

Resumen

Existe un interés creciente en el desarrollo de matrices biomiméticas que por un lado constituyan un entorno favorable para albergar células y sean fácilmente vascularizables, y que por otro lado posean suficiente integridad para ser cómodamente manejadas y resistan los esfuerzos mecánicos que sufrirán una vez implantadas. Lograr que un material unicomponente cumpla todas estas especificaciones resultaría muy complicado.

La hipótesis subyacente en este trabajo es que la combinación de andamiajes poliméricos porosos (*scaffolds*) con hidrogeles bioactivos en un material híbrido, generaría sinergias que mejorarían las características de ambos componentes. Gracias al *scaffold*, el material resultante presentaría buenas propiedades mecánicas, sería fácilmente manipulable a la vez que estable. Al mismo tiempo, gracias al gel, presentaría un mejor comportamiento con las células, el gel mejoraría la difusión de oxígeno y nutrientes mientras que favorecería la colonización celular. A su vez, la incorporación del gel permitiría la utilización de este material compuesto como sistema de liberación controlada.

Los *scaffolds* empleados para contribuir a la integridad física y mecánica del sistema se prepararon con poli(etil acrilato) (PEA) con dos morfologías distintas. Se caracterizó físico-químicamente ambos tipos de *scaffolds*, así como el efecto de su proceso de producción sobre las propiedades del PEA. En esta caracterización se observó que algunos pasos involucrados en la elaboración de los *scaffolds* alteraban de algún modo la matriz polimérica. Sin embargo, estas modificaciones no resultaron perjudiciales para el comportamiento biológico de los materiales.

Se seleccionó dos geles distintos como elementos de relleno para los poros de los *scaffolds*: el ácido hialurónico (HA), que es un polisacárido natural, y el péptido sintético autoensamblable RAD16-I. El HA está presente en la matriz extracelular de

numerosos tejidos y sus productos de degradación son angiogénicos. A su vez, el RAD16-I es un polipéptido que proporciona una estructura de nanofibras que mimetiza la matriz extracelular, lo que constituye un entorno muy favorable para el crecimiento y la proliferación celular.

La obtención de *scaffolds* híbridos de PEA con geles acuosos conllevó una serie de problemas dada la naturaleza hidrofóbica del PEA. Fue necesario establecer protocolos para: combinar dos elementos tan distintos, gelificar los hidrogeles dentro de los poros y sembrar tales hidrogeles eficientemente con células una vez incorporados en el *scaffold*. Se consideró y estudió distintas alternativas para resolver estas cuestiones, dando lugar al establecimiento de procedimientos para obtener estas estructuras complejas y sus biohíbridos.

La interacción de los componentes empleados, así como el sistema combinado de ambos, fueron objeto de una intensa caracterización físico-química. Puesto que se pretende utilizar estos materiales en ingeniería tisular cardíaca, se estudió tanto sus propiedades mecánicas como el efecto que la fatiga tiene sobre ellos. Los sistemas compuestos obtenidos, bien sea con los poros rellenos o con recubrimientos homogéneos de ambos hidrogeles, se manipulaban con facilidad y presentaban propiedades mecánicas adecuadas. Es de destacar, que además presentaban un buen comportamiento a fatiga.

El potencial de los *scaffolds* combinados para ser utilizados como sistemas de liberación controlada (por la incorporación de moléculas solubles activas en el hidrogel), fue verificado al llevar a cabo una prueba de concepto con albúmina de suero bovino (BSA) como proteína modelo.

El comportamiento biológico de los *scaffolds* híbridos se evaluó en primer lugar con fibroblastos para descartar su citotoxicidad y optimizar el protocolo de siembra. A continuación, se llevó a cabo cultivos con células endoteliales de cordón umbilical

(HUVECs), por su interés en procesos angiogénicos y de vascularización. Finalmente, se realizó co-cultivos de HUVECs y células mesenquimales derivadas del tejido adiposo (MSCs). Estas últimas fueron seleccionadas por ser candidatas a desempeñar un papel clave en la traslación clínica de la terapia regenerativa. Además, las MSCs mejoran la viabilidad y el desarrollo fenotípico de las células endoteliales. A lo largo de los experimentos llevados a cabo, los *scaffolds* híbridos superaron, en lo que se refiere a su desempeño biológico, los resultados alcanzados con los *scaffolds* de PEA que no incorporaban ningún hidrogel en sus poros.