

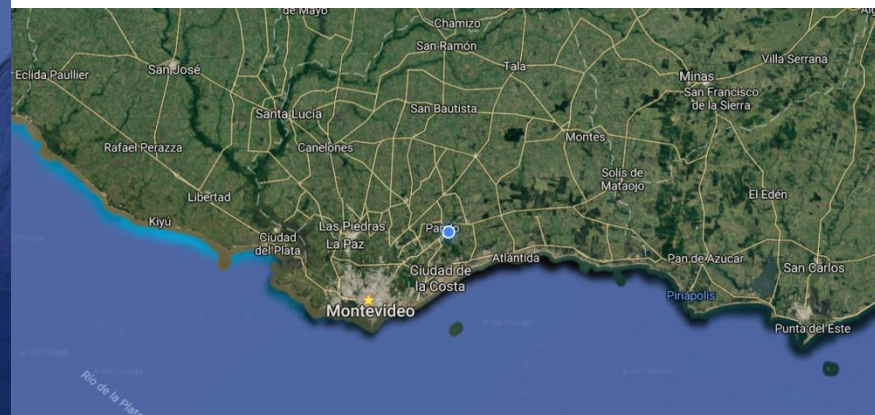
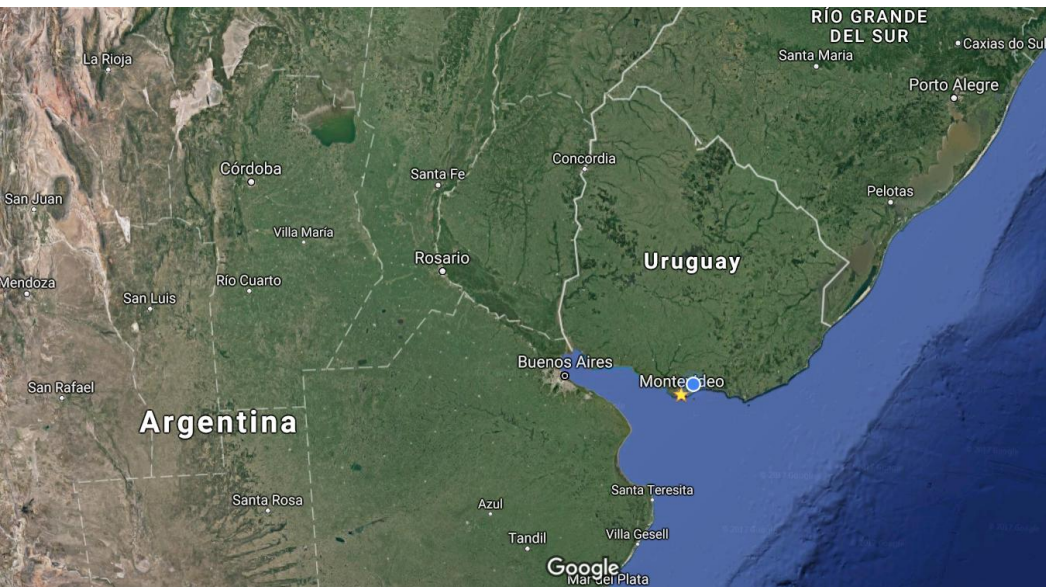


***Líneas de investigación desarrolladas en Centro NanoMat
Instituto Polo Tecnológico de Pando - Facultad de Química - Udelar***



Dra. Helena Pardo
Centro NanoMat
Instituto Polo Tecnológico de Pando
Facultad de Química - Udelar





Principales líneas de I+D+i desarrolladas en el Centro NanoMat

- Matrices biopoliméricas para aplicaciones de ingeniería tisular
- Micro y nanoencapsulación de compuestos bioactivos
- Materiales nanocarbonosos

Matrices colagénicas de reposición tisular

A partir de un abordaje de la ciencia de materiales generar constructos biopoliméricos, biodegradables y biocompatibles que sirvan para aplicaciones de ingeniería tisular

Establecer sinergías que permitan lograr un abordaje multidisciplinario para el desarrollo de investigaciones en el campo de la medicina regenerativa

Desarrollar matrices colagénicas con características fisicoquímicas y arquitecturales adecuadas para su aplicación en reparación tisular

El colágeno es un muy buen biomaterial y presenta múltiples ventajas incluso respecto de otros biomateriales sintéticos, por lo que, es ampliamente utilizado en aplicaciones médicas

El colágeno bajo la forma de film, se utiliza en el tratamiento de quemaduras, úlceras y heridas de difícil cicatrización como coadyuvante de la misma

Las matrices de colágeno pueden utilizarse como soportes para realizar liberación controlada de fármacos (drug-delivery)

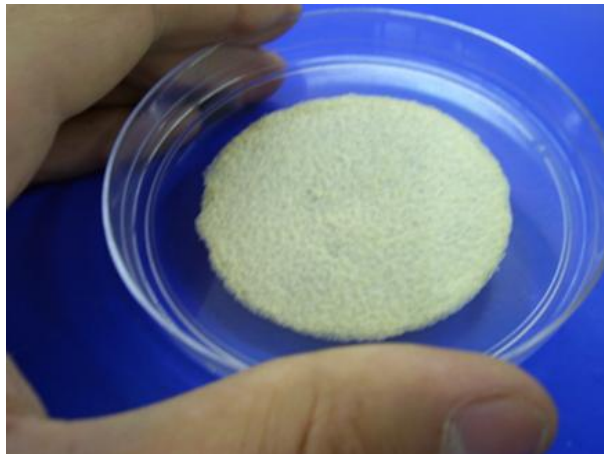
Se emplea como materia prima al tendón bovino el que es considerado para muchos otros procesos como un residuo (frigoríficos e industrias cárnicas)

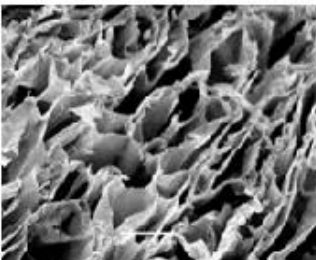
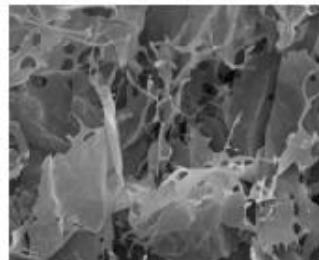
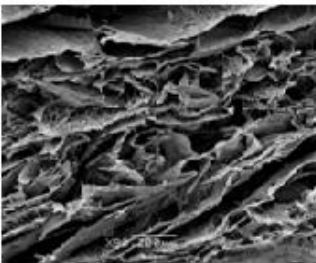
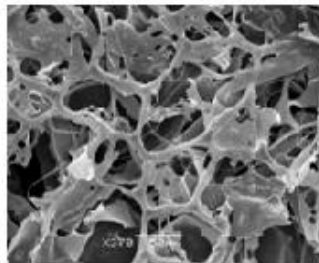
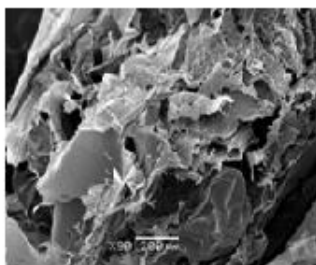
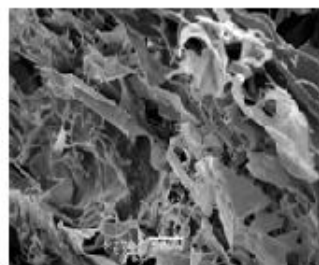
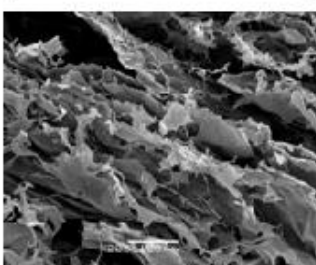
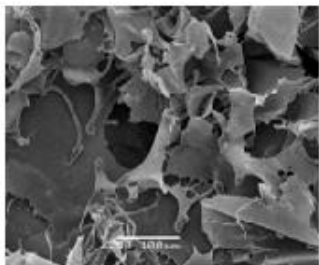
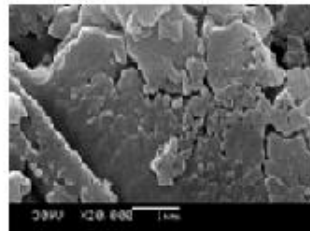
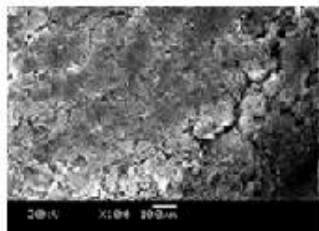
Los telopéptidos del colágeno humano son prácticamente superponibles a los de colágeno bovino

Uruguay es de los pocos países que a nivel mundial tienen el status de ser libre de encefalitis espongiforme bovina (“vaca loca”), por lo que el diseño de una solución dérmica de esta naturaleza es una oportunidad para nuestro país

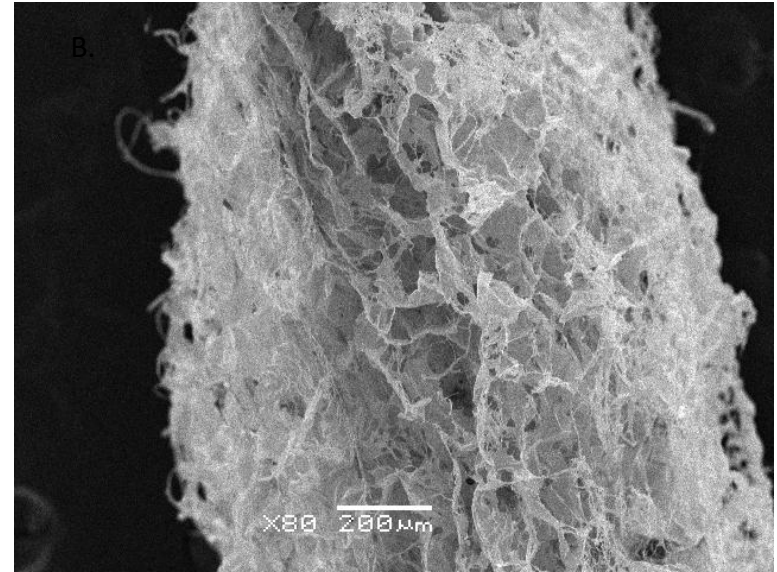
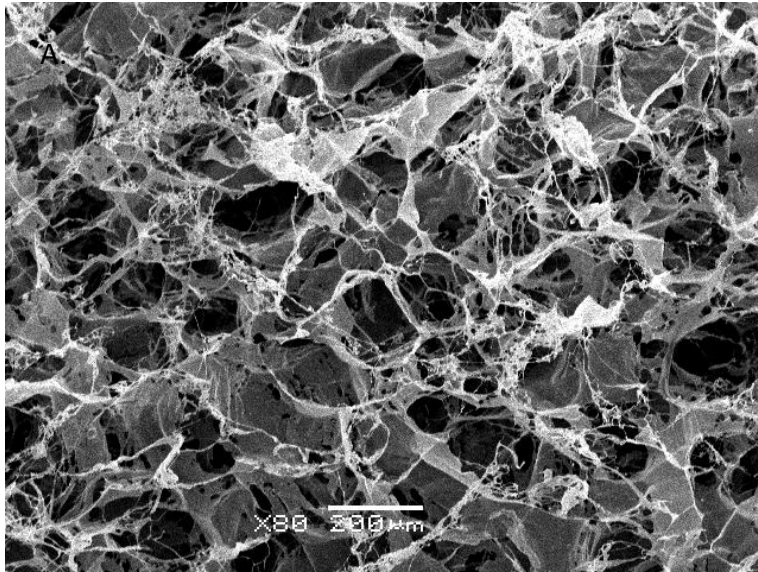
Para la fabricación de las matrices se utiliza como materia prima al colágeno tipo I

- La reticulación primaria del colágeno se realiza mediante el agregado de sulfato de coindroitin de origen bovino
- Se agita para homogeneizar la suspensión y se congela en placa petri a $T = -80^{\circ}\text{C}$
- Se somete a irradiación gamma
- Se liofiliza



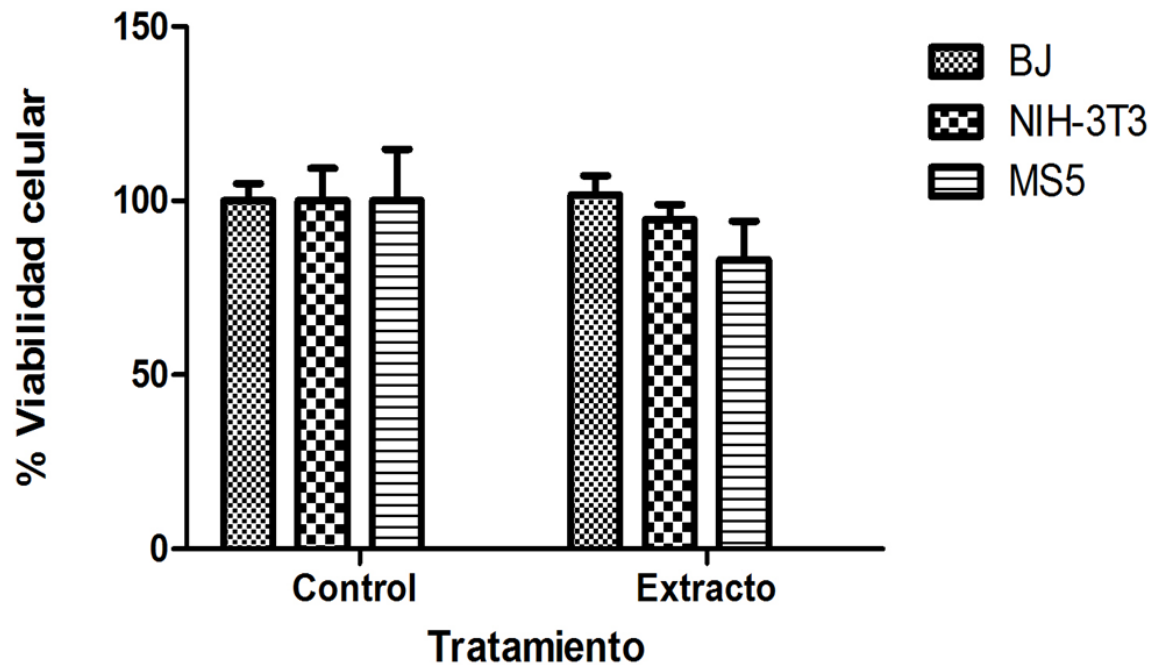


Imágenes de microscopía electrónica de barrido mostrando la reticulación obtenida a diferentes dosis de irradiación gamma



Andamios de colágeno producidos por liofilización descenso controlando de temperatura e irradiados

Ensayo de citotoxicidad



Viabilidad de las células BJ (fibroblastos humanos), NIH-3T3 y MS5 al ser incubadas en el extracto de la matriz (derecha) y sus respectivos grupos control incubados con su correspondiente medio de cultivo suplementado

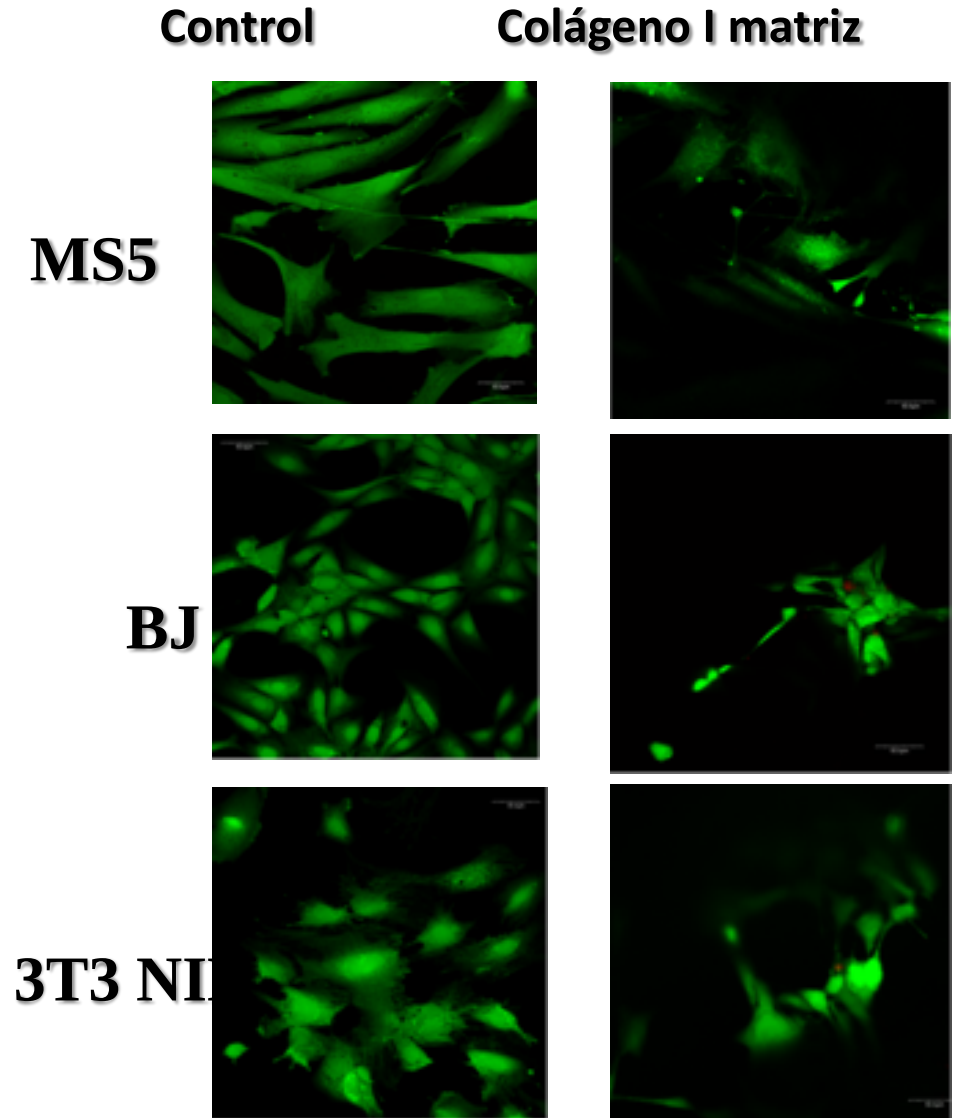
Ensayos de adhesión celular
sobre las matrices colagénicas
de las líneas celulares:

3T3 NIH (fibroblastos de ratón)

BJ (fibroblastos humanos)

MS5 (células mesenquimales
humanas)

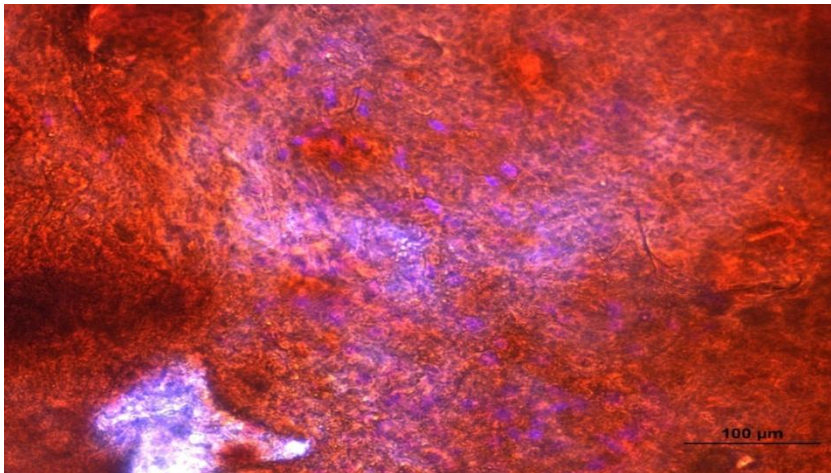
Observaciones de microscopia
confocal empleando tinciones
con PI y FDA



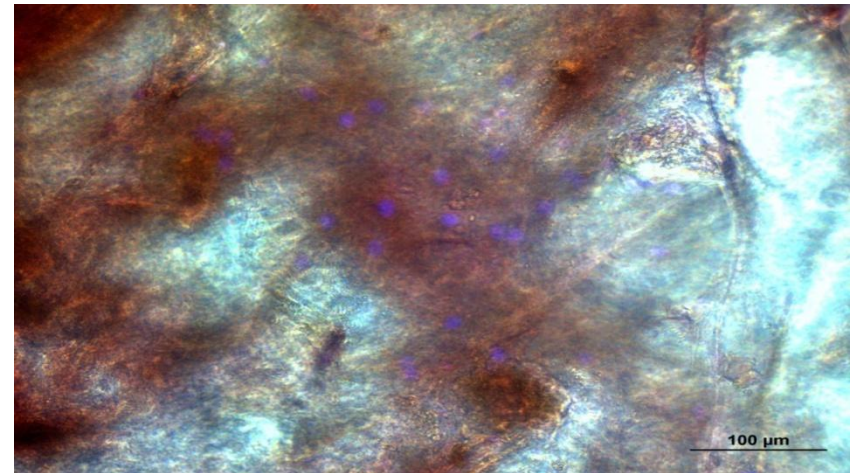
- Todos los tipos celulares evaluados logran adherirse a la membrana y penetrar a distintas profundidades de la misma
- Las células sobre la membrana presentan una buena morfología con prolongaciones considerables

Evaluación de la capacidad de diferenciación sobre la matriz de MSC

MSC sembradas sobre la matriz
sin diferenciar



MSC sembradas sobre la matriz
diferenciadas a linaje osteogénico



Las células estromales mesenquimales MSC provenientes de médula ósea fueron diferenciadas al linaje osteogénico luego de ser sembradas sobre la matriz colagénica y expuestas al medio inductor de diferenciación. Las células fueron fijadas y teñidas con el colorante Alizarin Red el cual tiñe los depósitos extracelulares de calcio

Nanoencapsulación de compuestos bioactivos

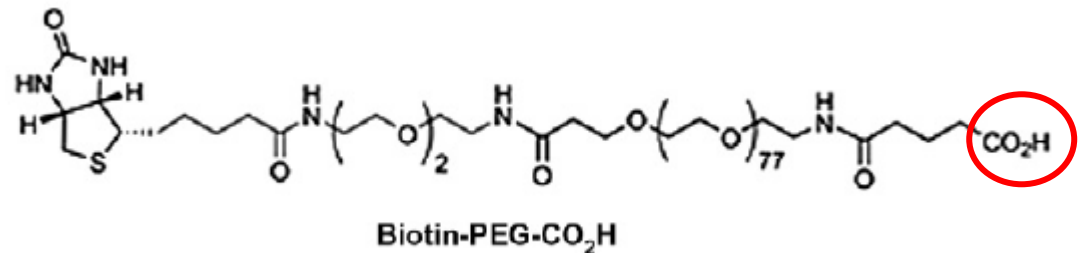
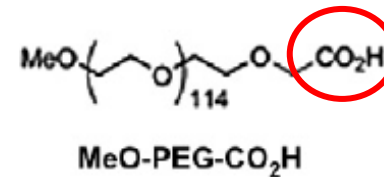
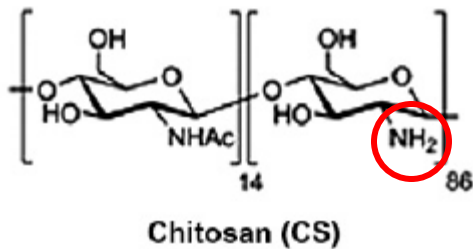
Aplicación farmacéutica

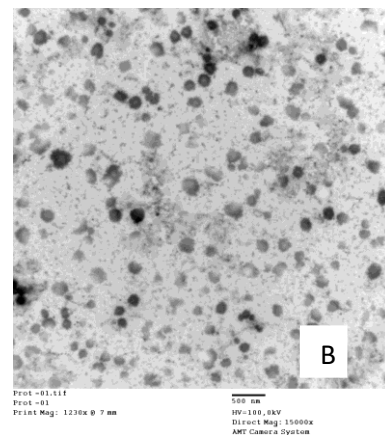
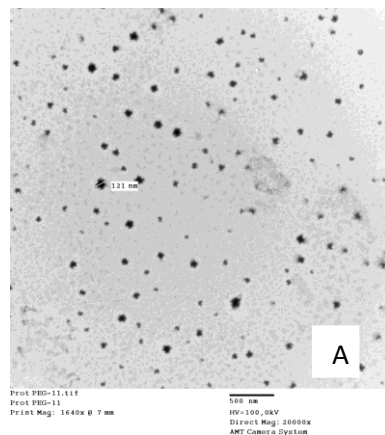
Formulación, síntesis y evaluación las características físico-químicas y biológicas de nanosistemas de entrega de una droga anticancerígena a través del mecanismo de vectorización activa mediante funcionalización con el anticuerpo quimérico Chi-Tn

Nanopartículas de Quitosano

1- Pegilación del quitosano

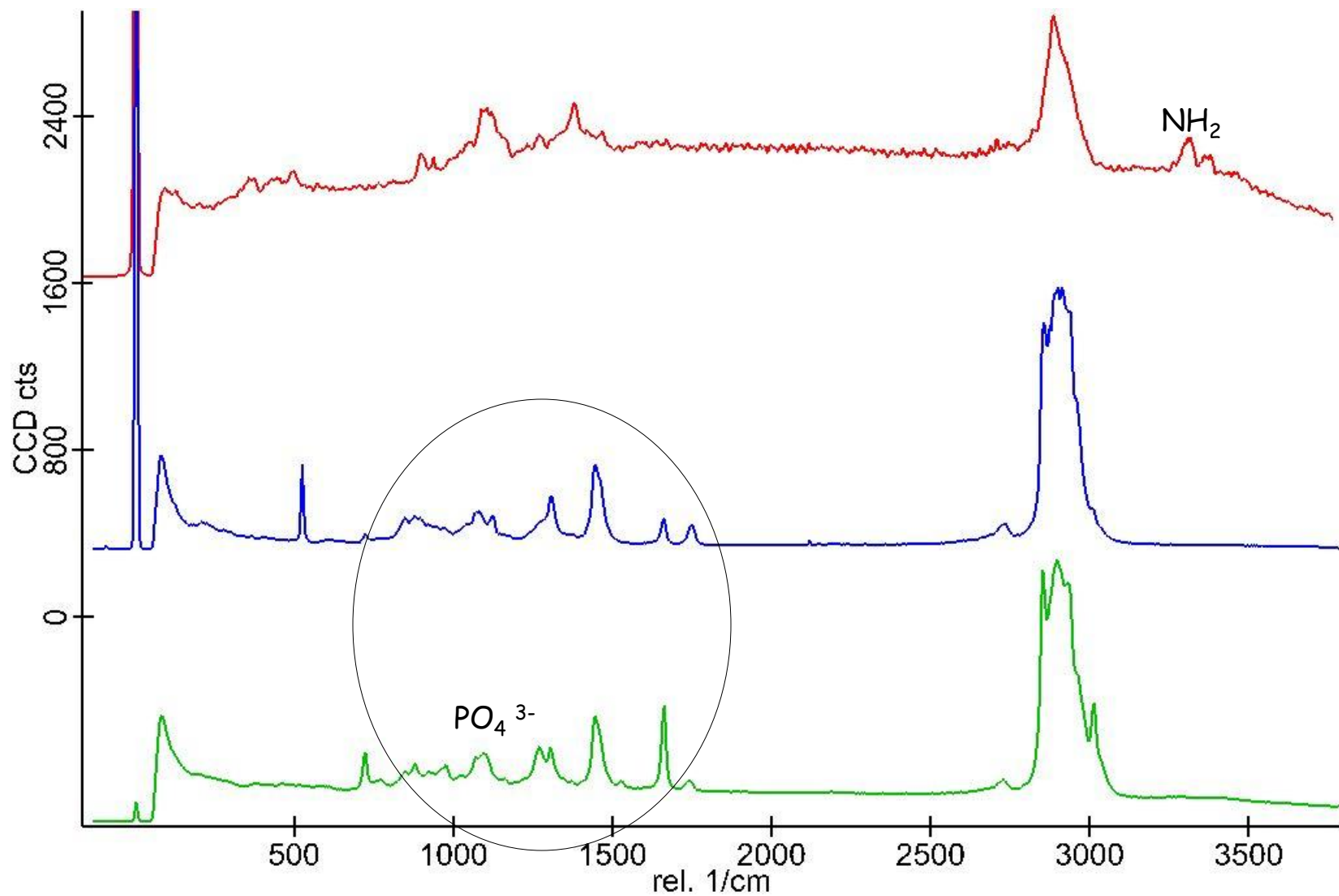
Se genera un enlace entre el grupo amino del quitosano y el ácido carboxílico del PEG y/o PEG-Biotina



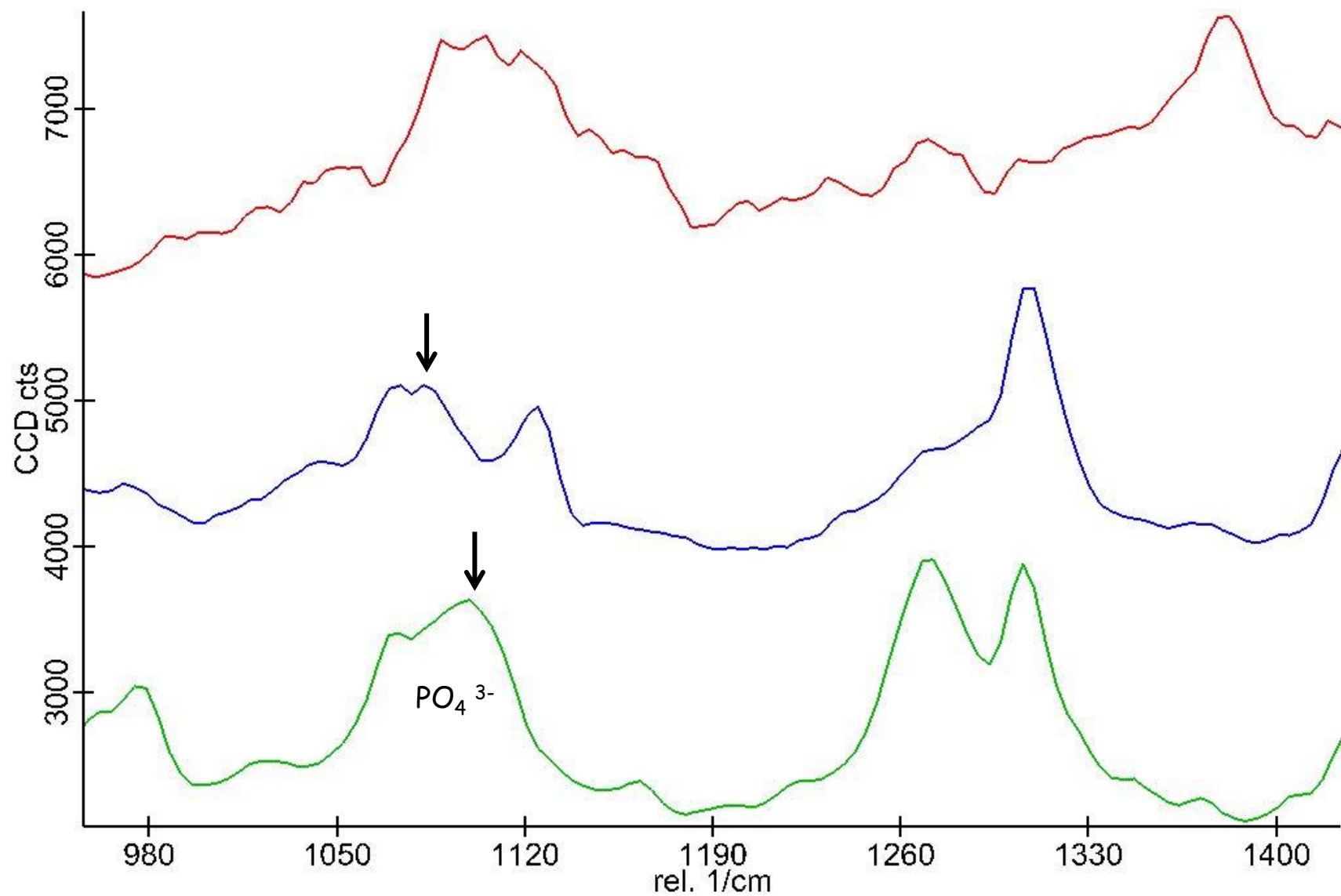


Imágenes obtenidas por TEM de las nanopartículas de CS con (A) y sin (B) PEG.

Formulación	Tamaño (nm)	IP	Potencial Z (mV)	EE (%)
NpCS	179.4 ± 2.1	0.3	31.4 ± 2.1	-
NpCS-PEG	150.7 ± 2.5	0.1	31.6 ± 1.9	-
NpCS-PEG-DCX	225.4 ± 1.8	0.2	38.7 ± 0.9	99.8 ± 0.1



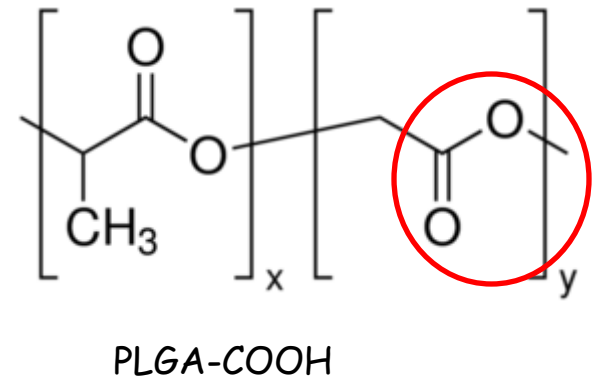
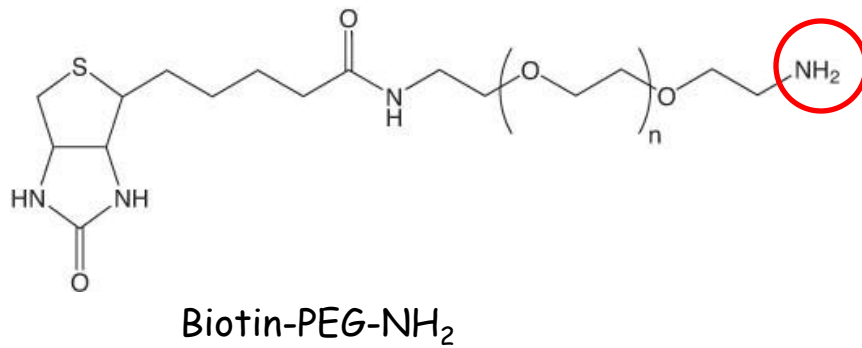
Espectro Raman de quitosano(—), nanocápsulas de quitosano (—) y lecitina de soja (—)

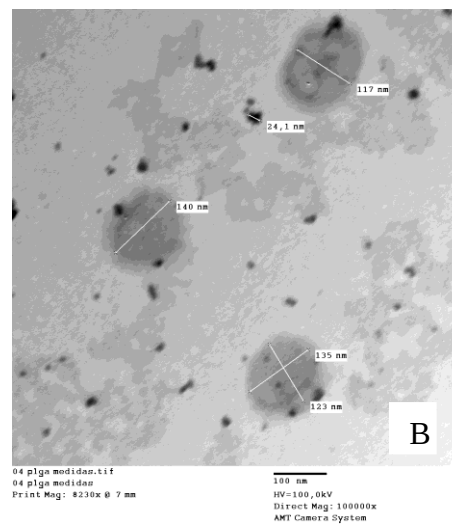
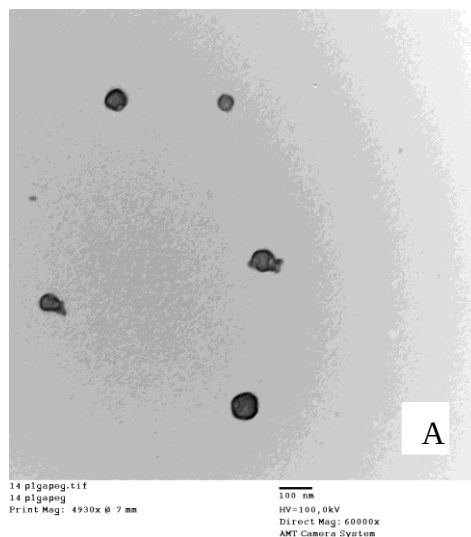


Espectro Raman de quitosano(), nanocápsulas de quitosano () y lecitina de soja ()

Nanopartículas de PLGA

1. Se genera un enlace entre el grupo amino del PEG y el grupo carboxilo del PLGA.





Imágenes obtenidas por TEM de las nanopartículas de PLGA con (A) y sin (B) PEG

Formulación	Tamaño (nm)	IP	Potencial Z (mV)	EE (%)
NpPLGA	161.6 ± 3.1	0.1	-23.4 ± 0.7	-
NpPLGA-PEG	127.9 ± 0.3	0.1	-26.6 ± 0.4	-
NpPLGA-PEG-DCX	116.9 ± 0.9	0.05	-29.0 ± 0.5	$27,3 \pm 2.8$

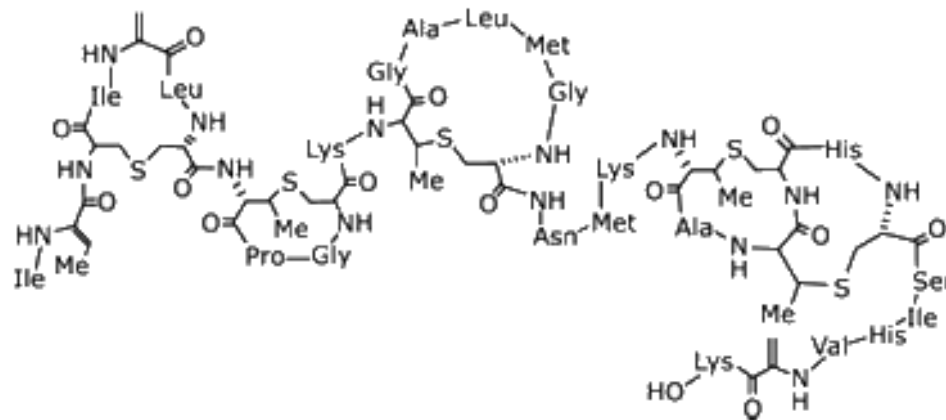
Aplicación alimentaria

Formulación, síntesis y evaluación las características físico-químicas y biológicas de un nanosistema de entrega de un activo bactericida para aplicaciones en inocuidad alimentaria

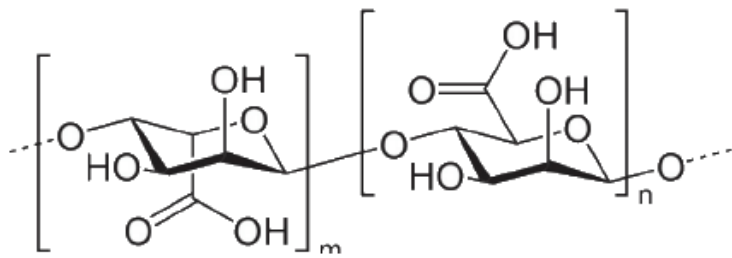
Nanopartículas de alginato-quitosano

Nisina

- Bacteriocina catiónica natural
- Actividad antibacteriana bacterias Gram positiva, *Listeria monocytogenes*
- Ampliamente estudiada en productos cárnicos y lácteos
- Actividad limitada en alimentos por interacciones no deseadas



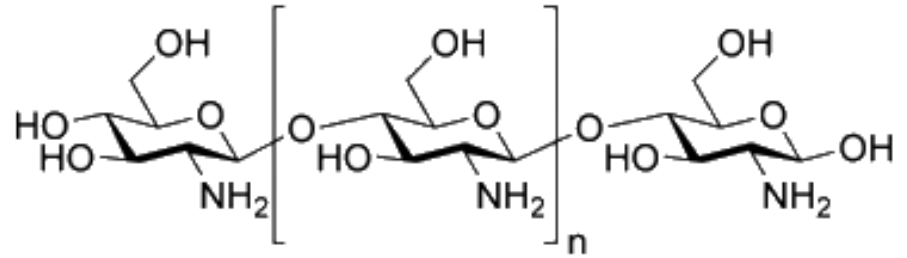
ALGINATO



(G) Guluronato

(M) Manuronato

QUITOSANO



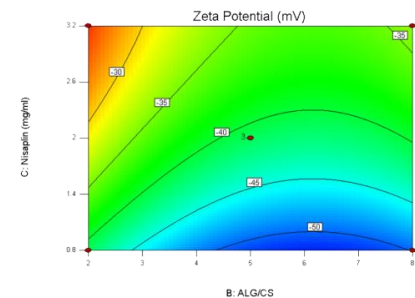
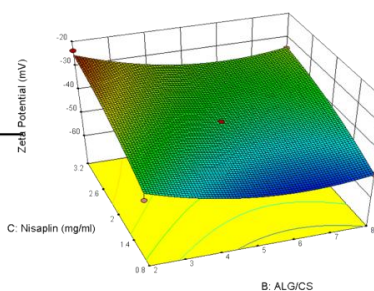
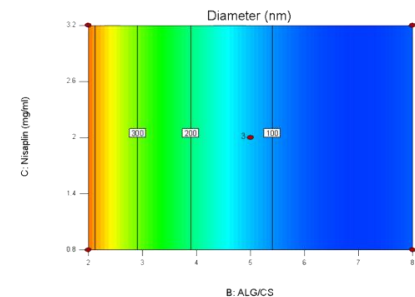
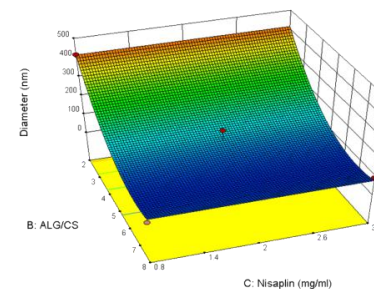
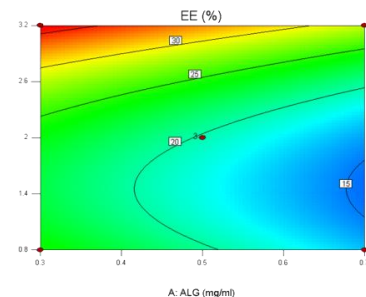
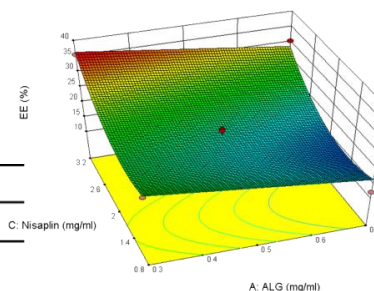
Biocompatibles, biodegradables, no tóxicos.

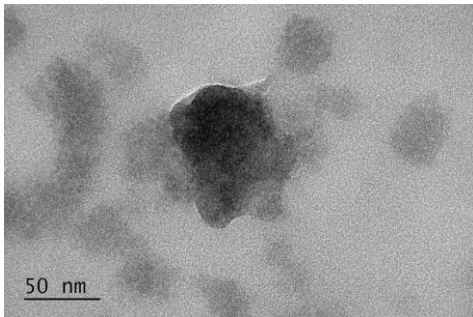
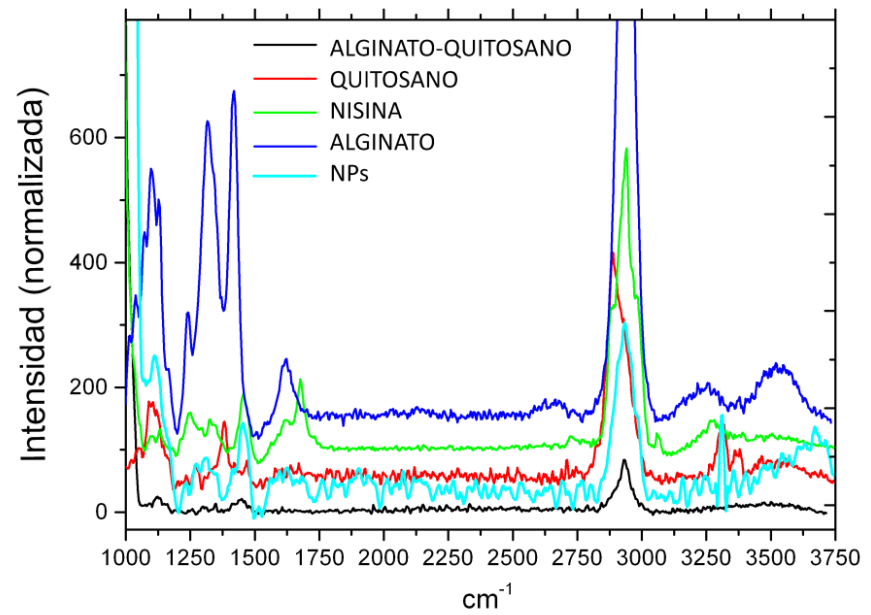
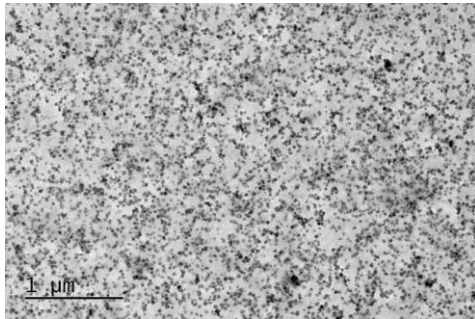
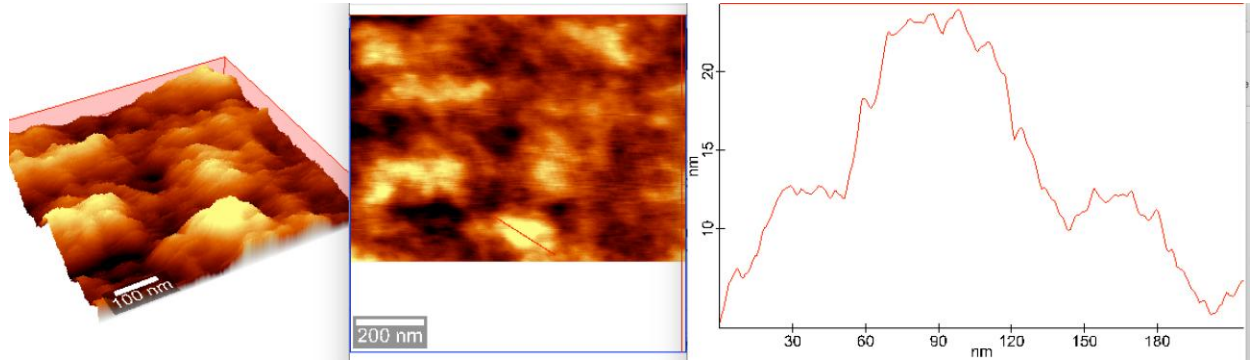
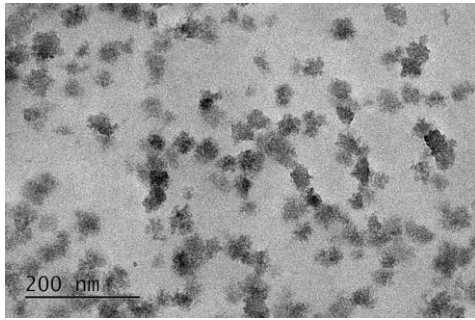
Diseño experimental

Corrida	Variables independientes			Variables dependientes		
	X_1 (mg/ml)	X_2 (w/w)	X_3 (mg/ml)	Y_1 (%)	Y_2 (nm)	Y_3 (mV)
1	0.7	5	3.2	30.5	204	-38.7
2	0.3	5	0.8	23.7	57	-46.0
3	0.5	8	0.8	19.3	61	-50.0
4	0.7	2	2	15.1	472	-29.8
5	0.5	8	3.2	31.9	93	-34.6
6	0.5	5	2	21.8	112	-42.1
7	0.7	5	0.8	12.1	104	-53.2
8	0.3	8	2	21.7	122	-33.1
9	0.3	2	2	23.2	403	-31.0
10	0.5	5	2	21.2	106	-42.0
11	0.5	5	2	19.6	175	-41.0
12	0.5	2	0.8	26.5	418	-44.3
13	0.5	2	3.2	32.4	377	-23.7
14	0.7	8	2	15.9	40	-45.6
15	0.3	5	3.2	35.6	86	-33.2

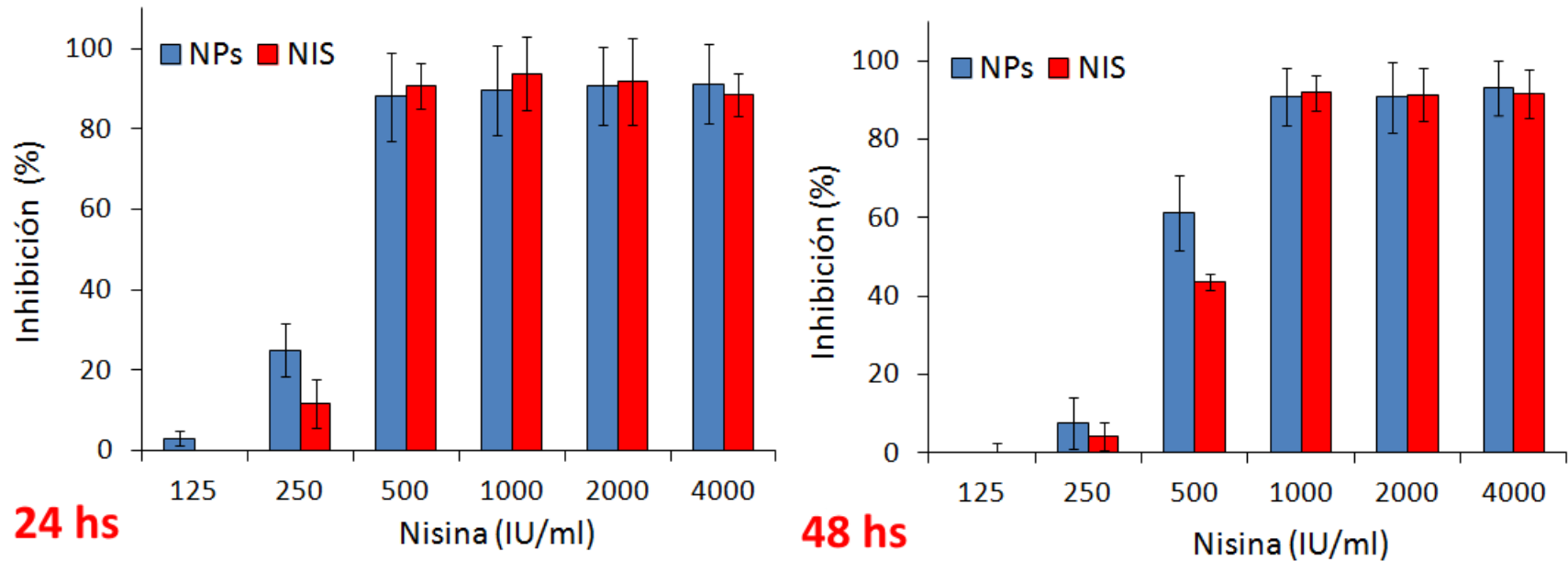
Formulación óptima:

- EE = 36.1 ± 0.6 %
- Diámetro de partícula = 66.4 ± 8.9 nm
- Potencial zeta = -31.7 ± 2.6 mV





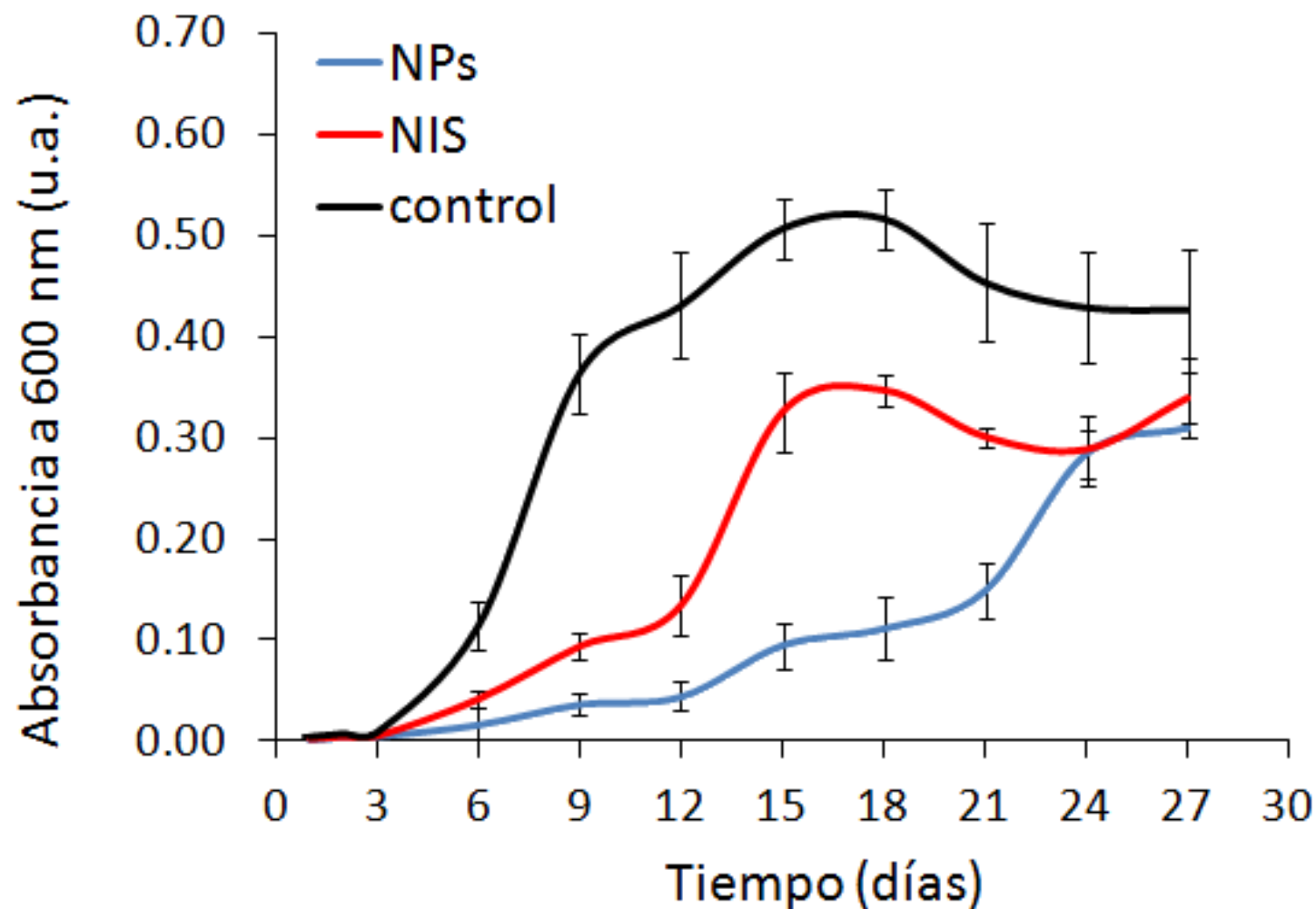
Actividad antibacteriana *in vitro*: CMI, 37 °C



- 24 hs: CMI = 500 IU/ml para ambos sistemas

- 48 hs: CMI = 1000 IU/ml para ambos sistemas

Actividad antibacteriana *in vitro*, 4 °C



Actividad antibacteriana en carne vacuna, 4°C

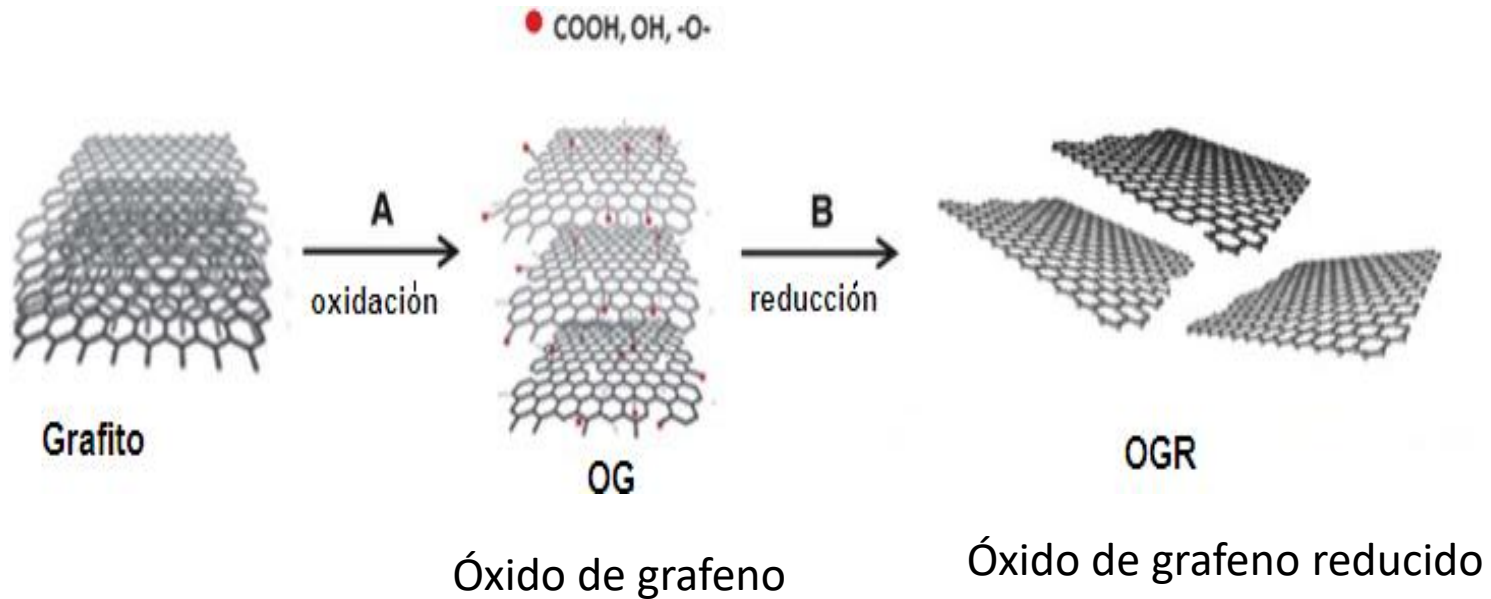
Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)				
	0	4	10	17	24
Control	4.5 ± 0.2 ^{a, A}	4.9 ± 0.2 ^{a, A}	4.3 ± 0.7 ^{a, A}	4.2 ± 0.5 ^{a, A}	4.5 ± 0.4 ^{a, A}
NIS 400 IU/g	1.3 ± 0.0 ^{b, B}	2.3 ± 0.0 ^{b, BA}	3.6 ± 0.5 ^{a, A}	3.1 ± 0.4 ^{ab, A}	2.7 ± 1.2 ^{ab, A}
NPs 400 IU/g	1.3 ± 0.0 ^{b, B}	1.3 ± 0.0 ^{c, B}	3.5 ± 0.6 ^{a, A}	3.1 ± 0.8 ^{ab, A}	3.9 ± 0.5 ^{ab, A}
NIS 800 IU/g	1.3 ± 0.0 ^{b, A}	1.3 ± 0.0 ^{c, A}	1.6 ± 0.6 ^{b, A}	3.2 ± 0.7 ^{ab, A}	2.0 ± 1.2 ^{b, A}
NPs 800 IU/g	1.3 ± 0.0 ^{b, A}	1.3 ± 0.0 ^{c, A}	1.6 ± 0.6 ^{b, A}	1.6 ± 0.6 ^{b, A}	1.7 ± 0.8 ^{b, A}

* log (cfu/g) ± SD

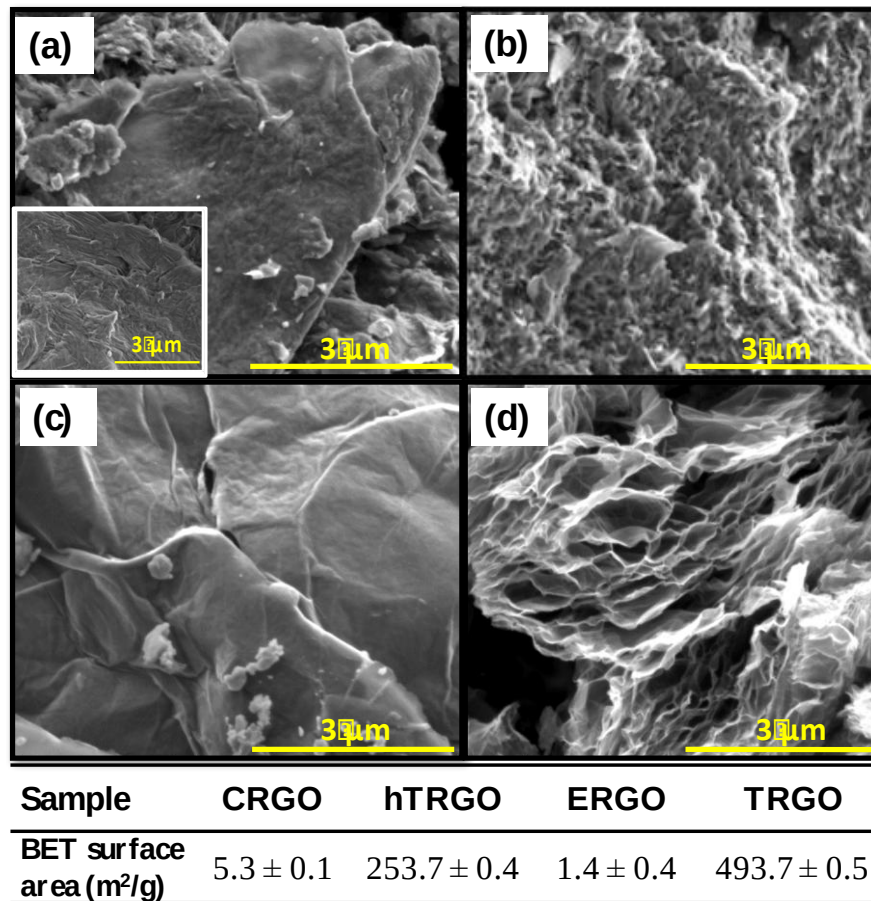
- Muestras con NIS y NPs tuvieron una reducción inicial de aprox. 3 log vs. control
- No hubo diferencias significativas en nivel de 800 IU/g
- Tratamiento con NPs permitió prolongar el período de inhibición de crecimiento bacteriano (4 días vs 10 días)

Nanosistemas carbonosos

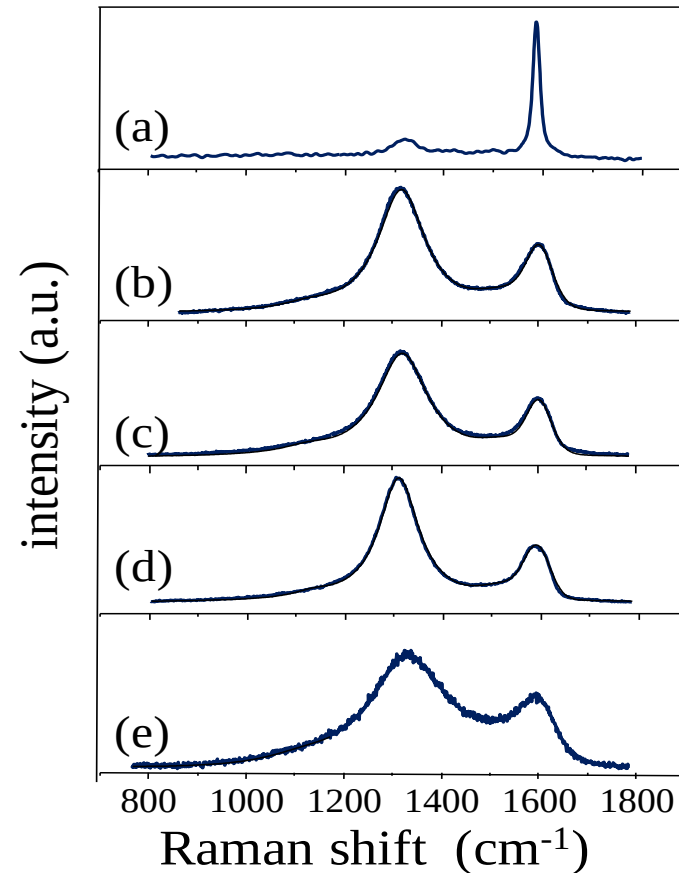
Materiales Basados en Grafeno



- Reducción Química (OGRQ)
- Reducción Térmica (OGRT)
- Reduccion Hidrotermal (OGRhT)



Imágenes SEM de los óxido de grafeno reducidos (a) químicamente (b) hidrotermalmente (c) electroquímicamente (d) termalmente



Espectros Raman de (a) grafito y de los óxido de grafeno reducidos (a) químicamente (b) hidrotérmicamente (c) electroquímicamente (d) térmicamente

NanoMat:

- Dr. Álvaro Mombrú
- Dra. Helena Pardo
- Dr. Ricardo Faccio
- Lic. Analía Castro
- Br. Juan Pablo Villanueva
- Q.F. Pablo Miranda
- Lic. Luciana Pereira
- Dr. Mariano Romero

Entidades financiadoras:

- ANII
- Pedeciba
- CSIC, UdelaR

Científicos colaboradores:

- Dra. Caterina Rufo
- Dr. Eduardo Osinaga
- Dra. Cristina Touriño
- Dra. Nora Berois
- Dra. Inés Álvarez
- Ing. Alim. Giannina Brugnini
- Dra. Lourdes Echarte
- Dra. Natalia Marquisá
- MSc. Natalia Oddone
- Dr. Juan C. Benech
- Lic. Walter Vicentino
- Dr. Héctor Perez Campo
- Q.F. Antonio Malanga
- I.Q. Sofía Inario
- Dra. Iris Miraballes
- Lic. Álvaro Olivera



Muchas Gracias!!!!