UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

“VICTOR BABES" FROM TIMISOARA

FACULTY OF DENTAL MEDICINE

Oral Pathology University Clinic

SORCA BOGDAN VALERIU

DOCTORAL THESIS

Innovative strategies in the management of odontogenic infections and bone defects: clinical-prognostic correlations and the development of bioactive composite biomaterials

A B S T R A C T

Scientific Coordinator

Prof. dr. habil. LAURA-CRISTINA RUSU DMD, PhD

T i m i s o a r a

2 0 2 6

CONTENTS

1. INTRODUCTION 3
2. PURPOSE AND OBJECTIVES OF THE THESIS 4
2.1 Research purpose 4
2.2 General and specific objectives 4
3. THESIS STRUCTURE 5
4. MATERIALS AND METHODS 5
4.1. General framework, data source and ethical considerations 5
4.2. Study 1 – Development and Characterization of Multifunctional Collagen/β-TCP/ZnO Scaffolds Enriched with Essential Oils 6
4.3. Study 2 – Biological optimization of collagen-based scaffolds by incorporating chondroitin sulfate and sage essential oil 7
4.4. Study 3 – Study 3 – Assessment of the severity of inflammation in odontogenic infections 8
5. MAIN RESULTS 9
5.1. Study 1 – Multifunctional Collagen/β-TCP/ZnO Scaffolds Enriched with Essential Oils 9
5.2. Study 2 (Chapter 6). Collagen Scaffolds Containing Chondroitin Sulfate and Sage Essential Oil 9
5.3. Study 3 (Chapter 7) – Inflammatory Severity in Odontogenic Infections 10
6. ORIGINAL DISCUSSIONS AND CONTRIBUTIONS 11
Study 1 – Multifunctional Collagen/β-TCP/ZnO Scaffolds Enriched with Essential Oils 11
Study 2 – Biological Optimization through Chondroitin Sulfate and Sage Essential Oil Incorporation. 11
Study 3 – Inflammatory Severity in Diabetic and Non-Diabetic Patients with Odontogenic Infections. 11
7. CONCLUSIONS 13
Bibliography 14

A B S T R A C T

1. INTRODUCTION

Bone regeneration and osseointegration are fundamental biological processes for the success of modern implant dentistry. Bone loss resulting from trauma, chronic infection, periodontal disease, tumor resection, or prolonged edentulism can compromise the quantity and quality of tissue required for dental implant placement. Although bone possesses an inherent capacity for healing and remodeling, spontaneous regeneration becomes insufficient in the case of extensive defects, where vascularization, mechanical stability, and cellular recruitment can no longer be adequately supported by physiological mechanisms alone.

In this context, biomaterials used in bone tissue engineering have evolved from passive replacement materials to three-dimensional bioactive structures capable of actively participating in the healing process. Modern scaffolds should reproduce, as faithfully as possible, the organization and biological functions of the native extracellular matrix, providing an appropriate environment for cell adhesion, migration, proliferation and differentiation. At the same time, they must present adequate porosity and pore interconnectivity, mechanical stability, biocompatibility and a degradation rate synchronized with the progressive formation of new bone tissue. Collagen is one of the most studied natural materials for the development of regenerative scaffolds due to its structural similarity to the organic component of bone and its ability to support cellular interactions. However, its isolated use is limited by its relatively low mechanical strength, rapid degradation and absence of intrinsic antimicrobial activity. Combining collagen with inorganic osteoconductive components, such as β-tricalcium phosphate, can improve structural stability and more accurately reproduce the composite organization of mineralized bone tissue.

The doctoral thesis entitled " *Innovative strategies in the management of odontogenic infections and bone defects: clinical-prognostic correlations and the development of bioactive composite biomaterials* " approaches bone regeneration from an integrative perspective, combining the experimental development of advanced biomaterials with the evaluation of clinical conditions capable of influencing tissue healing. The research is organized around three complementary directions: the development of multifunctional scaffolds based on collagen, β-tricalcium phosphate, zinc oxide nanoparticles and essential oils; biological optimization of collagen-based scaffolds by incorporating chondroitin sulfate and sage essential oil; and the

evaluation of the severity of odontogenic infections and systemic inflammatory responses in patients with diabetes mellitus.

The originality of the research derives from the integration of osteoconductive, antimicrobial, extracellular matrix-mimicking, and inflammation-related components into a unified regeneration. The thesis is based on the premise that effective regenerative biomaterials should not only provide structural support for new bone formation. They should also actively interact with the surrounding biological environment, facilitate extracellular matrix organization, protect against microbial challenges, and maintain their regenerative functionality in clinical conditions characterized by infection, inflammation, or impaired healing.

2. PURPOSE AND OBJECTIVES OF THE THESIS

2.1 Research purpose

The overall goal of this doctoral thesis was to develop and evaluate advanced biomimetic materials for bone regeneration and osseointegration in dental implantology, with particular emphasis on multifunctional collagen-based scaffolds capable of combining osteoconductive, antimicrobial, extracellular matrix-mimicking, and biologically compatible properties. The research also aimed to establish a translational link between the experimental development of regenerative biomaterials and the clinical conditions that may influence their performance. Accordingly, the thesis investigated not only the composition and biological behavior of the scaffold, but also the systemic inflammatory and infectious burden encountered in patients with compromised healing capacity.

2.2 General and specific objectives

The general objective was to design, characterize and biologically evaluate multifunctional collagen-based scaffolds and investigate clinical factors that may affect bone healing and osseointegration. The specific objectives were: (1) to obtain composite scaffolds with β-TCP, ZnO nanoparticles and essential oils; (2) to characterize hydration, degradation, composition, morphology, porosity and mechanical behavior; (3) to evaluate antimicrobial activity, cytocompatibility, colonization and osteogenic activity; (4) to optimize the matrix by chondroitin sulfate and sage essential oil; (5) to identify formulations with the best structural and biological balance; and (6) to analyze the severity of odontogenic infections in diabetic and non-diabetic patients by qSOFA, SII, dNLR and OISS.

3. THESIS STRUCTURE

The doctoral thesis entitled "Advanced biomimetic materials for bone regeneration and osseointegration in implantology" is organized in two complementary parts: the general part and the special part. These are preceded by lists of published scientific works, abbreviations, figures and tables. The general part, consisting of chapters 1-3, presents the theoretical framework of the research. Chapter 1 analyzes the biological foundations of bone regeneration, remodeling and osseointegration, including factors influencing peri-implant healing. Chapter 2 addresses the evolution of biomaterials and the principles of design, fabrication and characterization of scaffolds for regenerative dentistry. Chapter 3 describes the main bioactive and antimicrobial components investigated, with a focus on collagen, β-TCP, ZnO nanoparticles and essential oils.

The special part, comprising chapters 4-8, represents the original contribution of the thesis. Chapter 4 presents the general framework of the research, objectives, hypotheses and ethical aspects. Chapters 5 and 6 include two experimental studies on the development of multifunctional collagen/β-TCP/ZnO scaffolds enriched with essential oils and the optimization of the scaffolds by incorporating chondroitin sulfate and sage essential oil. The physicochemical, morphological and mechanical properties, degradation behavior, antimicrobial activity, cytocompatibility and cellular response are evaluated. Chapter 7 presents the clinical study on the severity of odontogenic infections and the systemic inflammatory response in diabetic and non-diabetic patients, using predictive clinical and inflammatory indices. Chapter 8 integrates the results of the three studies and highlights the relationship between scaffold architecture, biological behavior, antimicrobial protection, systemic inflammation and patient characteristics.

The thesis concludes with final conclusions and personal contributions, research limitations, clinical and scientific relevance, future directions, bibliographical references, and published articles *in extenso*.

4. MATERIALS AND METHODS

4.1. General framework, data source and ethical considerations

The doctoral research included two in vitro experimental studies on the development and optimization of collagen-based regenerative scaffolds and a retrospective observational clinical study on the severity of odontogenic infections in diabetic and non-diabetic patients. The three

investigations integrated the characterization of biomaterials, biological and antimicrobial evaluation, and the analysis of inflammatory factors relevant to bone regeneration and osseointegration. Procedures involving human mesenchymal stem cells were performed after obtaining informed consent, and clinical data were collected retrospectively and anonymized. The studies respected the principles of the Declaration of Helsinki and were approved by the Scientific Research Ethics Committee of the "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy in Timișoara.

4.2. Study 1 – Development and Characterization of Multifunctional Collagen/β-TCP/ZnO Scaffolds Enriched with Essential Oils

4.2.1. Study design

The first experimental study aimed to develop multifunctional biomimetic scaffolds for bone regeneration. Formulations L1–L6 combined type I collagen, β -tricalcium phosphate (β -TCP), zinc oxide (ZnO) nanoparticles, and different concentrations of *Satureja thymbra essential oil.* Collagen gel, with a dry matter content of 2.39%, constituted the organic matrix, and β -TCP, used in a collagen: β -TCP ratio of 1:2, represented the osteoconductive component. ZnO nanoparticles, with dimensions below 50 nm, and *Satureja thymbra essential oil*, obtained by hydrodistillation, were introduced to confer antimicrobial activity and modulate biological behavior. The components were homogenized, the pH was adjusted to physiological values, and the gels were stabilized by cross-linking with glutaraldehyde. After being kept at 4 °C for 24 hours, the three-dimensional porous scaffolds were obtained by lyophilization using the Delta 2–24 LSC system.

4.2.2. Physico-chemical, morphological and mechanical characterization

Hydration capacity was determined gravimetrically, by monitoring the mass change of the samples after immersion. Enzymatic biodegradation was evaluated in phosphate buffered solution and collagenase, at 37 °C, based on mass loss over time. The chemical structure and interactions between components were investigated by FTIR-ATR spectroscopy. The morphology, pore interconnectivity and distribution of inorganic components were examined by scanning electron microscopy, coupled with energy dispersive X-ray spectroscopy. The mechanical properties were analyzed by compression tests performed on the lyophilized scaffolds .

4.2.3. Antimicrobial evaluation

Antimicrobial activity was evaluated by the disk diffusion method against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Escherichia coli* ATCC 10536 strains. The diameters of the inhibition

zones were used to compare the formulations and to evaluate the possible synergistic action between ZnO nanoparticles and *Satureja thymbra essential oil* .

4.2.4. Biological evaluation

The cytocompatibility of the scaffolds was investigated using human bone marrow-derived mesenchymal stem cells, cultured under standard conditions at 37 °C and 5% CO_2 . Cell viability was determined by the XTT assay, and proliferation by DNA quantification with Hoechst 33342. Scaffold adhesion and colonization were assessed histologically and by fluorescence microscopy. Cytoskeletal organization was examined by labeling filamentous actin with Alexa Fluor 488-conjugated phalloidin, and osteogenic compatibility was assessed by determining alkaline phosphatase activity .

4.2.5. Statistical analysis

Quantitative data were expressed as mean and standard deviation. Differences between formulations were analyzed by parametric methods appropriate to the data distribution, with the threshold of statistical significance set at $p < 0.05$.

4.3. Study 2 – Biological optimization of collagen-based scaffolds by incorporating chondroitin sulfate and sage essential oil

4.3.1. Study design

The second experimental study aimed to optimize biomimetics, hydration, stability and long-term interactions between cells and collagen scaffolds. The investigated formulations combined bovine type I collagen with chondroitin sulfate in concentrations of 0.3% and 0.6% and *Salvia officinalis essential oil* in concentrations of 0.001% and 0.002%. The essential oil was obtained by hydrodistillation and its volatile profile was characterized by gas chromatography coupled with mass spectrometry. The gels were adjusted to pH 7.2–7.4, cross-linked with glutaraldehyde and transformed into three-dimensional porous scaffolds by controlled lyophilization.

4.3.2. Physico-chemical and morphological characterization

Water absorption was determined gravimetrically up to 72 hours, and enzymatic biodegradation was evaluated in collagenase solution, under simulated physiological conditions. The chemical structure and incorporation of bioactive components were analyzed by FTIR-ATR. The morphology and interconnectivity of the pores were examined by scanning electron microscopy, and the elemental distribution was investigated by energy-dispersive X-ray spectroscopy .

4.3.3. Cytotoxicity and cell viability

Biological evaluation was performed using MG63 cells as an osteoblastic model. Cytotoxicity of scaffold extracts was analyzed by lactate dehydrogenase assay, and cell viability by XTT metabolic assay, at successive intervals.

4.3.4. Colonization and histological evaluation

The sterilized scaffolds were seeded with MG63 cells and maintained in culture for up to six weeks. Histological evaluation was performed after two and six weeks, using hematoxylin-eosin and Gomori trichrome staining. Analysis followed cell distribution and migration, the degree of colonization, and the deposition of extracellular matrix inside the porous structure.

4.3.5. Statistical analysis

Determination was performed in triplicate and the results were expressed as mean ± standard deviation. Differences between formulations regarding cytotoxicity and cell viability were evaluated by one-way analysis of variance, for a significance threshold of $p < 0.05$.

4.4. Study 3 – Study 3 – Assessment of the severity of inflammation in odontogenic infections

4.4.1. Study design and patient population

The third study had a retrospective observational clinical design and included 123 patients hospitalized for odontogenic infections: 42 patients with diabetes and 81 patients without diabetes. Demographic data, history and comorbidities, clinical and anatomical characteristics of the infection, laboratory results, length of hospitalization, and clinical course were collected from the medical records.

4.4.2. Clinical and laboratory variables

Variables analyzed included age, sex, body mass index, smoking, alcohol consumption, comorbidities, duration of symptoms, number of fascial spaces affected, airway compromise, admission to the intensive care unit, occurrence of sepsis, length of hospital stay, and mortality. Biological parameters included leukocyte, neutrophil, lymphocyte, and platelet counts, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, and glycated hemoglobin.

4.4.3. Inflammation and infection severity scores

Four indices were calculated at admission: Quick Sequential Organ Failure Assessment (qSOFA), Systemic Immune-Inflammation Index (SII), derived Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (dNLR), and Odontogenic Infection Severity Score (OISS). These were compared to assess the severity of the infection and identify patients at increased risk of adverse outcomes.

4.4.4. Statistical analysis

Continuous variables were presented as means and standard deviations, and categorical variables as frequencies and percentages. Comparisons between diabetic and non-diabetic patients were performed using tests adapted to the type and distribution of the data. The predictive performance of qSOFA, SII, dNLR and OISS scores was evaluated by ROC curve analysis. For each index, the area under the curve, optimal cut-off value, sensitivity and specificity were determined. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

5. MAIN RESULTS

5.1. Study 1 – Multifunctional Collagen/β-TCP/ZnO Scaffolds Enriched with Essential Oils

All scaffold formulations demonstrated rapid water uptake and retained a porous, interconnected three-dimensional architecture with pore sizes ranging from approximately 50 to 150 μ m. The incorporation of ZnO nanoparticles increased the hydration capacity, slowed enzymatic degradation and improved compressive behavior, while *Satureja thymbra essential oil* further improved structural stability. The control scaffold showed no antimicrobial activity, while all formulations containing ZnO inhibited both *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* . The strongest antibacterial effects were observed in formulations containing both ZnO nanoparticles and essential oil, indicating a synergistic interaction between these components.

All formulations supported the viability, proliferation, adhesion, and migration of mesenchymal stem cells. No major cytotoxic effects were identified, and early osteogenic activity remained comparable between groups. The results demonstrated that the developed scaffolds combined structural stability, antimicrobial activity, cytocompatibility, and osteogenic compatibility in a single regenerative platform.

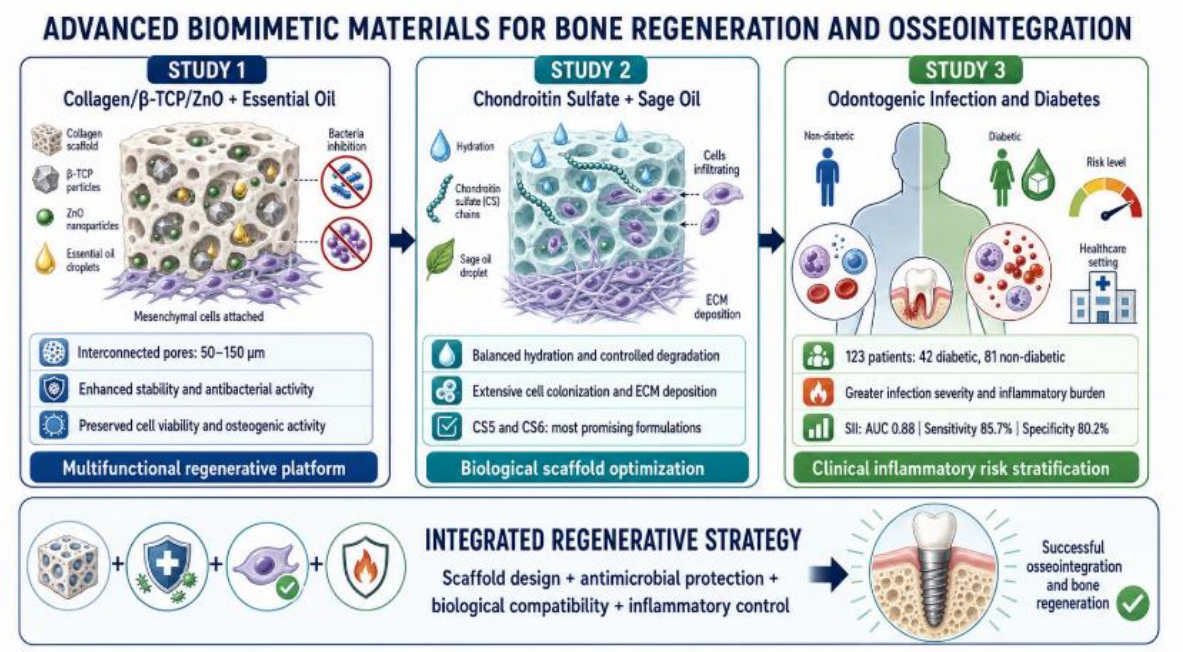
5.2. Study 2 (Chapter 6). Collagen Scaffolds Containing Chondroitin Sulfate and Sage Essential Oil

Chondroitin sulfate significantly increased the hydration of the structural framework, with the highest water uptake recorded for the CS3 formulation being approximately 57.86 g/g. However, this formulation also exhibited accelerated degradation and reduced long-term structural stability. Sage essential oil moderated water uptake and delayed enzymatic degradation. All formulations maintained an interconnected porous architecture and demonstrated favorable cytocompatibility, with no significant increases in LDH release or

reductions in MG63 cell viability. After six weeks of culture, formulations CS4, CS5, and CS6 retained their structure and supported extensive cellular colonization and extracellular matrix deposition. Overall, CS5 and CS6 exhibited the most balanced combination of hydration, controlled degradation, cytocompatibility, and tissue-like organization and were identified as the most promising formulations for further regenerative evaluation.

5.3. Study 3 (Chapter 7) – Inflammatory Severity in Odontogenic Infections

The clinical study included 123 patients, 42 diabetic and 81 non-diabetics. Diabetic patients had significantly more extensive infections, more frequent airway compromise, higher inflammatory markers, and higher qSOFA, SII, dNLR, and OISS values than non-diabetic patients. Diabetes was also associated with higher rates of intensive care unit admission and sepsis, as well as longer hospital stays. Among the indices evaluated, the SII demonstrated the highest predictive performance for severe outcomes, with an area under the ROC curve of 0.88, sensitivity of 85.7%, and specificity of 80.2% at a cutoff value of 1560. These findings confirmed that diabetes mellitus is associated with a higher inflammatory burden and more severe clinical progression of odontogenic infections. They also highlighted the relevance of antimicrobial protection and inflammatory control for regenerative and implant-related therapies in patients with medical problems.



6. ORIGINAL DISCUSSIONS AND CONTRIBUTIONS

Study 1 – Multifunctional Collagen/β-TCP/ZnO Scaffolds Enriched with Essential Oils

The first study demonstrated that the incorporation of β-TCP, ZnO nanoparticles, and *Satureja thymbra* essential oil preserved the porous architecture of the collagen scaffolds while improving hydration, mechanical stability, resistance to degradation, and antibacterial activity. The combination of ZnO and essential oil produced a synergistic effect without significantly compromising cell viability or early osteogenic activity. Thus, a platform combining osteoconductive support, antimicrobial protection, and biological compatibility was obtained.

Study 2 – Biological Optimization through Chondroitin Sulfate and Sage Essential Oil Incorporation.

The second study aimed to improve extracellular matrix mimicry and biological performance. Chondroitin sulfate increased scaffold hydration, but excessive water absorption accelerated degradation, demonstrating that maximum hydration does not necessarily correspond to optimal regenerative performance. Sage essential oil delayed degradation without inducing significant cytotoxic effects. The CS5 and CS6 formulations exhibited the most balanced profiles, supporting structural integrity, cellular colonization, and extracellular matrix deposition.

Study 3 – Inflammatory Severity in Diabetic and Non-Diabetic Patients with Odontogenic Infections.

The literature identifies diabetes mellitus as an important modifier of immune function, infection progression, and tissue healing. The clinical study demonstrated that diabetic patients presented with more extensive infections, greater fascial space involvement, more frequent airway compromise, and a substantially higher systemic inflammatory burden than non-diabetic patients. All four investigated scoring systems—qSOFA, SII, dNLR, and OISS—showed predictive value for severe clinical outcomes. Among them, SII demonstrated the strongest discriminative performance, with an AUC of 0.88, a sensitivity of 85.7%, and a specificity of 80.2% at a cut-off value of 1,560. These findings support the use of readily available hematological parameters for the early identification of patients at increased risk of severe infection.

The study also demonstrates that the performance of regenerative materials must be considered in relation to the biological environment in which they are ultimately applied. In

patients with diabetes mellitus or a high inflammatory burden, successful bone regeneration and osseointegration require not only osteogenic support but also effective infection control and modulation of inflammation.

Conceptual integration.

A distinct contribution of this thesis is the integration of biomaterial engineering with the clinical biological conditions that determine regenerative success. The findings indicate that bone regeneration cannot be reduced to the osteoconductive or mechanical performance of a scaffold considered in isolation. The first study established the structural and antimicrobial basis of a multifunctional regenerative platform. The second demonstrated that extracellular matrix mimicry and long-term biological performance can be optimized through controlled compositional modifications. The third identified the inflammatory and systemic barriers that such materials must overcome in clinically compromised patients. Based on these complementary findings, the thesis proposes an integrative regenerative framework comprising four interdependent components: scaffold architecture, antimicrobial protection, biological compatibility, and inflammation control. Within this framework, advanced regenerative materials should function as biologically active interfaces capable of supporting tissue formation while adapting to complex microbial and inflammatory environments.

Limits (assumed, synthesized).

Several limitations should be considered when interpreting the findings. The first two studies were conducted under controlled *in vitro* conditions, which cannot fully reproduce the complexity of the physiological environment, including vascularization, immune activity, mechanical loading, angiogenesis, and tissue remodelling. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and MG63 osteoblast-like cells provided reproducible models for biological evaluation but cannot fully replicate the behaviour of primary human osteoblasts, progenitor cells, or multicellular tissue systems. Moreover, the absence of animal studies prevents definitive conclusions regarding *in vivo* bone formation, scaffold vascularization, biodegradation, and osseointegration. The clinical study was retrospective and conducted at a single centre, with a relatively limited subgroup of diabetic patients. Its findings depended on the completeness of the available medical records, while potentially relevant confounding variables could not be fully controlled. Therefore, larger prospective and multicentre studies are required to validate the predictive value of the investigated inflammatory scores.

Original contributions

The research aimed to develop a multifunctional regenerative platform based on collagen, β-TCP, ZnO nanoparticles, and Satureja thymbra essential oil. It highlighted the relationship between scaffold composition and key functional properties, including hydration, biodegradation, mechanical stability, antimicrobial activity, and cellular response. The findings demonstrated a synergistic antibacterial effect between ZnO nanoparticles and the essential oil without significantly compromising cytocompatibility or early osteogenic activity. Another research direction involved the biological optimization of collagen scaffolds through the incorporation of chondroitin sulfate and sage essential oil. The analyses demonstrated the need to maintain a balance between hydration capacity and structural stability. Among the investigated formulations, CS5 and CS6 exhibited the most favourable profiles, characterized by controlled degradation, adequate cytocompatibility, effective cellular colonization, and support for extracellular matrix deposition.

In addition to the experimental component, the influence of diabetes mellitus on the severity of odontogenic infections was demonstrated. In the analysed cohort, the systemic immune-inflammation index (SII) was identified as the best-performing individual predictor of severe outcomes. By integrating these findings, a translational framework was proposed that combines scaffold design, antimicrobial protection, extracellular matrix mimicry, biological compatibility, and inflammation control. This framework supports the development of regenerative strategies adapted to both the local requirements of the tissue defect and the systemic characteristics of the patient.

7. CONCLUSIONS

The multifunctional collagen-based scaffolds combined structural, osteoconductive, and antimicrobial properties with adequate biological compatibility. The incorporation of β-TCP and ZnO nanoparticles improved scaffold stability and resistance to degradation while preserving the porous architecture required for cellular infiltration. The association of ZnO with *Satureja thymbra* essential oil produced a synergistic antibacterial effect without significantly impairing the cellular response.

Chondroitin sulfate enhanced hydration and extracellular matrix mimicry but highlighted the need to balance water absorption with structural stability. Sage essential oil improved resistance to degradation, while the CS5 and CS6 formulations exhibited the most favourable regenerative profiles. Diabetic patients presented with more severe odontogenic infections and

longer hospital stays, and SII showed the best predictive performance. Overall, the findings support the development of biologically active regenerative systems adapted to both the bone defect and the patient's systemic profile.

Bibliography

1. Gaharwar AK, Singh I, Khademhosseini A. Engineered biomaterials for in situ tissue regeneration. *Nat Rev Mater.* 2020;5(9):686–705.
2. Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials.* 2000;21(24):2529–2543.
3. O'Brien FJ. Biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Mater Today.* 2011;14(3):88–95.
4. Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends Biotechnol.* 2012;30(10):546–554.
5. Ma PX. Biomimetic materials for tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008;60(2):184–198.
6. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2005;26(27):5474–5491.
7. Murphy CM, Haugh MG, O'Brien FJ. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and osteogenic differentiation in collagen-glycosaminoglycan scaffolds. *Biomaterials.* 2010;31(3):461–466.
8. Haugh MG, Murphy CM, O'Brien FJ. Novel freeze-drying methods to produce a range of collagen-glycosaminoglycan scaffolds with tailored mean pore sizes. *Acta Biomater.* 2010;6(8):3146–3159.
9. Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem.* 2009;78:929–958.
10. Bohner M, Santoni BLG, Döbelin N. β-Tricalcium phosphate for bone substitution. *Acta Biomater.* 2020;113:23–41.
11. Moldovan L, Craciunescu O, Oprita EI, Balan M, Zarnescu O. Collagen-chondroitin sulfate-hydroxyapatite porous composites: preparation, characterization and in vitro biocompatibility testing. *Rom Biotechnol Lett.* 2009;14:4459–4466.
12. Shen Q, Guo Y, Wang K, Zhang C, Ma Y. A review of chondroitin sulfate's preparation, properties, functions and applications. *Molecules.* 2023;28(20):7093.
13. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, et al. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Lett.* 2015;7(3):219–242.
14. Huo WT, Zhao L, Yu S, Yu Z, Zhang Y, Zhao X. Zinc-containing biomaterials regulate osteogenesis, angiogenesis and osteoimmunomodulation. *Bioact Mater.* 2024;35:134–151.
15. Fernandes S, Silva F, Pinto A, Reis RL, Oliveira JM. Essential-oil-loaded biomaterials for regenerative medicine and tissue engineering applications. *Pharmaceutics.* 2024;16(1):112.
16. Acimovic M, Pezo L, Čabarkapa I, Trudić A, Stanković Jeremić J, Varga A, et al. Variation of *Salvia officinalis* L. essential oil and hydrolate composition and their antimicrobial activity. *Processes.* 2022;10(8):1608.

17. Zhao X, Wu H, Guo B, Dong R, Qiu Y, Ma PX. Antibacterial anti-inflammatory biomaterials for regenerative medicine. *Biomaterials.* 2023;301:122262.
18. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999;284(5411):143–147.
19. Kusumoto J, Iwata E, Huang W, Takata N, Tachibana A, Akashi M. Hematologic and inflammatory parameters for determining severity of odontogenic infections at admission: a retrospective study. *BMC Infect Dis.* 2022;22:931.
20. González-Moles MA, Ramos-García P. State of evidence on oral health problems in diabetic patients: a critical review of the literature. *J Clin Med.* 2021;10(22):5383.

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE

“VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA

FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ

Clinica Universitară Patologie Orală

SORCA BOGDAN VALERIU

TEZĂ DE DOCTORAT

STRATEGII INOVATOARE ÎN GESTIONAREA INFECȚIILOR ODONTOGENE ȘI A DEFECTELOR OSOASE: CORELAȚII CLINICO-PROGNOSTICE ȘI DEZVOLTAREA BIOMATERIALELOR COMPOZITE BIOACTIVE

R E Z U M A T

Conducător de doctorat:

Prof. dr. habil. LAURA-CRISTINA RUSU

T i m i ș o a r a

2 0 2 6

CUPRINS

CUPRINS 2
1. INTRODUCERE 3
2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI 4
2.1 Scopul cercetării 4
2.2 Obiectivele generale și specifice 4
3. STRUCTURA TEZEI 5
4. MATERIAL ȘI METODĂ 5
4.1. Cadru general, sursa datelor și considerente etice 5
4.2. Studiul 1 – Dezvoltarea și caracterizarea unor scaffold-uri multifuncționale de colagen/β-TCP/ ZnO îmbogățite cu uleiuri esențiale 6
4.3. Studiul 2 – Optimizarea biologică a scaffold-urilor pe bază de colagen prin încorporarea sulfatului de condroitină și a uleiului esențial de salvie 7
4.4. Studiul 3 – Studiul 3 – Evaluarea severității inflamației în infecțiile odontogene 8
5. REZULTATE PRINCIPALE 9
5.1. Studiul 1 – Scaffold-uri multifuncționale de colagen/β-TCP/ ZnO îmbogățite cu uleiuri esențiale 9
5.2. Studiul 2. Scaffold-uri de colagen care conțin sulfat de condroitină și ulei esențial de salvie 9
5.3. Studiul 3 (Capitolul 7) – Severitatea inflamației în infecțiile odontogene 10
6. DISCUȚII ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE 11
Studiul 1 – Scaffold-uri multifuncționale de colagen/β-TCP/ ZnO îmbogățite cu uleiuri esențiale 11
Studiul 2 – Optimizare biologică prin încorporarea sulfatului de condroitină și a uleiului esențial de salvie. 11
Studiul 3 – Severitatea inflamației la pacienții diabetici și non-diabetici cu infecții odontogene. 11
Bibliografie 14

R E Z U M A T

1. INTRODUCERE

Regenerarea osoasă și osteointegrarea reprezintă procese biologice fundamentale pentru succesul stomatologiei moderne. Pierderea osoasă rezultată din traume, infecții cronice, boli parodontale, rezecție tumorală sau edentație prelungită poate compromite cantitatea și calitatea țesutului necesar pentru plasarea implantului dentar. Deși osul posedă o capacitate inerentă de vindecare și remodelare, regenerarea spontană devine insuficientă în cazul defectelor extinse, unde vascularizația, stabilitatea mecanică și recrutarea celulară nu mai pot fi susținute în mod adecvat doar prin mecanisme fiziologice.

În acest context, biomaterialele utilizate în relație cu țesutului osos au evoluat de la materiale de înlocuire pasive la structuri bioactive tridimensionale capabile să participe activ la procesul de vindecare. Scaffold-urile moderne ar trebui să reproducă, cât mai fidel posibil, organizarea și funcțiile biologice ale matricei extracelulare native, oferind un mediu adecvat pentru aderența, migrarea, proliferarea și diferențierea celulară. În același timp, acestea trebuie să prezinte o porozitate și o interconectivitate adecvate ale porilor, stabilitate mecanică, biocompatibilitate și o rată de degradare sincronizată cu formarea progresivă a noului țesut osos. Colagenul este unul dintre cele mai studiate materiale naturale pentru dezvoltarea de scaffold-uri regenerative datorită similarității sale structurale cu componenta organică a osului și capacității sale de a susține interacțiunile celulare. Cu toate acestea, utilizarea sa izolată este limitată de rezistența mecanică relativ scăzută, degradarea rapidă și absența activității antimicrobiene intrinseci. Combinarea colagenului cu componente anorganice osteoconductoare, cum ar fi fosfatul β-tricalcic, poate îmbunătăți stabilitatea structurală și poate reproduce mai precis organizarea compozită a țesutului osos mineralizat.

Teza de doctorat intitulată „Strategii inovatoare în gestionarea infecțiilor odontogene și a defectelor osoase: corelații clinico-prognostice și dezvoltarea biomaterialelor compozite bioactive” abordează regenerarea osoasă dintr-o perspectivă integrativă, combinând dezvoltarea experimentală a biomaterialelor avansate cu evaluarea condițiilor clinice capabile să influențeze vindecarea țesuturilor. Cercetarea este organizată în jurul a trei direcții complementare: dezvoltarea de scaffold-uri multifuncționale pe bază de colagen, fosfat β-tricalcic, nanoparticule de oxid de zinc și uleiuri esențiale; optimizarea biologică a scaffold-urilor pe bază de colagen prin încorporarea sulfatului de condroitină și a uleiului esențial de salvie; și

evaluarea severității infecțiilor odontogene și a răspunsurilor inflamatorii sistemice la pacienții cu diabet zaharat.

Originalitatea cercetării derivă din integrarea componentelor osteoconductive, antimicrobiene, care imită matricea extracelulară și legate de inflamație într-o regenerare unificată. Teza se bazează pe premisa că biomaterialele regenerative eficiente nu ar trebui doar să ofere suport structural pentru formarea de os nou. De asemenea, acestea ar trebui să interacționeze activ cu mediul biologic înconjurător, să faciliteze organizarea matricei extracelulare, să protejeze împotriva provocărilor microbiene și să își mențină funcționalitatea regenerativă în condiții clinice caracterizate de infecție, inflamație sau vindecare deficitară.

2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI

2.1 Scopul cercetării

Scopul general al acestei teze de doctorat a fost dezvoltarea și evaluarea materialelor biomimetice avansate pentru regenerarea osoasă și osteointegrarea în implantologia dentară, cu accent deosebit pe scaffold-uri multifuncționale pe bază de colagen, capabile să combine proprietăți osteoconductive, antimicrobiene, de imitare a matricei extracelulare și compatibile biologic. Cercetarea a urmărit, de asemenea, stabilirea unei legături translaționale între dezvoltarea experimentală a biomaterialelor regenerative și condițiile clinice care le pot influența performanța. În consecință, teza a investigat nu numai compoziția și comportamentul biologic al scaffold-urilor, ci și încărcătura sistemică inflamatorie și infecțioasă întâlnită la pacienții cu capacitate de vindecare compromisă.

2.2 Obiectivele generale și specifice

Obiectivul general a fost proiectarea, caracterizarea și evaluarea biologică a unor scaffold-uri multifuncționale pe bază de colagen și investigarea factorilor clinici care pot afecta vindecarea osoasă și osteointegrarea. Obiectivele specifice au urmărit: (1) obținerea scaffold-ruilor compozite cu β-TCP, nanoparticule de ZnO și uleiuri esențiale; (2) caracterizarea hidratării, degradării, compoziției, morfologiei, porozității și comportamentului mecanic; (3) evaluarea activității antimicrobiene, citocompatibilității, colonizării și activității osteogenice; (4) optimizarea matricei prin sulfat de condroitină și ulei esențial de salvie; (5) identificarea formulărilor cu cel mai bun echilibru structural și biologic și (6) analiza severității infecțiilor odontogene la pacienți diabetici și non-diabetici prin qSOFA, SII, dNLR și OISS.

3. STRUCTURA TEZEI

Teza de doctorat intitulată „Strategii inovatoare în gestionarea infecțiilor odontogene și a defectelor osoase: corelații clinico-prognostice și dezvoltarea biomaterialelor compozite bioactive” este organizată în două părți complementare: partea generală și partea specială. Acestea sunt precedate de listele lucrărilor științifice publicate, abrevierilor, figurilor și tabelelor.

Partea generală, alcătuită din capitolele 1-3, prezintă cadrul teoretic al cercetării. Capitolul 1 analizează fundamentele biologice ale regenerării osoase, remodelării și osteointegrării, inclusiv factorii care influențează vindecarea peri-implantară. Capitolul 2 abordează evoluția biomaterialelor și principiile proiectării, fabricării și caracterizării scaffold-urilor destinate stomatologiei regenerative. Capitolul 3 descrie principalele componente bioactive și antimicrobiene investigate, cu accent pe colagen, β-TCP, nanoparticule de ZnO și uleiuri esențiale.

Partea specială, cuprinzând capitolele 4-8, reprezintă contribuția originală a tezei. Capitolul 4 prezintă cadrul general al cercetării, obiectivele, ipotezele și aspectele etice. Capitolele 5 și 6 includ două studii experimentale privind dezvoltarea scaffold-urilor multifuncționale de colagen/β-TCP/ZnO îmbogățite cu uleiuri esențiale și optimizarea scaffold-urilor prin încorporarea sulfatului de condroitină și a uleiului esențial de salvie. Sunt evaluate proprietățile fizico-chimice, morfologice și mecanice, comportamentul la degradare, activitatea antimicrobiană, citocompatibilitatea și răspunsul celular. Capitolul 7 prezintă studiul clinic privind severitatea infecțiilor odontogene și răspunsul inflamator sistemic la pacienții diabetici și non-diabetici, utilizând indici clinici și inflamatori predictivi. Capitolul 8 integrează rezultatele celor trei studii și evidențiază relația dintre arhitectura scaffold-ului, comportamentul biologic, protecția antimicrobiană, inflamația sistemică și particularitățile pacientului.

Teza se încheie cu concluziile finale și contribuțiile personale, limitele cercetării, relevanța clinică și științifică, direcțiile viitoare, referințele bibliografice și articolele publicate *in extenso*.

4. MATERIAL ȘI METODĂ

4.1. Cadru general, sursa datelor și considerente etice

Cercetarea doctorală a inclus două studii experimentale in vitro privind dezvoltarea și optimizarea unor scaffold-uri regenerative pe bază de colagen și un studiu clinic observațional retrospectiv privind severitatea infecțiilor odontogene la pacienții diabetici și non-diabetici. Cele trei investigații au integrat caracterizarea biomaterialelor, evaluarea biologică și antimicrobiană

și analiza factorilor inflamatori relevanți pentru regenerarea osoasă și osteointegrare. Procedurile care au implicat celule stem mezenchimale umane au fost realizate după obținerea consimțământului informat, iar datele clinice au fost colectate retrospectiv și anonimizate. Studiile au respectat principiile Declarației de la Helsinki și au fost aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării Științifice al Universității de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara.

4.2. Studiul 1 – Dezvoltarea și caracterizarea unor scaffold-uri multifuncționale de colagen/β-TCP/ ZnO îmbogățite cu uleiuri esențiale

4.2.1. Designul studiului

Primul studiu experimental a urmărit dezvoltarea unor scaffold-uri biomimetice multifuncționale destinate regenerării osoase. Formulările L1–L6 au combinat colagen de tip I, fosfat β-tricalcic (β-TCP), nanoparticule de oxid de zinc (ZnO) și diferite concentrații de ulei esențial de *Satureja thymbra*. Gelul de colagen, cu un conținut de substanță uscată de 2,39%, a constituit matricea organică, iar β-TCP, utilizat într-un raport colagen:β-TCP de 1:2, a reprezentat componenta osteoconductivă. Nanoparticulele de ZnO, cu dimensiuni sub 50 nm, și uleiul esențial de *Satureja thymbra L*, obținut prin hidrodistilare, au fost introduse pentru conferirea activității antimicrobiene și modularea comportamentului biologic. Componentele au fost omogenizate, pH-ul a fost ajustat către valori fiziologice, iar gelurile au fost stabilizate prin reticulare cu glutaraldehidă. După menținerea la 4 °C timp de 24 de ore, scaffold-urile poroase tridimensionale au fost obținute prin liofilizare cu ajutorul sistemului Delta 2–24 LSC.

4.2.2. Caracterizarea fizico-chimică, morfologică și mecanică

Capacitatea de hidratare a fost determinată gravimetric, prin monitorizarea variației masei probelor după imersie. Biodegradarea enzimatică a fost evaluată în soluție tamponată cu fosfat și colagenază, la 37 °C, pe baza pierderii de masă în timp.

Structura chimică și interacțiunile dintre componente au fost investigate prin spectroscopie FTIR-ATR. Morfologia, interconectivitatea porilor și distribuția componentelor anorganice au fost examinate prin microscopie electronică de scanare, asociată cu spectroscopie cu raze X cu dispersie energetică. Proprietățile mecanice au fost analizate prin teste de compresie efectuate asupra scaffold-urilor liofilizate.

4.2.3. Evaluarea antimicrobiană

Activitatea antimicrobiană a fost evaluată prin metoda difuziei pe disc împotriva tulpinilor *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 și *Escherichia coli* ATCC 10536. Diametrele zonelor de inhibiție au fost utilizate pentru compararea formulărilor și pentru evaluarea posibilei acțiuni sinergice dintre nanoparticulele de ZnO și uleiul esențial de *Satureja thymbra L*.

4.2.4. Evaluare biologică

Citocompatibilitatea scaffold-urilor a fost investigată folosind celule stem mezenchimale derivate din măduvă osoasă umană, cultivate în condiții standard la 37 °C și 5% CO_2. Viabilitatea celulară a fost determinată prin testul XTT, iar proliferarea prin cuantificarea ADN-ului cu Hoechst 33342. Aderența și colonizarea scaffold-urilor au fost evaluate histologic și prin microscopie de fluorescență. Organizarea citoscheletului a fost examinată prin marcarea actinei filamentoase cu faloidină conjugată cu Alexa Fluor 488, iar compatibilitatea osteogenică a fost evaluată prin determinarea activității fosfatazei alcaline.

4.2.5. Analiza statistică

Datele cantitative au fost exprimate ca medie și deviație standard. Diferențele dintre formulări au fost analizate prin metode parametrice adecvate distribuției datelor, pragul semnificației statistice fiind stabilit la $p < 0,05$.

4.3. Studiul 2 – Optimizarea biologică a scaffold-urilor pe bază de colagen prin încorporarea sulfatului de condroitină și a uleiului esențial de salvie

4.3.1. Designul studiului

Al doilea studiu experimental a urmărit optimizarea biomimetismului, hidratării, stabilității și interacțiunilor pe termen lung dintre celule și scaffold-urilor de colagen. Formulările investigate au combinat colagen bovin de tip I cu sulfat de condroitină în concentrații de 0,3% și 0,6% și ulei esențial de *Salvia officinalis* în concentrații de 0,001% și 0,002%. Uleiul esențial a fost obținut prin hidrodistilare, iar profilul său volatil a fost caracterizat prin cromatografie de gaze cuplată cu spectrometrie de masă. Gelurile au fost ajustate la pH 7,2–7,4, reticulate cu glutaraldehidă și transformate în scaffold-uri poroase tridimensionale prin liofilizare controlată.

4.3.2. Caracterizarea fizico-chimică și morfologică

Absorbția apei a fost determinată gravimetric până la 72 de ore, iar biodegradarea enzimatică a fost evaluată în soluție de colagenază, în condiții fiziologice simulate. Structura chimică și încorporarea componentelor bioactive au fost analizate prin FTIR-ATR. Morfologia și interconectivitatea porilor au fost examinate prin microscopie electronică de scanare, iar distribuția elementară a fost investigată prin spectroscopie cu raze X cu dispersie energetică.

4.3.3. Citotoxicitatea și viabilitatea celulară

Evaluarea biologică a fost realizată utilizând celule MG63 ca model osteoblastic. Citotoxicitatea extractelor a fost analizată prin testul lactat-dehidrogenazei, iar viabilitatea celulară prin testul metabolic XTT, la intervale succesive.

4.3.4. Colonizarea și evaluarea histologică

Scaffold-urile sterilizate au fost însămânțate cu celule MG63 și menținute în cultură timp de până la șase săptămâni. Evaluarea histologică a fost efectuată după două și șase săptămâni, utilizând colorațiile hematoxilină-eozină și tricrom Gomori. Analiza a urmărit distribuția și migrarea celulară, gradul de colonizare și depunerea matricei extracelulare în interiorul structurii poroase.

4.3.5. Analiza statistică

Determinările au fost realizate în triplicat, iar rezultatele au fost exprimate ca medie ± deviație standard. Diferențele dintre formulări privind citotoxicitatea și viabilitatea celulară au fost evaluate prin analiza variației într-o singură direcție, pentru un prag de semnificație de $p < 0,05$.

4.4. Studiul 3 – Studiul 3 – Evaluarea severității inflamației în infecțiile odontogene

4.4.1. Designul studiului și populația de pacienți

Al treilea studiu a avut un design clinic observațional retrospectiv și a inclus 123 de pacienți spitalizați pentru infecții odontogene: 42 de pacienți cu diabet zaharat și 81 de pacienți fără diabet. Din fișele medicale au fost colectate date demografice, antecedente și comorbidități, caracteristici clinice și anatomice ale infecției, rezultate de laborator, durata spitalizării și evoluția clinică.

4.4.2. Variabile clinice și de laborator

Variabilele analizate au inclus vârsta, sexul, indicele de masă corporală, fumatul, consumul de alcool, bolile asociate, durata simptomelor, numărul spațiilor fasciale afectate, compromiterea căilor respiratorii, internarea în secția de terapie intensivă, apariția sepsisului, durata spitalizării și mortalitatea. Parametrii biologici au inclus numărul leucocitelor, neutrofilelor, limfocitelor și trombocitelor, proteina C reactivă, viteza de sedimentare a hematiilor și hemoglobina glicată.

4.4.3. Scoruri de severitate a inflamației și infecției

La internare au fost calculați patru indici: Quick Sequential Organ Failure Assessment (qSOFA), Systemic Immune-Inflammation Index (SII), derived Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (dNLR) și Odontogenic Infection Severity Score (OISS). Aceștia au fost comparați pentru evaluarea severității infecției și identificarea pacienților cu risc crescut de evoluție nefavorabilă.

4.4.4. Analiza statistică

Variabilele continue au fost prezentate ca medii și deviații standard, iar cele categorice ca frecvențe și procente. Comparațiile dintre pacienții diabetici și non-diabetici au fost realizate prin teste adaptate tipului și distribuției datelor. Performanța predictivă a scorurilor qSOFA, SII,

dNLR și OISS a fost evaluată prin analiza curbelor ROC. Pentru fiecare indice au fost determinate aria de sub curbă, valoarea-prag optimă, sensibilitatea și specificitatea. Semnificația statistică a fost stabilită la $p < 0,05$.

5. REZULTATE PRINCIPALE

5.1. Studiul 1 – Scaffold-uri multifuncționale de colagen/β-TCP/ ZnO îmbogățite cu uleiuri esențiale

Toate formulările au demonstrat o absorbție rapidă a apei și au păstrat o arhitectură tridimensională poroasă, interconectată, cu dimensiuni ale porilor cuprinse între aproximativ 50 și 150 μm . Incorporarea nanoparticulelor de ZnO a crescut capacitatea de hidratare, a încetinit degradarea enzimatică și a îmbunătățit comportamentul compresiv, în timp ce *Satureja Uleiul esențial de thymbra* a îmbunătățit și mai mult stabilitatea structurală. Scaffoldul de control nu a prezentat activitate antimicrobiană, în timp ce toate formulările care conțin ZnO au inhibat atât *Escherichia coli* , cât și *Staphylococcus aureus* . Cele mai puternice efecte antibacteriene au fost observate în formulările care conțin atât nanoparticule de ZnO , cât și ulei esențial, indicând o interacțiune sinergică între aceste componente. Toate formulările au susținut viabilitatea, proliferarea, aderența și migrarea celulelor stem mezenchimale. Nu au fost identificate efecte citotoxice majore, iar activitatea osteogenică timpurie a rămas comparabilă între grupuri. Rezultatele au demonstrat că scaffold-urile dezvoltate au combinat stabilitatea structurală, activitatea antimicrobiană, citocompatibilitatea și compatibilitatea osteogenică într-o singură platformă regenerativă .

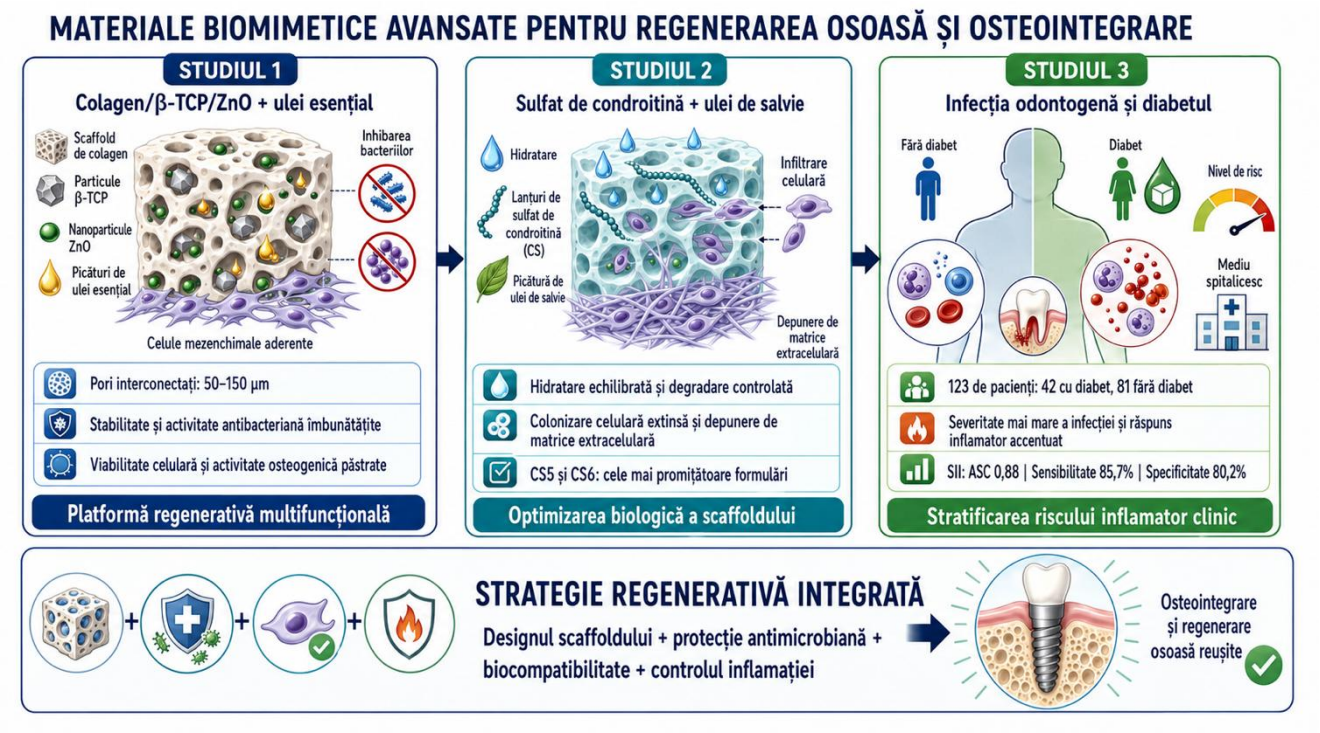
5.2. Studiul 2. Scaffold-uri de colagen care conțin sulfat de condroitină și ulei esențial de salvie

Sulfatul de condroitină a crescut semnificativ hidratarea structurii structurale, cea mai mare absorbție de apă înregistrată pentru formularea CS3 fiind de aproximativ 57,86 g/g. Cu toate acestea, această formulare a prezentat, de asemenea, o degradare accelerată și o stabilitate structurală pe termen lung redusă. Uleiul esențial de salvie a moderat absorbția de apă și a întârziat degradarea enzimatică. Toate formulările au menținut o arhitectură poroasă interconectată și au demonstrat o citocompatibilitate favorabilă, fără creșteri semnificative ale eliberării de LDH sau reduceri ale viabilității celulelor MG63. După șase săptămâni de cultură, formulările CS4, CS5 și CS6 și-au păstrat structura și au susținut colonizarea celulară extinsă și depunerea matricei extracelulare. Per total, CS5 și CS6 au prezentat cea mai echilibrată

combinație de hidratare, degradare controlată, citocompatibilitate și organizare asemănătoare țesuturilor și au fost identificate ca fiind cele mai promițătoare formulări pentru o evaluare regenerativă ulterioară .

5.3. Studiul 3 (Capitolul 7) – Severitatea inflamației în infecțiile odontogene

Studiul clinic a inclus 123 de pacienți, dintre care 42 de persoane diabetice și 81 de persoane non-diabetice. Pacienții diabetici au prezentat infecții semnificativ mai extinse, compromitere mai frecventă a căilor respiratorii, markeri inflamatori mai mari și valori qSOFA , SII, dNLR și OISS mai mari decât pacienții non-diabetici. Diabetul a fost, de asemenea, asociat cu rate mai mari de internare la terapie intensivă și sepsis, precum și cu spitalizare mai lungă. Printre indicii evaluați, SII a demonstrat cea mai mare performanță predictivă pentru rezultatele severe, cu o aria de sub curba ROC de 0,88, sensibilitate de 85,7% și specificitate de 80,2% la o valoare limită de 1560. Aceste descoperiri au confirmat faptul că diabetul zaharat este asociat cu o încărcătură inflamatorie mai mare și o progresie clinică mai severă a infecțiilor odontogene. De asemenea, au evidențiat relevanța protecției antimicrobiene și a controlului inflamator pentru terapiile regenerative și legate de implanturi la pacienții cu probleme medicale.



6. DISCUȚII ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE

Studiul 1 – Scaffold-uri multifuncționale de colagen/β-TCP/ ZnO îmbogățite cu uleiuri esențiale

Primul studiu a demonstrat că încorporarea β-TCP, a nanoparticulelor de ZnO și a uleiului esențial de *Satureja thymbra L* a menținut arhitectura poroasă a scaffold-urilor de colagen și a îmbunătățit hidratarea, stabilitatea mecanică, rezistența la degradare și activitatea antibacteriană. Asocierea ZnO–ulei esențial a avut un efect sinergic, fără compromiterea semnificativă a viabilității celulare sau a activității osteogenice timpurii. Astfel, a fost obținută o platformă care combină suportul osteoconductiv, protecția antimicrobiană și compatibilitatea biologică.

Studiul 2 – Optimizare biologică prin încorporarea sulfatului de condroitină și a uleiului esențial de salvie.

Al doilea studiu a urmărit îmbunătățirea mimetismului matricei extracelulare și a performanței biologice. Sulfatul de condroitină a crescut hidratarea scaffold-urilor, dar absorbția excesivă a apei a accelerat degradarea, demonstrând că hidratarea maximă nu înseamnă neapărat performanță regenerativă optimă. Uleiul esențial de salvie a întârziat degradarea fără efecte citotoxice semnificative. Formulările CS5 și CS6 au prezentat cel mai echilibrat profil, susținând integritatea structurală, colonizarea celulară și depunerea matricei extracelulare.

Studiul 3 – Severitatea inflamației la pacienții diabetici și non-diabetici cu infecții odontogene.

Literatura de specialitate identifică diabetul zaharat ca un modificator important al funcției imunitare, al progresiei infecțiilor și al vindecării țesuturilor. Studiul clinic a demonstrat că pacienții diabetici au prezentat infecții mai extinse, o implicare mai mare a spațiilor fasciale, compromiterea mai frecventă a căilor respiratorii și o încărcătură inflamatorie sistemică substanțial crescută în comparație cu pacienții non-diabetici. Toate cele patru sisteme de scor investigate - qSOFA , SII, dNLR și OISS - au demonstrat valoare predictivă pentru rezultatele clinice severe. Dintre acestea, SII a obținut cea mai puternică performanță discriminativă, cu o ASC de 0,88, o sensibilitate de 85,7% și o specificitate de 80,2% la o valoare limită de 1560. Rezultatele susțin utilizarea parametrilor hematologici ușor disponibili pentru identificarea precoce a pacienților cu risc crescut de infecție severă. Acesta demonstrează că performanța materialelor regenerative trebuie luată în considerare în cadrul mediului biologic în care acestea sunt aplicate în cele din urmă. La pacienții cu diabet zaharat sau cu încărcătură inflamatorie

crescută, regenerarea osoasă și osteointegrarea cu succes necesită nu numai suport osteogenic, ci și controlul eficient al infecțiilor și modularea inflamației .

Integrare conceptuală.

O contribuție distinctă a tezei este integrarea ingineriei biomaterialelor cu condițiile biologice clinice care determină succesul regenerativ. Rezultatele indică faptul că regenerarea osoasă nu poate fi redusă la performanța osteoconductivă sau mecanică a unei structuri de structură considerată izolat. Primul studiu a stabilit baza structurală și antimicrobiană a unei platforme regenerative multifuncționale. Al doilea a demonstrat că mimetismul matricei extracelulare și performanța biologică pe termen lung pot fi optimizate prin modificări compoziționale controlate. Al treilea a identificat barierele inflamatorii și sistemice pe care astfel de materiale trebuie să le depășească la pacienții cu probleme clinice. Pe baza acestor descoperiri complementare, teza propune un cadru regenerativ integrativ bazat pe patru componente interdependente: arhitectura scaffold-ului, protecția antimicrobiană, compatibilitatea biologică și controlul inflamației. În cadrul acestui cadru, materialele regenerative avansate ar trebui să funcționeze ca interfețe biologic active capabile să susțină formarea țesuturilor, adaptându-se în același timp la medii microbiene și inflamatorii complexe .

Limite (presupuse, sintetizate).

Interpretarea rezultatelor ar trebui să ia în considerare câteva limitări. Primele două studii au fost efectuate în condiții controlate in vitro care nu pot reproduce complet complexitatea mediului fiziologic, inclusiv vascularizația, activitatea imună, încărcarea mecanică, angiogeneza și remodelarea țesuturilor. Celulele stem mezenchimale derivate din măduva osoasă umană și celulele asemănătoare osteoblastelor MG63 au oferit modele reproductibile pentru evaluarea biologică, dar nu pot reproduce pe deplin comportamentul osteoblastelor umane primare, al celulelor progenitoare sau al sistemelor tisulare multicelulare. Mai mult, absența studiilor pe animale împiedică tragerea unor concluzii definitive privind formarea osoasă in vivo, vascularizarea structurii osoase, biodegradarea și osteointegrarea. Studiul clinic a fost retrospectiv și a fost efectuat într-un singur centru, cu un subgrup de pacienți diabetici relativ limitat. Rezultatele sale au depins de caracterul complet al dosarelor medicale existente, iar variabilele potențial relevante care pot fi confundate nu au putut fi controlate pe deplin. Prin urmare, sunt necesare studii prospective și multicentrice mai ample pentru a valida valoarea predictivă a scorurilor inflamatorii investigate.

Contribuții originale

Cercetarea a urmărit dezvoltarea unei platforme regenerative multifuncționale pe bază de colagen, β-TCP, nanoparticule de ZnO și ulei esențial de Satureja thymbra. În acest context,

a fost evidențiată relația dintre compoziția scaffold-urilor și principalele lor proprietăți funcționale, respectiv hidratarea, biodegradarea, stabilitatea mecanică, activitatea antimicrobiană și răspunsul celular. Rezultatele au demonstrat existența unui efect antibacterian sinergic între nanoparticulele de ZnO și uleiul esențial, fără compromiterea semnificativă a citocompatibilității și a activității osteogenice timpurii. O altă direcție a cercetării a vizat optimizarea biologică a scaffold-urilor elor de colagen prin încorporarea sulfatului de condroitină și a uleiului esențial de salvie. Analizele efectuate au demonstrat necesitatea menținerii unui echilibru între capacitatea de hidratare și stabilitatea structurală a scaffold-urilor. Dintre formulările investigate, CS5 și CS6 au prezentat cel mai favorabil profil, caracterizat prin degradare controlată, citocompatibilitate adecvată, colonizare celulară eficientă și susținerea depunerii matricei extracelulare.

În completarea componentei experimentale, a fost evidențiată influența diabetului zaharat asupra severității infecțiilor odontogene. În cohorta analizată, indicele sistemic de inflamație (SII) a fost identificat drept cel mai performant predictor individual al unei evoluții severe. Prin integrarea acestor rezultate, a fost propus un cadru translațional care reunește designul scaffold-ului, protecția antimicrobiană, mimetismul matricei extracelulare, compatibilitatea biologică și controlul inflamației. Acest cadru susține dezvoltarea unor strategii regenerative adaptate atât cerințelor locale ale defectului tisular, cât și particularităților sistemice ale pacientului.

7. CONCLUZII

Scafold-urile multifuncționale pe bază de colagen au combinat proprietăți structurale, osteoconductive și antimicrobiene cu o compatibilitate biologică adecvată. Încorporarea β-TCP și a nanoparticulelor de ZnO a îmbunătățit stabilitatea și rezistența la degradare, menținând arhitectura poroasă necesară infiltrării celulare. Asocierea ZnO cu uleiul esențial de *Satureja thymbra* a produs un efect antibacterian sinergic, fără afectarea semnificativă a răspunsului celular. Sulfatul de condroitină a crescut hidratarea și mimetismul matricei extracelulare, dar a evidențiat necesitatea unui echilibru între absorbția apei și stabilitatea structurală. Uleiul esențial de salvie a îmbunătățit rezistența la degradare, iar formulările CS5 și CS6 au prezentat cel mai favorabil profil regenerativ. Pacienții diabetici au prezentat infecții odontogene mai severe și spitalizări mai lungi, iar SII a avut cea mai bună performanță predictivă. În ansamblu, rezultatele susțin dezvoltarea unor sisteme regenerative biologic active, adaptate atât defectului osos, cât și profilului sistemic al pacientului.

Bibliografie

1. Gaharwar AK, Singh I, Khademhosseini A. Biomateriale proiectate pentru regenerarea tisulară in situ. *Nat Rev Mater.* 2020;5(9):686–705.
2. Hutmacher DW. Scaffold-uri în ingineria tisulară osoasă și cartilajală. *Biomateriale.* 2000;21(24):2529–2543.
3. O'Brien FJ. Biomateriale și scaffold-uri pentru ingineria tisulară. *Mater Today.* 2011;14(3):88–95.
4. Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Progrese recente în ingineria țesutului osos. *Trends Biotechnol .* 2012;30(10):546–554.
5. Ma PX. Materiale biomimetice pentru ingineria tisulară. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008;60(2):184–198.
6. Karageorgiou V, Kaplan D. Porozitatea scafold-urilor de biomateriale 3D și osteogeneza. *Biomaterials.* 2005;26(27):5474–5491.
7. Murphy CM, Haugh MG, O'Brien FJ. Efectul dimensiunii medii a porilor asupra atașării celulare, proliferării și diferențierii osteogenice în scaffoldurile de colagen-glicozaminoglican. *Biomaterials.* 2010;31(3):461–466.
8. Haugh MG, Murphy CM, O'Brien FJ. Metode noi de liofilizare pentru producerea unei game de structuri de colagen-glicozaminoglican cu dimensiuni medii ale porilor adaptate. *Acta Biomater .* 2010;6(8):3146–3159.
9. Shoulders MD, Raines RT. Structura și stabilitatea colagenului. *Annu Rev Biochem .* 2009;78:929–958.
10. Bohner M, Santoni BLG, Döbelin N. β-fosfat tricalcic pentru substituția osoasă. *Acta Biomater .* 2020;113:23–41.
11. Moldovan L, Craciunescu O, Oprita EI, Balan M, Zarnescu O. Colagen-chondroitin sulfate-hydroxyapatite porous composites: preparation, characterization and in vitro biocompatibility testing. *Rom Biotechnol Lett.* 2009;14:4459–4466.
12. Shen Q, Guo Y, Wang K, Zhang C, Ma Y. O trecere în revistă a preparării, proprietăților, funcțiilor și aplicațiilor sulfatului de condroitină . *Molecules.* 2023;28(20):7093.
13. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM și alții. Recenzie privind nanoparticulele de oxid de zinc: activitate antibacteriană și mecanism de toxicitate. *Nano-Micro Lett.* 2015;7(3):219–242.
14. Huo WT, Zhao L, Yu S, Yu Z, Zhang Y, Zhao X. Biomaterialele care conțin zinc reglează osteogeneza, angiogeneza și osteoimunomodularea . *Bioact Mater.* 2024;35:134–151.
15. Fernandes S, Silva F, Pinto A, Reis RL, Oliveira JM. Biomateriale încărcate cu uleiuri esențiale pentru aplicații în medicina regenerativă și ingineria tisulară. *Pharmaceutics.* 2024;16(1):112.
16. Acimovic M, Pezo L, Čabarkapa I, Trudić A, Stanković Jeremić J, Varga A, et al. Variația compoziției uleiului esențial și hidrolatului de *Salvia officinalis L.* și activitatea lor antimicrobiană. *Processes.* 2022;10(8):1608.
17. Zhao X, Wu H, Guo B, Dong R, Qiu Y, Ma PX. Biomateriale antibacteriene și antiinflamatoare pentru medicina regenerativă. *Biomaterials.* 2023;301:122262.

18. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Potențialul multiliniar al celulelor stem mezenchimale umane adulte. *Science.* 1999;284(5411):143–147.
19. Kusumoto J, Iwata E, Huang W, Takata N, Tachibana A, Akashi M. Parametri hematologici și inflamatori pentru determinarea severității infecțiilor odontogene la internare: un studiu retrospectiv. *BMC Infect Dis.* 2022;22:931.
20. González-Moles MA, Ramos-García P. Stadiul dovezilor privind problemele de sănătate orală la pacienții diabetici: o analiză critică a literaturii de specialitate. *J Clin Med.* 2021;10(22):5383.