

University of Groningen

Magnesium-based supports for stem cell therapy of vascular disease

Echeverry Rendon, Monica

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2018

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Echeverry Rendon, M. (2018). Magnesium-based supports for stem cell therapy of vascular disease. [Groningen]: University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

APPENDICES

Magnesium-based supports for stem cell therapy of vascular disease**Abstract (English)**

Magnesium (Mg) is a widely used material in industrial applications due its low weight, ductility and good mechanical properties. For clinical applications such as non-permanent implants Mg is considered as a good option because it is biodegradable and its degradation products are not harmful for the human body. Moreover, Mg is essential element in the biology of mammals. However, Mg is chemically reactive and hydrogen gas is released as part of the oxidation i.e. degradation. Pockets of hydrogen gas may develop at implant sites and cause unwanted tissue necrosis. Fortunately, the degradation rate can be altered by physico-chemical modification of the material and may alleviate adverse biological responses. A successful procedure is plasma electrolytic oxidation (PEO) technique, which generates as a surface layer of MgO/Mg(OH)₂ in a controlled way. Thus the degradation rate of the Mg can be carefully tuned and reduced. An additional advantage of PEO is that properly designed topographical surfaces can be produced that improve adhesion and function of e.g. therapeutic stem cells. The aims of this work was firstly to use PEO to modify the surface of c.p Mg (chemically pure Mg) in order to improve its degradation considering using this support to deliver therapeutic cells that augment healing of vascular lesions. A second major aim was to set off the development of therapeutic devices that synchronize the degradation of the material with the progress of the tissue healing in particular after balloon catheterization of atherosclerotic arteries and placing magnesium-based stents. This thesis contains in the different chapters a complete study of modified magnesium from both a material and a biological perspective. This work started with the production, optimization and characterization of the material. After that, a biological validation was performed based on in vitro and ex vivo assays, performed under static and dynamic conditions with different cell types related to blood vessels (arteries) including endothelial cells, smooth muscle cells, macrophages and fibroblasts. Additionally, cell-material interaction and therapeutically effect of adipose tissue-derived stromal/stem cells cultured on the surfaces was studied. This work yielded prototype coatings that reduce the degradation rate of the material, while improving biocompatibility, in particular under hemodynamic conditions. The complexity to develop the idea to a final product is large and requires further investment in time and investigation to achieve the final goal of a biofunctional, biodegradable cardiovascular stent, for which we made the first pioneering steps. We conclude that modification c.p Mg implants by PEO technique is promising for cardiovascular devices that support the healing of the vascular lesion by delivering of stem cells.

Abstract (Dutch)

Magnesium (Mg) is een metallisch materiaal dat veel wordt gebruikt in industriële toepassingen vanwege zijn lage gewicht, buigzaamheid en goede mechanische eigenschappen. Voor klinische toepassingen zoals tijdelijke implantaten wordt Mg als een goede optie beschouwd omdat het biologisch afbreekbaar is en de afbraakproducten ervan niet schadelijk zijn voor het menselijk lichaam. Bovendien is Mg een essentieel element in de biologie van zoogdieren. Mg is echter chemisch reactief en komt er waterstofgas vrij als onderdeel van de oxidatie, d.w.z. de afbraak. Op implantatieplaatsen kunnen zich zogenaamde pockets met waterstofgas vormen die weefselnecrose veroorzaken. Gelukkig kan de afbraaksnelheid worden veranderd door fysisch-chemische modificatie van het materiaal welke ook nadelige biologische reacties reduceren. Een succesvolle methode is de zogenaamde plasma elektrolytische oxidatie (PEO) - techniek, die een oppervlaktelaag op gecontroleerde wijze genereert bestaande uit $MgO/Mg(OH)_2$. Zo kan de afbraaksnelheid van het Mg zorgvuldig worden afgestemd en verminderd. Een bijkomend voordeel van PEO is dat goed gedefinieerde topografische oppervlakken kunnen worden geproduceerd die de hechting en functie van bijvoorbeeld therapeutische stamcellen verbeteren. Het doel van dit onderzoek was ten eerste om PEO te gebruiken om het oppervlak van c.p. Mg (chemisch puur Mg) te wijzigen om de afbraak te verbeteren, ten einde dit materiaal te gebruiken om therapeutische cellen mee af te geven en de genezing van vasculaire laesies te bevorderen. Een tweede belangrijk doel was de ontwikkeling van therapeutische hulpmiddelen die de degradatie van het (Mg) materiaal synchroniseren met de voortgang van de weefselgenezing in het bijzonder na balloncatheterisatie van atherosclerotische slagaders en het plaatsen van op magnesium gebaseerde stents. Deze dissertatie bevat in de verschillende hoofdstukken een volledige studie van gemodificeerd magnesium, zowel vanuit materieel als vanuit biologisch perspectief. Dit werk begon met de productie, optimalisering en karakterisering van het materiaal. Daarna werd een uitgebreide biologische validatie uitgevoerd op basis van in vitro en ex vivo testen, uitgevoerd onder statische en dynamische omstandigheden met verschillende celtypen gerelateerd aan bloedvaten (slagaders) met inbegrip van endotheelcellen, gladde spiercellen, macrofagen en fibroblasten. Daarnaast werden de cel-materiaal interactie en het therapeutisch effect van stromale / stamcellen uit vetweefsel en gekweekt op de oppervlakken bestudeerd. Dit werk leverde prototype coatings op die de degradatiesnelheid van het materiaal verminderen en tegelijkertijd de biocompatibiliteit verbeteren, in het bijzonder onder hemodynamische omstandigheden. De complexiteit om het idee in een eindproduct te ontwikkelen is groot en vereist verdere investeringen in tijd en onderzoek om het uiteindelijke doel van een biofunctionele, biologisch afbreekbare cardiovasculaire stent te bereiken, waarvoor we de eerste pioniersstappen hebben gezet. We concluderen dat modificatie c.p.Mg - implantaten met de PEO-techniek veelbelovend is voor cardiovasculaire hulpmiddelen die de genezing van de vasculaire laesie ondersteunen door het toedienen van stamcellen.

Curriculum vitae

Monica Echeverry Rendon, the author of this dissertation, was born on 31 August 1983 in Medellin, Colombia. In 2001, she started her education in Bioengineering at the University of Antioquia. During her Bachelor education, she developed an interest in science and specifically in Biomaterials field. During her undergraduate program she started her first bases in science in the group PECET (Program For the Study and Control of Tropical Diseases). There she participated in a project about the evaluation of natural compounds against Leishmaniasis, under the supervision of Prof. Sara Robledo. During her last year in the bioengineering program, she had the opportunity to do an internship in the Bioimplants Laboratory at the National University Entre Rios, Argentina. She obtained her degree as bioengineer in December 2007.

In 2009, Monica started her Master studies in Biology in the University of the Antioquia. Her project was called "Biological Evaluation of Ti c.p and Ti6Al4V Anodized to Improve the Osseointegration" which was developed under the supervision of Prof. Juan Jose Pavon, Sara Robledo and Felix Echeverria. During her Master education, Monica performed an internship in the Tissue Engineering Laboratory at the University Complutense of Madrid. Her master studies concluded in 2012 where Monica obtained a meritorious thesis.

During 2013 and 2014, Monica worked as research assistant, first in the School of Nuclear Engineering, Purdue University, Indiana EEUU and then in Department of Nuclear, Plasma and Radiological Engineering at the University of Illinois at Urbana-Champaign EE.UU in the project "Development and Fabrication of a Stent Prototype to Induce Closure of Post-Traumatic Blast-Induced Penetrating Brain Pseudo-Aneurysms" under the supervision of Prof. Jean Paul Allain.

In 2014, Monica started her PhD-research in a double degree program between the University of Antioquia and the University of Groningen. With this purpose she did the first two years in the University of Antioquia with emphasis in Material Science in the "Centro de Investigación, Innovación y Desarrollo de Materiales CIDEMAT" under the supervision of Prof. Felix Echeverria and the next two years in the University Medical Center Groningen, in the department of Medical Biology in the Cardiovascular Regenerative Medicine Research Group (CAVAREM) under the supervision of Prof. Marco Harmsen. Her investigation was about the development of biodegradable magnesium-based supports for stem cell therapy of vascular disease. During her PhD Monica obtained two awards with her work, first during the event Leaders in Innovation Fellowships organized by the Royal Academy of Engineering in London (2017) where she had the prize as First place after she gave a Pitch about her project. Second, she got the Best PhD student Oral Presentation Award, during the Kolff's days graded by the W.J. Kolff institute.

List of Publications

- Novel coatings obtained by plasma electrolytic oxidation to improve the corrosion resistance of magnesium-based biodegradable implants. Monica Echeverry-Rendon, Valentina Duque, David Quintero, Martin C. Harmsen, Felix Echeverria. *Surface & Coatings Technology* 354 (2018) 28–37. DOI 10.1016/j.surfcoat.2018.09.007.
- Formation of nanotubular TiO₂ structures with varied surface characteristics for biomaterial applications. Aguirre R, Echeverry-Rendón M, Quintero D, Castaño JG, Harmsen MC, Robledo S, Echeverría E F. *J Biomed Mater Res A*. 2018 May;106(5):1341-1354. DOI 10.1002/jbm.a.36331
- Modification of Titanium alloys surface properties by Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) and influence on Biological response. Mónica Echeverry-Rendon, Oscar Galvis, Robinson Aguirre, Sara M. Robledo, Juan G. Castaño, Félix Echeverría. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2017 DOI 10.1007/s10856-017-5972-x
- Book chapter Surface treatment of metallic biomaterials in contact with blood to enhance hemocompatibility. Jean Paul Allain, Monica Echeverry-Rendon, Book: Hemocompatibility of Biomaterials for Clinical Applications: Blood-Biomaterials Interactions. Pages 279-326, 2018 Elsevier
- Development of the magnesium alloy industry in Colombia-An opportunity. Berrio-Betancur, L.F., Echeverry-Rendón, M., Correa-Bedoya, E., Zuleta-Gil, A., Robledo-Restrepo, S.M., Castaño-Gonzalez, J.G. and Echeverría-Echeverría, F., *DYNA*, 84(203), pp. 55-64, December, 2017. DOI 10.15446/dyna.v84n203.66440
- Bacterial Nanocellulose Magnetically Functionalized for Neuro-Endovascular Treatment. Mónica Echeverry-Rendon, Lisa M. Reece, Fernando Pastrana, Sandra L. Arias, Akshath R. Shetty, Juan Jose Pavón, Jean Paul Allain. *Macromolecular Bioscience* January 24, 2017 DOI 10.1002/mabi.201600382
- Surface design of c.p titanium and Ti6Al4V by plasma electrolytic oxidation (PEO) to improve biological behavior Echeverry-Rendón M, Galvis O, Aguirre R, Robledo S, Castaño J and Echeverría F (2016).. *Front. Bioeng. Biotechnol. Conference Abstract: 10th World Biomaterials Congress*. DOI 10.3389/conf.FBIOE.2016.01.01941
- Fabrication of a Functionalized Magnetic Bacterial Nanocellulose with Iron Oxide. Nanoparticles. Arias SL, Shetty AR, Senpan A, Echeverry-Rendón M, Reece LM, Allain JP. *The Journal of Visualized Experiments (JoVE) Bioengineering*, Issue 111, May 2016 DOI 10.3791/52951.
- Procesamiento, caracterización y ensayos biológicos de scaffolds poliméricos naturales y sintéticos para ingeniería de tejido óseo y cartilaginosa. Pavón Palacio JJ, Pesquet, A, Echeverry Rendón M, Robledo Restrepo. S.
- Osseointegration Improvement by Plasma Electrolytic Oxidation of Modified Titanium Alloys Surfaces. Mónica Echeverry-Rendon, Oscar Galvis, David Quintero Giraldo, Juan Pavón, José Luis López-Lacomba, Emilio Jiménez-Piqué, Marc Anglada, Sara M. Robledo, Juan G. Castaño, Félix Echeverría. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 26, no. 2 (2015): 72. DOI 10.1007/s10856-015-5408-4.
- Chapter 2. Nanostructured Biointerfaces, in the book of Nanopatterning and Nanoscale Devices for Biological Applications. Allain, J.P., Echeverry-Rendon, M., Pavon, J.J., Arias, S. (2014). Editor: Seila Selimovic, CRC Press 2014, Pages 42-67.
- Processing, characterization and biological testing of electrochemically modified titanium for dental implants. Sandra Liliana Arias Suarez, Mónica Echeverry Rendón, Sara María Robledo Restrepo, Jorge Alberto Arismendi Echavarría, Diana Marcela Escobar Sierra, Claudia Patricia Ossa Orozco, Juan José Pavón Palacio. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia N.* 69 pp. 96-108, Diciembre, 2013
- Materiales y Técnicas Utilizadas en Recubrimientos Bioactivos para Mejorar Procesos de Oseointegración. Mónica Echeverry Rendon; Castaño, Juan G.; Restrepo, Sara M. Robledo; Echeverría, Félix. *Revista Politécnica:jul-dic2012*, Vol. 8 Issue 15, p75
- Processing, characterization and biological testing of bioactive coatings on 316L stainless steel and Ti6Al4V obtained by thermal spray. M Echeverry, N. Mesa, M. Monsalve, E. López, H. Ageorges, S. Robledo, F. Vargas, J. Pavón. 13th European Inter-Regional Conference on Ceramics (CIEC 13), Sep 2012, Barcelona, Spain

- Processing, characterization and biological testing of porous titanium obtained by space-holder technique. Y. Torres, J. A. Rodríguez, S. Arias, M. Echeverry, S. Robledo, V. Amigo and J. J. Pavón. *Journal of Materials Science*. Volume 47, Number 18 (2012), 6565-6576. DOI 10.1007/s10853-012-6586-9
- Anodic oxidation of titanium for implants and prosthesis: processing, characterization and potential improvement of osteointegration. J. Pavón, O. Galvis, F. Echeverría, J. G. Castaño, M. Echeverry, S. Robledo, E. Jiménez-Piqué, A. Mestra, M. Anglada, I. Folgueras Méndez, J. et al. (eds) *V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2011* May 16-21, 2011, Habana, Cuba. IFMBE Proceedings, vol 33. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI 10.1007/978-3-642-21198-0_45
- Actividad citotóxica y leishmanicida in vitro del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla*). Yesmit Karina Ríos, Astrid Carolina Otero, Diana Lorena Muñoz, Mónica Echeverry, Maira Alejandra Yepes, Sara María Robledo R. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* Vol. 37 (2), 200-211, 2008. DOI 10.15446/rcciquifa

English versión

Every stage in the cycle of life should end with a pause to collect, to forgive, to thank, to correct and to continue. Perhaps this is one of the most important chapters of this book in which I recognize the incredible people who accompanied me in this beautiful doctoral process.

Some time ago, I do not remember very well where or when, I heard a metaphor in which life was compared to a train trip. We are passengers who leave from a station en route a destination, a state, a goal. Parts of the trip are relatively simple, without many stops or ups and downs. There are other itineraries that are more complex and dynamic, in the end what makes the traveler is not the destination but the trip itself.

A little over four years ago, I began an adventure, which ends today with this book. Today, the first thing I want to do is to give infinite thanks to the driver of my train; God thank you for allowing me to always feel your company and presence, for allowing me to get here with good mileage and with a suitcase full of experiences and unforgettable moments. Thanks because when I thought that I couldn't continue, you put me in the presence of people, situations or magical places that made me recover my peace.

During the development and execution of the project, I was always supported by the best working team, guided by my tutors, Prof. Felix Echeverria and Prof. Marco Harmsen. These two figures are the yin and the yang, so different but so similar at the same time, always complementary. Thank you for your trust and for allowing me to grow by your side. You trusted my vision, allowed me to be myself, to find my way and mature in science. Thank you, because you never imposed your own agendas on me, you always listened to me and extended your hands when everything seemed lost. After working with a rational and structured engineer and with a beautifully chaotic and dreamer biologist I have seen the incredible benefits that interdisciplinary cooperation can lend to science.

Prof Felix, I don't have enough words to thank you. All the acts of confidence and unconditional support that you gave me, not only in during my PhD but as long as I have known you, have helped me reach my goals today. You have been a fundamental piece in my training process; your moderation, your intelligence, the critical and analytical ways in which you approach problems have always been the product of my admiration. I thank you because I never received a "NO" from you; no matter how crazy my ideas were, you always supported me and gave me the confidence to keep going. You never gave up on the project, something that would have been a challenge for anyone. Prof Marco, I still remember the day I met you at the ISCOMS congress, we immediately hit it off, our energies are completely compatible and many times we did not need words to communicate, a look, a smile and we already knew what we thought. I think you are the most atypical and fabulous Dutch person that I know. Thank you for the hugs and the good energies that you gave me in Groningen, they always helped me raise my head and look beyond those things that overwhelmed me; the weather, magnesium or loneliness. Thank you for our weekly Wednesday 4pm meetings, where we were always able to solve with some coffee or an ice cream. Many thanks also for the confidence and for supporting my decisions to establish new cooperative relationships and to undertake new projects.

This beautiful journey of my great trip had two very important destinations. My first years were in Colombia in the CIDEMAT group, there I started my exploratory work with an incredible team directed by Luisa Berrio, a great partner with whom I faced the first frustrations of working with magnesium. To Robinson Aguirre our undergraduate student assigned to the project who then he would be replaced by Valentina Duque; Robinson, it has been beautiful to see you grow and progress, thank you for your support in the project and in the manufacturing of the samples to be evaluated. Thanks for your patience and for tolerating my fears of chemicals and electricity. Thank you for opening your heart and letting me see the sensitive and charismatic man you are. Valentina you cannot imagine the gratitude and fondness that I have for you, you were an extension of my hands in Colombia. Your discipline and dedication were a fundamental piece of the project. Now it is my turn to be next to you and I feel so happy that I can contribute to your formation. You have become a very important part of me and you know that you count on me, I predict a bright future full of opportunities for you. Thank you for always being there for me.

Additionally, I would like to thank all the CIDEMAT professors who, with their smiles and words of encouragement, motivated me to continue forward, Prof Juan Guillermo Castano, Prof. Maryory Gomez, Prof. Francisco Bolivar, Prof. Jorge Calderon and all my colleagues who in one way or another supported me in the pending progress of this project, to Nathaly Arias, Sara Aguilar, David Quintero, Oscar Galvis, Adrian Tamayo, Sebastian Gomez, Tiffany Marin, Paula Montoya, Carolina Villada and Carolina Ramirez.

I would also like to thank the PECET Group for their support, which in a neutral and completely open way allowed me to use their facilities for the first biological validations of the material. I especially I would like to thank Prof. Sara Maria Robledo, also a co-supervisor of this project who has been my academic mom and who for more than 15 years has worked by my side despite my absences and my stays outside of Colombia. Sara, it's amazing to see how time passes and our relationship grows stronger and stronger each day. Thank you because you were my inspiration and model to follow as a researcher; strong, with character and criteria to open up a field in a male dominated, and sometimes exclusive discipline. Thank you because you always taught me that there is not a problem big enough for us, yet. I think this is a perfect moment to remind you how much I admire you and appreciate you. Also thank you also to my colleagues Victoria Ospina and Yulieth Upegui.

At the University of Groningen, I was also very fortunate, joining the the CAVAREM group with many very special people. One of them was Prof. Guido Krenning, whom I admire for his intelligence, self-confidence and presence. I had the opportunity to work directly with you, this allowed me to I discover how warm, cooperative and open you are. "Mr. always right", thanks for the support, the words of encouragement and the discussions about the future. I think you are a very complete and exemplary person from a personal and professional point of view and it would be an honor for me to continue working with you. Thank you for your participation in the project, I think that with your contribution you gave me yet another perspective from which I learned a lot. Next, I want to thank Ghazale Hajmoussa, upon my arrival in the Netherlands you helped me immensely in my integration into Dutch culture. I will always remember you with gratitude. Thanks to Maroesjka Spiekman, the lioness of the herd, thank you for the role you played in making sure CAVAREM went beyond work. The "Friday drinks", forcing us to get out of the monotony of work, to learn to know each other as colleagues and friends, and to dance the night away. Thank you to Byambasuren Vanchin for your pure nobility and joy, loving you is easy and almost instantaneous. You know how much I admire you and I hope that one day, life will give us a chance to meet again. To Marloes Sol, my paraninf, our friendship was not instantaneous, our first days were rocky, however with time we were able to break down the walls between us and develop this beautiful, everlasting friendship. Thank you for allowing me to share so many beautiful moments with you. You are always welcome in Colombia! Thanks to Joris van Dongen with whom I shared the office and laboratory day by day. Joricito (you can read choricito) you know how important you were to me and how much fun we had together, thanks for the card games (that of course you always lost), for the good times at congresses, for the long days finishing experiments, the gatherings at Mr Mofongo and for being an accomplice in practical jokes. I have no doubt that life is waiting for you with thousands of opportunities and as a very intelligent and disciplined man your future will be successful. Thanks to Jolien Fledderus, your sympathy is as great as you. I really enjoyed your company in the last few months while we shared the office. Thanks to Ana Maria Almonacid for her words of encouragement and our 'spanish' gatherings were we had a chance to disconnect and feel more at home. Thanks to Fernando, Oh sorry, to Francisco Drusso Martinez because even though we only shared a month together, I felt as if I had known you all my life. Your stupid jokes and satirical comments injected a funny energy to my last days at the UMCG. I definitely think we didn't have enough time!!! I also want to thank my other colleagues with whom I shared less but who coincide in time and space, Vincenzo, Gabriel, Xenos Lysane, Tacia and the masters students who passed through the group, Ruud, Vincent, Paul, Heinze, Cinthya , Lian and Naomi with whom I surely shared more than a simple coffee in the coffee room. Thank you to Qing Chen the new acquisition to the office, beautiful, funny, sincere and direct. And especially I want to thank my master students Kirsten Muizer and Brina Stancic.

Kirsten, thank you because you were one of the few people who suffered the difficulties of working with magnesium with me. I will always appreciate the courage you had to join the project and try to move it forward. Your personality was very complementary to mine, the humor and tears that we shared, and never to forget the dissection of rat aortas. Brina, thank you because you opened your arms and you let yourself be loved and helped. You continued with Kirsten's work and you surely thought "it can not be that difficult" and you suffered it but we made a lot of progress. In Groningen, from the very early mornings until nightfall, we worked tirelessly in the laboratory. Those were some very intense weeks but we made it through, and managed to have some good fun and laughs in-between experiments. Not to mention what we enjoyed together in Colombia, my friends were yours you knew my surroundings, my way of life, my country and my roots. Thank you for allowing me to share your experience in Colombia with you. It is clear that yesterday we were joined by a Project but now it is other thing that makes us continue as friends.

Thanks to the people who helped me with technical problems in the laboratory, and other administrative issues. To Linda Brouwer and to Marja Brinker "the heads of CAVAREM", to Henk Moorlag for the stories about his cat, the history of art, and with whom I lived the best "Dutch experience" ice skating. To Hans van der Plas who with his kindness helped me with administrative difficulties, to Carolien Mulder, Susan Pals and Petra Huisman.

Thanks to 'El escuadron latino' of the department, Tamara Saez, Susana Figueroa, Rebeca Hid and Nataly Puerta, all of you were my closest connection with home. Every time we took a break, we were able to immerse ourselves in our culture. Thank you because with you, the coffee had better flavor (in figurative) and because always the laughter and the disorder was generated around the "Latin power".

Thanks to Prof Han Moshage and Joyce Fongers because they were the key that opened the door of Groningen to be able to do my doctorate in double degree and they guided me to make the best decision to work with the best supervisor ever.

Thanks to Prof. Hendrik Buikema and Dalibor Nakladal for your help and good disposition during the ex vivo studies of magnesium on endothelial tissue.

Than you Daniela Jou-Valencia because since I met you, automatically you became my friend and my sister, because you were always there and we enjoyed unforgettable moments together and because you got into my collection of favorite people. Tea time, gym training, lazy hours, eating ice cream or gossiping like good Latinas, all of this will be always in my best memories. Thank you because you were always a person who was there unconditionally. It was so clear to me that you would be on my right as my paraninfa during my PhD defense because you are simply the most important person for me in the whole Holland! Thanks for accepting it. And additionally I want to thank to Ari-Jan Azad, for your good sense of humor for your company and support and for the good culinary moments and all the bullying that you did to me, definitely you two Dani and Ari are a beautiful couple.

Thanks to my adoptive family in Holland, Jonnathan Jiménez, Juanes Durango, Marleny Fajardo, Fredy Soer and Amirah, we spent incredible moments together traveling, playing and eating. Thank you for all the support when I felt loneliest or sick. I will always be grateful for all that you were and did for me.

Other people who from the distance also played an important role with words of support and unconditional company have been Jennifer Barrirero, my sister and friend, Jean Paul Allain who at a professional level and as a friend has always been aware of my wellbeing and progress, Jennifer Hermann, a beautiful being with whom I have shared funny and happy moments, John Jaiber González, an analytical and critical man with whom I have disputed interesting conversations about the complexity of the human being. To my friends Doreisy Vallejo, Juan Pablo Gómez, Mauricio Wilchez who have been there through time and distance. Thanks to my two musketeers Eugenia Cardona and Diana Lorena Muñoz, friends of the soul with whom I have built a relationship so beautiful that it lasts despite time and distance. To Patricia Montoya, my accomplice, my great friend, who with her words and directions helped me to be a better person since I met her, thank you for supporting me and helping me with every decision I made. To Gabriel Jaime Gallego, to Carlos Eduardo Giraldo, to Steffi Samaniego, Angélica Sabogal, Daniel Moreno and Jaime Mondragón because in one way or another they were there during this stage of my life.

And last but not least, I want to thank my family, my engine and my inspiration, my pride and my motivation. Papa and mama, thank you for my life, for the values and principles that you instilled in me, today this achievement is more of you than anybody else. You can feel proud because your work as parents in me and my brother and sisters has been fulfilled, I love you deeply and you are the most valuable treasure I have. Thank you to my brother and sisters, you are the best gift and legacy that my parents have given us, thank you for being there, for accepting the way of life that I chose and for giving me words of strength and counting the days with me to be able to be together again, we are the best team in the world!! To my bothers in law who have become my brothers and thank you to my nephews and nice who day by day inspire me to fight for a better world.

I do not know where, or when my train will stop, the only thing that I know is that until today my trip has been incredible and I do not regret a minute of the route that I have taken.

And finally I would like to thanks to all those who take the time of reading some section of this book hoping that they can find in it some important information that helps to build science.

Envigado, Antioquia September 2018

Monica Echeverry R

Spanish Version

Cada ciclo en la vida debería terminar con una pausa para recoger, perdonar, agradecer, corregir y continuar. Quizás este sea uno de los capítulos más importantes de este libro en el cual reconozco la increíble compañía de quienes me acompañaron en este hermoso proceso del doctorado. Hace algún tiempo, no recuerdo muy bien donde ni cuando, escuche una metáfora en la que comparaban la vida misma con un viaje en tren. Somos pasajeros que partimos de una estación con el fin de llegar a un destino, a un estado, a una meta. Para algunos el viaje es relativamente sencillo, sin muchas paradas y altibajos, hay otros itinerarios que son más complejos y dinámicos, a la final quien hace al viajero no es el destino sino el mismo viaje en sí. Hace un poco más de cuatro años, comencé esta aventura que hoy finaliza con este libro. Hoy lo primero que quiero hacer es darle las gracias infinitas al conductor de mi tren, Dios gracias por permitirme sentir siempre tu compañía y presencia, por permitirme llegar hasta aquí con un buen kilometraje y con una maleta llena de experiencias y momentos inolvidables. Gracias por que cuando pensé que ya no iba a ser capaz, persiste en frente de mi personas, situación o lugares mágicos que me hicieron recobrar la cordura. Seguido a esto durante la formulación y ejecución del proyecto estuve siempre respaldada por el mejor equipo de trabajo en cabeza de mis tutores, el Prof. Felix Echeverria Y el Prof. Marco Harmsen, el yin y el yang, tan diferentes pero tan parecidos, siempre complementarios. A ustedes gracias por la confianza y por permitirme crecer a su lado, por permitirme ser yo misma, encontrar mi camino y madurar en la ciencia. Gracias porque nunca me impusieron, siempre me escucharon y siempre extendieron la mano cuando pensamos que todo estaba perdido. Después de trabajar con un ingeniero racional y estructurado y con un biólogo hermosamente caótico y soñador queda demostrado que la interdisciplina es una buena estrategia para hacer ciencia.

Prof Felix, no me alcanzan las palabras para agradecer todos los actos de confianza y apoyo incondicional que me ha brindado, no solamente en el doctorado sino desde que lo conozco. Usted ha sido una pieza fundamental en mi proceso de formación, su mesura, su inteligencia, la forma crítica y analítica en la que aborda los problemas han sido siempre producto de mi admiración. Le agradezco porque nunca recibí un NO de su parte, porque por mas locas que fueron mis ideas siempre me apoyo y me dio la confianza para seguir adelante aun así este proyecto hubiese sido un reto para todos. Prof Marco, aún recuerdo el día que lo conocí en el marco del congreso ISCOMS, creo que lo nuestro fue “un clic automático”, nuestras energías son completamente afines y compatibles y muchas veces no necesitábamos palabras para comunicarnos, una mirada, una sonrisa y ya sabíamos que pensábamos. Creo que usted es el Holandés más atípico y fabuloso que conozco, gracias por el abrazo y las buenas energías que me regalo en Groningen siempre me ayudaron a subir la cabeza y a mirar para adelante cuando me sentía abrumada por el clima, el magnesio o la soledad. Gracias por las largas tertulias de los miércoles a las 4:00 en nuestras reuniones semanales donde con un café o con un helado tratábamos de darle una dirección a este proyecto. Muchas gracias también por la confianza y por respaldar mis decisiones para entablar nuevas relaciones cooperativas y para emprender nuevos proyectos.

Este hermoso trayecto de mi gran viaje tuvo dos destinos muy importantes. Mis primeros años fueron en Colombia en el grupo CIDEMAT, allí empecé mi trabajo exploratorio con un increíble equipo de trabajo Luisa Berrio una gran compañera con quien me enfrente a las primeras frustraciones de trabajar con magnesio y Robinson Aguirre nuestro estudiantes de pregrado asignado al proyecto quien luego sería reemplazado por Valentina Duque. Robinson, ha sido hermoso verte crecer y progresar, gracias por tu apoyo en el proyecto y en la fabricación de las muestras a evaluar. Gracias por la paciencia y por tolerar mis miedos a los químicos y a la electricidad. Gracias por abrirme tu corazón y poderme dejar ver el sensible y carismático hombre que eres. Valentina tú no te alcanzas a imaginar la gratitud y el cariño que te tengo, tú fuiste la extensión de mis manos en Colombia mientras estuve por fuera. Tu disciplina y tu esmero fueron una pieza fundamental en todo este proceso y la disposición y amor con la que hacías cada tarea que se te encomendaba se veía en todo lo que hacías. Es hermoso saber que de alguna forma yo estoy a tu lado y que ahora soy yo quien puede de alguna forma ayudarte en el proceso de formación que estas construyendo. Te me metiste en el corazón y sabes que te quiero muchísimo, te auguro un futuro brillante y lleno de oportunidades. Gracias por estar siempre ahí.

Adicionalmente quiero agradecer a todos los profesores CIDEMAT que con sus sonrisas y palabras de aliento me motivaban a seguir adelante, al Prof Juan Guillermo Castano, a la Prof Maryory Gomez, al Prof Francisco Bolivar, al Prof Jorge Calderon y a todos mis compañeros que estuvieron de una u otra forma pendientes del progreso de este proyecto, a Nathaly Arias, a Sara Aguilar, a David Quintero, a Oscar Galvis, a Adrian Tamayo, a Sebastian Gomez, Tiffany Marin, Paula Montoya, Carolina Villada y Carolina Ramirez.

También quisiera aprovechar este espacio para agradecer el apoyo del Grupo PECET quien de una forma desinteresada y completamente abierta presto sus instalaciones para las primeras validaciones biológicas del material. Gracias también a mis compañeras Victoria Ospinay a Yulieth Upegui y especialmente a la Prof. Sara Maria Robledo, también cotutora de este proyecto quien ha sido mi mama académica y que por más de 15 años ha trabajado a mi lado a pesar de mis ausencias y mis estancias fuera de Colombia. Sara, es increíble ver como el tiempo pasa y nuestra relación cada día se hace más y más fuerte. Gracias porque fuiste mi inspiración y modelo a seguir de mujer investigadora, fuerte, con carácter y criterio para abrirse campo en un gremio algunas veces machista y excluyente. Gracias porque siempre me enseñaste que aún no hay un problemas lo suficientemente grande para nosotras. Que esta sea una ocasión para recordarte cuanto te quiero.

Por parte de la Universidad de Groningen también fui muy afortunada, tuve la oportunidad de coincidir en el grupo CAVAREM con personas muy especiales. Una de ellas fue el Prof. Guido Krenning, a quien admiro por su inteligencia, seguridad de sí mismo y proyección frente a lo que quiere. Cuando tuve la oportunidad de trabajar directamente contigo descubrí lo cálido, colaborador y abierto que eres. "Mr always right", gracias por el apoyo, las palabras de ánimo y las discusiones sobre el futuro que compartimos. Pienso que eres una persona muy completa y ejemplar desde lo personal y profesional y sería para mí un honor seguir trabajando contigo. Gracias por tu participación en el proyecto, creo que con tu aporte le diste otra óptica al tema del cual aprendí mucho. De mis compañeros quiero agradecer especialmente a Ghazaleh Hajmoussa porque fuiste una de las personas que más me ayudó cuando llegue nueva al grupo y en mi adaptación al proceso en Holanda, siempre lo recordare con mucho cariño y gratitud. Gracias a Maroesjka Spiekman, la leona de la manada, gracias porque muchas veces nuestro polo a tierra cuando convocabas a Friday drinks obligándonos a salir de la monotonía del trabajo y a compartir un poco más y bailar toda la noche. A Byambasuren Vanchin porque eres pura nobleza y alegría, quererte es fácil y casi instantáneo. Tú sabes cuánto te admiro y espero que algún día la vida nos dé una oportunidad de volvernos a encontrarnos. A Marloes Sol, mi parainfa, gracias porque durante todo este tiempo pudimos construir la hermosa amistad que hoy tenemos. Gracias por escucharme, por hablarme y por permitirme acercarme a ti, gracias por permitirme compartir momentos a tu lado. Bienvenida siempre a Colombia!! Gracias a Joris van Dongen con quien compartí mi espacio vital en la oficina y en el laboratorio día tras día. Joricito (lease choricito) tu sabes lo importante que fuiste para mí y lo mucho que nos divertimos juntos, gracias por los juegos de cartas en los que siempre perdías, por los buenos momentos en los congresos, por las largas jornadas de experimentos, las tertulias en Mr Mofongo y por ser cómplice en las bromas que planeábamos. No me cabe duda de que la vida te está esperando con miles de oportunidades y tu futuro será exitoso porque eres un hombre muy inteligente y disciplinado. Gracias a Jolien Fledderus, tu simpatía es tan grande como tú, realmente disfrute mucho de tu compañía los últimos meses en especial mientras compartíamos en la oficina. Gracias a Ana Maria Almonacid por sus palabras de aliento y las tertulias que tuvimos y las descargas en español para sentirnos un poco en casa. Gracias a Fernando, perdón a Francisco Drusso Martinez porque a pesar de que solo compartimos un mes junto, sentí como si te conociera de toda la vida. Tus chistes flojos y comentarios satíricos le inyectaron una energía divertida a mis últimos días en la UMCG. Definitivamente creo que nos faltó tiempo!!! Quiero darle las gracias también a mis otros compañero con quienes compartí menos pero que coincidimos en tiempo y espacio, a Vincenzo, Gabriel, Xenos Lysane, Tacia y a los estudiantes de maestría que pasaron por el grupo, Ruud, Vincent, Paul, Heinze, Cinthya, Lian y Naomi con quienes seguro compartí más que un simple café en el coffee room. Gracias a Qing Chen la nueva adquisición en la oficina, linda, divertida, sincera y directa. Y en especial quiero agradecer a mis master estudiantes Kirsten Muizer y Brina Stancic.

Kirsten, gracias porque fuiste de las pocas personas que experimentalmente sufrieron conmigo lo que es trabajar con magnesio. Siempre voy agradecer lo valiente de unirme al proyecto y tratar de sacarlo adelante, tu personalidad tan afín a la mía, el humor y las lágrimas que compartimos y seguro que nunca se me olvidara como hacer la disección de una rata para obtener su aorta porque lo aprendí de la mejor. Brina, tu continuaste con el trabajo de Kirsten y seguro pensaste “no puede ser tan difícil” y lo padeciste pero avanzamos mucho, en Groningen compartimos muy poco, desde temprano en la mañana hasta el anochecer en el laboratorio, fueron semanas muy intensas pero también tuvimos tiempo para divertirnos y reír a carcajadas como solo tu lo sabes hacer. Ni hablar de lo que disfrutamos juntas en Colombia, mis amigos fueron los tuyos, conociste mi entorno, mi forma de vida, mi país, mis raíces. Gracias por haberte dado esa oportunidad y dármela a mí. Queda claro que ayer nos unía un Proyecto pero que ahora es el cariño lo que nos hace continuar como amigas.

Gracias a las personas que desde los problemas técnicos en el laboratorio o desde asuntos administrativos me ayudaron con algo. A Linda Brouwer y a Marja Brinker “las jefas de CAVAREM”, a Henk Moorlag por sus historias sobre su gato, los datos sobre arte, y con quien viví la mejor “Duch experience” patinando sobre hielo. A Hans van der Plas quien con su amabilidad me saco de aprietos administrativos, a Carolien Mulder, Susan Pals and Petra Huisman.

Gracias al escuadrón latino del departamento a Tamara Saez, Susana Figueroa, Rebeca Hid y Nataly Puerta fueron mi polo a tierra, la conexión más cercana a casa cada vez que teníamos que dar un respiro y sumergirnos en nuestra cultura. Gracias porque con ustedes siempre el café tenía mejor sabor (en figurado) y porque siempre las risas y el desorden se generaba alrededor del “Latin power”.

Gracias al Prof Han Moshage y Joyce Fongers porque fueron la llave que abrió la puerta de Groningen para poder hacer mi doctorado en doble titulación y me guiaron para tomar la mejor decisión de trabajar con el mejor supervisor del mundo.

Gracias al Prof. Hendrik Buikema y a Dalibor Nakladal por su ayuda y buena disposición en los estudios ex vivo de magnesio sobre tejido endotelial.

Gracias a Daniela Jou-Valencia porque desde que te conocí automáticamente te volviste mi amiga y mi hermana, porque siempre estuviste ahí y disfrutamos momentos juntas inolvidables y porque te metiste en mi colección de personas favoritas. La hora del té, el entrenamiento en el gym, las horas que pasamos haciendo pereza, comiendo helado o chismoseando como buenas latinas que somos quedaran siempre en mis mejores memorias. Gracias porque siempre fuiste una persona que estuviste ahí incondicionalmente. Siempre fue claro para mí que estarías a mi derecha como mi parainfanta un día como el de mi grado porque simplemente eres la persona más importante para mí en toda Holanda!. Gracias por aceptarlo. Y adicionalmente quiero dar gracias a Ari-Jan Azad por tu buen sentido del humor por tu compañía y apoyo y por los buenos momentos culinarios y todo el bullying que me hiciste, definitivamente ustedes dos Dani y Ari son una pareja hermosa.

Gracias a mi familia adoptiva en Holanda, a Jonnathan Jiménez, Juanes Durango, Marleny Fajardo, Fredy Soer y Amirah, fueron increíbles momentos los que compartimos paseando, jugando y estando reunidos. Gracias por todo el apoyo cuando más sola me sentía siempre estaré agradecida por todo lo que fueron e hicieron por mí.

Otra personas que desde la distancia también han jugado un papel importante con palabras de apoyo y compañía incondicional han sido Jennifer Barrirero, mi hermana y amiga del alma, Jean Paul Allain quien a nivel profesional y como amigo siempre ha estado pendiente de mi bienestar y progreso, a Jennifer Hermann un ser hermoso con quien he compartido momentos divertidos y alegres, John Jaiber González un hombre analítico y crítico con quien he disputado interesantes tertulias sobre la complejidad del ser humano. A mis amigos Doreisy Vallejo, Juan Pablo Gómez, Mauricio Wilchez quien han estado ahí a través el tiempo y la distancia. Gracias a mis dos mosqueteras Eugenia Cardona y Diana Lorena Muñoz, amigas del alma con las que he construido una relación tan hermosa que perdura a pesar del tiempo y la distancia. A Patricia Montoya, mi cómplice, mi gran amiga, quien con sus palabras y direcciones me ayudaron a ser una mejor persona desde que la conocí, gracias por apoyarme y ayudarme en cada decisión que tomo. A Gabriel Jaime Gallego, a Carlos Eduardo Giraldo, a Steffi Samaniego, Angélica Sabogal, Daniel Moreno y Jaime Mondragón por de uno u otra forma estuvieron ahí en esta etapa de mi vida.

Y por último pero no menos importante, quiero darle gracias a mi familia, mi motor y mi inspiración, mi orgullo y en quienes descanso y me siento feliz. Papa y mama, gracias por la vida, por los valores y principios que me inculcaron, hoy este logro es más de ustedes que cualquiera. Pueden sentirse tranquilos porque su labor como padres en todos sus hijos ha sido cumplida, los amo profundamente y son el tesoro más valioso que tengo. A mis hermanos, el mejor regalo y legado que mis papas nos han dado, gracias por estar ahí, por aceptar la forma de vida que escogí y por darme palabras de fuerza y contar los días conmigo para poder volver a estar juntos, somos el mejor equipo del mundo!! A mis cuñados que se han convertido en mis hermanos y a mis sobrinos que día a día me inspiran por luchar por un mundo mejor.

No sé dónde, ni cuando mi tren vaya a parar lo único que sé es que hasta el día de hoy mi viaje ha sido increíble y no me arrepiento ni un minuto de la ruta que he tomado.

Y finalmente me dirijo a todos aquellos que se tomen la delicadeza de leer algún apartado de este libro esperando que puedan encontrar en el alguna información importante que ayude a construir ciencia.

Envigado, Antioquia Septiembre 2018

Mónica Echeverry R