



**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES  
ELECTROACTIVOS PARA SOPORTE DE CRECIMIENTO NEURONAL**

**Ana Milena Cruz Rodríguez**

Tesis Doctoral

Programa de Doctorado en Ciencia de Materiales

Directora: Prof. Nieves Casañ Pastor

Tutor: Dr. Josep Peral

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
FACULTAD DE CIENCIAS



JULIO DE 2010



# Capítulo 5

## Capas Mixtas de $\text{TiO}_2$ e $\text{IrO}_x$

En este capítulo se resume los resultados obtenidos en la síntesis y caracterización de capas finas de un óxido mixto de titanio e iridio con el que se pretende reunir las mejores características de los óxidos estudiados en los capítulos 3 y 4. Además se pretende hacer un paralelismo entre los tres materiales y comparar su función como sustratos de crecimiento neuronal.

Primero se realiza una introducción sobre los óxidos mixtos reportados en la bibliografía, los métodos de síntesis comúnmente usados así como su posible aplicación en estimulación neurológica.

Luego se presenta un estudio de la superficie de las capas obtenidas mediante diferentes técnicas de caracterización que muestran la composición, microestructura y comportamiento eléctrico del material dependiendo de las condiciones de síntesis, de los tratamientos térmicos realizados y del contenido de iridio de las capas.

Una vez expuestas las propiedades fisicoquímicas del material en estudio se muestran los resultados de biocompatibilidad de las capas y el desarrollo neuronal mediante cultivos de 4 días *in vitro* a alta densidad cuantificando la supervivencia celular así como la extensión de las neuronas.

Por último se presentan las conclusiones donde se correlacionan los resultados obtenidos en la caracterización de la fase obtenida con los datos provenientes de los cultivos celulares.



## 5.1 Óxidos Mixtos de Iridio y Titanio

Como fue mencionado en capítulos anteriores, los sensores y electrodos de estimulación se utilizan hoy en día en implantes en el sistema nervioso para el tratamiento clínico de un gran número de condiciones médicas relacionadas con desordenes neurológicos humanos tales como el Parkinson [1]. Sin embargo, aún hay problemas que limitan el uso de electrodos implantables, casi siempre relacionados con la biocompatibilidad del material [2], o con la eficacia de la transferencia de carga entre el material y el tejido [3]. Estos factores evidencian la necesidad de desarrollar nuevos materiales con mejores propiedades electroquímicas [4].

Las aleaciones de platino/iridio [5] y los óxidos de iridio  $\text{IrO}_x$  [6,7] han sido ensayados y usados para este propósito. Por otro lado, el titanio metálico ha sido usado para implantes estructurales [8]. Como fue mencionado en el capítulo 3, se conoce que el titanio forma capas de  $\text{TiO}_2$  que pasivan el metal y contribuyen de gran manera a la biocompatibilidad siendo al mismo tiempo un notable neutralizador de radicales de oxígeno. Mientras que el  $\text{IrO}_x$  es conductor, el  $\text{TiO}_2$  estequiométrico en cualquiera de sus formas es aislante. Sin embargo, estudios realizados [9,10], han demostrado que el  $\text{TiO}_2$  soporta el crecimiento y asegura la supervivencia de células neuronales, en las fases de rutilo y anatasa.

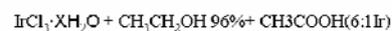
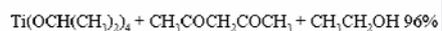
Los electrodos implantables de  $\text{IrO}_x$  son altamente biocompatibles [11], y esta tesis pretende explorar su papel como soporte de crecimiento neuronal. En el transcurso del desarrollo se han publicado de modo simultáneo algunos estudios sobre el  $\text{TiO}_2$  que indican que puede ser utilizado como substrato para crecimiento neuronal [12,13]. El dopaje redox del  $\text{TiO}_2$  con un componente que indujera conductividad, podría permitir su uso como electrodo en celdas electroquímicas que podrían promover la influencia en la dirección, velocidad de crecimiento y la ramificación de las dendritas de las neuronas, como se intenta con otras fases.

Un dopaje ideal podría ser con un metal precioso como el iridio de reconocida biocompatibilidad [14]. Puesto que el  $\text{IrO}_x$  es conductor y cristaliza en una estructura similar a la del  $\text{TiO}_2$ , es además apropiado en principio en cuanto a

factores estructurales. En la bibliografía existe un precedente de la obtención del óxido mixto  $Ir_xTi_{1-x}O_2$  en un estudio de actividad catalítica [15]. Estos estudios han aportado información útil acerca del papel que las interacciones electrónicas pueden tener en electrodos fabricados con óxidos binarios.

La electrodeposición es una técnica que está siendo actualmente utilizada para la obtención de capas de óxido de iridio debido a la estabilidad del material obtenido en comparación a otras técnicas como anodización del iridio metálico o *sputtering* [15]. Sin embargo las propiedades aislantes del  $TiO_2$  no han permitido la obtención de un híbrido  $Ir_xTi_{1-x}O_2$  utilizando este método. Otros compuestos binarios de  $Pt-IrO_2$  y  $Pt-RuO_2$  han sido sintetizados por el método sol gel [16], que se presenta como una buena alternativa para la obtención de óxidos metálicos puros y homogéneos con un área superficial alta. Además, este método permite la producción de materiales de composición compleja de una manera muy simple como se explicó en el capítulo 3. En este trabajo se abordó la obtención del óxido mixto  $(Ir-Ti)O_x$  que podría reunir lo mejor de los óxidos individuales a menor coste, utilizando dicho procedimiento.

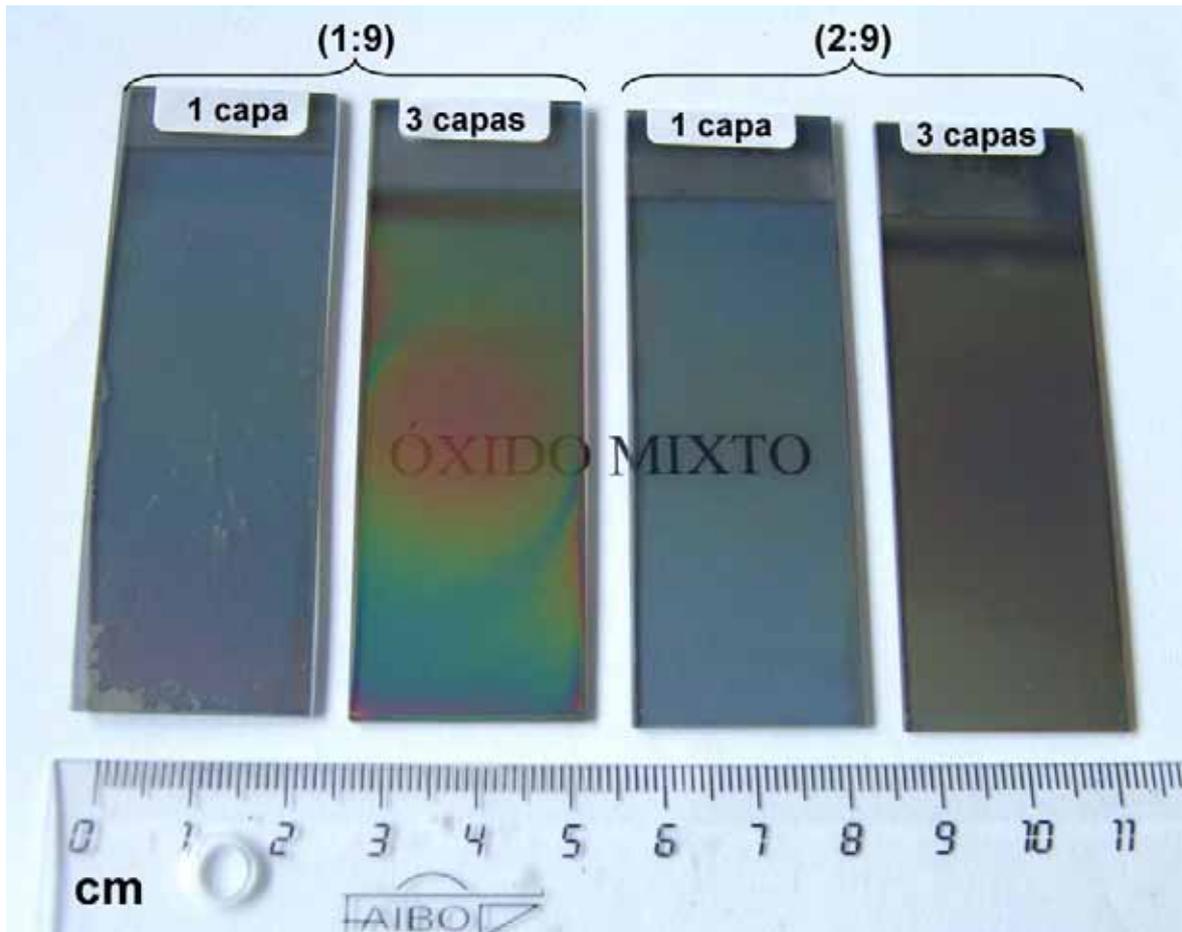
Se obtuvieron películas de un óxido mixto de titanio e iridio  $(Ir-Ti)O_x$ , mediante la hidrólisis sol-gel de precursores y deposición en sustratos de vidrio o cuarzo recubiertos con platino, mediante *Spin Coating*, con un tratamiento térmico adicional. Las proporciones Ir/Ti elegidas en los ensayos tratan de minimizar el contenido de Ir para reducir el coste, al tiempo que favorecen la existencia de conductividad electrónica. En concreto se utilizaron proporciones Ir/Ti, de 1:9 y 2:9. Posteriormente se realizó una caracterización estructural, microestructural y electroquímica de las muestras por diferentes técnicas. Una vez caracterizadas las muestras fueron utilizadas como sustratos de cultivos neuronales para establecer una correlación entre la microestructura, las propiedades y la supervivencia celular en los diferentes materiales. La Figura 5.1 muestra un diagrama de flujo de las actividades realizadas:



**Figura 5.1** Diagrama de flujo para la obtención y caracterización de capas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$ .

## 5.2 Obtención de Capas Finas de $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$

Las capas finas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  fueron obtenidas por *spin coating* según el método descrito en la sección 2.1.1 del capítulo 2. En el método, el Ti está en forma de isopropóxido y el Ir como cloruro. La Figura 5.2 muestra las capas de óxido mixto obtenidas. En la imagen puede apreciarse que las capas son translúcidas y de diferentes tonalidades. El color de las capas depende del espesor y de la cantidad de iridio depositada siendo más violetas las que poseen mayor cantidad de iridio y más verdes las de menos cantidad. Inicialmente se sintetizaron capas con una relación molar Ir/Ti de 1:9 en la disolución inicial pero como se verá más adelante en los resultados de XPS el valor obtenido para el Ti fue aproximadamente el doble de lo esperado. Por esta razón se sintetizaron capas con una relación de 2:9 para obtener una cantidad de Ir mayor en las muestras.

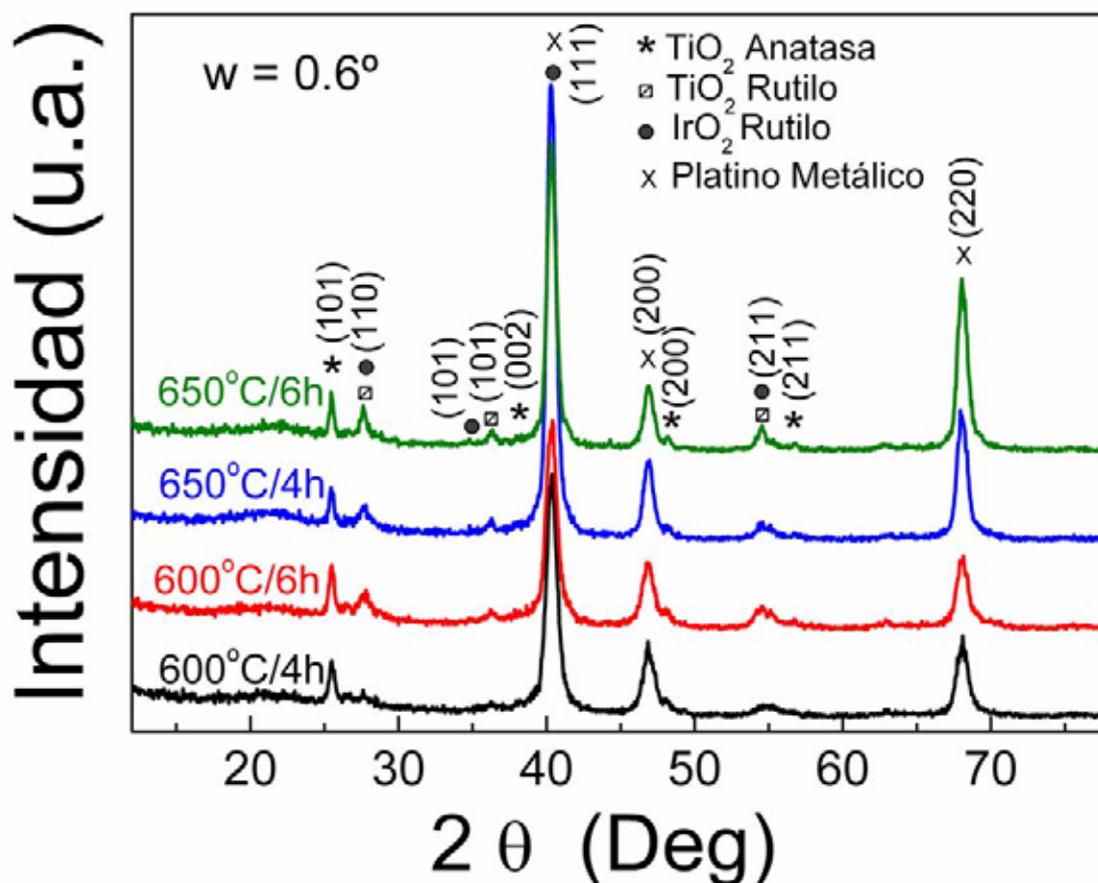


*Figura 5.2* Capas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  obtenidas por spin coating ( $600^\circ\text{C}$  6 horas) sobre Pt-cuarzo con diferentes relaciones Ir/Ti y diferentes número de capas.

### 5.3 Análisis Estructural

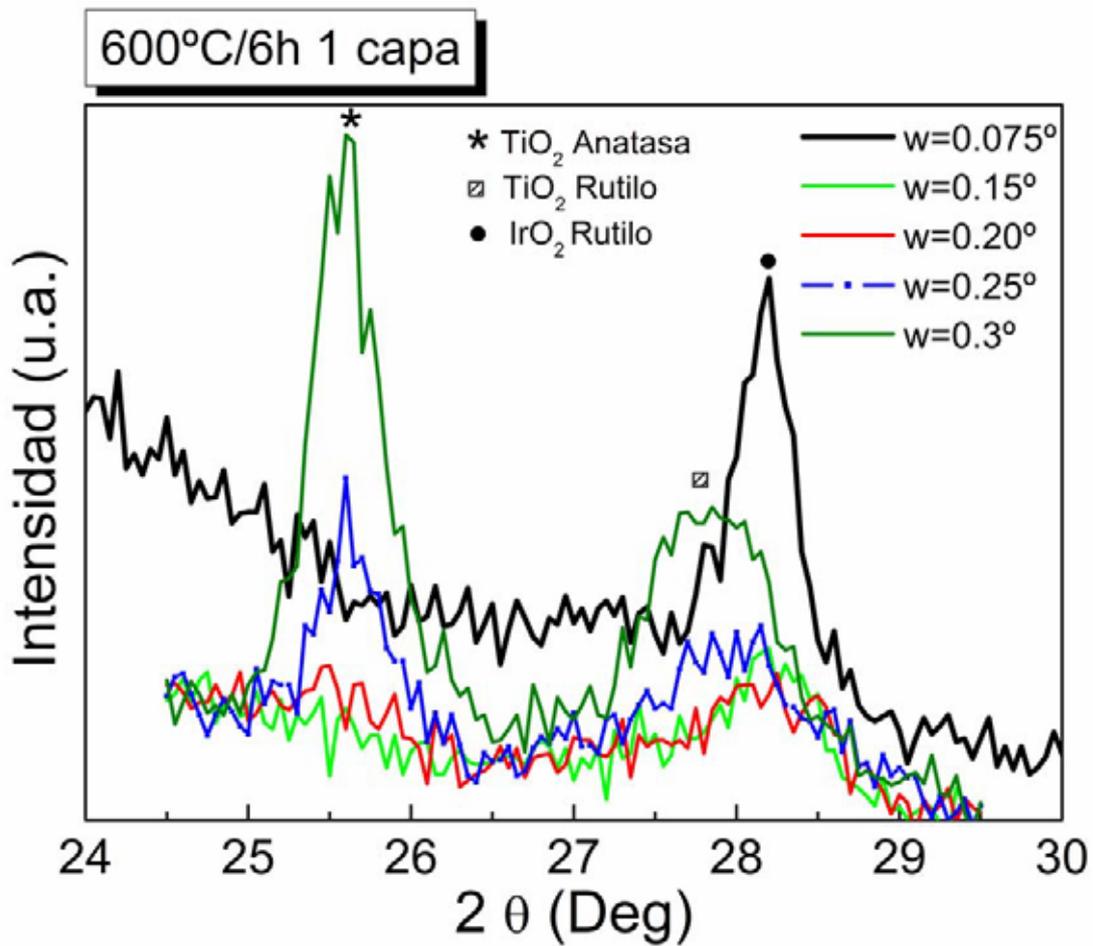
La Figura 5.3 muestra los difractogramas de rayos X a ángulo rasante de capas de óxido mixto tratadas a diferentes temperaturas y tiempos. Los patrones de las capas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  muestran que estas capas son más cristalinas que las de  $\text{TiO}_2$  y  $\text{IrO}_x$  estudiadas en los capítulos anteriores, hecho lógico puesto que la temperatura de tratamiento es superior. La semejanza de las estructuras, rutilo para el  $\text{TiO}_2$  e  $\text{IrO}_x$  puede hacer prever la existencia de una fase mixta con poco desplazamiento de los picos principales respecto a los óxidos simples. Sin embargo, las pequeñas diferencias en la posición del pico (101) inducen a pensar en una segregación de fases notable que se observa con una incidencia de  $0.6^\circ$  en ángulo de difracción de rayos X rasante. Además independientemente de las condiciones de tratamiento térmico utilizadas pueden distinguirse 3 fases además

del platino metálico del substrato:  $\text{TiO}_2$  en las formas de anatasa y rutilo e  $\text{IrO}_2$  rutilo.



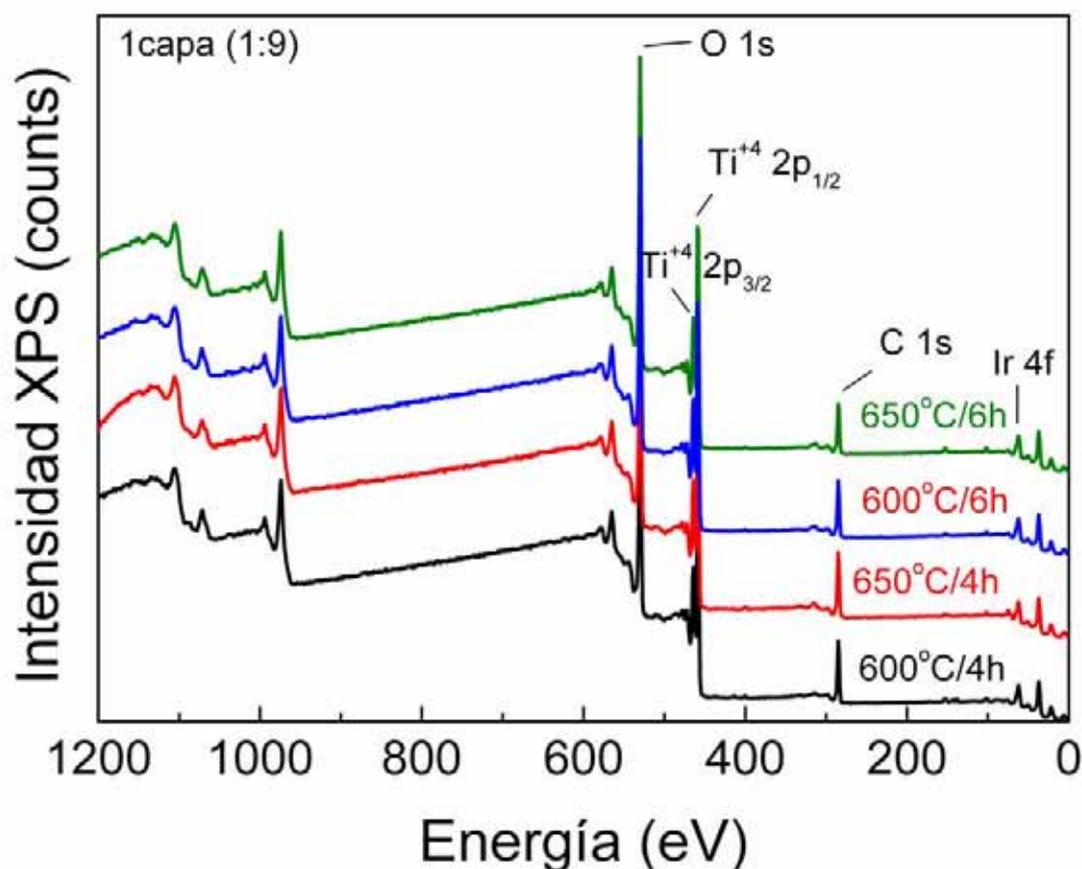
**Figura 5.3** Difractogramas de Rayos X de ángulo rasante de capas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  con una proporción Ir/Ti de 1:9, tratadas a diferentes temperaturas y tiempos. El ángulo de incidencia es de  $0.6^\circ$

Con el objetivo de saber cómo estaban organizadas estas fases dentro de la estructura de las capas se varió el ángulo de incidencia consiguiendo un gradiente en profundidad. En la Figura 5.4 se muestra los difractogramas de una capa de óxido mixto tratada a  $600^\circ\text{C}$  durante 6 horas variando el ángulo de incidencia y se puede observar que a medida que se disminuye el ángulo de incidencia para analizar la superficie de la capa, los picos correspondientes a las fases anatasa y rutilo del  $\text{TiO}_2$  se hacen menos intensos, mientras que los picos del  $\text{IrO}_2$  rutilo cobran importancia. Este hecho indica que el material puede ser un compuesto estratificado con  $\text{IrO}_x$  localizado en mayor proporción en la superficie.



**Figura 5.4** Difractogramas de Rayos X de ángulo rasante de una capa de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  con una proporción Ir/Ti de 1:9, tratada a  $600^\circ\text{C}$  durante 6 horas variando el ángulo de incidencia desde  $0.3^\circ$  hasta  $0.075^\circ$

Para analizar en más profundidad la estructura del material y compararla con la de los óxidos de los elementos individuales obtenidas anteriormente se realizaron medidas de XPS de las muestras. En el espectro XPS de la Figura 5.5 es posible observar además de los picos de O 1s y C 1s, los correspondientes al Ti 2p y al Ir 4f.



**Figura 5.5** Espectro XPS general para capas de  $(Ir-Ti)O_x$  con una proporción Ir/Ti de 1:9, depositadas sobre platino-cuarzo y tratadas a diferentes temperaturas.

Las concentraciones atómicas encontradas en las capas mediante la cuantificación de las señales XPS resultan muy similares (ver Tabla 5.1) independientemente del tratamiento térmico realizado. Por otro lado la relación Ir/Ti de las muestras fue el doble de lo esperado. Esto puede haber sido causado por una hidrólisis más rápida del iridio a partir de su cloruro, o menos de isopropóxido de Ti y de pérdida de iridio en el proceso de filtración de las disoluciones en la síntesis. Por eso en algunas capas la proporción de iridio de la síntesis fue duplicada con el fin de obtener más cantidad de iridio en el depósito.

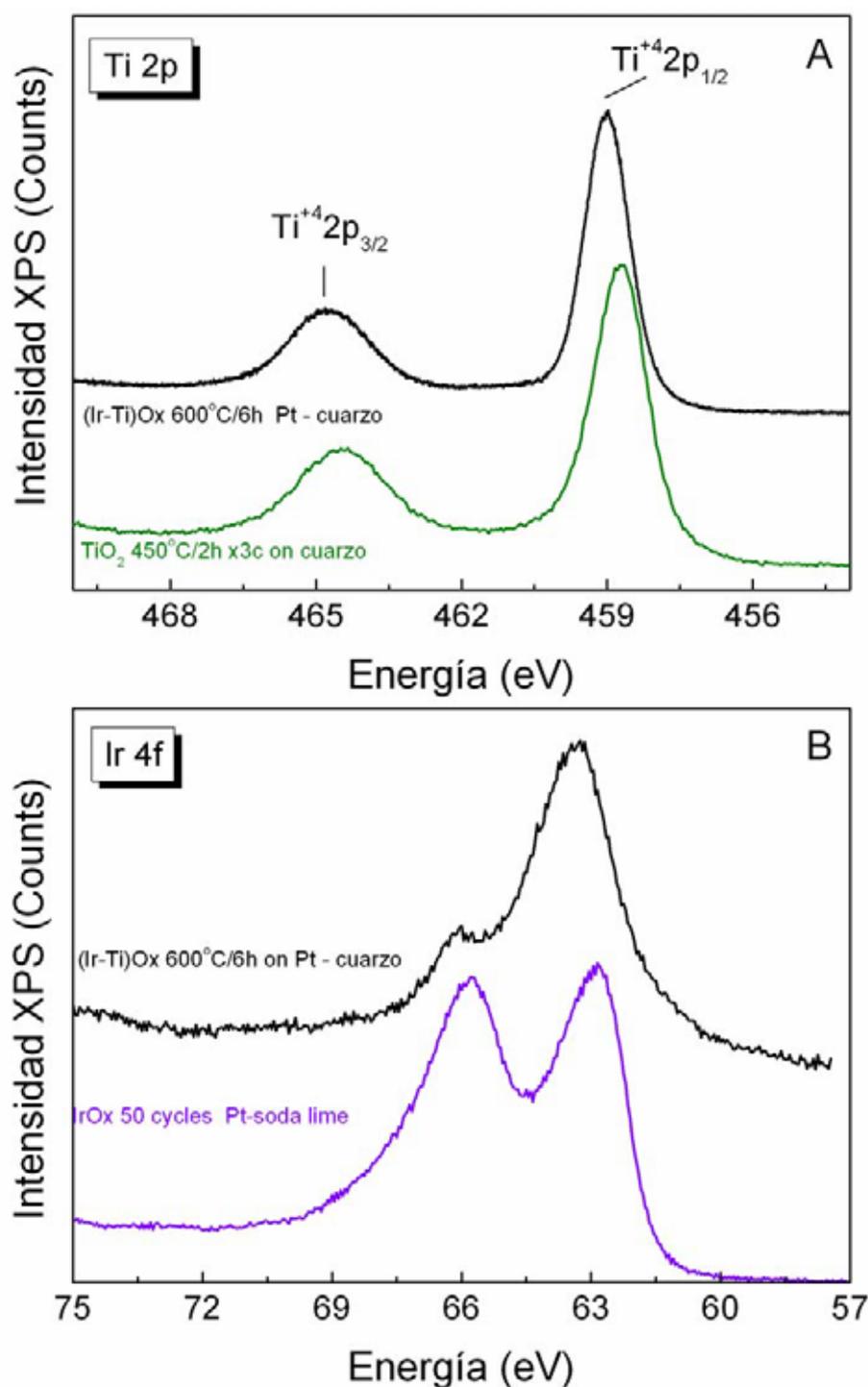
**Tabla 5.1** Valores de concentración atómica (%) proveniente de la cuantificación de los espectros XPS capas de  $(Ir-Ti)O_x$ , depositadas sobre platino-cuarzo y tratadas a diferentes temperaturas con una proporción inicial Ir/Ti de 1:9. M representa la suma de % del Ti e Ir.

Tratamiento	C 1s	O 1s	Ti 2p	Ir 4f	Ir/Ti	C/M	O/M
<b>600°C/4h</b>	28.59	45.70	18.29	1.01	0.05	2.38	1.47
<b>600°C/6h</b>	27.05	48.51	18.60	1.05	0.06	2.44	1.37
<b>650°C/4h</b>	30.49	46.14	17.41	0.96	0.06	2.50	1.67
<b>650°C/6h</b>	24.24	50.32	19.02	1.06	0.06	2.50	1.20

Es importante remarcar que dichas observaciones corresponden a la superficie y como se puede observar, la composición global no es  $MO_2$ , sino  $MO_{2-x}$ . Es decir que el óxido compuesto es subestequiométrico en O. Y los valores de muestras tratadas a mayor temperatura y más tiempo son los más bajos.

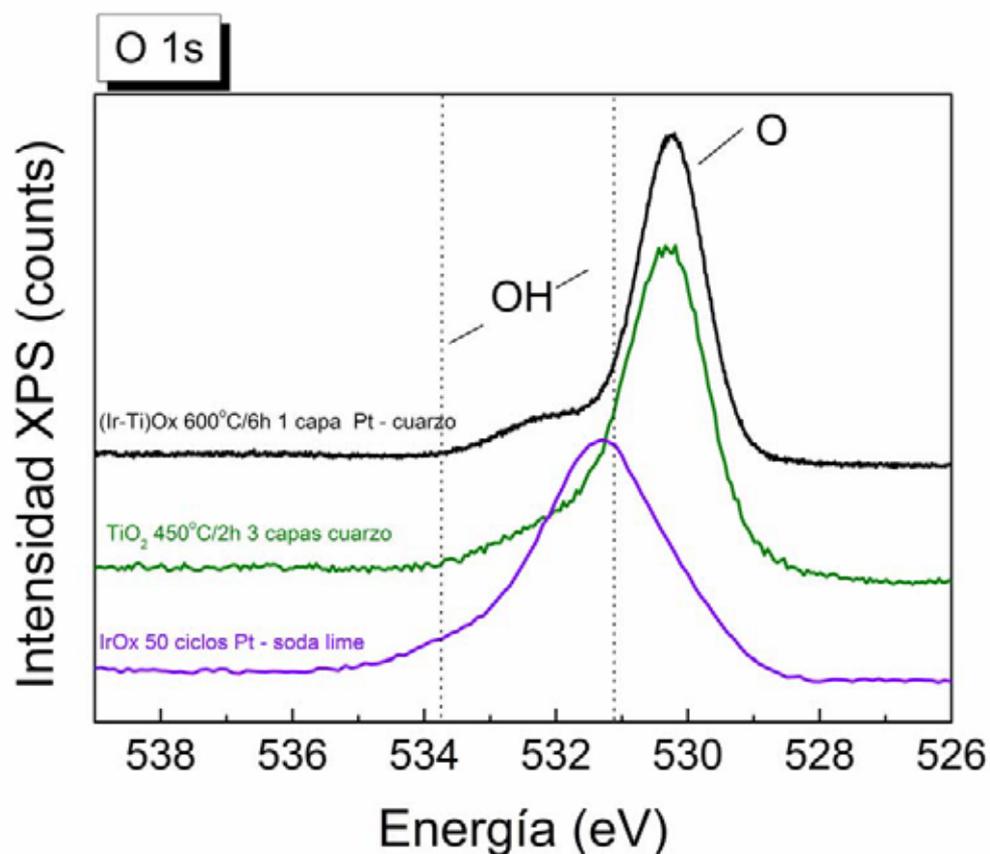
Ello pareciera implicar la posible existencia de Ir metálico, pero la cantidad de Ir presente no es suficiente para justificar dicho descenso en el oxígeno de modo global, ni se observa la señal de Ir correspondiente al metal en XPS.

La Figura 5.6 muestra la comparación de las señales Ti 2p e Ir 4f en las capas de los 3 materiales en estudio, el  $TiO_2$ , el  $IrO_x$  y el óxido mixto. Los picos de Ti de la Figura 5.6A están en la posición esperada para el estado de oxidación +4 y no existe evidencia de estados de oxidación más bajos. La Figura 5.6B muestra un pico en la posición del Ir4f que coincide con el iridio oxidado y no con el Ir metálico que se vería en torno a 60 eV. A pesar de que las posiciones de los picos de Ir 4f del óxido mixto  $(Ir-Ti)O_x$  coinciden con las de el  $IrO_x$ , los picos son más anchos y no están totalmente resueltos debido a que en esa misma posición se encuentra solapado el pico del Ti 3d.



**Figura 5.6** A) Comparación de detalle del espectro XPS del pico Ti 2p para capas de: TiO<sub>2</sub> depositada por spin coating sobre cuarzo (tratada térmicamente a 450°C 2 horas, 1 capa) y (Ir-Ti)O<sub>x</sub> depositada por spin coating sobre Pt-cuarzo (proporción Ir/Ti de 1:9 tratada térmicamente a 600°C 6 horas 1 capa). B) Comparación del detalle del espectro XPS del pico Ir4f para capas de: IrO<sub>x</sub> depositada electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos) y (Ir-Ti)O<sub>x</sub> depositada por spin coating sobre Pt-cuarzo (proporción Ir/Ti de 1:9 tratada térmicamente a 600°C 6 horas 1 capa).

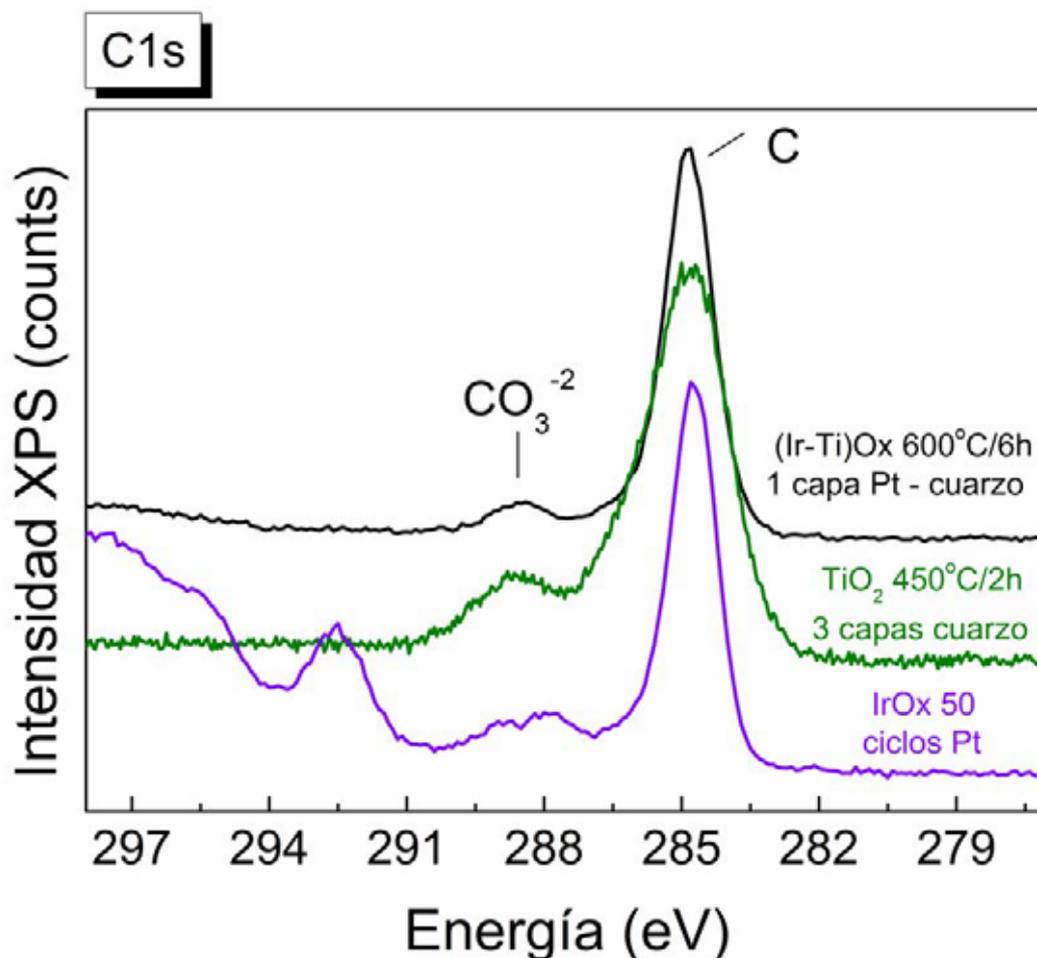
En la Figura 5.7 se presenta la misma comparación realizada con la señales del Ti 2p y el Ir 4f pero esta vez con de la señal XPS del O 1s. En esta comparación es posible observar que la posición del oxígeno principal del óxido mixto corresponde con la del  $TiO_2$  así como el hombro a altas energías que representa iones  $OH^-$  en la superficie, mientras que el hombro correspondiente al agua que aparece en el caso de las capas de  $IrO_x$  depositadas electroquímicamente no está presente. La mayor temperatura de tratamiento puede explicar este fenómeno.



**Figura 5.7** Comparación del detalle del espectro XPS del pico O1s para capas de:  $IrO_x$  depositada electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos),  $TiO_2$  depositada por spin coating sobre cuarzo (tratada térmicamente a 450°C 2 horas, 1capa ) y  $(Ir-Ti)O_x$  depositada por spin coating sobre Pt-cuarzo (proporción Ir/Ti de 1:9 tratada térmicamente a 600°C 6 horas 1 capa).

Si se observa en detalle el pico de C 1s mostrado en la Figura 5.8 para los tres materiales en estudio, es posible ver que el óxido mixto también tiene una contribución alifática y de carbonato que provienen de una posible hidrólisis

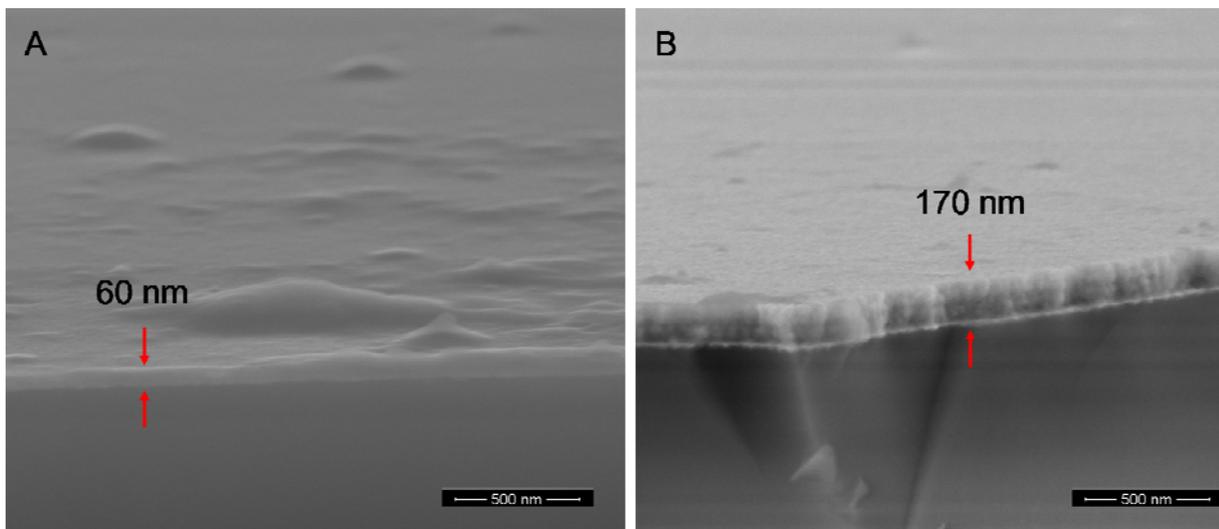
incompleta de los precursores y de la señal de carbono endémica por el contacto de las muestras con el aire igual que en el caso de capas de  $\text{TiO}_2$  e  $\text{IrO}_x$ .



**Figura 5.8** Comparación del detalle del espectro XPS del pico C1s para capas de:  $\text{IrO}_x$  depositada electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos),  $\text{TiO}_2$  depositada por spin coating sobre cuarzo (tratada térmicamente a 450°C 2 horas, 1 capa) y  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  depositada por spin coating sobre Pt-cuarzo (proporción Ir/Ti de 1:9 tratada térmicamente a 600°C 6 horas 1 capa).

## 5.4 Análisis Microestructural

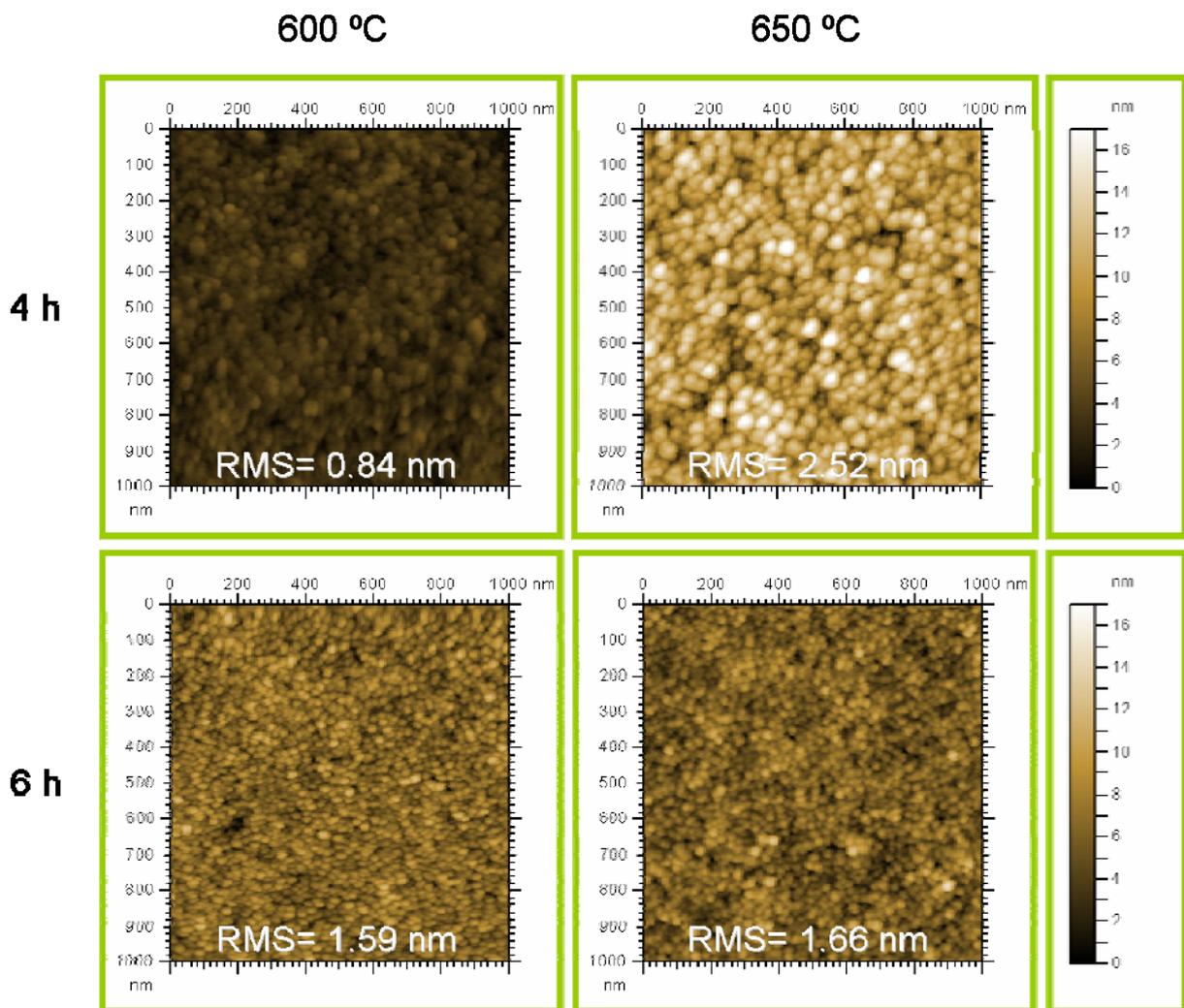
Las imágenes de SEM muestran que las capas obtenidas tienen un grosor de 60 nm en el caso de las monocapas y 170 nm en el caso de las tricapas. Además en la Figura 5.9 es posible diferenciar cada una de las capas depositadas en el caso de las tricapas. El contraste existente entre ellas puede explicar una distinta conductividad entre ellas (la primera capa sufre el tratamiento térmico 3 veces) y quizás distinto contenido de oxígeno.



**Figura 5.9** Imágenes de SEM de capas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo (proporción Ir/Ti de 1:9 tratadas térmicamente a  $600^\circ\text{C}$  6 horas 1 capa) A) Monocapas y B) Tricapas.

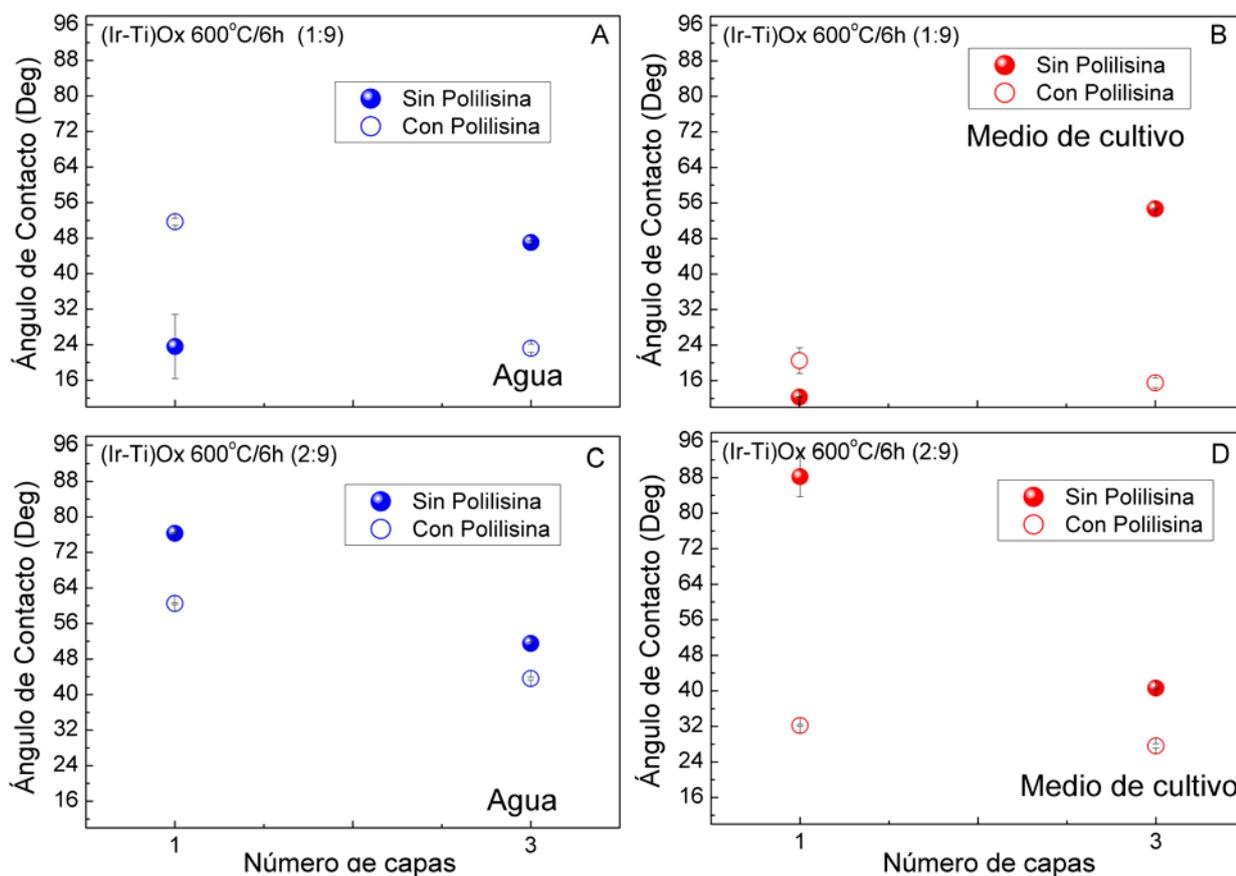
En la Figura 5.10 se muestran las imágenes de AFM para capas del óxido mixto con diferentes tratamientos térmicos. En ellas se observa que las capas de óxidos mixtos tienen una microestructura uniforme muy parecida a la de las capas de  $\text{TiO}_2$ , con tamaños de grano similares entre 10 nm y 20 nm. La rugosidad aumenta con la temperatura de tratamiento excepto en la muestra tratada a mayor temperatura por más tiempo. Esto demuestra que el método sol gel produce capas bastante homogéneas y con granos de área superficial grande.

Con el objetivo de evaluar la hidrofiliicidad de las superficies, se realizaron medidas de ángulo de contacto con agua y con el medio utilizado en el cultivo celular (Figura 5.11). Independientemente de la cantidad de iridio en el óxido mixto los valores de ángulo de contacto obtenidos fueron menores que en las capas de los óxidos simples, es decir son mucho más hidrofílicas en algunos casos. Además puede observarse que cuando las capas se recubren con polilisina el efecto es opuesto en las muestras calentadas a  $600^\circ\text{C}$  y  $650^\circ\text{C}$  tanto en agua como en medio de cultivo celular.



**Figura 5.10** Imágenes de AFM de capas de  $(Ir-Ti)O_x$  con una proporción Ir/Ti de 1:9, depositadas sobre platino-cuarzo y tratadas a diferentes temperaturas.

Las muestras tienden a ser más hidrofílicas cuando están cubiertas con el polipéptido, salvo en el caso de las de 3 capas calentadas a 600°C. No existe explicación plausible para este efecto en este momento.

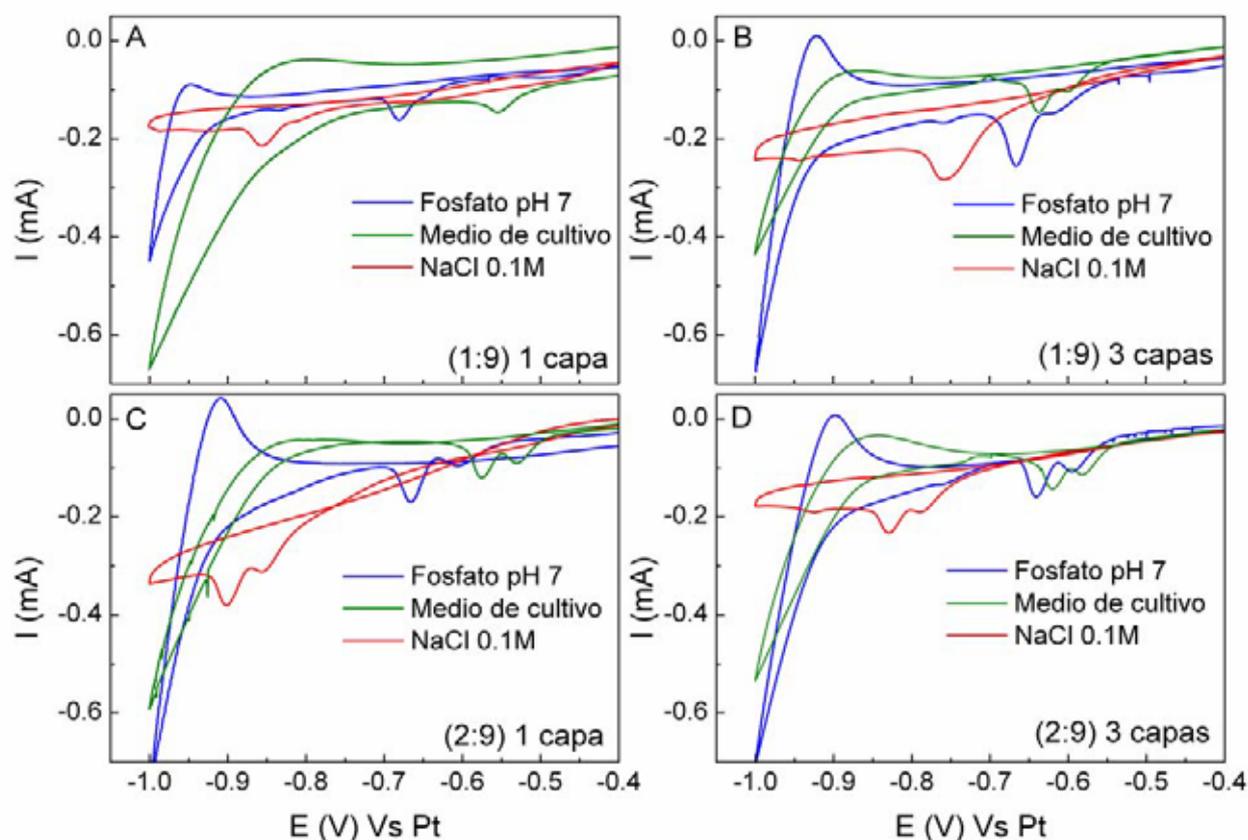


**Figura 5.11** Medidas de ángulo de contacto (con agua y medio de cultivo) para capas de  $(Ir-Ti)O_x$  depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo tratadas térmicamente a 600°C 6 horas 1 capa y cubiertas con polilisina A) y B) Relación Ir 1:9 Ti C) y D) Relación Ir2:9Ti.

## 5.5 Propiedades Electroquímicas y Eléctricas

Es de esperar que el óxido mixto tenga propiedades eléctricas intermedias entre el  $TiO_2$  y el  $IrO_x$ , estudiados en los capítulos anteriores. Por tanto se realizaron voltametrías cíclicas en diferentes medios para evaluar su comportamiento electroquímico.

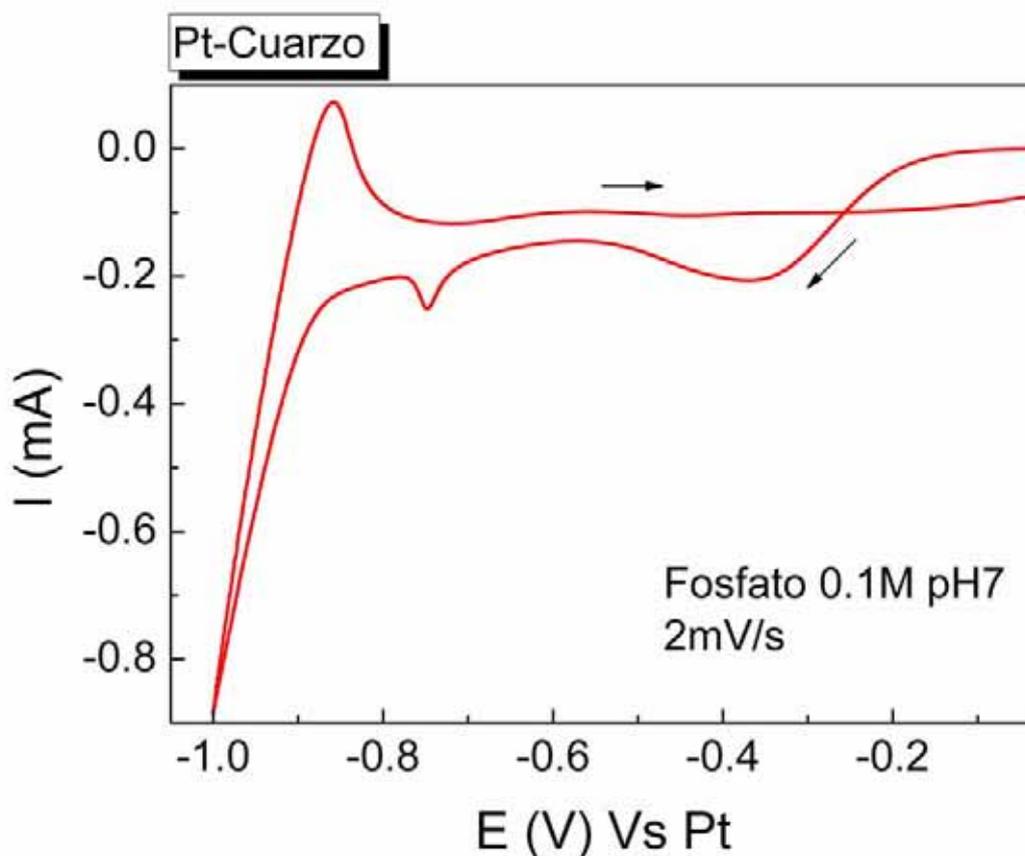
En las voltametrías cíclicas de la Figura 5.12 se observa que siempre hay 4 picos en la zona de reducción, independiente del medio utilizado y su pH.



**Figura 5.12** Voltametrías cíclicas a 2mV/s de capas de  $(Ir-Ti)O_x$  depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo tratadas térmicamente a 600°C 6 horas con diferentes medios electrolíticos A) Relación Ir1:9Ti 1 capa, B) Relación Ir1:9Ti 3 capas, C) Relación Ir2:9Ti 1 capa y C) Relación Ir2:9Ti 3 capas.

La Figura 5.13 muestra la voltametría cíclica del sustrato de Pt-cuarzo en tampón fosfato 0.1M pH 7.

Si se comparan las posiciones de los picos de las voltametrías de las capas del óxido mixto para un medio en particular como el fosfato, con las voltametrías del sustrato de Pt bajo las mismas condiciones (Tabla 5.2), se puede observar que los picos localizados en los extremos están presentes en ambos casos, tanto en las voltametrías de las capas mixtas como en las del sustrato, mientras que sólo los dos picos centrales son inherentes al material en estudio.



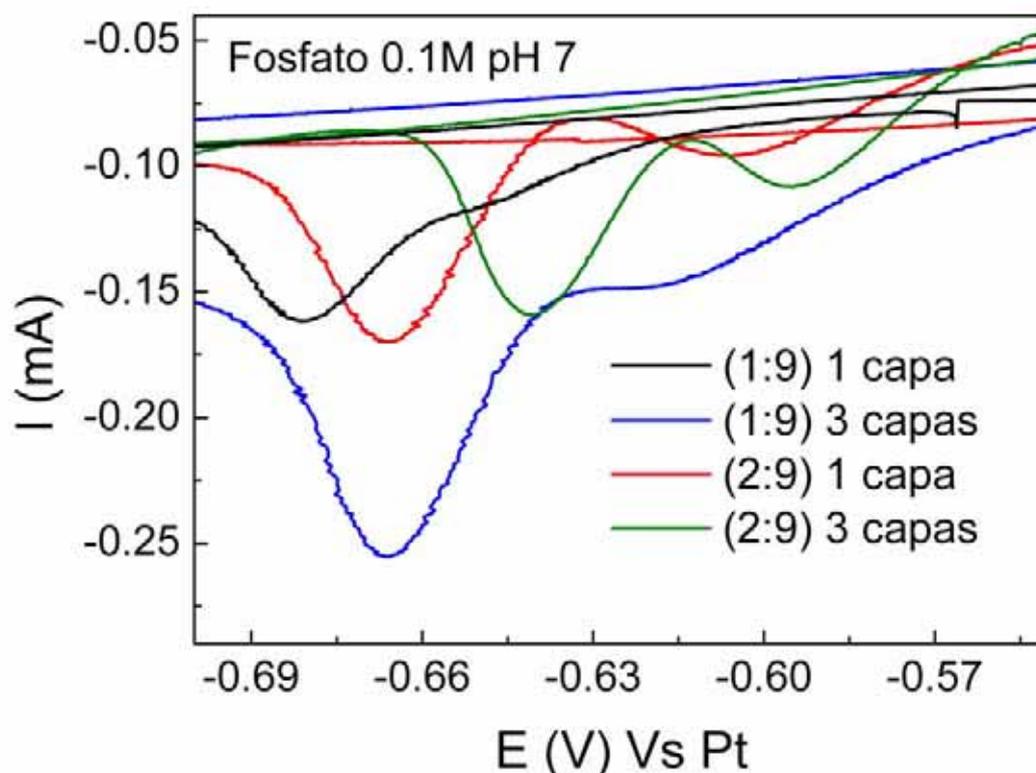
**Figura 5.13** Voltametría cíclica a 2mV/s en tampón fosfato 0.1M pH 7 de un sustrato de Pt-cuarzo.

**Tabla 5.2** Posiciones de los picos de la voltametría cíclica (2mV/s en fosfato pH 7) de capas de (Ir-Ti) $O_x$  obtenidas por spin coating sobre Pt-cuarzo tratadas térmicamente a 600°C/6 horas con diferente número de capas y concentraciones de Ir.

	Posición picos (V)			
<b>(1:9) 1 capa</b>	-0.48	-0.64	-0.68	-0.83
<b>(1:9) 3 capas</b>	-0.46	-0.61	-0.67	-0.78
<b>(2:9) 1 capa</b>	---	-0.60	-0.66	-0.82
<b>(2:9) 3 capas</b>	---	-0.59	-0.64	-0.76
<b>Pt</b>	-0.36	---	---	-0.74

Como puede observarse en la Figura 5.14 es importante resaltar que la definición de los dos picos ubicados en el medio mejora con el aumento de la cantidad de iridio en la muestra ya sea por aumento del número de capas o por

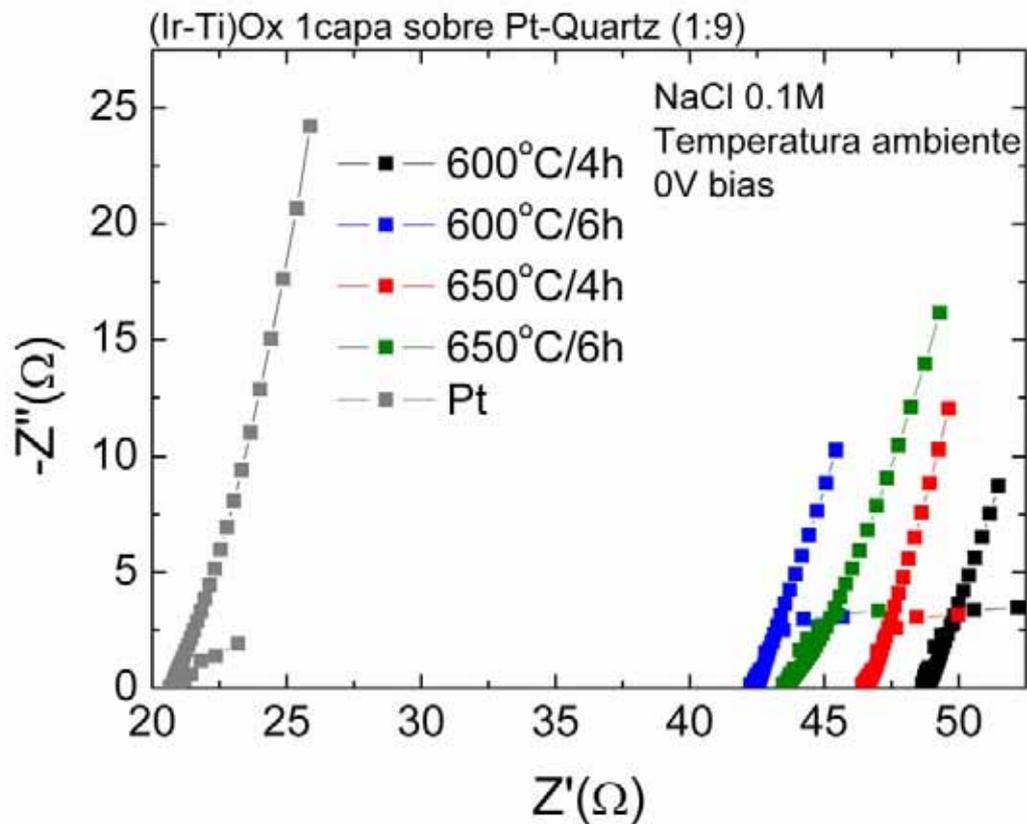
aumento en la concentración en la síntesis. Por esta razón estos dos picos pueden estar relacionados con la reducción del iridio o con intercalación de iones  $H^+$  como en el caso de las muestras de  $IrO_x$  obtenidas electroquímicamente.



**Figura 5.14** Detalle de la voltametría cíclica en fosfato pH 7 a 2 mV/s de capas de  $(Ir-Ti)O_x$  obtenidas por spin coating tratadas térmicamente a  $600^\circ C/6$  horas con diferente número de capas y concentraciones de Ir.

Además de los diferentes picos de reducción, la Figura 5.12 muestra que el óxido mixto de titanio e iridio tiene una ventana electroquímica donde no ocurren ninguna reacción del medio a pH biológico es entre  $-0.8V$  y  $+0.5V$ .

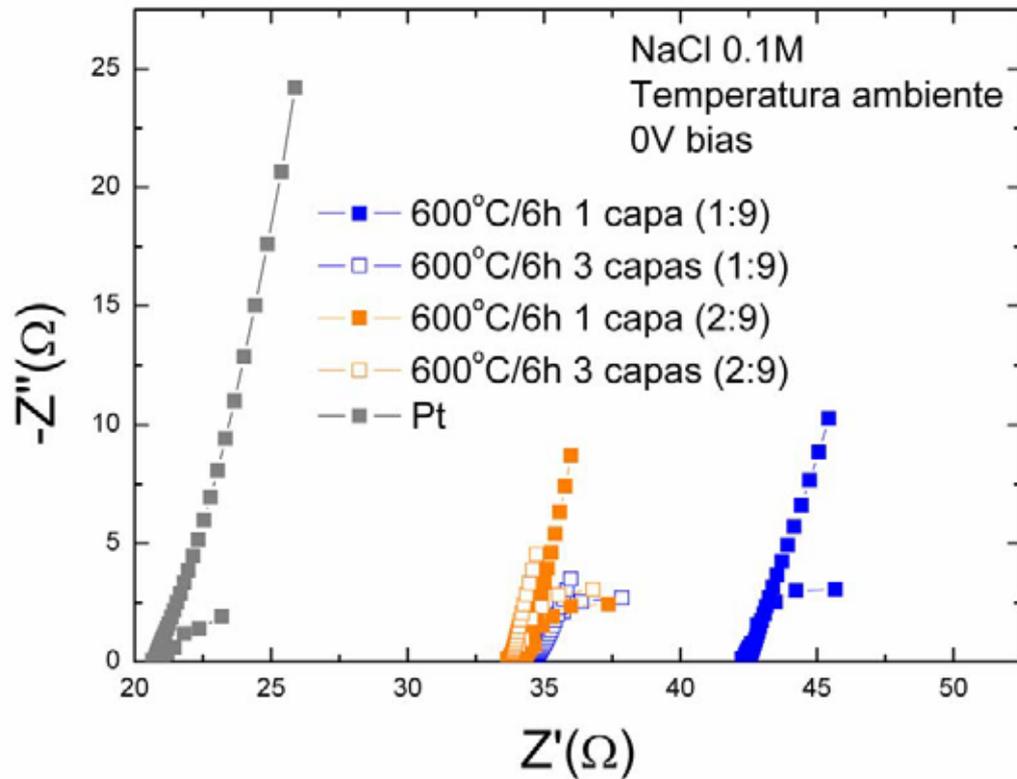
Siguiendo el mismo razonamiento que con las muestras de  $IrO_x$  obtenidas electroquímicamente, el óxido mixto fue evaluado eléctricamente mediante medidas de EIS. La Figura 5.15 compara el diagrama de Nyquist del sustrato de platino con el de capas del óxido mixto tratadas a diferentes temperaturas con una proporción de Ir/Ti de 1:9. Como en el caso del  $IrO_x$  la resistencia del electrolito decrece cuando el sustrato de platino es recubierto con el óxido mixto pero también se puede observar que si la temperatura y tiempo de tratamiento aumentan la resistencia del electrolito sufre un incremento.



**Figura 5.15** Diagrama de Nyquist para un substrato de platino sobre cuarzo y capas de  $(Ir-Ti)O_x$  depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo tratadas a diferentes tiempos y temperaturas.

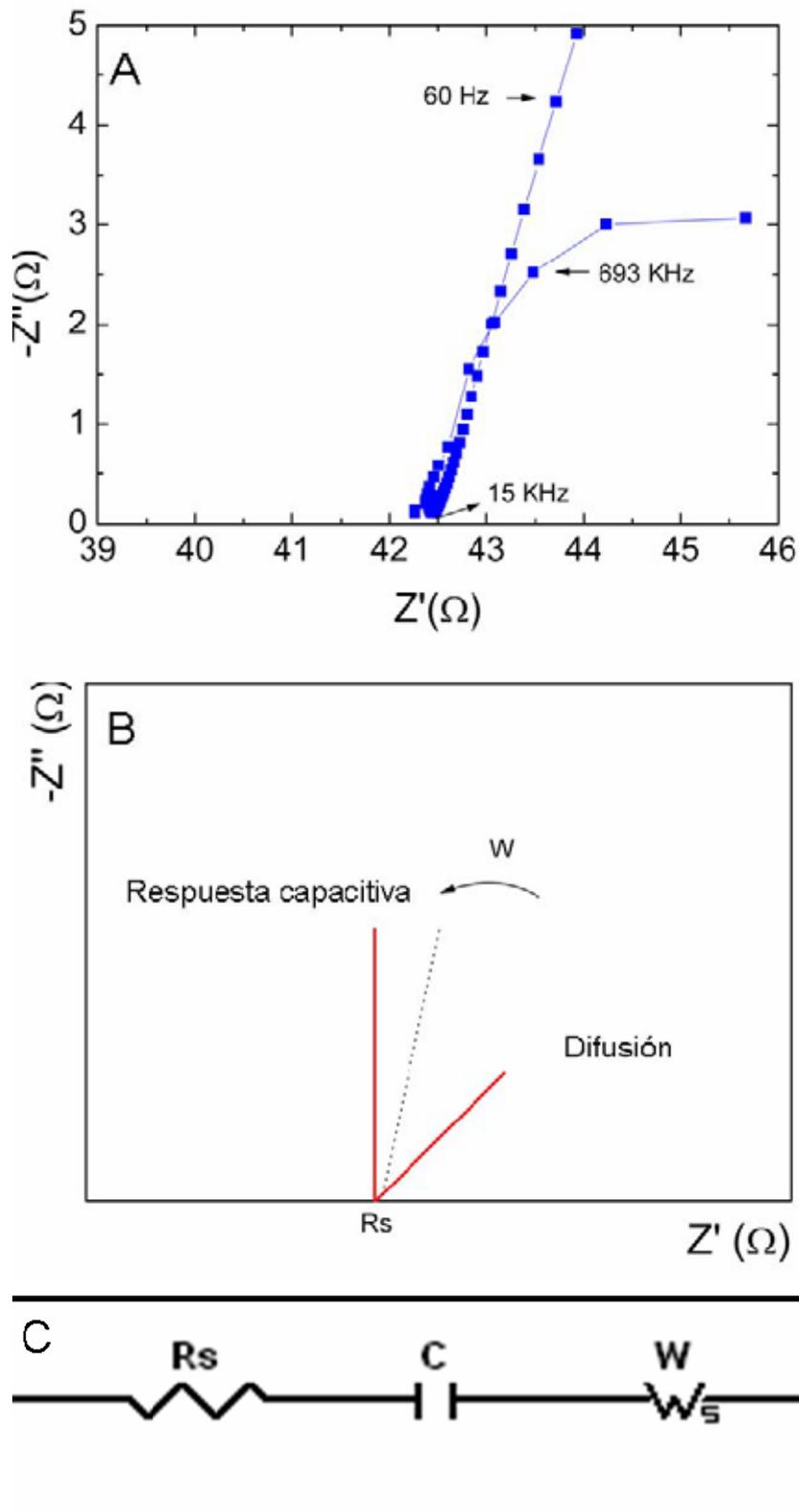
Si se observa el diagrama de Nyquist de las capas con mayor contenido de iridio presentado en Figura 5.16 es posible ver que la resistencia del electrolito aumenta substancialmente con lo que la facilidad de movilidad de los iones del electrolito a través de la capa está relacionada con la cantidad de iridio presente.

Si se expande el diagrama de Nyquist (Figura 5.17) de una de las capas representadas en la Figura 5.16, puede verse que la respuesta eléctrica de las capas del óxido mixto es diferente que la de las capas de  $IrO_x$ . Es posible diferenciar solamente 2 tipos de fenómenos eléctricos, uno a altas frecuencias y otro a bajas frecuencias.



**Figura 5.16** Diagrama de Nyquist para un sustrato de platino sobre cuarzo y capas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo tratada térmicamente a  $600^\circ\text{C}$  6 horas con diferentes relaciones Ir/Ti y diferente número de capas depositadas.

Si se intenta hacer la misma aproximación que para las capas de  $\text{IrO}_x$  y encontrar un circuito equivalente se debe tener en cuenta que la respuesta asignada a la formación de una doble capa y la transferencia de carga no está presente en el diagrama, lo cual no significa que el fenómeno no exista, sino que no es lo suficientemente rápido para ser detectado en el experimento y la polarización inicial y la difusión a través del electrolito son dominantes. Ello implica menor capacidad, que no ha podido ser cuantificada. El material tendría menos capacidad que el  $\text{IrO}_x$  (ver sección 4.2 del capítulo 4).



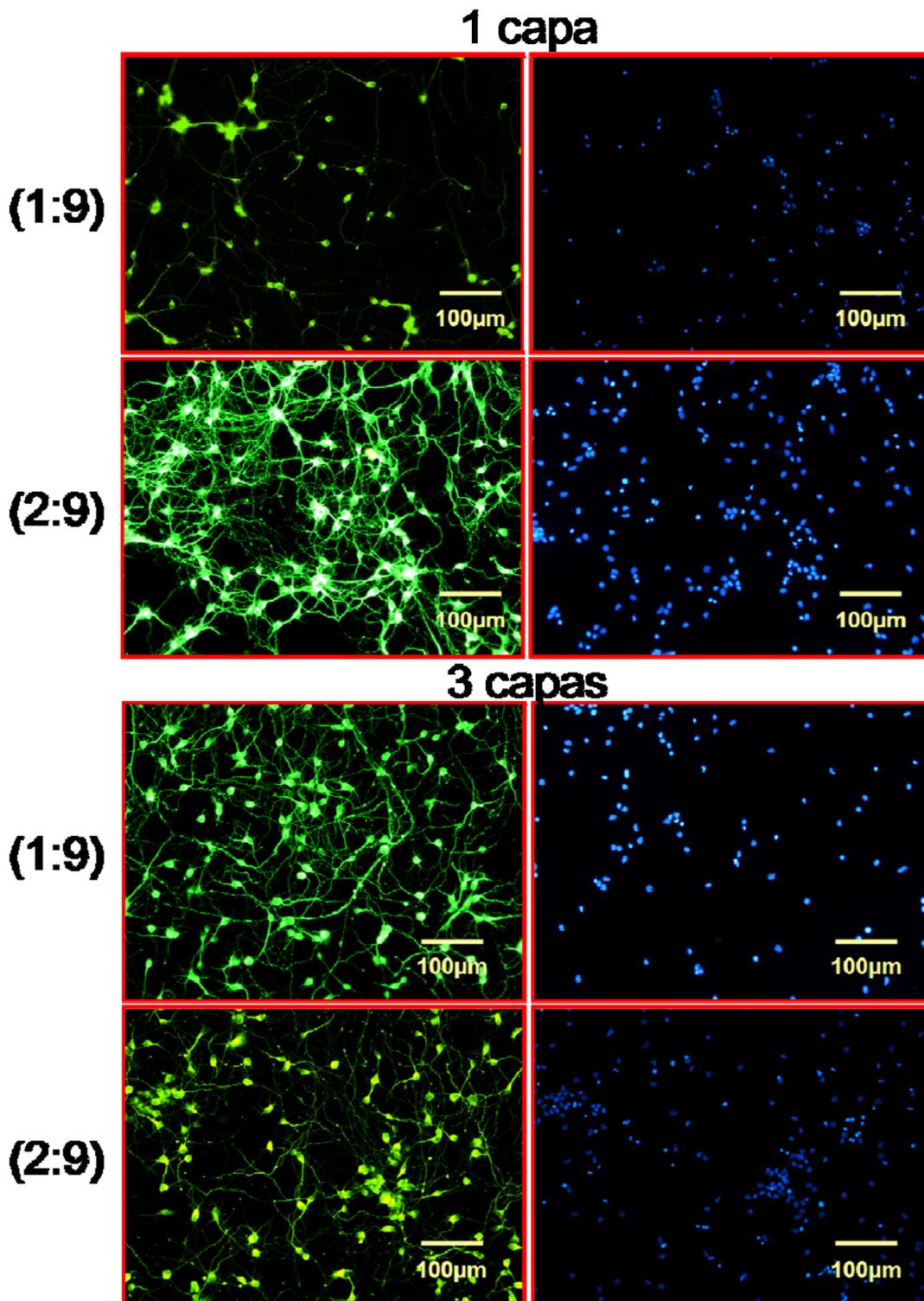
**Figura 5.17** Diagrama de Nyquist de una capa de de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo proporción Ir/Ti de 1:9 tratada térmicamente a  $600^\circ\text{C}$  6 horas 1 capas).

## 5.6 Cultivos Neuronales

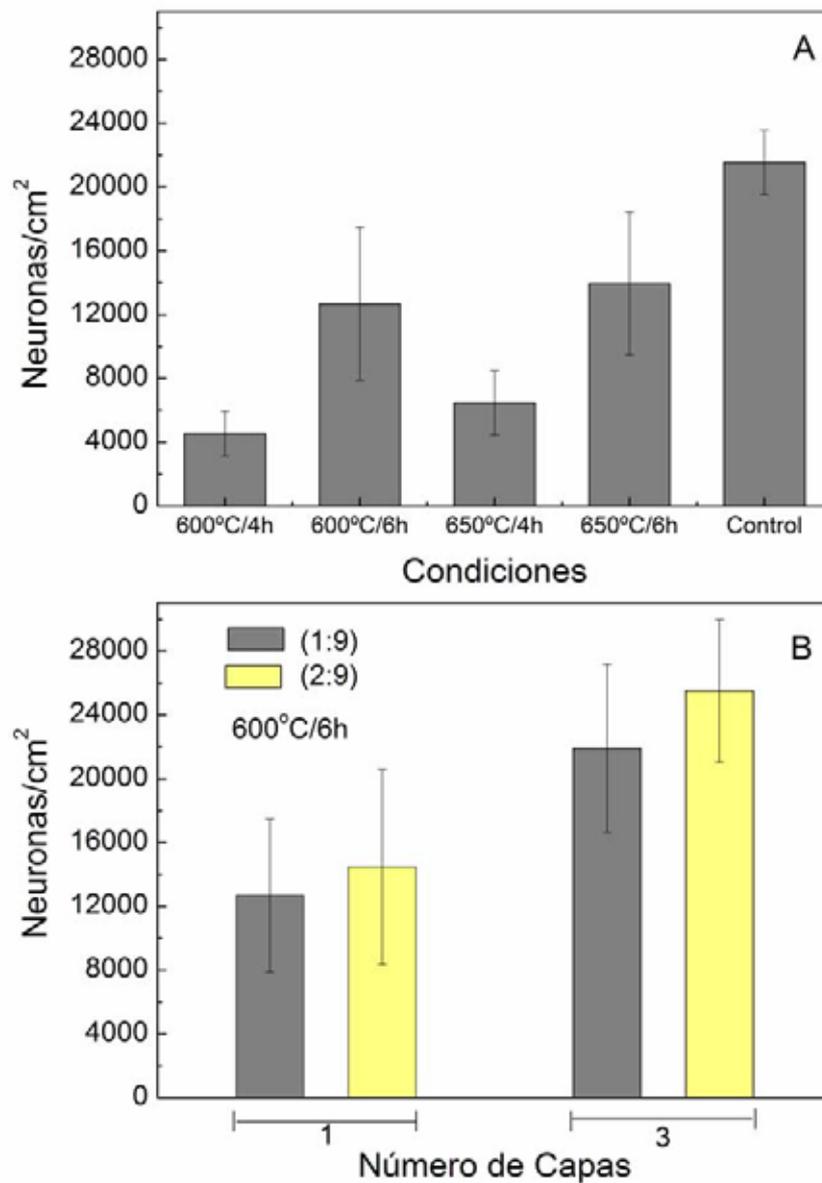
Al igual que con las capas de  $\text{TiO}_2$  e  $\text{IrO}_x$  las capas del óxido mixto fueron evaluadas en términos de la respuesta que las células tienen en su presencia mediante medidas de supervivencia celular en cultivos de alta densidad ( $25000 \text{ cel/cm}^2$ ) de neuronas corticales E18.

En todos los casos las neuronas sembradas poseen buen aspecto y buena adhesión celular al sustrato (Figura 5.18).

Sin embargo si se analiza el histograma de la supervivencia neuronal en cultivos de alta densidad para capas del óxido mixto con diferentes tratamientos térmicos (Figura 5.19A), es evidente que los datos de supervivencia cambian con las condiciones de tratamiento. La temperatura de tratamiento no parece influenciar el número de neuronas que sobreviven sobre el material pero el tiempo de tratamiento si lo hace. A mayor tiempo de tratamiento más supervivencia, lo cual puede estar relacionado con la cristalización de la estructura o la eliminación de residuos volátiles que no se detecta en los espectros de XPS. Si además de estudiar la supervivencia celular con respecto al tiempo o temperatura de tratamiento, se evalúan en función del contenido de iridio también se observan diferencias relevantes.



**Figura 5.18** Imágenes de microscopía de fluorescencia de neuronas del córtex cerebral de rata sembradas a  $25.000 \text{ cel/cm}^2$  y cultivadas 4 días en capas de  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo tratadas térmicamente a  $600^\circ\text{C}$  6 horas en 1 y 3 capas y diferentes proporciones Ir/Ti.



**Figura 5.19** Supervivencia neuronal en cultivos de alta densidad (25000 cel/cm<sup>2</sup>) después de 4 días *in vitro* (DIV) en capas de (Ir-Ti)O<sub>x</sub> depositadas por spin coating sobre Pt-cuarzo A) Proporción Ir/Ti de 1:9 1 capa, tratadas térmicamente a diferentes temperaturas y tiempos de tratamiento y B) Tratadas térmicamente a 600°C 6 horas con diferente proporción Ir/Ti y diferente número de capas.

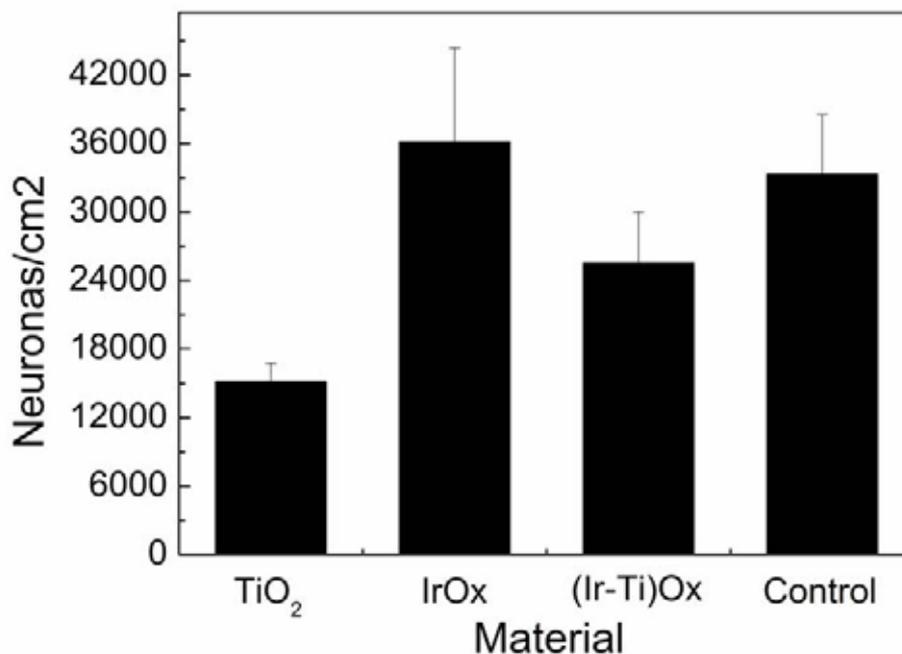
La Figura 5.19B muestra los datos estadísticos de supervivencia en capas del óxido mixto con diferentes cantidades de iridio. Es evidente que la supervivencia celular mejora incrementando la cantidad de iridio ya sea aumentando el número de capas depositadas o la proporción Ir/Ti en la síntesis.

Por otro lado no fue posible realizar cultivos de baja densidad con las capas del óxido mixto. Esto impide evaluar diferencias en cuanto al crecimiento celular

con las capas de los óxidos estudiados en los capítulos 3 y 4. Las razones para que la supervivencia en los cultivos de baja densidad sea nula para estas capas están siendo objeto de estudio.

## 5.7 Comparación de Materiales

Si se evalúan los tres materiales, el  $\text{TiO}_2$ , el  $\text{IrO}_x$  y el  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  en términos de supervivencia podemos afirmar que el iridio tiene un papel determinante en la aplicación de dichos materiales como posibles sustratos para crecimiento celular y electroestimulación.

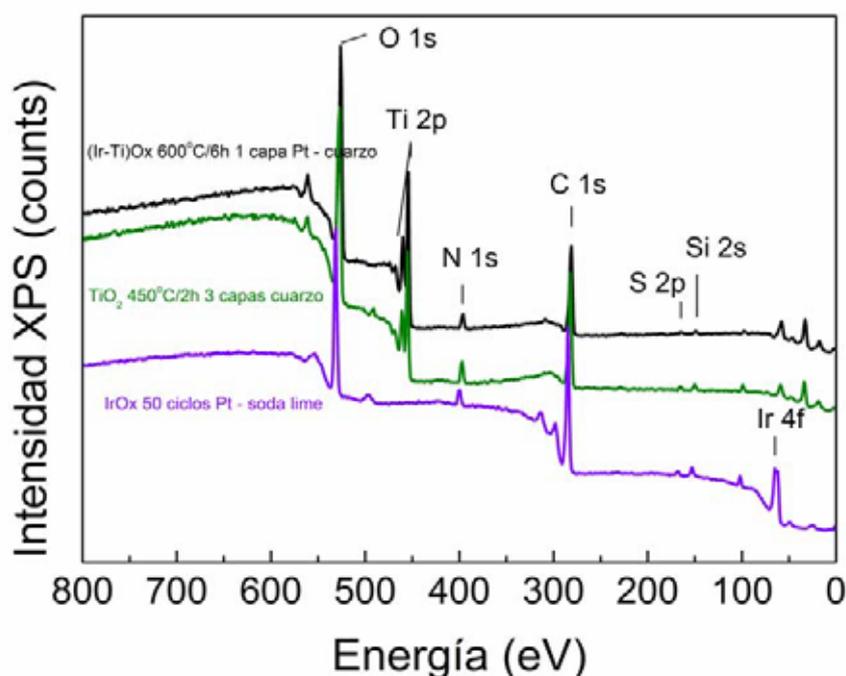


**Figura 5.20** Supervivencia neuronal en cultivos de alta densidad ( $25000 \text{ cel/cm}^2$ ) después de 4 días *in Vitro* (DIV) en capas de:  $\text{TiO}_2$  depositada por spin coating sobre ITO (tratada térmicamente a  $350^\circ\text{C}$  2 horas, 1 capa),  $\text{IrO}_x$  depositada electroquímicamente sobre Pt- soda lime ( $0.55\text{V}$ ,  $10\text{mV/s}$ , 50 ciclos), y  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  depositada por spin coating sobre Pt-cuarzo (proporción Ir/Ti de 2:9 tratada térmicamente a  $600^\circ\text{C}$  6 horas 3 capas).

La Figura 5.20 muestra los datos estadísticos de supervivencia sobre capas de los tres materiales estudiados en este trabajo. En los tres casos, las capas de  $\text{IrO}_x$  presentan los mejores resultados en términos de adhesión, características estructurales o comportamiento eléctrico. Las capas de  $\text{IrO}_x$  se muestran como la mejor opción para ser utilizadas como soporte neuronal.

Los cultivos de baja densidad ( $500 \text{ cel/cm}^2$ ) realizados sobre las capas del óxido mixto no presentaron supervivencia celular, posiblemente porque el material no promueve el crecimiento celular de neuronas aisladas. Por esta razón no fue posible realizar un estudio del crecimiento de las dendritas y axones y no se puede establecer una comparación con el  $\text{TiO}_2$  o el  $\text{IrO}_x$  en este sentido.

Además de las propiedades fisicoquímicas de las capas, la supervivencia celular puede estar relacionada con la interacción entre el material y el polipéptido utilizado en los cultivos celulares. Algunas de las técnicas de caracterización han demostrado la adhesión de la polilisina a la superficie de las capas, como en el caso de las medidas de ángulo de contacto en donde se observa que la polilisina neutraliza la superficie haciéndola más hidrofílica. Las medidas de XPS de las capas de los tres materiales en estudio, recubiertas de polilisina mostradas en la Figura 5.21, comprueban la adhesión de la polilisina con el aumento en las proporciones de carbono y oxígeno además de la aparición del pico de N1s, elemento que está presente en la estructura de la polilisina de fórmula  $(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O})_n$ .



**Figura 5.21** Espectros XPS para capas de:  $\text{IrO}_x$  depositada electroquímicamente ( $0.55\text{V}$ ,  $10\text{mV/s}$ , 50 ciclos),  $\text{TiO}_2$  depositada por spin coating sobre cuarzo (tratada térmicamente a  $450^\circ\text{C}$  2 horas, 1 capa) y  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  depositada por spin coating sobre Pt-cuarzo (proporción Ir/Ti de 1:9 tratada térmicamente a  $600^\circ\text{C}$  6 horas 1 capa) cubiertas con polilisina.

Los datos de la cuantificación de los picos de los espectros XPS mostrados en la Figura 5.21 están resumidos en la Tabla 5.3. Es importante resaltar que estos datos representan la respuesta más exterior de la superficie y los valores no se relacionan con los presentados en las Tablas 3.2 y 4.2 de capítulos anteriores. Los valores de la relación N/M de la Tabla 5.3 son diferentes en cada muestra lo cual significa que la polilisina no se deposita de igual manera en todos los materiales. Las capas de  $TiO_2$  parecen tener más cantidad de polilisina adherida que las de  $IrO_x$  o el óxido mixto. El efecto de la cantidad de polilisina que se adhiere al material durante el cultivo celular o el tipo de adhesión dependiendo de las características de la superficie requiere de un estudio más profundo que no será considerado en este trabajo.

**Tabla 5.3** Valores de porcentaje de concentración atómica proveniente de la cuantificación de los espectros XPS capas de:  $IrO_x$  depositada electroquímicamente (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos),  $TiO_2$  depositada por spin coating sobre cuarzo (tratada térmicamente a 350°C 2 horas, 1 capa) y  $(Ir-Ti)O_x$  depositada por spin coating sobre P-cuarzo (proporción Ir/Ti de 1:9 tratada térmicamente a 600°C 6 horas 1 capa) cubiertas con polilisina.

Muestra	C1s	O1s	Ti2p	Ir4f	N1s	S2p	C/M	O/M	N/M
<b><math>IrO_x</math> (0.55V, 10mV/s, 50ciclos, Pt)</b>	50.81	31.10	---	10.28	4.98	---	4.94	3.03	2.1
<b><math>TiO_2</math> (350°C/2h x 1capa, ITO)</b>	50.30	33.50	7.07	---	4.97	0.47	7.11	4.74	1.4
<b><math>(Ir-Ti)O_x</math> (600°C/6h 1:9 x 1c, Pt-cuarzo)</b>	45.32	37.22	10.91	0.83	3.70	---	3.86	3.17	3.2

## 5.8 Conclusiones

- Las capas de óxido mixto obtenidas tienen una estructura compuesta por tres fases,  $TiO_2$  anatasa y rutilo e  $IrO_x$  rutilo. Los análisis estructurales muestran que estas fases parecen estar organizadas de tal manera que el óxido mixto está estratificado con  $IrO_2$  localizado en mayor proporción en la superficie.
- Además de Ti, Ir y O las capas presentan contienen C proveniente de la contribución alifática y de carbonato de una posible hidrólisis incompleta de los

precursores y de la señal de carbono endémica por el contacto de las muestras con el aire.

- Las capas de óxidos mixtos obtenidas tienen una microestructura uniforme muy parecida a la de las capas de  $\text{TiO}_2$ , con tamaños de grano similares entre 10 nm y 20 nm aunque son más hidrofílicas. La rugosidad aumenta con la temperatura de tratamiento excepto en la muestra tratada a mayor temperatura por más tiempo. Esto demuestra que el método sol gel produce capas bastante homogéneas y con granos de área superficial grande.
- La caracterización electroquímica revela que el material tiene 2 picos en la zona de reducción que pueden estar relacionados con la reducción del iridio o con intercalación de iones  $\text{H}^+$  como en el caso de las muestras de  $\text{IrO}_x$  obtenidas electroquímicamente. Además de los diferentes picos de reducción el óxido mixto de titanio e iridio tiene una ventana electroquímica donde no ocurren ninguna reacción del medio a pH biológico entre -0.8V y +0.5V vs. Pt.
- Los cultivos celulares muestran que las neuronas sembradas sobre el óxido mixto como substrato poseen buen aspecto y buena adhesión celular al material. La temperatura de tratamiento no parece influenciar el número de neuronas que sobreviven sobre el material pero el tiempo de tratamiento si lo hace. A mayor tiempo de tratamiento más supervivencia, lo cual puede estar relacionado con la cristalización de la estructura o la eliminación de residuos volátiles que no se detecta con las técnicas de caracterización estructural utilizadas.
- Además de la influencia de las condiciones de tratamiento sobre la supervivencia de las células parece que existe una relación con la cantidad de iridio presente en el material. A mayor cantidad de iridio mejores valores de supervivencia.
- Si se evalúan los tres materiales, el  $\text{TiO}_2$ , el  $\text{IrO}_x$  y el  $(\text{Ir-Ti})\text{O}_x$  en términos de supervivencia las capas de  $\text{IrO}_x$  se muestran como la mejor opción para ser utilizadas como soporte neuronal.

- Además de las propiedades fisicoquímicas de las capas de los tres materiales en estudio, la supervivencia celular puede estar relacionada con la interacción entre el material y el polipéptido utilizado en los cultivos celulares ya que algunas técnicas de caracterización como XPS o ángulo de contacto muestran que la polilisina utilizada en los cultivos celulares como interfase material/célula no se deposita de igual manera en todos los materiales.

## 5.9 Referencias bibliográficas

1. RICKLE, A. et al. *Neuroreport* v. 15, n. 5, p. 955-959, 2004.
2. MOSS J. et al. *Brain* v. 127, n. 12, p. 2755-2763, 2004.
3. MCCREERY, D.B. et al. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* v. 37, n. 10, p. 996-1001, 1990.
4. WEILAND J.D; ANDERSON D.J. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* v. 47, n. 7, p. 911-918, 2000.
5. SAJOTO, T. *Inorg. Chem.* v. 44, p. 79928003, 2005.
6. GAWAD, S. *Frontiers in Neuroscience* 2:1 doi:10.3389/neuro.16.001.2009.
7. MEYER R.D. et al. *IEEE Trans. Neur. Systems Rehab. Eng.* v. 9, p. 2-11, 2001
8. HALLAB, N.J. *Mol Cell Biochem.* v. 222, n. 1-2, p. 127-36, 2001.
9. COLLAZOS-CASTRO J.E. et al. *Thin Solid Films.* v. 518, p. 160-170, 2009
10. CARBALLO-VILA, M. *J. Biomed. Mater. Res. A.* v. 90, p. 94, 2009
11. PALANKER D. et al. *Spie. Proc. Bios. Ophthalmic Technologies VX* v. 5688A, p. 1-11, 2005.
12. IGNATIUS, M.J. et al. *J. Biomed. Mater. Res.* v. 40, n. 2, p. 264-274, 1998.
13. LEE, I.S. et al. *Biomaterials* v. 24, n. 13, p. 2225-2231, 2003
14. ENDO, K. et al *J. of Appl Electrochem.* v. 32, p. 173-178, 2002.

15. MAILLEY, S.C. et al. *Mater. Sci. Eng.C* v. 21, p. 167-175, 2002.
16. CALEGARO, M.L. *Journal of Power Source*. v. 156, p. 300–305, 2006.



# **Capítulo 6**

## **Conclusiones**



Considerando los resultados obtenidos en este trabajo y el análisis de los mismos, pueden formularse algunas conclusiones enunciadas a continuación:

*Con respecto a los materiales:*

## 1. TiO<sub>2</sub>

- Las capas finas de TiO<sub>2</sub> se preparan para una serie de aplicaciones, como por ejemplo, celdas fotovoltaicas sobre substratos transparentes de vidrio [54]. Este estudio muestra que lo que se ha considerado clásicamente como un óxido puro de TiO<sub>2</sub> contiene cantidades pequeñas, pero significativas en la superficie, de Na<sup>+</sup> proveniente del vidrio en forma de una fase no identificada y que puede afectar algunas aplicaciones. En el caso de este trabajo, la diferencia significativa entre las muestras tratadas a 350°C de 3 capas (sin Na<sup>+</sup> y sin precursores en la superficie) y el resto de muestras evidencia que el Na<sup>+</sup> puede estar afectando en la utilización posterior. Esto indica a su vez que de usar un material de soporte como el vidrio, la temperatura de tratamiento para un dispositivo aplicado al sistema nervioso debería ser baja.
- El TiO<sub>2</sub> en su forma anatasa derivado del proceso sol-gel y nanoestructurado es homogéneo, aislante y no pasiva en estas dimensiones el paso de corriente de un substrato conductor. Su ventana de acción electroquímica es de -0.7 V a 0.5 V vs. Pt.

## 2. IrOx

- Las capas de IrOx óptimas (mejor adherencia y afinidad celular) fueron las obtenidas a potencial dinámico a 10 mV/s con 50 ciclos, alcanzando valores de 40 μC/cm<sup>2</sup>.
- El material obtenido por electrodeposición debe ser formulado idóneamente como un oxo-hidróxido hidratado, conductor protónico y eléctrico y ligeramente básico, amorfo o cuasi-amorfo con una estructura local tipo rutilo que permite la inserción de H<sup>+</sup> o K<sup>+</sup> y con grados de homogeneidad variable. Sería posible definirlo como una “esponja” de agua/H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>. Sus propiedades eléctricas y electroquímicas muestran un conductor electro-iónico (mixto) con

capacidad de sufrir cambios en el estado de oxidación del Ir, e intercalación simultánea.

- El método de síntesis utilizado parece potenciar la retención de oxalato y/o carbonato en la estructura final del óxido obtenido. La caracterización estructural evidencia una valencia mixta alrededor de  $\text{Ir}^{3.5+}$  en las capas de  $\text{IrO}_x$ . La estructura local puede ser descrita como una estructura desordenada tipo rutilo, donde los octaedros  $\text{IrO}_6$  son similares a los encontrados en la estructura cristalina, sin embargo las capas no poseen un orden tridimensional de largo alcance. El desorden, y la facilidad de absorción/intercalación, así como la presencia de K y C, evidencian una estructura abierta formada por un “*template*”.
- La ventana de potencial donde no ocurre ninguna reacción del  $\text{H}_2\text{O}$  o del electrolito y que permitiría la utilización segura del  $\text{IrO}_x$  sintetizado sería de -1 V a 0.7V vs Pt en varios medios utilizados. En el medio de cultivo dicha ventana se estrecha al rango de -0.8V a 0.6 V vs Pt.
- El proceso de su formación electroquímica consume  $4.2 e^-/\text{Ir}$  y por tanto involucra un proceso adicional a la oxidación del  $\text{Ir}^{(\text{III})}$  precursor. Una posibilidad es la oxidación del propio oxalato quelante del metal que liberaría el metal cerca del electrodo. La formación de un óxido en el cátodo podría ser debida a la formación local de  $\text{OH}^-$  como resultado de la reducción del  $\text{H}_2\text{O}$  a  $\text{H}_2$ .

### 3. (Ir-Ti)Ox

- Las capas de óxido mixto obtenidas tienen una estructura compuesta por tres fases,  $\text{TiO}_2$  anatasa y rutilo e  $\text{IrO}_x$  rutilo. Los análisis estructurales muestran que estas fases parecen estar organizadas de tal manera que el óxido mixto está estratificado con  $\text{IrO}_2$  localizado en mayor proporción en la superficie.
- Además de Ti, Ir y O el C también está presente en las capas, proveniente de la contribución alifática y de carbonato de una posible hidrólisis incompleta de los precursores y de la señal de carbono endémica por el contacto de las muestras con el aire.

- Las capas de óxidos mixtos obtenidas tienen una microestructura uniforme muy parecida a la de las capas de  $\text{TiO}_2$ , aunque son más hidrofílicas. La rugosidad aumenta con la temperatura de tratamiento excepto en la muestra tratada a mayor temperatura por más tiempo. Esto demuestra que el método sol gel produce capas bastante homogéneas y con granos de área superficial grande.
- La caracterización electroquímica revela que el material tiene 2 picos en la zona de reducción que pueden estar relacionados con la reducción del iridio o con intercalación de iones  $\text{H}^+$  como en el caso de las muestras de  $\text{IrOx}$  obtenidas electroquímicamente. Además de los diferentes picos de reducción, el óxido mixto de titanio e iridio tiene una ventana electroquímica donde no ocurre ninguna reacción del medio a pH biológico entre  $-0.8\text{V}$  y  $+0.5\text{V}$  vs. Pt.

*Con respecto al desarrollo celular sobre substratos óxidos:*

## **1. $\text{TiO}_2$**

- Sobre el  $\text{TiO}_2$  el crecimiento neuronal existe, con valores ligeramente diferentes a la referencia usual, borosilicato hidrofílico, lo que implica que su uso como recubrimiento en un electrodo prótesis para el sistema nervioso podría ser adecuado y óptimo. El recubrimiento óptimo es el de  $350^\circ\text{C}$  3 capas y 90 nm de espesor, con una fase previa a la cristalización en la estructura anatasa.
- La inhibición del desarrollo de dendritas parece estar motivado por la química del material más que por su microestructura ya que se observa también para el  $\text{TiO}_2$  de estructura rutilo con tamaño de partícula superior.

## **2. $\text{IrOx}$**

- Los cultivos celulares sobre  $\text{IrOx}$  lo muestran como el mejor substrato probado con diferencias significativas con respecto al  $\text{TiO}_2$ . El crecimiento de dendritas no está inhibido y la supervivencia neural es muy alta.
- A pesar de que la supervivencia celular en las capas de  $\text{IrOx}$  es cercana a la observada en los controles las neuronas parecen desarrollarse mejor sobre el material en estudio en un primer estadio, a diferencia de las capas de  $\text{TiO}_2$  en

donde el desarrollo de las dendritas y la maduración del axón parecían estar inhibidos. Sin embargo, hacia el final del periodo se inhibe el desarrollo.

### **3. (Ir-Ti)Ox**

- Los cultivos celulares muestran que las neuronas sembradas sobre el óxido mixto como substrato poseen buen aspecto y buena adhesión celular al material. La temperatura de tratamiento no parece influenciar el número de neuronas que sobreviven sobre el material pero el tiempo de tratamiento sí lo hace. A mayor tiempo de tratamiento más supervivencia, lo cual puede estar relacionado con la cristalización de la estructura o la eliminación de residuos volátiles que no se detecta con las técnicas de caracterización estructural utilizadas.
- Además de la influencia de las condiciones de tratamiento sobre la supervivencia de las células parece que existe una relación con la cantidad de iridio presente en el material. A mayor cantidad de iridio mejores valores de supervivencia.

### **4. Comparación entre materiales**

- Si se evalúan los tres materiales, el  $\text{TiO}_2$ , el IrOx y el (Ir-Ti)Ox en términos de supervivencia las capas de IrOx se muestran como la mejor opción para ser utilizadas como soporte neuronal.
- Además de las propiedades fisicoquímicas de las capas de los tres materiales en estudio, la supervivencia celular puede estar relacionada con la interacción entre el material y el polipéptido utilizado en los cultivos celulares ya que algunas técnicas de caracterización como XPS o ángulo de contacto muestran que la polilisina utilizada en los cultivos celulares como interfase material/célula no se deposita de igual manera en todos los materiales.

# **Apéndice A**

## Divulgación y Proyección



## A.1 Presentación en congresos y reuniones

Algunos de los resultados de este trabajo han sido presentados en las siguientes comunicaciones a congresos y reuniones de proyecto:

- Nina M. Carretero\*, Javier Moral, **Ana M. Cruz** and N. Casañ-Pastor. “Study of polypeptide adhesion on biomaterials”. *Summer School on Nanoscale Science of Biological Interfaces*. California – USA 2010. Poster.
- Nina M. Carretero\*, Javier Moral, **Ana M. Cruz** and N. Casañ-Pastor. “Modificación y funcionalización superficial de materiales para aplicaciones biomédicas”. *XI Congreso Nacional de Materiales*. Zaragoza – España, 2010.
- J. Moral-Vico\* , **A.M. Cruz**, N. Carretero, J.P. Sordo, F. García, N. Casañ-Pastor. “Conductive polymers containing aminoacids and inorganic IrOx electroactive materials for soft tissue applications”. *2nd China-Europe Symposium on Biomaterials in Regenerative Medicine*. Barcelona – Spain 2009. Presentación oral.
- **A.M. Cruz**, C. de Haro, J. Moral, N. M. Carretero, Ll. Abad, M. Carballo, V. Padial, J. Collazos Castro, N. Casañ-Pastor\*. “Electroactive Materials, Electrochemistry, Field Application, Interfaces and Cultures”. *4st PROGRESS MEETING NERBIOS PROJECT*. Aberdeen – Escocia 2009. Presentación oral.
- **A.M. Cruz\***, Ll. Abad, M. Carballo, V. Padial, J. Collazos Castro, N. Casañ-Pastor. Iridium and “Titanium Thin Oxide Films: Electrochemical and Biological Applications”. *216th ECS Meeting*. Viena – Austria 2009. Presentación oral.
- **A.M. Cruz\***, Ll. Abad, A. Pérez del Pino, M. Carballo, N. López, V. Padial, J. Collazos Castro, N. Casañ-Pastor. “Electroactive Oxide Films as Substrate for Neural Growth”. *22nd European Conference on Biomaterials*. Lausanne – Suiza 2009. Poster.

- **A.M. Cruz\***, Ll. Abad, M. Carballo, V. Padial, J. Collazos Castro, N. Casañ-Pastor. “Low temperature oxides:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{IrOx}$ ,  $(\text{Ir-Ti})\text{Ox}$ ”. *3st PROGRESS MEETING NERBIOS PROJECT*. Porto – Portugal 2009. Presentación oral.
- Ll. Abad\*, **A.M. Cruz**, J. Moral, C. De Haro and N. Casañ-Pastor. “Electroactive Thin Films as Substrates for Neural Growth”. *European School of Nanoscience and nanotechnology*. Grenoble – Francia 2008. Poster.
- J. Collazos-Castro, **A.M. Cruz**, Ll. Abad, J. Fraxedas, P. Lozano, M. Carballo, N. López, J. Bassas, A. Pérez del Pino, N. Casañ-Pastor\*. Electroactive “Oxide Coatings as Neural Interfaces”. *59th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry*. Sevilla – España 2008. Poster.
- Nieves Casañ-Pastor\*, Jorge Collazos- Castro, **Ana Milena Cruz**, Jordi Fraxedas, Mónica Carballo, Llibertat Abad, Ángel Pérez del Pino. “Nanostructured Oxide Films as Neuronal Interface”. *Gordon Research in Bioelectrochemistry*. Biddeford ME – USA 2008. Poster.
- **A. M. Cruz\***, Ll. Abad, J. Fraxedas, A. Pérez del Pino, M. Carballo, N. López, J. Collazos Castro y N. Casañ-Pastor. “Capas finas de óxidos electroactivos para el crecimiento neuronal”. *X Congreso Nacional de Materiales*.- San Sebastián – España 2008. Presentación oral.
- Ll. Abad\*, J. Moral, **A.M. Cruz**, C. De Haro, A. Pérez del Pino and N. Casañ-Pastor. “Topographical Changes versus preparation procedures and versus Oxidation state in Conducting Oxides and Polymers”. *International SPM User Meeting*. Barcelona – España 2008. Poster
- **A.M. Cruz\***, Ll. Abad, J. Fraxedas, A. Pérez del Pino, M. Carballo, N. López, J. Collazos Castro y N. Casañ-Pastor. “ $\text{TiO}_2$  low temperature phases: New results”. *2st PROGRESS MEETING NERBIOS PROJECT*. Platja d’Aro – España 2008. Presentación oral.
- Ll. Abad\*, J.E. Collazos-Castro, **A.M. Cruz**, M. Carballo-Vila, A. Pérez del Pino, J. Fraxedas, N. Casañ-Pastor. “Electroactive oxide coatings as substrates

for neural growth: TiO<sub>2</sub> and IrOx”. *IV World congress on biomimetic, artificial muscles and nano-bio*. Cartagena – España 2007. Presentación oral

- **A.M. Cruz**, Ll. Abad, J. Fraxedas, A. Pérez del Pino, M. Carballo, N. López, J. Collazos Castro y N. Casañ-Pastor\*. “TiO<sub>2</sub> low temperature phases”. *1st PROGRESS MEETING NERBIOS PROJECT*. Patras – Grecia 2007. Presentación oral.
- J. Moral\*, **A.M. Cruz**, C. De Haro, J. Fraxedas, N. Casañ-Pastor. “Thin coatings for neural growth”. *Summer School in Polymeric and Self Assembled*. Sata Bárbara – USA 2007. Poster
- N. Casañ-Pastor\*, J. E. Collazos-Castro, M. Carballo, M. Lira-Cantúa, **A.M. Cruz**, A. Pérez, J. Fraxedas. “Thin TiO<sub>2</sub> coatings for neural growth”. *2007 MRS Spring Meeting*. San Francisco – USA 2007. Poster.

## A.2 Publicaciones

Algunos de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación han sido publicados o están en proceso de publicación y contienen algunas de las informaciones consignadas en esta memoria.

- **Ana. M. Cruz**, Llibertat Abad, Mónica Carballo, Vanesa Padial, Jorge E. Collazos-Castro, Jordi Fraxedas, and Nieves Casañ-Pastor. “Significant Electronic and Structural Features in Electrodeposited Iridium Oxide Transparent Films Used in Biomedical Applications. Neural Growth Evaluation”. En proceso de elaboración.
- J. E. Collazos-Castro, **A.M. Cruz**, M. Carballo-Vila, M. Lira-Cantú, Ll. Abad, A. Pérez del Pino, J. Fraxedas, N. Casañ-Pastor, A San Juan, C. Fonseca and A.P. Pêgo. “Neural cell growth on TiO<sub>2</sub> anatase nanostructured surfaces”. *Thin Solid Films* 518, 160-170 2009.

### A.3 Actividad Actual y Perspectivas

La tesis aquí presentada fue planteada originalmente en paralelo con otra que comenzó poco después, en la que con los mismos objetivos propuestos en este trabajo, el estudio se realizaba sobre materiales poliméricos conductores (polipirrol y PEDOT con diversas contraiones), así como posibles híbridos de estos con óxidos. En este momento, los estudios realizados muestran una gran afinidad del medio celular por los óxidos, así como un mejor desarrollo neuronal sobre los óxidos descritos en este trabajo.

Ambos trabajos son complementarios y se espera que den lugar a un trabajo compartido en un futuro próximo.

Aunque aquí se han dado los primeros pasos de la aplicación de campos eléctricos en cultivos celulares, se ha podido observar las muchas variables que necesitan controlarse, tanto si el material está presente en la disolución como si actúa de soporte celular y electrodo simultáneamente.

Dicho trabajo, de por sí puede dar lugar a otro trabajo de tesis completo que incluiría además el estudio más avanzado de la adhesión de proteínas o polipéptidos a los materiales descritos.

Por último, en los materiales óptimos, el desarrollo de “andamios” (o “*scaffolds*”) porosos que sirvan de soporte en la regeneración macroscópica celular y de tejido nervioso, es una etapa esencial que se está probando en este tipo de materiales.

Por todo ello puede considerarse que esta tesis abre una puerta significativa, con una elucidación básica de la aplicación de este tipo de materiales al sistema nervioso central, en varios campos simultáneos, además de en el ya probado de electroestimulación.