

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
RESUM.....	V
ABSTRACT.....	IX
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	
1.1 INGENIERIA TISULAR.	3
1.1.1 Soportes estructurales poliméricos.....	9
1.2 MEDICINA REGENERATIVA EN CÓRNEA Y CARTÍLAGO ARTICULAR.	21
1.2.1 Características de la córnea.	21
1.2.2 Estrategias para la reparación-restauración corneal.	27
1.2.3 Queratoprótesis, otras estrategias de reparación corneal.....	29
1.2.4 Ingeniería tisular en cartílago.....	44
1.3 CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES.	50
1.4 ADHESIÓN CELULAR Y FIJACIÓN DE PROTEÍNAS EN LOS SUSTRATOS.	55
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS	
CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 SÍNTESIS DE LOS MATERIALES.....	65
3.1.1 Obtención de láminas no porosas de copolímeros de PEA	65
3.1.2 Obtención de membranas macroporosas colapsadas de copolímeros de PEA	68
3.1.3 Obtención de soportes macroporosos no colapsados de copolímero de PEA-HEA10	78
3.2 TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES... ..	79
3.2.1 Angulo de contacto del agua (WCA)	79
3.2.2 Ensayo de absorción de agua	80
3.2.3 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	80
3.2.4 Caracterización microestructural	81
3.2.5 Determinación de la porosidad	82

3.2.6 Medidas de propiedades mecánicas	83
3.2.7 Determinación de características de los materiales inmersos en medio de cultivo celular	87
3.3 CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE MÉDULA ÓSEA EN LOS MATERIALES.....	87
3.3.1 Cultivo a tiempo corto en membranas colapsadas de copolímeros de PEA	92
3.3.2 Cultivo a tiempos largos en membranas colapsadas de copolímeros de PEA	93
3.3.3 Ensayo bioquímico	95
3.3.4 Ensayos inmunohistoquímicos	96
3.3.5 Análisis de imágenes a través de microscopía de fluorescencia	101
3.3.6 Distribución tridimensional y cuantificación celular a través de microscopía Confocal de fluorescencia	102
3.4 PROTOTIPO DE PRÓTESIS DE CÓRNEA	104
3.4.1 Diseño y obtención de la prótesis de córnea	104
3.4.2 Caracterización estructural de la prótesis de córnea	114
3.5 BIOFUNCIONALIZACIÓN DE COPOLÍMEROS DE PEA	114
3.5.1 Preparación superficial de los materiales con proteínas.	115
3.5.2 Cuantificación de recubrimientos de proteínas a través de inmunoadsorción enzimática (ELISA)	118
3.6 CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DE CÉLULAS ADULTAS DE TEJIDO ADIPOSO HUMANO EN LOS MATERIALES.....	121
3.6.1 Colonización celular en redes de copolímeros de PEA.....	122
3.6.2 Estudio de viabilidad celular	123
3.6.3 Implantación de membranas macroporosas en las córneas de conejos	124
3.6.4 Observación postquirúrgica, evaluación clínica e histológica de los implantes	126
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	128

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PROPIEDADES DE LAS LÁMINAS NO POROSAS	134
4.1.1 Caracterización del grado de hinchamiento y grado de humectabilidad de las superficies de los materiales	134
4.1.2 Evaluación de la homogeneidad de los copolímeros a escala nanométrica: Separación de fases	136
4.1.3 Comportamiento de los materiales inmersos en medio de cultivo celular	138
4.2 PROPIEDADES DE LOS SOPORTES MACROPOROSOS NO COLAPSADOS	
4.2.1 Morfología	143
4.2.2 Propiedades mecánicas de los soportes secos y en inmersión	148
4.3 ESTUDIO DE RESPUESTA BIOLÓGICA DE MEMBRANAS MACROPOROSAS CON DISTINTO GRADO DE HIDROFILICIDAD.	153
4.3.1 Análisis morfológico	154
4.3.2 Eficiencia de siembra y adhesión celular	157
4.3.3 Proliferación celular	162
4.3.4 Evaluación de las propiedades de los implantes macroporosos para el modelo de córnea de conejo.	169
4.4 PRÓTESIS DE CORNEA	179
4.5 OPTIMIZACIÓN DE LA ARQUITECTURA DE PORO Y REPUESTA BIOLÓGICA DE MEMBRANAS MACROPOROSAS COMO PORTADORAS BIOESTABLES DE CÉLULAS.....	183
4.5.1 Microestructura y porosidad	187
4.5.2 Propiedades mecánicas	195
4.5.3 Eficiencia de siembra y adhesión celular	202
4.5.4 Proliferación celular	210
4.6 ESTUDIO DE ADSORCIÓN E INJERTO DE FIBRONECTINA (FN) SOBRE LÁMINAS NO POROSAS DE COPOLÍMEROS DE PEA	237
4.6.1 Adsorción y adhesión covalente de FN.....	238

4.7 BIOINTEGRACIÓN DE COPOLÍMEROS MACROPOROSOS COLAPSADOS COMO IMPLANTES PARA CórNEA EN MODELO ANIMAL	245
4.7.1 Eficiencia de la Biofuncionalización y colonización de h-ADAS en láminas no porosas	248
4.7.2 Eficiencia de los recubrimientos en membranas macroporosas colapsadas	255
4.7.3 Evaluación clínica de las membranas macroporosas implantadas en la córnea	256
4.7.4 Análisis histológico y evaluación de la presencia de h-ADASCs en las córneas	261
CONCLUSIONES	269
GLOSARIO	275
REFERENCIAS	281