

Desarrollo y Caracterización de Materiales Biodegradables para Regeneración Ósea

Melba Eugenia Navarro Toro

Memoria de tesis presentada para optar al grado de Doctor en
Ciencias-Especialidad Ingeniería Química por la Universitat
Politècnica de Catalunya

Dirigida por la Prof. Dra. Maria Pau Ginebra Molins
Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica
E.T.S. d'Enginyeria Industrial de Barcelona
Universitat Politècnica de Catalunya

Abril 2005



A José V.

A mis padres

A mis hermanos

*“Cuando quieres algo, todo el Universo
conspira para que realices tu deseo...”*

El Alquimista

Paulo Coelho

Agradecimientos

La presente Tesis Doctoral es el producto de varios años de trabajo, a lo largo de los cuales, he contado con la colaboración, el apoyo y la compañía de varias personas. Por esto, quisiera expresar en las siguientes líneas mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una manera u otra, han hecho posible llevar a cabo este trabajo.

En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a la Profesora Maria Pau Ginebra, directora de esta Tesis Doctoral, quien me ha guiado a lo largo de este trabajo. No sólo quiero agradecerle su disponibilidad en la planificación y análisis de los estudios realizados, sino también su calidad humana. Ha representado un ejemplo de constancia, metodología y rigor científico.

Igualmente quisiera agradecer de forma especial al Profesor Josep Anton Planell, por darme la oportunidad de formar parte del grupo de investigación que dirige, por su exigencia en la calidad científica, por sus comentarios y consejos, por compartir su sabiduría con nosotros. Por su admirable dedicación al grupo de Biomateriales.

Asimismo, agradezco al Profesor Salvador Martínez, del Departamento de Cristalografía de la Universidad de Barcelona, por su disponibilidad para responder mis múltiples dudas, por sus sabios comentarios, especialmente en el campo de los vidrios de fosfato, y por haber puesto a mi disposición todos los equipos con los que cuenta en su departamento. Quisiera extender este agradecimiento a Gloria Ávila, Maite García y Joaquín Nogués, miembros del mismo departamento, por su disponibilidad y amistad.

También quisiera agradecer al Profesor Javier Gil, quien a pesar de no haber contribuido de forma directa en esta Tesis, ha sido de gran ayuda. Agradezco especialmente su optimismo y alegría, los cuales ha sabido contagiar a todos, aún en los momentos más arduos.

Quisiera dar las gracias al Interdisciplinary Research Centre in Biomaterials de Nápoles, a todos sus miembros y especialmente al Profesor Luigi Ambrosio, el haber puesto a mi disposición las instalaciones con las que cuentan. En particular agradezco a Stefania Zeppetelli y al Dr. Fernando Sarracino, por su hospitalidad, su disponibilidad y su gran ayuda durante mi estancia.

Del mismo modo me gustaría agradecer a todos los miembros del Instituto de Engenharia Biomédica de Oporto, y en especial a su director, el Profesor Mario Barbosa, por haberme permitido realizar

una serie de estudios con los equipos de su laboratorio. Quisiera agradecer especialmente a Cristina Barrias e Isabel Amaral por su hospitalidad y por su incalculable ayuda durante mi estancia.

Quisiera dar las gracias también al Dr. José María Manero, por su disponibilidad, su paciencia y su interés durante las numerosas horas de observación en el microscopio electrónico. Por toda la ayuda prestada en la observación de mis muestras, especialmente las relacionadas con la adhesión celular.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a aquellos con quien he compartido de forma más cercana estos años de trabajo, mis compañeros del Grupo de Biomateriales:

A los Dres/as. Stéphanie Sarda, Malin Nilsson y Daniel Rodríguez, con quienes compartí los primeros años de la Tesis, y muchas horas de laboratorio. Al Dr. Jérôme Clément, quien abrió camino en el mundo de los vidrios de fosfato y cuyas enseñanzas han sido de gran valor. Al Dr. Conrado Aparicio, a los futuros doctores/as Carolina Mochales, Alexandra Michiardi, Sebastián Idelsohn, Jordi Casals, Amisel Almirall, Jochi Delgado, Marta Pegueroles, Montse Charles-Harris, Jérôme Noailly, Toni González y Sergio del Valle, compañeros con quienes he compartido la mayoría de estos años de investigación, agradezco su amabilidad, disponibilidad y valiosos consejos. A Damien Lacroix, Diana Gornall, Abel Crespo, Iris Gallart, Pablo Sevilla y Aleix Mestre, por la ayuda prestada. A todos muchas gracias por vuestra amistad y compañerismo, gracias por vuestra disponibilidad a colaborar, y por hacer tan agradable el trabajo en equipo.

También quisiera agradecer a la Dra. Elisabeth Engel, por sus enseñanzas y conocimientos en el área de los cultivos celulares.

Asimismo, debo dar las gracias al Centre Càtala del Plàstic, por haber puesto a mi disposición la prensa hidráulica para la elaboración del material compuesto. Especialmente a Albert, por su disponibilidad y ayuda en la utilización de la misma.

Agradezco también al personal de los servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona, en especial a Tarik del Departamento de Espectroscopía y Xavier del Departamento de Difracción de Rayos X, por su ayuda en la interpretación de mis resultados.

Agradezco también, a todos los profesores, PAS y demás doctorandos del Departamento de Ciencia de los Materiales e Ingeniería Metalúrgica, que de alguna manera han contribuido a que esta Tesis Doctoral llegase a buen término.

Quisiera agradecer de forma especial a José V. por su paciencia, su apoyo y por animarme siempre. A mis padres, que desde la distancia siempre me han transmitido su apoyo y optimismo. A Aura y a Antonio por su amistad.

También quisiera expresar mi agradecimiento al Profesor Joaquín Lira-Olivares del Departamento de Materiales de la Universidad Simón Bolívar por abrirme las puertas al mundo de los biomateriales y estimularme a llevar a cabo un trabajo de investigación en esta área.

Finalmente, debo agradecer a la Agencia de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca de la Generalitat de Catalunya por la concesión de una Beca predoctoral para la formación de personal investigador durante el período 2001-2004.

Índice

RESUMEN	I
ABSTRACT	III
OBJETIVOS	V
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN	1
1.1. EL HUESO	2
1.1.1. Fisiología del hueso	7
1.1.2. Propiedades Mecánicas del Hueso	8
1.2. MECANISMOS BIOLÓGICOS DE REGENERACIÓN ÓSEA	10
1.3. TÉCNICAS DE REGENERACIÓN Y REPARACIÓN ÓSEA	13
1.3.1. Injertos	13
1.3.2. Ingeniería de Tejidos	14
1.3.3. Reparación de fracturas	16
1.4. BIOMATERIALES PARA REPARACIÓN Y REGENERACIÓN ÓSEA	19
1.4.1. Biocerámicas	21
1.4.1.1. Cerámicas de Fosfato de Calcio	22
1.4.1.2. Biovidrios	23
1.4.2. Polímeros	31
1.4.2.1. Ácido Poliláctico (PLA)	33
1.5. REFERENCIAS	39
CAPÍTULO 2 DESARROLLO DE VIDRIOS DE FOSFATO EN EL SISTEMA P₂O₅-CaO-Na₂O-TiO₂	47

2.1. INTRODUCCIÓN	47
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	49
2.2.1. Materiales	49
2.2.1.1. Vidrios de Fosfato de Calcio	49
2.2.1.1.1. <i>Materia Prima</i>	49
2.2.1.1.2. <i>Hornos</i>	50
2.2.1.1.4. <i>Proceso de Elaboración de los vidrios</i>	51
2.2.1.1.5. <i>Preparación de las muestras de vidrio</i>	53
2.2.2. Métodos	54
2.2.2.1. Determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g)	54
2.2.2.2. Evaluación de la composición química de los vidrios	54
2.2.2.3. Determinación de la microdureza de los vidrios	55
2.2.2.4. Evaluación del módulo elástico por Ultrasonidos	56
2.2.2.5. Espectroscopía Raman	57
2.2.2.6. Análisis estadístico de los resultados	58
2.3. RESULTADOS	58
2.3.1. Composición química elemental	58
2.3.2. Determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g)	58
2.3.3. Evaluación de las propiedades Mecánicas	60
2.3.5. Análisis de la estructura vítrea mediante espectroscopía Raman	61
2.4. DISCUSIÓN	63
2.5. REFERENCIAS	67
CAPÍTULO 3 ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN <i>IN VITRO</i> DE VIDRIOS EN EL SISTEMA P_2O_5-CaO-Na₂O-TiO₂	69
3.1. INTRODUCCIÓN	69
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	71
3.2.1. Materiales	71
3.2.1.1. Vidrios usados	71
3.2.2. Métodos	71
3.2.2.1. Estudio de disolución de los vidrios en agua destilada	71

3.2.2.2. Medición de pH durante la disolución	72
3.2.2.3. Determinación de la liberación de iones al medio	72
3.2.2.4. Estudio de la solubilidad en medio fisiológico	73
3.2.2.4.1. <i>Cinética de disolución</i>	75
3.2.2.5. Estudio de los cambios morfológicos superficiales de los vidrios durante la disolución	75
3.2.2.6. Determinación del módulo de Young a lo largo del proceso de disolución	76
3.2.2.7. Espectroscopía Raman. Cambios estructurales durante la degradación	76
3.3. RESULTADOS	76
3.3.1. Caracterización de la cinética de disolución en agua destilada	76
3.3.2. Evaluación de los niveles de pH	78
3.3.3. Liberación de iones al medio	79
3.3.4. Velocidad de disolución en SBF	80
3.3.5. Degradación superficial	82
3.3.6. Cambios estructurales	84
3.3.7. Evolución del módulo elástico	86
3.4. DISCUSIÓN	87
3.5. REFERENCIAS	94
CAPÍTULO 4 ESTUDIO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS VIDRIOS DE FOSFATO	97
4.1. INTRODUCCIÓN	97
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	98
4.2.1. Materiales	98
4.2.1.1. Biovidrios	98
4.2.2. Métodos	99
4.2.2.1. Preparación de los extractos de vidrio	99
4.2.2.2. Cultivo celular	100
4.2.2.3. Ensayos de citotoxicidad	100
4.2.2.4. Ensayo de adhesión y proliferación	101
4.2.2.5. Análisis estadístico de los datos	102
4.3. RESULTADOS	102

4.3.1. Citotoxicidad	102
4.3.2. Adhesión y Proliferación	103
4.3.3. Análisis por ICP-MS	105
4.4. DISCUSIÓN	106
4.5. REFERENCIAS	112
CAPÍTULO 5 ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN MATERIAL COMPUESTO PLA/VIDRIO DE FOSFATO	115
5.1. INTRODUCCIÓN	115
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS	122
5.2.1. Materiales	122
5.2.1.1. Matriz Polimérica	122
5.2.1.2. Fase de refuerzo	122
5.2.2. Métodos	123
5.2.2.1. Preparación del material compuesto	123
5.2.2.2. Prensado y moldeo del material compuesto	125
5.2.2.3. Caracterización del material compuesto	125
5.2.2.3.1 <i>Determinación de la fracción en peso de las partículas de vidrio</i>	125
5.2.2.3.2 <i>Determinación de la densidad y de la fracción en volumen de refuerzo</i>	126
5.2.2.3.3 <i>Evaluación del peso molecular mediante GPC</i>	127
5.2.2.3.4 <i>Caracterización térmica mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC)</i>	127
5.2.2.3.5 <i>Determinación de las propiedades mecánicas</i>	129
5.2.2.3.6 <i>Determinación de la rugosidad de la superficie de los materiales</i>	130
5.2.2.3.7 <i>Determinación de la mojabilidad de la superficie de los materiales</i>	132
5.2.2.4. Análisis estadístico de los resultados	135
5.4. RESULTADOS	135
5.4.1. Determinación del porcentaje en peso de la fase de refuerzo	135
5.4.2. Determinación de la densidad de los diferentes compuestos	136
5.4.3. Evaluación del porcentaje en volumen de refuerzo	136
5.4.4. Determinación del peso molecular	137
5.4.5. Evaluación de las transiciones térmicas y cristalinidad de los materiales compuestos	138

5.4.6. Determinación de las propiedades mecánicas de los compuestos	140
5.4.8. Caracterización superficial	141
5.4.8.1. Rugosidad	141
5.4.8.2. Mojabilidad	142
5.5. DISCUSIÓN	143
5.6. REFERENCIAS	151
CAPÍTULO 6 ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL MATERIAL COMPUESTO PLA50	159
6.1. INTRODUCCIÓN	159
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS	160
6.2.1. Materiales	160
6.2.2. Métodos	160
6.2.2.1. Preparación del material compuesto	160
6.2.2.2. Pérdida de peso en medio fisiológico simulado del material compuesto	160
6.2.2.3. Determinación del porcentaje de cenizas del material compuesto durante la degradación	161
6.2.2.4. Determinación de las temperaturas características y cristalinidad mediante DSC	161
6.2.2.5. Evaluación del peso molecular (M_w) mediante GPC	161
6.2.2.6. Caracterización superficial del material compuesto	162
6.2.2.7. Ensayos mecánicos	163
6.3. RESULTADOS	163
6.3.1 Pérdida de peso	163
6.3.2. Ensayo de Cenizas	164
6.3.3. Evolución del peso molecular	165
6.3.4. Evolución de las temperaturas características y la cristalinidad	166
6.3.5. Análisis morfológico de la superficie del material	168
6.3.6. Evolución de la relación Ca/P en la superficie del material compuesto	171
6.3.7. Cambios estructurales	172
6.3.8. Propiedades mecánicas	175
6.4. DISCUSIÓN	177

6.5. REFERENCIAS	185
-------------------------	------------

CAPÍTULO 7 CITOCOMPATIBILIDAD DEL COMPUESTO BIODEGRADABLE PLA50

189

7.1. INTRODUCCIÓN	189
--------------------------	------------

7.2. MATERIALES Y MÉTODOS	192
----------------------------------	------------

7.2.1. Materiales	192
-------------------	-----

7.2.2. Métodos	192
----------------	-----

7.2.2.1. Preparación de los extractos	192
---------------------------------------	-----

7.2.2.2. Cultivo Celular	193
--------------------------	-----

7.2.2.3. Ensayos de adhesión y proliferación	193
--	-----

7.2.2.4. Diferenciación celular	194
---------------------------------	-----

7.2.2.5. Microscopía electrónica de barrido (MEB)	196
---	-----

7.2.2.6. Análisis estadístico	197
-------------------------------	-----

7.3. RESULTADOS	197
------------------------	------------

7.3.1. Adhesión y proliferación celular	197
---	-----

7.3.2. Diferenciación celular	199
-------------------------------	-----

7.3.3. Morfología celular	201
---------------------------	-----

7.4. DISCUSIÓN	205
-----------------------	------------

7.5 REFERENCIAS	212
------------------------	------------

CAPÍTULO 8 VITROCERÁMICAS POROSAS PARA INGENIERÍA DE TEJIDOS: DESARROLLO, DEGRADACIÓN Y BIOCOMPATIBILIDAD *IN VITRO*

217

8.1. INTRODUCCIÓN	217
--------------------------	------------

8.2. MATERIALES Y MÉTODOS	219
----------------------------------	------------

8.2.1. Materiales	219
-------------------	-----

8.2.2. Preparación de los andamios porosos	219
--	-----

8.2.3. Caracterización de los andamios	221
--	-----

8.2.3.1. Microscopía electrónica de barrido	221
---	-----

8.2.3.2. Porosidad	221
8.2.3.3. Determinación de fases presentes	221
8.2.4. Degradación <i>in vitro</i> de los andamios porosos	222
8.2.4.1. Determinación de la pérdida de peso	222
8.2.4.2. Microscopia electrónica de barrido	222
8.2.4.3. Cambios estructurales en la superficie del material	223
8.2.4.4. Análisis estadístico	223
8.2.5. Cultivos Celulares	223
8.2.6. Preparación de los extractos	224
8.2.7. Ensayo de citotoxicidad	224
8.2.8 Análisis de la concentración iónica en el medio de cultivo	225
8.3. RESULTADOS	225
8.3.1. Morfología, macro y microestructura de los andamios	226
8.3.2. Efecto del tratamiento térmico en la estructura vítrea	230
8.3.3. Evolución de la pérdida de peso	234
8.3.4. Evolución de la superficie del material, cambios morfológicos y estructurales	235
8.3.5. Evaluación de la citotoxicidad	239
8.3.6 Liberación de iones al medio	241
8.4. DISCUSIÓN	241
8.5. REFERENCIAS	250
CAPÍTULO 9 DESARROLLO, DEGRADACIÓN Y RESPUESTA CELULAR DE UN ANDAMIO BIODEGRADABLE (PLA/G5) PARA REGENERACIÓN ÓSEA	253
9.1. INTRODUCCIÓN	253
9.2 MATERIALES Y MÉTODOS	257
9.2.1. Materiales	257
9.2.2. Métodos	257
9.2.2.1. Preparación de las esponjas de PLA y de compuesto	257
9.2.2.2 Caracterización de las esponjas	258
9.2.2.2.1. <i>Porosidad</i>	258

9.2.2.2.2. <i>Propiedades Mecánicas</i>	258
9.2.2.2.3. <i>Microscopía electrónica de barrido</i>	259
9.2.2.3 <i>Degradación in vitro</i>	259
9.2.2.3.1. <i>Estudio de la pérdida de peso durante la degradación</i>	259
9.2.2.3.2. <i>Determinación del porcentaje de fase inorgánica del material compuesto durante la degradación</i>	259
9.2.2.3.3. <i>Estudio de las transiciones térmicas y cristalinidad</i>	260
9.2.2.3.4. <i>Variaciones del peso molecular</i>	260
9.2.2.3.5. <i>Microscopía electrónica de barrido</i>	260
9.2.2.4 <i>Cultivos Celulares</i>	260
9.2.2.5 <i>Citotoxicidad y Proliferación</i>	260
9.3 RESULTADOS	261
9.3.1 Porosidad	261
9.3.2. Propiedades Mecánicas	261
9.3.3 Microscopía electrónica	262
9.3.4 Evolución de la pérdida de peso durante la degradación	266
9.3.5 Evolución del porcentaje de fase inorgánica	266
9.3.6 Evolución del peso molecular (M_w)	267
9.3.7 Evolución de las propiedades térmicas	267
9.3.8 Microscopía electrónica	268
9.3.9 Evaluación de la citotoxicidad y proliferación	271
9.4 DISCUSIÓN	274
9.5 REFERENCIAS	283
CAPÍTULO 10 CONCLUSIONES	287
CAPÍTULO 11 PERSPECTIVAS FUTURAS	295

Resumen

Actualmente, en el área de los biomateriales destinados a la fijación y regeneración ósea, existe un interés creciente en el desarrollo de materiales funcionales e inteligentes, capaces de estimular la respuesta biológica necesaria para restablecer las funciones que el tejido ha perdido. En el caso de los materiales para fijación ósea, la idea es crear un material que sea capaz de soportar las cargas iniciales y se degrade de forma gradual, transfiriendo las cargas de forma progresiva al nuevo hueso. De esta forma se evita una segunda intervención quirúrgica para la extracción del implante. En el caso de los materiales para regeneración ósea, el objetivo final es diseñar materiales que estimulen las respuestas celulares adecuadas y que además sean reemplazados de forma paulatina por el nuevo tejido, de forma tal que su función sea temporal.

Esta Tesis reúne una serie de estudios, realizados con el fin de desarrollar diferentes materiales biodegradables basados en ácido poliláctico (PLA) y un vidrio soluble de fosfato de calcio dentro del sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 . En primer lugar, se desarrollan vidrios de fosfato de calcio con diferentes grados de solubilidad. También se elaboran materiales compuestos biodegradables no porosos y porosos (andamios tridimensionales) combinando el PLA con el vidrio soluble, con el fin de mejorar tanto las propiedades mecánicas como la bioactividad y biocompatibilidad del polímero. Por otro lado, se desarrollan estructuras porosas de vitrocerámica obtenidas a partir del vidrio de fosfato de calcio, también para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

Cada uno de los materiales desarrollados se caracteriza inicialmente en función de sus propiedades físico-químicas y mecánicas. Dado que son materiales para implantación y biodegradables, también se evalúa el comportamiento de los mismos a lo largo de diferentes períodos de degradación *in vitro*, es decir, simulando condiciones fisiológicas. Otro aspecto que tiene importancia en esta tesis es el estudio de la respuesta biológica *in vitro* de los distintos materiales desarrollados, mediante cultivos celulares tanto en contacto directo con los materiales como con sus extractos para evaluar el comportamiento celular ante los productos de degradación.

En cuanto a los vidrios de fosfato, la incorporación de TiO_2 en el sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O introduce cambios estructurales en la red vítrea y mejora la estabilidad química de los vidrios así como su módulo elástico y su dureza. En cuanto a la respuesta biológica, se

observa una relación entre la velocidad de degradación de los vidrios y la respuesta celular.

En el material compuesto, la incorporación de las partículas de vidrio en la matriz polimérica mejora las propiedades mecánicas tanto del PLA poroso como del no poroso y modifica el patrón de degradación de los mismos. También mejora la interacción célula-material.

Por otro lado, el espumado con H_2O_2 es un método eficaz para la elaboración de vitrocerámicas porosas, con un porcentaje de porosidad y tamaño de poros adecuado para el crecimiento celular. Las estructuras tridimensionales obtenidas muestran una buena citocompatibilidad.

En general, tanto los productos de degradación de los vidrios de fosfato y del material compuesto, como los de las estructuras 3D macroporosas vitrocerámicas, y del compuesto PLA/G5 no presentan efectos citotóxicos.

Los resultados obtenidos a partir de los diferentes estudios indican que se han desarrollado una variedad de materiales biodegradables, con una gran versatilidad para modificar diversos parámetros como velocidad de degradación, propiedades mecánicas, porosidad y tamaño de poro entre otros, de acuerdo con las características requeridas para cada aplicación. Los materiales desarrollados cuentan además con un amplio rango de aplicaciones y un gran potencial en el campo de la regeneración ósea principalmente. Por lo tanto, los estudios realizados a lo largo de esta Tesis Doctoral forman parte de lo que sería un primer acercamiento al desarrollo de nuevos materiales biodegradables, y constituyen el punto de partida para la investigación de nuevos materiales porosos para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

Abstract

Nowadays, research on materials for bone fixation and regeneration focuses increasingly on the development of functional and smart materials with the ability to stimulate a biological response and thus restore tissue functionality. In the case of materials for bone fixation, the objective is to create a material that supports the initial loads and then undergoes a gradual degradation, transferring the loads progressively to the new bone tissue. Avoiding in this way, second surgical procedures to retrieve the implant. In the case of materials for bone regeneration, the objective is to design a material that stimulates the different cell responses for bone formation and is gradually replaced by the bone tissue.

This Thesis includes several studies aimed at developing different biodegradable materials based on PLA and a calcium phosphate glass, coded G5, which is in the P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 system. Non-porous and porous (3D scaffolds) materials for bone fixation and bone tissue regeneration respectively, have been elaborated, as well as porous glass-ceramic structures for bone tissue engineering. Each material is characterized in terms of its physico-chemical properties, its behaviour along *in vitro* degradation and its biological response.

Phosphate glasses show an improvement in their chemical durability as well as in their elastic modulus and hardness with the incorporation of TiO_2 in the vitreous system P_2O_5 -CaO- Na_2O . With respect to their biological response, there is a relationship between the degradation rate of the glasses and cell behaviour.

The incorporation of glass particles in the polymer matrix, both porous and non-porous, improves the mechanical properties of the material, modifies the degradation pattern of the polymer and also enhances the material-cell interactions.

On the other hand, foaming with H_2O_2 is an efficient method to elaborate of calcium phosphate glass-ceramics with a fair amount of porosity and an appropriate pore size for cell growth. The glass-ceramic structures show good cytocompatibility.

The results obtained from the different studies, suggest that the variety of biodegradable materials developed in this Thesis, present a wide range of applications and regenerative potential. Thus, the studies performed within this PhD Thesis, are a first approach in the

development of new biodegradable materials, and represent the starting point for their optimisation, and the development of new porous structures for tissue engineering applications.

Objetivos

Los biomateriales utilizados en el campo ortopédico han tenido un papel fundamental en la restauración de la movilidad y calidad de vida de millones de personas. En la actualidad, las enfermedades relacionadas con el sistema músculo-esquelético representan la causa más común de incapacidad física. El envejecimiento de la población, junto con otros factores debidos a la vida moderna como los accidentes de tráfico o la guerra conllevan a un aumento en la demanda de dispositivos para patologías y traumastismos del sistema esquelético.

Entre los años 1950-1980, época conocida como la primera generación de biomateriales, la meta era obtener materiales bioinertes que elicitaran la mínima respuesta por parte del tejido vivo. Entre los años 1980-2000 la meta era desarrollar materiales bioactivos que reaccionaran de forma controlada con el tejido conocidos como los biomateriales de la segunda generación. A partir del año 2000 nos encontramos en la tercera generación de biomateriales. El objetivo de los materiales desarrollados en esta generación, es interactuar con el tejido de forma específica, mediante estímulos a nivel celular y molecular. Los biomateriales de la tercera generación combinan propiedades de bioabsorbabilidad y bioactividad dentro del mismo material. Además buscan la estimulación de diferentes respuestas celulares a partir de las características superficiales de los mismos, de manera que su función es, por tanto, temporal, ya que el material está llamado a reabsorberse una vez restablecida la función del tejido.

Los materiales desarrollados bajo el concepto de esta última generación se acercan a las condiciones ideales propuestas para la elaboración de andamios tridimensionales para ingeniería de tejidos y para sistemas de regeneración ósea en general.

La presente Tesis Doctoral está enmarcada dentro del enfoque de la tercera generación de biomateriales y tiene como objetivo general el desarrollo y caracterización de biomateriales biodegradables basados en vidrios solubles de base fosfato y ácido poliláctico, para reparación y regeneración ósea.

Para alcanzar este objetivo general, esta Tesis Doctoral ha sido dividida en 8 objetivos parciales que son desarrollados en los diferentes capítulos:

1. Desarrollo y caracterización físico-química, estructural y mecánica de vidrios en el sistema P_2O_5 -CaO-Na₂O-TiO₂, con diferentes porcentajes de óxido de titanio, con el fin de obtener composiciones de vidrios soluble con distintas características.

2. Estudio de la degradación *in vitro* de vidrios en el sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 tanto en medio acuoso como simulando las condiciones fisiológicas mediante el uso de SBF (Simulated Body Fluid) a 37°C.
3. Evaluación de la respuesta biológica de los vidrios en el sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 con 0 y 5% de TiO_2 , a tiempos cortos mediante ensayos de citotoxicidad y proliferación para así observar el efecto de la incorporación de TiO_2 en el comportamiento celular, así como también relacionar la respuesta celular con el grado de solubilidad de los vidrios.
4. Desarrollo y caracterización fisico-química, superficial y mecánica de un nuevo material compuesto totalmente biodegradable (PLA/vidrio de fosfato) para fijación y regeneración ósea, en aplicaciones ortopédicas y dentales.
5. Estudio de la degradación *in vitro*, es decir, simulando condiciones fisiológicas, del material compuesto PLA/vidrio de fosfato durante un período de 6 semanas.
6. Evaluación de la respuesta celular elicitada por el material compuesto, tomando como material de referencia el PLA para así poder determinar el efecto de la incorporación de las partículas de vidrio en el material compuesto, así como correlacionar la respuesta biológica de los diferentes materiales con algunas propiedades superficiales y degradativas de los mismos.
7. Desarrollo de un método para la obtención de estructuras 3D porosas de vidrio vitrocerámica en el sistema P_2O_5 -CaO- Na_2O - TiO_2 para ingeniería de tejidos. Caracterización y estudio de la degradación *in vitro* de los materiales desarrollados. Estudio de la citocompatibilidad de los andamios vitrocerámicos.
8. Desarrollo de un nuevo andamio poroso formado por PLA y vidrio soluble de fosfato. Estudio del efecto de la incorporación de las partículas de vidrio en el comportamiento mecánico del andamio, en la degradación y en la biocompatibilidad *in vitro* del mismo.