

Índice

Resumen.....	15
1. Introducción.....	25
1.1. Objetivos.....	26
1.2. Polímeros naturales.....	28
1.3. Polisacáridos.....	30
1.3.1. Polisacáridos de origen humano.....	31
1.3.1.1. Ácido hialurónico.....	31
1.3.1.2. Sulfato de condroitina.....	33
1.3.2. Polisacáridos de origen no-humano.....	35
1.3.2.1. El dextrano.....	35
1.3.2.2. La agarosa.....	37
1.3.2.3. La carragenina.....	38
1.3.2.4. La celulosa.....	40
1.3.2.5. El ácido algínico.....	41
1.3.2.6. La quitina y el quitosano.....	44
1.4. Quitosano.....	45
1.4.1. Método de obtención de la quitina y el quitosano.....	45
1.4.2. Propiedades físico-químicas.....	46
1.4.3. Características biológicas y/o farmacológicas.....	48
1.4.4. Biodegradación.....	50
1.4.5. Caracterización físico-química.....	53
1.4.5.1. Determinación del grado de desacetilación.....	53
1.4.5.2. Determinación de la distribución de pesos	54
moleculares.....	
1.5. Derivados y reacciones químicas del quitosano.....	55
1.5.1. Reacciones de cuaternización.....	56

1.5.2. Reacciones de entrecruzamiento.....	59
1.5.3. Formación de policomplejos.....	63
1.6. Mezclas de quitosano con otros polímeros.....	64
1.6.1. Principales características de la policaprolactona.....	66
1.7. Ingeniería tisular.....	68
1.7.1. Scaffolds, como material soporte en el cultivo celular.....	69
1.7.1.1. Esponjas de quitosano.....	70
1.7.1.2. Micropartículas de quitosano.....	71
1.7.1.3. Características de los scaffolds de quitosano.....	72
1.7.2. Aplicaciones de los scaffolds de quitosano en la ingeniería	74
de tejidos.....	
1.7.2.1. El tejido óseo.....	75
1.7.2.2. El tejido cartilaginoso.....	79
2. Parte Experimental.....	83
2.1. Materiales.....	84
2.1.1. Polímeros.....	84
2.1.2. Otros reactivos.....	86
2.1.3. Solventes.....	86
2.1.4. Tipo de células y medios de cultivo utilizados en los	86
ensayos biológicos.....	
2.2. Experimentos realizados.....	88
2.2.1. Caracterización físico-química y evaluación de la respuesta	88
biológica de mezclas poliméricas biodegradables de policaprolactona y	
quitosano.....	
2.2.1.1. Preparación de mezclas de policaprolactona y	88
quitosano.....	
2.2.2. Cultivo in vitro de condrocitos humanos sobre mezclas	89
biodegradables de policaprolactona y quitosano.....	
2.2.2.1. Aislamiento celular de condrocitos.....	89

2.2.2.2. Cultivo primario de condrocitos.....	90
2.2.3. Materiales 3D con estructura porosa basados en redes poliméricas semi-interpenetradas (semi-IPNs) de policaprolactona y quitosano.....	90
2.2.3.1. Preparación de las redes poliméricas semi- interpenetradas de policaprolactona y quitosano.....	90
2.2.3.2. Preparación de scaffolds a partir de las semi-IPNs...	91
2.2.4. Diferenciación osteogénica de células madre de médula ósea de cabra (GBMSCs) cultivadas en scaffolds de quitosano.....	92
2.2.4.1. Preparación de los scaffolds de quitosano.....	92
2.2.5. Cultivo in vitro de GBMSCs y su diferenciación osteogénica en estructuras 3D porosas de quitosano.....	93
2.2.5.1. Aislamiento de las GBMSCs.....	93
2.2.5.2. Cultivo y osteoinducción de las GBMSCs en scaffolds de quitosano.....	93
2.2.6. Materiales tridimensionales porosos a base de quitosano para la regeneración de cartílago articular.....	94
2.2.6.1. Preparación de scaffolds de quitosano.....	94
2.2.6.2. Cultivo primario de condrocitos en scaffolds de quitosano. Ensayos estáticos y dinámicos.....	94
2.2.7. Scaffolds a base de micropartículas de quitosano como soporte en el cultivo celular de GBMSCs.....	95
2.2.7.1 Preparación de micropartículas de quitosano entrecruzadas con genipin.....	95
2.2.7.2. Cultivo in vitro de GBMSCs sobre micropartículas de quitosano entrecruzadas con genipin.....	96
2.3. Técnicas experimentales.....	97
2.3.1. Técnicas y métodos de caracterización de materiales.....	97
2.3.2. Técnicas de caracterización biológica.....	103
2.3.3. Análisis estadístico de los resultados.....	107
3. Resultados y discusión.....	109
3.1. Propiedades físico-químicas de filmes poliméricos biodegradables de policaprolactona de bajo peso molecular y quitosano. Cinética de	110

cristalización.....	
3.2. Morfología, propiedades y evaluación biológica de mezclas poliméricas biodegradables de policaprolactona de alto peso molecular y quitosano.....	133
3.3. Preparación de scaffolds macroporosos a partir de la formación de redes semi-interpenetradas de policaprolactona y quitosano.....	145
3.4. Scaffolds porosos de quitosano. Proliferación y diferenciación de las GBMSCs.....	159
3.4.1. Caracterización de los scaffolds.....	159
3.4.2. Ensayos de biodegradación “in vitro” de los scaffolds de quitosano.....	163
3.4.3. Determinación de las propiedades mecánicas de los scaffolds mediante ensayos de compresión.....	164
3.4.4. Cultivo “in vitro” de GBMSCs, viabilidad celular, adhesión, proliferación y producción de la matriz extracelular.....	167
3.4.5. Cultivo “in vitro” de condrocitos en condiciones estáticas y dinámicas en scaffolds de quitosano.....	175
3.5. Proliferación y adhesión de GBMSCs sobre las micropartículas de quitosano.....	188
Conclusiones.....	195
Abreviaturas.....	201
Referencias.....	205
Apéndice.....	223