

Métodos avanzados de caracterización de superficies biomiméticas

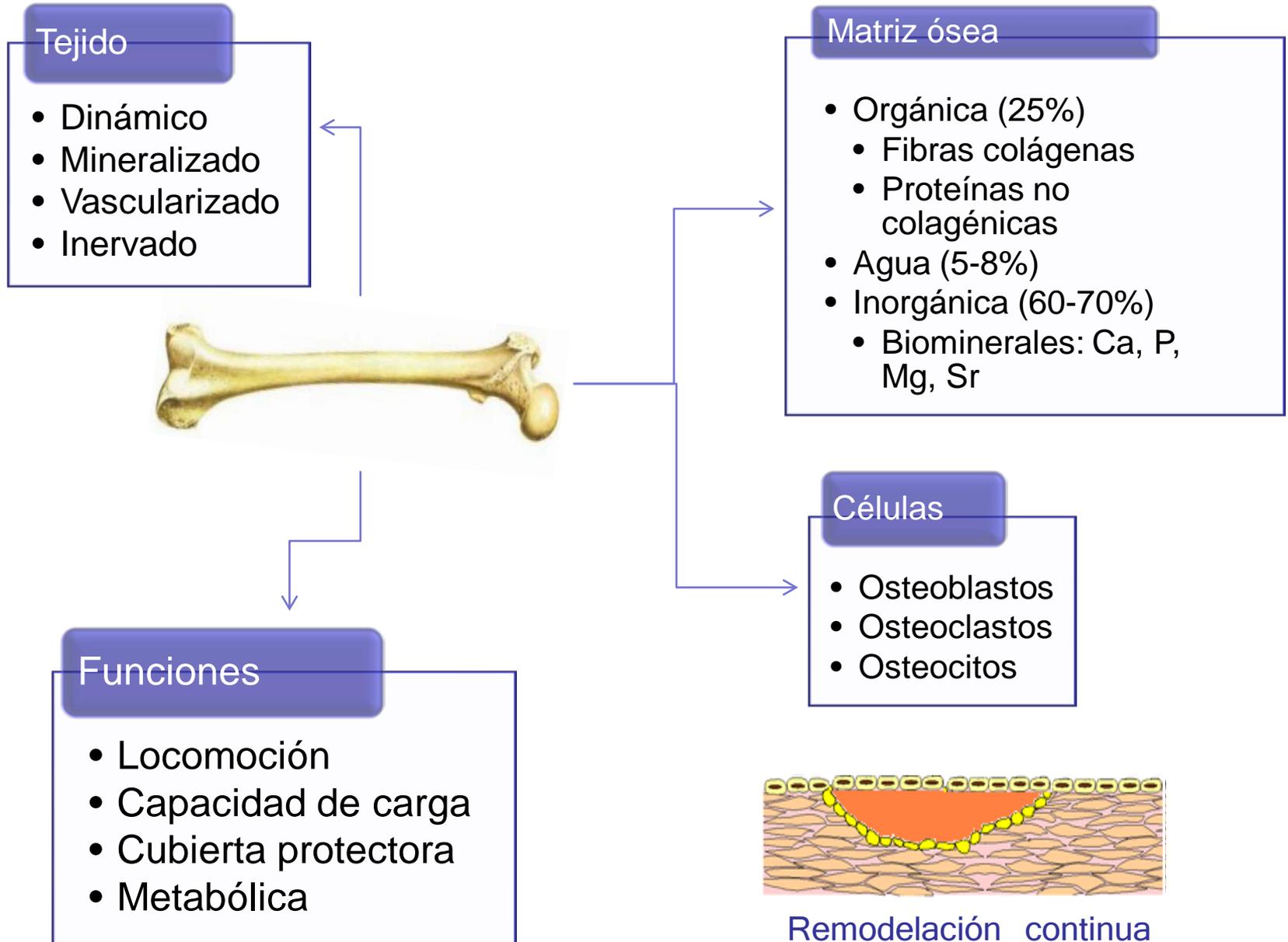
Virginia Paredes^{1,2}, Emiliano Salvagni^{1,2}, Enrique Rodríguez-Castellón³, José María Manero¹

¹Nanoengineering Research Centre (CRnE). Technical University of Catalonia (UPC), Barcelona, Spain

² Biomaterials, Biomechanics and Tissue Engineering Group, Department of Materials Science and Metallurgy, Technical University of Catalonia (UPC), Barcelona, Spain,

³ Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Málaga, España

Introducción: El Hueso



Introducción: Implantes



Daños óseos

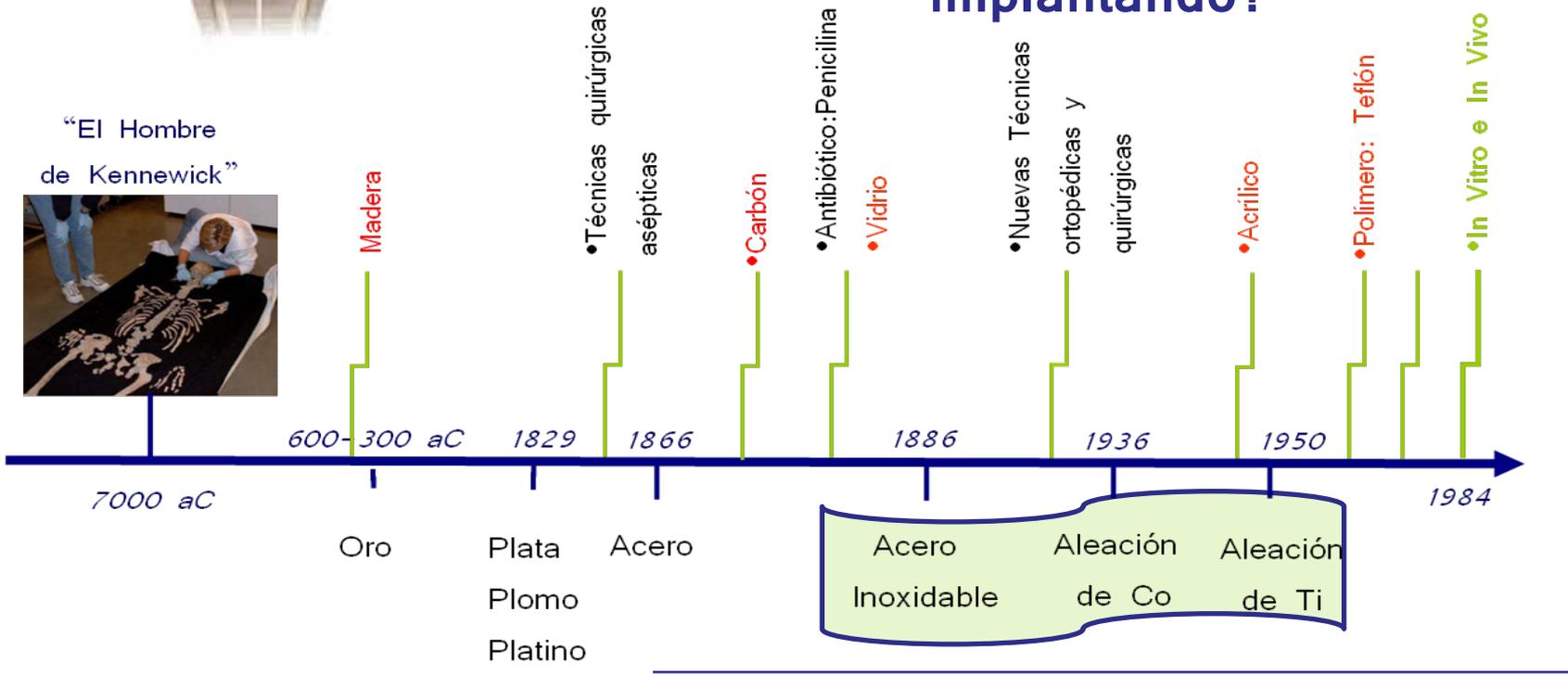
Causas

- Infecciones
- Envejecimiento
- Accidentes

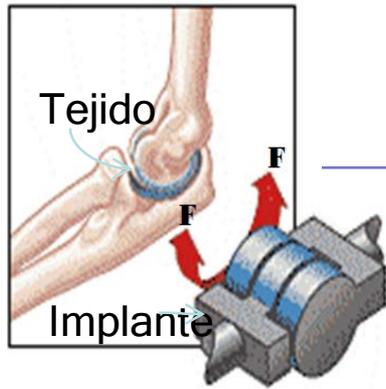
Solución



¿Qué material puede ser implantando?



Introducción: Implantes



Características

- Composición química
- Energía Superficial
- Concentraciones iónicas
- Contaminación

Procesos

- Cicatrización
- Interface Célula-Material
- Oseointegración

Problemas

- Encapsulamiento
- Hipersensibilidad
- Lesiones en la Piel
- Aflojamiento aséptico
- Liberación de iones

Introducción

Biofuncionalización de superficies para la reparación y regeneración de tejido

A1. Materiales

Polímero

- PLA 70/30
- PMMA
- Citosan

Metal

- c.p. Ti
- CoCr
- TiHfNb

Síntesis de Péptidos

- Regeneración Ósea
- Regeneración Nerviosa
- Cardiovascular

A2. Biofuncionalización

- Proceso de Selección
- Modificación Topográfica

B. Caracterización

- Topográfica
- Química
- Mecánica

C. Respuesta Biológica

- Regeneración Ósea
- Regeneración Nerviosa
- Cardiovascular

Introducción:

Aleación de CoCr

- ASTM F1537



Comercialmente aprobada por **American Society for Testing Materials** para aplicaciones biomédicas

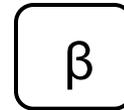
Aleación de Ti

- Ti 16.2 Hf 24.8Nb



• Desarrollada en el grupo de investigación BIBITE

Nb, Zr, Hf y Ta metales de transición β -estabilizantes

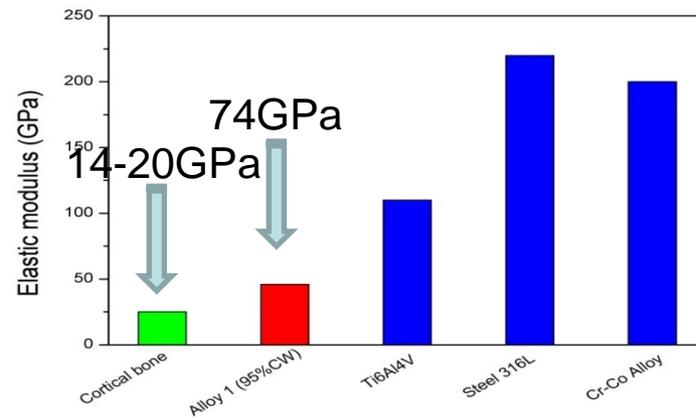


α''

Propiedades

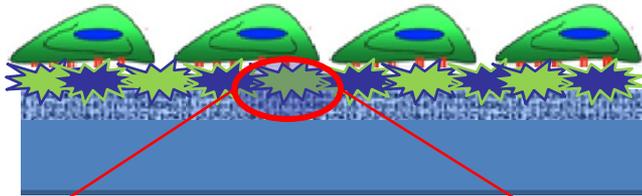
- Bajo módulo elástico
- No citotóxica
- Biocompatible
- Pseudoelasticidad
- Libre de Ni

Bajo módulo elástico



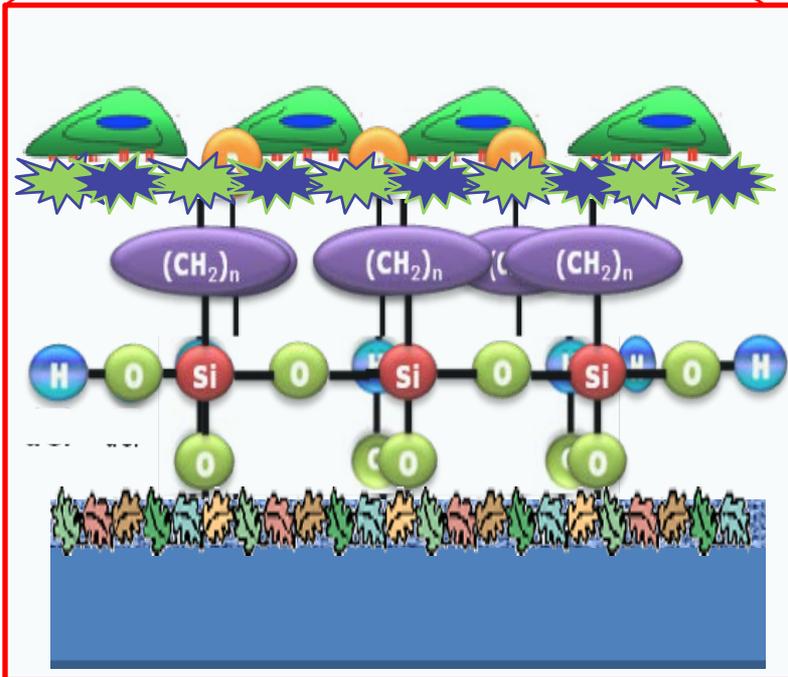
Introducción

¿Qué aporta este estudio a los procesos de modificaciones biomiméticas actuales?



Caracterización

- Respuesta celular



3. Inmovilización de Biomoléculas Caracterización y optimización

- Modificación biomimética
 - Activación
 - Silanización
 - Inmovilización de biomoléculas
- Respuesta celular

Objetivo General

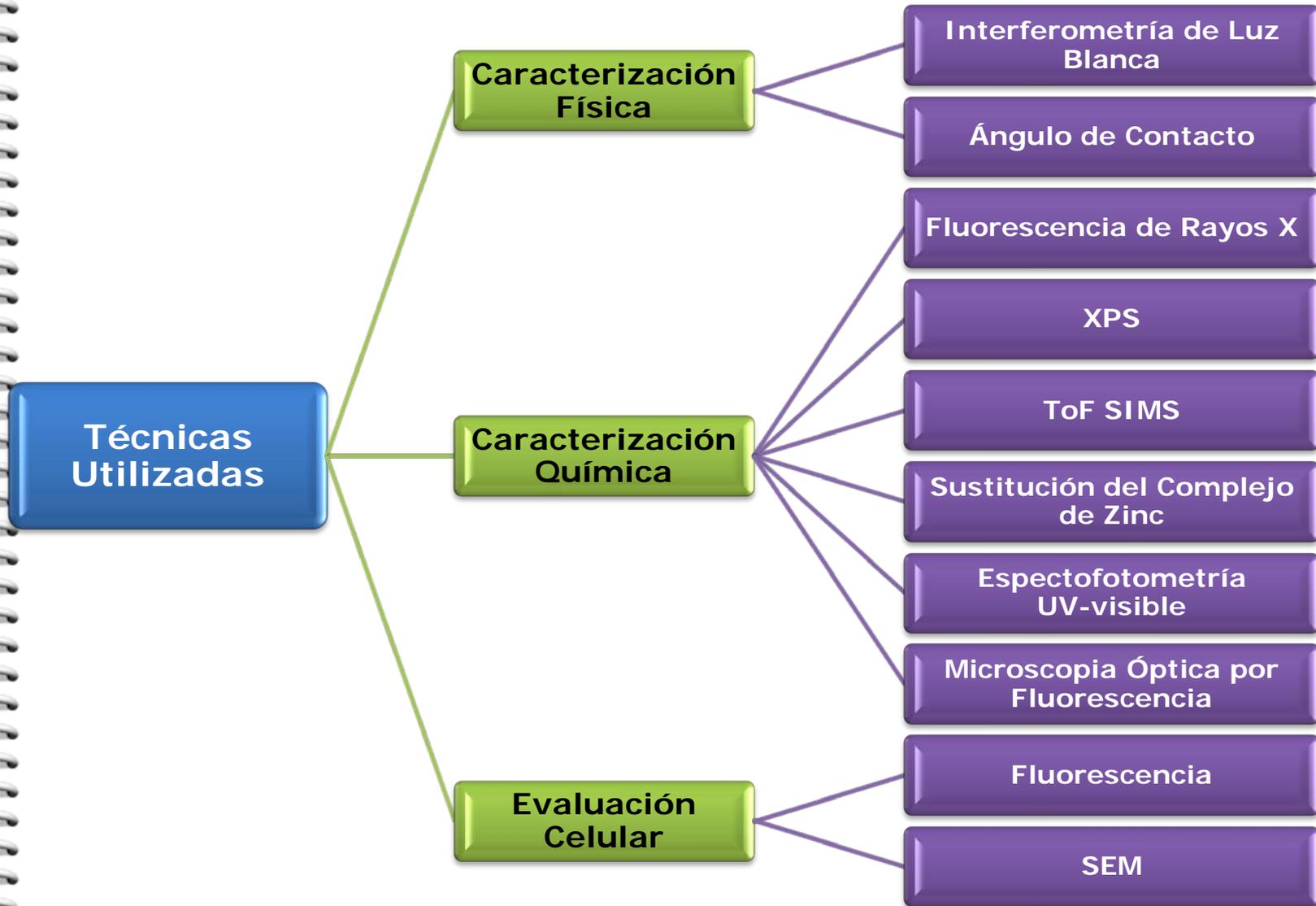
- Caracterizar y optimizar el proceso de modificación biomimética de dos superficies metálicas (aleación de CoCr ASTM F1537 y TiNbHf), para mejorar la regeneración de tejido óseo alrededor del implante.
-

Objetivos

Objetivos Específicos

- Caracterizar el proceso de activación, en términos de concentración de grupos OH^- , grado de limpieza y composición química de la capa de óxidos.
 - Evaluar el proceso de silanización y seleccionar el mejor silano en función del porcentaje de Si adherido y su estabilidad.
 - Optimizar el proceso de inmovilización de biomoléculas, en términos de porcentaje de péptido adherido y estabilidad del enlace químico .
 - Validar el proceso de biofuncionalización efectuado, evaluando la influencia del uso de secuencias peptídicas cortas, sobre la respuesta celular.
-

Metodología: Técnicas de Caracterización



Metodología: Estrategia

Biofuncionalización

- Mejora la adhesión celular y por ende la oseointegración.

1. Limpieza y Activación

- Ataque químico
- Plasma de oxígeno

2. Silanización

- CPTES
- GPTES
- APTES+Maleimido

3. Inmovilización de Biomoléculas

- RGD
- FHRRIKA
- PHSRN
- RGD+FHRRIKA
- RGD+PHSRN

RGD

- En ≠ moléculas ECM
- Integrinas
- Promueve adhesión
- Resp inespecífica

Organofuncional

PHSRN

- En la fibronectina
- Integrina $\alpha_5\beta_1$
- Resp específica

FHRRIKA

- En sialoproteína de hueso
- Heparinas
- Resp específica

Metodología: Biofuncionalización

A1. Limpieza y Activación

Limpieza

- Rugosidad
- Mojabilidad
- Eliminación de carbono

- Interferometría
- AC
- XPS

Activación

- Grupos OH⁻

- AC
- XPS
- TSC Zn

Óxidos

- Modificación de los óxidos

- XPS
- ToF SIMS

Metodología: Biofuncionalización

A2. Silanización

- Mojabilidad
- Enlace Si-O-Metal
- Estabilidad

- AC
- XPS

A3. Inmovilización de biomolécula

- Mojabilidad
- Detección de la cisteína
- Concentración de péptido

- AC
- XPS
- Espectroscopia de UV

B. Respuesta celular

- Adhesión

- Microscopía óptica
- Tinción con DAPI
- SEM

A1. Limpieza y
Activación
Acido nítrico

A2. Silanización
GPTES
APTES +Ma

B. Respuesta
celular
CoAMR
CoAMRF

A3.
Inmovilización
de biomoléculas
CoAMR
CoAMRF

Sensibilidad superficial del XPS

$h \cdot \nu$

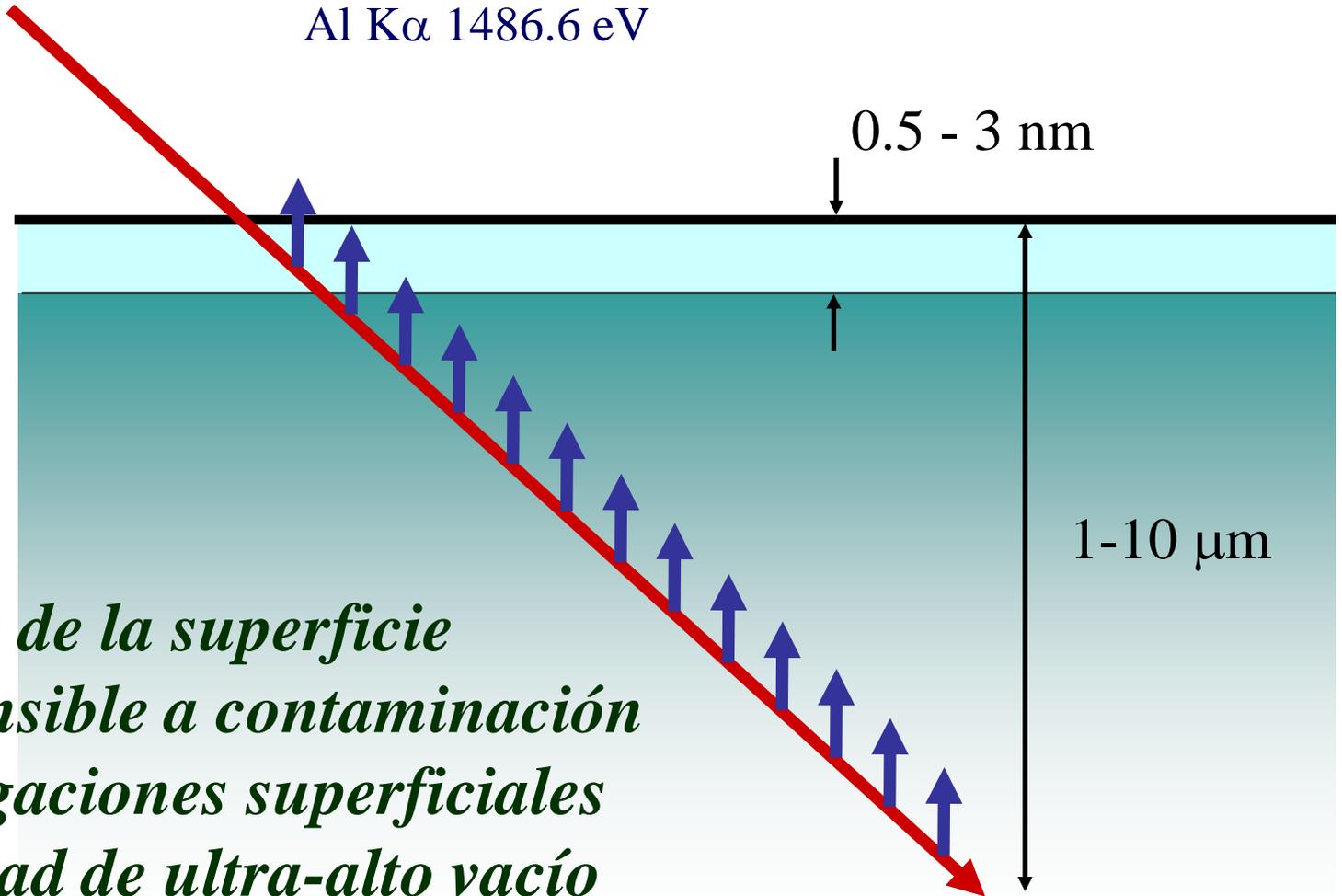
Rayos X: Mg K α 1253.6 eV
Al K α 1486.6 eV

Superficie

0.5 - 3 nm

1-10 μm

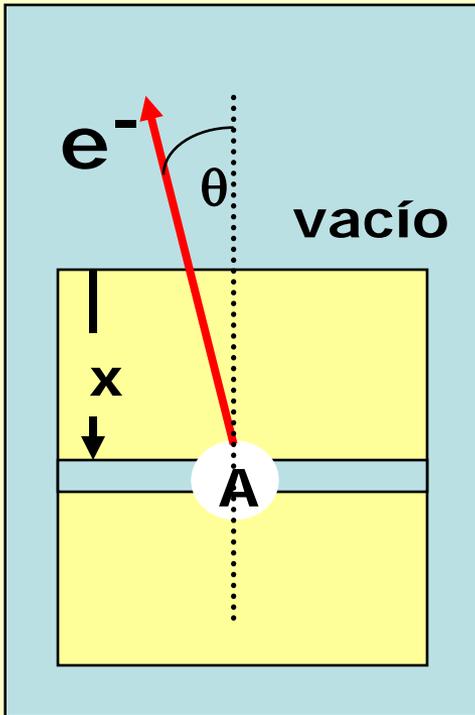
- ⇒ *Análisis de la superficie*
- ⇒ *Muy sensible a contaminación y segregaciones superficiales*
- ⇒ *Necesidad de ultra-alto vacío*



Sensibilidad Superficial del XPS

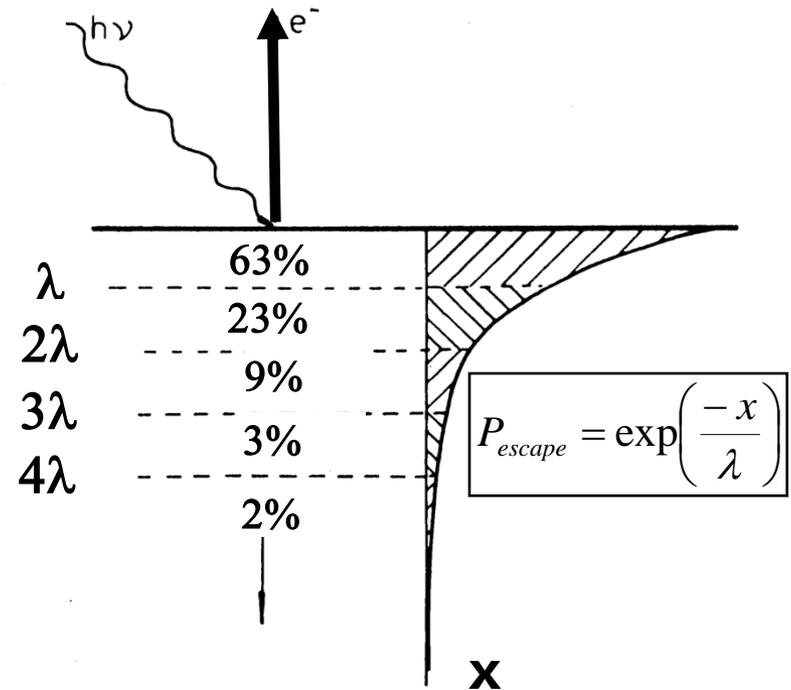
Probabilidad del electrón de alcanzar la superficie,

$$P_{\text{escape}} = \exp\left(\frac{-x}{\lambda \cos \theta}\right)$$

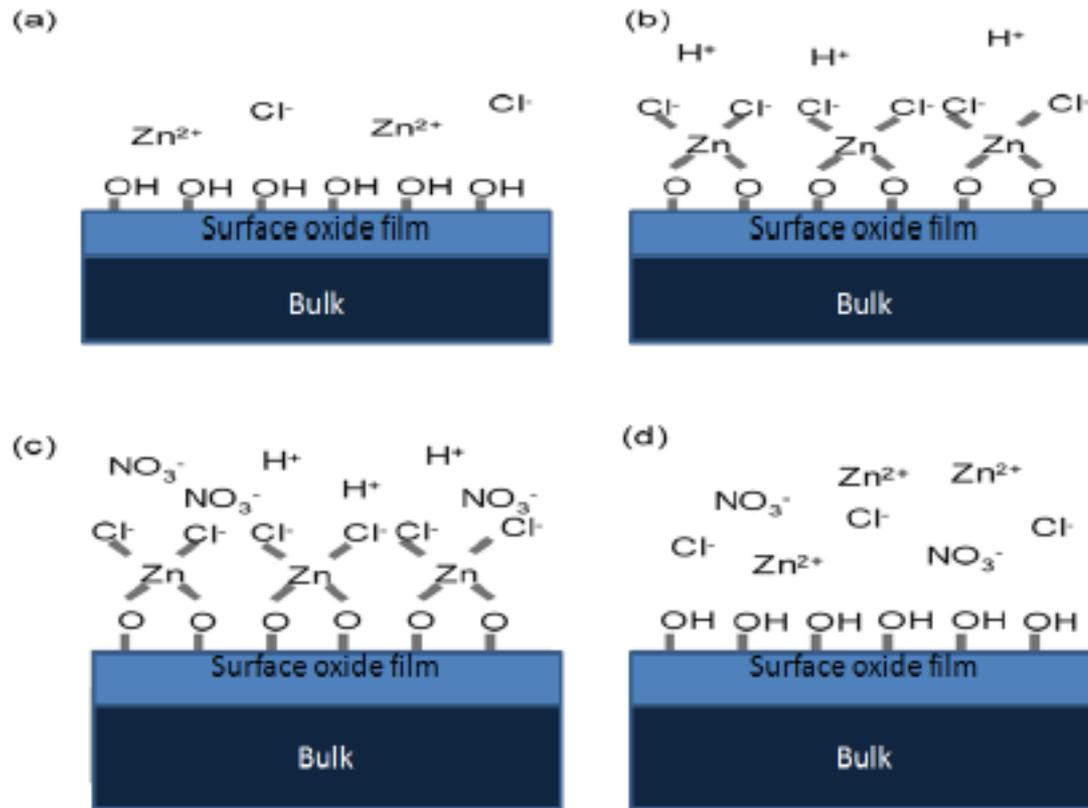


Intensidad de señal procedente de una rodaja superficial de grosor d

$$I_{Ad} = K_A \int_0^d P dx = K_A \int_0^d \exp\left(\frac{-x}{\lambda \cos \theta}\right) dx$$

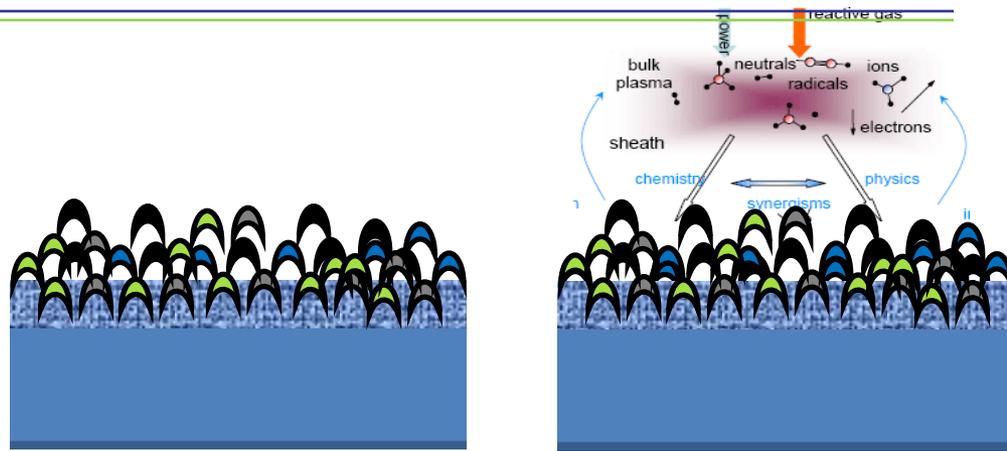


Técnica de sustitución del complejo de Zn



$$C_{OH^-} = (C_{Zn^{2+}} \times 10^{-6} \times V \times A \times 2) / (M \times S)$$

Limpieza



Control
(CoCr)

Plasma de oxígeno
(PO)

Ácido nítrico
(AN)

Caracterización Física

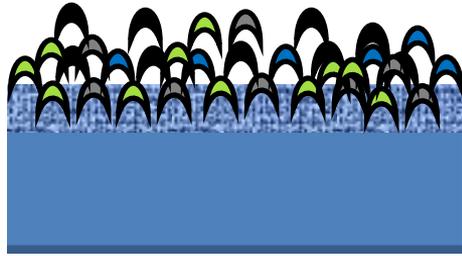
Interferometría

Rugosidad

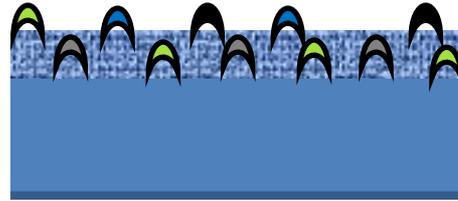
Parámetros	CoCr		PO		AN	
R_a (nm)	20.1	\pm 4.9	13.6	\pm 2.1	24.7	\pm 6.6
R_{ku}	25.7	\pm 5.9	3.7	\pm 0.4	5.5	\pm 2.7
R_q (nm)	16.0	\pm 14.0	17.2	\pm 2.3	30.4	\pm 7.9

- No intervendrá en los resultados de cada uno de los tratamientos
- Distribución homogénea entre picos y valles

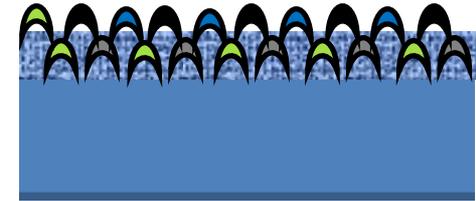
Limpieza



Control
(CoCr)



Plasma de oxígeno
(PO)



Ácido nítrico
(AN)

Caracterización Física

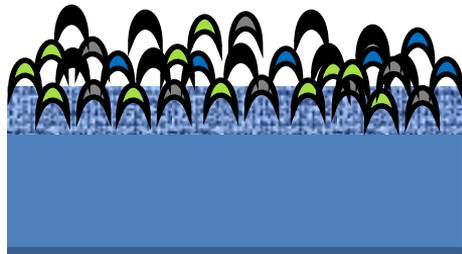
Ángulo de contacto

Mojabilidad

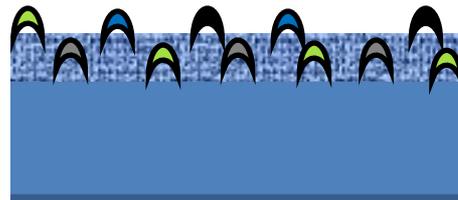
Parámetros	CoCr	PO	AN
AC (°)	<i>Aire</i> 69.9 ± 15.6	0.5 ± 0.1	28.6 ± 2.5
ES (mN/m)	<i>Saldo</i> ± 6.2	75.5 ± 0.2	68.3 ± 1.2

- Superficies más hidrofílicas, debido a:
 - Eliminación de impurezas (limpieza)
 - La incorporación de grupos funcionales polares, incrementa ES

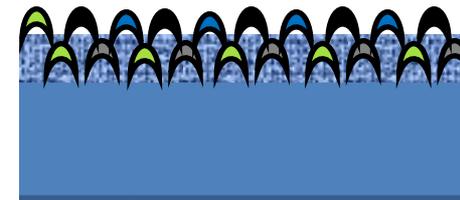
Limpieza



Control
(CoCr)



Plasma de oxígeno
(PO)

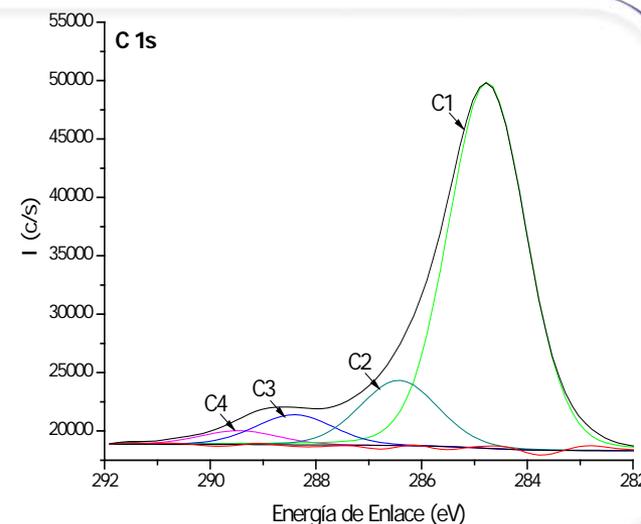


Ácido nítrico
(AN)

Caracterización Química

XPS

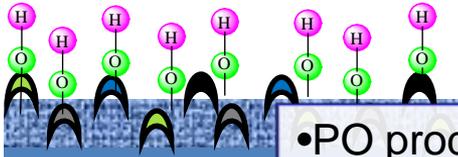
Pico	Enlace	CoCr	PO	AN
C 1s				
		48±2.2	22±0.2	36±0.4
C1	C-H, C-C	29	18	29
C2	C=O, C-OH	9	2	4
C3	C-O, N-C=O	5	0	0
C4	N-O-	5	2	3
(C2+C3+C4)/C1		0.66	0.22	0.24



Carbono

- Disminución de la contaminación de carbono
- La ratio indica que ambos son eficientes en términos de remoción de C

Activación

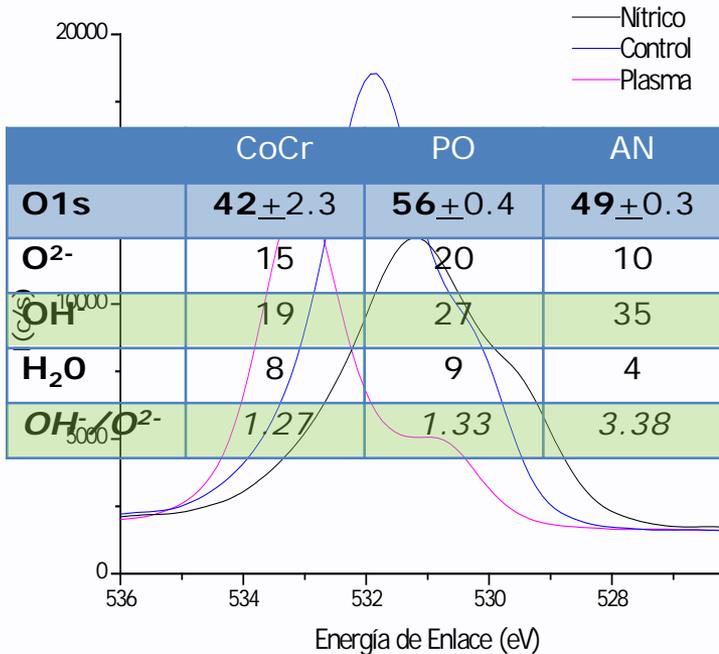


Grupos OH⁻

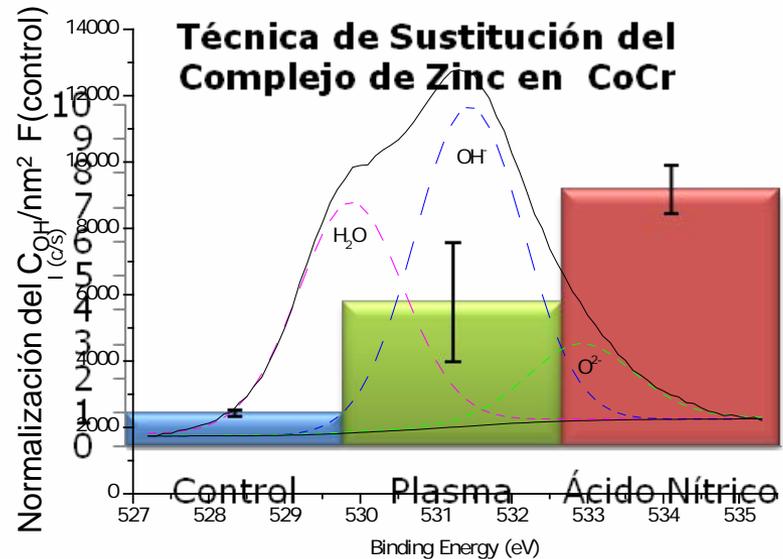
- PO produce una mayor cantidad de oxígeno
- AN introduce una mayor cantidad de grupos hidroxilos
- AN posee una mejor relación OH/O²⁻ y mayor C_{OH}/nm²

Caracterización Química

XPS



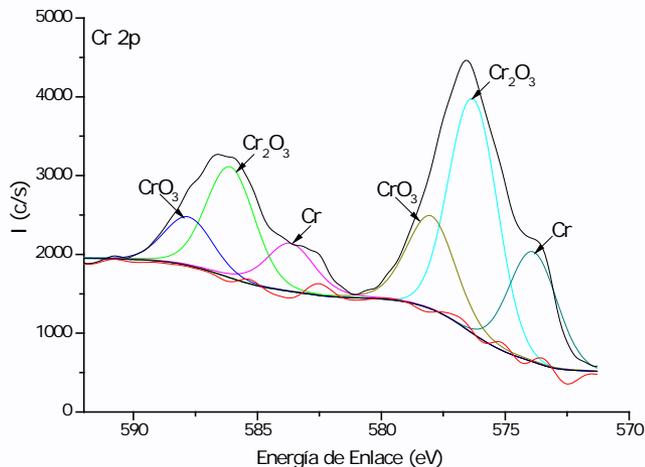
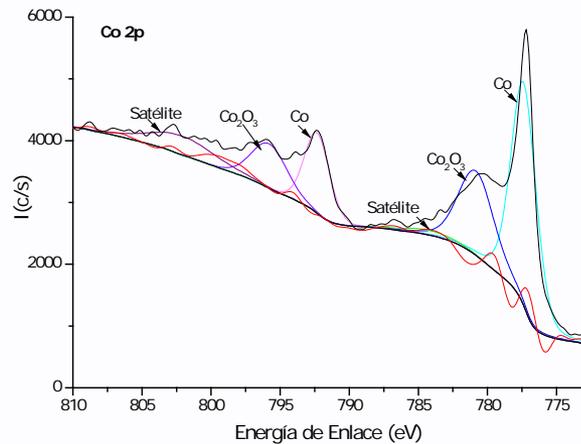
TSC Zn



- Liberación de iones
- Resistencia a la corrosión

Caracterización Química

XPS



	CoCr	PO	AN
Cr2p	4_{+0.0}	1_{+0.0}	6_{+0.2}
Cr	0.4	0.1	0.6
Cr ₂ O ₃	3.6	0.9	5.4
Co2p	3_{+0.2}	16_{+0.2}	3_{+0.0}
Co	1.7	0	1.3
Co ₂ O ₃ y Co ₃ O ₄	1.3	16	1.7
Cr _x O _y /Co _x O _y	2.77	0.06	3.17
Metal	30	0	21
Óxido	70	100	79

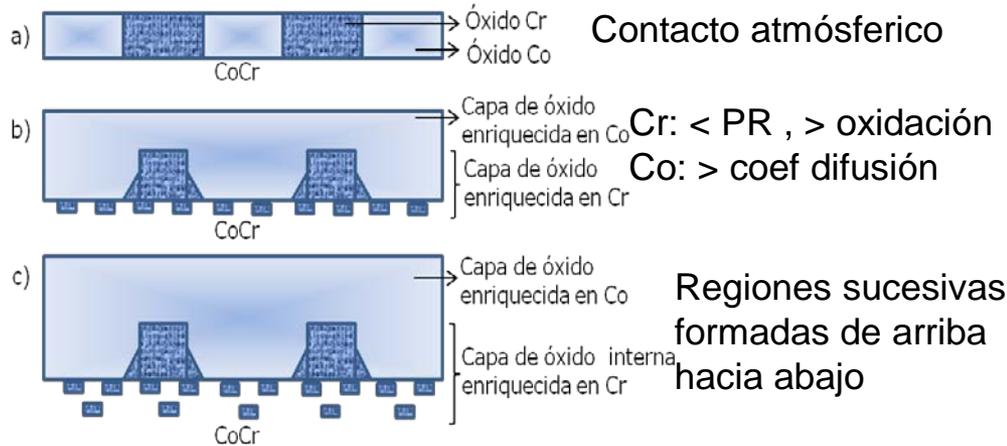
Discusión

- El espesor de la capa de óxido aumenta mayoritariamente con PO.
- El PO óxida más fácilmente el Co.
- La relación de óxido varía para el caso del PO
- Con el AN se tiene una capa rica en Cr₂O₃

Mantilnna et al (2004)

Proceso de Oxidación

Estudios anteriores



- Kitakami et al (1990): 315°C, 30 seg

- Fowler et al (1998); oxidación a 25°C disminuye el contenido de Cr al aplicar de 1200 L de O₂

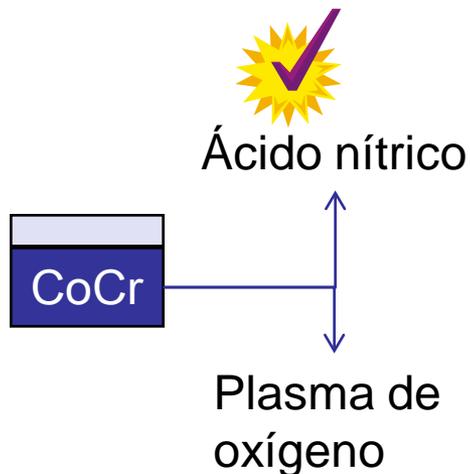
La estructura de óxido es consecuencia de la competencia entre la preferencia para Cr para oxidarse debido a su mayor potencial de oxidación y/o a la difusividad del Co.

Potenciales Redox (PR)

$O_3 + 2H^+ + 2e \rightleftharpoons H_2O + O_2$	2,07 v
$Co^{3+} + e \rightleftharpoons Co^{2+}$	1,81 v
$Co_2O_3 + 6H^+ + 2e \rightleftharpoons 2Co^{2+} + 3H_2O$	1,75 v
$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 7H_2O$	1,33 v
$O_2 + 4H^+ + 4e \rightleftharpoons 2H_2O$	1,23 v
$2NO_3^- + 10H^+ + 8e \rightleftharpoons N_2O + 5H_2O$	1,17 v
$NO_3^- + 4H^+ + 3e \rightleftharpoons NO + 2H_2O$	0,96 v
$HNO_3 + 2H^+ + 2e \rightleftharpoons HNO_2 + H_2O$	0,93 v
$HNO_2 + 7H^+ + 6e \rightleftharpoons NH_4^+ + 2H_2O$	0,86 v
$O_2 + 2H^+ + 2e \rightleftharpoons H_2O_2$	0,68 v
$Co^{2+} + 2e \rightleftharpoons Co$	-0,28 v
$Cr^{3+} + e \rightleftharpoons Cr^{2+}$	-0,41 v
$Cr^{2+} + 2e \rightleftharpoons Cr$	-0,74 v



Resumen de la Etapa de Limpieza y Activación



Limpieza

- El PO mostró mayor capacidad para la remoción del C1s.
- Ambos tratamientos son eficientes en términos de limpieza (C2+C3+C4/C1)

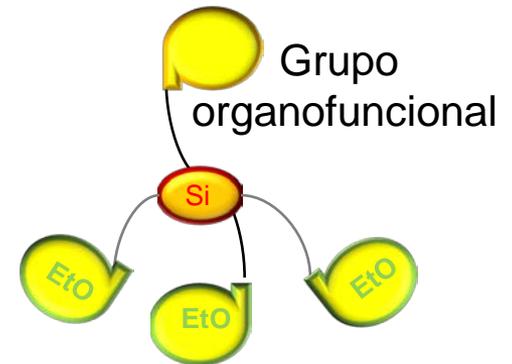
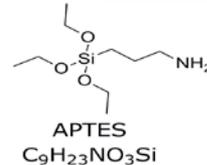
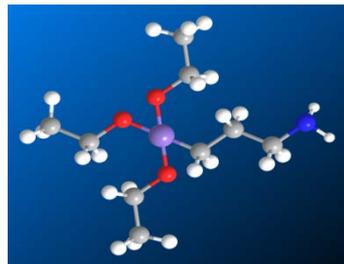
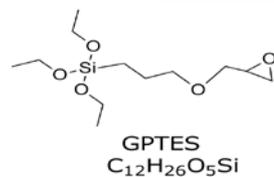
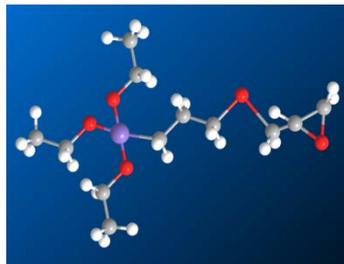
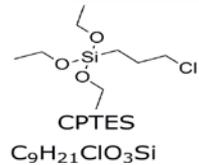
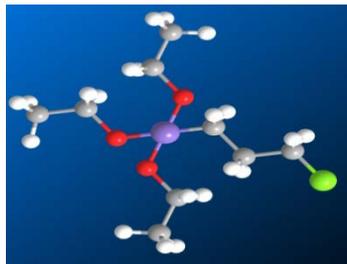
Activación

- El AN el que introduce una mayor cantidad de grupos hidroxilos en superficie, posee una mejor relación OH/O^2 y el mayor valor de $\text{C}_{\text{OH}}/\text{nm}^2$

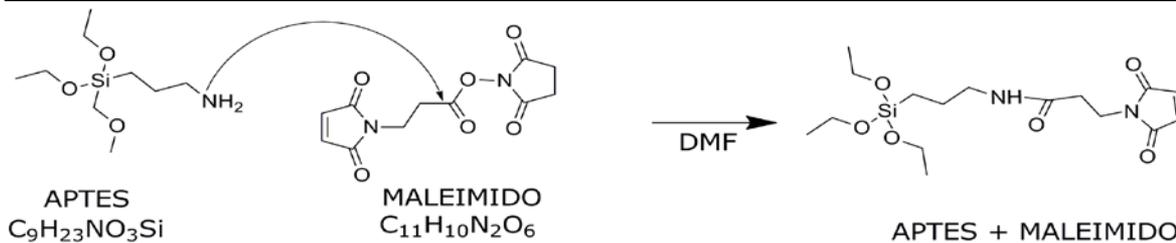
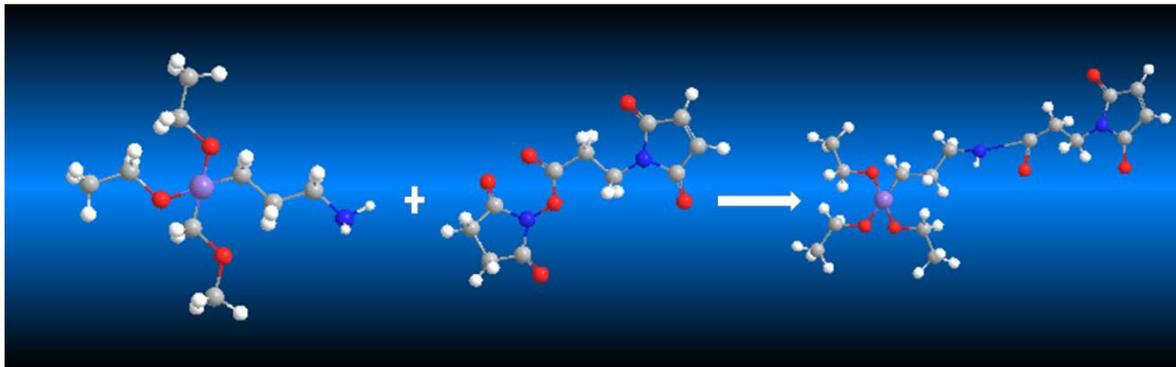
Capa de óxido

- El AN prácticamente no modifica la naturaleza de la capa de óxidos superficiales y la misma esta conformada mayoritariamente de Cr_2O_3

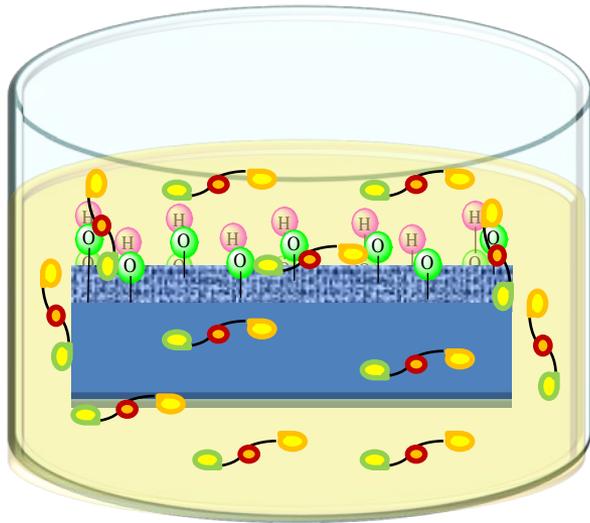
Silanización: Organosilanos



Grupo
silicofuncional
(EtO=CH₃CH₂OH)



Proceso de Silanización

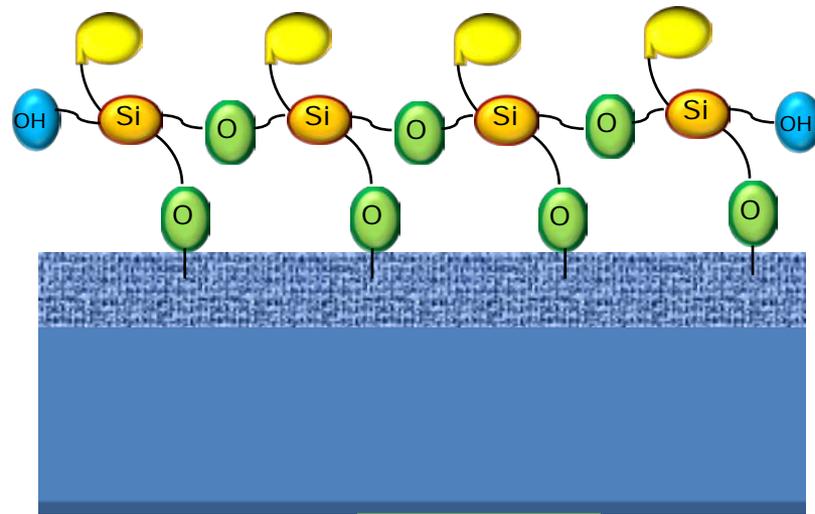


Metal-OH

base (B)

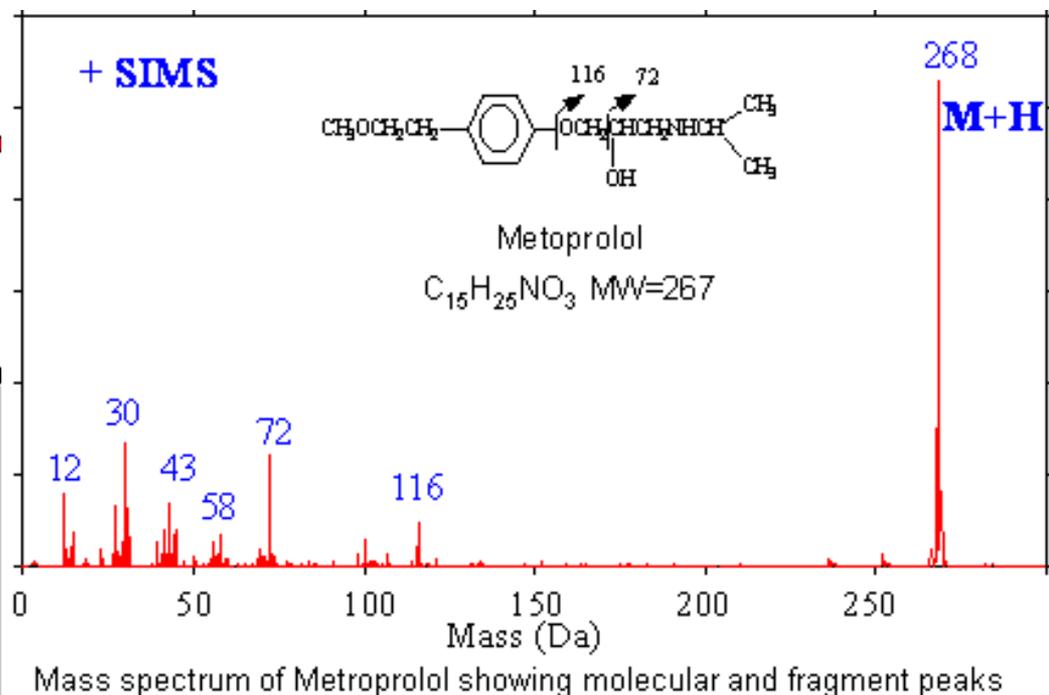
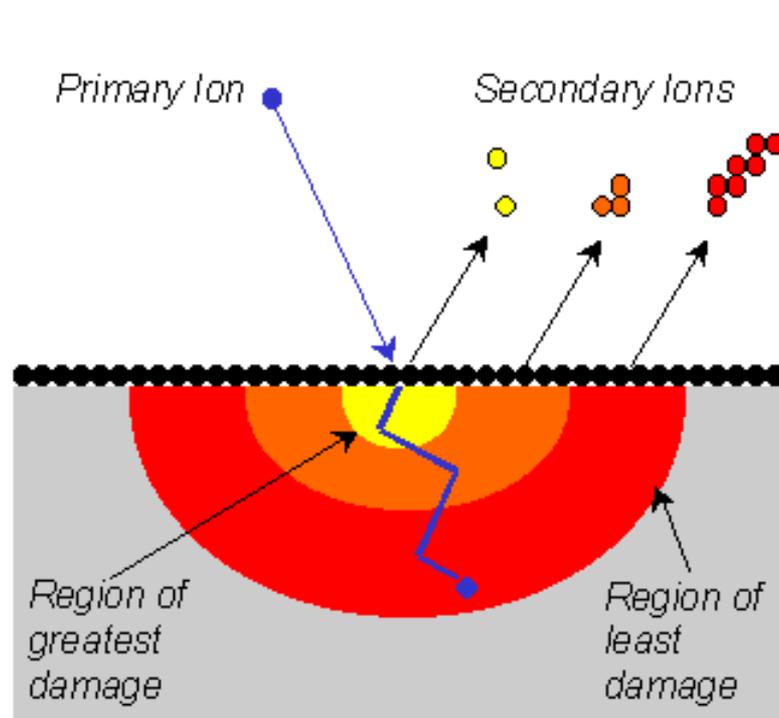
$BH^+ + Metal-O^-$

organosilano



Et + *Metal-O-Si*

ToF-SIMS – Time of Flight-Secondary Ion Mass Spectroscopy



Resultados: Silanización

Caracterización Física

ToF SIMS

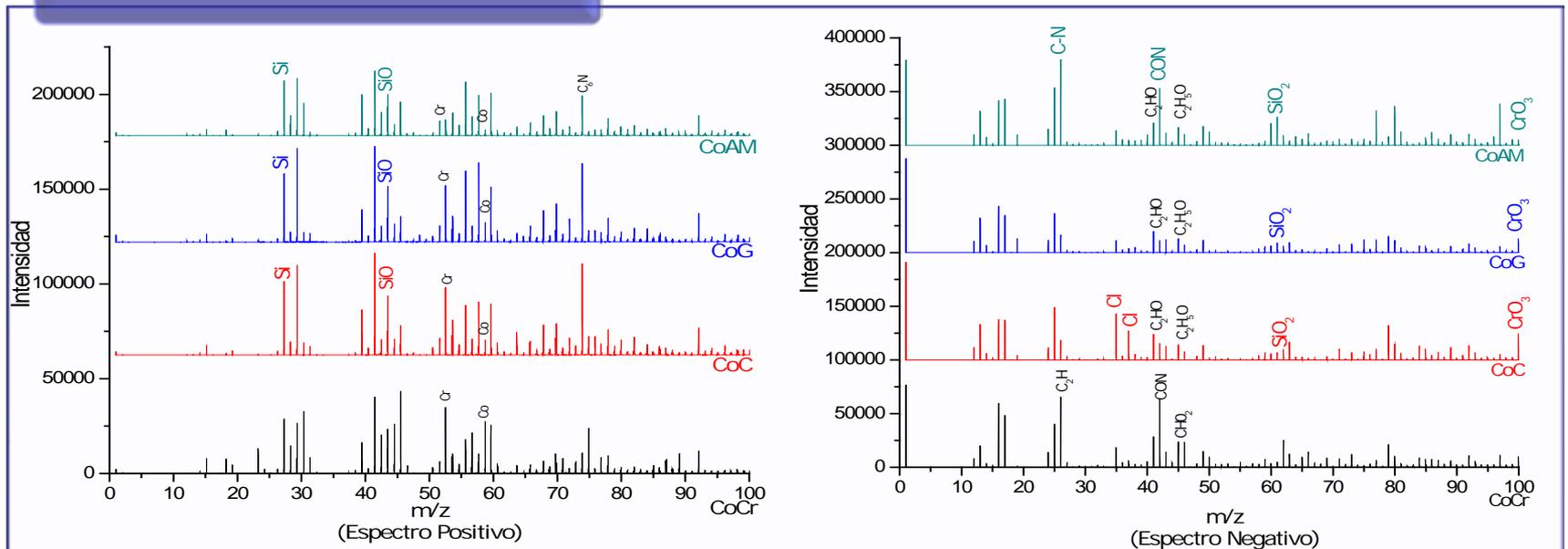
- En el espectro positivo: Si^+ y Si-O^+
- En el espectro negativo: O-Si-O^- , Cl^- , CN^- y CON^-
- **La identificación de fragmentos de organosilanos, confirma de la presencia de los mismos en la superficie.**

• El proceso de silanización originó una modificación superficial y la misma se realizó de manera homogénea sobre todas las superficies.

¿Se ha producido un enlace con la superficie?

Caracterización Química

ToF SIMS

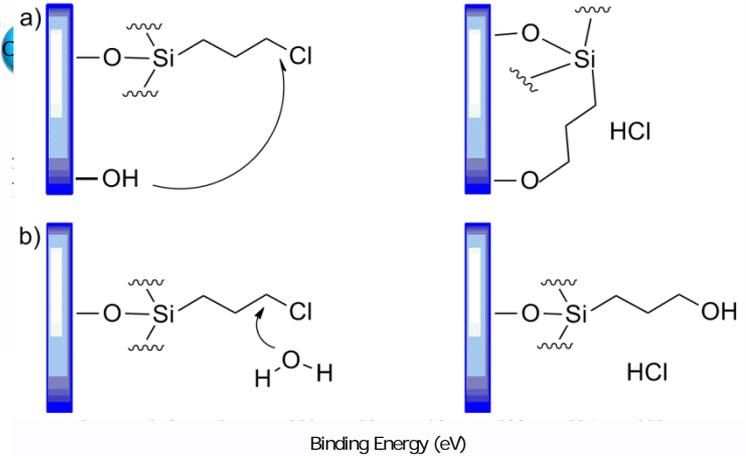


Resultados: Silanización

Caracterización Química

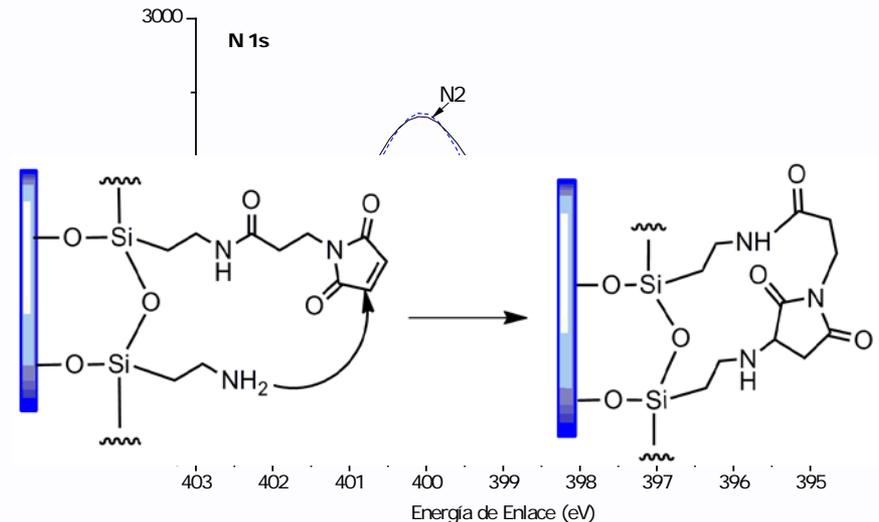
XPS

PICOS	CoCr	AN	CPTES	GPES	AP+Ma
N1s	2±0.3	4±0.3	2±0.3	2±0.2	9±0.7
CrN, -C=NH	0.6	1.2	1.4	0.9	0.0
NCO, C-N, N ₂ , N ₂ O, Imida	1.4	2.8	0.6	1.1	9.0
O1s	42±2.3	49±0.3	41±1.8	44±0.9	25±1.7
O ²⁻ , OH, Si-O-Metal	1.6	10	20	20	1
H ₂ O, -C-O, -C=O	1.9	35	15	16	7
	8	4	6	8	18



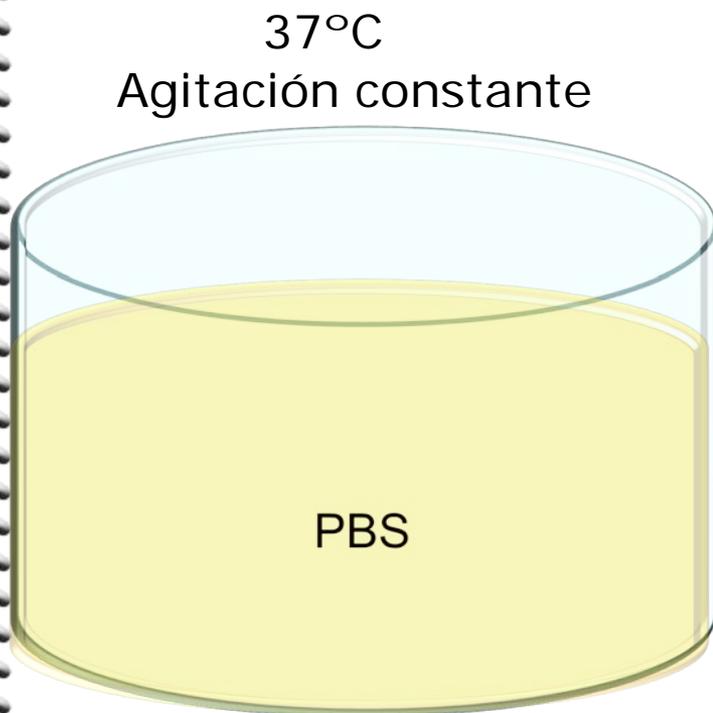
Energía de Enlace (eV)

PICOS	CoCr	AN	CPTES	GPES	AP+Ma
C1s	48±2.2	36±0.4	34±2.6	33±1.7	59±3.1
N1s	2±0.3	4±0.3	2±0.3	2±0.2	9±0.7
O1s	42±2.3	49±0.3	41±1.8	44±0.9	25±1.7
Si2s	0±0.0	0±0.0	3±0.3	2±0.1	7±0.5
Cl2p	0±0.0	0±0.0	2±0.1	0±0.0	0±0.0
Cr2p	4±0.0	6±0.2	12±0.8	14±0.6	0±0.0
Co2p	3±0.3	3±0.0	5±0.2	4±0.0	0±0.0
Mo3d	1±0.0	2±0.0	1±0.0	1±0.0	0±0.0

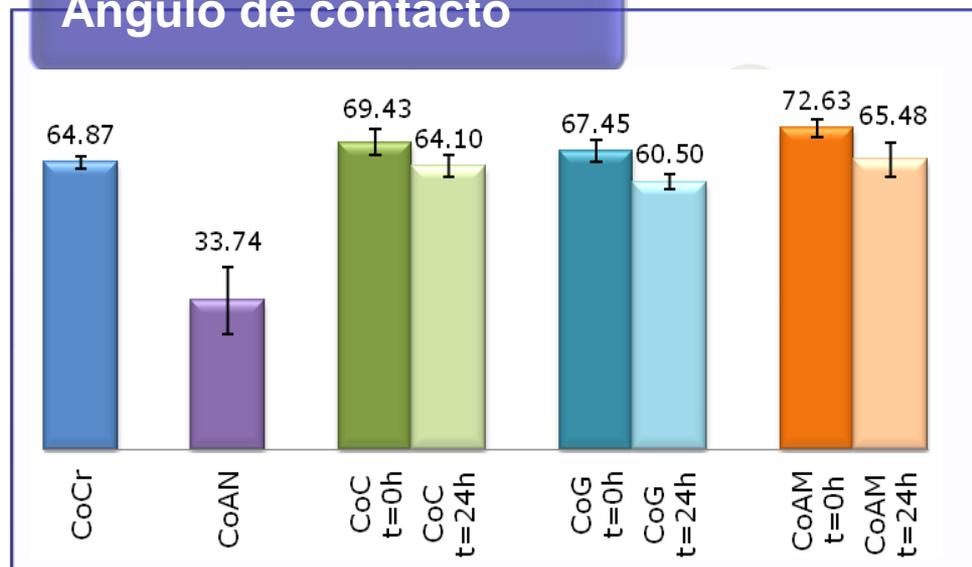


Resultados: Estabilidad Térmica, Química y Mecánica de la Silanización

Caracterización Física



Ángulo de contacto



XPS

Caracterización Química

Muestras	C1s	N1s	O1s	Si2s	Cl2p
CPTES	42 _{+3.2}	3 _{+0.4}	49 _{+3.6}	3 _{+0.4}	2 _{+0.3}
CPTES 24	48 _{+1.6}	1 _{+0.1}	48 _{+1.5}	2 _{+0.1}	1 _{+0.1}
GPTES	41 _{+3.8}	2 _{+0.3}	55 _{+4.1}	2 _{+0.3}	
GPTES 24	46 _{+1.2}	2 _{+0.1}	50 _{+2.3}	2 _{+0.1}	
APTES Ma	59 _{+3.7}	10 _{+0.6}	24 _{+1.5}	7 _{+0.5}	
APTES Ma 24	58 _{+3.1}	8 _{+0.4}	27 _{+1.4}	7 _{+0.4}	

Resumen de la Etapa de Silanización

Caracterización Física

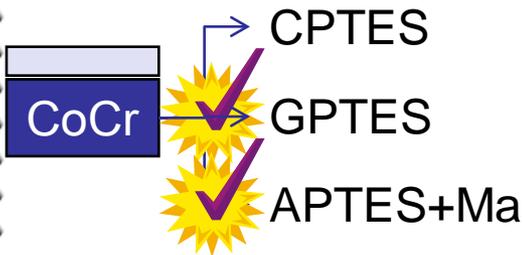
- La silanización origina una modificación en la mojabilidad superficial de manera homogénea sobre todas las superficies.

Caracterización Química

- Para la ratio **O2/Si**, el **APTES+Ma** arrojó los mejores resultados.
- La ratio **N2/Si** fue <2 , a causa de un proceso de polimerización.
- La efectividad de la silanización se ve afectada por la concentración de silano y al trabajar en un ambiente 100% anhídrido .

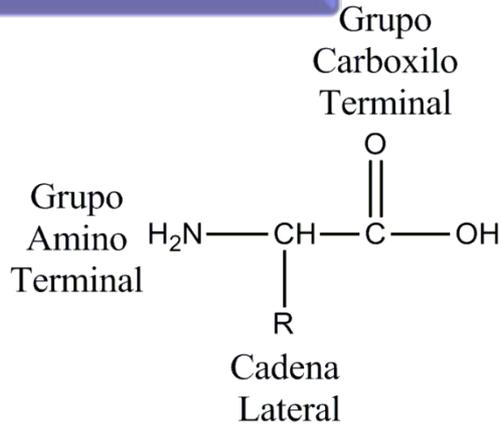
Estabilidad de los Silanos

- La modificación de la mojabilidad superficial efectuada por la silanización, se mantiene.
- Los tres silanos se han enlazado en las superficie, en función de la estabilidad de los enlaces de O-Si-O, Si-O-metal. No obstante el menos estable fue CPTES

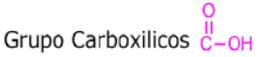
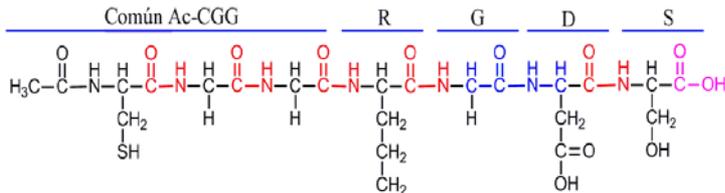


Inmovilización de Biomoléculas: Péptidos

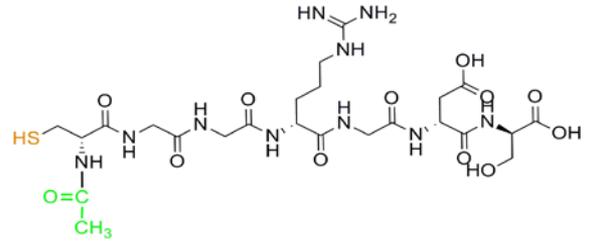
Aminoácidos



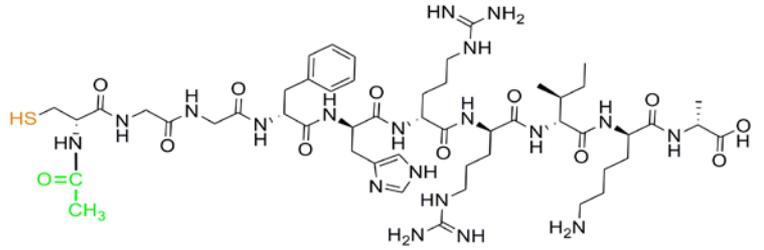
Enlaces



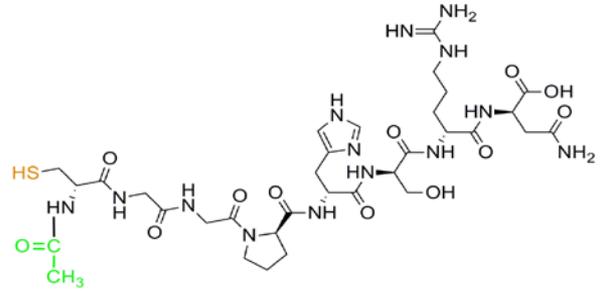
Secuencias Peptídicas



Ac-CGGRGDS
Fórmula Química $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{N}_{10}\text{O}_{12}\text{S}$

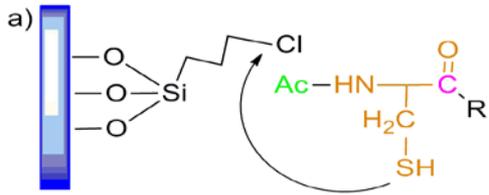
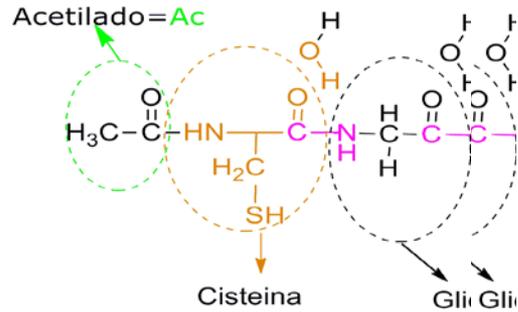


Ac-CGGFHRRIKA
Fórmula Química $\text{C}_{51}\text{H}_{83}\text{N}_{19}\text{O}_{12}\text{S}$



Ac-CGGPHSRN
Fórmula Química $\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{N}_{14}\text{O}_{12}\text{S}$

Enlace péptido-silano



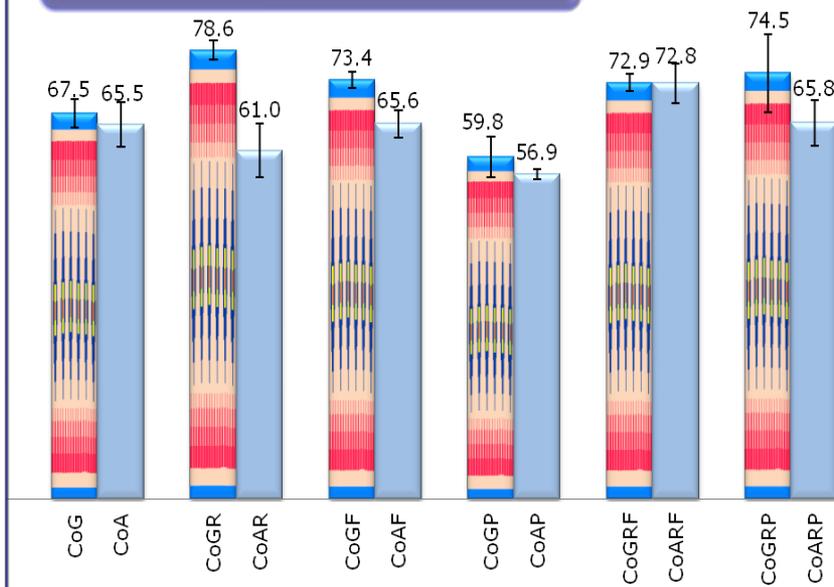
Resultados: Inmovilización de Biomoléculas

Condiciones de ensayo

Muestra	pH	Tiempo	
APTES+Ma	7	2h	→ PBS
GPTES	11	2h	→ Na ₂ CO ₃

Caracterización Física

Mojabilidad



- Se observa la modificación en la mojabilidad de las superficies con biomoléculas.

¿Se ha producido un enlace con la superficie?

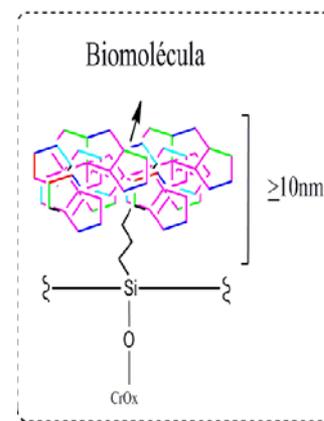
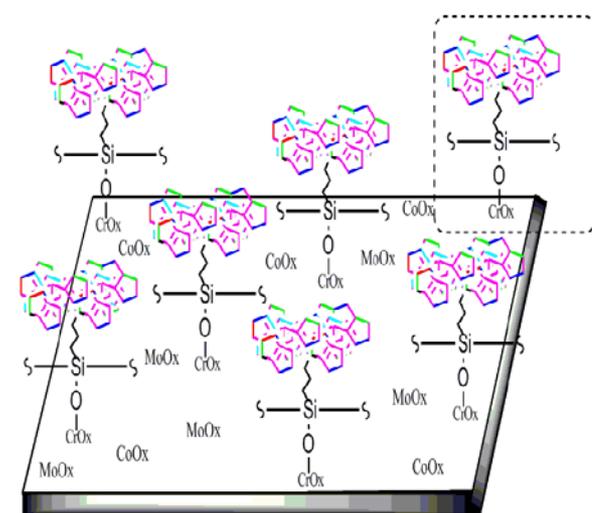
Resultados: Inmovilización de Biomoléculas

Caracterización Química

Picos	GPTES	G+R	G+F	G+P	G+RF	G+RP
C1s	33±1.7	38±1.1	42±2.7	33±1.0	39±1.9	47±3.1
N1s	2±0.2	3±0.4	8±0.7	3±0.1	7±0.6	5±0.3
O1s	44±0.9	43±1.8	37±1.4	46±2.7	39±1.5	37±2.1
Si2s	2±0.1	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0
S2p	0±0.0	1±0.1	1±0.1	1±0.3	1±0.2	3±0.4
Cr2p	14±0.6	0±0.0	1±0.1	0±0.0	1±0.0	0±0.0
Co2p	4±0.0	11±0.2	8±0.7	13±0.7	10±0.9	6±0.4
Mo3d	1±0.0	4±0.2	3±0.1	4±0.3	3±0.1	2±0.1

Picos	AP+Ma	AM+R	AM+F	AM+P	AM+RF	AM+RP
C1s	59±3.1	50±2.3	48±1.7	46±2.1	47±3.6	45±1.9
N1s	9±0.7	6±0.4	6±0.2	6±0.5	6±0.4	6±0.4
O1s	25±1.7	32±2.1	35±1.3	36±2.3	37±2.7	37±2.2
Si2s	7±0.5	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0
S2p	0±0.0	5±0.2	5±0.3	5±0.5	4±0.3	5±0.4
Cr2p	0±0.0	1±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0
Co2p	0±0.0	4±0.2	4±0.1	5±0.3	5±0.3	5±0.4
Mo3d	0±0.0	2±0.1	2±0.2	2±0.1	1±0.2	2±0.2

Óxido de Cr



Matinlinna et al (2004); el Cr_2O_3 es el principal responsable del enlace Cr-O-Si

Resultados: Inmovilización de Biomoléculas con GPTES

Caracterización Química

Picos			GPTES	G+R	G+F	G+P	G+RF	G+RP
C1s			33±1.7	38±1.1	42±2.7	33±1.0	39±1.9	47±3.1
	C1	C=C, C-H	20.3	25.5	22.7	20.1	21.4	27.7
	C2	C=O, C-OH,	7.0	7.2	10.5	6,9	9.0	10.3
	C3	CH ₂ O, C-S	2.4	2.3	3.8	2.0	3.5	3.4
	C4	Dipéptido	3.3	3.0	5.0	4.0	5.1	5.6
		COOH, C-N, C=O						
		Guanidina						
N1s			2±0.2	3±0.4	8±0.7	3±0.1	7±0.6	5±0.3
	N1	C=NH, C-N	0.9	0.8	0.5	1.0	0.6	1.5
	N2	Guanidina Amida	1.1	2.2	7.5	2.0	6.4	3.5
O1s			44±0.9	43±1.8	37±1.4	46±2.7	39±1.5	37±2.1
	O1	O ²⁻ , CoO, MoO ₃ ,	20.0	16.3	14.4	20.2	15.4	14.0
		CrO ₃ , Cr ₂ O ₃						
	O2	OH, COOH	15.9	17.6	16.8	18.4	16.8	15.2
		Dipéptido						
	O3	C=O, -C-O	8.1	9.1	5.8	7.4	6.8	7.8
		SO ₄						

C4 y O2 Enlace Péptidico 

C4 y N2 Grupo Guanidina 

C4 y O2 Grupo Carboxílicos 

N2 Grupo Amida 

Resultados: Inmovilización de Biomoléculas con APTES+Ma

Picos			AP+Ma	AM+R	AM+F	AM+P	AM+RF	AM+RP
C1s			59±3.1	50±2.3	48±1.7	46±2.1	47±3.6	45±1.9
	C1	C=C, C-H	30.4	31.0	28.8	25.8	27.3	25.2
	C2	C=O, C-OH,	19.5	13.0	13.0	13.8	14.1	14.4
	C3	CH ₂ O, C-S	4.9	4.0	4.3	4.1	3.8	3.6
		Grupo Imida						
	C4	Dipéptido	4.2	2.0	1.9	2.3	1.8	1.8
		COOH, C-N, C=O						
		Guanidina						
N1s			9±0.7	6±0.4	6±0.2	6±0.5	6±0.4	6±0.4
	N1	C=NH, C-N	0.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	N2	N-H	9.0	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
		Guanidina Amida						
O1s			25±1.7	32±2.1	35±1.3	36±2.3	37±2.7	37±2.2
	O1	O ²⁻ , CoO, MoO ₃ ,	1.5	7.7	6.5	9.0	10.0	10.0
		CrO ₃ , Cr ₂ O ₃						
	O2	OH, COOH	7.0	9.6	10.9	10.0	11.8	10.0
		Grupo Imida						
		Dipéptido						
	O3	C=O, -C-O	16.5	13.7	18.6	16.0	15.2	17.0
		SO ₄						

C4 y O2 Enlace Péptidico $\text{C}^{\text{O}}-\text{NH}$

C4 y N2 Grupo Guanidina $\text{HN}-\text{C}^{\text{NH}}-\text{NH}_2$

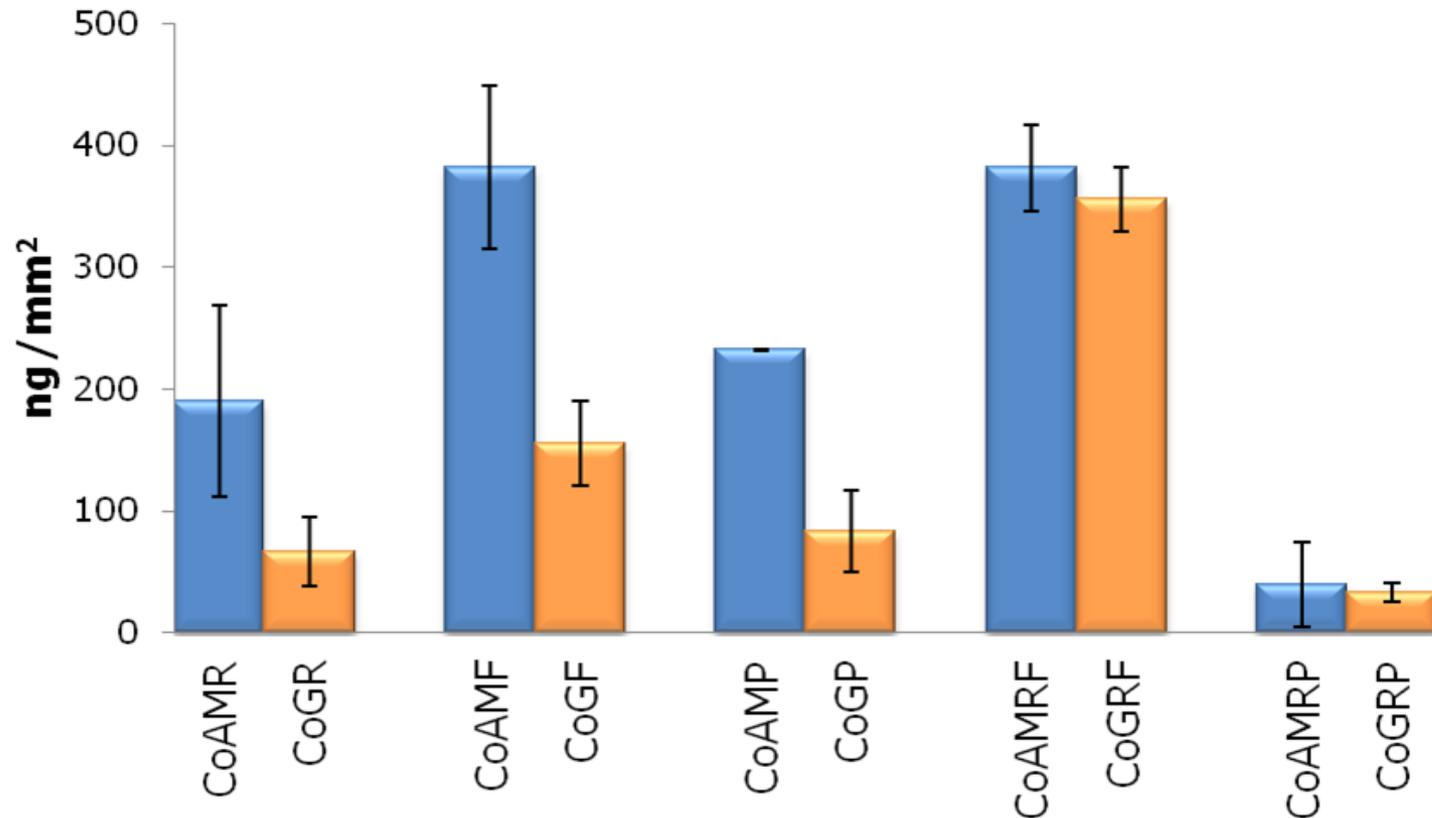
C4 y O2 Grupo Carboxílicos $\text{C}^{\text{O}}-\text{OH}$

N2 Grupo Amida $\text{R}_2-\text{C}^{\text{O}}-\text{N}-\text{R}_1$

Resultados: Concentración de Péptido Adherido

Espectrofotometría UV-Visible

Adhesión de Péptido sobre CoCr



A mayor concentración de silano, mayor adhesión de biomoléculas

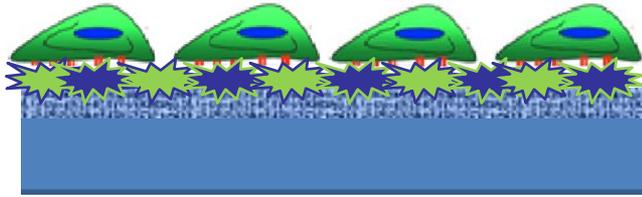
Resumen de la Inmovilización de Biomoléculas

Secuencias Peptídicas

- Fue adecuada la selección de la Cys , para la identificación de las secuencias peptídicas.
 - Las secuencias peptídicas se encuentran sobre las superficies de CoAM y de CoG.
 - En términos de densidad de péptido los mejores resultados se obtuvieron con APTES+Ma.
-

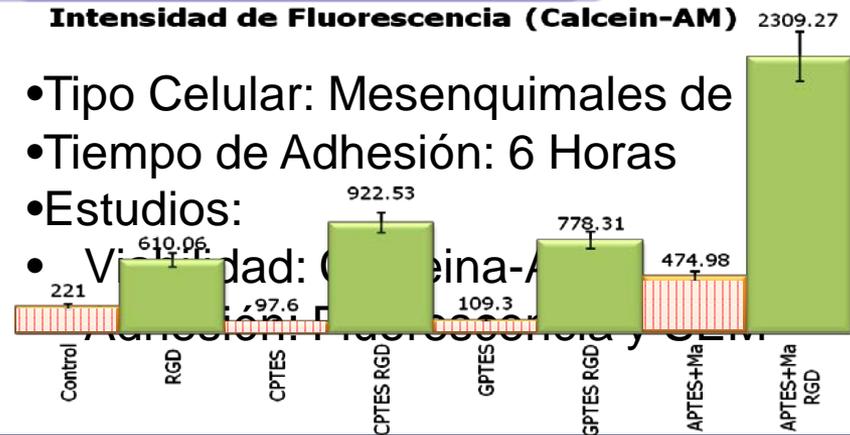
Respuesta Celular In Vitro

Viabilidad de Ensayo

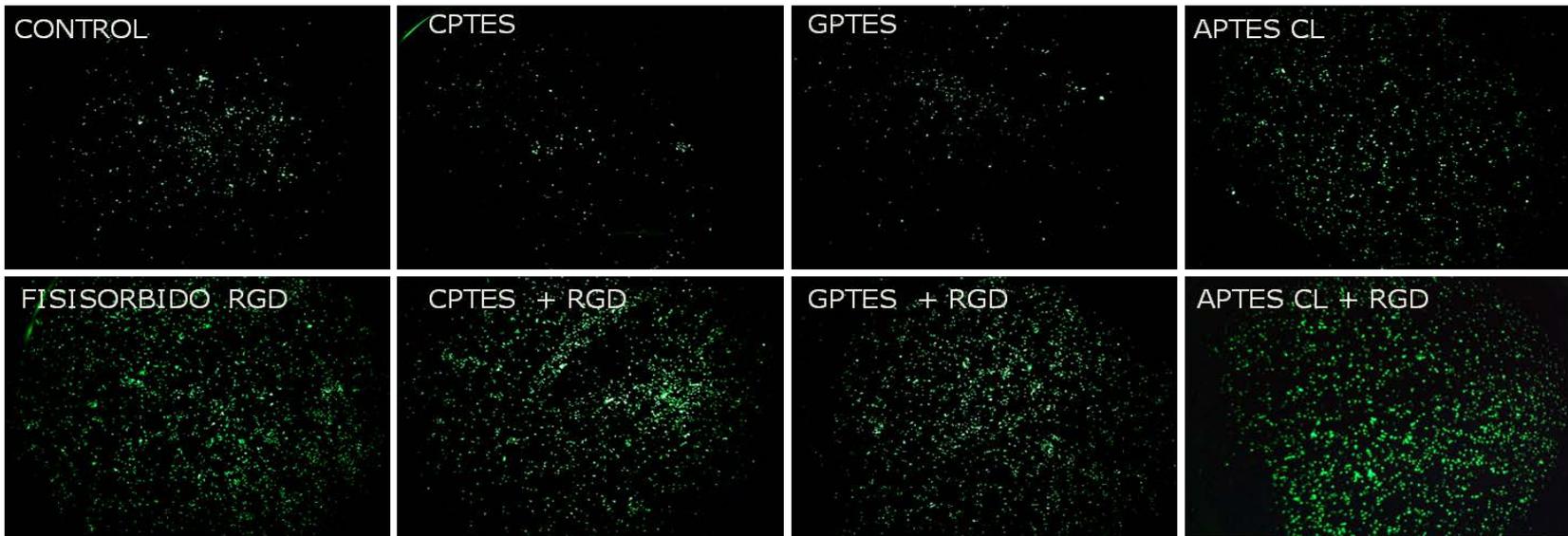


Intensidad de Fluorescencia (Calcein-AM)

- Tipo Celular: Mesenquimales de
- Tiempo de Adhesión: 6 Horas
- Estudios:
- Viabilidad: Calceina-AM



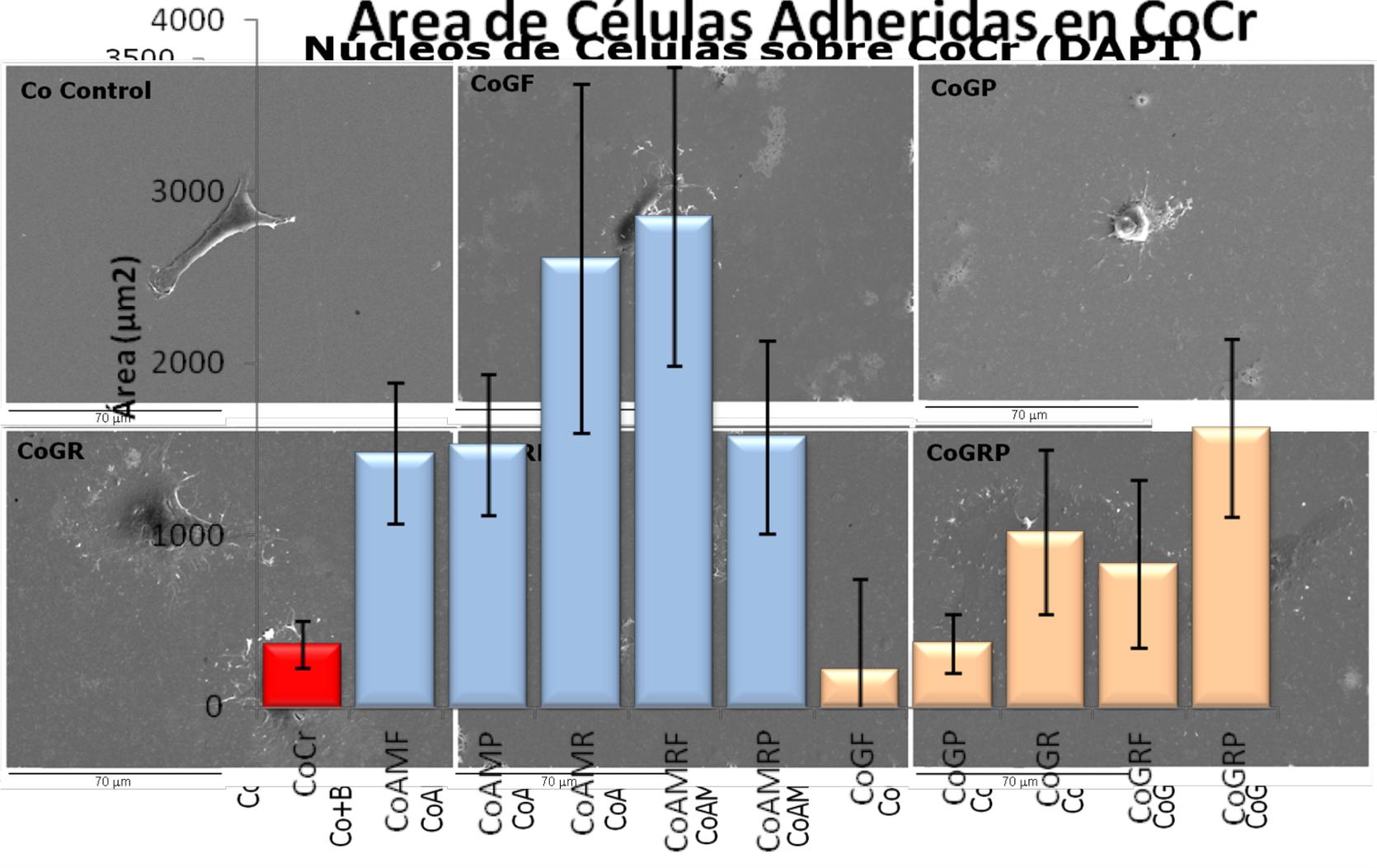
Viabilidad



Respuesta Celular In Vitro

Adhesión Celular

Área de Células Adheridas en CoCr Núcleos de Células sobre CoCr (DAPI)



Resumen de la Respuesta Celular In Vitro

Viabilidad y Adhesión

- Las superficies biofuncionalizadas pueden ser consideradas no citotóxicas o biocompatibles.
 - Las muestras que contienen RGD, solo o en mezclas, son las que presentan mejores resultados (densidad de células, morfología y área).
 - La concentración de biomolécula adsorbida sobre la superficie es una variable dependiente del proceso de adhesión celular; a mayor cantidad de péptido, mejor respuesta celular.
 - Se proponen como trabajos futuros, estudios de proliferación y diferenciación celular.
-

Conclusiones Generales: Aleación de CoCr

Limpieza y Activación

- El tratamiento con ácido nítrico ha resultado ser más eficiente que el PO en términos de cantidad de grupos OH^- y de la ratio $\text{OH}^-/\text{O}^{2-}$

Silanización

- Los silanos se enlazaron mayoritariamente al Cr_2O_3 .
- El APTES+Ma, presentó los mejores resultados en términos de la estabilidad química, térmica y mecánica.

Inmovilización de Biomoléculas

- El APTES+Ma como posee mayor densidad de silano, consigue una mayor adhesión de secuencias peptídicas.

Respuesta Celular

- Las muestras de APTES+Ma que contienen RGD, solo o en mezclas, son las que presentan mejores resultados, deduciendo que a mayor cantidad de péptido, mejor respuesta celular.
-

Conclusiones Generales: Aleación de TiHfNb

Limpieza y Activación

- El tratamiento con PO ha resultado ser mas eficiente que el PI en términos de cantidad de grupos OH⁻ y de la ratio OH⁻/O²⁻.

Silanización

- El APTES+Ma, presentó los mejores resultados en términos de la estabilidad química, térmica y mecánica.

Inmovilización de Biomoléculas

- El APTES+Ma al contener mayor densidad de silano, consigue una mayor adhesión de secuencias peptídicas.

Respuesta Celular

- Las muestras con APTES+Ma que contienen RGD, solo o en mezclas, son las que presentan mejores resultados, corroborando que a mayor cantidad de péptido, mejor respuesta celular
-

Conclusiones Generales

Limpieza y Activación

- La selección del mejor tratamiento ha de hacerse en términos de cantidad de grupos OH^- y de la ratio $\text{OH}^-/\text{O}^{2-}$ y dependerá de la composición química de la superficie.

Silanización

- La detección del Si, y el estudio de la estabilidad química, térmica y mecánica, son parámetros óptimos para la selección del mejor organosilano.

Inmovilización de Biomoléculas

- A mayor densidad de silano enlazado se consigue una mayor adhesión de secuencias peptídicas.

Respuesta Celular

- A mayor cantidad de péptido, mejor respuesta de adhesión celular
-

Málaga

CIUDAD







*Departamento de Química Inorgánica
Facultad de Ciencias
Universidad de Málaga
castellon@uma.es*

Muchas gracias