

ANEXO 7

MEMORIA TÉCNICA DE RESULTADOS

Al finalizar el proyecto el beneficiario presentará una Memoria Técnica de Resultados que deberá recoger, al menos, los puntos siguientes:

1. DATOS DESCRIPTIVOS

- Título del Proyecto: **Funcionalización de superficies antifouling con propiedades antibacterianas**
- Fecha de inicio: **2016** Fecha fin: **2017**
- Nombre del Grupo de Investigación: **Grupo de Biomateriales, Biomecánica e Ingeniería de Tejidos (BBT)**
- Subvención concedida por la Fundación HERGAR (en euros): **2.000 €**

Indicar las personas que han participado en el proyecto subvencionado, así como la entidad a la que pertenecen.

- Dr. José María Manero Planella (BBT, Universitat Politècnica de Catalunya, UPC)
- Dr. Carlos Mas Moruno (BBT, UPC)
- Dr. Daniel Rodríguez Rius (BBT, UPC)

1. Resumen y objetivos del proyecto

Una de las principales causas de fracaso de las prótesis ortopédicas es la presencia de biofilms bacterianos en su superficie. Gracias a la protección del biofilm, las bacterias que lo forman tienen una elevada tolerancia al sistema inmunitario y los medicamentos suministrados. Dada la relación existente entre la formación del biofilm bacteriano y el fracaso de las prótesis implantadas, una estrategia prometedora para reducir el proceso de infección consiste en prevenir que las bacterias se adhieran a la superficie del biomaterial.

El presente proyecto de investigación planteaba preparar una novedosa combinación de péptidos antibacterianos con recubrimientos *antifouling*. Esta combinación dotaría las superficies tratadas con un doble efecto antimicrobiano: bacteriostático y bactericida. De forma adicional, se pretendía combinar la acción antimicrobiana con la capacidad adhesiva de la secuencia peptídica RGD para obtener un efecto sinérgico en las superficies de los implantes, mejorando su estabilidad y funcionalidad. Con ello, este proyecto representa un avance importante respecto a las estrategias actuales de lucha contra las infecciones en implantes metálicos.

2. Descripción de la relación de actividades desarrolladas durante la ejecución del proyecto.

2.1 Recubrimiento de la superficie con PEG funcionalizado.

Superficies de titanio (Ti) comercialmente puro grado 2 fueron pulidas, limpiadas y activadas mediante plasma de oxígeno. A continuación las muestras metálicas fueron funcionalizadas con cadenas de (poli)etilenglicol (PEG) modificadas con grupos amina mediante electrodeposición.

2.2. Adhesión a la superficie de las moléculas bifuncionales.

Se sintetizó una plataforma peptídica bifuncional (hLf1-11 + RGD) (Figura 1) mediante metodología de síntesis de péptidos en fase sólida, usando la estrategia Fmoc/tBu. Esta biomolécula se unió

covalentemente a los grupos amina de los recubrimientos tipo PEG mediante el agente entrecruzante N-succinimidil 3-maleimido propionato.

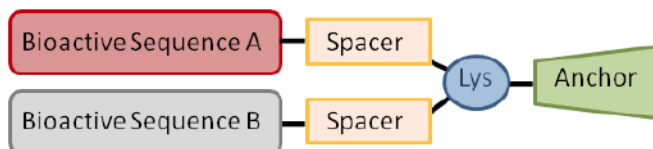


Figura 1. Estructura de la plataforma peptídica

2.3. Caracterización de los recubrimientos funcionalizados.

La capa de PEG y la presencia de la biomolécula se caracterizaron mediante interferometría de luz blanca, FIB-SEM, ángulo de contacto, FTIR y XPS.

Las medidas de FIB-SEM mostraron que la capa de PEG tiene un grosor de unos 20 nm. Esta capa no modifica la rugosidad de las muestras y reduce drásticamente su ángulo de contacto, indicando una mayor hidrofiliidad. La presencia de la biomolécula fue confirmada por bandas características de grupos amida en el espectro de IR, así como por un aumento en los % de C 1s y N 1s en el espectro de XPS.

La capa de PEG y la presencia de la biomolécula se caracterizaron mediante interferometría de luz blanca, FIB-SEM, ángulo de contacto, FTIR y XPS.

La respuesta biológica fue estudiada a nivel celular *in vitro* con células de tipo osteoblástico (SAOS-2) y a nivel bacteriano con cepas de *S. aureus* y *S. sanguinis*.

A nivel celular, la presencia de la plataforma bifuncional demostró una mejora en la adhesión celular (número de células y área) en comparación con las muestras de Ti sin funcionalizar y las muestras recubiertas con PEG. La plataforma también mejoró la proliferación de los osteoblastos y su capacidad para mineralizar.

A nivel bacteriano, los recubrimientos de PEG redujeron drásticamente la adhesión de las cepas bacterianas usadas. Notablemente, la incorporación de la plataforma, que incluye el péptido antibacteriano LF1-11, aumentó el carácter antibacteriano de las muestras.

En resumen, nuestra estrategia, basada en la unión de una molécula bifuncional (LF1-11 + RGD) a superficies recubiertas con PEG, ha dotado las superficies de un triple efecto altamente novedoso y avanzado:

- El efecto antifouling/bacteriostático de la capa antifouling
- El efecto bactericida del péptido LF1-11
- El efecto osteointegrativo del péptido RGD

3. Acciones de difusión y sostenibilidad del proyecto.

La diseminación de los resultados se hará mediante su publicación en revistas científicas indexadas y en presentaciones en congresos y conferencias de ámbito nacional e internacional.

4. Indicar si se ha seguido la metodología de trabajo propuesta o ha habido alguna variación.

La unión de PEG se realizó mediante electrodeposición, y no silanización como estaba inicialmente propuesto. Este cambio en la metodología se debió a estudios preliminares de optimización en nuestro grupo de investigación que reflejaron que la electrodeposición era un método más ventajoso, además de ser más económico y sostenible.

No hubo otras variaciones respecto la metodología propuesta.

5. Órganos de evaluación y seguimiento para la consecución de los objetivos fijados. Periodicidad prevista para el seguimiento e indicadores.

El proyecto ha sido periódicamente supervisado por los miembros del equipo de investigación mediante reuniones mensuales.

6. Nuevas necesidades para alcanzar los objetivos del proyecto.

De cara a evaluar el potencial de estos recubrimientos a nivel clínico se plantean estudios *in vivo* en modelos animales. Se está trabajando en nuevas propuestas para obtener financiación que permita desarrollar estos estudios.

7. Remisión de un artículo científico en el que se exponga su proyecto de investigación y resultados para su posterior publicación en las Revistas Científicas del Grupo CEF & UDIMA.

En estos momentos el equipo de investigación envía un artículo para su presentación.



Dr. José Mª Manero