

RESUMEN

La ingeniería en tejidos investiga, entre otras cosas, la combinación de células, moléculas y biomateriales para reparar los órganos o tejidos dañados. La piel, el cartílago y el hueso son algunos de los ejemplos de tejidos artificiales fabricados por esta rama de la ingeniería biomédica.

El colágeno es la proteína más abundante del cuerpo humano, siendo uno de los principales elementos estructurales del tejido conectivo junto con el ácido hialurónico (AH). Los andamios de estos materiales fabricados en laboratorio, intentan simular la matriz extracelular (MEC) proveyendo un soporte físico con la porosidad adecuada para la proliferación celular y otros procesos biológicos.

Sin embargo, los andamios de colágeno y ácido hialurónico presentan ciertas limitaciones en sus características físicas que son cruciales para el posterior cultivo celular y su implantación. Es por este motivo que se los somete a diferentes tratamientos con el fin de reforzar algunas de sus propiedades, como la resistencia a la tracción y a la degradación enzimática, entre otras. Ante la gran variedad de métodos físicos y químicos que existen en la actualidad, este proyecto utiliza el tratamiento dehidrotermal (DHT), que aumenta el número de enlaces covalentes (crosslinks) entre las cadenas laterales de la molécula de colágeno. Se elige este método por su nula citotoxicidad y la escasa alteración de la estructura química del colágeno y el AH.

Apoyándose en la tecnología de la impresión en 3D, se obtuvieron los andamios mediante esta técnica. Después, se los sometió al tratamiento DHT y se realizó una caracterización química y biológica de los mismos mediante diferentes pruebas.

El análisis de espectrometría infrarroja demostró el aumento en la cantidad de enlaces covalentes luego del tratamiento. Además, el ensayo de degradación enzimática, reveló una mayor resistencia a la enzima colagenasa por parte de los andamios sometidos al tratamiento. Por otro lado, el ensayo de hinchamiento demostró una disminución en la absorción de agua de los andamios entrecruzados, lo cual es producto de un aumento en la densidad en la red polimérica.

El estudio de los andamios por microscopía electrónica de barrido reveló diferentes poblaciones de tamaños de poros. Adicionalmente, los constructos de colágeno y AH con tratamiento DHT presentaron citotoxicidad en células epiteliales tipo Vero, pero ningún andamio evidenció citotoxicidad para células NIH 3T3.

Reuniendo todos los resultados, se demostró la efectividad del tratamiento DHT para el entrecruzamiento de los constructos de colágeno y de colágeno con ácido hialurónico junto con el refuerzo de sus propiedades físicas. Los andamios de estos materiales no presentaron citotoxicidad para posibles aplicaciones *in vivo* en ingeniería en tejidos.

ABSTRACT

The mechanical and biological properties of tissue engineering scaffolds affect cellular adhesion and proliferation. Additionally, these properties are critical for preserving the structural integrity and functionality during *in vivo* implantation. Consequently, it is a common practice to enhance these properties with some chemical or physical technique.

Since collagen and hyaluronic acid (AH) scaffolds demonstrated great potential in tissue engineering, the aim of this study was to investigate the effects of dehydrothermal (DHT) treatment on the structural properties of these scaffolds through chemical and biological analysis. All constructs were obtained with 3D printing technology and subsequently, DHT treatment was performed at 120°C, under 5 cmHg pressure during 24 h.

Fourier transform spectrometry (FTIR) indicated increased amide bond formation with DHT compared to control. A higher value of resistance to enzyme degradation was also reported for the scaffolds treated with DHT. As expected, the swelling ratio of the crosslinked scaffolds was decreased. This is a consequence of the increment in the polymer network density. Scanning electron microscopy (SEM) showed different pore size distribution in the cross section of the scaffolds as well as a heterogeneous surface morphology. Cytotoxicity was evaluated according to ISO 10993-5 with Vero and NIH 3T3 line cells and the scaffolds indicated very low and null cytotoxicity respectively.

Taken together, these results prove the effectiveness of DHT treatment for collagen-glycosaminoglycan scaffolds crosslinking and the enhancement of its physical properties. Furthermore, scaffolds showed high biocompatibility and an acceptable cytotoxicity for future *in vivo* and *in vitro* tissue engineering applications.

Key words: Tissue engineering, Dehydrothermal treatment, collagen, hyaluronic acid.