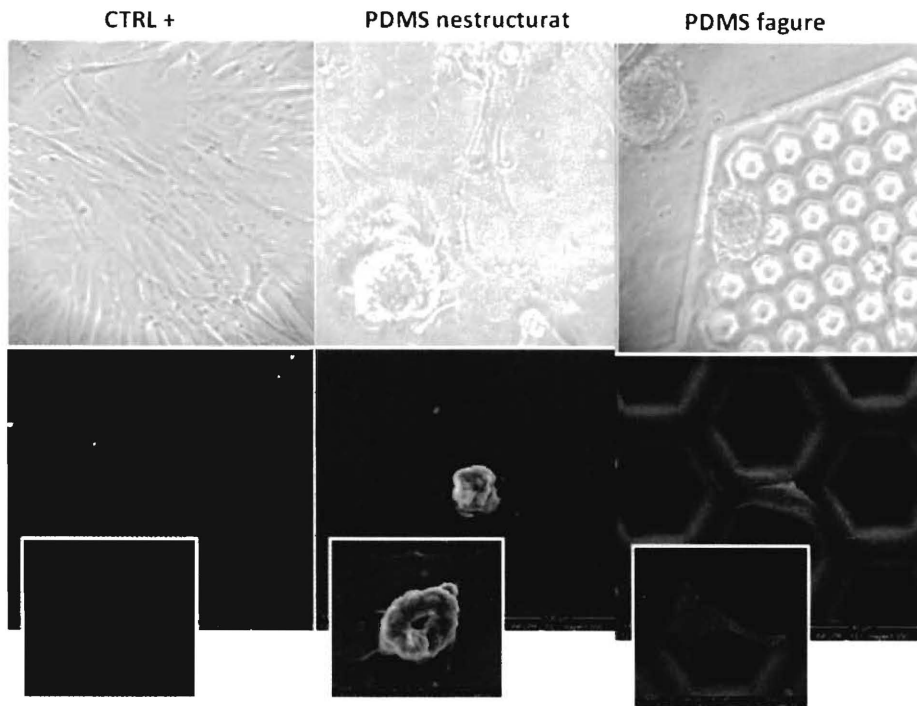


4

Desen 4.



Desen 5



Desen 6

