

Índice de contenidos

Resumen 11

Resum 13

Summary 15

Glosario 17

Introducción General 21

Andamiajes para el cultivo 3D 23

Sistemas de porosidad estratificada 27

Materiales biocompatibles 31

Los poliésteres en biomedicina 33

Aplicaciones de los soportes poliméricos para el cultivo *in vitro* 35

Objetivos 37

CAPÍTULO I. DESARROLLO DE MEMBRANAS ELECTROHILADAS BASADAS EN ÁCIDO POLILÁCTICO Y POLICAPROLACTONA CON PROPIEDADES ESPECÍFICAS.

Introducción 41

Principio de funcionamiento de la técnica de electrohilado 42

Parámetros de la disolución 45

Parámetros del proceso 51

Parámetros ambientales 54

Materiales y métodos 56

Estudios previos 56

Preparación de las membranas electrohiladas 57

Caracterización morfológica mediante microscopía electrónica de barrido 58

Caracterización de las disoluciones poliméricas 59

Densidad 59

Tensión superficial 60

Viscosidad 62

Conductividad eléctrica 62

Determinación de las propiedades fisicoquímicas de las membranas 62

Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) 62

Calorimetría diferencial de barrido 63

Estudio mecánico de las membranas 65

Determinación del módulo de Young (E) 65

Resultados y discusión 67

- Optimización de los parámetros para la obtención de membranas de PLGA y PCLGA con un diámetro de fibra de 1,8 μm 67
- Caracterización de las disoluciones poliméricas: densidad, tensión superficial, viscosidad y conductividad 73
- Caracterización fisicoquímica de las membranas 75
- Caracterización mecánica de las membranas 80

Conclusiones 82

CAPÍTULO II. OBTENCIÓN DE ESTRUCTURAS DE POROSIDAD ESTRATIFICADA A PARTIR DE SOPORTES POROSOS (*SCAFFOLDS*)

Introducción 87

- Evaporación del disolvente (*solvent-casting*) 87
- Evaporación del disolvente con lixiviación de partículas (*solvent-casting particle-leaching*) 87
- Separación de fases (*phase separation*) 87
- Espumado con gas (*gas foaming*) 88
- Liofilización (*freeze drying*) 88
- Electrohilado (*electrospinning*) 89
- Moldeado por fusión (*melt moulding*) 89
- Extrusión (*extrusion*) 89
- Sinterización selectiva por láser, SLS (*selective laser sintering*) 90
- Estereolitografía (*stereolithography*) 90
- Fabricación por corte y laminado 90
- Moldeado por deposición de material fundido (*fused deposition modeling*) 90

Materiales y métodos 91

- Preparación de los *scaffolds* 91
 - Empleo de plantilla porogénica 91
 - Empleo de la técnica de evaporación del disolvente con lixiviación de partículas (SCPL) 92
 - Empleo de la técnica de moldeado por fusión 93
- Caracterización de los *scaffolds* 93
 - Morfología mediante microscopía diferencial de barrido 93
 - Análisis elemental EDS de los *scaffolds* 94
 - Hinchado en agua 94
 - Porosidad 95
- Integración de las membranas electrohiladas sobre el *scaffold* 98

Resultados y discusión 99

- Optimización del proceso de fabricación de *scaffolds* porosos 99
 - Empleo de plantilla porogénica 99
 - Empleo de la técnica de evaporación del disolvente con lixiviación de partículas 99
 - Empleo de la técnica de moldeado por fusión 101
- Caracterización de los *scaffolds* 103
 - Análisis elemental EDS 103

Hinchado 106

Porosidad 107

Obtención del sistema 3D de porosidad estratificada 107

Conclusiones 109

CAPÍTULO III. DEGRADACIÓN DE LOS MATERIALES Y LIBERACIÓN DE UN FÁRMACO MODELO A TRAVÉS DE LAS MEMBRANAS

Introducción 113

Curcumina: un fármaco de gran interés 115

Fabricación de sistemas de liberación mediante electrohilado 117

Electrohilado en disolución 117

Electrohilado coaxial 118

Electrohilado en emulsión 118

Mecanismos de degradación 120

Materiales y métodos 121

Degradación de los materiales 121

Determinación cuantitativa del porcentaje de masa degradada 122

Análisis morfológico mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo 123

Análisis mecánico 124

Calorimetría diferencial de barrido (DSC) 124

Cromatografía por permeación de gel (GPC) 124

Obtención de un sistema polímero-fármaco para la liberación controlada 126

Electrohilado en disolución 126

Electrohilado coaxial 126

Estudio de liberación de curcumina 127

Determinación de la cantidad de curcumina liberada 127

Efectividad de la encapsulación 128

Resultados y discusión 128

Degradación de los materiales 128

Efecto de la degradación en las propiedades fisicoquímicas 142

Efecto de la degradación en las propiedades mecánicas 146

Liberación de curcumina a través de las membranas 148

Efectividad de la encapsulación 149

Conclusiones 151

CAPÍTULO IV. ESTUDIO DE ADHESIÓN DE PROTEÍNAS EN DIFERENTES POLÍMEROS EMPLEADOS

Introducción 155

Fibronectina 156

Recubrimiento por centrifugación (*spin-coating*) 157

Microscopía de fuerza atómica 159

Modo de contacto (o estático) 160

Modos dinámicos 160

Materiales y métodos 161

- Obtención de soportes planos mediante *spin-coating* 161
- Microscopía de fuerza atómica (AFM) 162
- Determinación cualitativa de la adhesión de proteína 163
 - Estudio en seco 163
 - Estudio en inmersión 164
- Determinación cuantitativa de la adhesión de proteína 164
- Estudio fisicoquímico de los materiales 165
 - Determinación de la tensión superficial 165

Resultados y discusión 166

- Obtención de soportes planos mediante *spin-coating* 166
- Determinación cualitativa de la adhesión de proteína 170
- Determinación cuantitativa de la adhesión de proteína 175
- Estudio fisicoquímico de los materiales 176

Conclusiones 176

CAPÍTULO V. APROXIMACIÓN AL CO-CULTIVO CELULAR INDIRECTO DE LA ESTRUCTURA 3D. VIABILIDAD CELULAR DE LA LÍNEA L-929**Introducción 181**

- Los fibroblastos 183
- Técnicas de esterilización y desinfección de materiales 184
- Los medios de cultivo 187

Materiales y métodos 189

- Preparación de los materiales para el cultivo celular 189
- Cultivo celular 190
 - Descongelación de las células 190
 - Expansión de la línea celular 191
 - Siembra 191
- Estudio de la viabilidad celular 192
- Estudio de imagen de la adhesión celular 192

Resultados y discusión 193

- Viabilidad celular 193

Conclusiones 197

Conclusiones Generales 199**Contribuciones 201****Bibliografía 203**