

Las células precursoras neurales, un tipo de *células madre*, han revolucionado la medicina. Su capacidad para proliferar formando distintas células especializadas les otorga la potencialidad de servir de base para terapias efectivas para patologías cuyo tratamiento era inimaginable hasta hace apenas dos décadas. Sin embargo, esta capacidad se encuentra mediada por estímulos fisiológicos, químicos, y eléctricos, específicos y complejos, que dificultan su traslación a la rutina clínica. Por ello, las células madre representan un campo de estudio en el que se invierten amplios esfuerzos por parte de la comunidad científica.

En el ámbito de la regeneración nerviosa, el uso de sustratos biopotenciadores y matrices de membrana celular permite dotar a las células precursoras neurales del soporte mecánico y fisiológico necesario para su proliferación. Para modular su desarrollo y diferenciación el tratamiento farmacológico, la electroestimulación, y la estimulación optogenética son técnicas que están consiguiendo prometedores resultados. Es por ello por lo que en la presente tesis se ha desarrollado un conjunto de sistemas electrónicos para permitir la aplicación combinada de estas técnicas *in vitro*, con perspectiva a su aplicación *in vivo*.

Hemos diseñado una novedosa tecnología para la liberación eléctricamente controlada de fármacos. Esta tecnología está basada en nanopartículas de sílice mesoporosa y puertas moleculares de bupiridina-heparina. Las puertas moleculares son electroquímicamente reactivas, y encierran los fármacos en el interior de las nanopartículas, liberándolos ante un estímulo eléctrico. Hemos caracterizado esta tecnología, y la hemos validado mediante la liberación controlada de rodamina en cultivos celulares de HeLa. Para la combinación de liberación controlada de fármacos y electroestimulación hemos desarrollado dispositivos que permiten aplicar los estímulos eléctricos de forma configurable desde una interfaz gráfica de usuario. Además, hemos diseñado un módulo de expansión que permite multiplexar las señales eléctricas a diferentes cultivos celulares. Para la combinación de ambas técnicas, hemos trabajado con plataformas basadas en derivados del polímero conductivo PEDOT, realizando las primeras liberaciones y electroestimulaciones satisfactorias.

Además, hemos diseñado un dispositivo de estimulación optogenética. Este tipo de estimulación consiste en la modificación genética de las células para que sean sensibles a la radiación lumínica de determinada longitud de onda. En el ámbito de la regeneración de tejido mediante células precursoras neurales, es de interés poder inducir ondas de calcio, favoreciendo su diferenciación en neuronas y la formación

de circuitos sinápticos. El dispositivo diseñado es compatible con matrices de cultivo celular *in vitro* P-24, y presenta dimensiones reducidas para su incorporación en un microscopio confocal. De esta forma, somos capaces de obtener imágenes en tiempo real de las respuestas transitorias de las células al ser irradiadas. El dispositivo se ha validado irradiando neuronas fetales modificadas con una adenil ciclasa fotoactivable (bPAC) y midiendo la consecuente propagación de ondas de calcio tras la estimulación con luz pulsada de 100 ms. También hemos diseñado un dispositivo electrónico complementario de medida de irradiancia con el doble fin de permitir la calibración del equipo de irradiancia y medir la irradiancia en tiempo real durante los experimentos *in vitro*.

Los resultados del uso de los bioactuadores en procesos complejos y dinámicos, como la regeneración de tejido nervioso, son limitados en lazo abierto. Uno de los principales aspectos analizados, que podrían suponer un salto adelante en estos tratamientos, es el desarrollo de biosensores que permitiesen la cuantización de ciertas biomoléculas para ajustar la estimulación suministrada en tiempo real. La segregación de serotonina es una respuesta bioquímica indicadora temprana de elongación y diferenciación neuronal en células precursoras. Además de la serotonina, hay otras biomoléculas de interés. El desarrollo de biosensores con capacidad de medir de forma selectiva biomoléculas en tiempo real permitiría la implementación del control de lazo cerrado. Entre las tecnologías en el estado del arte, los biosensores basados en transistores de efecto de campo (FET) funcionalizados con aptámeros son realmente prometedores para esta aplicación. Sin embargo, esta tecnología no permitía la medición simultánea de más de una biomolécula objetivo en un volumen reducido debido a las interferencias entre los distintos FETs, cuyos terminales se encuentran inmersos en la solución. Por ello, hemos desarrollado instrumentación electrónica capaz de medir simultáneamente varios de estos biosensores. Hemos validado la instrumentación con la medición simultánea del pH mediante biosensores FET y la detección preliminar de serotonina y glutamato con FETs funcionalizados con aptámeros. En términos generales, se trata de avances significativos en el desarrollo de un control de lazo cerrado para las técnicas de modulación del desarrollo de células precursoras neurales.