

Interacciones de metales y medios con actividad biológica. Impacto sobre células y bacterias



Dra. Mónica Fernández Lorenzo

Grupo IMBioMat (Interacciones de Medios Biológicos y materiales)

Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (**INIFTA**).

Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

mmele@inifta.unlp.edu.ar

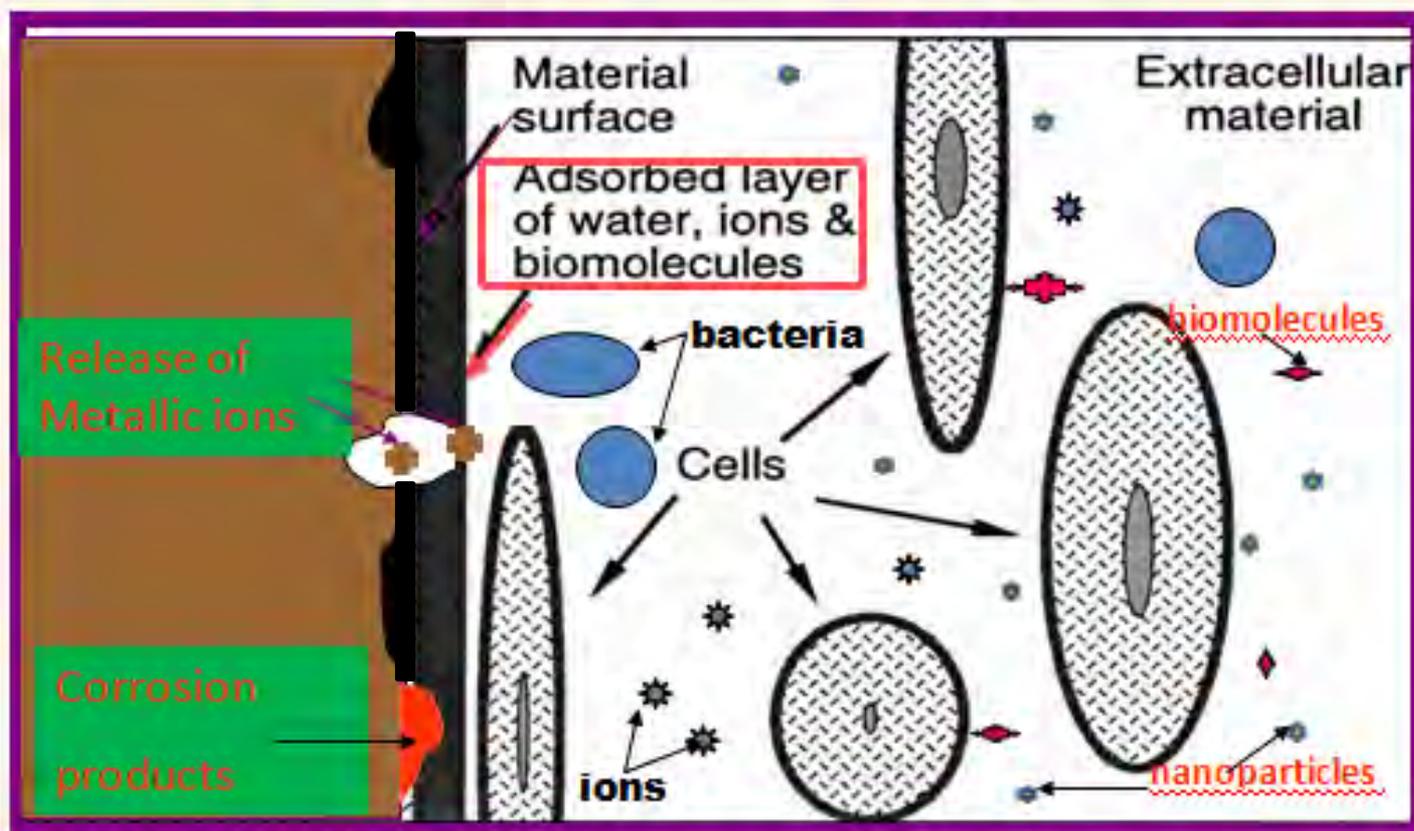
Nuevas tecnologías y riesgos emergentes

Las nuevas tecnologías, han logrado un avance sin precedentes en el desarrollo y aplicación de materiales para la resolución de cuestiones de distinto tipo.

Sin embargo, los problemas relacionados con la toxicidad de los materiales y los riesgos emergentes para la salud humana y ambiental han recibido menor atención.

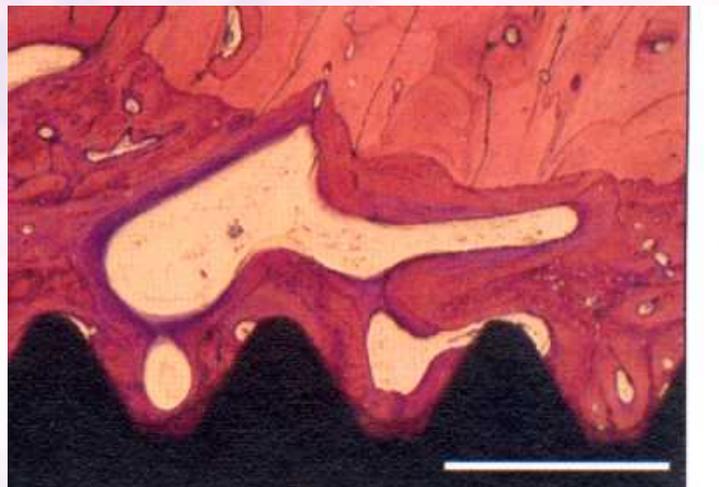
INTERFASE METAL/FLUIDO CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Los materiales y sus productos de degradación impactan sobre el medio biológico: riesgos emergentes



Ecocompatible: Se refiere a los materiales que producen un impacto negativo mínimo o nulo en el ecosistema o en el ambiente.

Biocompatible: Se aplica cuando los materiales o sus productos de degradación no desencadenan reacciones nocivas para el mismo material y para el organismo huésped.



CITOTOXICIDAD

- Un material se considera como **citotóxico** cuando su exposición genera alteraciones **morfológicas, de crecimiento o diferenciación celular**.
- **Estrés oxidativo**: es causado por un desbalance intracelular debido a la excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y/o por deficiencia en los mecanismos antioxidantes. El mismo puede conducir al daño celular.

GENOTOXICIDAD

- La **genotoxicidad**, es la capacidad para causar daño al **material genético** (cromosomas, ADN, etc) por agentes físicos, químicos o biológicos.

Interacciones Metal/medio biológico

El nivel de **citotoxicidad y genotoxicidad** producido por la exposición del medio biológico a un material depende de:

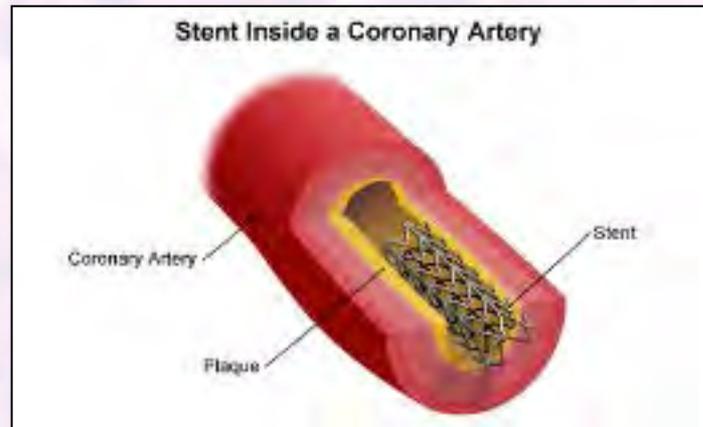
- la **concentración** de las sustancias liberadas por el proceso de degradación,
- de sus **características químicas , fisicoquímicas y superficiales,**
- del **período de exposición**
- de la **sensibilidad** de las células específicas o tejidos a dicha sustancia.

Metales degradables estudiados: Fe, Mg, Cu

- Efecto de los iones liberados
- Efecto de los productos insolubles
- Efecto de la composición del medio
- Efecto de la distancia desde la fuente liberadora.
- Influencia de los aleantes
- Efecto del material particulado

Biomateriales metálicos degradables: Fe

(evitar la restenosis producida por los stents permanentes)



Compleja interfaz del hierro y sus productos de degradación: Importancia de las proteínas del medio y formación de productos insolubles.

Las proteínas precipitan y arrastran los iones producidos por la corrosión

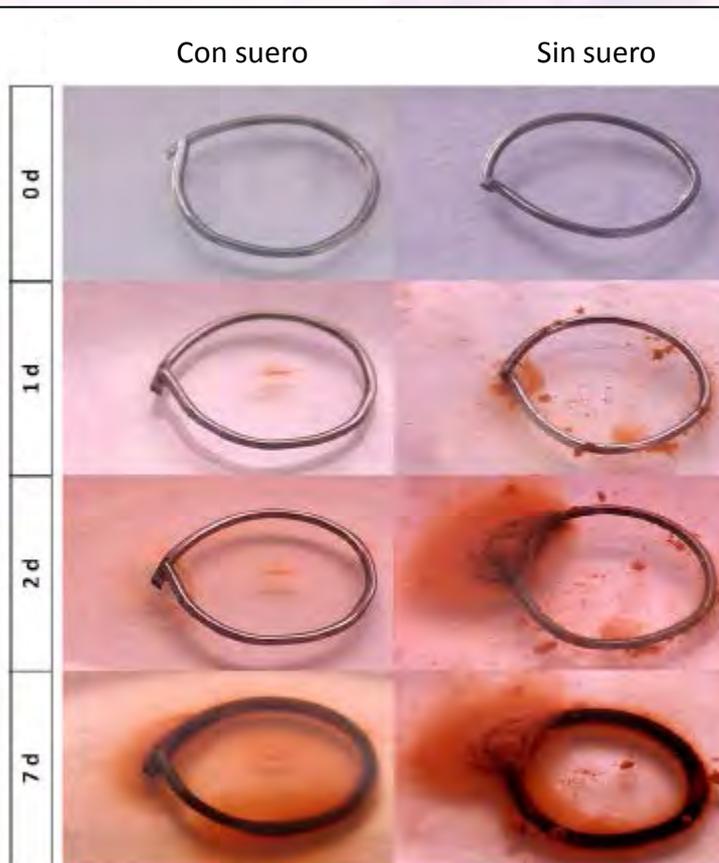


Fig. 3. Corrosion of Fe (99.99% pure) in CM with and without FCS. (For interpretation of the references to color in the text citation of this figure, the reader is referred to the web version of this article.)

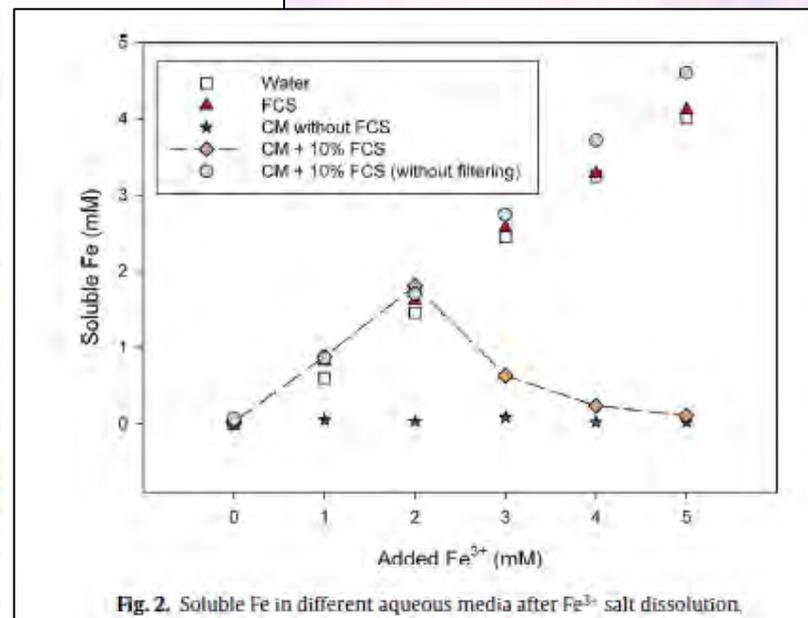
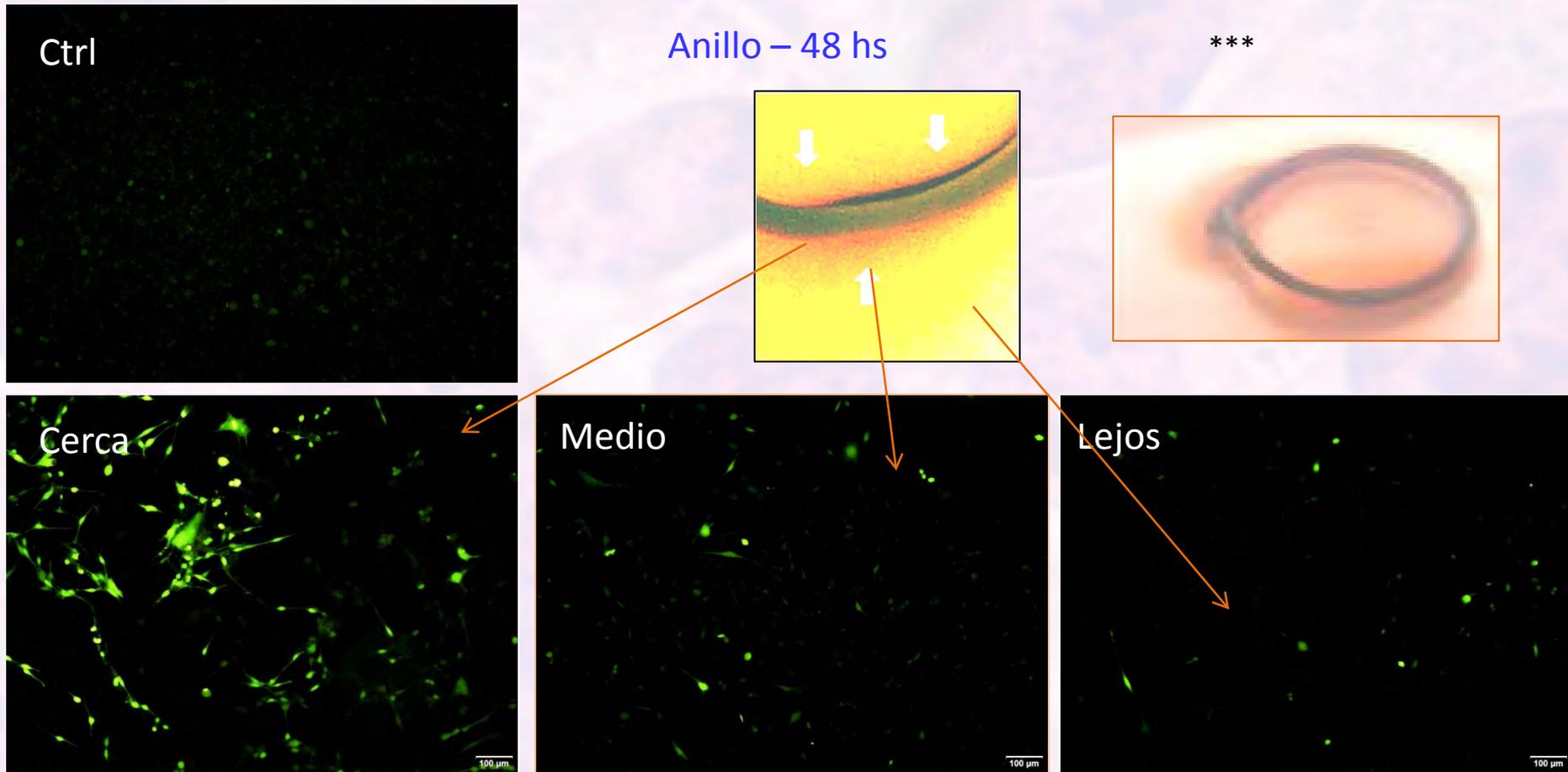


Fig. 2. Soluble Fe in different aqueous media after Fe³⁺ salt dissolution.

Efecto de la distancia desde la fuente sobre el estrés oxidativo

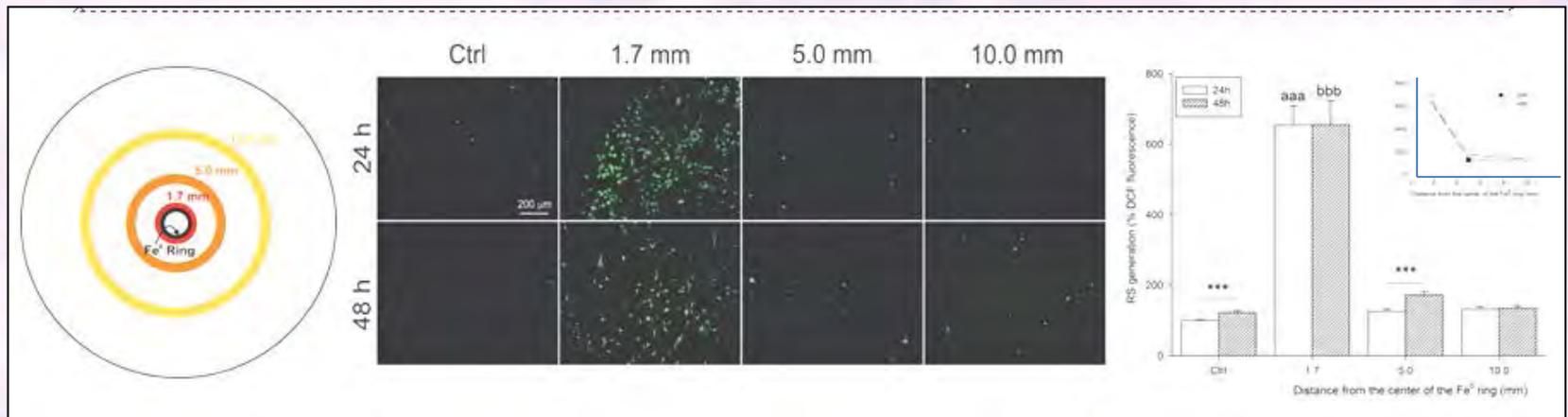


Detección de especies reactivas en cultivos de fibroblastos 3T3 Balbc cells

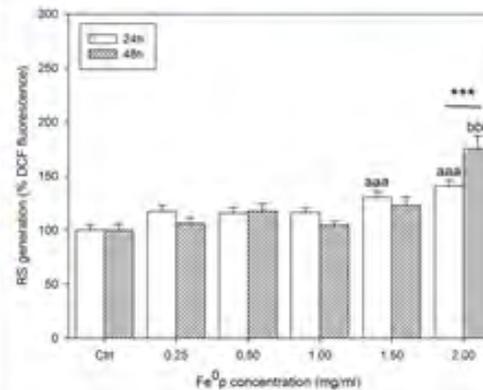
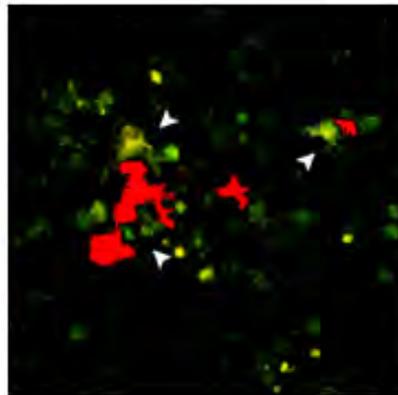
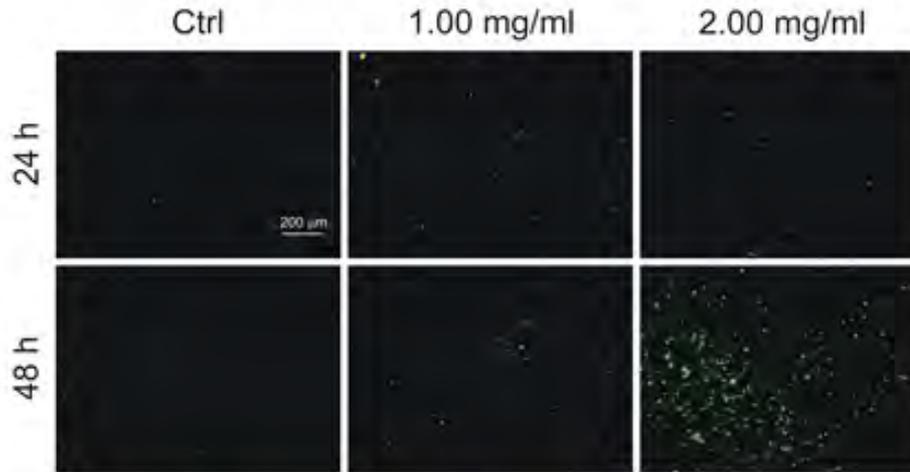
Diacetato de diclorofluoresceína DCFH2-DA 0,5 µM

DCFH-DA is a nonpolar dye, converted into the polar derivative DCFH by cellular esterases that are nonfluorescent but switched to highly fluorescent DCF when oxidized by intracellular ROS and other peroxides.

Detección de especies reactivas asociadas a estrés oxidativo: Gradientes de concentración



Efecto del material particulado sobre el estrés oxidativo



A) Epifluorescence images of fibroblast cells loaded with DCFH₂-DA after treatments with 1.00 and 2.00 mg/ml Fe⁰p. The pictures were taken with an objective of 10X. B) Detail of fibroblast cells incubated with 2.00 mg/ml for 48h. White arrowheads point out the highly fluorescent cells close to Fe⁰p (highlighted in red) C) RS generation expressed as % of DCF fluorescence of fibroblast cells exposed to the 0.25-2.00 mg/ml Fe⁰p concentrations range, referred to Ctrl_{24h}. Three independent experiments were done and fifteen pictures were taken in each experiment.

Efecto del material insoluble: presencia en el interior celular

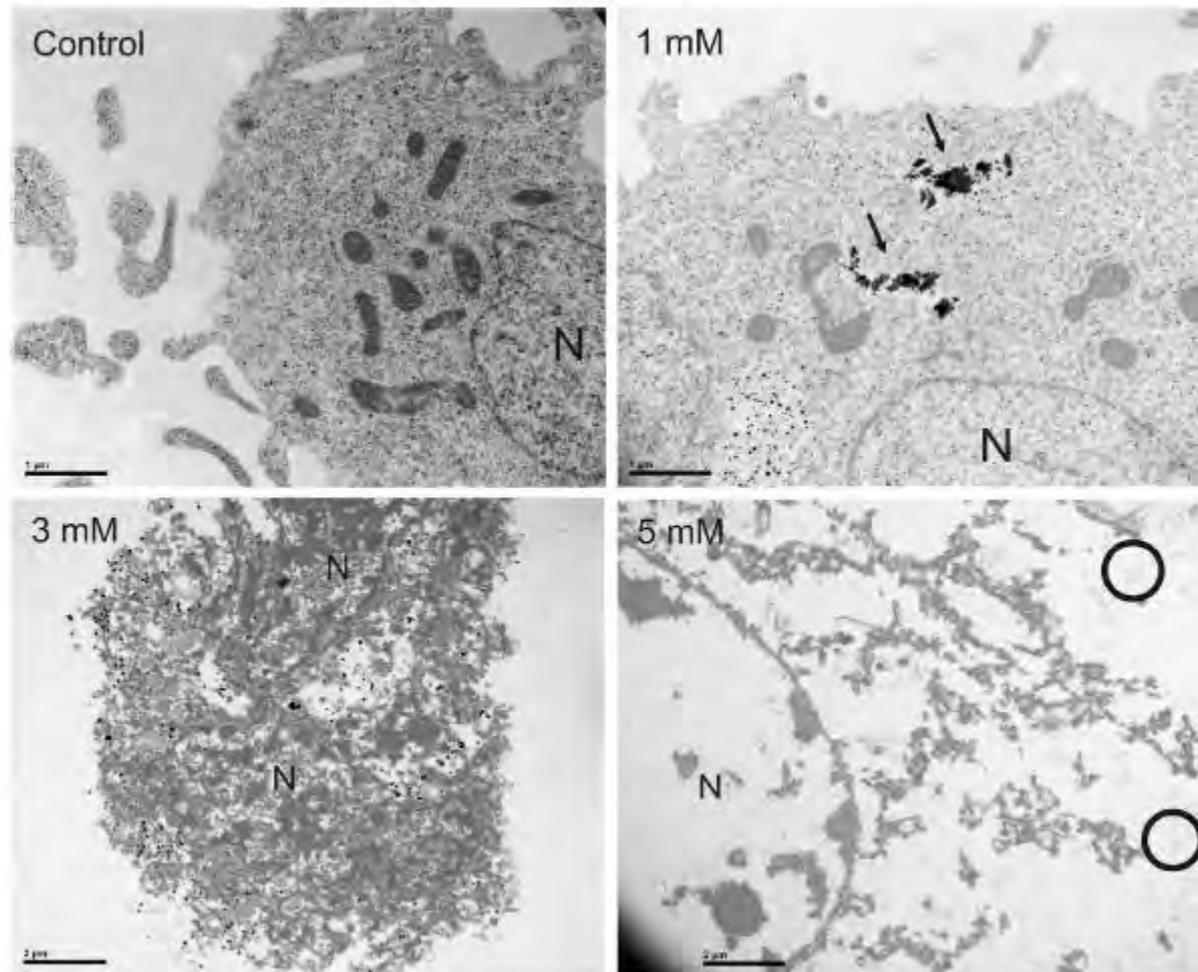
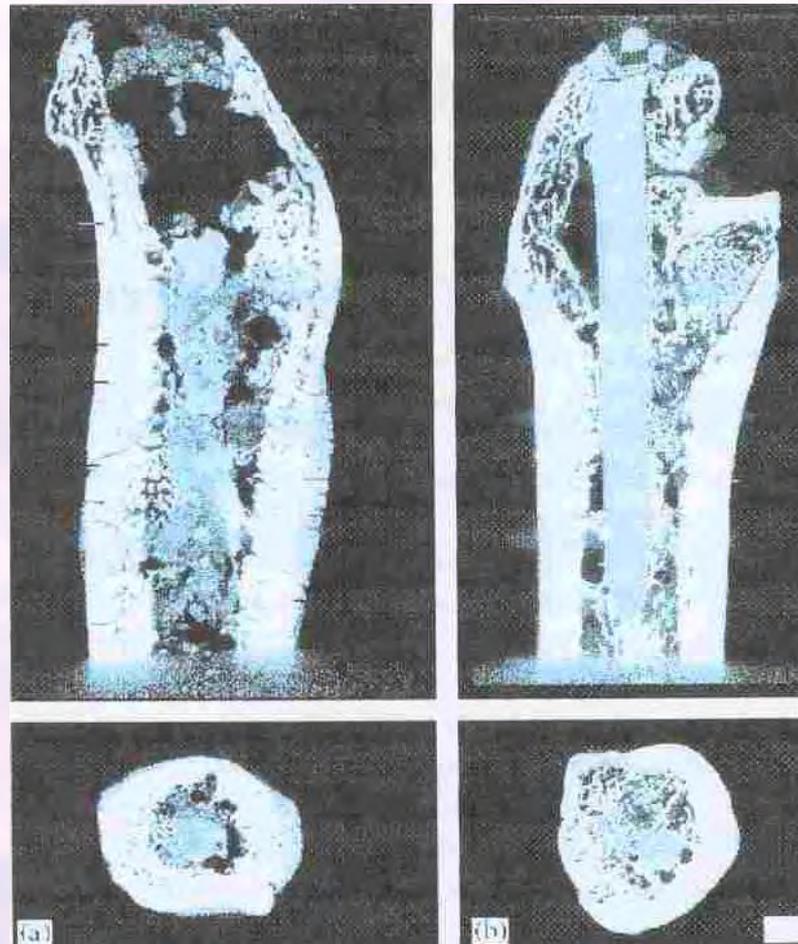


Fig. 7. TEM microphotographs from CHO-K1 cells exposed to 0, 1, 3 and 5 mM of Fe³⁺ salt for 24 h. Intracellular vesicles containing dark aggregates can be observed (arrows). N: nucleus. Fe-containing precipitates from culture medium are observed (circles) outside the cell.

Mg

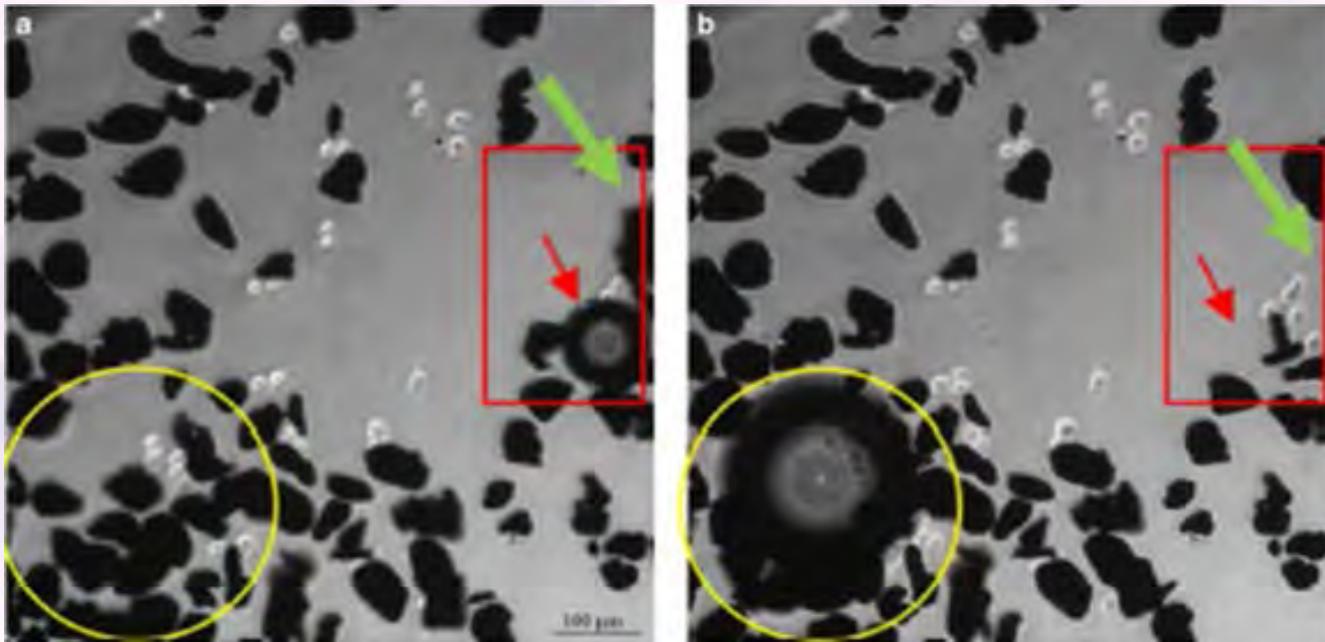
Material biodegradable para osteosíntesis o stents



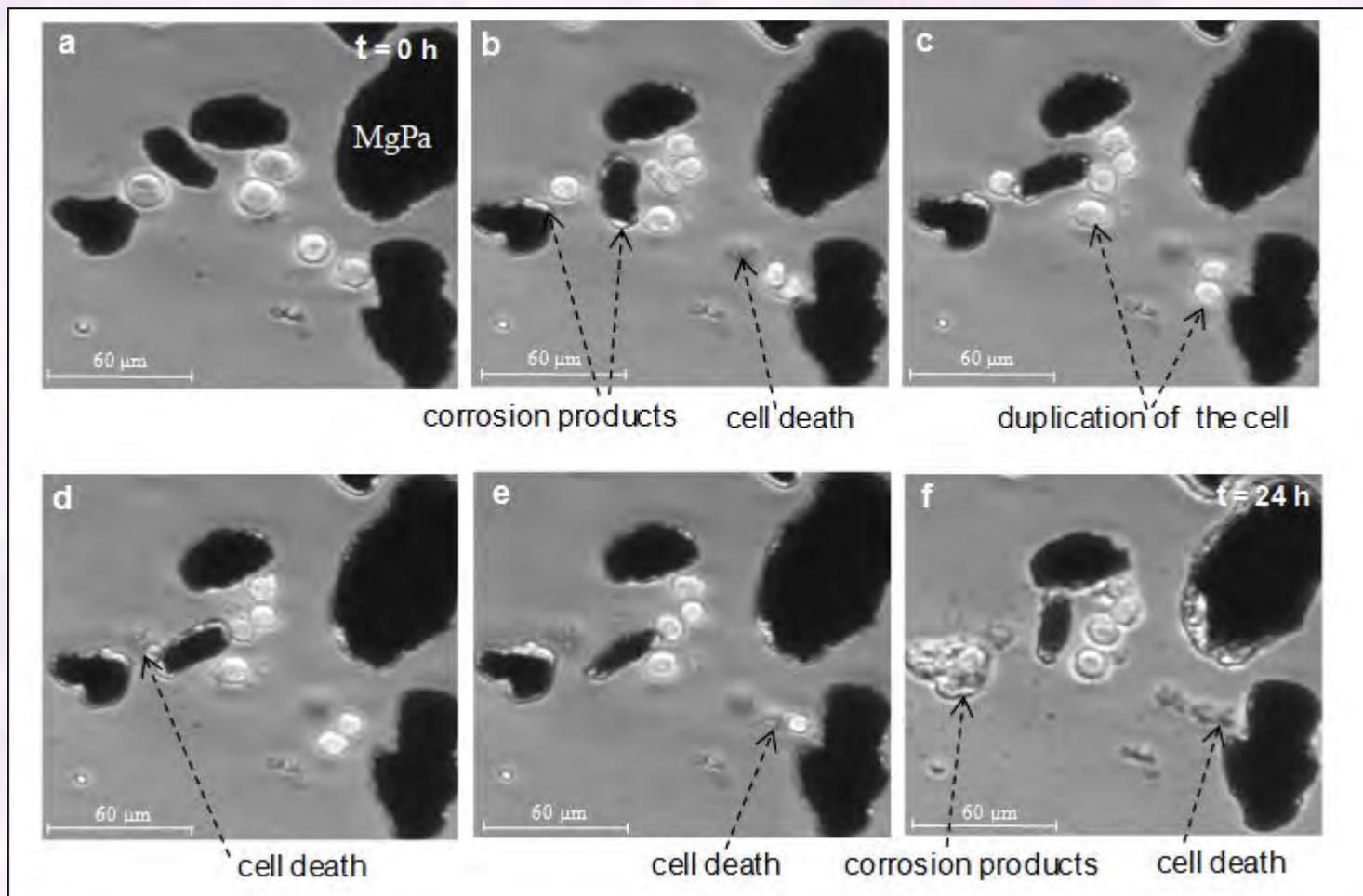
Witte et al., 2005

Interacción Mg particulado/macrófagos

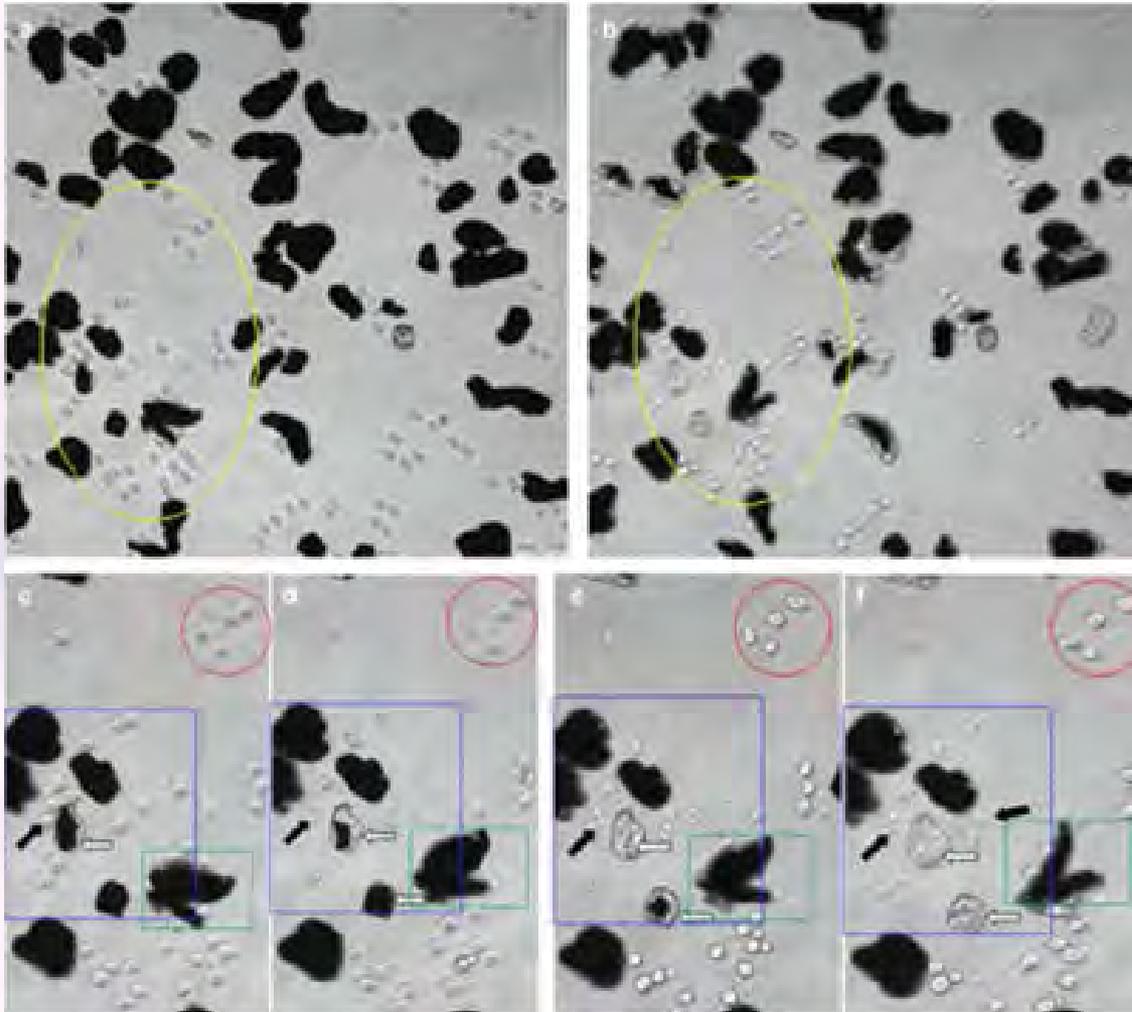
Generación de burbujas de hidrógeno



Interacción Mg particulado/macrófagos

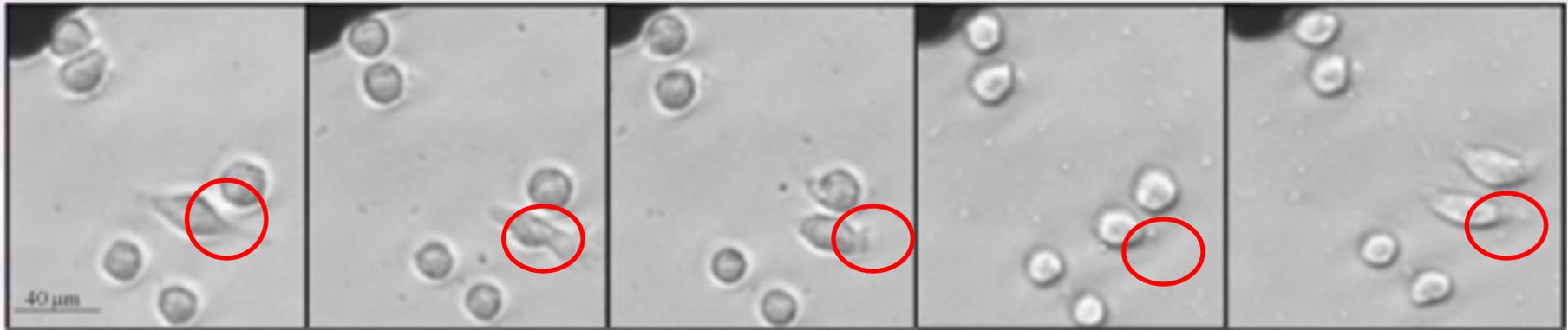


Generación de productos de corrosión y muerte de macrófagos en presencia de partículas de F-Mg



- Las partículas se degradan
- Las células cercanas mueren
- Las células alejadas no se alteran

Interacción Mg nanoparticulado/macrófagos

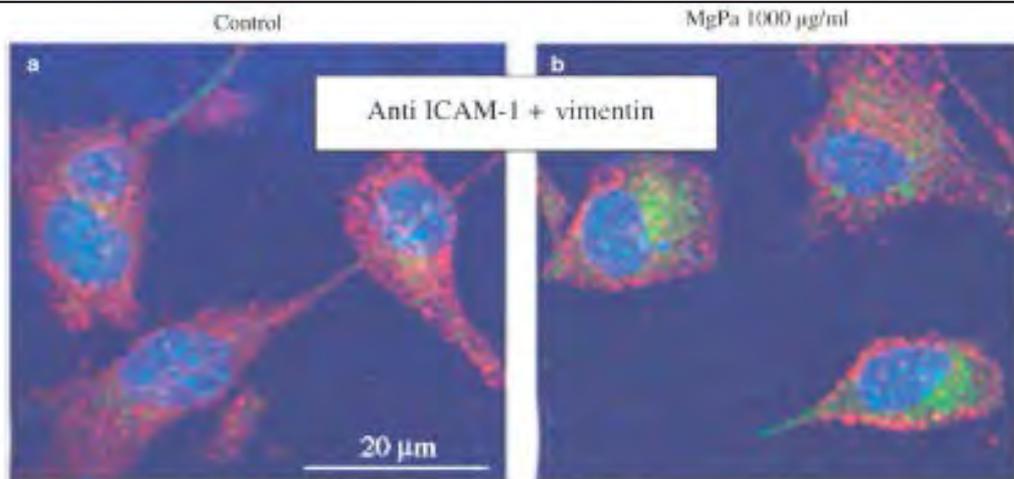
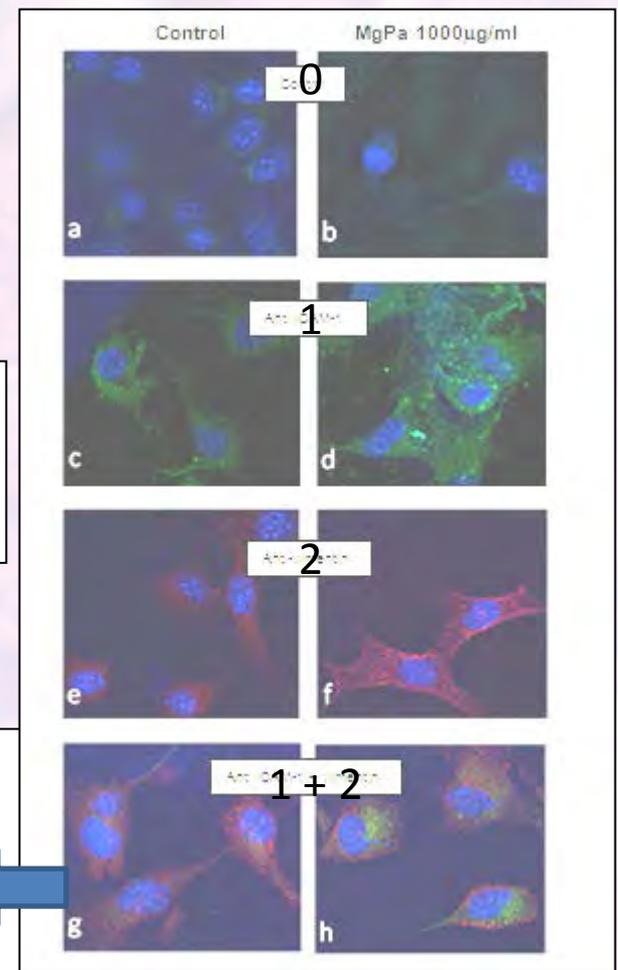


Los macrófagos atrapan las micro/nanopartículas mediante sus pseudopodios.

Efecto del material paraticulado sobre las proteínas de adhesión

En colaboración con Dras. Lozano y Pérez Maceda

Figure 5S. Confocal microscopy and immunofluorescence studies with primary and secondary antibodies with MC3T3-E1 cells in the absence and in the presence of MgPa: **a** and **b** controls without antibodies; **c**, **e**, **g** controls without particles; **d**, **f**, **h** with 1000µg/ml MgPa. **g** and **d** anti-ICAM; **e** and **f** Anti-vimentin; **g** and **h** superposition of results of figures **c** and **e**, and **d** and **f**, respectively.



0 control
 1 Anti I CAM
 2 Anti Vimentin
 1+2 Anti ICAM + Vimentin

Figure 5. MC3T3-E1 immunofluorescence studies. Dual staining and detection by confocal microscopy of ICAM-1 (green) and vimentin (red) (a) MC3T3-E1 cultures in the absence of MgPa (control) and (b) MC3T3-E1 cultures in the presence of 1,000 µg/mL MgPa (see also Supplementary Fig. 5).

Efecto de las partículas de Mg sobre la viabilidad celular de fibroblastos y macrófagos

Citometría de Flujo, en colaboración con Dras. Lozano y Pérez Maceda

Table 2. Cellular Effects of MgPa and MgPa-F (1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in the Different Cell Cycle Phases by Flow Cytometry.

Cell Line	MgPa Surface	SubG ₁ (%)	G ₁ (%)	S (%)	G ₂ /M (%)	Relative Viability (%)
MC3T3-E1	—	3.5	76.6	13.9	6.0	100
MC3T3-E1	MgPa	4.4	72.6	13.2	9.8	78.5
MC3T3-E1	MgPa-F	4.2	75.2	12.2	8.4	65.7
J774	—	3.2	64.6	20.0	12.2	100
J774	MgPa	8.3	84.2	1.7	5.8	65.0
J774	MgPa-F	14.8	71.2	7.6	6.4	35.1

Mezcla de aleantes: Efecto sinérgico sobre la citotoxicidad

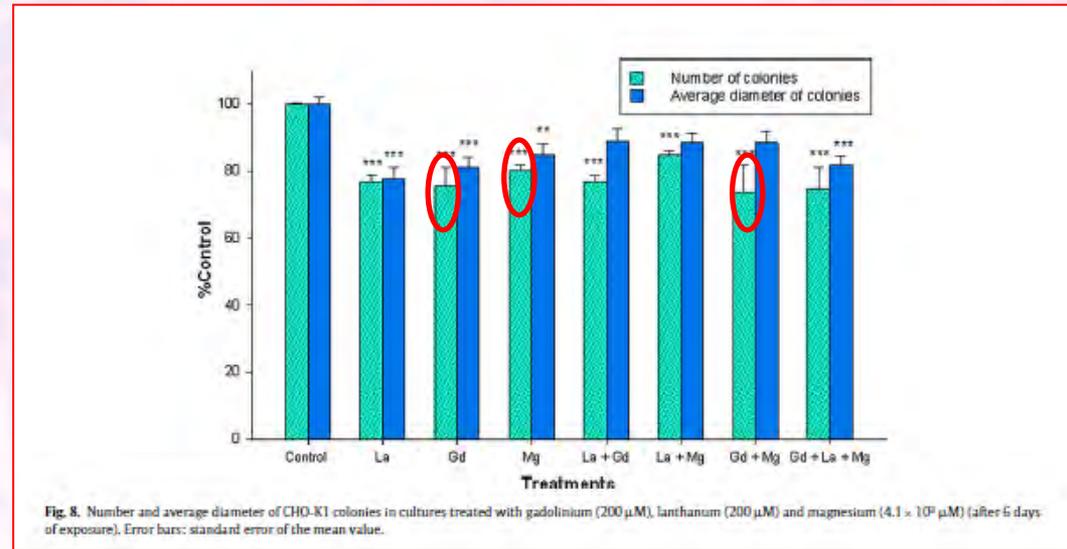
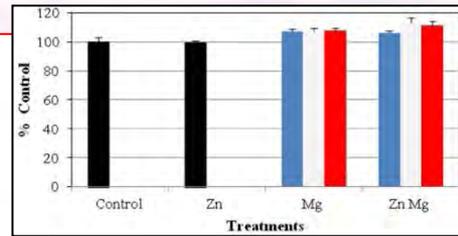
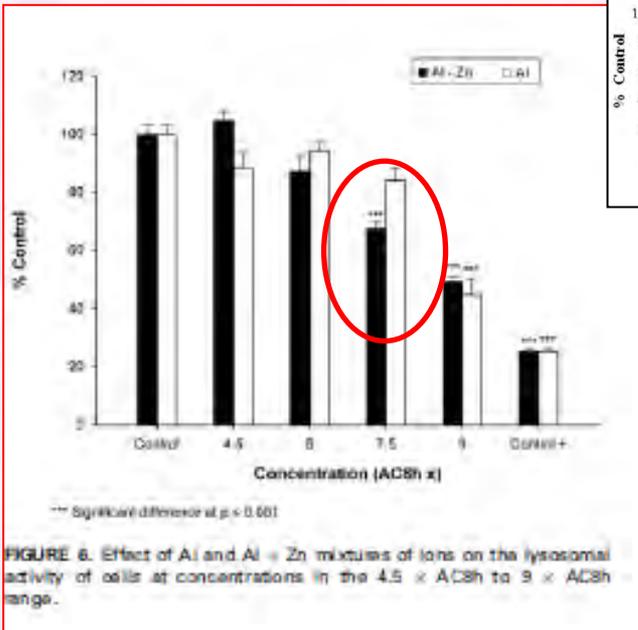


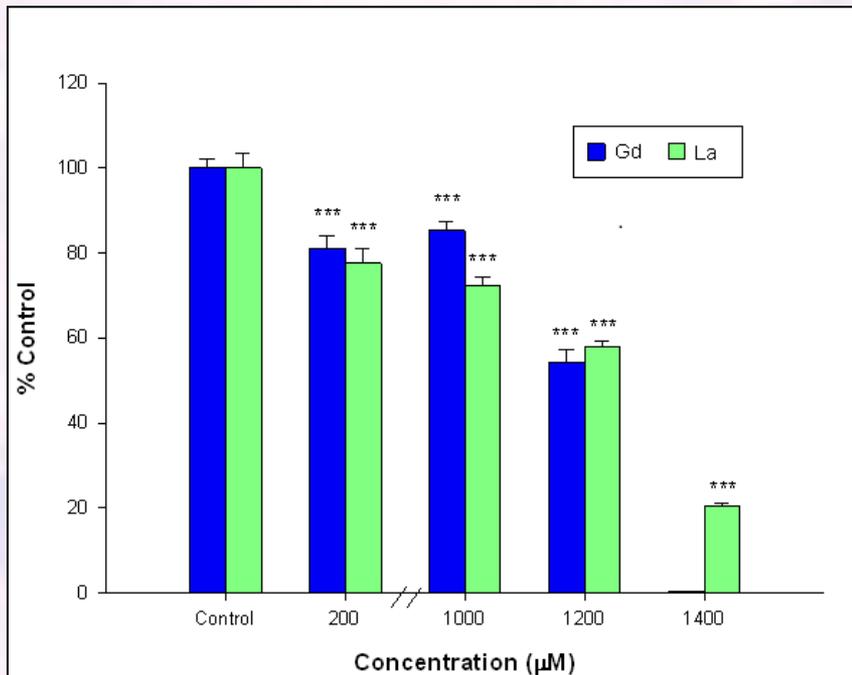
Fig. 8. Number and average diameter of CHO-K1 colonies in cultures treated with gadolinium (200 μ M), lanthanum (200 μ M) and magnesium (4.1 \times 10³ μ M) (after 6 days of exposure). Error bars: standard error of the mean value.

Al y Zn componentes de aleaciones dentales base cobre

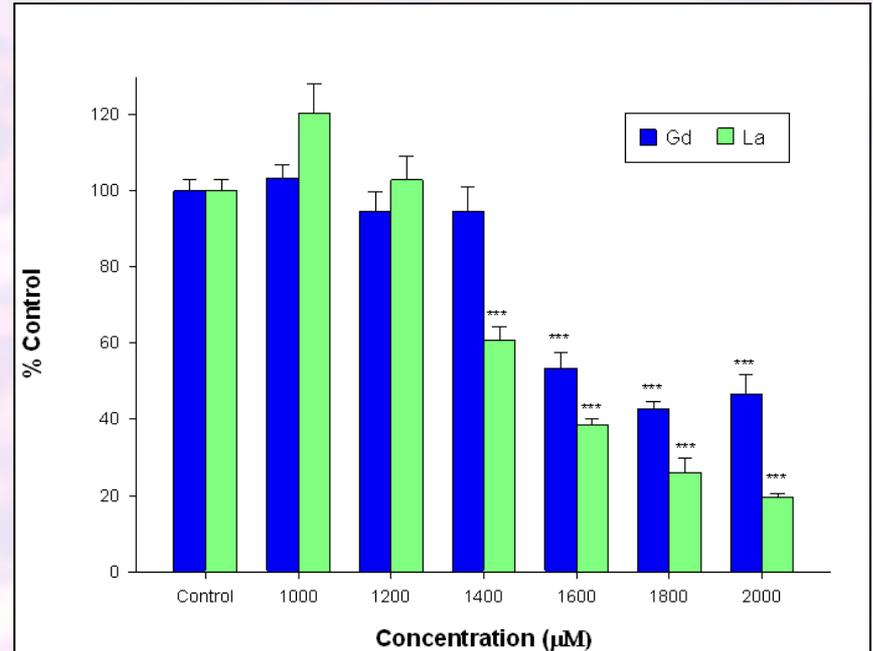
Gd y La componentes de aleaciones de Mg

Efecto de la concentración de Gd y La sobre el número y diámetro de las colonias

Diameter of the colonies

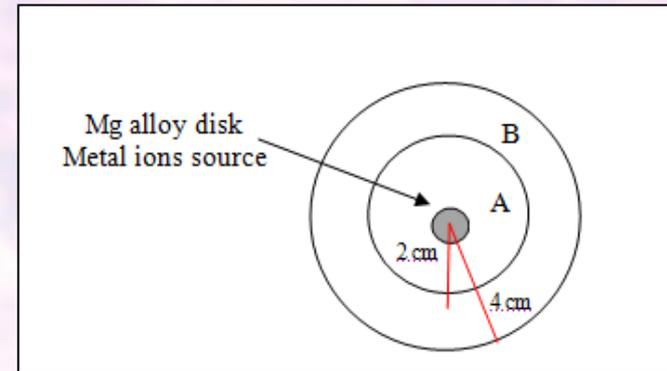
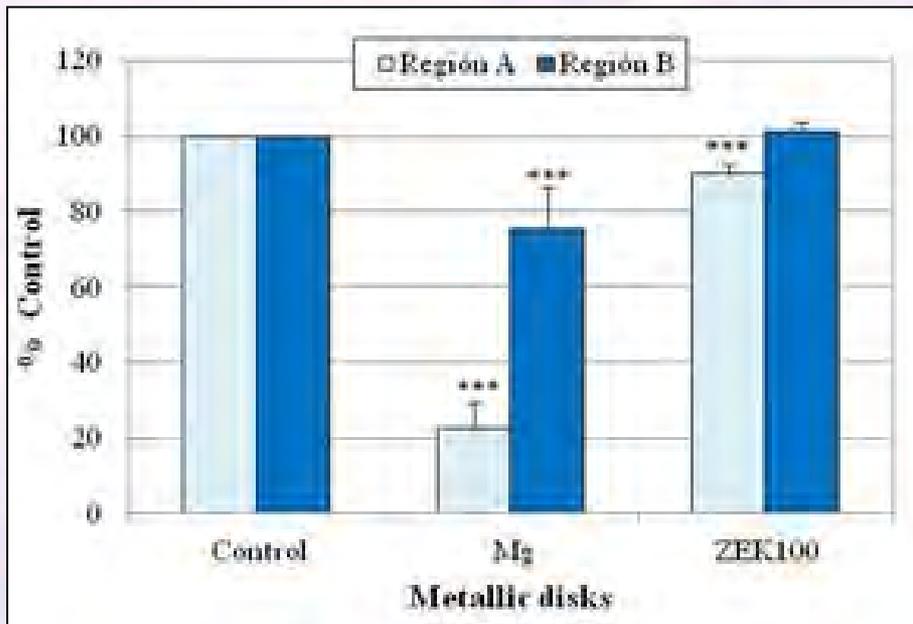


Number of the colonies



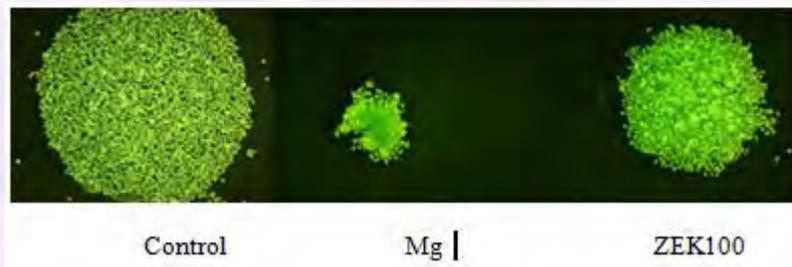
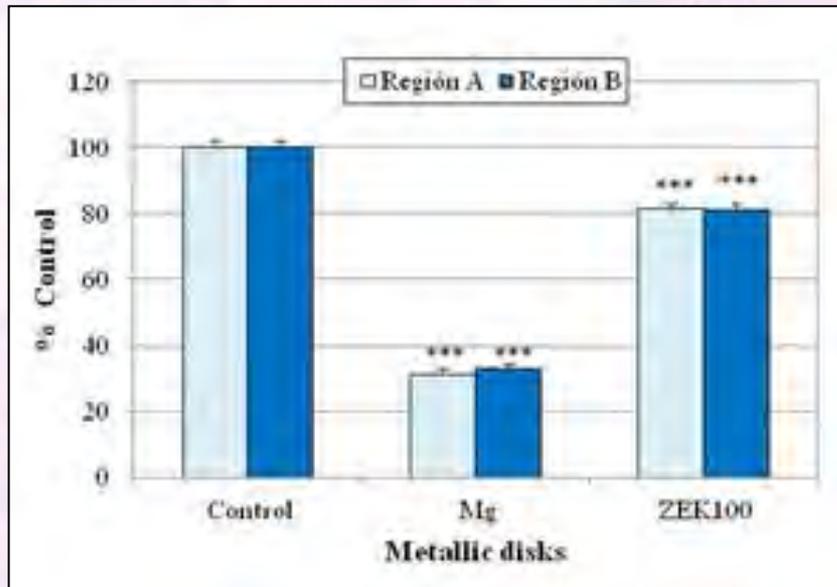
Comparación Mg puro y aleación. Efecto sobre el número de colonias de células formadas

Number of the colonies



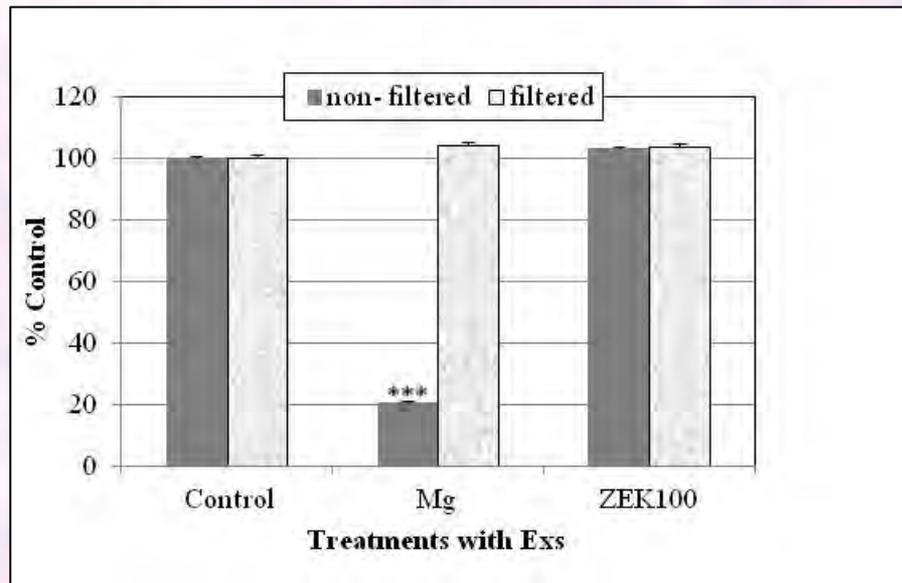
The number of the colonies is lower near the Mg samples in Region A, close to the metal disk, but it is similar to the control in case of ZEK100 samples

Efecto del Mg y ZEK100 sobre el diámetro de las colonias formadas



El diámetro de las colonias es menor para el Mg que para el ZEK100

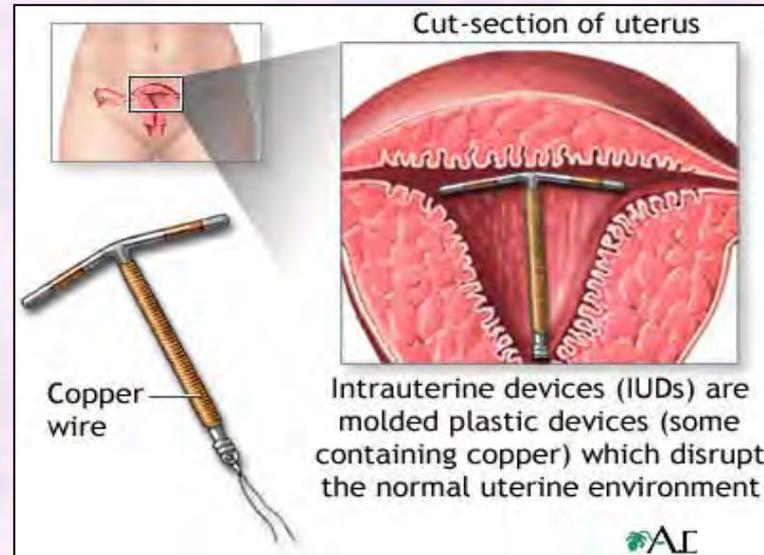
Efecto de los productos insolubles



La viabilidad decrece en presencia de productos insolubles

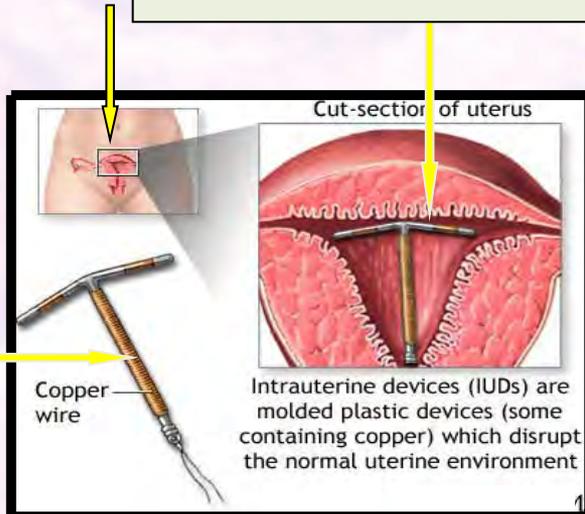
Cu

Liberación de iones Cu por parte de los DIU

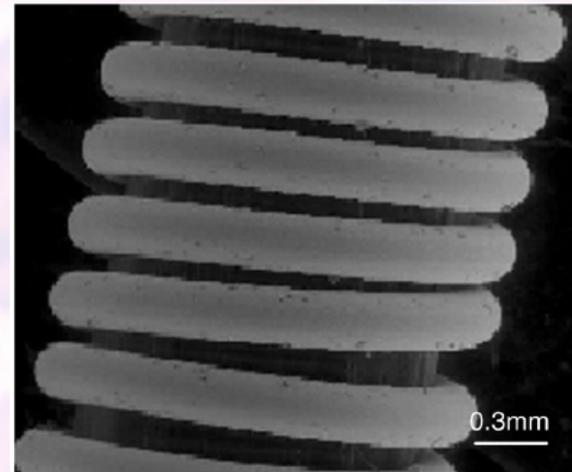


Componentes tóxicos de algunos biometales

Cobre

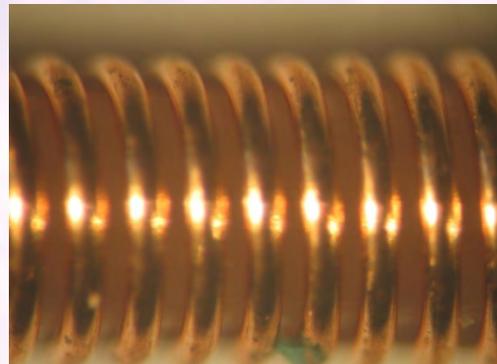


Dispositivos intrauterinos (DIU): su acción está basada en la liberación de iones cobre.

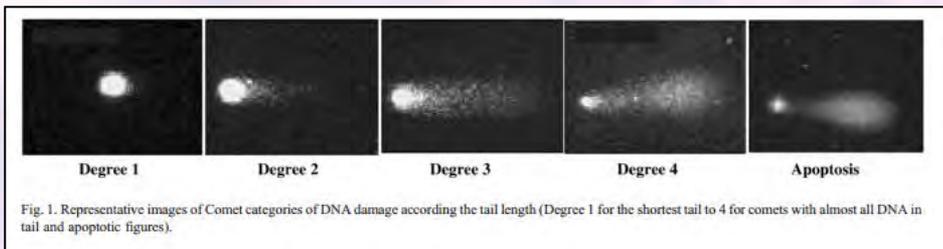
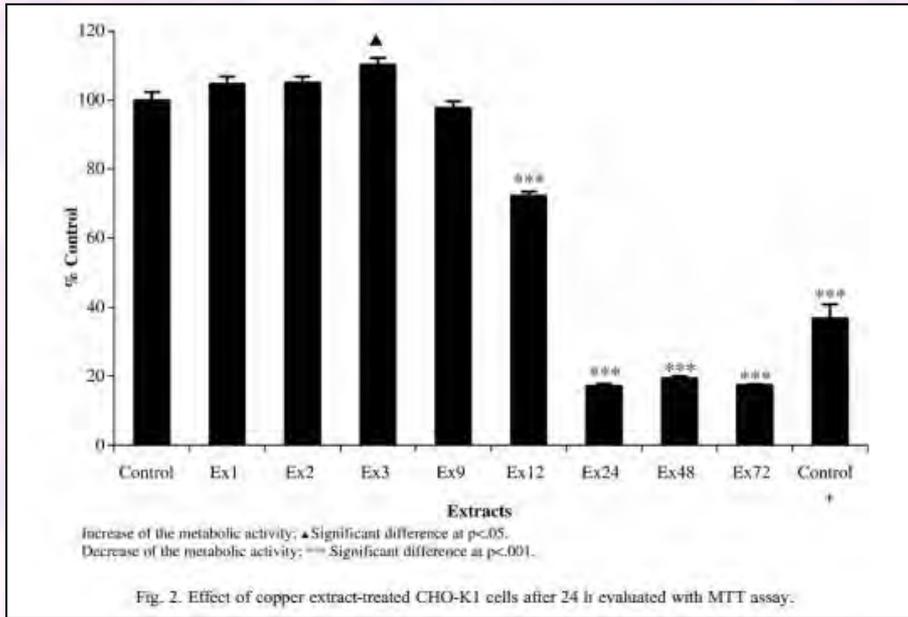


Burst release

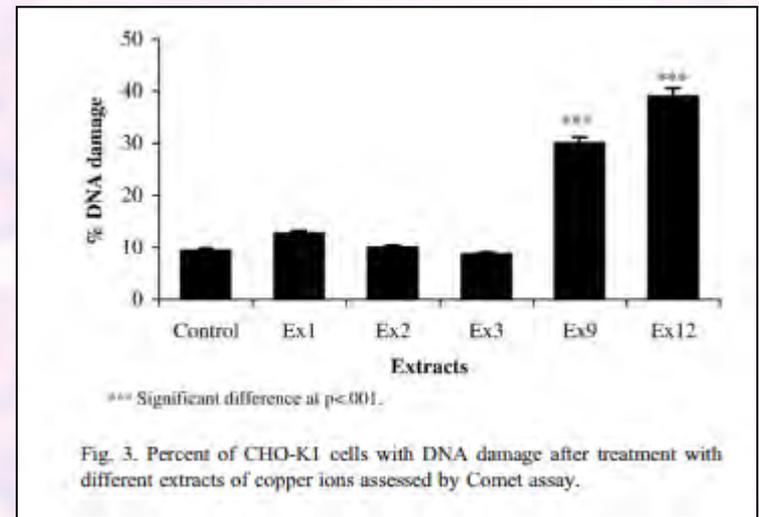
Tiempo de inmersión (días)	μg de Cu
1	256
14	470



Citotoxicidad

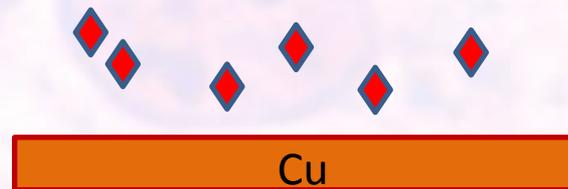


Genotoxicidad



- **Cómo reducir la liberación de cobre?:**

Inhibidores de la corrosión débiles y biocompatibles.





¿Proteger y contaminar?

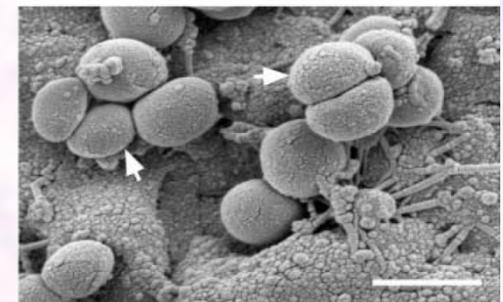
Generación se sustancias tóxicas, de escasa biodegradación, que producen bioacumulación

Estrategias ecocompatibles para:

a) **minimizar la corrosión**



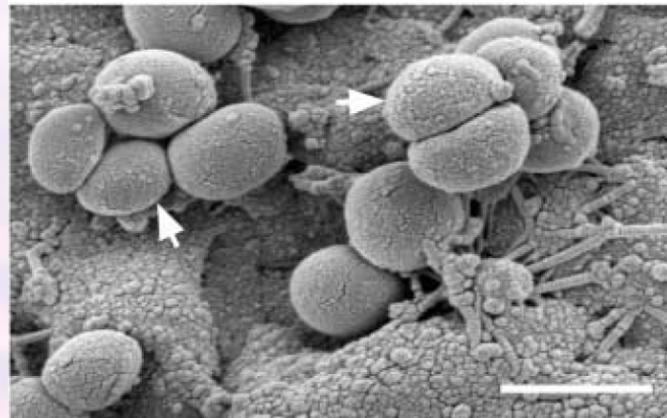
b) **evitar la formación de biofilms**
(formación de biopelículas bacterianas)



Estrategias ecocompatibles para:

a) minimizar la corrosión con inhibidores ecocompatibles

b) inhibir la formación de biofilms y reducir el uso de biocidas tóxicos



QUÍMICA «VERDE»

...



Reducir

Desechos

Materiales

Peligros

Riesgos

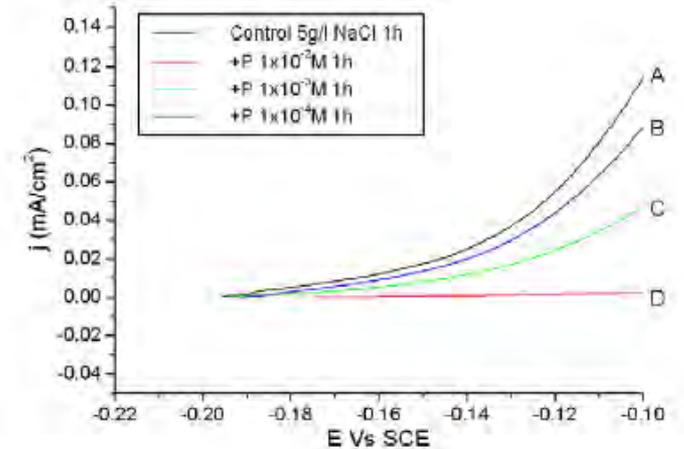
Energía

Costos

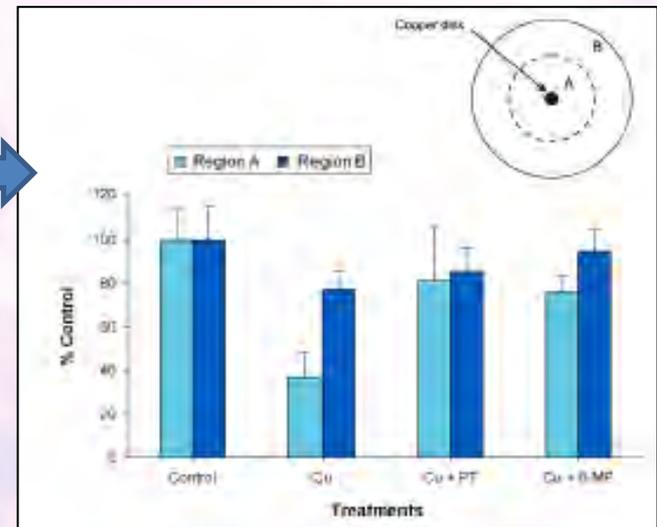
Inhibidores débiles biocompatibles para DIU: Tiourea, Purina, Pterina, 6 mercapto purina

Tabla 4.15. Comparación de los % de disolución del Cu medidos por espectroscopía de adsorción atómica y de los % de inhibición medidos a partir de las cargas de reducción (CR)

	Iones Cu (μg)	Disolución del Cu (%)	CR en MUS s/UR (%)	% de inhibición s/UR	CR en MUS c/UR (%)	% de inhibición c/UR
Cu control	256	100	100	0	100	0
TU	236	92,18	73,04	26,96	60,36	39,64
PU	2	0,78	10,61	89,39	6,76	93,24
6MP	178	69,53	49,34	50,66	44,37	55,63
PT	178	69,53	47,79	52,21	42,04	57,96



Reducción de la disolución ,
disminución de la citotoxicidad



Compuestos de origen vegetal (Fitocompuestos)

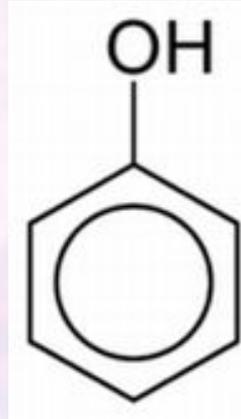
- Fácil acceso
- Biodegradables
- Económicos
- Presentes en residuos



Compuestos fenólicos de origen vegetal

- **Compuestos Fenólicos:**

- Grupo bencénico y uno o más **-OH** en su estructura molecular → potencialmente **electropolimerizables**.
- Eficaces **reductores**: **Propiedades antimicrobianas**



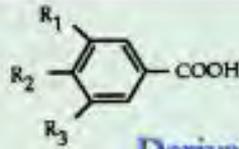
- **Compuestos Fenólicos de origen vegetal:**

Fuente **renovable y biodegradable**, de gran **disponibilidad** (desechos de industria alimentaria).

Fuentes de fitocompuestos fenólicos (FF)



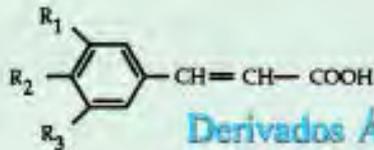
Compuestos fenólicos



Derivados Ácido benzoico

Acid	R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -Hydroxybenzoic	H	OH	H
Protocatechuic	H	OH	OH
Vanillic	CH ₃ O	OH	H
Syringic	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallic	OH	OH	OH

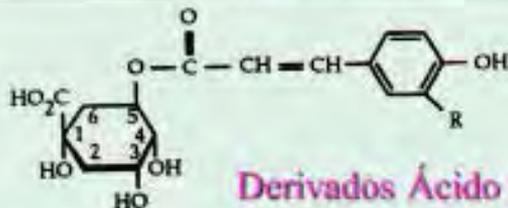
(b)



Derivados Ácido cinámico

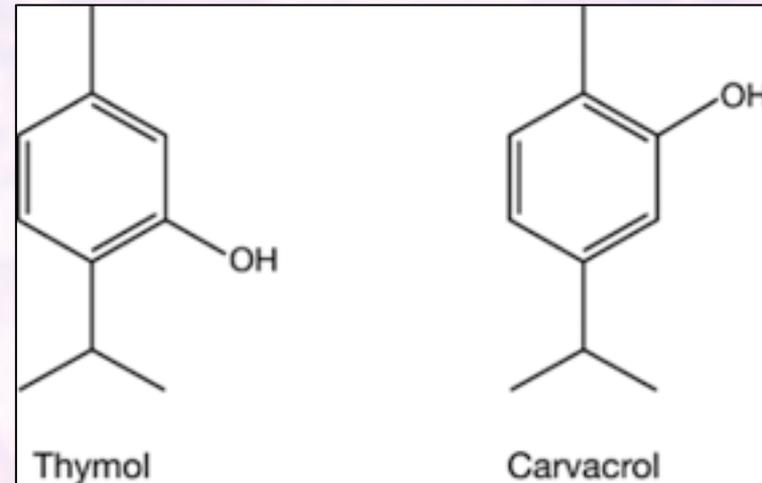
Acid	R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -Coumaric	H	OH	H
Caffeic	H	OH	OH
Ferulic	CH ₃ O	OH	H
Sinapic	CH ₃ O	OH	CH ₃ O

(c)

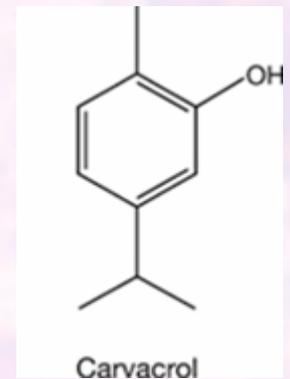
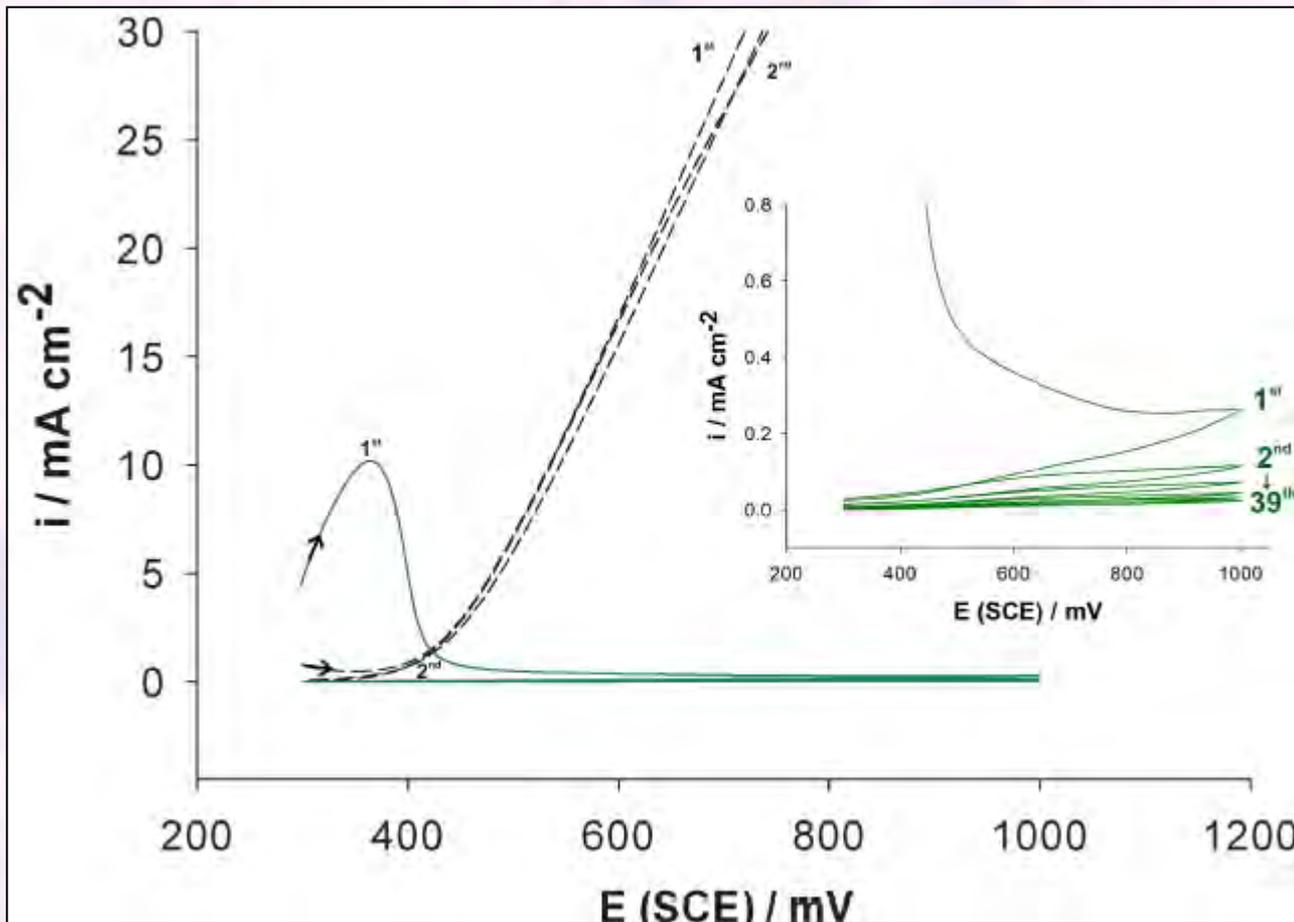


Derivados Ácido clorogénico

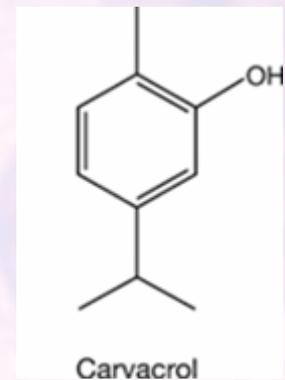
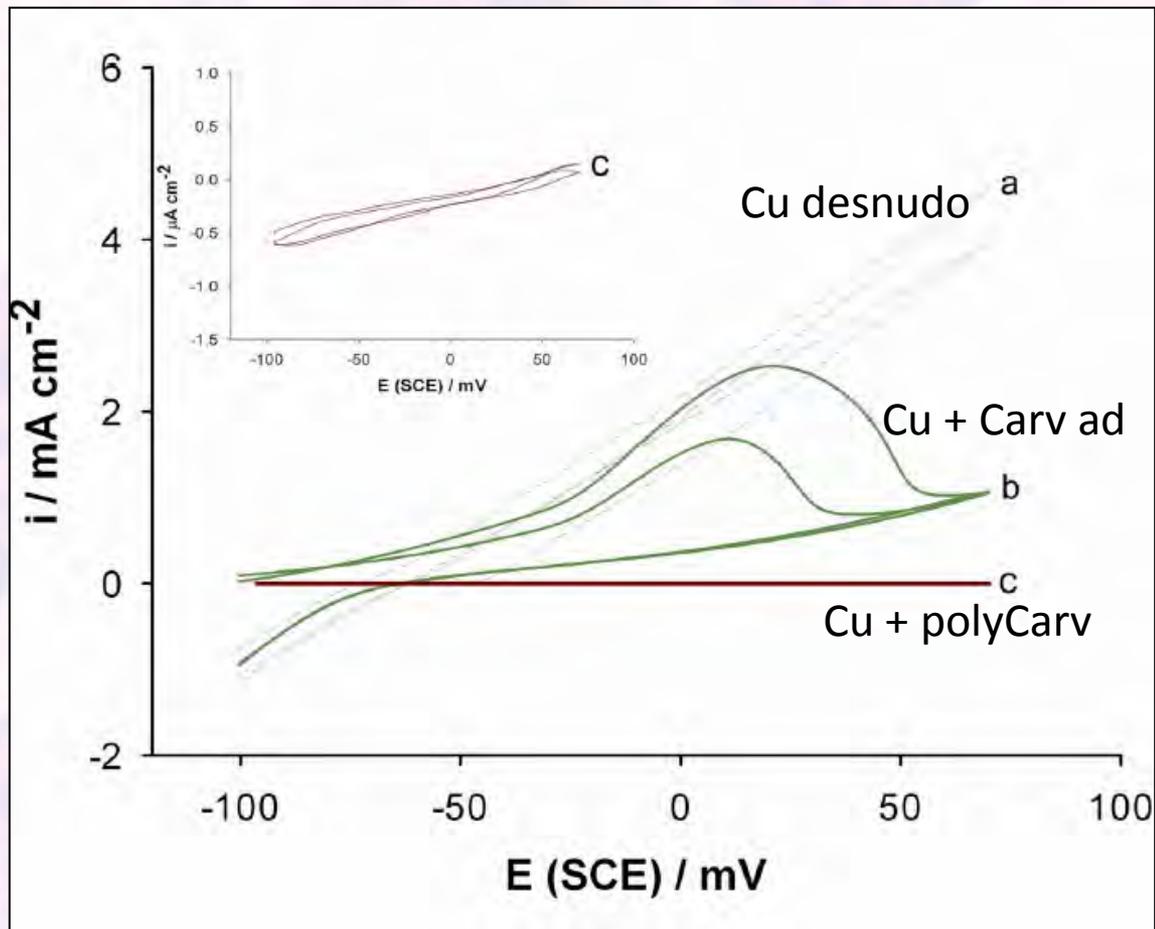
FF: Carvacrol (Carv) y Timol (TOH) Isómeros



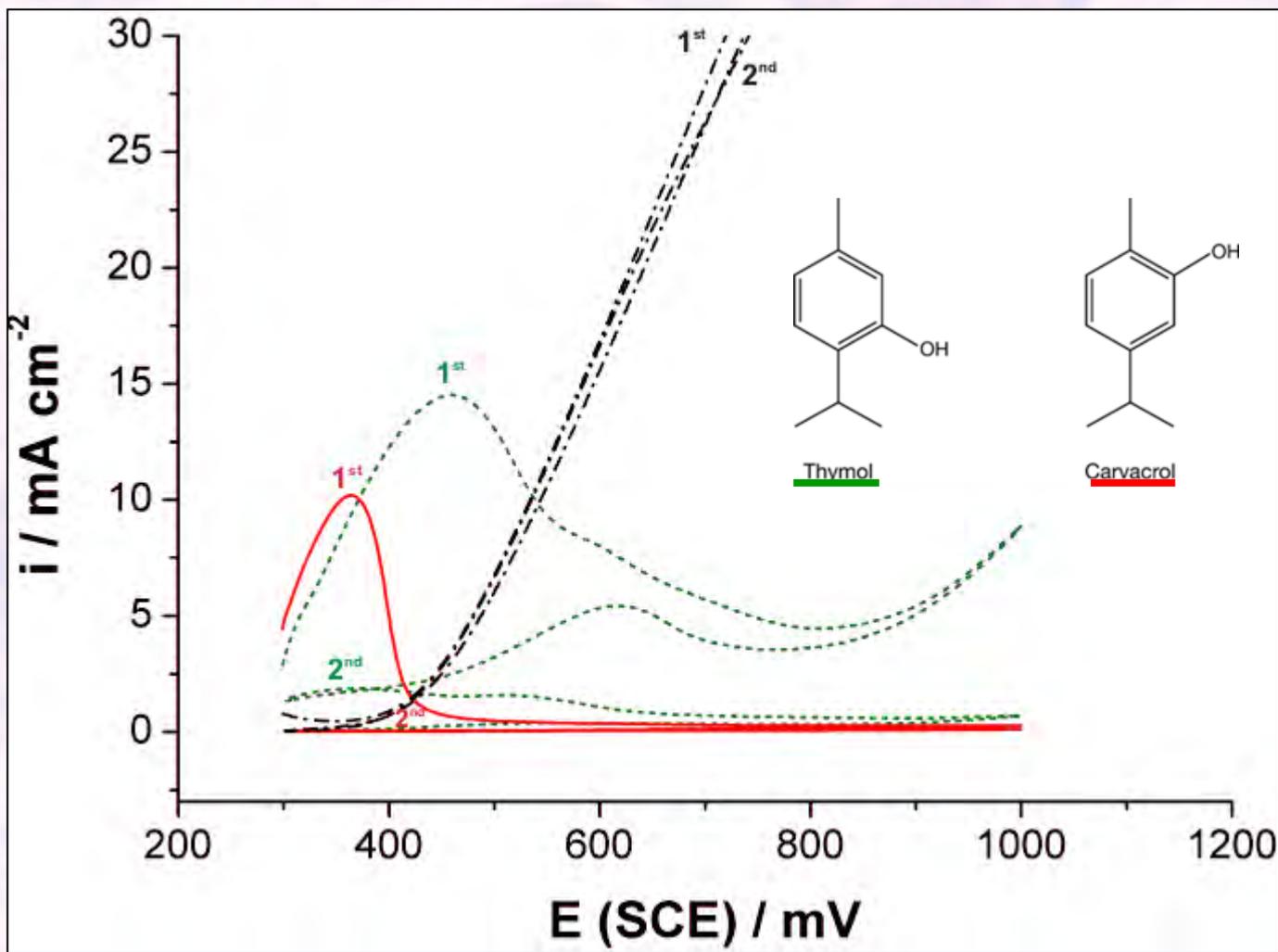
Electropolimerización de Carv sobre cobre



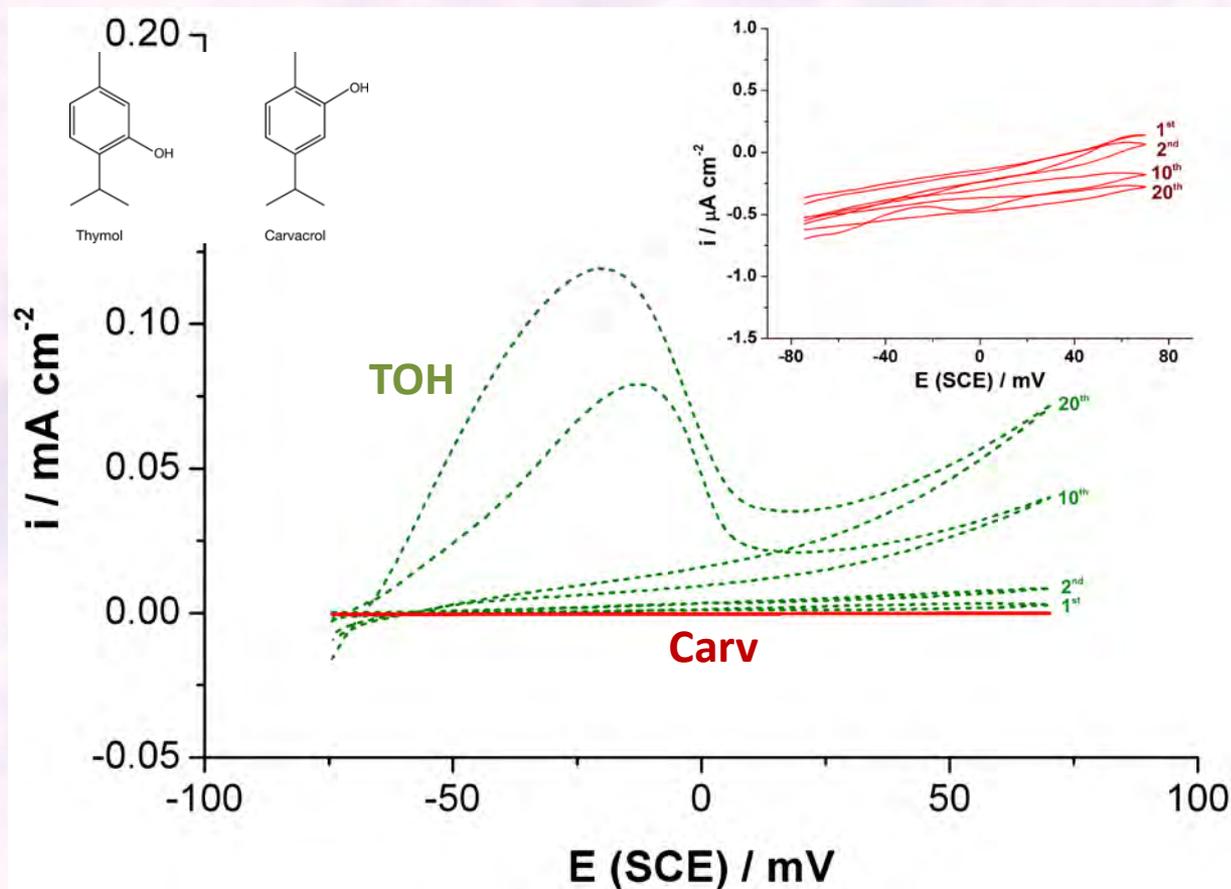
Carv adsorbido vs. electropolimerizado



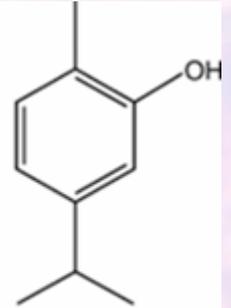
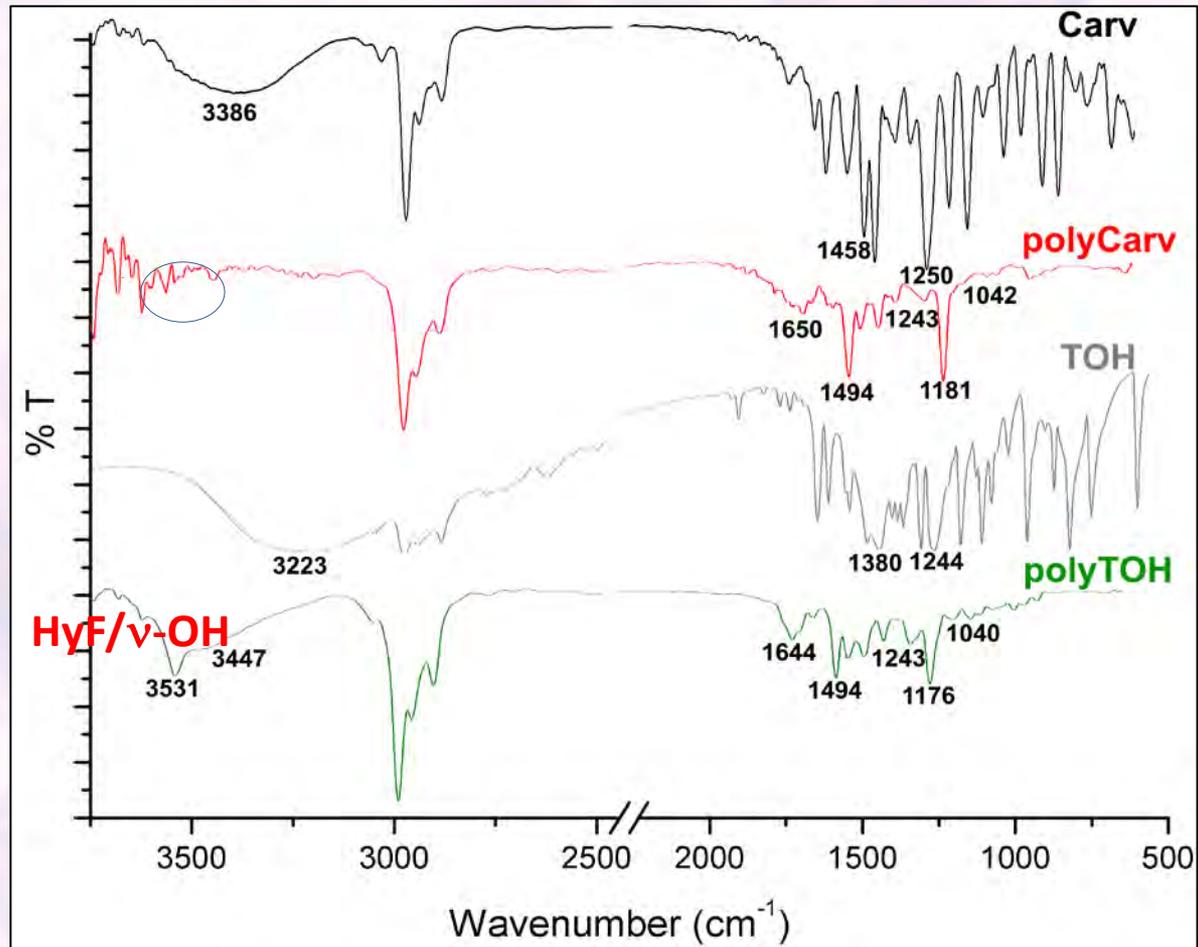
Electropolimerización de Carv y TOH sobre cobre



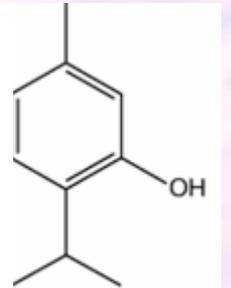
Respuesta Electroquímica del Carv y TOH en soluciones con Cl⁻



FTIR-ATR polyCarv y polyTOH



Carvacrol

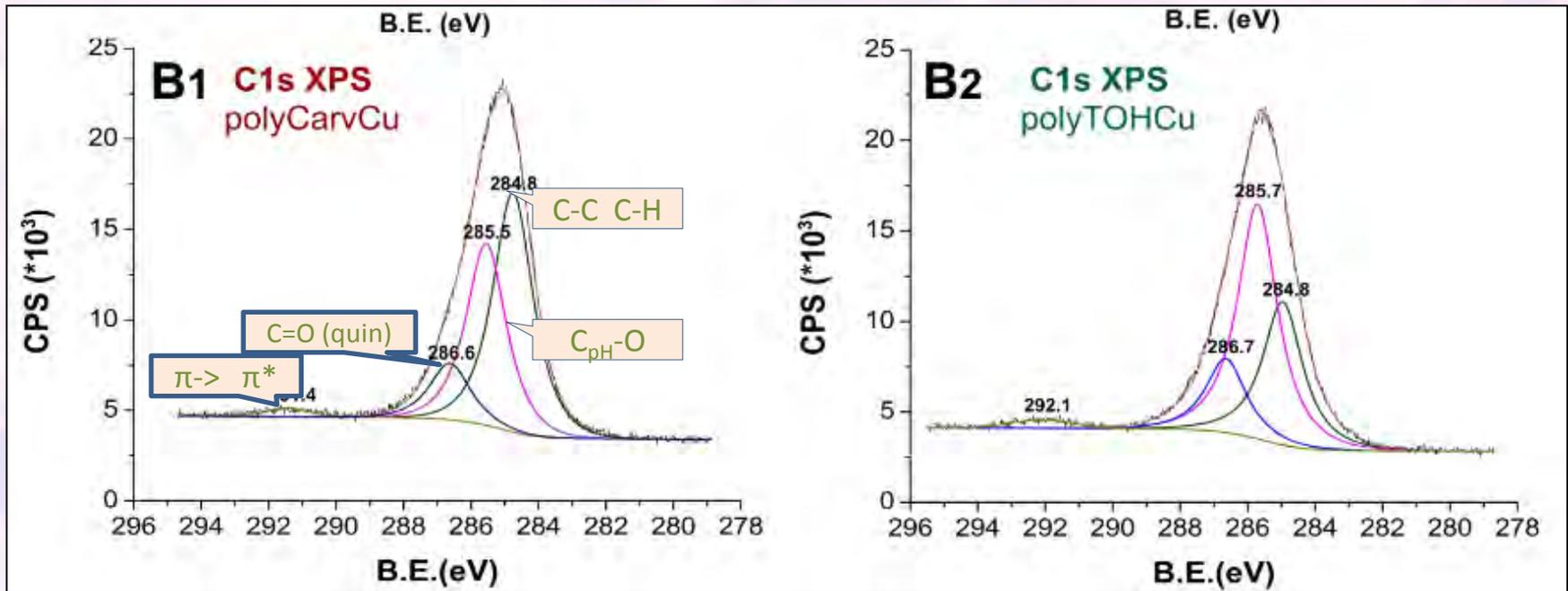


Thymol

HyF/v-OH

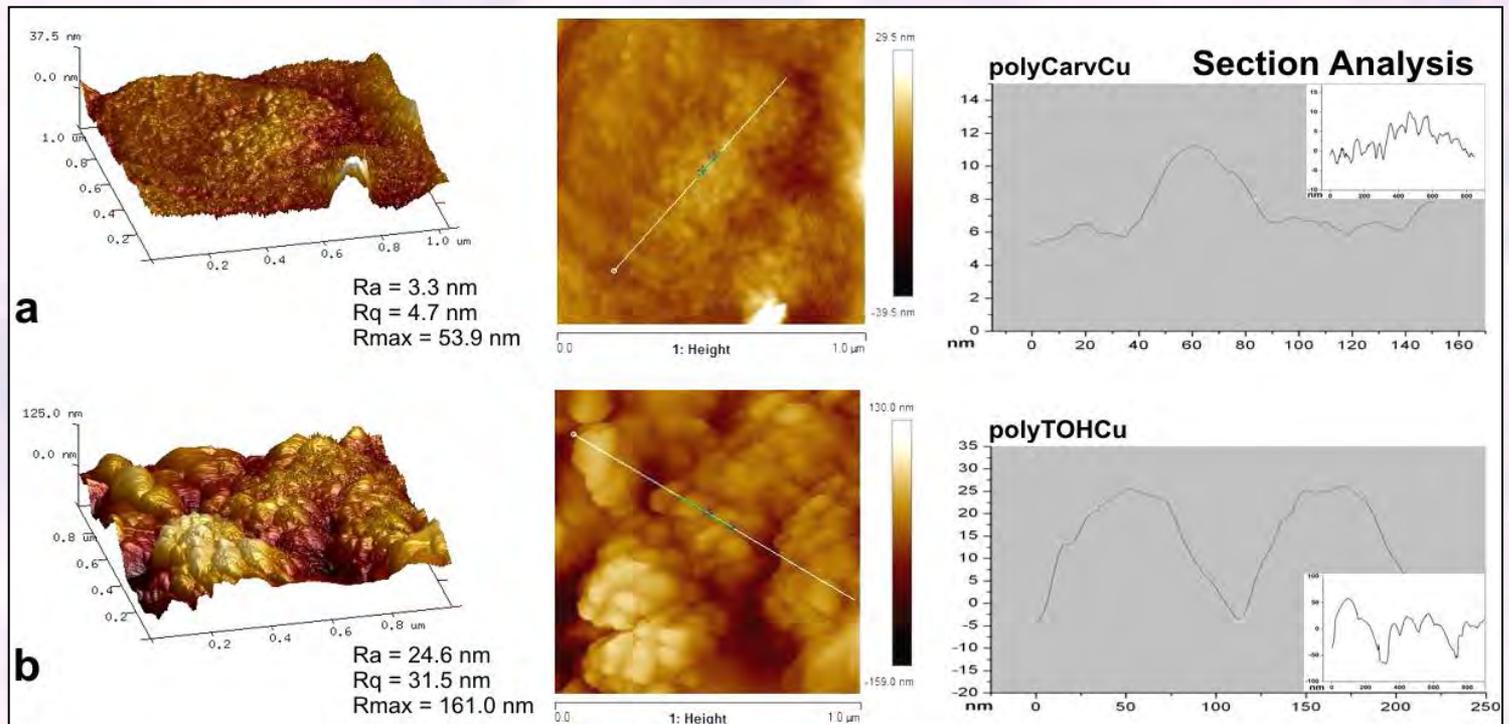
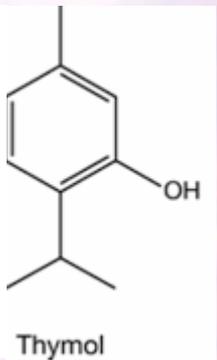
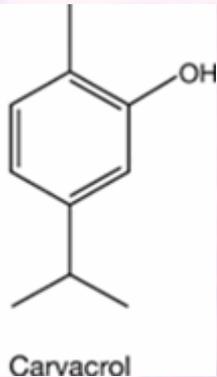
Ausencia de enlaces H por formación de oligómeros/ agua ocluida en el polímero

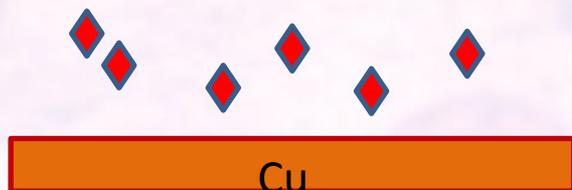
XPS: polyCarv y polyTOH



Deconvolución del pico C1s y sus contribuciones para el polyCarv y polyTOH

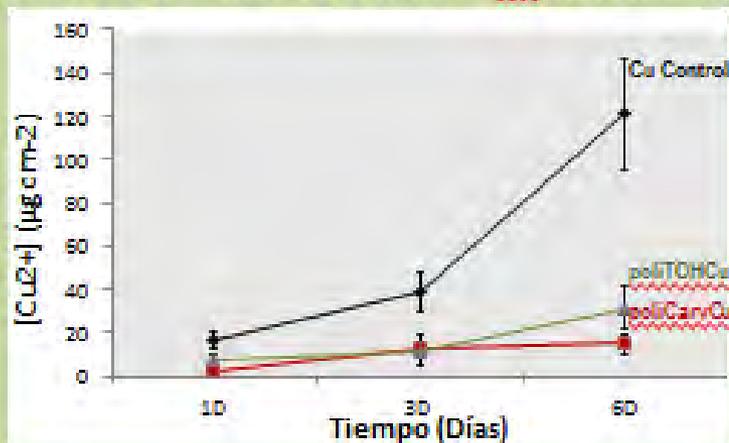
Imágenes AFM de polyCarv y polyTOH





Carv		TOH	
	[Cu ²⁺] (µg cm ⁻²)		[Cu ²⁺] (µg cm ⁻²)
Treatments		Treatments	
200 mV	8.46 ± 1.90	250 mV	39.75 ± 5.41
250 mV	5.12 ± 0.54	400 mV	23.83 ± 4.07
400 mV	4.74 ± 1.51	460 mV	20.35 ± 5.08
		550 mV	23.03 ± 0.12
1 cycle	33.22 ± 7.59	1 cycle	45.86 ± 2.40
39 cycles	14.64 ± 0.88	39 cycles	31.45 ± 3.17
Bare Cu	121.08 ± 25.53		

Iones Cu²⁺ liberados en sc corrosiva

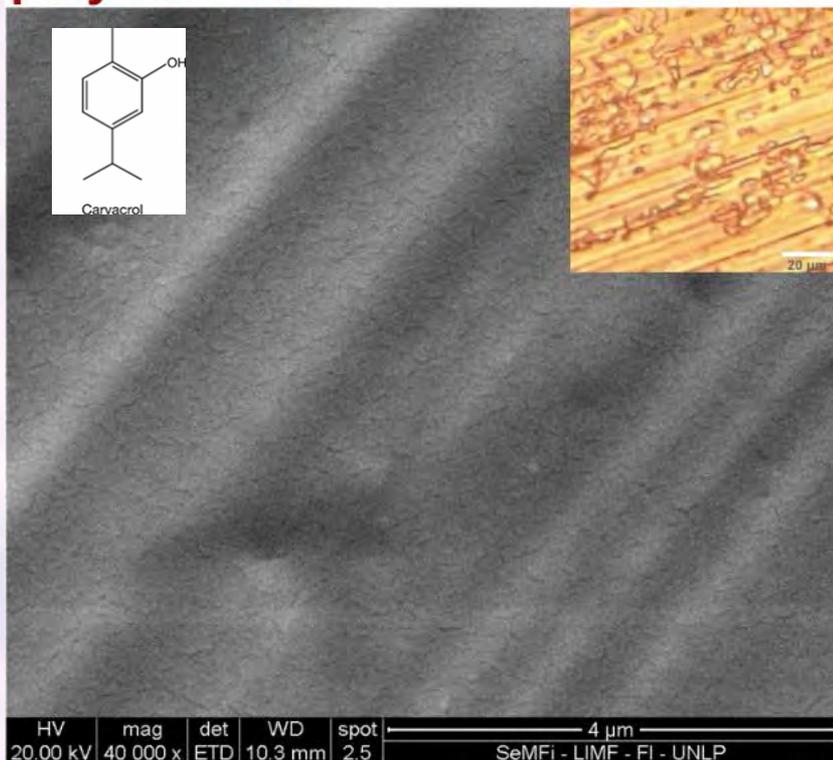


Medida de Iones Cu²⁺ liberados en 4,8 g/L KCl. Método colorimétrico PAN-Cu²⁺

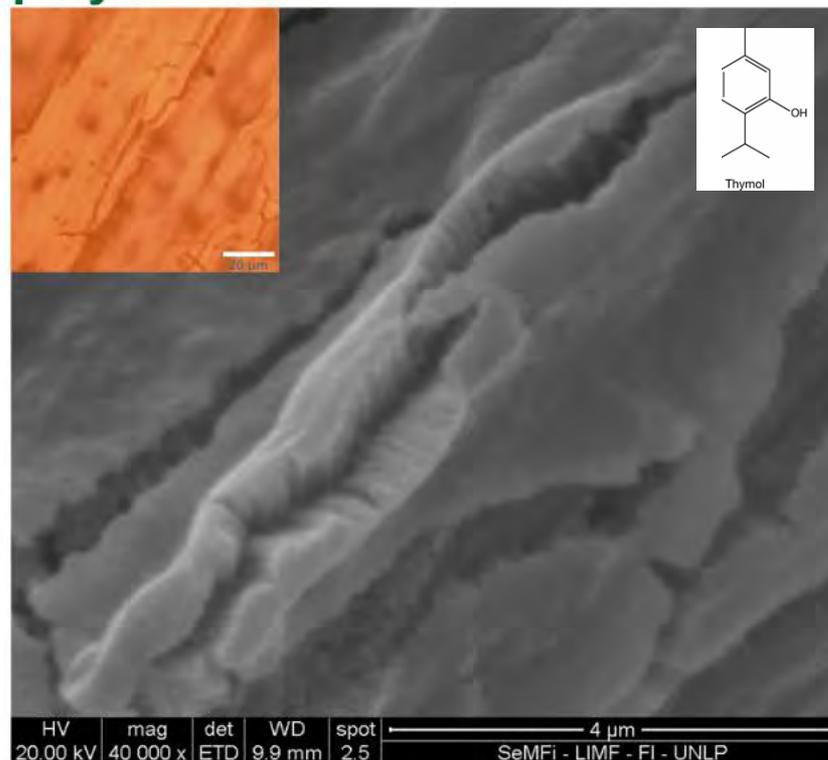
Liberación de iones desde el cobre sin y con cobertura de polyCarv y polyTOH

Imágenes SEM de polyCarv y polyTOH sobre Cu

polyCarvCu



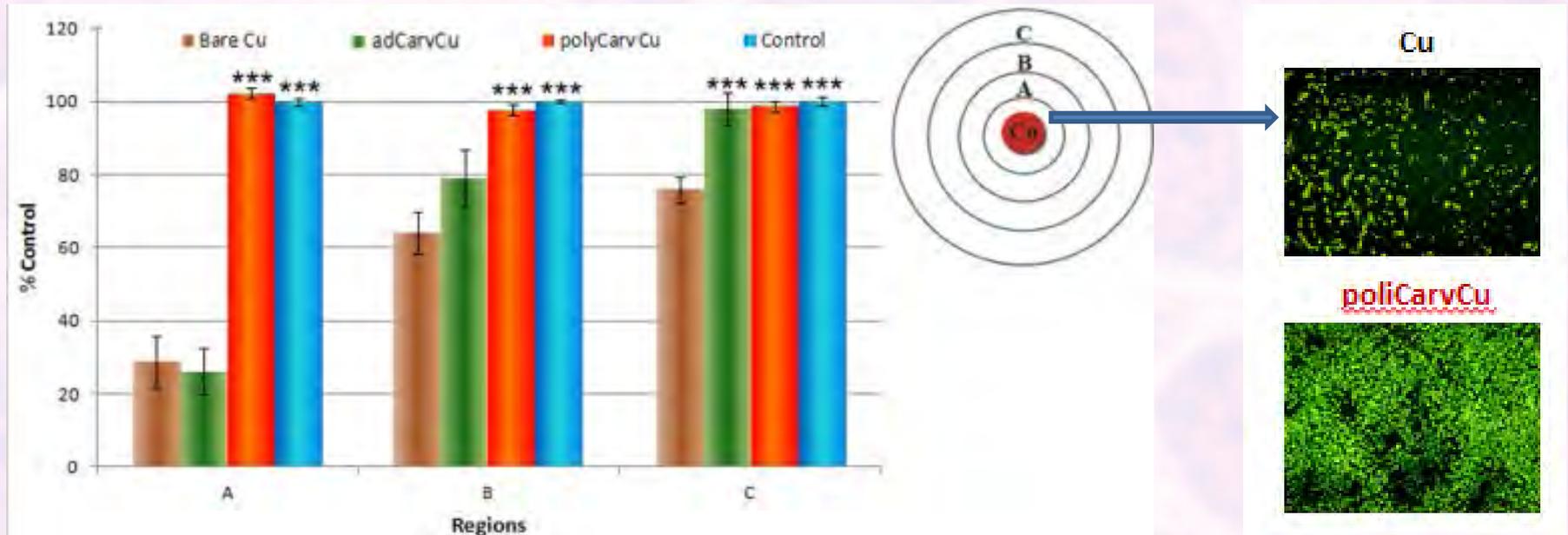
polyTOHCu



La posición del OH juega un rol importante en las características de la película

Citotoxicidad

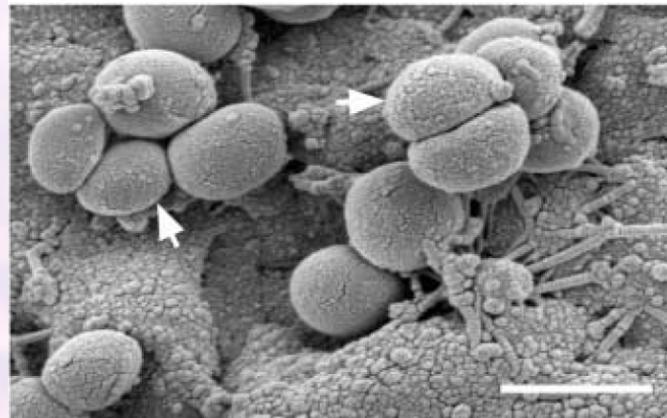
Cu desnudo, Cu-Carv ads, Cu-polyCarv

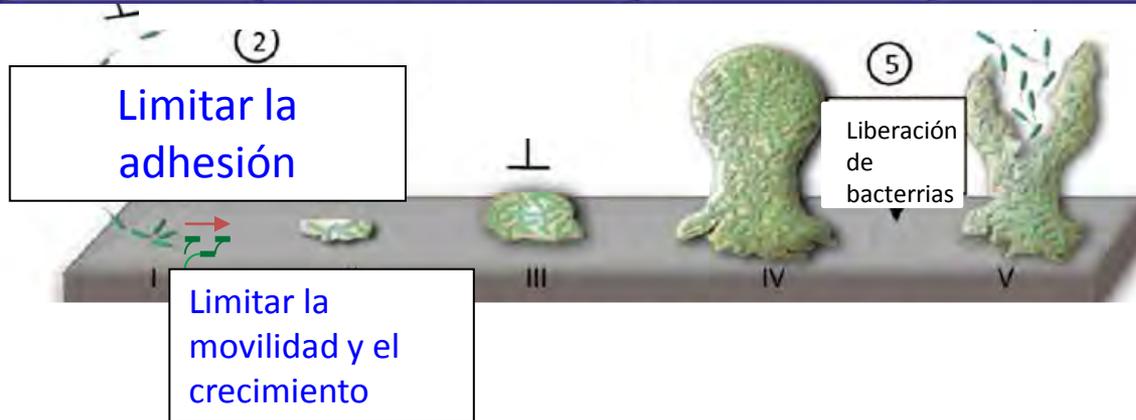
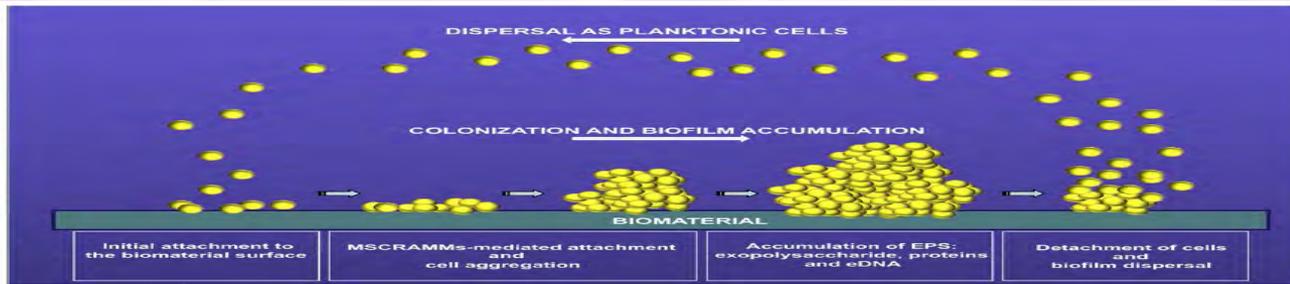


Estrategias ecocompatibles para:

a) minimizar la corrosión con inhibidores ecocompatibles

b) inhibir la formación de biofilms y reduciendo el uso de biocidas tóxicos

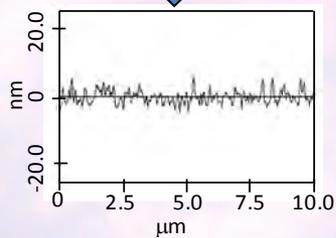
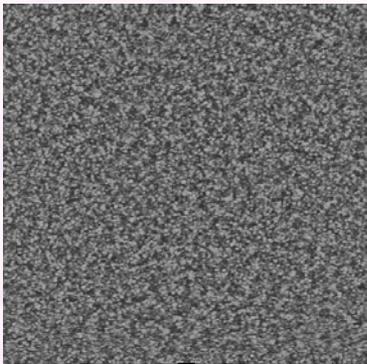




Formas de prevenir el crecimiento del biofilm bacteriano

FORMACIÓN DE BIOFILMS SOBRE SUSTRATOS SUBMICROESTRUCTURADOS

Au-control (NS random)

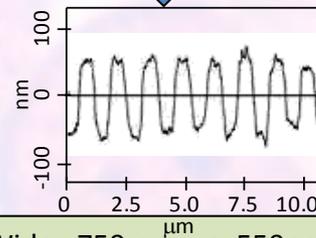
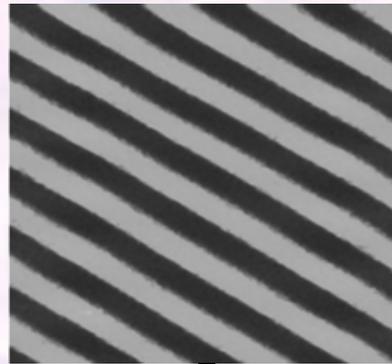


Au evaporated, 200 nm thickness,
Cr-coated glass.

Grains: 50-100 nm, w=2-3 nm

Wave length 100-200 nm

Au-submicro (SM)

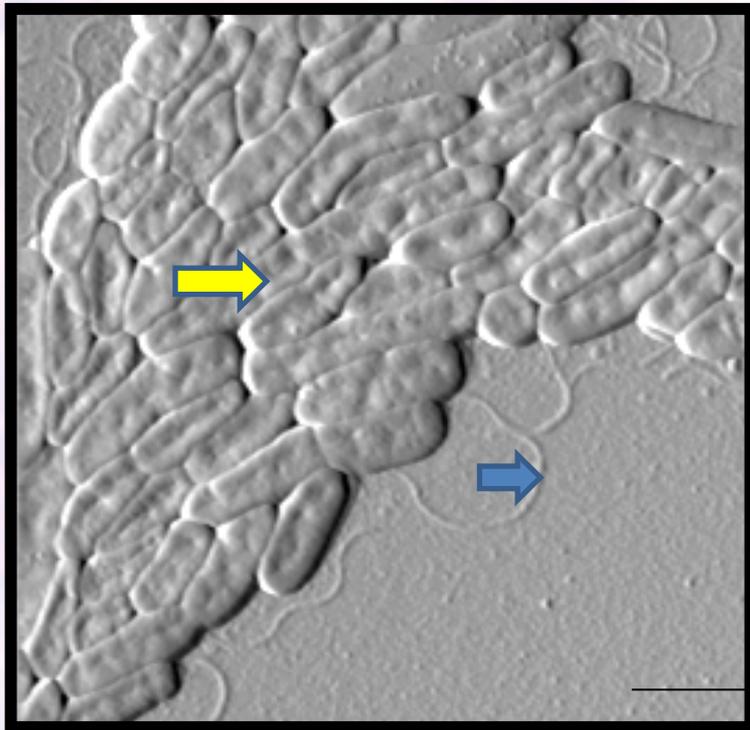


Wide= 750 nm + 550nm
deep = 120 nm

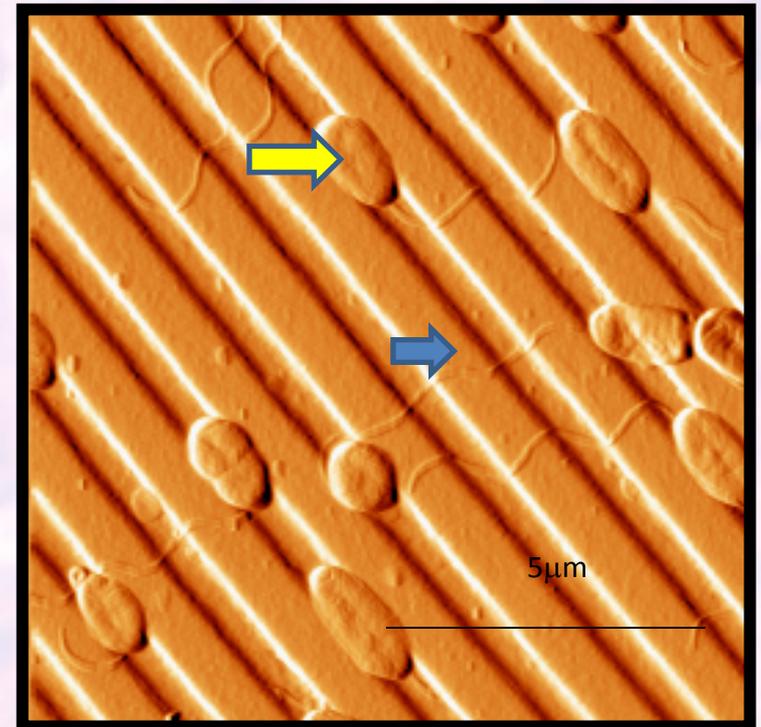


ADHESIÓN DE BACTERIAS SOBRE SUSTRATOS LISOS Y SUBMICROESTRUCTURADOS

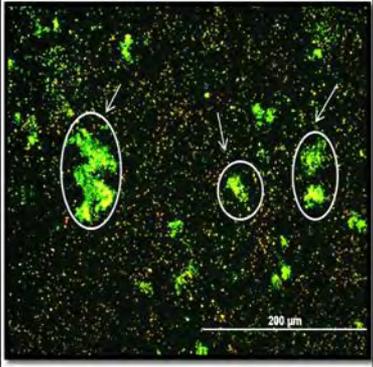
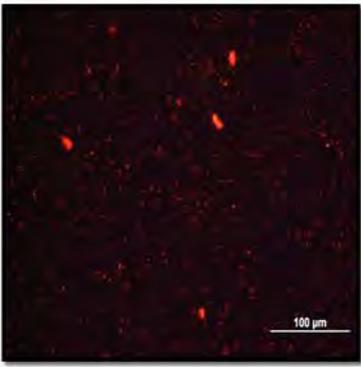
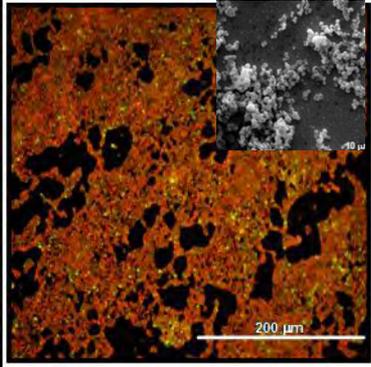
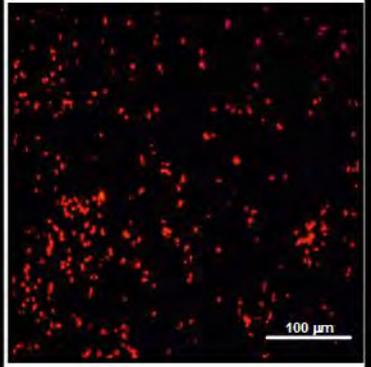
Bacterias en agregados 2D



MS: Bacterias atrapadas en los canales



TRATAMIENTO CON ESTREPTOMISINA

	<i>P. fluorescens</i>		<i>S. aureus</i>	
Substrate	NS	MS	NS	MS
LIVE/DEAD				

LIVE/DEAD BacLight™ Viability Kit. Verde, bacterias con actividad metabólica; rojo, bacteria con baja/nula actividad metabólica

EFFECTO SINÉRGICO MS + ANTIBIÓTICO

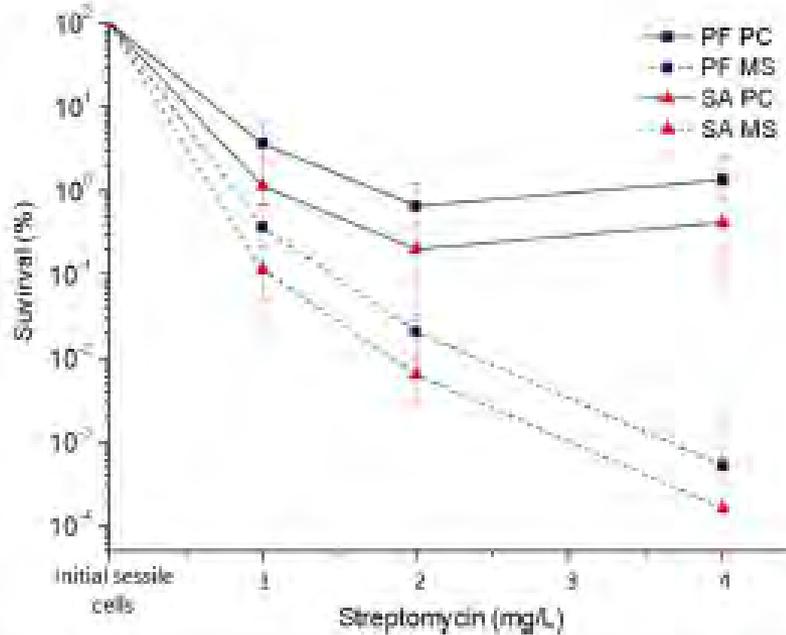
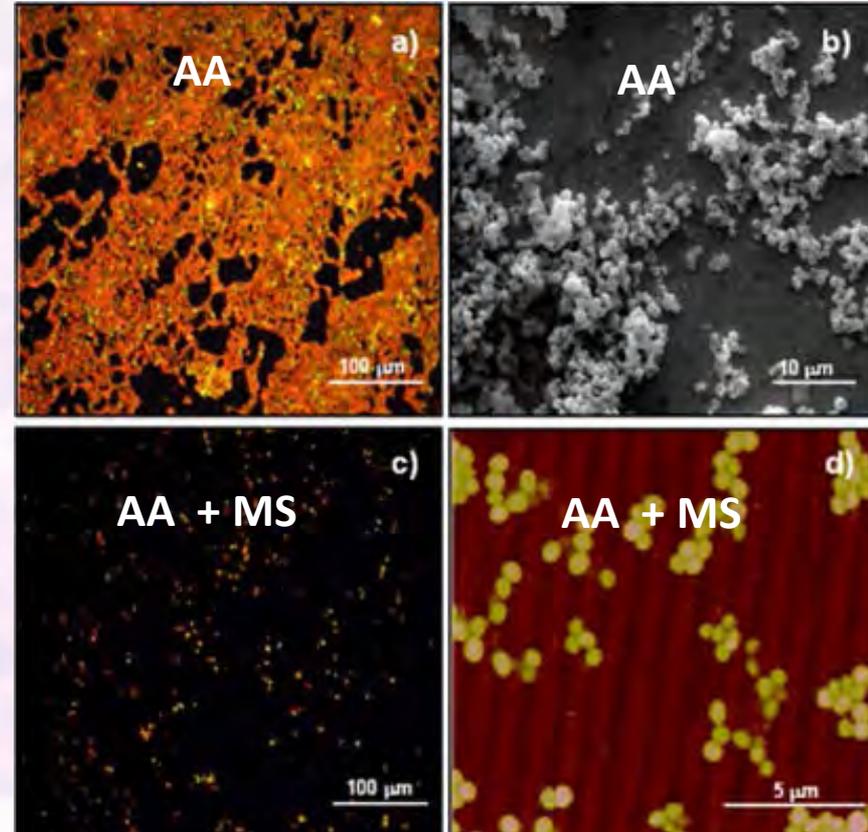


Fig. 4. Effect of streptomycin on viability of *S. aureus* and *P. fluorescens* cells on PC and MS substrates. Results are expressed as mean values \pm SD. Data corresponding to *P. fluorescens* were taken from ref. [26].

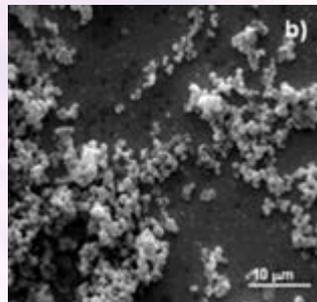


Estrategias *ecocompatibles*: Efectos combinados/sinérgicos

a) **minimizar la corrosión/ controlar la liberación de iones mediante inhibidores ecocompatibles (IEC)**



b) **evitar la formación de biofilms mediante FF/polyFF + MS**



Metales degradables estudiados: Fe, Mg, Cu

Efectos sobre las células dependientes de:

- la naturaleza y concentración de los iones liberados
- los productos insolubles
- la composición del medio
- la distancia desde la fuente liberadora.
- de los aleantes
- del material particulado
- de la línea celular.

Agradecimientos

La ciencia es "nosotros"

Claude Bernard



Lic. Marcos Bertuola

Dra. Carolina Díaz

Dra. Claudia Grillo

Dra. Natalia Fagali

Dra. Rosa M. Lozano

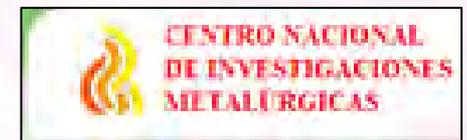
Dr. Alejandro Miñán

Dra. Blanca Perez- Maceda

Dr. Diego Pissinis

Dr. Eduardo Prieto

Dra. Patricia Schilardi



- **ARTICULOS PUBLICADOS (2010-2016) [Investigadores del CENIM, CIB y UAM](#)**

Corrosion behaviour of AZ31 magnesium alloy with different grain sizes in simulated biological fluids

M. Alvarez-Lopez, Maria Dolores Pereda, J.A. del Valle, M. Fernandez-Lorenzo,, [M.C. Garcia-Alonso](#), [O.A. Ruano](#), [M.L. Escuderon](#),, *Acta Biomaterialia* 6, 1763-1771, 2010. **ISSN:** 1742-7061 (Elsevier).

Does over-exposure to copper ions released from metallic copper induce cytotoxic and genotoxic effects on mammalian cells?

C.A. Grillo, M. Reigosa, M. Fernández Lorenzo, *Contracepcion* 81, 343-349, 2010. **ISSN:** 0010-7824, Elsevier.

Corrosion inhibition of powder metallurgy Mg by fluoride treatments.

M.D. Pereda, [C. Alonso](#), L. Burgos-Asperilla, [J.A. del Valle](#), [O.A. Ruano](#), [P. Perez](#), M.A. Fernández Lorenzo de Mele *Acta Biomaterialia*, 6 (2010) 1772–1782 **ISSN:** 1742-7061 (Elsevier).

Critical discussion of the results from different corrosion studies of Mg

and Mg alloys for biomaterial applications. Wolf-Dieter Mueller, M. Lucia Nascimento, Monica Fernández Lorenzo de Mele. *Acta Biomaterialia* 6 (2010) 1749–1755. **ISSN:** 1742-7061 (Elsevier).

Organization of Pseudomonas fluorescens on Chemically Different Nano/Microstructured Surfaces

Carolina Díaz, Roberto C. Salvarezza, Mo'nica A. Fernández Lorenzo de Mele and Patricia L. Schilardi. *Applied Materials and Interfaces*, 2, 2530–2539, 2010. **ISSN** 1944-8244

Have flagella a preferred orientation during early stages of biofilm formation?: AFM study using patterned substrates. C. Díaz, P. Schilardi, R. Salvarezza, M. Fernández Lorenzo, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 82, 536-542, 2011. **ISSN:** 0927-7765 (Elsevier).

Comment on “The Interaction of cells and bacteria with surfaces structured at the nanometer scale”. C.Diaz, P.L. Schilardi, M. Fernández Lorenzo de Mele. *Acta Biomaterialia* 7, 1934-1935, 2011. **ISSN:** 1742-7061 (Elsevier).

Comparative study of fluoride conversion coatings formed on biodegradable powder metallurgy Mg: The effect of chlorides at physiological level.

M. D. Pereda, [C. Alonso](#), M. Gamero, [J.A. del Valle](#), M. Fernández Lorenzo. *Materials Science and Engineering C*, 2011,. 31 (2011), pp. 858-865 (doi 10.1016/m.msec. 2011. 01.010). **ISSN:** 0928-4931 (Elsevier).

Biocompatibility of magnesium particles evaluated by in vitro cytotoxicity and genotoxicity assays. Di Virgilio A.L., Reigosa M., Arnal P.M., Fernández Lorenzo de Mele. *J. Biomed. Mat. Res. B* 2011 99(1), 111-119, 2011. **ISSN:** 1552-4973

Biological effects of magnesium particles degradation on UMR-106 cell line: influence of fluoride treatments. C.A. Grillo, F. Alvarez, M.A. Fernández Lorenzo de Mele, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 88, 471-478, 2011.

doi:10.1016/j.colsurfb.2011.07.035, **ISSN:** 0021-9797 (Elsevier).

Reduction of the “burst release” of copper ions from copper-based Intrauterine Devices (IUD) by organic inhibitors F. Alvarez, P. Schilardi y M. Fernández Lorenzo de Mele, *Contraception* 2012 85(1):91-8. [doi:10.1016/j.contraception.2011.05.011](https://doi.org/10.1016/j.contraception.2011.05.011) **ISSN:** 0010-7824, Elsevier.

Do phosphate ions affect the biodegradation rate of fluoride-treated Mg? C. Alonso, J. del Valle, M. Gamero, M. Fernández Lorenzo, *Materials Letters* 68, 149-152, 2012. **ISSN:** 0167-577X

Chlorhexidine delivery system from titanium/polybenzyl acrylate coating: Evaluation of cytotoxicity and early bacterial adhesion. C. Cortizo, T. Oberti, A. Cortizo, S. Cortizo, M. Fernández Lorenzo, *J of Dentistry*, 40, 329-337, 2012, doi:10.1016/j.jdent.2012.01.00 ISSN: 0300-5712.

Synergistic antimicrobial effect against early biofilm formation: micropatterned surface plus antibiotic treatment. C. Díaz, A. Miñán, P. Schilardi, M. Fernández Lorenzo de Mele. *Intern J. Antimicrobial Agents* 40, 221-226, 2012. ISSN: 0924-8579

Synergistic cytotoxic effects of ions released by zinc-aluminum bronze and the metallic salts on osteoblastic cells. C. Grillo, M.L. Morales, M.V. Mirífico and M. Fernández Lorenzo de Mele. *J. Biomed. Mat. Res. Part A* 7, 2129-2040, 2013. ISSN 1549 3296 (Wiley).

Decrease in cytotoxicity of copper-based IUD pretreated with 6-MP and pterine as biocompatible corrosion inhibitors. Alvarez F, Grillo C, Schilardi P, Rubert A, Benítez G, Lorente C, Fernandez Lorenzo M, *ACS Appl Mater Interfaces*. 2013 Jan 23;5(2):249-55.

Efecto de las micropartículas de Mg con y sin tratamiento con KF en células osteoblásticas y macrófagos. F. Alvarez, [R. Lozano Puerto](#), [B. Perez Maceda](#), C. Grillo, P. Schilardi y M. Fernández Lorenzo. *The Journal of Argentine Chemical Society* 100, 48-52 (2013).

Cellular response to rare earth mixtures (La and Gd) as components of degradable Mg alloys for medical applications. C. Grillo, F. Alvarez, M. Fernández Lorenzo. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*.117, 312-321 (2014). Editorial Elsevier.

Cytotoxicity of corrosion products of degradable Fe-based stents: Relevance of pH and insoluble products. N. Fagali, C. Grillo, M. Fernández Lorenzo. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 128 (2015) 480–488. Editorial Elsevier. ISSN: 0021-9797 (Elsevier).

Degradation of bioabsorbable Mg-based alloys: Assessment of the effects of insoluble corrosion products and joint effects of alloying components on mammalian cells. C. Grillo, F. Alvarez, M. Fernández Lorenzo. *Mat. Sci and Eng C*. 58 (2016) 372–380. Editorial Elsevier. ISSN: 0928-4931 (Elsevier).

Time-Lapse Evaluation of Interactions Between Biodegradable Mg Particles and Cells. Florencia Alvarez, [Rosa M. Lozano Puerto](#), [Blanca Pérez-Maceda](#), Claudia A. Grillo, and Mónica Fernández Lorenzo de Mele. *Microscopy and Microanalysis*, 22, (1), pp. 1-12. (2016). Ed. Cambridge University Press. ISSN: 1431-9276 EISSN: 1435-8115.

The Importance of 2D Aggregates on the Antimicrobial Resistance of Staphylococcus aureus Sessile Bacteria. A. Miñán, P. L. Schilardi and M. Fernández Lorenzo de Mele. *Mat. Sci and Eng. C*. 61:199-206. (2016) doi: 10.1016/j.msec.2015.12.034. Editorial Elsevier. ISSN: 0928-4931 (Elsevier).

Effective inhibition of the early copper ion burst release by purine adsorption in simulated uterine fluids. [Alonso C](#), Casero E, Román E, Campos S, Fernández Lorenzo de Mele M, *Electrochim. Acta* 189, 54-63 (2016). Editorial Elsevier. ISSN: 0013-4686

Reduction of copper ions release by a novel ecofriendly electropolymerized nanolayer obtained from a natural compound (carvacrol). M. Bertuola, C. Grillo, M. Fernández Lorenzo. *J. Hazardous Materials* 313, 262-71 (2016). ISSN: 0304-3894

Capítulos en libros

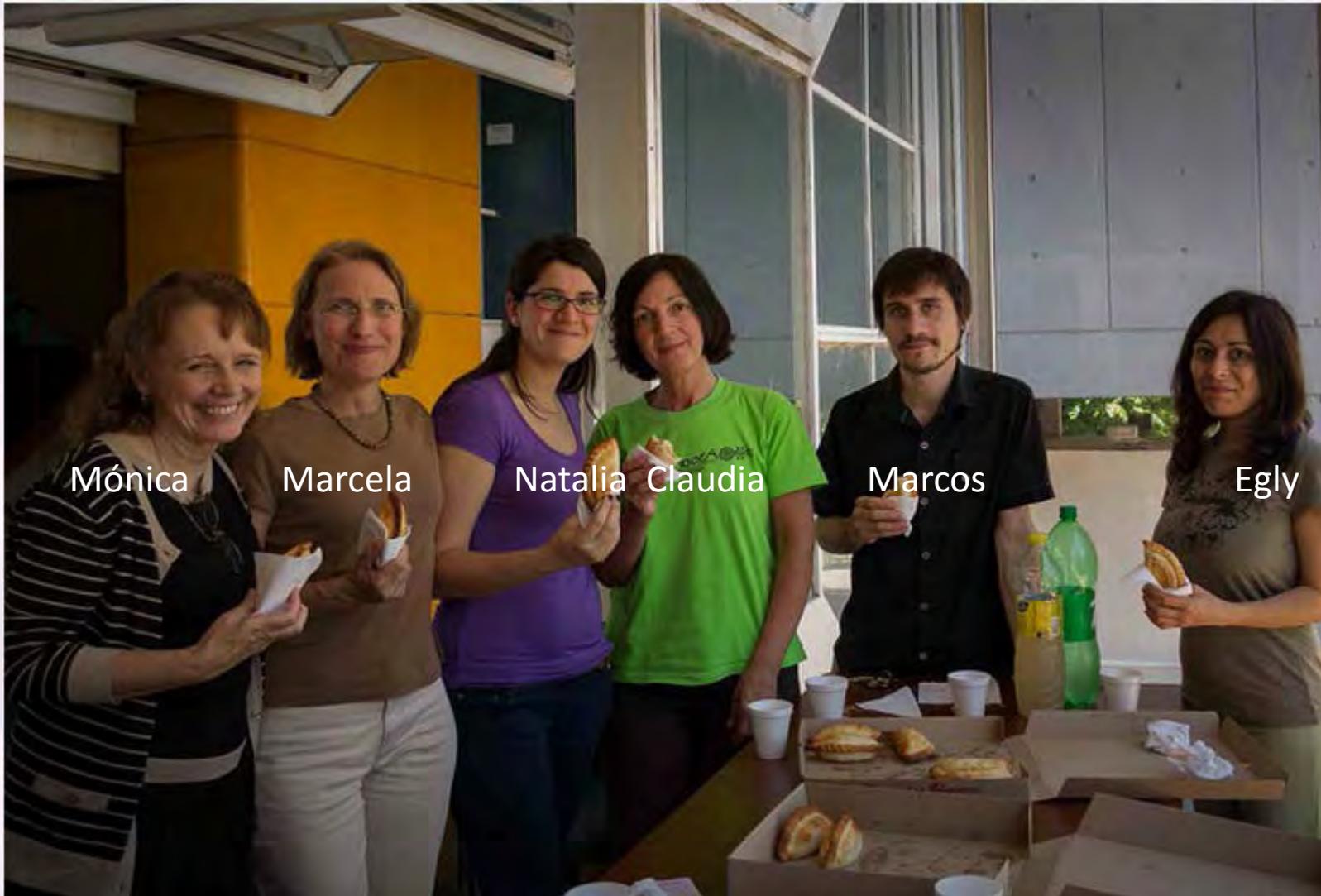
Atomic force microscopy and optical microscopy: suitable tools for the study of the initial stages of biofilm formation.

P. Schilardi, C. Díaz, F. Alvarez, M. Fernández Lorenzo. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology Editor: Antonio Mendez Vilas; Publisher: Formatex Research Center Volume 2 pp. 860-869, ISBN (13): 978-84-614-6195-0 (2010)

Multidimensional microscopy: A suitable technique to follow in vivo the interactions between biodegradable biomaterials and cells. F Alvarez, [R M Lozano Puerto](#), [B T Pérez-Maceda](#), C A Grillo, M A Fernández Lorenzo. Microscopy: Advances in scientific research and education. Editor: Antonio Mendez Vilas; Publisher: Formatex Research Center (pp-523-529, 2014). ISBN: 978-84-942134-4-1.

Biodegradation of metallic biomaterials: its relation with the generation of reactive oxygen species. [Natalia S Fagali](#)¹, [Claudia A Grillo](#)¹, [Susana Puntarulo](#)², [Mónica A Fernández Lorenzo](#). In: Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Protein Oxidation: Ed. A. Catalá, Nova Science Publishers, (capítulo 6, 2014). ISBN 1633218864 (pp. 127-140).

Marcela with IMBioMat at INIFTA eating pies



Mónica

Marcela

Natalia Claudia

Marcos

Egly

GLACIAR PERITO MORENO ARGENTINA









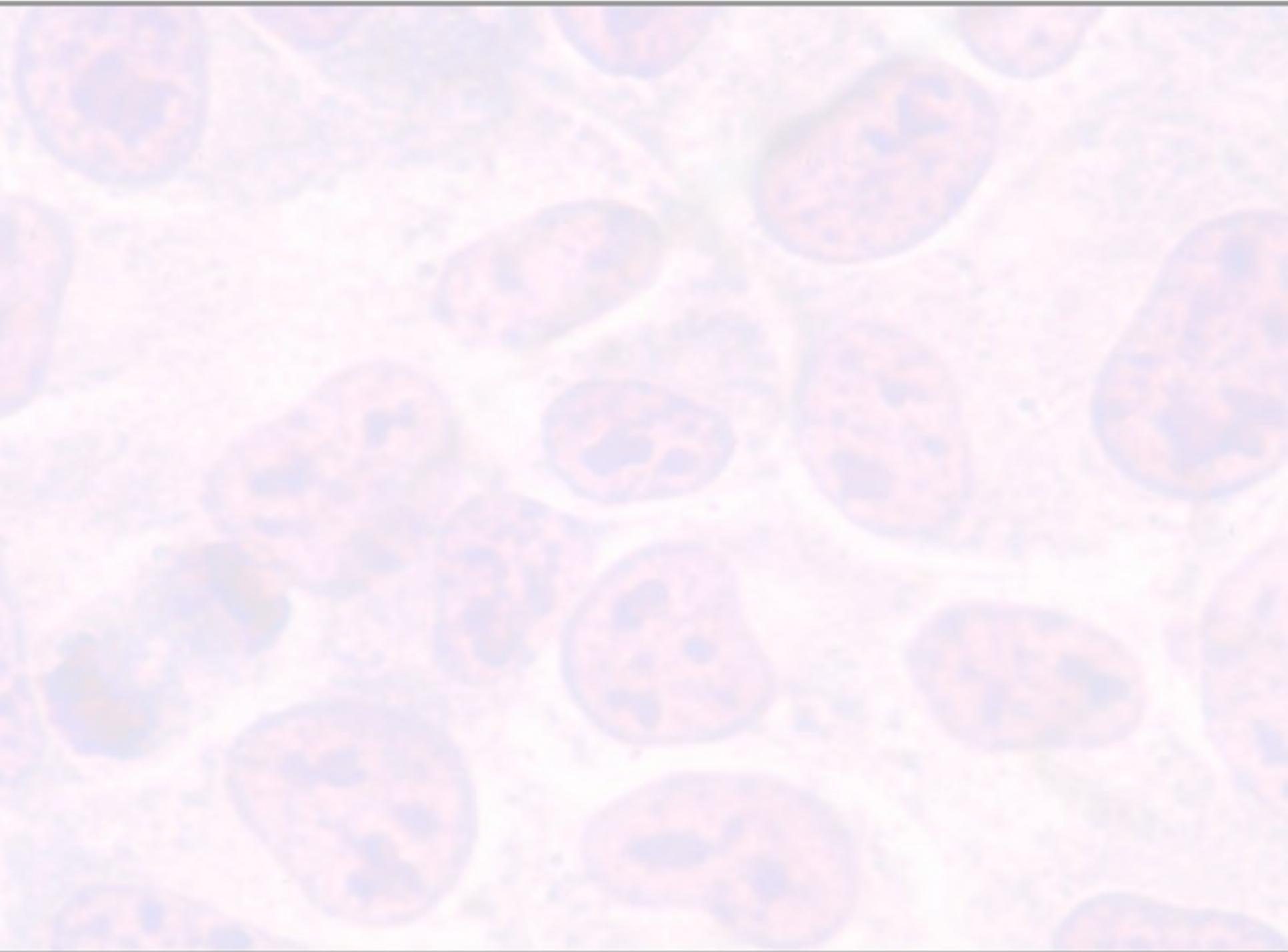


MUCHAS GRACIAS



Muchas Gracias





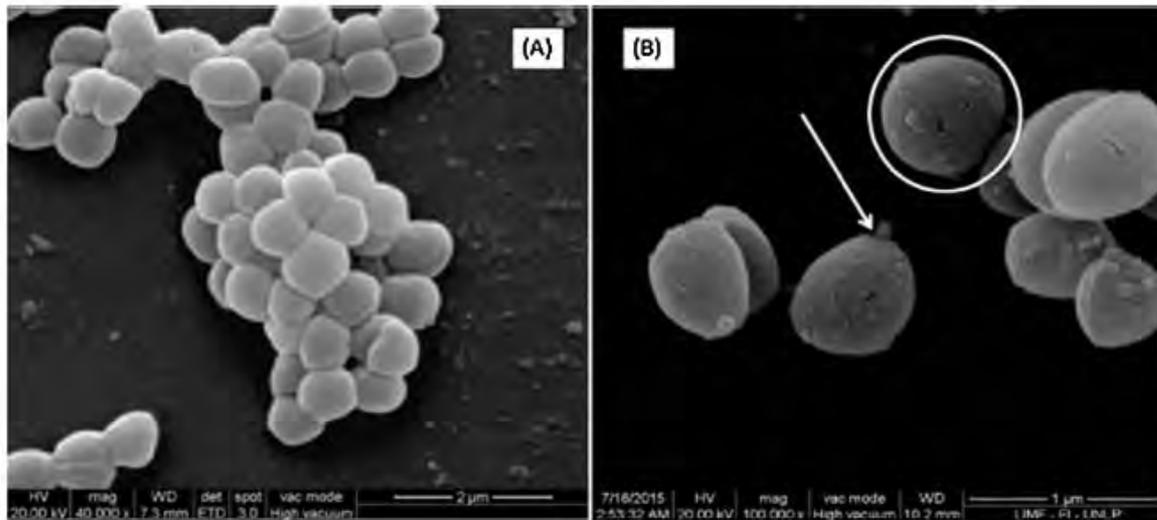


Fig. 5. Scanning electron microscopy images of (A) *S. aureus* biofilm incubated for 15 min without liposomes and (B) *S. aureus* biofilm incubated for 15 min with CaPLi-AO. The arrow show a CaP-coated liposome in close proximity of the bacteria cell.

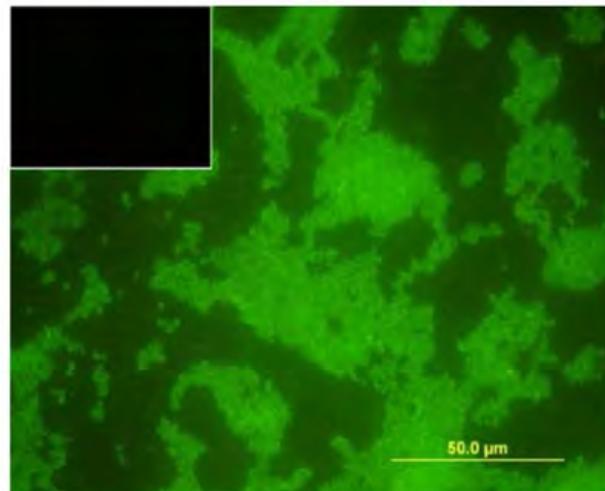


Fig. 7. *S. aureus* biofilm incubated for 2 h with CaPLi-AO. Inset: Luminescence of CaPLi-AO deposited on glass slides as observed in the epifluorescence microscope under identical excitation and emission detection conditions.

- Mg. Partículas de Mg, interacción. Aleantes sinergia.
- Fe. Liberación de iones y productos de corrosión. Estrés oxidativo de los productos insolubles.
- Cu. Liberación de iones. Citotoxicidad. Inhibidores de corrosión biocompatibles.
- Cu. Protección por películas poliméricas ecocompatibles.