**Progetto di ricerca** Il progetto di ricerca di questo assegno rientra in un progetto finanziato dal Ministero dello Sviluppo Economico (Progetto Ortholine), di cui uno degli obiettivi principali è Sviluppo di tecnologie e processi innovativi per coatings antibatterici per Titanio trabecolare, per la messa sul mercato di una nuova generazione tecnologia dei suddetti prodotti che possano prevenire l’insorgenza di infezioni.

In particolare, questo progetto di ricerca riguarderà la messa a punto di processi di derivatizzazione superficiale di Titanio Trabecolare per il conferimento di proprietà antibatteriche mediante processi di nanostrutturazione basati su strtture ibride ZnO-MnO-SiO2. Il rivestimento di protesi metalliche con fosfati di calcio, bioattivi e osteoconduttivi, migliora la biocompatibilità del materiale e promuove la fissazione dell’impianto all’osso in tempi rapidi. I metodi biomimetici consentono la deposizione di idrossiapatite nanocristallina a partire da soluzioni sovrassature, con concentrazioni ioniche vicine a quelle del plasma umano e a valori di temperatura e pH molto vicini a quelli fisiologici. La prima formulazione di Soluzione calcificante (SBF, Simulated Body Fluid) è stata proposta da Kokubo nel 1989;1 da allora diverse modifiche sono state apportate alla soluzione in modo da diminuire i tempi necessari per il ricoprimento di superfici con idrossiapatite e aumentare lo spessore del rivestimento. Nel laboratorio di Biomimetica e Chimica dei materiali del Dipartimento di Chimica Ciamician è stata messa a punto una soluzione calcificante,2 la cui formulazione è semplificata rispetto a quanto proposto da Kokubo et al. che permette di rivestire substrati a base di Ti6Al4V, anche di forma complessa, in poche ore. Il vantaggio del metodo biomimetico consiste nel fatto che la composizione della soluzione può essere arricchita con l’introduzione di ioni (quali stronzio, magnesio, manganese, zinco, carbonato) o molecole di particolare interesse biologico (ad esempio, Bovine Serum Albumine, Bone morphogenetic Proteins, Growth Factors), che sono co-precipitate insieme all’idrossiapatite. Tale metodo può essere facilmente applicato per il rivestimento anche di superfici metalliche di forma complessa o porose, quali il titanio trabecolare (Figura 1).

Figura 1 - Struttura Titanio Trabecolare

Per ottenere un rivestimento con caratteristiche antibatteriche, la soluzione soprassatura sarà arricchita con ioni zinco e manganese, in quantità variabili. In particolare, l’incorporazione dello zinco nell’idrossiapatite può migliorare le sue proprietà meccaniche, la risposta biologica e la osteointegrazione e indurre proprietà antimicrobiche e antifungine, che risultano assenti nell’idrossiapatite non dopata.3 Una bassa concentrazione di zinco è desiderabile perché non induce cambiamenti di fase o abbassamenti di cristallinità nella idrossiapatite. L’attività antibatterica indotta dagli ioni Zn2+ è legata alla loro concentrazione, ma anche alla omogeneità della loro dispersione nella matrice di idrossiapatite. La fase ottenuta sarà caratterizzata mediante diffrazione di raggi X e microscopia elettronica a scansione e trasmissione. La quantità di ioni zinco e manganese incorporati verrà valutata mediante assorbimento atomico. La stessa tecnica sarà utilizzata anche per monitorare il rilascio di tali ioni in soluzione fisiologica. Oltre all’incorporazione di ioni Zn2+ verrà investigata la possibilità di introdurre nanoparticelle di ZnO. Le nanoparticelle di ZnO agiscono come antimicrobici attraverso tre principali meccanismi (danneggiamento della membrana cellulare, rilascio di ioni Zn2+ e generazione di specie reattive all’ossigeno (ROS).4-7

La formazione di ROS sembra esser il processo dominante – specialmente in presenza di luce - e questo rende le nanoparticelle di ZnO delle strutture che permettono di controllare la crescita di batteri antibioticoresistenti. Verrà valutata l’influenza di tali nanostrutture sulle proprietà meccaniche, ottimizzando questi aspetti e quelli legati alla capacità antibiotica indotta nella matrice. Queste caratteristiche dipendono infatti sia dalla quantità di nanoparticelle di ZnO introdotte ma anche dalle loro dimensioni. Verranno utilizzate sia nanoparticelle di ZnO commerciali ed eventualmente sistemi ZnO – idrossiapatite sintetizzati medianti procedure sol-gel. Verranno investigate anche altre possibili soluzioni per dotare di attività antibatterica le matrici biomimetiche. Tali strategie prevedranno l’introduzione di specie molecolari in grado di generare ROS in risposta all’assorbimento di luce di adeguata lunghezza d’onda tramite i processi alla base della terapia fotodinamica (Photo Dynamic Therapy, PDT).8-10 Per conferire caratteristiche antibatteriche al rivestimento si utilizzeranno derivati di porfirine già approvate per l’utilizzo in fase clinica della terapia fotodinamica (Photofrin; Verteporfin). Tali specie verranno adsorbite sulla matrice biomimetica grazie alla presenza di gruppi carbossilici ed eventualmente legate covalentemente dopo opportuna derivatizzazione con funzionalità trialcossililano. Parallelamente esploreremo anche gli eventuali vantaggi in termini di stabilità e di efficienza del sistema legando nanoparticelle di silice11 derivatizzate covalentemente (sia al loro interno che sulla superficie) con i foto sensibilizzatori a base porfirinica appena descritti.

**Bibliografia**

Kokubo, T., Kushitani, H., Abe, Y., “Apatite coating on various substrates in simulated body fluids”, Bioceramics 1989, 2, 235–42.

Bigi, A., Boanini, E., Bracci, B., Facchini, A., Panzavolta, S., Segatti, F., Sturba, L., “Nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium: A new fast biomimetic method”, Biomaterials, 2005, 26, 4085-4089.

Sergia, R., Belluccia, D., Candidato Jr, R.T., Lusvarghi, L., Bolelli, G., Pawlowskic, L., Candiani, G., Altomare, L., De Nardo, L., Cannillo, V. “Bioactive Zn-doped hydroxyapatite coatings and their antibacterial efficacy against Escherichia coli and Staphylococcus aureus” Surface and Coatings Technology, 2018, 352, 84-91.

Wang, X., Fan, H., Zhang, F., Zhao, S., Liu, Y., Xu, Y., Wu, R., Li, D., Yang, Y., Liao, L., Zhu, H., Wang, X., “Antibacterial Properties of Bilayer Biomimetic Nano-ZnO for Dental Implants”, ACS Biomater. Sci. Eng., 2020, 6, 1880-86.

Ohtsu, N., Kakuchi, Y., Ohtsuki, T., “Antibacterial effect of zinc oxide/hydroxyapatite coatings prepared by chemical solution deposition”, Applied Surface Science, 2018, 445, 596-600.

Zhang, Y., Liu, X., Li, Z., Zhu, S., Yuan, X., Cui, Z., Yang, X., Chu, P.K., Wu, S., “Nano Ag/ZnO-Incorporated Hydroxyapatite Composite Coatings: Highly Effective Infection Prevention and Excellent Osteointegration”, ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10, 1266-1277.

Raghupathi, K.R., Koodali, R.T., Manna C.T., “Size-Dependent Bacterial Growth Inhibition and Mechanism of Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles”, Langmuir, 2011, 27, 4020–4028.

Obaid, G., Broekgaarden, M., Bulin,A.-L., Huang, H.-C., Kuriakose, J., Liu, J., Hasan, T., “Photonanomedicine: a convergence of photodynamic therapy and nanotechnology”, Nanoscale, 2016, 8, 12471-12503.

Xingshu Li, X., Lee, S., Yoon, J., “Supramolecular photosensitizers rejuvenate photodynamic therapy”, Chem. Soc. Rev., 2018, 47, 1174-1188.

Dharmaratne, P., Sapugahawatte, D. N., Wang, B., Chan, C.L., Lau, K.-M., Lau, C., Fung, K.P., Ng, D. K., IP, M., “Contemporary approaches and future perspectives of antibacterial photodynamic therapy (aPDT) against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): A systematic review”, Eur. J. Med. Chem., 2020, 200, 112341.

Montalti, M., Prodi, L., Rampazzo, E., Zaccheroni, N., “Dye Doped Silica Nanoparticles as Luminescent Organized Systems for Nanomedicine”, Chem. Soc. Rev., 2014, 43, 4243-4268.