

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTAMENTUL XI: PEDIATRIE**

SALVANTE ENRICA RAFFAELLA GRAZIA



TEZĂ DE DOCTORAT

**ÎMBUNĂTĂȚIREA EVALUĂRIILOR BIOCOMPATIBILITĂȚII
BIOMATERIALELOR PENTRU APLICAȚII CHIRURGICALE
PEDIATRICE: INTEGRAREA EVALUĂRII ANGIOGENEZEI
MULTIMODALE CU IA**

- R E Z U M A T -

Conducători științifici:

**PROF. UNIV DR. BOIA EUGEN SORIN, MD PhD
PROF. UNIV. HABIL. DR. CIMPEAN ANCA MARIA**

**Timișoara
2024**

Prezenta teză de doctorat se concentrează pe biomateriale și pe utilizarea acestora pentru aplicarea clinică și practica de cercetare, punând accentul pe inovația în metodologiile experimentale și rezultate. Studiul utilizează membrana corioalantoică a embrionilor de găină leghorn pentru a evalua procesele angiogenetice ca o măsură a integrării. Diferite biomateriale au fost testate pe un model etic de țesut viu, cu evaluări microscopice îmbunătățite de Inteligența Artificială.

Biomaterialele sunt esențiale în medicina modernă, în special în proteze, implanturi, medicina regenerativă și sistemele de administrare a medicamentelor. Acestea sunt folosite pentru a crea schele pentru regenerarea țesuturilor, pentru a îmbunătăți tratamentele pentru arsuri ale pielii, fracturi osoase, boli de inimă și tulburări neurologice. În plus, biomaterialele joacă un rol semnificativ în aplicațiile de diagnosticare prin intermediul biosenzorilor și al dispozitivelor de diagnosticare, permițând detectarea timpurie a bolilor cu sensibilitate și specificitate ridicate.

Cercetarea subliniază impactul biomaterialelor asupra medicinei contemporane prin furnizarea de soluții inovatoare la provocările medicale complexe. Biomaterialele și lentilele de contact sunt esențiale în proiectarea produselor biomedicale precum valvele cardiace, înlocuirile articulare și lentilele de contact.

Studiul evidențiază potențialul diferitelor tipuri de schele, plase și prototipuri cu două straturi pentru a spori rezultatele medicale, cercetările în curs sugerând un impact tot mai mare asupra viitorului medicinei.

Pe scurt, această teză de doctorat evaluează eficacitatea biomaterialelor prin tehnici experimentale avansate și evidențiază rolul lor transformator în tratamentele medicale, diagnosticare și ingineria țesuturilor.

Biomaterialele îmbunătățesc, repară sau regenerează funcțiile biologice și interacționează intim cu țesuturile vii. Acestea pot fi naturale (de exemplu, amidon, collagen) sau sintetice și au diverse proprietăți mecanice, biologice și chimice esențiale pentru uz medical. Industria biomaterialelor a făcut progrese semnificative, producând numeroase dispozitive și produse de diagnosticare pentru regenerarea țesuturilor și restabilirea funcțiilor corporale. FDA clasifică peste 6000 de tipuri de dispozitive medicale pentru a asigura siguranța și eficacitatea, inclusiv stimulatoare cardiace, valve cardiace mecanice, stimulatoare nervoase și articulații protetice. Istoria biomaterialelor datează din societățile antice, cu o creștere notabilă după cel de-al doilea război mondial, datorită progreselor din domeniul metalelor, ceramicii și polimerilor. Termenul de „biomateriale” a fost definit pe larg în 1982, cuprinzând atât compuși inerti, cât și compuși activi utilizați pentru a trata, spori sau înlocui țesuturile, organele sau funcțiile corpului.

Biomaterialele sunt clasificate în funcție de calitățile lor materiale și aplicațiile medicale.

Principalele categorii pot fi rezumate astfel:

Bioceramică: Utilizată în chirurgia ortopedică și stomatologie, exemplele includ oxid de aluminiu și dioxid de siliciu. Sunt biocompatibile și neinflamatorii, dar au un punct de fractură scăzut. Polimeri: Împărțiți în polimeri naturali (de exemplu, collagen, chitină) și sintetici (de exemplu, polietilenă, polipropilenă). Polimerii naturali sunt biodegradabili, în timp ce cei sintetici sunt versatili și folosiți în proteze și implanturi, dar pot absorbi apa și proteinele, ceea ce face ca sterilizarea să fie dificilă. Metale: Includ aliaje de titan și oțel inoxidabil, utilizate în valvele cardiace și înlocuirile de articulații pentru rezistența și biocompatibilitatea lor. Acestea se confruntă cu probleme precum citotoxicitatea și coroziunea. Lipozomi: Structuri lipidice bistratificate utilizate pentru livrarea de droguri în tratamentul cancerului, vaccinare și terapie antimicrobiană. Acestea protejează medicamentele și stimulează captarea celulară. Nanoparticule: Nanoparticulele de aur și siliciu sunt utilizate în tratamentul bolii, intensificând efectele chimioterapiei și declanșând răspunsuri imune împotriva cancerului.

Colagenul este o proteină fibroasă esențială în matricea extracelulară (ECM) și în țesutul conjunctiv și este vital pentru rigiditatea și integritatea țesutului. Superfamilia de

colagen cuprinde 28 de tipuri de colagen, fiecare cu caracteristici unice, reprezentând aproximativ 30% din masa proteică totală a corpului uman. Lanțurile de colagen, care conțin motive repetitive de aminoacizi (Gly-X-Y), se assemblează într-o structură triplă cu mâna dreaptă. Prolina și hidroxiprolina stabilizează tripla spirală prin formarea de legături de hidrogen. Tipurile de colagen diferă în compoziția aminoacizilor, lungime și aranjamentul domeniilor lor triple elicoidale. Colagenul poate fi clasificat în trei grupe principale: colagen fibrilar, asociat fibrelor și colagen care formează rețele. Tipurile I-III alcătuiesc 80-90% din colagenul corporal. Tipul I servește ca schelet structural în țesutul musculo-scheletic și piele, tipul II se găsește în cartilaj și tipul III există alături de tipul I, cu excepția oaselor și tendoanelor. Tipul IV formează rețeaua principală în membrana subsolului, în timp ce tipul V este crucial pentru fibrilarea tipurilor I și III. Tipul VI are o structură unică cu filament cu margele, care servește roluri structurale și de semnalizare. Tipul IX este asociat cu țesuturile care conțin colagen de tip II, iar tipul XI se găsește în principal în cartilaje. Datorită afinității sale celulare, colagenul este utilizat pe scară largă în ingineria biomedicală. Acesta poate fi degradat în mod natural de metaloproteinazele matriceale (MMP), care joacă un rol esențial în remodelarea țesuturilor. Sursele de colagen folosite în biomateriale includ originea xenogenă sau alogenă, colagenii de mamifere putând cauza inflamații. Colagenul uman recombinant de tip I (rhColagen) este o alternativă la colagenul uman, dar este dificil de produs. Schelele de colagen de lungime completă oferă indicii biochimice și biofizice pentru celule, oferind diverse beneficii în ingineria țesuturilor. Progresele în tehnologia de bioimprimare au permis producerea de diverse forme de schelet, cum ar fi bureți, hidrogeluri, filme, fibre și ochiuri. Aceste matrice pot încapsula celule, făcându-le utile în aplicații cum ar fi pansamentele, culturile de celule 3D, terapia endodontică regenerativă și substituenții osoși și ai cartilajelor. Tehnicile de producere a bureților de colagen includ liofilizarea, percolarea liberă a sării sau turnarea solvenților. Hidrogelurile de colagen I, reglabile prin variabile precum pH-ul și temperatura, sunt utilizate în principal în ingineria țesuturilor, aplicații cosmetice, sisteme de livrare a medicamentelor, reparații intervertebrale și vindecarea rănilor. Înțelegerea polimerizării gelului de colagen este fundamentală pentru crearea matricelor stabile. Gelurile de colagen, utile pentru încapsularea celulelor, imită ECM natural.

Soluțiile de colagen produse prin electrospinning produc schele cu structură fibroasă cu rapoarte mari suprafață-volum și porozitate. Ele sunt ideale pentru vindecarea rănilor, livrarea medicamentelor și ingineria țesuturilor pielii. O altă tehnică, numită bioimprimarea 3D, oferă o mai mare flexibilitate geometrică și arhitecturală în comparație cu metodele tradiționale. Utilizarea tehnologiei de electrofilare poate converti materialele de colagen în materiale nanofibroase care prezintă micro-nanostructuri cu plasă fibroasă având rapoarte mari suprafață-volum și porozitate, ideale pentru vindecarea rănilor, livrarea medicamentelor și ingineria țesuturilor pielii. O altă tehnică, bioimprimarea 3D, oferă o mai mare flexibilitate geometrică și arhitecturală în comparație cu metodele tradiționale.

Prin urmare, soluții-prototipe de colagen sunt esențiale pentru regenerarea țesuturilor, replicând caracteristicile structurale ale ECM. Colagenul de tip I este cel mai utilizat tip în ingineria țesuturilor datorită stării sale reglabile de tip gel, modulată de temperatură, pH și rezistență ionică. Celulele cultivate pe hidrogel de colagen de tip I prezintă contracție și acționare datorită tracțiunii celulare. O revizuire sistematică de către Hameed și colab. evidențiază diferențele dintre culturile de celule 2D și 3D: Comportamentul migrației: Culturile 2D prezintă migrația pe bază de lamellipodia, în timp ce culturile 3D promovează migrația amienoidală, care seamănă foarte mult cu țesuturile naturale. Interacțiune celulară și semnalizare: Culturile 2D restricționează semnalizarea celulară la suprafața ventrală, în timp ce culturile 3D îmbunătățesc interacțiunea celulă-celulă, reprezentând mai bine mediile de țesut nativ. Modificări fenotipice: Celulele din culturile 2D formează fibre de stres și stimulează gene precum Actina musculară α -Smooth (α -SMA), ducând la caracteristici similare miofibroblastelor. În contrast, celulele din culturile 3D prezintă morfologii dendritice, niveluri mai scăzute de α -SMA și producție redusă de fibre de stres. Proliferarea celulelor: Ratele de proliferare variază în funcție de linia celulară; de exemplu, celulele canceroase rectale și de prostată proliferază mai rapid în 2D, în timp ce celulele canceroase de sân și cele renale

cresc mai rapid în medii 3D. Testare de medicamente și relevanță clinică: modelele 3D replică mai bine condițiile fiziologice, arătând o rezistență mai mare la medicamente din cauza genelor suprareglate. În general, studiile indică faptul că rezultatele culturilor 3D se aliniază mai bine cu eficacitatea medicamentelor din viața reală decât modelele 2D. Modelele de culturi celulare 3D oferă avantaje semnificative, inclusiv replicarea micromediilor in vivo, formarea structurilor complexe de tip țesut și promovarea interacțiunilor îmbunătățite între celule și celule. Acestea sunt instrumente esențiale în domenii de cercetare precum biologia cancerului, dezvoltarea medicamentelor, ingineria țesuturilor și medicina regenerativă, oferind mai multe date relevante fiziologic decât culturile 2D.

Schele colagenoase, de fapt, sunt utilizate în leziunile osoase și regenerarea osoasă. De fapt, regenerarea osoasă, în special la copii și adolescenți, necesită selectarea materialelor și a biomateriale adecvate. Prototipe pe bază de colagen sunt favorizate din mai multe motive: 1) Biocompatibilitate: Schelele de colagen, derivate din surse naturale, sunt mai puțin susceptibile să provoace răspunsuri imune la pacienții pediatrici sensibili. 2) Osteoconductivitatea: Promovează adeziunea, migrarea și proliferarea celulelor care formează oase, esențiale pentru creșterea oaselor la copii. 3) Biodegradabilitate: prototipe de colagen se degradează în timp, eliminând necesitatea îndepărtării chirurgicale. 4) Potențialul de creștere: Ele sprijină plăcile de creștere active, permițând oaselor să se alungească și să se remodeleze la copii. 5) Risc redus de infecție: Sterilizarea eficientă reduce riscul de infecție. 6) Ușurința de manipulare: biomateriale de colagen sunt ușor de modelat și de utilizat în diverse tehnici chirurgicale, cum ar fi repararea palatului despicat și chirurgia craniofacială. 7) Facilitarea vindecării naturale: Colagenul imită matricea extracelulară a organismului, îmbunătățind mecanismele naturale de vindecare. În ingineria țesutului osos la copii, schele de colagen combinate cu celule stem, cum ar fi celulele stem din pulpa dentară, accelerează regenerarea osoasă pentru anomalii congenitale, leziuni traumatice și proceduri dentare. Aceste biomateriale oferă o bază pentru aderența, proliferarea și diferențierea celulelor stem în celulele care formează osul.

Prototipe de colagen sunt, de asemenea, promițătoare în chirurgia cardiacă pediatrică, abordând provocările reprezentate de defectele cardiace congenitale. Colagenul mimează matricea extracelulară (ECM), esențială pentru crearea grefelor vasculare produse prin inginerie tisulară (TEVG) care sunt biocompatibile și rezistente la tromboză și infecție. Cu toate acestea, grefele sintetice au o capacitate de creștere limitată, necesitând multiple intervenții chirurgicale la pacienții pediatrici, ceea ce prezintă riscuri semnificative pentru sănătate și stres emoțional. Prin urmare, mai multe motive susțin abordările chirurgicale cardiotoracice care favorizează utilizarea schelelor de colagen. Gelurile de colagen însămânțate cu celule musculare netede (SMC) și celule endoteliale (ECs) oferă potențial, deși inițial nu au suficiente proprietăți biomecanice. Cu toate acestea, trebuie avută în vedere o atenție specială atunci când se utilizează țesuturi xenogene decelulare, deoarece acestea păstrează o ECM intactă, dar prezintă riscuri de infecții virale și proprietăți mecanice compromise. Combinarea colagenului cu TEVG sintetice oferă soluții potențiale, deși sunt necesare investigații și îmbunătățiri suplimentare pentru a asigura eficacitatea clinică în chirurgia cardiovasculară pediatrică.

Ingineria țesuturilor este promițătoare și pentru bolile urologice congenitale la copii, cum ar fi hipospadiile, valvele uretrale posterioare, exstrofia vezicii urinare și vezica neurogenă. Procedurile chirurgicale curente, cum ar fi uretroplastia și enterocitoplastia, au complicații și limitări severe. Ingineria țesuturilor își propune să creeze țesuturi funcționale care mimează țesutul nativ în structură și funcție, abordând provocări precum biocompatibilitatea, biodegradabilitatea și similaritatea mecanică cu țesutul nativ. Pentru reconstrucția vezicii urinare, schelele de colagen susțin regenerarea rapidă a țesuturilor și mențin rezistența mecanică. Acestea oferă o platformă biocompatibilă, biodegradabilă pentru abordarea tulburărilor congenitale precum exstrofia vezicii urinare și vezica neurogenă. Studiile au arătat că biomateriale de colagen promovează regenerarea uroteliului, a mușchiului neted, a vaselor de sânge și a nervilor. În tratamentul hipospadii, prototipe pe bază de colagen derivate din

submucoasa vezicii urinare decelularizate susțin creșterea celulară și regenerarea țesutului, asemănătoare arhitecturii uretrale normale fără stricturi. Schelele pe bază de fibroină de mătase și polimerii sintetici prezintă, de asemenea, promisiuni în reconstrucția uretrală. În general, schelele pe bază de collagen reprezintă un progres semnificativ în urologia pediatrică, îmbunătățind potențial rezultatele chirurgicale și reducând complicațiile. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a perfecționa aceste abordări și pentru a asigura eficacitatea acestora în practica clinică.

În ginecologia pediatrică, schelele pe bază de collagen oferă promisiuni semnificative pentru aplicațiile de inginerie tisulară și utilizarea medicală, datorită biocompatibilității, suportului structural și biodegradabilității. Pacientele care suferă de cancer ovarian sunt tratate agresiv, cu strategii care pot afecta funcția ovariană. Pentru conservarea fertilității, recoltarea și conservarea ovocitelor sunt standard, dar nu sunt adecvate pentru pacienții aflați înainte de pubertate. Fetele aflate în perioada de pre-pubertate pot beneficia de crioconservarea țesutului cortical ovarian, care poate fi autogrefată post-tratament pentru a restabili fertilitatea. Schelele pe bază de collagen susțin maturarea foliculară și regenerarea țesutului, oferind o soluție potențială pentru păstrarea funcției ovariene și a fertilității fără riscul de malignitate. Malformațiile mülleriene pot cauza infertilitate a factorului uterin și pot necesita intervenție chirurgicală. Endometrioza este o afecțiune care implică creșterea anormală a țesutului endometrial, ducând la infertilitate și durere pelvină. Cu ajutorul biomaterialelor de collagen, Ingineria țesuturilor în acele patologii se concentrează pe regenerarea țesuturilor uterine folosind schele de collagen combinate cu materiale precum Matrigel. Scopul este de a dezvolta patch-uri funcționale de țesut care pot sprijini implantarea embrionilor și aborda infertilitatea. Defectele vaginale congenitale în afecțiuni precum extrofia vezicii urinare și sindromul MRKH necesită adesea reconstrucție chirurgicală. Schelele de collagen combinate cu alte materiale sunt utilizate pentru reconstrucția vaginală. Tehnici precum ingineria auto-asamblării țesuturilor creează structuri autologe ale țesuturilor cu caracteristici ale mucoasei vaginale native. Tehnicile pot fi adaptate la pacientele pediatrice chiar și în cazurile de malformații uterine. Dimensiunile anatomice pediatrice și modelele de creștere sunt abordate prin ingineria tisulară susținută de schele de collagen, care pot restabili funcția uterină pe măsură ce copiii trec la vârsta adultă. Sunt necesare atenționări speciale pentru pacienții copii și adolescenți, inclusiv materiale adecvate vârstei și monitorizarea efectelor pe termen lung asupra creșterii și dezvoltării. Schelele pe bază de collagen dețin un potențial semnificativ de abordare a problemelor ginecologice și a infertilității prin ingineria țesuturilor. Cu toate că există în continuare provocări, cercetările în curs și studiile clinice sunt esențiale pentru rafinarea acestor abordări și pentru îmbunătățirea opțiunilor de tratament pentru femeile și pacienții pediatrice cu patologii ale organelor de reproducere.

Palatoschizis face parte dintr-un grup de sindroame de despicătură care afectează hrănirea, comunicarea, percepția auditivă, creșterea intelectuală și incluziunea socială, necesitând adesea intervenții chirurgicale multiple și îngrijire pe tot parcursul vieții. Aceste condiții rezultă dintr-o combinație de factori genetici și de mediu, inclusiv fumatul matern, consumul de alcool și deficiențele de vitamine. Grefarea osoasă autologă este utilizată frecvent pentru repararea despicăturii palatale și are ca scop obținerea continuității osoase și închiderea țesuturilor moi. Îmbunătățirea vorbirii și a nutriției prin asigurarea funcționării corespunzătoare a mecanismului de dezvoltare a faringelui sunt obiectivul principal al tratamentului chirurgical. Eșecul în a realiza acest lucru poate duce la insuficiență de dezvoltare faringiană (IVV), care afectează vorbirea și auzul. Ingineria țesuturilor își propune să dezvolte schele osteogenice care sunt personalizabile, biocompatibile și capabile să se integreze perfect cu țesuturile adiacente. Imprimarea 3D permite producerea de implanturi specifice pacientului. Biomaterialele proteice pe bază de collagen promovează adeziunea celulară și au fost aprobate de FDA pentru ingineria țesutului osos.

Hernia diafragmatică congenitală (HDC) este o afecțiune gravă cu rate ridicate de morbiditate și mortalitate. Severitatea cazurilor variază, afectând comparațiile între rezultate. Metodele de reparare chirurgicală depind de dimensiunea defectului, defectele mai mari

necesitând repararea plasturelui. Plasterii protetici, deși populari, se confruntă cu probleme cum ar fi întreruperi, recurențe ale herniei, deformări ale peretelui toracic și scolioză. Plasterii protezici au limite precum lipsa elasticității și a memoriei de formă a țesuturilor diafragmatice normale și nu pot imita structura complexă a diafragmei. Vascularizarea este întotdeauna o provocare critică, în special pentru implanturile din hemithorax, care au contact limitat pentru integrare. Dezvoltarea musculaturii scheletice cu capacitate contractilă prin structuri fibrotice funcționale este obiectivul cercetării din ultimii ani. Modelele actuale in vitro se luptă cu structurile vasculare organizate. Schelele pe bază de colagen au potențialul de a facilita regenerarea și repararea țesuturilor în HCD. Cu toate acestea, sunt necesare investigații suplimentare pentru a aborda provocările și pentru a asigura utilizarea eficace a abordărilor bazate pe colagen în această aplicație specifică.

Această lucrare de doctorat evaluează biocompatibilitatea diferitelor materiale, concentrându-se pe rolul colagenului în ingineria țesuturilor și medicina regenerativă datorită similitudinii sale cu matricea extracelulară. Prin implantarea de colagen, biomateriale hibride și polimerice pe membrana corioalantoică (CAM) a embrionilor de pui, studiul evaluează modul în care aceste materiale interacționează cu un sistem vascular viu. Vascularizarea este un marker cheie pentru integrarea țesuturilor, crucial pentru ingineria țesuturilor și pentru transplant. Modelul CAM este o alternativă etică, sustenabilă și rentabilă la modelele mamiferelor, oferind informații valoroase despre dezvoltarea embriologică și integrarea biomaterială. Acest model susține creșterea de noi vase de sânge și formarea unei rețele vasculare eficiente, relevante pentru aplicațiile clinice în chirurgie și regenerarea țesuturilor. Rezultatele studiului pot ghida opțiuni clinice mai bune și pot promova regenerarea tisulară. Considerațiile etice sunt esențiale, deoarece modelul CAM reduce la minimum vătămarea și stresul subiecților de cercetare. Incorporarea inteligenței artificiale (AI) prin intermediul aplicației IKOSA îmbunătățește acuratețea și eficiența evaluării vascularizării, oferind analize precise și fiabile. În concluzie, această lucrare de doctorat își propune să promoveze înțelegerea biocompatibilității folosind modele durabile, tehnologii moderne și practici de cercetare etică, contribuind la știința biomaterialelor și medicina regenerativă.

Această lucrare de doctorat se concentrează pe evaluarea biocompatibilității biomaterialelor prin măsurarea angiogenezei și a capacității lor de a forma rețele vasculare funcționale. Acest lucru este deosebit de important, deoarece vascularizarea țesuturilor rămâne o provocare semnificativă în ingineria tisulară.

Metodologia implicată :

1) Utilizarea CAM ca model experimental. Membrana corioalantoică (CAM) a embrionilor de pui este un model eficient pentru studierea dezvoltării vasculare și a biologiei sistemului vascular. În primele 3-10 zile de dezvoltare, CAM formează o membrană avasculară subțire, dezvoltând rapid o rețea vasculară robustă. Această formare vasculară rapidă este avantajoasă pentru observarea căilor de dezvoltare și a proceselor patologice, precum și pentru evaluarea compatibilității țesuturilor, celulelor sau materialelor transplantate. Avantajele modelului CAM sunt mai multe: -confort și rentabilitate: ouăle fertilizate sunt ieftine, costă 1/100 dintr-un șoarece și sunt ușor de obținut și de întreținut. -Considerente etice: Modelul CAM nu necesită proceduri administrative complexe pentru aprobarea eticii în multe țări europene, deoarece embrionul de pui nu este considerat un animal viu până în a 17-a zi de incubare. -Versatilitate imagistică: Modelul suportă diverse tehnici de imagistică, inclusiv microscopie, RMN și PET. Straturile sale exterioare transparente permit imagistica fluorescentă pe întregul spectru vizibil. -Răspuns imun redus: Sistemul imunitar imatur al embrionilor de pui reduce răspunsurile imune nefavorabile, facilitând transplantul de țesut. -Studii patologice: Modelul CAM este valoros pentru studierea morfologiei și vascularizării cancerului, oferind informații despre dezvoltarea țesutului oncogen și modificările morfologiei celulelor canceroase. Pentru examinarea histologică clasică s-au utilizat colorația trichromă și colorația hematoxilină-eozină.

2) Îmbunătățirea evaluării prin integrarea inteligenței artificiale. În această cercetare au fost utilizate două produse KML Vision: Ikosa Prisma și Ikosa AI. Ikosa Prisma oferă aplicații specializate pentru analiza imaginilor microscopice, inclusiv testul CAM pentru examinarea structurilor vasculare pe membrana corioalantoică a embrionilor de pui și testul de formare a rețelei pentru evaluarea rețelelor celulare endoteliale în testele de angiogeneză in vitro. Ikosa AI oferă o platformă ușor de utilizat pentru aplicații de IA de instruire, accesibilă chiar și celor fără abilități tehnice, limitează greșelile corelate cu sarcini repetitive și dă rezultate într-un timp scurt.

3) Utilizarea metodologiei cantitative pentru a analiza angiogeneza. Aplicația Ikosa a livrat rezultatele în principal ca foi de calcul .xls și imagini. Foile de calcul .xls permit manipularea statistică și cuantificarea exactă a variabilelor.

Această lucrare de doctorat implică două experimente principale. Primul experiment (A) evaluează potențialul angiogenetic al celor două schele colagenoase și al unui ochi de plasă necolagenos implantat pe CAM a embrionilor de pui. Cel de-al doilea experiment (B) evaluează modul în care maturitatea rețelei vasculare și remodelarea sunt influențate de două biomateriale diferite: unul realizat exclusiv din collagen și celălalt un biomaterial collagen amplificat cu glicozaminoglicani.

A) ANALIZA BAZATĂ PE INTELIGENȚA ARTIFICIALĂ (IA) A POLIMERILOR IN VIVO ȘI A SCHELELOR DE COLAGEN CARE INDUC VASCULARIZAREA

Principalul obiectiv al experimentului a fost evaluarea neoangiogenezei, ca răspuns la diverse implanturi de schele grefate pe membrana corioalantoică a embrionilor de pui. Acest experiment a implicat utilizarea a două schele de collagen, cu compararea ulterioară a rezultatelor angiogenetice cu cele induse de o plasă non-colagenoasă. Pentru investigație, am selectat trei biomateriale diferite pentru implantare pe modelul membranei corioalantoice (CAM) a embrionului de pui: un material polimeric și două schele pe bază de collagen. Materialul polimeric, cunoscut sub numele de MotifMesh (MOME), este compus din polipropilenă și a fost utilizat în mod obișnuit în chirurgia herniei pentru o perioadă de timp. Cu toate acestea, există unele reacții adverse cum sunt inflamațiile. În schimb, biomateriale pe bază de collagen - Optimaix 2D (OXMD2D) și Optimaix 3D (OXMD3D), fabricate de Matricel GmbH - sunt alese pentru conținutul lor ridicat de collagen, făcându-le adecvate pentru evaluarea interacțiunilor cu țesuturile umane sau experimentale. Metoda experimentală a implicat selectarea atentă a 30 de ouă fertilizate de găină și incubarea acestora timp de 72 de ore înainte de a crea o fereastră de coajă pe fiecare ou pentru a evalua viabilitatea embrionului. După ce ouăle au fost împărțite în trei grupe, am implantat fragmentele MotifMesh, Optimaix 2D și Optimaix 3D pe suprafața camerei, folosind o procedură delicată de zgâriere. Ouăle implantate au fost observate și fotografiate prin microscopie în zilele 1, 3 și 5. Experimentul a fost finalizat în ziua 13. După încheierea experimentului, membranele și implanturile corespunzătoare au fost fixate, prelucrate și încorporate în parafină pentru evaluare histopatologică. Secțiunile seriei au fost colorate și analizate utilizând tehnici standard pentru evaluarea vascularizării. Pentru a realiza o cartografiere precisă a vascularizării CAM, am folosit software-ul IKOSA pentru analiza automată. Evaluarea angiogenezei a fost efectuată prin stereomicroscopie, histologie (colorație hematoxilină/eozină și trichrom) și IKOSA/CAM a ajutat la evaluarea angiogenezei pe imaginile stereomicroscopice. Motif Mesh a indus o reacție inflamatorie și necrotică mare atunci când a fost testat pe membrana corioalantoidă și nu a reușit să se atașeze suficient de membrana în sine. Este posibil să se afirme că MotifMesh a indus neovascularogeneză inflamatorie. În plus, o reacție de fibroblast a fost perceptibilă în câmpul observațional datorită prezenței miofibroblaștilor. Prin urmare, putem concluziona că MOME nu este adecvat pentru a fi utilizat ca biomaterial. Studiul IKOSA CAM Assay confirmă un răspuns angiogenic clar cu mai multe structuri microvasculare interconectate. Acest lucru sugerează că MOME poate neovasculariza sau stimula creșterea de noi vase de sânge. Cu toate acestea, investigațiile histologice au arătat că acest lucru s-a

datorat implantului MOME, care a indus o reacție inflamatorie puternică. Densitatea de vascularizare a scăzut brusc în ultima zi a experimentului. Această reacție a fost cel mai probabil cauzată de o creștere a numărului de celule stromatice, care este probabil cauzată de o reacție mio-fibroblastică la MOME în comparație cu CAM normală.

Au fost analizate biomaterialele colagenoase OXMD 2D și OXMD 3D. După ce a fost implantat pe CAM, biomaterial de collagen nu a provocat nici o inflamație. Tot în acest caz, evaluarea a implicat utilizarea stereomicroscopiei, a histologiei și a abordării IKOSA/CAM. Creșterea vaselor de sânge în jurul implantului și penetrarea implantului 3D OXMD a fost substanțial mai mare decât cea a implantului 2D OXMD. Nici zona din jurul implantului, nici interiorul acestuia nu au prezentat semne de inflamație. Integrarea corionului CAM cu implanturile OXMD 2D și OXMD 3D a fost demonstrată atât histologic, cât și microscopic. Recrutarea vaselor de sânge din zona înconjurătoare, împreună cu răspunsul vascular semnificativ din jurul implantului, au arătat că materialul implantat a indus cu succes angiogeneza. Fibrele de collagen ale materialului au prezentat semne de auto-organizare, intrând atât în modele liniare, cât și tubulare. Rezultatele au arătat că celulele aderă în mod adecvat la schelele 3D și că nu a avut loc nicio reacție de fibroblast. Prezența structurilor tubulare umplute în centrul implantului a fost evidențiată prin colorare cu trichrom. Implantul 3D-OXMD a devenit eficient vascularizat, conform acestor constatări. Evaluarea statusului angiogenic pentru MOME, 2D OXDM și 3D OXDM a fost efectuată, de asemenea, utilizând testul IKOSA CAM. Inteligența artificială a analizat diferite variabile cantitative pentru evaluarea impactului angiogenezei. Analiza statistică și computerizată a confirmat că materialul MOME nu este la fel de adecvat ca OXMD-2D și OXMD-3D, nici pentru setările de laborator sau practica clinică.

Analiză comparativă în zilele 1 (OBS1), 3 (OBS2) și 5 (OBS5) între cele trei biomateriale utilizate în studiul de față. Parametrul (A) Suprafața totală vasculară (Px^2)/Regiunea de interes (Px^2). Evaluarea numărului de puncte de ramificare a navei/regiunii de interes (Px^2) a evidențiat că OXMD 3D a înregistrat cea mai mare creștere a punctelor de ramificare, sugerând o angiogeneză activă care este încă în curs în ziua 5. Numărul de puncte de ramificare a vaselor/suprafața totală a vaselor (Px^2) indică dezvoltarea de noi vase de sânge care sunt active în ziua 5.

Analiza statistică a datelor pentru trei grupe de biomateriale și grafice de corelare nu au detectat corelații semnificative în ceea ce privește creșterea dezvoltării de noi vase de sânge pentru grupul MOME fără collagen (valoarea $p=0,200$), în comparație cu procesul angiogenic indus de prototipe pe bază de collagen. O creștere semnificativă a vaselor de sânge nou formate a fost indusă de schelele OXDM2D ($p=0,028$), dar cea mai puternică inducere a angiogenezei semnificativă statistic a fost făcută de schelele OXDM3D ($p<0,001$).

Schelele pe bază de collagen și polipropilenă, utilizate în mod obișnuit în operațiile chirurgicale, fac controverse din cauza efectelor secundare, cum ar fi inflamația, cu ochiuri de polipropilenă cauzând adesea inflamație semnificativă și schele pe bază de collagen, provocând mai puțin, conform literaturii de specialitate actuale. De asemenea, sunt dezbătute angiogeneza și capacitățile de vascularizare ale acestor biomateriale. În ciuda utilității lor, schelele de collagen și polipropilenă sunt rareori testate folosind modelul CAM al embrionului de pui, iar puține studii utilizează metodologii bazate pe AI pentru evaluările modelelor CAM.

Acest studiu a comparat trei schele. Prototip de collagen OPTIMAIX 2D, fabricată din collagen pur porcine, este compatibilă cu mai multe tipuri de celule și se degradează natural fără a provoca inflamații semnificative, demonstrând promisiune în promovarea angiogenezei în ciuda structurii sale dense care limitează expansiunea rețelei vasculare. Prototip de collagen OPTIMAIX 3D, produsă printr-un proces de solidificare direcțională, formează un cadru stabil, poros, care este mai rezistent la degradare și îmbunătățește semnificativ angiogeneza în comparație cu alte materiale precum DegraPol. Studiile anterioare care au utilizat tehnici imagistice avansate confirmă aceste rezultate. Instrumentele IKOSA AI și NFA au fost utilizate pentru a evalua angiogeneza, măsurarea punctelor de ramificare, lungimea, suprafața și grosimea, oferind rezultate fiabile și consecvente. Testele IKOSA CAM au fost validate ca

metodă fiabilă de evaluare a angiogenezei pe schele pe bază de collagen pe modelul CAM. Schelele de collagen, în special OPTIMAIX 3D, prezintă un potențial substanțial de intensificare a vascularizării în ingineria tisulară. Sunt necesare cercetări și perfecționări suplimentare ale acestor materiale și metode pentru a îmbunătăți aplicarea clinică și eficacitatea acestora. Experimentele efectuate în studiul nostru subliniază rolul esențial al inteligenței artificiale (IA) în îmbunătățirea evaluării angiogenezei, un semn distinctiv al biocompatibilității. Integrarea IA s-a dovedit a fi esențială pentru a facilita această evaluare și poate servi drept instrument valoros pentru cercetători, în special în ceea ce privește sarcinile caracterizate prin repetare și complexitate, cum ar fi numerotarea punctelor de ramificare ale fiecărei vas.

B) GLICOZAMINOGLICANII MODULEAZĂ CAPACITATEA ANGIOGENICĂ A SCHELELOR PE BAZĂ DE COLAGEN DE TIP I, ACȚIONÂND ASUPRA REMODELĂRII ȘI MATURĂRII REȚELEI VASCULARE

Scopul acestui experiment a fost de a compara și contrasta capacitatea de neovascularizare, precum și capacitatea de remodelare vasculară și maturare a Xenodermului și a matricei de collagen cu două straturi (Dual-layer Collagen -DLC), care sunt două schele făcute din collagen, prima conținând collagen pur și a doua fiind amplificată de prezența în compoziția sa a glicozaminoglicanilor. Le-am comparat în vivo (in vivo și in ovo), implantându-le pe membrana corioalantoică a ouălor.

Angiogeneza și maturizarea sistemelor vasculare sunt măsurate prin parametri precum numărul de bucle vasculare și dezvoltarea rețelelor vasculare. Înțelegerea acestor aspecte este esențială pentru a evalua validitatea științifică și pentru a optimiza aplicarea acestor schele în medicina regenerativă. Pentru a compara efectele Xenoderm și DLC asupra vascularizării membranei corioalantoice (CAM), a fost necesar să le implantăm pe suprafața embrionului de pui. Stereomicroscopia a fost utilizată pentru a evalua și evalua procesele de formare vasculară. Folosind AI prin aplicația IKOSA, ne propunem să îmbunătățim evaluarea integrării acestor biomateriale în sistemul de țesuturi vii, investigând potențialul acestora de a induce angiogeneza și de a promova formarea rețelelor vasculare funcționale.

Xenodermul este un înlocuitor dermic fabricat dintr-o matrice pe bază de collagen, obținut din derma de porc decelularizată, reticulat pentru a asigura stabilitatea schelei. Acesta găsește aplicații în mediul clinic pentru tratamentul diferitelor afecțiuni ale pielii, cum ar fi arsuri, răni cronice și ulcere diabetice. Schela de collagen cu două straturi (DLC), cunoscută și sub numele de BIOPAD, cuprinde două straturi distincte. Primul strat constă din collagen de tip I, facilitând adeziunea și proliferarea celulară, în timp ce al doilea strat este compus din glicozaminoglicani (GAG). În plus față de Xenoderm și DLC, experimentul a necesitat utilizarea de diverse materiale, inclusiv 70% alcool concentrat, bandă de etanșare ParaPlast, soluție de formol 10% tamponată și parafină. Secțiunile microscopice au fost vizualizate cu ajutorul unui stereomicroscop. Pregătirea testului cu membrană corioalantoică (CAM) a început prin selectarea a 60 de ouă fertilizate de pui și curățarea acestora. Cojile de ouă au fost spălate cu 70% alcool concentrat. După o perioadă de incubație de 72 de ore la 37°C și o umiditate de 60%, albumina din ou a fost extrasă din fiecare ou în a patra zi de incubație. Punctele au fost sigilate cu ParaPlast. Viabilitatea embrionilor și integritatea CAM au fost evaluate prin tăierea unei ferestre a cochiliei a doua zi.

Xenodermul și grefele DLC au fost aplicate pe două grupuri separate de câte zece ouă fiecare pe suprafața CAM într-un mod neinvaziv. După 13 zile de incubare, experimentul a fost încheiat cu succes. La analiză s-au aplicat stereomicroscopia și aplicația Ikosa.

Programul IKOSA a fost utilizat pentru realizarea unui studiu automatizat de comparare a proceselor angiogenice ale biomaterialelor implantate pe CAM. Mai precis, analiza CAM și analiza formării rețelei au fost utilizate pentru acest experiment. Parametrii extrași din testul CAM au fost utilizați pentru cuantificarea calității proceselor de vascularizare. Analiza formării rețelei a facilitat examinarea buclor vasculare și a rețelelor vasculare. Analiza statistică a fost efectuată folosind XLSTAT și Jamovi, cu date exportate din aplicația IKOSA în format Excel.

S-a efectuat o examinare stereomicroscopică, iar imaginile au fost captate și analizate cu ajutorul ImageJ pentru o caracterizare precisă. Parametrii aleși demonstrează că DLC are o capacitate puternică de creștere vasculară organică și durabilă. Prin comparație, deși Xenoderm stimulează neoangiogeneza rapidă, acesta nu susține funcționalitatea vasculară pe termen lung. În plus, valoarea medie a grosimii vaselor este deosebit de ridicată pentru ouăle DLC, ceea ce indică faptul că angiogeneza în CAM grefate DLC este eficientă, stimulând formarea vaselor puternice și functionale. Aceste valori sunt în concordanță cu rezultatele raportate în analiza NFA.

Experimentul demonstrează modul în care testul de examinare a rețelei vasculare prin IKOSA (IKOSA_NFA) a evaluat capacitatea de remodelare a rețelei vasculare nou formate (prin evaluarea numărului și dimensiunii buclelor vasculare), dar și grosimea medie vasculară care caracterizează maturarea și stabilizarea vaselor. Au fost constatate diferențe semnificative între DLC și Xenoderm. Numărul, dimensiunea și densitatea buclei vasculare au fost semnificativ crescute pentru DLC. Pentru o perioadă similară, pentru Xenoderm, a existat un număr scăzut de bucle vasculare.

S-au efectuat analize statistice inferențiale. Analiza de regresie liniară a buclelor vasculare din ouăle implantate cu Xenoderm a generat un coeficient de determinare (R^2) de 0,949, în timp ce analiza echivalentă pentru buclele de ou implantate cu DLC a arătat un R^2 mai mare de 0,986. Acest lucru indică o corelație mai puternică între perimetrul și zona buclelor vasculare în DLC decât în Xenoderm, sugerând că perimetrul buclei în DLC servește ca un predictor mai fiabil pentru zona sa. O posibilă explicație pentru acest lucru este faptul că DLC poate facilita formarea de rețele vasculare mai mature și mai complicate în comparație cu Xenoderm. Mai mult, o *standard deviation* mai mare în zona buclelor asociate cu DLC indică o variabilitate mai mare în dimensiunea buclei, ceea ce înseamnă că DLC sprijină dezvoltarea unei game diverse de bucle vasculare, de la mici la mari. În schimb, Xenoderm poate încuraja în primul rând formarea de bucle uniforme mai mici. În consecință, constatările din analiza de regresie liniară implică faptul că DLC ar putea fi mai potrivit pentru stimularea dezvoltării rețelelor vasculare mature și complexe. Această deducție este coroborată de coeficientul de determinare mai mare și de variabilitatea mai mare (deviația standard) în zonele cu buclă observate cu DLC.

Pentru a ține cont de discrepanțele între rezultatele regresiei liniare între Xenoderm și DLC, putem lua în considerare următoarele:

- Xenoderm poate iniția formarea de bucle vasculare; cu toate acestea, se pare că aceste bucle nu se maturizează sau nu se conectează la fel de eficient ca cele formate de DLC, ceea ce ar putea explica valoarea mai mică a lui Xenoderm R^2 .

- Deviația standard crescută în zona de buclă cu DLC sugerează că încurajează o gamă mai extinsă de dimensiuni ale buclei, contribuind la variabilitatea mai mare observată în analiză.

- DLC ar putea sprijini dezvoltarea unor rețele vasculare mai elaborate, caracterizate prin creșterea ramificațiilor și conexiunilor (anastomoze), care ar contribui, de asemenea, la valoarea mai mare a R^2 .

Aceste rezultate, în concordanță cu datele inferențiale, sugerează faptul că DLC poate avea mai mult succes în stimularea dezvoltării și funcționării rețelei vasculare. Acest lucru se datorează, cel mai probabil, faptului că GAG determină vasele de sânge să se maturizeze și să se stabilizeze mai rapid în modelul DLC. Aceste informații ar putea fi esențiale pentru selectarea schelelor de collagen adecvate pentru utilizarea în ingineria țesuturilor diferitelor organe. Datorită conținutului ridicat de glicozaminoglican, schelele de collagen cu două straturi s-au dovedit a fi unul dintre cele mai bune materiale pentru biotipărirea țesuturilor și vascularizarea țesuturilor. Aceste constatări sunt în concordanță cu constatările experimentale anterioare care au utilizat DLC ca o schelă pentru biotipărirea țesuturilor. Datorită acțiunilor lor asupra celulelor musculare netede perivasculare, GAG influențează, de asemenea, în mod semnificativ remodelarea și maturarea vasculară, pe lângă migrarea celulelor endoteliale, proliferarea și formarea de tuburi. În ultima zi a experimentului, lungimea totală a tubului pentru

ambele schele a fost comparabilă, dar grosimea medie a vaselor pentru DLC a fost semnificativ mai mare decât pentru Xenoderm. Acest lucru indică faptul că DLC poate determina vasele de sânge nou formate să se maturizeze rapid, cel mai probabil ca urmare a prezenței stratului de GAG. O funcție vasculară sănătoasă necesită maturarea și remodelarea vaselor prin inserția celulelor musculare netede perivasculare. Grosimea arterelor sanguine perfuzate nou formate in vivo poate fi evaluată prin analiza automată a imaginilor folosind platforma IKOSA CAM bazată pe AI, în special testul CAM și analiza formării rețelei. Ausprunk a furnizat o descriere a localizării GAG-urilor în timpul formării vaselor cu membrană corioalantoică în embrionii de pui în 1986. Potrivit autorului, GAG-urile sulfatate contribuie la stabilizarea și maturarea navelor CAM. Prin activarea angiogenezei, schela dublă de collagen-glicozaminoglican crește recuperarea leziunilor cerebrale la modelul leziunilor cerebrale al șoarecelui. Același grup de cercetători a descoperit că schela dublă de collagen-glicozaminoglican părea să fie importantă în încurajarea creșterii celulelor peri-endoteliale, în special în regiunea din jurul leziunii. Acest lucru este în concordanță cu ceea ce am găsit pentru grosimea medie a vascularizației pentru o combinație comparabilă de collagen și GAG.

În concluzie, cu acest studiu, am demonstrat că încorporarea atât a collagenului de tip I, cât și a glicozaminoglicanilor pe o schelă de DLC poate stimula în mod eficient procesul de remodelare a vaselor de sânge și angieneză. Collagenul de tip I a facilitat fazele timpurii ale angiogenezei, dar a avut un impact mai mic asupra dezvoltării ulterioare, maturizării sau stabilizării rețelei vasculare nou-înființate. Rezultatele indică faptul că o combinație de glicozaminoglican și collagen de tip I este cel mai eficient material de schelă pentru crearea țesuturilor. Acest lucru sugerează că are potențialul de a produce o rețea vasculară complet operațională.

În concluzie, această teză de doctorat își propune să afirme următoarele:

1. Studiul a inclus o schelă din material polimeric și patru schele din collagen. Prezența eterogenității structurale în cele cinci materiale diferite a determinat variații ale proceselor angiogenice la implantarea pe membrana corioalantoică a embrionului de pui.
2. Schelele pe bază de polimeri au cauzat un răspuns angiogen fals înșelător ca urmare a inflamației atunci când au fost implantate într-un micromediu (CAM) care nu este de obicei inflamator. Schelele pe bază de polimeri promovează formarea de noi vase de sânge, dar sporesc proprietatea inflamatorie a materialului, promovând un răspuns inflamator și, la rândul său, ducând la ruperea structurii CAM. Inflamația cauzată de schelele pe bază de polimeri face improprie utilizarea biomaterialelor pe bază de polimeri în practica clinică, fie pentru aplicații chirurgicale, fie pentru ingineria tisulară. Implanturile pe bază de polimer de angieneză indusă inflamator pe CAM au prezentat un proces semnificativ de remodelare. Cu toate acestea, la încheierea primului experiment, s-a observat că rețeaua vasculară nu era nici funcțională, nici eficientă.
3. În faza inițială a anchetei, am examinat o altă clasă de matrice cunoscută sub numele de Oximaid, care sunt schele realizate din collagen și adecvate în mod tipic pentru culturile celulare. Pentru a efectua studiul, am selectat două versiuni de Oximaid: 2D și 3D. Distincția principală dintre aceste două tipuri este în compoziția structurală a schelei. Deși ambele schele conțin collagen, ele au constituții semnificativ diferite datorită faptului că sunt generate prin proceduri de fabricație distincte. Am demonstrat că variațiile în structura collagenului determină răspunsuri angiogenice distincte. IKOSA Software, bazat pe AI, a efectuat o evaluare comparativă a Oximaid 2D și 3D și a constatat că OXMD3D este o matrice de collagen mai adecvată pentru sprijinirea recrutării și dezvoltării de noi vase de sânge. Acest lucru se datorează faptului că OXMD3D are fibre fine de collagen care promovează atașarea celulelor endoteliale și formarea de tuburi. În plus, rezultatele indică faptul că remodelarea vaselor de sânge nou generate este îmbunătățită de aranjamentul tridimensional al fibrelor fine al OXMD3D, în comparație cu OXMD2D. Implicațiile constatărilor noastre ar putea influența semnificativ practica preclinică și clinică. OXMD3D este un cadru potențial viabil pentru

ingineria tisulară a organelor care necesită atât vascularizarea rapidă, cât și remodelarea adecvată a rețelei vasculare.

4. A doua fază a studiului curent a implicat evaluarea potențialului angiogenic a două schele suplimentare pe bază de collagen. Unul dintre aceste biomateriale (Xenoderm) seamănă foarte mult cu structura pielii, în timp ce celălalt (DLC) este un burete. Aceste biomateriale sunt utilizate în mod obișnuit în mediul clinic, respectiv pentru tratarea arsurilor și promovarea hemostazei. Având în vedere că ambele materiale au o formă comparabilă de collagen, se poate deduce că diferențele dintre ele, și anume cele legate de angiogeneză, sunt cauzate de includerea GAG (glicozaminoglicani) în structura buretelui de collagen cu dublu strat. Ambele schele pe bază de collagen declanșează un răspuns angiogenic semnificativ, dar sincronizarea și dinamica formării vaselor de sânge sunt influențate de structura pe două straturi și de prezența glicozaminoglicanilor în DLC. Acest lucru s-a tradus prin procese de remodelare și maturare adecvate pentru DLC în comparație cu Xenoderm.

IKOSA CAM assay și testul IKOSA NFA sunt două instrumente care îmbunătățesc acuratețea în evaluarea proceselor angiogenice care au loc pe suprafața CAM. Metoda oferă o analiză și o evaluare cuprinzătoare a răspunsului angiogenic declanșat de diferite tipuri de schele plasate și altoite pe suprafața CAM. Aceste tehnici ne oferă informații nu numai despre densitatea vaselor de sânge nou formate, ci și despre statusul lor funcțional și de maturare. Evaluarea creșterii dinamice a rețelei vasculare stimulată de schele pe baza de collagen ne-a permis să identificăm chiar și variații subtile ale materialelor care au o structură relativ similară. Prin urmare, IKOSA poate servi drept un instrument digital valoros pentru evaluarea caracteristicilor suplimentare ale implanturilor biomateriale și a capacității acestora de a promova neoangiogeneza și maturarea vasculară.

Prezenta teză de doctorat oferă diferite contribuții originale:

1. Acest studiu prezintă pentru prima dată evaluarea de novo a potențialului angiogenic și caracterizarea angiogenică a vaselor de sânge nou formate din patru schele din collagen (compoziție predominantă - compoziție hibridă sau unică) și o schelă pe bază de polimeri. Evaluarea a fost realizată folosind un model care implică membrana corioalantoică a embrionului de pui, asigurând practica de cercetare etică.

2. A fost utilizată o abordare multimodală pentru a studia angiogeneza indusă de biomateriale pe bază de collagen. Evaluarea a fost efectuată prin utilizarea unui program de analiză bazat pe IA. Analiza a inclus nu numai densitatea vaselor de sânge nou formate în jurul implantului, ci și capacitatea acestora de a se ramifica și de a forma rețele, prin urmare, au fost analizate atât morfologia, cât și funcționalitatea organică. Am demonstrat că structurile variate ale diferitelor materiale influențează semnificativ arhitectura și remodelarea rețelei vasculare finale, care, la rândul său, afectează dezvoltarea acesteia.

3. Un software bazat pe IA a fost utilizat pentru prima dată pentru a evalua biocompatibilitatea unei schele pe un model experimental. Metodele clasice de evaluare a angiogenezei nu pot furniza aceleași informații ca analiza digitală a specimenelor.