

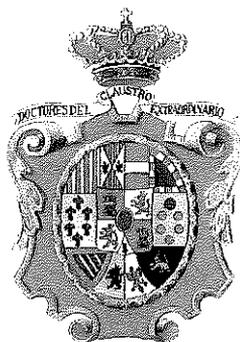
REAL ACADEMIA DE DOCTORES DE ESPAÑA

**NANOHIIDROGELES:
LOS MATERIALES DEL FUTURO.
APLICACIONES EN BIOMEDICINA**

**DISCURSO PRONUNCIADO POR EL
EXCMO. SR. DR. D. JOSÉ MARÍA TEIJÓN RIVERA**

EN LA TOMA DE POSESIÓN COMO
ACADÉMICO DE NÚMERO
EL DÍA 21 DE OCTUBRE DE 2009

Y CONTESTACIÓN DEL ACADÉMICO
EXCMO. SR. DR. D. AMANDO GARRIDO PERTIERRA



**MADRID
MMIX**

Depósito legal: M. 40.926-2009
Diseño editorial: Rebeca Irazábal
Imprime: Edigrafos

**DISCURSO DEL
EXCELENTÍSIMO SEÑOR DOCTOR
DON JOSÉ MARÍA TEIJÓN RIVERA**

ÍNDICE

DISCURSO DEL EXCMO. SR. DR. D. JOSÉ MARÍA TEIJÓN RIVERA	5
I. INTRODUCCIÓN A LA NANOCIENCIA Y LOS BIOMATERIALES ..	11
II. HIDROGELES Y NANOGELES	17
II.1. Propiedades de los hidrogeles	22
II.1.1. Propiedades de hinchamiento	23
II.1.2. Propiedades mecánicas	27
II.1.3. Permeabilidad	30
II.1.4. Biocompatibilidad	31
III. APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LOS HIDROGELES	33
III.1. Lentes de contacto e implantes oculares	34
III.2. Apósitos para heridas y quemados	35
III.3. Prótesis de tejidos	37
III.4. Ingeniería de tejidos y regeneración tisular	38
III.5. Sistemas de liberación controlada de fármacos	41
III.5.1. Características generales	43
III.5.2. Hidrogeles con respuesta a estímulos	47
III.5.3. Rutas de liberación de fármacos	53
IV. NANOMEDICINA	56
IV.1. Nanopartículas con propiedades inherentes de diagnóstico	57
IV.2. Nanovehículos transportadores de fármacos	57
IV.3. Mecanismos de aclaramiento y selección pasiva de dianas mediante nanosistemas	58
IV.4. Direccionalización de nanotransportadores	61
IV.4.1. Los macrófagos como dianas	61
IV.4.2. El endotelio como diana	63
IV.4.3 Extravasación: direccionalización hacia tumores sólidos	64
IV.4.3.1. Direccionalización pasiva de los sistemas nanoparticulados	64
IV.4.3.2. Direccionalización activa de nanotransportadores	67
V. BIBLIOGRAFÍA	75
DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL EXCMO. SR. DR. D. AMANDO GARRIDO PERTIERRA	83

**Excelentísimo Señor Presidente de
la Real Academia de Doctores de España
Excelentísimos Señoras y Señores Académicos
Señoras y Señores:**

Es para mi un gran honor haber sido admitido como Académico de Número en la Real Academia de Doctores de España. Su marcado carácter interdisciplinar, hace de esta corporación, como indica en sus fines, una entidad científica, técnica y cultural de capital importancia en el ámbito académico de nuestro país.

Quiero, en mis primeras palabras, expresar mi gratitud a todos los miembros de esta Academia por haberme permitido formar parte de una Institución a la que pertenecen tan ilustres personalidades del mundo de las ciencias y de las humanidades. Espero y deseo hacerme merecedor de la confianza que han depositado en mí, colaborando en cuanto me sea posible con tan prestigiosa Institución.

Muy especialmente quiero agradecer a los Académicos que han presentado mi candidatura, esto es a los Dres. D. Arturo Romero Salvador, D. Antonio Bascones Martínez y D. Amando Garrido Pertierra. Todos ellos grandes maestros en sus respectivos campos del saber, donde gozan de un alto prestigio científico. Los tres son grandes y viejos amigos, a los que debo una especial mención, pues han sido muy importantes en mi carrera profesional. Mi gratitud y reconocimiento perdurarán para siempre.

Al Dr. D. Arturo Romero he de agradecerle su fiel y leal amistad. Siempre ha estado a mi lado con su apoyo permanente, tanto en aquellos momentos de éxito como en los no tan dichosos. Destaca por sus cualida-

des científicas, docentes y humanas, por su sensatez, claridad de ideas y honestidad, siento por él un gran respeto científico y una constante y profunda admiración; es un privilegio poder considerarme su amigo. El Dr. D Antonio Bascones siempre me ha deslumbrado por el empeño, dedicación e ilusión que pone en cuantos proyectos emprende. Trabajador infatigable e inteligencia preclara; conozco muy bien su dedicación académica y su calidad investigadora, así como sus cualidades humanas. Me honra con su amistad.

El Dr. D Amando Garrido, que hoy en nombre de esta Real Academia me hace el honor de contestar a mi discurso, es una personalidad de gran prestigio en el mundo académico y científico, maestro y amigo entrañable, pero por encima de todo destaca por sus excelentes cualidades humanas, que hacen de él una persona querida y apreciada por todos. Él ha estado presente en los grandes momentos de mi carrera profesional con su constante apoyo y estímulo; es para mi un gran orgullo y satisfacción poder considerarme su amigo.

En este acto de reconocimiento a un historial dedicado a la docencia y a la investigación, siento un profundo agradecimiento, deuda imposible de compensar, a aquellas personas que han sido y son el núcleo de mi vida y me han ayudado a llegar hasta aquí; mi familia, mis colaboradores, mis amigos y mis maestros.

A mi mujer Alicia y a nuestros hijos, César y José María, que han soportado con paciencia las largas horas que he dedicado al estudio, por el apoyo y estímulo que me han dado, sobre todo, en los momentos difíciles. A mi madre, hermana y demás familia por su constante ánimo y confianza. A mis más que colaboradores amigos, Dolores Blanco, José Antonio Onrubia, Paloma Huerta, Rosa Olmo, Jesús del Socorro, Clara Gómez, César Teijón, Roberto Sastre, Carlos Romero y Sandra Guerrero, y otros más recientes, Patricia López, Ana Fernández, Ana Martínez, Marta Benito y Elena Pérez; los cuales han sido siempre una fuente de confianza, estímulo y apoyo, con los que aprendo diariamente, gracias a su pujanza e ilusión hacen que me sienta cada día más joven y me proporcionan la satisfacción de pensar que estoy contribuyendo a su formación. Ellos han sido y son los motores que han marcado mi carrera profesional y que han sabido y conseguido arrancarme mis sentimientos más profundos. Para ellos mi más sincero y cariñoso agradecimiento.

En este momento, quiero igualmente tener un recuerdo muy sentido para aquellos profesores e investigadores que han contribuido a mi formación. De entre ellos, quiero mencionar al Profesor Issa Katime, director de mi Tesis Doctoral, buen amigo, siempre me aconsejó, orientó y confió en mí. Actualmente, después de más de 35 años, seguimos colaborando y sigo contando con su apoyo incondicional y su amistad. Y por el Profesor Dr. D Jorge Tamarit Torres, que fue Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular en la Facultad de Medicina de la UCM (que desgraciadamente hace años que nos ha dejado), por el que he sentido y siento una gran admiración y respeto científico, de él recibí enseñanzas, consejos y amistad; me inculcó el sentido de la responsabilidad, del rigor científico, la dedicación al trabajo y la importancia de la investigación en la formación del docente.

Quiero aprovechar este momento para rendir un merecido homenaje al Dr. D. Raimundo Manuel Martel San Gil, que me precedió en la posesión de esta medalla. Geólogo. Nació el 15 de marzo de 1914 y falleció el 14 de abril de 2000. De entre sus muchos méritos quiero destacar que fue Catedrático de Geología General y Geoquímica en las Universidades de La Laguna, Valencia, Madrid y Alcalá de Henares. Rector de la Universidad de Alcalá de Henares (1981-84). Premio Nacional de Ciencias "Torres Quevedo" (1951) del CSIC. En 1968 ingresa como Miembro de Número de la Academia de Doctores de Madrid y en 1985 hace lo propio en la Real Academia de Farmacia. Posee la Gran Cruz de la Orden Militar y Hospitalaria de San Juan de Malta y la Encomienda con Placa de la Orden Civil de Alfonso X el Sabio.

Con mi admirado reconocimiento a su brillante historial y mi sentido recuerdo, paso a exponer mi discurso de ingreso.

I. INTRODUCCIÓN A LA NANOCIENCIA Y LOS BIOMATERIALES

Se considera que Richard Feynman, premio Nobel de Física en 1965, es el padre de la **nanociencia**. Feynman propuso en 1959 la fabricación de productos basada en el reordenamiento de átomos y moléculas, la base de la nanotecnología.

“Hay mucho sitio al fondo” (There is plenty of room at the bottom). Este juego de palabras fue el que eligió Richard Feynman para la conferencia que impartió en la Reunión de la Sociedad Americana de Física en Caltech en 1959, y que fue una de las conferencias más famosas de la historia de la Física. El fondo al que se refería no era el de la abarrotada sala, sino el de las propias fronteras de la Física. Feynman defendía la idea de que los principios de la Física no negaban la posibilidad de traspasar la barrera molecular para llegar a manipular las cosas hasta la escala nanométrica. Su teoría de lo minúsculo sería la puerta de un campo al que aventuraba un gran número de aplicaciones técnicas y que permitiría en un futuro desde miniaturizar los ordenadores, hasta construir máquinas nanométricas para diagnosticar y combatir enfermedades.

La nanotecnología, a pesar de una falta de consenso generalizado, puede definirse como el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nano escala, y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia en términos nanométricos. Es una ciencia increíblemente diversa ya que la materia demuestra propiedades totalmente nuevas al ser manipulada a escala minúscula, lo cual supone ampliar enormemente el campo de acción. Se acepta generalmente la idea de que la nanotecnología supondrá una segunda revolución industrial en el siglo XXI, una nueva era que traerá

consigo avances en todas las áreas imaginables de la ciencia y la tecnología, ya que en su diversidad radica la clave de su potencial para el cambio.

De momento, los científicos prefieren hablar de nanociencia, pero ésta ya se empieza a dividir en nanobiología, nanoelectrónica, nanomedicina, y se apuntan posibles aplicaciones realmente apasionantes. Es por ello que los gobiernos de los países más industrializados están asignando presupuestos considerables que permitan el desarrollo de la nanociencia; además, las empresas privadas más solventes también están destinando recursos al desarrollo de la nanotecnología.

En este sentido, un ámbito de especial interés es el desarrollo de materiales con aplicaciones biomédicas. El término **biomateriales**, en general, se emplea para designar aquellos materiales inocuos para el organismo, y que, en algunas circunstancias, son necesarios en el mismo para llevar a cabo determinadas funciones. Los biomateriales se pueden clasificar en *biotolerados*, cuando son tolerados por el huésped, *bioinertes*, cuando no se desencadena respuesta local en el huésped, y *bioactivos*, aquellos que inducen una respuesta deseada en el huésped. Los biomateriales que se utilizan para ser implantados en el cuerpo humano son muy diversos, en lógica concordancia con su aplicación última, ya que pueden emplearse para reemplazar tejidos blandos, y así puede citarse su aplicación en suturas, piel artificial o vasos sanguíneos; o bien para reemplazar tejidos duros, tal es el caso de los implantes de huesos o los dentales; o utilizarse para la preparación de dispositivos de uso médico, como por ejemplo marcapasos cardiacos, biosensores o matrices para la liberación controlada de fármacos.

Los biomateriales pueden agruparse en dos grandes bloques según su procedencia: artificiales y naturales. Dentro de los **compuestos artificiales** se encuentran los metales, las cerámicas, los polímeros y los materiales compuestos, formados por más de un componente incorporado en una matriz metálica, cerámica u orgánica. En cuanto a los de **origen natural**, se incluyen proteínas, como colágeno o elastina, y polisacáridos como quitosano, alginato o ácido hialurónico. También hay que considerar aquellos materiales mixtos formados por una mezcla de compuestos de origen sintético y de origen natural.

Los **biomateriales poliméricos** presentan numerosas aplicaciones biomédicas debido a su gran versatilidad, ya que pueden sintetizarse con la

forma deseada, adecuando sus propiedades mecánicas, físicas y químicas a una aplicación concreta. Además, estos biomateriales son biocompatibles, ya que los polímeros que los constituyen pueden sintetizarse con sustituyentes que les confieren propiedades similares a las de los tejidos vivos.

Los polímeros sintéticos pueden clasificarse en función del **método de polimerización** utilizado. La *polimerización por condensación* es característica de los compuestos que contienen grupos funcionales y se produce entre pares de grupos funcionales con la liberación de moléculas pequeñas, por ejemplo H_2O , H_3N o HCl , como subproductos. Este tipo de reacción es la base de muchos polímeros importantes, como las fibras textiles artificiales (nylon y poliésteres), también de poliaminas, poliuretanos o policarbonatos (Tabla 1). Otra forma de polimerización es por adición, los *polímeros de adición* son macromoléculas formadas por la incorporación, al centro activo de una cadena en crecimiento, de moléculas de monómero insaturadas, es decir, con un doble enlace. La mayoría de estas macromoléculas son polímeros vinílicos (Tabla 2). Se obtienen cadenas poliméricas lineales o ramificadas, dependiendo de las características químicas del monómero utilizado. Un tercer método es la *polimerización por apertura de anillo*, y consiste en la polimerización de monómeros cíclicos, por apertura de su anillo mediante un catalizador adecuado. Un ejemplo es la formación de polioximetileno y de poli(ácido láctico). Los materiales poliméricos así obtenidos, presentan una gran variedad de características diferentes, pueden ser sólidos más o menos duros o elásticos; fibras o líquidos viscosos, oleosos o elásticos. Así, según sus propiedades, los polímeros se pueden clasificar en termoplásticos, cauchos y polímeros termoestables.

Si el polímero procede de la unión de un único tipo de monómero, tendrá una estructura química definida que determinará sus propiedades físico-químicas, y se tratará de un *homopolímero*, así por ejemplo el poli(metacrilato

Tabla 1. Principales polímeros de condensación.

Polímero	Grupo Funcional
Poliaminas	-NH-CO-
Poliésteres	-CO-O-
Poliéteres	-O-R-
Poliuretanos	-O-CO-NH-
Celulosa	-O-C-
Policarbonatos	-O-R-O-CO-
Polianhídridos	-CO-O-COR-
Polifosfatos	-POR-O-R-O-

Tabla 2. Ejemplos de polímeros que se obtienen por polimerización de adición por radicales libres.

Polímeros	Monómero
Polietileno (PE)	$\text{CH}_2=\text{CH}_2$
Polialcohol vinílico (PVA)	$\text{CH}_2=\text{CHOH}$
Polimetacrilato de metilo (PMMA)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2=\text{C}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CO}-\text{O}-\text{CH}_3 \end{array}$
Polimetacrilato de 2-hidroxiethyl (PHEMA)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2=\text{C}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
Poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2=\text{CH} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{O} \end{array}$

de metilo) está formado por la unión consecutiva de unidades de metacrilato de metilo. Sin embargo, los polímeros pueden sintetizarse a partir de dos o más monómeros diferentes, generándose así *copolímeros* de distinta composición, cuya estructura química dependerá de la concentración de los distintos monómeros en el medio de reacción, y de la reactividad de las funciones orgánicas que participan en la polimerización. El copolímero puede tener las propiedades de ambos homopolímeros, en el caso de utilizar dos tipos de monómeros, o intermedias entre ellos, aunque, muchas veces, el producto final tiene propiedades totalmente diferentes a los homopolímeros correspondientes. Los copolímeros pueden ser de distintos tipos según sea la estructura de la cadena polimérica y la distribución de las unidades monoméricas en dicha cadena copolimérica (Figura 1). Así, atendiendo a la estructura de la cadena polimérica, los copolímeros son:

- de *cadena lineal*, es decir, sin ramificaciones de la cadena, donde los dos tipos de monómeros o comonómeros se distribuyen a lo largo de la misma cadena de una forma determinada;
- copolímeros de injerto*, donde, sobre unos puntos específicos de una cadena de polímero ya formada, se hace crecer una ramificación de otro monómero; y
- copolímeros entrecruzados*, en los que uno de los comonómeros tiene una funcionalidad mayor que dos y da lugar a estructuras ramificadas tridimensionales, denominadas geles.

Por otra parte, atendiendo a la distribución de las unidades monoméricas en la cadena copolimérica tenemos

- a) *copolímeros al azar*, en los que la distribución de los monómeros en la cadena es aleatoria;
- b) *copolímeros en bloque*, en los que existen regiones consecutivas de monómeros unidos de cada tipo, que se disponen consecutivamente, lo que se debe a que cada monómero tiende a reaccionar preferentemente consigo mismo; y
- c) *copolímeros alternantes*, en los que se alternan los dos tipos de monómeros en la cadena polimérica como consecuencia de que cada monómero reacciona preferentemente con el otro.

Las propiedades de estos copolímeros dependen no sólo del tipo de monómeros que los constituyen sino también de la disposición y distribución de los monómeros en la macromolécula.

La aplicación médica de los polímeros está relacionada con su estabilidad en el medio biológico. Así, *polímeros bioestables* se utilizan en cirugía

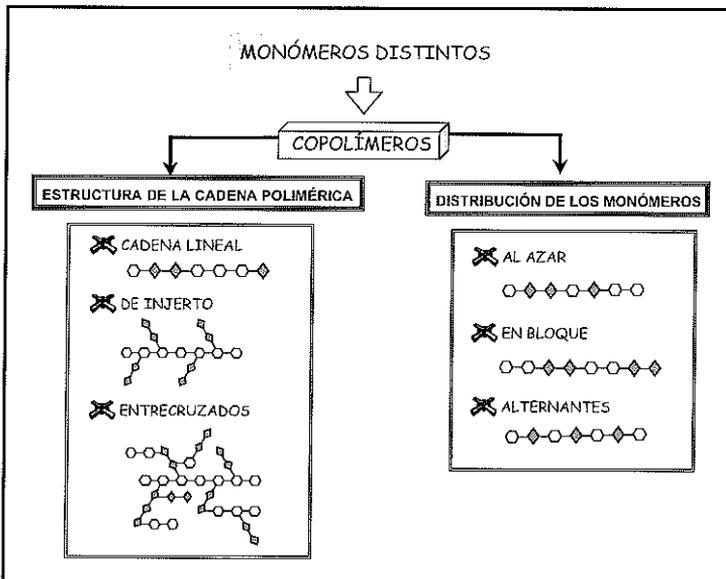


FIGURA 1. Distintos tipos de copolímeros en función de la estructura de la cadena polimérica y de la distribución de monómeros en dicha cadena.

ortopédica para preparar cementos acrílicos, tal es el caso de los formados por polimetacrilato de metilo y metacrilato de metilo, que se emplean para unir un implante al hueso. En las prótesis articulares se utiliza polietileno por sus propiedades químico-físicas. Otro grupo de polímeros para la preparación de biomateriales son los denominados *polímeros biodegradables*, entendiendo por *biodegradación* la destrucción gradual de un material mediada por un sistema biológico, en el sentido de que el sistema biológico no es necesariamente la causa del proceso degradativo sino el medio en que se produce; esta definición permite incluir el término *bioerosión*, ya que los polímeros bioerosionables son aquellos que se erosionan en un medio biológico, bien por disolución o bien por rotura hidrolítica de sus enlaces. Los implantes biodegradables no necesitan ser eliminados quirúrgicamente cuando finaliza la regeneración tisular, por lo que son muy útiles en aplicaciones a medio y corto plazo. Entre sus aplicaciones está su uso como soporte o *andamiaje temporal*, así se aplican como suturas, injertos vasculares y dispositivos de fijación ósea, en forma de clavos, placas, tornillos o grapas. De todas estas aplicaciones, las suturas son las que más se han utilizado. Las suturas sintéticas degradables, inicialmente, estuvieron constituidas por poli(ácido glicólico) (PGA), y se comercializaron como Dexón[®], posteriormente se fabricaron utilizando copolímeros de poli(ácido láctico) (PLA) y poliácido glicólico (PGA), tal es el caso de Vicryl[®]; también se han empleado suturas a base de polidioxanona, un polímero muy flexible y con mejores propiedades mecánicas que PLA y PGA; y de poli(ácido glicólico-co-trimetilencarbonato), comercializada como Maxon[®]. Otra aplicación importante de los polímeros biodegradables es su uso en *ingeniería de tejidos*, donde sirven de estructura organizativa y conductora y apoyo mecánico, en las que las células pueden crecer y formar tejido, ya que la matriz polimérica facilita la adhesión celular, y contiene y libera los factores de crecimiento adecuados, además de estimular respuestas celulares específicas. Estas matrices poliméricas han de ser microporosas, de forma que puedan albergar las células y polipéptidos activos y favorecer la penetración del tejido neoformado o regenerado tras la implantación; además, sus características biomecánicas han de ser semejantes a las del tejido a sustituir, degradándose al ritmo de regeneración del tejido neoformado. Entre las aplicaciones de los polímeros biodegradables está la de constituir *dispositivos para la liberación de fármacos* que permitan mantener niveles adecuados del fármaco durante un periodo adecuado de tiempo, de forma vectorizada, esto es en su sitio de acción, e incluso que dicha liberación esté controlada por un estímulo fisiológico.

II. HIDROGELES Y NANOGELES

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales e hidrofílicas capaces de hincharse en agua o en fluidos biológicos y retener una cantidad significativa de los mismos en su estado hinchado. El contenido de agua en el equilibrio de hinchamiento afecta diferentes propiedades de los hidrogeles: permeabilidad, propiedades mecánicas, propiedades superficiales y biocompatibilidad. La utilidad de los hidrogeles como biomateriales radica en la similitud de sus propiedades físicas con las de los tejidos vivos. Este parecido se basa en su contenido en agua, su consistencia blanda y elástica, y su baja tensión interfacial con el agua y los fluidos biológicos.

La nanotecnología también se ha extendido hasta la química de materiales, y la aplicación directa de la nanoescala al estudio de los hidrogeles ha impulsado el desarrollo e investigación de sus nano-congéneres, inicialmente denominados microgeles, y posteriormente nanogeles. Aunque no existe una definición universal de nanogel, se puede decir que un nanogel es una macromolécula entrecruzada intramolecularmente con propiedades intermedias entre los polímeros ramificados y los sistemas entrecruzados microscópicos, con diámetros comprendidos entre 10 y 1.000 nm. Presentan una estructura porosa, que hace que se hinchen en el disolvente adecuado. Este hinchamiento dependerá del grado de entrecruzamiento, de forma que estrictamente hablando los nanogeles son insolubles y no forman disoluciones sino dispersiones coloidales.

Los hidrogeles se pueden preparar a partir de una gran variedad de materiales, de origen natural, tanto procedentes de plantas como de animales, materiales preparados por modificación de dichas estructuras naturales, y materiales poliméricos sintéticos. Entre los polímeros naturales, se utilizan proteínas como colágeno, y polisacáridos como quitosano o ácido hialurónico. Respecto a los polímeros sintéticos, debido a las singulares propiedades que les caracterizan, como consecuencia de su gran versatilidad estructural, son los materiales que han experimentado un mayor crecimiento y desarrollo en cuanto a sus aplicaciones prácticas.

Los hidrogeles, que en estado deshidratado presentan un aspecto cristalino y se denominan xerogeles, además de su inmediata definición de ser geles conteniendo agua, son polímeros o copolímeros con unas caracte-

terísticas particulares: son hidrofílicos, insolubles en agua y en presencia de la misma (o de cualquier fluido acuoso) se hinchan, aumentando de volumen y pasando a tener una consistencia blanda y elástica, pero manteniendo su forma, hasta alcanzar un equilibrio físico-químico.

Estas características son consecuencia de diversos factores:

- a) Su carácter hidrofílico, que es debido a la presencia de grupos hidrofílicos, tales como alcoholes, ácidos carboxílicos, amidas y ácidos sulfónicos.
- b) Su insolubilidad en agua, que se debe a la existencia en su estructura de una malla o red tridimensional entrecruzada. Este entrecruzamiento puede ser debido a fuerzas cohesivas débiles (como fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno) y enlaces covalentes o iónicos.
- c) Su tacto suave y su consistencia elástica, que se encuentra determinado por el monómero hidrofílico de partida y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero.
- d) El estado del hidrogel hinchado en equilibrio, que resulta del balance entre las fuerzas osmóticas originadas por el agua al entrar en el polímero y las fuerzas cohesivas ejercidas por las cadenas poliméricas que se resisten a esa expansión.

En la síntesis de un hidrogel, además de uno o varios monómeros, se precisa de un iniciador, que será el encargado de desencadenar la reacción de polimerización, y de un agente entrecruzante, que va a ser el principal responsable de la estructura reticulada del gel. Las cadenas poliméricas lineales pueden interconectarse estableciendo entre ellas una red tridimensional de enlaces químicos fuertes. Esto es lo que sucede cuando un polímero se sintetiza en presencia de un agente entrecruzante. Dicho sistema no puede formar una verdadera solución molecular y por tanto, desde un punto de vista estrictamente termodinámico, es un sistema insoluble. Para obtener dicho sistema de forma efectiva es necesario que el polímero posea en su estructura ciertos grupos que puedan servir como puntos de anclaje para formar la red. El agente entrecruzante, cuya elección depende del o de los monómeros seleccionados, ha de poseer varios grupos reactivos (al menos dos) en su estructura, para así poder entrecruzar distintas cadenas poliméricas, siendo habituales compuestos tetrafuncionales y hexafuncionales.

Los polímeros entrecruzados exhiben diferencias considerables en sus propiedades dependiendo del grado de entrecruzamiento y del método de preparación. En general, el grado de entrecruzamiento determina la solubilidad, el grado de hinchamiento, el tamaño de poro, el área total superficial y la resistencia mecánica del polímero.

La gran deformabilidad de los materiales elastoméricos es debida a la naturaleza flexible de las cadenas poliméricas que los componen. Esta flexibilidad molecular (microscópica) permite su gran deformabilidad macroscópica. En el caso de los polímeros, la deformación es sólo temporal (mientras dura la aplicación de la fuerza deformadora) y la recuperación es reversible, si las cadenas que componen el material elastomérico están unidas entre sí mediante enlaces covalentes, que conectan unas cadenas con otras, y convierten al sólido en una red o malla molecular tridimensional. Estos enlaces o entrecruzamientos dan estabilidad al material, pues evitan el flujo reversible o deslizamiento de unas cadenas con respecto a otras. Las propiedades elásticas del material dependen de la proporción de entrecruzamientos que se introducen para formar la malla tridimensional (Figura 2). Se denomina *densidad de nudos* al número de puntos de entrecruzamiento que hay por unidad de volumen del material. Si la densidad de nudos es pequeña, la malla resulta muy abierta y, por tanto, los tramos de cadena que unen dos nudos consecutivos son largos, y su flexibilidad no se ve apenas limitada, por lo que el material exhibe comportamiento elástico. Si la densidad de nudos es grande, la malla re-

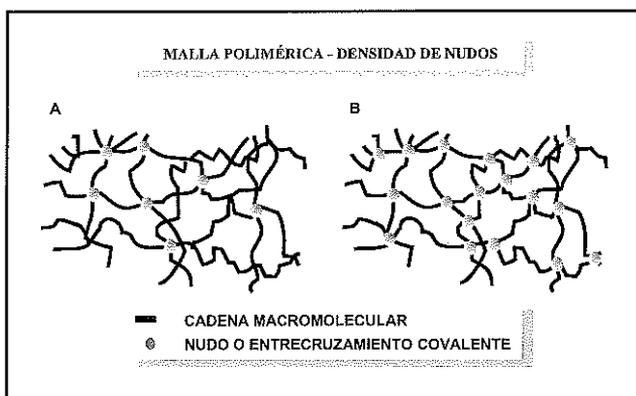


FIGURA 2. Densidad de entrecruzamiento de una red polimérica. A) Baja densidad de entrecruzamiento; B) Alta densidad de entrecruzamiento.

sulta tupida. En este caso los tramos de cadena entre nudos son cortos, y las cadenas están ancladas por muchos puntos, por lo que pierden flexibilidad, y el material resulta más rígido.

En la síntesis de hidrogeles la elección del agente entrecruzante y de otros monómeros, que actúen como modificadores de propiedades, depende del tipo de monómero base elegido, lo cual va a determinar las características del hidrogel sintetizado. Asimismo, la elección del iniciador también es función del monómero o monómeros que se intenten polimerizar; en caso de copolimerizaciones el iniciador debe serlo de todos los monómeros que formen parte del sistema. Los métodos de síntesis que aparecen en la literatura se basan fundamentalmente en reacciones de copolimerización, en las cuales uno de los monómeros tiene carácter hidrofóbico y el otro hidrofílico. El motivo de esta elección suele ser optimizar las propiedades mecánicas y de hinchamiento del hidrogel resultante.

Una gran variedad de hidrogeles, muchos de los cuales se basan en monómeros vinílicos, pueden ser sintetizados por vía radicalica. La polimerización radicalica se encuadra dentro de la polimerización por adición o en cadena, donde el polímero se forma a partir de los monómeros sin que exista pérdida de pequeñas moléculas o subproductos, de tal forma que la unidad estructural de repetición tiene la misma composición que la del monómero de partida. La elección del método por el cual el monómero se convierte en un polímero de alto peso molecular depende de la naturaleza del monómero, el uso que se le vaya a dar al polímero, el peso molecular, la velocidad de polimerización y el control de la reacción. Existen varias técnicas en la polimerización radicalica, como son la polimerización en masa o bloque, en disolución, en suspensión y en emulsión. La polimerización en masa es una de las técnicas más utilizadas para obtener hidrogeles. El sistema está formado por el monómero o monómeros, más el iniciador. Esto hace que la contaminación del polímero resultante sea muy baja, obteniéndose productos de gran pureza y de alto peso molecular debido a que disminuyen las posibilidades de reacciones de transferencia de cadena. Además permite obtener el gel con una amplia variedad de morfologías en función del molde utilizado en la síntesis.

En cuanto a los nanogeles, sus principales propiedades provienen de su carácter coloidal, el cual se consigue mediante la restricción del tama-

ño de las moléculas entrecruzadas en crecimiento durante la síntesis. Esto se puede lograr restringiendo el volumen de polimerización y entrecruzamiento a un volumen de tamaño coloidal, por ejemplo una micela o un ovillo de polímero. De acuerdo con esto, existen dos métodos generales de síntesis de nanogeles:

- a) polimerización por emulsión, y
- b) polimerización en disolución diluida. Sin embargo, existe un tipo de polimerización difícil de clasificar entre estos dos métodos generales de síntesis, que recoge la sencillez de la polimerización en disolución y la eficacia de la polimerización en emulsión, es la denominada polimerización por precipitación.

En la polimerización en emulsión los componentes básicos son agua, monómero(s), agente emulsionante o tensioactivo e iniciador. Esta técnica se ha utilizado extensamente para la síntesis de partículas entrecruzadas de tamaño coloidal, ya que las micelas se comportan como microreactores en cuyo interior se produce la polimerización y el entrecruzamiento, y las propias paredes micelares resultan ser las fronteras físicas que restringen el tamaño de la partícula en crecimiento. La polimerización en microemulsión es una variante de la polimerización en emulsión, en la que se utiliza mucho mayor porcentaje de agente tensioactivo, y que genera micelas de mucho menor tamaño, y como resultado partículas de tamaño nanométrico.

La polimerización en disolución genera nanogeles cuando la dilución es adecuada. La dilución lleva a la transición de un régimen de macro- a micro-gelación; y el paso de un tipo de estructura a otra tienen lugar a partir de un valor crítico de dilución o concentración de monómeros; para valores superiores se produce macrogelación y para valores inferiores se obtienen nanogeles.

La polimerización por precipitación no precisa de sustancias estabilizadoras. Se caracteriza por tener lugar en un medio que resulta ser buen disolvente de los monómeros, pero sin embargo es muy pobre o mal disolvente del polímero resultado de la polimerización. La baja solubilidad del polímero en formación conduce a una continua nucleación y precipitación de partículas a medida que el polímero se forma. Así se consiguen partículas aisladas de tamaños submicrométricos (Figura 3).

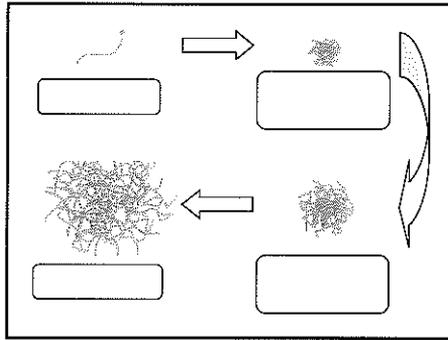


FIGURA 3. Mecanismo de formación de un nanogel vía polimerización por precipitación.

II.1. Propiedades de los hidrogeles

Existe una relación directa entre las propiedades de un hidrogel (o un polímero en general) y su estructura, de tal forma que ambas características no pueden ser consideradas de forma aislada ya que el método de síntesis influye de manera decisiva tanto en la estructura de la matriz polimérica como en las propiedades finales que presentará el gel (Figura 4).

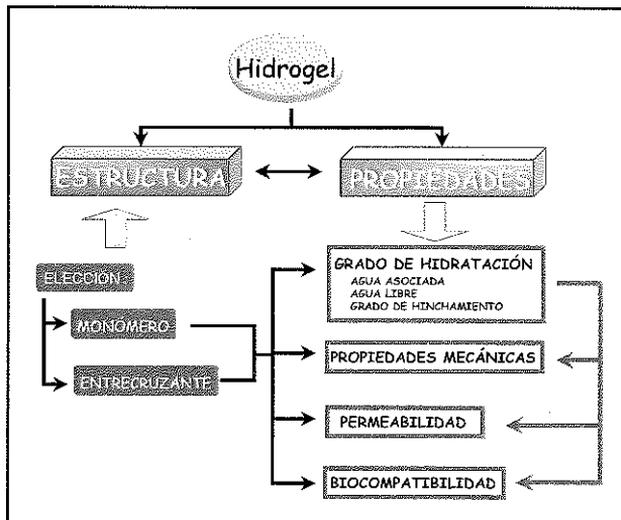


FIGURA 4. Relación entre la estructura y las propiedades de los hidrogeles.

Por lo tanto, cuando se exponen las propiedades de los hidrogeles ha de hacerse referencia a los parámetros estructurales que las condicionan.

II.1.1. Propiedades de hinchamiento

Los hidrogeles se caracterizan en primer lugar por su capacidad de absorber agua o disoluciones acuosas. El contenido de agua en el equilibrio de un hidrogel se ve afectado, fundamentalmente, por la naturaleza del monómero o monómeros hidrofílicos que lo forman, por el tipo y densidad del entrecruzamiento y por otros factores como son la temperatura, la fuerza iónica y el pH del medio de hidratación.

El contenido de agua en el equilibrio, W_∞ , se define como el porcentaje en peso de agua en el hidrogel, y se determina mediante la relación:

$$W_\infty = \frac{\text{peso del gel hinchado} - \text{peso del gel seco}}{\text{peso del gel hinchado}} \cdot 100$$

A una temperatura determinada, la fracción en volumen de polímero en el hidrogel, ϕ_2 , se define como:

$$\phi_2 = \left(\frac{D_0}{D} \right)^3$$

donde D_0 y D son los diámetros de la pastilla de hidrogel seca e hinchada, respectivamente, que se determinan con un micrómetro o fotográficamente.

Considerando las ecuaciones anteriores, puede deducirse una expresión que relaciona ambos parámetros:

$$W_\infty = \left(\frac{\phi_1 \rho_1}{\phi_1 \rho_1 + \phi_2 \rho_2} \right) \cdot 100$$

donde ϕ_1 es la fracción en volumen de agua en el hidrogel ($\phi_1 = 1 - \phi_2$) y, ρ_1 y ρ_2 son las densidades del agua y del polímero, respectivamente.

Una partícula de nanogel entrecruzado se hincha cuando es dispersado en un buen disolvente; y este hinchamiento continúa hasta que la fuerza

de hinchamiento, resultado de las interacciones atractivas polímero-disolvente, equilibra las fuerzas elásticas restrictivas debidas al entrecruzamiento. Asumiendo que el hinchamiento es isotrópico, se puede establecer la siguiente relación entre el diámetro de un nanogel esférico y la fracción en volumen del polímero:

$$\frac{\phi}{\phi_0} = \frac{V_0}{V} = \left[\frac{d_0}{d} \right]^3$$

donde d_0 y d son los diámetros colapsado e hinchado, respectivamente, del nanogel; ϕ_0 y ϕ son la fracción en volumen del polímero en el gel no hinchado e hinchado, respectivamente; y V_0 ($V_0 = \pi d_0^3/6$) y V son el volumen del nanogel no hinchado e hinchado, respectivamente. El tamaño de los nanogeles en un disolvente no compatible (estado no hinchado) y en un disolvente compatible (estado hinchado) puede determinarse mediante difusión de luz cuasielástica (QELS) y mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM).

La naturaleza del agua en el interior del gel y en la interfase con el mismo puede ser de gran importancia en algunas aplicaciones. Hay una gran evidencia para sugerir que el agua en los polímeros puede encontrarse en más de un estado y que estos estados del agua en los hidrogeles pueden también afectar a sus propiedades. Así, el agua presente en una red polimérica existe en una serie de estados cuyos dos extremos son: un estado de agua fuertemente asociada con la matriz polimérica a través de enlaces de hidrógeno (agua asociada o no libre) y un estado de agua con un alto grado de movilidad y que no se ve afectada por el entorno polimérico (agua no asociada o libre) (Figura 5). La proporción entre estos tipos de agua parece estar determinada principalmente por el contenido de entrecruzante del polímero. El aumento en la proporción de agua no asociada en el hidrogel da lugar a un empeoramiento de su resistencia mecánica, ya que ese agua va a actuar como si se tratara de plastificante, disminuyendo la temperatura de transición vítrea del sistema. Las propiedades de un hidrogel están, por consiguiente, fuertemente influenciadas tanto por su contenido de agua en el equilibrio como por la relación agua asociada/agua no asociada al gel.

Los hidrogeles formados a partir de monómeros hidrofílicos contienen mayores porcentajes de agua. Así, por ejemplo, el contenido de agua en el

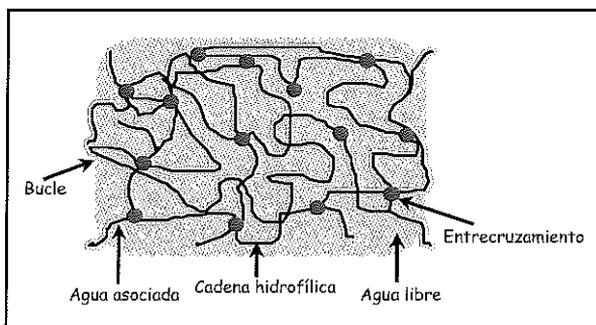


FIGURA 5. Esquema de los distintos tipos de agua presentes en un hidrogel.

equilibrio de copolímeros de metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) y N-vinil-2-pirrolidona (VP) aumenta al incrementarse el contenido de VP en el gel, obteniéndose porcentajes de fracción de hidratación de 38,3%p para hidrogeles con un 25%p de VP en la mezcla de polimerización y de 59,3%p para aquellos que contenían un 50%p de VP.

Otra variable que influye directamente en la capacidad de absorber agua de los hidrogeles es el grado de entrecruzamiento de los mismos. El incremento del contenido de agente entrecruzante disminuye el porcentaje de fracción de hinchamiento. Así por ejemplo, para los hidrogeles de PHEMA estos valores varían de 36%p a 29%p al incrementarse la cantidad de agente entrecruzante (EGDMA) desde 0,5%p a 5%p. Igualmente, el tipo de agente entrecruzante también influye en el contenido de agua en el equilibrio de hinchamiento, así por ejemplo, los hidrogeles de PHEMA entrecruzados con trimetacrilato de 1,1,1-trimetilolpropano (TPT) (1-5%p de TPT) alcanzan porcentajes de fracción de hinchamiento menores ($W = 27-23\%$) que aquellos entrecruzados con dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), en las mismas condiciones de síntesis.

Existen hidrogeles cuyo hinchamiento está condicionado por la temperatura y el pH del medio. Poli(N-isopropil acrilamida) (PNIPA) y sus copolímeros se han utilizado ampliamente en la preparación de hidrogeles sensibles a temperatura. El PNIPA entrecruzado tiene una temperatura de transición de volumen de fase (VPTT) o temperatura crítica inferior en disolución (LCST) de alrededor de 32 °C en medio acuoso. A temperaturas inferiores a su LCST, la matriz de PNIPA entrecruzada es superabsorbente y se hincha para formar un hidrogel, ya que prevalecen las interac-

ciones por puente de hidrógeno entre los grupos amida de PNIPA y las moléculas de agua, sobre las interacciones hidrófobas entre los grupos isopropilo de PNIPA. Cuando la temperatura aumenta por encima de la LCST, el hidrogel sufre un rápido colapso, como consecuencia de las interacciones entre los grupos hidrofóbicos del polímero, que prevalecen sobre las interacciones hidrófilas (Figura 6). La sensibilidad a la temperatura de los hidrogeles se debe al balance hidrofílico-hidrofóbico de las cadenas poliméricas que lo constituyen.

La sensibilidad de los hidrogeles y nanogeles al pH del medio se debe a la presencia de grupos funcionales ácidos o bases débiles en la estructura del polímero. La entrada de agua al hidrogel está condicionada por la ionización de los grupos funcionales, lo cual depende del pH y de la fuerza iónica del medio externo. Los geles que presentan grupos funcionales ionizables aniónicos, como el grupo carboxilato, presentan cargas negativas en la red para valores de pH superiores al pKa del grupo funcional en la red polimérica. Cuando el pH del medio de hinchamiento es superior al pKa del grupo funcional aniónico del gel, dichos grupos pueden disociarse y con ello aumentar la presión osmótica dentro de los nanogeles, lo que da como resultado un mayor hinchamiento. La repulsión electrostática de los grupos cargados de la matriz causa el hinchamiento al favorecer la entrada de moléculas de agua dentro de la red polimérica entrecruzada. Un ejemplo de este tipo de hidrogeles es el constituido por acrilamida y un derivado monosustituido del ácido itacónico, cuyo hinchamiento es significativamente superior a pH 7 que a pH 1,5. Por lo tanto, los geles

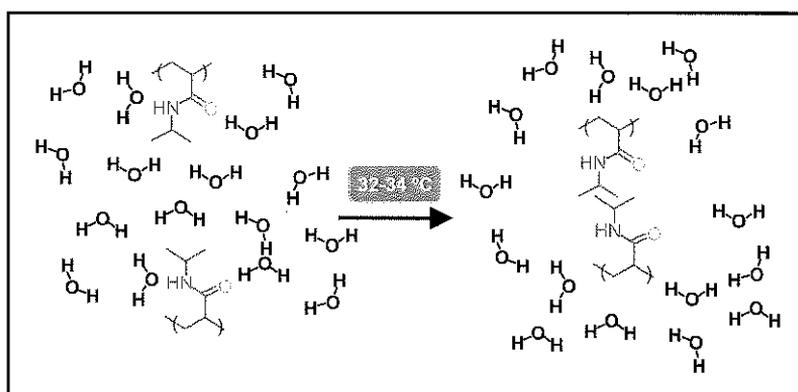


FIGURA 6. Variación del balance entre las interacciones hidrófilas e hidrófobas consecuencia de la temperatura en geles de PNIPA.

aniónicos presentan un comportamiento de hinchamiento en medio “básico” y de colapso en medio “ácido”. En el caso de los geles con grupos ionizables catiónicos, la ionización se produce para valores de pH inferiores al pKa del grupo funcional en la red polimérica. Esto se traduce en un comportamiento inverso al de los geles aniónicos; las nanopartículas catiónicas entrecruzadas se encuentran hinchadas cuando el pH del medio es inferior al pKa del grupo funcional catiónico, y contraídas a valores de pH superiores al mismo. Un ejemplo lo constituyen los geles copoliméricos de N-acrilóil-N'-metil piperazina y metacrilato de metilo (MMA) entrecruzados con dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), que se hinchan a pH ácido (pH = 2,6) debido a la protonación del grupo amina terciaria de la unidad de piperazina; mientras que a pH 7 el hinchamiento del gel es significativamente menor. Los geles sensibles a pH han suscitado mucho interés por sus potenciales aplicaciones en ámbitos tan distintos como la liberación específica de fármacos en distintas localizaciones del tracto gastrointestinal, o la eliminación de agentes contaminantes de aguas residuales.

II.1.2. Propiedades mecánicas

La resistencia mecánica representa la capacidad de un material para soportar la acción de una fuerza sin romperse y generalmente se caracteriza por el esfuerzo (de compresión o de tracción) que induce dicha ruptura. El comportamiento mecánico de los hidrogeles se puede describir mediante las teorías de elasticidad elastomérica y de viscoelasticidad, que se basan en la recuperación de la orientación y estructura de la cadena independiente o dependiente del tiempo, respectivamente. Las propiedades mecánicas debidas al comportamiento elastomérico del hidrogel se pueden determinar mediante medidas de resistencia a la tracción, mientras que el comportamiento viscoelástico se determina mediante análisis dinamo-mecánico.

Las medidas de compresión-deformación de los hidrogeles, permiten determinar sus propiedades mecánicas. El módulo de elasticidad de Young (E) puede obtenerse del valor de la pendiente de las representaciones de esfuerzo (τ), definido como la fuerza aplicada por unidad de área del gel, frente a la deformación, dada por la relación $\lambda - l$, donde λ es la relación de la longitud deformada (l) y la longitud no deformada (l_0) del

hidrogel. Estas representaciones son lineales en un intervalo específico de deformación, lo que posibilita la cuantificación del módulo de Young del hidrogel.

Mediante las medidas de esfuerzo-deformación, es posible determinar el módulo de compresión (G) por la relación:

$$\tau = G(\lambda - \lambda^{-2})$$

Una vez conocido el módulo de compresión, se puede determinar la densidad efectiva de entrecruzamiento (v_e), conociendo la fracción en volumen de polímero en el hidrogel (ϕ_2), a partir de la ecuación:

$$G = RTv_e\phi_2^{-1/3}$$

La densidad efectiva de entrecruzamiento es una cantidad experimental, a diferencia de la densidad teórica de entrecruzamiento (v_t), que vienen dada por:

$$v_t = \frac{Cf}{2}$$

donde C (mol dm^{-3}) es la concentración de agente entrecruzante y f es su funcionalidad o número de enlaces que establece la molécula entrecruzante con la cadena polimérica.

A partir de los valores de densidad efectiva de entrecruzamiento, se puede calcular la masa molar entre entrecruzamientos (M_c):

$$M_c = \frac{\rho}{v_e}$$

donde ρ es la densidad del hidrogel, que puede obtenerse a partir de su masa y volumen.

El parámetro de interacción polímero-disolvente (χ) también puede determinarse conociendo los valores de densidad efectiva de entrecruzamiento mediante la expresión:

$$\ln(1 - \phi_2) + \phi_2 + \chi\phi_2^2 + v_e V_1 (\phi_2^{1/3} - 2\phi_2 f^{-1}) = 0$$

donde V_1 es el volumen molar del agua ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1}$) a una temperatura específica.

Las propiedades mecánicas de los hidrogeles dependen, fundamentalmente, de su composición y estructura, y en muchas ocasiones son débiles, por lo que muchos de estos materiales no pueden emplearse en aplicaciones de carga como el reemplazamiento de tejidos dañados. Aunque la cantidad de agua absorbida en la matriz polimérica de un hidrogel juega un papel de suma importancia tanto en sus propiedades de difusión y permeabilidad como de biocompatibilidad, puede afectar negativamente en muchos casos a las propiedades mecánicas del mismo. Además, el estado del agua en el hidrogel también afecta sus propiedades mecánicas, ya que el aumento en la proporción de agua libre en el gel da lugar a un empeoramiento de su resistencia mecánica, ya que ese agua va a actuar a modo de plastificante, disminuyendo la temperatura de transición vítrea del sistema. Las estrategias para mejorar las propiedades mecánicas de los hidrogeles son, principalmente, el entrecruzamiento y la copolimerización con monómeros hidrófobos.

Hidrogeles muy hidrofílicos, como los constituidos por poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) entrecruzados con EGDMA (0,5 – 5%p), caracterizados por valores pequeños del parámetro de interacción χ ($\chi = 0,49 - 0,57$), presentan valores pequeños del módulo de Young (0,019 – 0,504 MPa), que mejoran al incrementarse el porcentaje de agente entrecruzante. La copolimerización de VP con un monómero hidrofóbico como el n-butyl acrilato (BA) mejora notablemente las propiedades mecánicas de los hidrogeles, cuyo módulo de compresión (G) aumenta al incrementarse la cantidad de BA en el hidrogel, desde 0,046 MPa para los hidrogeles con 2%p de BA hasta 0,256 MPa para aquellos con 60%p de BA, todos ellos entrecruzados con 1%p de TPT, lo que se corresponde con una disminución de su elasticidad ($E = 0,148 - 0,0829$ MPa). También en estos hidrogeles el incremento del agente entrecruzante disminuye la elasticidad, incrementando el módulo de compresión ($G = 0,439$ MPa para hidrogeles con 60%p BA y 2,5%p TPT), lo que se correlaciona con una mayor densidad efectiva de entrecruzamiento ($v_e = 0,115 - 0,195 \text{ mol/dm}^3$ para hidrogeles con 60%p BA y 1 – 2,5%p TPT, respectivamente) y por lo tanto con valores más pequeños de masa molar entre entrecruzamientos ($M_c = 9700 - 5700 \text{ g/mol}$ para hidrogeles con 60%p BA y 1 – 2,5%p TPT, respectivamente).

También el tipo de agente entrecruzante tiene un importante efecto en las propiedades mecánicas de los hidrogeles. Así, los hidrogeles copoliméricos de N-isopropilacrilamida (NIPA) y ácido acrílico (AA) tienen mejores propiedades mecánicas cuando se entrecruzan con N,N'-metileno bisacrilamida (BIS), que con glioxal bis(dialil acetal) (GLY). Para los hidrogeles con 10 mol% de AA, el módulo de compresión es 6,68 kPa cuando se entrecruzan con 2,5 mol% de BIS y 1,44 kPa cuando se hace con igual porcentaje de GLY. La contrapartida es que los hidrogeles entrecruzados con GLY exhiben hinchamientos mucho mayores. En la Tabla 3 se indican los valores de los parámetros de red de algunos hidrogeles

TABLA 3. Parámetros de red de algunos hidrogeles. ϕ_2 : fracción en volumen de polímero; v_t : densidad de entrecruzamiento teórica; v_e : densidad de entrecruzamiento efectiva; E : módulo de Young; G : módulo de compresión; M_c : masa molar entre entrecruzamientos; χ : parámetro de interacción polímero-agua.

Hidrogel	ϕ_2	v_t (mol · dm ⁻³)	v_e (mol · dm ⁻³)	E (kPa)	G (kPa)	M_c (g/mol)	χ
PVP-EGDMA 0,5%	0,039	62 · 10 ⁻³	10 ⁻³	19		216.000	0,491
PVP-EGDMA 5%	0,227	616 · 10 ⁻³	114 · 10 ⁻³	504		10.700	0,572
VP/BA (98/2)-TPT 1%	0,100	10 ⁻³	40,4 · 10 ⁻³	148	46	30.200	0,507
VP/BA (40/60)-TPT 1%	0,758	86,2 · 10 ⁻³	114,8 · 10 ⁻³	82,9	256	9.700	1,148
VP/BA (40/60)-TPT 2,5%	0,782	215,6 · 10 ⁻³	194,8 · 10 ⁻³	1.399	439	5.700	1,208
NIPA/AA (90/10)-BIS 2,5%	0,15	0,508	18,4 · 10 ⁻³	22	6,68	60,4	0,57
NIPA/AA (90/10)-GLY 2,5%	0,18	1,05	5,71 · 10 ⁻³	4,54	1,44	204	0,57

VP: N-vinil-2-pirrolidona; PVP: políPVP; EGDMA: dimetacrilato de etilenglicol; BA: acrilato de butilo; TPT: trimetacrilato de 1,1,1-trimetilolpropano; NIPA: N-isopropil acrilamida; AA: ácido acrílico; BIS: N,N'-metileno-bisacrilamida.

II.1.3. Permeabilidad

La permeabilidad de un hidrogel en un sistema acuoso es una característica de gran importancia que diferencia estos materiales de otros polímeros. El hecho de que el agua exista como una parte esencial de la matriz del gel implica que podría tener la capacidad de modular el transporte de especies solubles en ella.

Esta propiedad está determinada por el coeficiente de permeabilidad, P , que se calcula mediante la expresión:

$$P = DK_p$$

donde D es el coeficiente de difusión y K_p es el coeficiente de partición. Esta ecuación está basada en estudios que incluyen difusión de diversos gases y fármacos desde varias membranas poliméricas.

La permeabilidad de los hidrogeles a gases disueltos en agua ha sido muy bien estudiada. Cabe destacar los estudios de permeabilidad al oxígeno, que es de vital importancia en la aplicación de los hidrogeles para lentes de contacto. En un hidrogel, la permeabilidad a este gas se encuentra gobernada fundamentalmente por el contenido de agua en el equilibrio y por otros factores como son aquellos que condicionan la estructura de la matriz polimérica: el tipo de monómero o monómeros y el grado de entrecruzamiento, que determina el tamaño del poro de la matriz. Cuando los hidrogeles presentan un contenido en agua menor o igual al 30%, la permeabilidad al oxígeno depende de la estructura polimérica del gel, que condiciona, a su vez, la proporción de agua asociada y de agua no asociada, mientras que para un contenido superior al mencionado, la permeabilidad al oxígeno está en proporción logarítmica al contenido de agua del gel.

II.1.4. Biocompatibilidad

Tradicionalmente, el primer objetivo en la búsqueda de materiales para aplicaciones biomédicas ha sido la obtención de materiales biocompatibles. La definición original de un material biocompatible, que se refería a éste como material inerte al entorno fisiológico, ha sido modificada para incluir materiales que puedan interactuar con el entorno.

Prácticamente, todos los polímeros sintéticos siguen un proceso de polimerización completa llegando a ser químicamente inertes y esto hace posible su uso en Biomedicina. Pero este carácter inerte es relativo, incluso en polímeros de alto peso molecular, ya que la mayoría están contaminados con sustancias de bajo peso molecular, como el monómero residual, los catalizadores etc., que poseen la capacidad de difundir desde la matriz polimérica y reaccionar químicamente con las moléculas biológicas. Por tanto, la existencia de un material absolutamente inerte no es factible, pero un material se puede considerar biocompatible siempre que la respuesta fisiológica se mantenga dentro de unos límites aceptables.

En el campo de los polímeros, el término biocompatibilidad se refiere, por lo tanto, a dos aspectos diferentes pero que se encuentran directamente relacionados:

- La elevada tolerancia que han de mostrar los tejidos a ese agente extraño, fundamentalmente cuando el polímero va a ser implantado.
- La estabilidad química y, especialmente, física del material polimérico durante todo el tiempo en el que se encuentre en contacto con el organismo.

Desde que los hidrogeles se introdujeron en el campo de la biomedicina, ha quedado demostrado que poseen un gran potencial como biomateriales, debido a su buena biocompatibilidad. Esta característica se debe a que las propiedades físicas de los hidrogeles se asemejan a las de los tejidos vivos más que cualquier otra clase de biomateriales sintéticos, particularmente, en lo referente a su contenido en agua relativamente alto, su consistencia blanda y elástica y su baja tensión interfacial.

Aunque la presencia de agua embebida en el hidrogel no es una garantía de su biocompatibilidad, se acepta que esa elevada fracción de agua está relacionada estrechamente con su buena biocompatibilidad. Se ha relacionado la naturaleza del agua en los hidrogeles con sus propiedades biomédicas, y puesto que la biocompatibilidad de los mismos no es necesariamente una simple función del contenido de agua, es razonable sospechar que la naturaleza del agua en los geles y la interfase gel-agua son importantes. Por un lado, el agua no asociada actúa como un plastificante, un medio de transporte en la matriz polimérica para solutos disueltos en ella (como oxígeno, fármacos, etc.) y un puente entre las muy distintas energías superficiales de los hidrogeles sintéticos y los fluidos corporales. Por otro lado, la presencia de elevadas cantidades de agua en los tejidos biológicos, y la forma de organización molecular de la misma, hace sospechar que la estructura organizada del agua en los geles (agua asociada) tenga una profunda influencia en una amplia variedad de sus propiedades, como en los coeficientes de permeabilidad y difusión, en la interacción con proteínas plasmáticas y en la biocompatibilidad con la sangre y con los tejidos.

Es importante considerar la forma y la textura de los hidrogeles cuando van a ser utilizados para implantes. Las condiciones biomecánicas

creadas por el implante en los tejidos adyacentes dependen directamente de estas características. Se ha comprobado que existe una verdadera dependencia entre la forma del implante y la reacción inflamatoria, la cual disminuye a medida que las formas son más redondeadas. Sin duda alguna, la morfología en la superficie del implante es también un factor físico significativo que puede jugar un doble papel: primero, la rugosidad aumenta el área de contacto del material con el tejido adyacente y, por tanto, aumenta la intensidad de las reacciones químicas y físico-químicas; segundo, la presencia de superficies afiladas o con salientes hace que ese contacto sea más traumático. La posibilidad de que los hidrogeles puedan ser sintetizados en una amplia variedad de morfologías permite ajustar su uso específicamente a una aplicación determinada. Además, la consistencia blanda y elástica de los hidrogeles contribuye a su biocompatibilidad, por minimizar la irritación mecánica (friccional) de los tejidos circundantes.

Considerando todos estos factores anteriormente citados, cuando los hidrogeles entran en contacto con fluidos corporales y tejidos, biocompatibilidad significa que estos materiales no deben cambiar adversamente sus propiedades físicas, químicas y mecánicas; no deben dañar los tejidos ni causar reacciones tóxicas o alérgicas, ni tumores; no han de destruir las enzimas y proteínas plasmáticas, ni los elementos formes de la sangre (si están en contacto con ésta); no deben reducir los electrolitos de los tejidos o interferir en el metabolismo de los mismos; y por último, los hidrogeles no deben deteriorarse durante la esterilización con el resultado de cambios en las características físicas, químicas, mecánicas y superficiales.

III. APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LOS HIDROGELES

Los hidrogeles tienen numerosas aplicaciones en el campo de la biomedicina ya que, como se ha indicado, sus características pueden modularse en función de su composición y método de preparación. De esta forma, pueden obtenerse matrices con elevados grado de hinchamiento y que presenten propiedades mecánicas adecuadas a una aplicación específica, lo que junto a su característica de poder constituir dispositivos bioestables o biodegradables, hace de ellos elementos muy versátiles y con aplicaciones muy diversas.

III.1. Lentes de contacto e implantes oculares

Las lentes de contacto blandas son una de las aplicaciones más generalizadas de los hidrogeles. Las principales características de estas lentes son, por una parte, su comodidad, ya que se adaptan perfectamente a la curvatura del globo ocular, y por otra parte permiten que el oxígeno atmosférico alcance la córnea por disolución en el agua de la lente y posterior transporte por difusión, hasta alcanzar límites de permeabilidad próximos a los de una hipotética lente de agua destilada. En este sentido, los estudios realizados demuestran que existe una correlación entre el contenido de agua en el equilibrio de un hidrogel y su permeabilidad al oxígeno, así los hidrogeles copoliméricos de HEMA y VP con contenido de agua en el equilibrio de 80% presentan una elevada permeabilidad al oxígeno, algo superior a los hidrogeles copoliméricos de HEMA-VP-Estireno, cuyo contenido de agua en el equilibrio es próximo al 70%.

Las primeras lentes de contacto fueron desarrolladas a comienzos de los años sesenta por Otto Wichterle como consecuencia de sus trabajos con hidrogeles basados en glicolmetacrilatos, las que primero se comercializaron con éxito real fueron las de poli(2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA), cuyo contenido en agua era de un 38%. Posteriormente, algunas empresas desarrollaron diversos hidrogeles para lentes; dichos hidrogeles contenían varios monómeros como por ejemplo N-vinilpirrolidona (VP), ácido metacrílico (MA) metacrilato de metilo (MMA) o metacrilato de glicerilo (GM), entre otros, en el intento de conseguir materiales con elevado contenido en agua y adecuadas propiedades mecánicas, que les permitan resistir la fuerza del párpado, junto con una elevada permeabilidad al oxígeno (Tabla 4). La permeabilidad al oxígeno es un factor importante a la hora de que las lentes de hidrogel no generen una hipoxia localizada. Se considera que la transmisibilidad del oxígeno debe ser superior a 125×10^{-9} Dk/L para prevenir anoxia estromal en el ojo cerrado. Esto se consigue con hidrogeles de silicona que tienen valores de Dk de 140 (Lotrafilon A - CIBA Vision).

La sustitución del cristalino por una lente intraocular (IOL) transparente se ha convertido en parte integral de casi todas las operaciones de cataratas. Puesto que la implantación de la IOL se realiza mediante una pequeña incisión, se han desarrollado lentes que pueden doblarse, algunas de las cuales están formadas por hidrogeles de PHEMA (índice de refracción 1,44; contenido de agua 38%) o copolímeros de HEMA con metacri-

TABLA 4. Composición de algunas lentes de contacto.

Nombre comercial	Componentes principales	Contenido en agua (%)	Permeabilidad al oxígeno (DK)	Índice de refracción	Fabricante
Optima FW	Polymacon (HEMA)	38,6	$8,4 \times 10^{-11}$	1,43	Bausch & Lomb
Soflens66	Alphafilcon A (HEMA/VP/TBCM)	66	32×10^{-11}	1,39	Bausch & Lomb
Soflens	Hilafilcon A (HEMA/VP)	70	33×10^{-11}	1,38	Bausch & Lomb
Purevision	Batafilcon A (SVC/VP/VA)	36	99×10^{-11}	1,426	Bausch & Lomb
Focus	Nelfilcon A (PVA/NFMA)	69	26×10^{-11}	1,38	Ciba Vision
Cibasoft	Tefilcon (HEMA)	37,5	$8,9 \times 10^{-11}$	1,43	Ciba Vision
Focus Monthly Visitint	Vifilcon A (HEMA/EDMA/MAA)	55	$16,0 \times 10^{-11}$	1,415	Ciba Vision
Focus Night and Day	Lotrafilcon A [Fluoro-silicone hydrogel]	24	140×10^{-11}	—	Ciba Vision
Acuvue	Etafilcon A (HEMA/MAA)	58	28×10^{-11}	1,40	Vistakon
Horizon 55EW	Methafilcon A (HEMA)	55	$18,8 \times 10^{-11}$	1,41	Westcon Contact Lens
Proclear	Omafilcon (HEMA/MCOE-PC)	59	—	—	Biocompatibles International

lato de metilo (índice de refracción 1,47; contenido de agua 20%) o con 6-hidroxihexil metacrilato (índice de refracción 1,47; contenido de agua 18%), ya que hay evidencias de que los materiales hidrofílicos son menos dañinos para el endotelio corneal y producen menores niveles de respuesta inflamatoria.

El humor vítreo del ojo es un gel hidrofílico con un contenido en agua superior al 99%, formado por una red de colágeno y ácido hialurónico, que en algunas situaciones patológicas se hace disfuncional. Por este motivo, se han ensayado algunos hidrogeles como sustitutivos del humor vítreo del ojo, entre ellos hidrogeles de poli(N-vinil pirrolidona) (PVP), poliacrilamida (PA) o polivinil alcohol (PVA), aunque todavía no se ha conseguido un resultado realmente satisfactorio.

III.2. Apósitos para heridas y quemados

Los hidrogeles se utilizan para favorecer la regeneración de heridas ulcerosas y de las causadas por quemaduras, ya que crean un medio per-

manentemente húmedo en la herida, estimulando con ello la actividad celular en todas las fases de la cicatrización, además, absorben los exudados y secreciones. El ambiente húmedo que crea el hidrogel hace que se ablande y desprenda el tejido necrótico, favorece la regeneración del tejido en la fase de granulación, absorbiendo las secreciones, e igualmente crea un ambiente favorable a la división y actividad celular del tejido epitelial. Al mismo tiempo, este tipo de apósitos no se adhiere a la herida, lo que resulta beneficioso para el paciente. Así mismo, previenen la contaminación bacteriana de las heridas, pudiendo incluso incorporar algún antibiótico y, además, son permeables al oxígeno. Para lograr condiciones satisfactorias en el sitio de la herida, el apósito debe poseer una adecuada velocidad de transmisión de vapor de agua. Estudios en animales de experimentación confirman que los apósitos basados en hidrogeles inducen un aumento significativo en la velocidad de curación de la herida.

Numerosos laboratorios tienen comercializados apósitos de tipo hidrogel (Tabla 5), todos ellos caracterizados por su elevado contenido de agua en el equilibrio, superior en algunos casos al 95% en peso. En cuanto a su composición existe una gran variedad, están constituidos por: poliuretano,

TABLA 5. Principales componentes de algunos apósitos de hidrogel.

Nombre comercial	Principales componentes	Fabricante
Tenderwet	Poliacrílato	Hartmann
Hidrosorb	Poliuretano	Hartmann
Geliprem	Poliacrilamida/agar	Inibsa
Hyflex	Hypan® (Derivados de acrilato compuestos de secuencias de unidades con grupos hidrófilos y de secuencias de unidades con grupos nitrilo)	Hymedix
Aquatrix II	Hidrogeles basados en polisacáridos	Hydromer
Clear Hydrogel Films	Derivados de quitosano /PVP Polietilenimina/PVP	Veraco International
Hyalofill Jaloskin Hyalogran Hyalgin	Hyaff (Hidrogeles basados en ácido hialurónico)	Convatec, S.A.

poliacrilato, poliacrilamida y agar, polímeros entrecruzados derivados de acrilatos sustituidos con grupos amino y nitrilo, quitosano y poli(vinil pirrolidona), así como por derivados del ácido hialurónico con o sin alginatos.

Se están estudiando apósitos preparados a partir de esponjas de gelatina que incorporan factor de crecimiento epidérmico (EGF), para favorecer la proliferación celular y el proceso de regeneración epitelial, y que están entre membranas elastoméricas de poliuretano. Los estudios *in vivo* en conejos indican que estos apósitos promueven un mayor grado de regeneración en las áreas heridas. También se han preparado apósitos con compuestos anti-microbianos; estos apósitos tienen la capacidad de absorber el exudado de la herida gracias a una capa de hidrogel de carboximetil-quitosano, mientras que su capacidad anti-microbiana reside en el gluconato de clorhexidina impregnado en una capa de espuma de quitosano. Otros apósitos están constituidos por hidrogeles entrecruzados formados a partir de mezclas de poli(vinil pirrolidona) (PVP) con polietilenglicol (PEG) y agar. Así mismo, se ha preparado piel artificial basada en poli(metacrilato de 2-hidroxietilo) (PHEMA) para su uso en apósitos avanzados mediante la inclusión de fibras y tejidos en matrices blandas de PHEMA.

III.3. Prótesis de tejidos

Entre las aplicaciones de los hidrogeles como materiales para el reemplazamiento de tejidos, destaca su posible utilización para reemplazar el cartílago articular. La importancia de esta utilidad es evidente si consideramos los millones de personas que sufren enfermedades degenerativas de las articulaciones, lo que hace necesario disponer de tratamientos efectivos para reparar el cartílago dañado por procesos patológicos o por lesiones. Entre los posibles tratamientos se encuentra el reemplazamiento del cartílago mediante artroscopia, utilizando un material que mimetice al cartílago natural, que está constituido por una matriz de proteoglicanos, capaces de retener moléculas de agua debido a las cargas negativas de los glucosaminoglucanos presentes en su estructura; moléculas de agua que son eliminadas de la matriz cuando ésta se somete a presión, amortiguando de esta forma la fuerza ejercida sobre ella. Por este motivo, puede considerarse que, desde un punto de vista práctico, el cartílago funciona biomecánicamente como un hidrogel biológico físico-químicamente activo y especializado, y pueden utilizarse hidrogeles como sistemas modelo

para estudiar cuantitativamente la influencia del parámetro de hinchamiento intrínseco sobre el comportamiento de consolidación, y así obtener información acerca de los parámetros fundamentales que controlan las propiedades biomecánicas del cartílago articular.

Por lo expuesto anteriormente, se entiende que existe un claro interés por encontrar un material, con características de hidrogel, que pueda sustituir al polietileno (PE) que se utiliza en el reemplazamiento total o parcial del cartílago articular. En este sentido, investigadores de la Universidad de Kyoto han estudiado hidrogeles de poli(vinil alcohol) (PVA) con características mecánicas y de lubricación adecuadas, ya que estos hidrogeles tienen una capa de fluido más gruesa bajo presión que el polietileno (PE) y su factor de desgaste es aproximadamente cinco veces mayor que la de PE. En los estudios *in vivo*, tras mantener los implantes hasta cincuenta y dos semanas, no se mostró degeneración tisular en el tejido circundante y parece mejorarse la biocompatibilidad con respecto a los implantes de polietileno de peso molecular ultra alto (UHMWPE). Otros investigadores se han aproximado a la preparación de un material que sustituya a este tejido mediante la preparación de hidrogeles semi-interpenetrantes, con propiedades mecánicas que se asemejen a las del cartílago. También se han estudiado las características mecánicas, de fricción y desgaste de hidrogeles de poli(2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA) como posibles sustitutos del cartílago articular. Sin embargo, los hidrogeles más prometedores en esta aplicación parecen ser los de poli(vinil alcohol) (PVA), preparados mediante técnicas de congelación-descongelación, uno de los cuales se denomina SalubriaTM y su contenido en agua y características mecánicas se asemejan notablemente a las del cartílago articular.

Otros estudios se centran en el desarrollo de hidrogeles que incluyen fibras helicoidales de poli(etileno tereftalato), en un intento de simular fibras naturales de colágeno, para generar un material que presente características mecánicas próximas a las de los ligamentos y pueda utilizarse como reemplazamiento de tejido conectivo.

III.4. Ingeniería de tejidos y regeneración tisular

El objetivo de la ingeniería de tejidos es desarrollar partes del organismo como alternativa para el trasplante de tejidos y órganos. En este desa-

rollo es esencial disponer de un material de andamiaje que guíe la adhesión celular, el crecimiento y la formación tridimensional de nuevos tejidos. Recientemente, los hidrogeles se han explorado como materiales de andamiaje para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

Entre los posibles materiales que pueden utilizarse para la preparación de hidrogeles útiles en ingeniería de tejidos, están los polisacáridos. La formación de hidrogeles basados en polisacáridos puede obtenerse, de forma general, bien mediante enlaces de hidrógeno o bien por interacciones iónicas. Entre los primeros estarían los hidrogeles de agarosa y los de quitosano, y entre los segundos los de alginatos y carragenatos. El quitosano puede procesarse mediante congelación y liofilización de disoluciones ácidas del polisacárido en moldes adecuados, para formar estructuras porosas que puedan utilizarse en trasplante de células y regeneración tisular; ya que el tamaño y la orientación de los poros puede controlarse, y con ello las propiedades mecánicas de los andamiajes de quitosano. Una de las aplicaciones descritas para los hidrogeles basados en quitosano es en la ingeniería de tejidos del cartílago. También se han desarrollado hidrogeles de alginato entrecruzados iónicamente con carbonato cálcico, sulfato cálcico y D-glucono- δ -lactona, para generar matrices homogéneas, con adecuadas propiedades mecánicas que permiten la incorporación de células, concretamente osteoblastos, y su cultivo en tres dimensiones.

Con el fin de incrementar la adhesión celular o de favorecer una adhesión celular bioespecífica, se han preparado biomateriales sintéticos modificados con secuencias peptídicas que constituyen ligandos de adhesión celular. Siguiendo esta estrategia se han sintetizado hidrogeles de polietilenglicol diacrilato con acrililoil-polietilenglicol que llevan unido el tetrapéptido RGDS (Arg-Gly-Asp-Ser), y que incluyen TGF- β 1 (factor de crecimiento transformante- β 1) conjugado con polietilenglicol, ya que TGF- β aumenta la producción de proteínas de la matriz extracelular por las células del músculo liso vascular. Las células de músculo liso de la aorta torácica de ratas incluidas en el mencionado hidrogel crecen mejor que cuando se incluyen en hidrogeles equivalentes que carecen de TGF- β . Además este compuesto mejora significativamente las propiedades mecánicas del hidrogel.

Los avances realizados en la preparación de sistemas de liberación de fármacos basados en hidrogeles permiten diseñar sistemas de liberación

temporal que favorezcan la regeneración tisular. El objetivo es mimetizar los complejos sistemas biológicos de diferenciación celular, haciendo llegar a las células las señales precisas secuencialmente en el momento adecuado. Para los procesos de regeneración de tejidos que requieren la presentación secuencial de múltiples factores de crecimiento, los hidrogeles de polietilenglicol (PEG) pueden diseñarse de forma adecuada, de tal manera que las velocidades de liberación de múltiples señales bioquímicas estén de acuerdo con las necesarias para el desarrollo de nuevo tejido. A medida que avanza el conocimiento, se sabe que para el proceso de regeneración tisular son necesarias simultáneamente distintos tipos de células tales como células inflamatorias, inmunes y progenitoras del tejido específico. Un ejemplo típico es la regeneración de nervios periféricos, donde las células nerviosas migran hacia concentraciones crecientes de factores neurotróficos. Aunque los mecanismos exactos por los cuales múltiples tipos celulares son atraídos secuencialmente hacia el sitio de la herida, así como la interacción adecuada entre estos tipos celulares están actualmente bajo intensa investigación, se acepta de forma generalizada que la quimiotaxis juega un papel importante en la migración celular. Por lo tanto, sería beneficioso generar gradientes químicos en biomateriales para facilitar la migración y proliferación de las células huésped en el medioambiente del biomaterial. La presentación de señales bioquímicas reguladas especialmente en hidrogeles 3D se enfrenta a varios retos. Uno de ellos es la obtención de hidrogeles 3D con un patrón tridimensional preciso; para lo cual puede utilizarse la microscopía fotónica confocal laser de barrido (CLSM). Con esta técnica se ha conseguido obtener hidrogeles de agarosa fotolábiles con un patrón espacial del péptido RGD (Arg-Gly-Asp), que se ha unido covalentemente a zonas específicas del hidrogel, para favorecer la migración y adhesión celular. Los experimentos realizados con células, indican que se produce migración de neuronas y formación de neuritas solamente dentro de los canales RGD del hidrogel. De forma equivalente, se han sintetizado hidrogeles de PEG diseñados con gradientes bioquímicos que promueven la adhesión y migración; este diseño en forma de patrones específicos se consiguió mediante la formación de hidrogeles de PEG parcialmente entrecruzados, dentro de los que se incluyó por difusión derivados acrilato de las señales bioactivas; el siguiente paso consistió en utilizar la microscopía fotónica láser (CLSM) para entrecruzar el derivado acrilato de la molécula bioactiva, uniéndolo así al hidrogel de PEG. De esta forma se consiguen complejas geometrías en 3D con patrones específicos de señales bioquímicas inmovilizadas en los hidro-

geles. Sin embargo, todavía queda un reto importante que resolver, el hecho de que algunas de estas señales bioquímicas sólo son necesarias en un momento específico, y pueden ser perjudiciales si están de forma continua en contacto con las células. Por ejemplo, estudios recientes sugieren que la presencia persistente del motivo integrina RGD (Arg-Gly-Asp) impide la diferenciación condrogénica completa de células madre humanas mesenquimales (hMSCs) dentro de los hidrogeles. Este hecho parece confirmarse con los estudios realizados con hidrogeles de PEG que llevan covalentemente unido el motivo RGD mediante un enlace susceptible de hidrólisis enzimática, y que se han diseñado para incrementar la condrogénesis. La condrogénesis se evidenció mediante la producción de glucosaminoglucanos por parte de las células madre humanas mesenquimales (hMSCs) encapsuladas en el hidrogel, una vez que se eliminó el motivo RGD. Por lo tanto, el diseño de una nueva generación de hidrogeles bioactivos de los que se puedan eliminar selectivamente las señales bioquímicas facilitará en gran manera la diferenciación de células madre y la regeneración tisular.

III.5. Sistemas de liberación controlada de fármacos

La eficacia del principio activo de un producto farmacéutico depende, en gran medida, de su forma de dosificación, es decir, de su biodisponibilidad. Actualmente se acepta de forma general que la actividad farmacológica de un compuesto no es, en sí misma, suficiente para asegurar una buena terapia, sino que un efecto terapéutico óptimo depende de sistemas de dosificación adecuados, del tipo de formulación y de la selección de un sistema de liberación específico para el fármaco.

La eficacia de un fármaco en una aplicación específica requiere el mantenimiento de unos niveles apropiados de concentración (generalmente plasmática) de dicho compuesto durante un periodo de tiempo más o menos prolongado (Figura 7). Sin embargo, la administración convencional de fármacos proporciona, en la mayoría de los casos, un control muy pobre de las concentraciones de dichas sustancias en plasma, ya que dan lugar a variaciones en la concentración del producto bioactivo una vez que se ha aplicado una dosis determinada. Los sistemas convencionales de dosificación pueden dar lugar a periodos alternativos de ineficacia o de toxicidad. Estos inconvenientes han exigido el desarrollo de nuevas

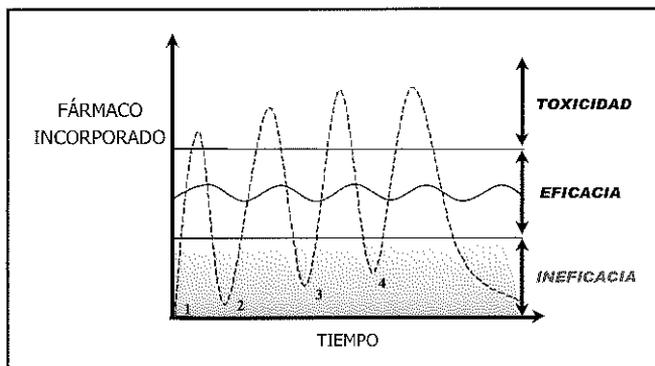


FIGURA 7. Comparación de los niveles plasmáticos de un fármaco administrado mediante un sistema de liberación controlada y mediante cuatro dosis consecutivas del fármaco en disolución.

técnicas de administración de compuestos bioactivos, encaminadas a conseguir que con una única dosis la concentración del fármaco en el organismo (o mejor aún en su lugar de acción) se mantenga fuera de los límites extremos de ineficacia y de toxicidad, durante el periodo de tiempo adecuado.

Los sistemas de liberación controlada de fármacos permiten la liberación de un fármaco durante un periodo dilatado de tiempo o en un momento específico del tratamiento. Además, mediante estos sistemas, el fármaco puede liberarse en su sitio de acción en el organismo, con lo que se consigue disminuir los efectos adversos del mismo y también evitar barreras biológicas que le impidan acceder a su lugar de acción. Entre los posibles sistemas de liberación de fármacos, los hidrogeles han sido ampliamente estudiados para tal fin debido a su excelente capacidad de absorber agua y a que sus características de hinchamiento y permeabilidad les capacitan para sufrir cambios estructurales en respuesta a distintos estímulos físicos, químicos o biológicos, por lo que se les ha denominado sistemas de liberación de fármacos con respuesta a estímulos, o simplemente “inteligentes”.

Robert Langer (Albany, NY, 1948) está considerado el padre de la liberación inteligente de fármacos, por el desarrollo de novedosos materiales biomiméticos en forma de polímeros, nanopartículas o chips, que posibilitan la distribución controlada de fármacos por el cuerpo humano.

El Profesor Langer se licenció en Ingeniería realizando sus estudios postdoctorales en Medicina. Esto marcó su rumbo de futuras investigaciones, situadas en la frontera entre la ciencia de materiales y la biotecnología. El Profesor Langer, que dirige un prestigioso grupo de investigación en el MIT (Instituto de Tecnología de Massachusetts), es reconocido por la comunidad científica como uno de los investigadores más innovadores e interdisciplinarios, y ha recibido numerosos galardones, entre ellos el Premio Príncipe de Asturias en Investigación Científica y Técnica 2008.

III.5.1. Características Generales

Los hidrogeles cargados con una sustancia activa (Tabla 6) son especialmente útiles para la administración de dicha sustancia en regiones accesibles del organismo, como la región bucal, nasal, vaginal, así como para la administración oral o transdermal. También pueden situarse subcutáneamente o en las inmediaciones del sitio de acción del compuesto bioactivo, o administrarse por vía intravenosa cuando se trata de nanogeles.

La inclusión de un fármaco o sustancia activa en un hidrogel puede llevarse a cabo de dos formas. Una de ellas es mediante métodos físicos, bien introduciendo el gel seco (xerogel) en una solución concentrada de fármaco, seguido de la deshidratación del hidrogel una vez que ha alcanzado el equilibrio de hinchamiento es decir, por equilibrio de partición; o bien, si el fármaco es suficientemente estable en las condiciones de síntesis requeridas, incluyéndolo en la mezcla inicial de polimerización, para obtener así directamente el gel cargado con el fármaco. La segunda forma de inclusión de una sustancia en un hidrogel emplea mecanismos químicos, consistentes en la inmovilización de la sustancia en la matriz del hidrogel mediante la formación de enlaces tipo éster, anhídrido o amida, que posteriormente se hidrolizan en medio acuoso, consiguiéndose así la liberación del fármaco.

La liberación de un fármaco disperso en un hidrogel, el cual se encuentra inicialmente en estado deshidratado (xerogel), se produce mediante difusión del fármaco desde y a través de la matriz polimérica, inicialmente en estado vítreo, por difusión a contracorriente de agua o flui-

TABLA 6. Fármacos liberados desde diferentes hidrogeles.

HIDROGEL	FÁRMACO
Poli(2-hidroxietyl metacrilato) (PHEMA)	Tiamina HCl Ácido L-ascorbico Citarabina 5-Fluorouracilo
Poli(2-hidroxietyl metacrilato-co-acrilamida) [p(HEMA-co-A)]	5-Fluorouracilo Citarabina
Poli(2-hidroxietyl metacrilato-co-metil metacrilato) [p(HEMA-co-MMA)]	Theofilina, Oxprenolol, Buflomedil, Vitamin B ₁₂ , Inulina, Mioglobina
Poli(2-hidroxietyl metacrilato-co-N-vinil-2-pirrolidona) [p(HEMA-co-VP)]	Citarabina
Poli(2-hidroxietyl metacrilato-co-N,N'-dimetil-N-metacrilatoxietyl-N-(3-sulfopropil) amonio) [p(HEMA-co-SPE)]	Salicilato sódico
Poli(metil metacrilato-co-dimetilaminoetyl metacrilato) [p(MMA-co-DMAEMA)]	Aminopirine, Cafeina, Theobromina
Poli(etilacrilato metil metacrilato) (Eudragit)	Metoprolol tartrato
Poli(ácido acrílico-co-acrilamida) [p(AA-co.A)]	Methotrexato
Poli(acrilamida-co-monometil itaconato) [p(A-co-MMI)]	5-Fluorouracilo Citarabina
Poli(ácido acrílico-co-n-alkil metacrilato)	Teofilina, Aminofilina
Poliacrilamida modificada-g-goma guar	Ditiazem, Nifedipina
Poli(acriloil-L-prolina-metil ester)	Gentamicina, Isoniazida, Insulina
Poli(metacrilato de inulina-co-bis(metacriloilamino) azobenzeno-co-2-hidroxietyl metacrilato) [p(MA-IN-co-BMAAB-co-HEMA)]	Prednisolona
Poli(óxido de etileno) (PEO)	Ácido salicílico
Poli(etilenglicol) diacrilato (PEGDA)	Albúmina sérica bovina (BSA)
Quitosano	Capsaicina, Nomivamida
Quitosano /Poli(N-vinil-2-pirrolidona)	Amoxicillina

dos biológicos. Cuando el xerogel cargado con el fármaco se pone en contacto con el medio acuoso, el agua penetra en la matriz y el gel comienza a hincharse, disminuyendo la temperatura de transición vítrea del polímero y alcanzando un estado elastomérico, lo que aumenta la permeabilidad del polímero al fármaco y le permite difundir al exterior.

Para interpretar la cinética de hinchamiento de un hidrogel, así como la de liberación de un fármaco desde un hidrogel, se ha utilizado el concepto de que la entrada de agua en hidrogeles vítreos presenta un comportamiento comprendido entre difusión Fickiana y Caso II. El comportamiento Fickiano o no-Fickiano, tanto para el hinchamiento como para la liberación del fármaco, depende de la velocidad de relajación del polímero en la transición vítreo-elastomérico en la interfaz de hinchamiento. Para caracterizar los distintos tipos de difusión de soluto en polímeros, se puede utilizar la siguiente ecuación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n$$

donde M_t y M_∞ la masa de agua que ha penetrado a un tiempo t y a tiempo infinito en los experimentos de hinchamiento. En los experimentos de liberación de fármacos, M_t y M_∞ son la cantidad de fármaco liberado a tiempo t y la máxima cantidad de fármaco liberada, respectivamente; k es una constante que incorpora las características estructurales y geométricas del sistema, y n es el coeficiente de difusión que determina el mecanismo de liberación. Para sistemas con geometría de pastilla, $n = 0,5$ representa un mecanismo de difusión Fickiana, en este caso la liberación del fármaco está controlada por difusión; mientras que cuando $n = 1$ la liberación del fármaco es independiente del tiempo, corresponde a una cinética de orden cero, y se denomina transporte Caso II. En este caso la liberación del fármaco está controlada por hinchamiento. Valores de n entre 0,5 y 1 corresponden a un transporte anómalo, e indican que la liberación del fármaco se produce tanto por mecanismos controlados por difusión como por hinchamiento. En el caso de dispositivos poliméricos con geometrías en forma de esfera o de cilindro, $n = 0,43$ (esfera) o 0,45 (cilindro) indica difusión Fickiana, mientras que $n = 0,85$ (esfera) o 0,89 (cilindro) corresponde a un mecanismo de liberación de fármaco de transporte Caso-II; el transporte anómalo vendría indicado por valores intermedios de n .

Cuando los sistemas presentan una difusión Fickiana, la solución de la forma diferencial de la Ley de Fick, considerando una difusión unidimensional desde una fase gel muy fina con geometría de pastilla y coeficiente de difusión constante (D), es:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} \exp \left\{ \frac{-D(2n+1)^2 \pi^2 t}{h^2} \right\}$$

donde h es el grosor del hidrogel en estado deshidratado y t es el tiempo.

Esta ecuación, para las primeras etapas de liberación, puede aproximarse a la siguiente expresión reducida:

$$\frac{M_t}{M_\infty} \approx 4 \left(\frac{Dt}{\pi h^2} \right)^{1/2} \quad \frac{M_t}{M_\infty} \leq 0,6$$

Un criterio de comportamiento Fickiano radica en que la representación de M_t/M_∞ versus $t^{1/2}$ sea lineal hasta el 60% de liberación.

Los coeficientes de difusión también pueden calcularse a partir de la aproximación para las últimas etapas de liberación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left[\left(\frac{8}{\pi^2} \right) \exp \left(\frac{-\pi^2 Dt}{h^2} \right) \right] \quad \frac{M_t}{M_\infty} \geq 0,4$$

Esta ecuación es más apropiada para determinar coeficientes de difusión de fármacos de elevado peso molecular.

Se han determinado valores del exponente de difusión n próximos a 0,50 para el hinchamiento de hidrogeles de poli(2-hidroxietil metacrilato-co-acrilamida) [p(HEMA-co-A)], así como para el de poli(2-hidroxietil metacrilato-co-metil metacrilato) [p(HEMA-co-MMA)], entre otros. En general, el incremento del monómero hidrofílico en un hidrogel copolimérico da lugar a coeficientes de difusión de mayor valor, como corresponde a un hinchamiento más rápido, así por ejemplo los hidrogeles con 80%p de HEMA y 20%p de A, entrecruzados con 5%p de EGDMA, tienen coeficientes de difusión para el hinchamiento en suero salino (NaCl 0,9%p) de $9,27 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ($9,27 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), mientras que para los

hidrogeles con 60%p de HEMA y 40%p de A, con igual porcentaje de agente entrecruzante, el coeficiente de difusión es de $15,0 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ($15,0 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$). El incremento del monómero hidrofóbico (MMA) en los geles copoliméricos de p(HEMA-co-MMA) disminuye el valor del coeficiente de difusión para la entrada de agua, cuyo valor es de $3,03 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para las muestras con 75% mol de HEMA, y de $1,78 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para aquellos con 60% mol de HEMA.

La liberación de un fármaco desde un hidrogel está determinada por las características físicas y químicas de la matriz polimérica y por la naturaleza del fármaco incluido. En general, el incremento de monómero hidrofílico en un copolímero favorece la liberación del fármaco, y la disminución del tamaño de poro de la matriz, producida por un aumento del entrecruzamiento, ralentiza la liberación, lo que se traduce en valores más pequeños del coeficiente de difusión del fármaco. La naturaleza química del fármaco también condiciona los valores del coeficiente de difusión, así por ejemplo la liberación de citarabina desde hidrogeles de poli(acrilamida-co-monometil itaconato) [p(A-co-MMI)], específicamente desde la composición 75A/25MMI, presenta valores de coeficiente de difusión de $8,25 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, mientras que el coeficiente de difusión para la liberación de 5-fluorouracilo, desde los mismos hidrogeles, es de $13,3 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Un completo estudio del efecto del tamaño de diferentes fármacos en el valor de su coeficiente de difusión desde diferentes hidrogeles ha sido realizado por el grupo del profesor Nicholas Peppas en la Universidad Austin en Texas.

III.5.2. Hidrogeles con respuesta a estímulos

Puesto que los hidrogeles pueden sintetizarse a partir de monómeros que les confieren sensibilidad a diferentes estímulos medioambientales, esta característica puede utilizarse para liberar fármacos o compuestos bioactivos incluidos en los hidrogeles en respuesta a esos estímulos.

Los polímeros con respuesta a estímulos mimetizan los sistemas biológicos, donde un estímulo externo (por ejemplo cambio de pH o temperatura) genera un cambio en sus propiedades. Este hecho puede consistir en un cambio en conformación, en solubilidad, modificación del balance hidrofílico/hidrofóbico o liberación de una molécula bioactiva. También puede producirse una combinación de respuestas al mismo tiempo.

En Medicina, los polímeros con respuesta a estímulos (Figura 8) tienen que exhibir sus propiedades de respuesta dentro de los márgenes de las condiciones biológicas. Los estímulos más típicos son temperatura, pH, campo eléctrico, luz, campo magnético o concentración de algún metabolito (por ejemplo glucosa).

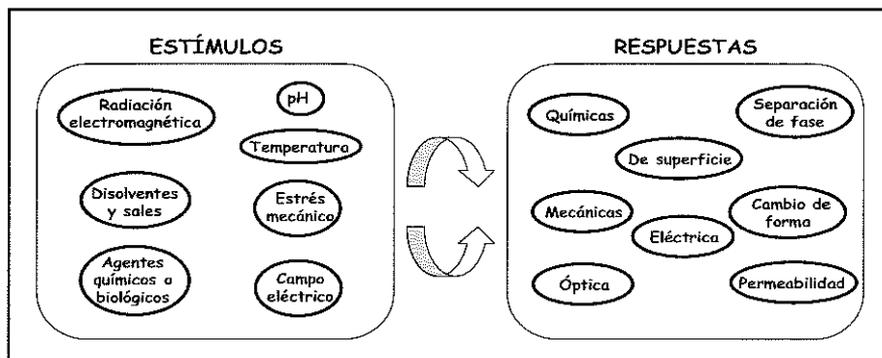


FIGURA 8. Potenciales estímulos y respuestas de polímeros sintéticos.

Hidrogeles con respuesta a cambios de temperatura

Uno de los estímulos a los que puede ser sensible un hidrogel es a la temperatura. Ilmain y colaboradores han clasificado las transiciones en volumen de fase de acuerdo con la naturaleza de las fuerzas intermoleculares en los hidrogeles; y considerando sólo aquellas de relevancia en el medioambiente biológico, pueden citarse las siguientes:

1. Interacciones de Van-der-Waals: estas interacciones producen transición de fase en geles hidrófilos en mezclas disolventes, tales como un gel de acrilamida en una mezcla acetona-agua. El disolvente no polar es necesario para disminuir la constante dieléctrica del disolvente.
2. Interacciones hidrofóbicas: los geles hidrofóbicos como N-isopropilacrilamida (NIPA), sufren una transición de fase en agua, desde un estado hinchado a baja temperatura a un estado colapsado a elevada temperatura.
3. Puentes de hidrógeno con cambio hacia interacciones iónicas: los geles con puentes de hidrógeno cooperativos, tales como las redes poliméricas interpenetrantes (IPN) de poli(ácido acrílico) y poli(acrilamida) sufren una transición de fase en agua pura, con

un estado hinchado a elevada temperatura. Las interacciones iónicas repulsivas determinan la temperatura de transición y el cambio de volumen durante la transición.

4. Interacciones iónicas atractivas: estas interacciones son responsables de la transición de fase conducida por pH, tales como en los geles de acrilamida-acrilato sódico/metacrilamida propiltrimetil cloruro amónico.

Los polímeros y los hidrogeles con repuesta a cambios de temperatura presentan una transición de volumen de fase a una temperatura específica, que causa un rápido cambio en el estado de solvatación. Los polímeros que se hacen insolubles con el incremento de la temperatura, tienen una temperatura crítica inferior de disolución (LCST). Los sistemas que se hace solubles con el aumento de la temperatura presentan una temperatura crítica superior de disolución (UCST). Los sistemas LCST y UCST no se restringen a medioambientes acuosos, sin embargo, sólo los sistemas acuosos tienen interés en aplicaciones biomédicas. El cambio en el estado de hidratación, que causa la transición de volumen de fase, refleja que las propiedades dependen de una competencia en la formación de los puentes de hidrógeno, donde los puentes de hidrógeno intra- e intermoleculares de las moléculas de polímero están favorecidos en comparación a una solubilización en agua. Este hecho puede explicarse termodinámicamente mediante un balance entre los efectos entrópicos debidos al proceso de disolución en sí mismo y los debidos al estado ordenado de las moléculas de agua en la vecindad del polímero. Los efectos entálpicos son debidos al balance entre fuerzas intra- e intermoleculares y debidos a la solvatación, es decir puentes de hidrógeno e interacciones hidrófobas.

Polímeros típicamente LCST están basados en monómeros de N-isopropilacrilamida (NIPA), N,N-dietilacrilamida (DEAM) o metilvinileter (MVE). Un sistema típico UCST es el basado en la combinación de acrilamida y ácido acrílico (Tabla 7).

La mayoría de las aplicaciones de estos polímeros utilizan el cambio de temperatura ambiente (22-25 °C) a temperatura corporal (37 °C) para inducir un cambio en las propiedades físicas, por ejemplo gelación, especialmente en aplicaciones tópicas y en inyectables. El cambio en propiedades de superficie de hidrogeles utilizados en cultivos celulares puede conseguirse con estos sistemas mediante el cambio de hinchado a colapsado inducido por la temperatura.

TABLA 7. Polímeros con comportamiento LCST y UCST en el intervalo de temperatura interesante para aplicaciones biomédicas.

Transición de Fase del Polímero	Temperatura en disolución acuosa
Comportamiento LCST	
PNIPAM	30-40 °C
Poly(N,N-diethylacrylamide)	32-34 °C
Poly(methyl vinyl ether)	37 °C
Poly(N-vinylcaprolactam)	30-50 °C
PEO-b-PPO (Pluronic, Poloxamer)	20-85 °C
Poly(GVGVP)	28-30 °C
Comportamiento UCST	
PAAm/PAAc IPN	25 °C

Ejemplos de hidrogeles termosensibles son los de poli(acrilóil-L-prolina-metil ester) [p(A-ProOMe)], que se han empleado para liberar gentamicina, utilizada en el tratamiento de enfermedades infecciosas, isoniazida, para el tratamiento de la tuberculosis, e insulina, para el tratamiento de la diabetes. El hinchamiento o colapso de los hidrogeles juega un papel relevante en la liberación de fármacos de elevado peso molecular; así, en el caso de la insulina la liberación está determinada por las propiedades de sensibilidad a la temperatura del hidrogel; sin embargo, estas propiedades no permiten el control de la liberación de compuestos de bajo peso molecular, como gentamicina o isoniazida. Existen otros compuestos que también se han liberado desde hidrogeles termosensibles, tal es el caso de estreptoquinasa, agente antitrombótico utilizado en el tratamiento de pacientes que han sufrido un ataque cardíaco, desde copolímeros de bloque de poli(N-isopropil acrilamida) (PNIPA) y poli(ácido metacrílico) (PMAA). Así mismo, la hormona calcitonina se ha liberado desde hidrogeles de poli(N-isopropilacrilamida-co-butilmetacrilato-co-ácido acrílico), que responden a cambios de pH y temperatura.

Hidrogeles con respuesta a cambios de pH

Algunos de los hidrogeles sensibles a temperatura también son sensibles a pH. La sensibilidad de los hidrogeles al pH se debe a la presencia de grupos funcionales ácidos o bases débiles en la cadena polimérica. Los

grupos ionizables más comunes son ácidos carboxílicos, ácido fosfórico y aminas. Polímeros ionizables con valores de pKa entre 3 y 10 son candidatos adecuados para sistemas con respuesta a pH. La variación del pH induce un cambio de ionización en los grupos susceptibles. Esto conduce a un cambio conformacional en los polímeros solubles y a un cambio en el comportamiento de hinchamiento cuando estos grupos ionizables están unidos en una matriz polimérica.

Además de los cambios en pH en el tracto gastrointestinal, desde el ácido del estómago (pH 2) al básico en el intestino (pH 7-8), también existen diferentes pH en distintos tejidos o en diferentes orgánulos celulares (Tabla 8). Ciertos cánceres así como tejidos inflamados o con heridas presentan un valor de pH diferente a 7,4. Por ejemplo, algunas heridas crónicas tienen un pH entre 7,4 y 5,4, y algunos cánceres presentan un medioambiente extracelular acidificado. Por otra parte, compartimentos intracelulares como los lisosomas poseen pH ácido, y cuando se forman endosomas el pH está en el intervalo 5-6,2. Estos cambios de pH pueden utilizarse para liberar selectivamente un compuesto en una determinada localización tisular o celular, mediante su encapsulación en un sistema polimérico sensible a pH.

TABLA 8. pH de diversos tejidos y compartimentos celulares.

Tejido/Compartimento celular	pH
Sangre	7,35-7,45
Estómago	1,0-3,0
Duodeno	4,8-8,2
Colon	7,0-7,5
Endosoma primario	6,0-6,5
Endosoma secundario	5,0-6,0
Lisosoma	4,5-5,0
Golgi	6,4
Tumor, extracelular	7,2-6,5

Por lo tanto, en muchos casos se han diseñado hidrogeles para la liberación de sustancias en zonas del organismo con pH característicos,

como el estómago, donde el pH es muy ácido, o el intestino, cuyo pH es neutro o básico. Así, clorhidrato de diltiazem y nifedipina, dos fármacos antihipertensivos, se han liberado desde hidrogeles entrecruzados de goma guar injertados con poliacrilamida (pAAm-g-GG) en fluidos gástricos simulados y en condiciones de pH intestinal, observándose que la liberación fue más rápida en pH 7,4 que en un medio ácido. Un hidrogel sensible a pH cuyo máximo hinchamiento se produce bajo condiciones ácidas es el gel semi-interpenetrante basado en quitosano/polivinil pirrolidona, el cual se ha estudiado como dispositivo para liberar el antibiótico amoxicilina en las condiciones ácidas del estómago.

Hidrogeles con respuesta a moléculas específicas

Otros hidrogeles se han diseñado incorporando distintos compuestos, generalmente enzimas, que les permiten responder a moléculas específicas. Así, se han sintetizado hidrogeles de poli(dietilaminoetil-g-etilenglicol) [p(DEAEM-gEG)] que contienen glucosa oxidasa inmovilizada, lo que les confiere sensibilidad a la glucosa. En estos geles también se ha inmovilizado la catalasa, con el fin de disminuir la cantidad de peróxido de hidrógeno formado en la reacción de la glucosa oxidasa y que se incrementa la cantidad de oxígeno disponible para la formación de ácido. Las enzimas son activas en los geles y producen un medio ambiente ácido dentro del hidrogel que origina el hinchamiento de la matriz polimérica. La finalidad de estos sistemas es lograr una liberación controlada de insulina mediante retrocontrol, de tal forma que se pueda controlar la liberación de insulina embebida en los geles mediante cambios en el hinchamiento de los mismos modulados por glucosa.

Se han diseñado otros sistemas que responden, por ejemplo, a calcio, tal es el caso de una matriz de almidón-celulosa que contiene α -amilasa, y cuya degradación se produce en presencia de calcio, lo que permite la liberación de los fármacos incorporados en la matriz. También se han sintetizado hidrogeles basados en polivinil alcohol (PVA) que liberan antibióticos solamente en presencia de infección, debido a que son sensibles a trombina. Otro sistema para la liberación de fármacos o sustancias bioactivas consiste en un hidrogel con respuesta a antígenos formado por poliacrilamida injertada con un anticuerpo.

III.5.3. Rutas de liberación de fármacos

Muchos de los hidrogeles que se han diseñado para la liberación controlada de fármacos pretenden la administración de los mismos a través de diferentes rutas, por ejemplo oral, nasal, vaginal, subcutánea o transdermal.

La **administración oral** de fármacos mediante hidrogeles es una de las rutas que más interés ha despertado entre los investigadores (Figura 9), que han abordado esta forma de administración, principalmente, mediante dos estrategias. Una de estas estrategias es el desarrollo de *hidrogeles mucoadhesivos* que interaccionen con el mucus como resultado de interacciones físicas y enlaces secundarios, principalmente a través de puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, debidos a la presencia de grupos hidroxilo, carboxilo, amina y amida en la superficie de la matriz polimérica, prolongando de esta forma el tiempo de residencia de la forma de dosificación en el sitio de absorción.

La segunda estrategia desarrollada para la administración oral de fármacos mediante hidrogeles se basa en la *sensibilidad de éstos a los cam-*

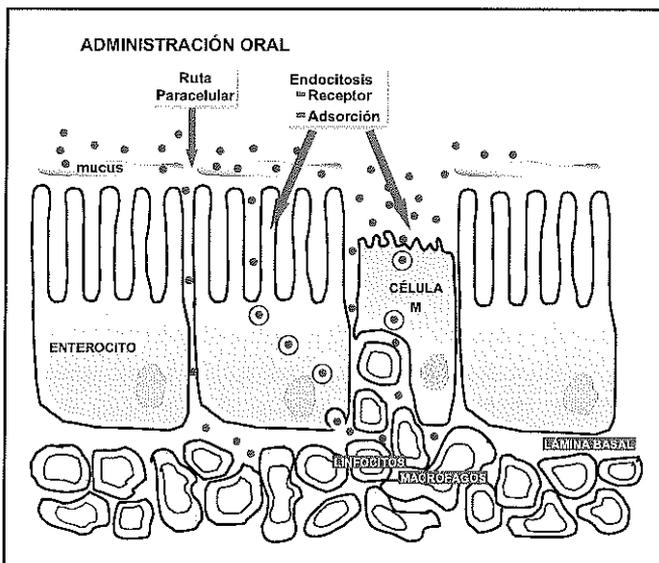


FIGURA 9. Rutas de entrada de nanotransportadores a través del epitelio intestinal tras su administración oral.

bios de pH de las distintas zonas del tracto digestivo, que les permiten hincharse a pH ácido o básico y liberar el compuesto bioactivo en zonas como el estómago o el intestino.

Otra aproximación para hacer específica la administración oral de fármacos mediante hidrogeles, ha consistido en el diseño de sistemas para la *liberación de fármacos en el colon, aprovechando la presencia de bacterias específicas*, que forman parte de la flora bacteriana, en esta región. Estas bacterias secretan enzimas capaces de hidrolizar algunos polisacáridos, como dextrano o inulina, y también son capaces de reducir los azocompuestos. Estos geles azo-inulina y azo-dextrano pueden ser hidrolizados específicamente por inulinasa y dextranasa, respectivamente, en el colon.

La utilización de la **cavidad bucal** para situar dispositivos de liberación controlada de fármacos permite obviar el metabolismo de primer paso y evita la degradación del fármaco en el tracto gastrointestinal. Con esta finalidad, se han preparado parches bucales de Eudragit, un copolímero neutro de poli(etilacrilato-co-metilmacrilato), con polímeros hidrofílicos que le confieren bioadhesividad, para la liberación controlada de metoprolol, un fármaco β -bloqueante para el tratamiento de la hipertensión. La liberación de metoprolol se modifica por la adición de los polímeros hidrofílicos, debido a la capacidad de éstos de absorber agua.

Se han estudiado diversos **materiales que promuevan la bioadhesión con la mucosa**. La bioadhesividad de microesferas de quitosano y de microesferas de almidón se ha estudiado tras **administración nasal** en humanos, con el fin de caracterizarlas como sistemas bioadhesivos de liberación nasal. Los estudios indican que estos sistemas pueden reducir la velocidad de aclaramiento desde la cavidad nasal aumentando notablemente el tiempo de contacto entre el sistema de liberación y dicha cavidad. También se han estudiado las características de adhesión de hidrogeles polianfólicos formados por mezclas de quitinas deacetiladas y O-carboximetiladas, observándose que dichas características están gobernadas por el contenido acuoso de estos hidrogeles, presentando mayor fuerza de adhesión los de menor contenido en agua.

Las propiedades bioadhesivas de hidrogeles de poli(N,N-dimetilaminoetil metacrilato-co-metil metacrilato) [p(DMA/MMA)] entrecruzados

con divinilbenceno (DVB) se han estudiado *in vitro* usando mucosa gástrica, sublingual, vaginal e intestinal de cerdo. Estos geles polibásicos hidrofóbicos presentan buenas propiedades adhesivas en todas las mucosas estudiadas, lo que les hace candidatos para la liberación controlada de fármacos en estas localizaciones.

Debido al recambio propio de la capa de mucus de la superficie de la mucosa, que en algunos tejidos como el intestino es muy rápido, la adhesión de los dispositivos mucoadhesivos de liberación de fármacos se ve dificultada. Esa situación, junto con la inespecificidad de adhesión de estos dispositivos, ha hecho que se esté investigando en el desarrollo de sistemas de liberación que incluyan lectinas y moléculas tipo lectina, las cuales puedan interactuar directamente con la membrana celular, de tal forma que se produzca una citoadhesión independiente del recambio del mucus.

Otra ruta de administración de fármacos empleando hidrogeles se realiza mediante implantación **subcutánea**. En este caso, la cantidad de agua del hidrogel es un factor importante a la hora de considerar su biocompatibilidad, ya que cuanto mayor sea ésta más se asemeja el hidrogel a los tejidos del individuo. La presencia o ausencia de una fina capsula fibrosa alrededor de las pastillas de hidrogel subcutáneamente implantadas depende en gran medida de su contenido en agua cuando han alcanzado el equilibrio de hinchamiento, parámetro que también influye en el periodo de tiempo necesario para la formación de la capsula. Cuando los fármacos son administrados mediante hidrogeles por vía subcutánea, su semivida plasmática se incrementa notablemente. Así por ejemplo, la administración de 5-fluorouracilo mediante hidrogeles de poli(2-hidroxietil metacrilato-co-acrilamida) [p(HEMA-co-A)], entrecruzados con dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), incrementa la vida media del fármaco 98 veces ($t^{1/2} = 25,11$ h), comparada con su administración por inyección intraperitoneal ($t^{1/2} = 0,257$ h). Un comportamiento equivalente se aprecia cuando el antineoplásico citarabina es administrado subcutáneamente mediante su inclusión en hidrogeles de poli(2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA) y de poli(2-hidroxietil metacrilato-co-N-vinil-2-pirrolidona) [p(HEMA-co-VP)] entrecruzados con EGDMA, ya que se detecta su presencia en plasma entre 4 y 16 días, a pesar de que la semivida plasmática del mismo es de 2,6 h cuando se administra por inyección.

La administración de fármacos a través de la piel mediante liberación **transdermal** desde hidrogeles supone una ventaja en el tratamiento de algunas enfermedades. En este sentido se ha estudiado la liberación iontoforética de metotrexato desde hidrogeles de ácido acrílico y de copolímeros del mismo con acrilamida, ya que este antineoplásico se utiliza en el tratamiento de la psoriasis. Estos hidrogeles parecen ser adecuados para la administración tópica de metotrexato, lo cual evitaría los efectos secundarios, fundamentalmente hepatotóxicos, que origina cuando es administrado por vía oral. Otros fármacos incluidos en hidrogeles, cuya administración transdermal se ha estudiado, son capsaicina y nonivamida, que se utilizan tópicamente para el tratamiento de artritis reumatoide. Asimismo, se han diseñado sistemas de liberación transdermales basados en quitosano para liberar clorhidrato de propranolol, un fármaco que se utiliza en el tratamiento de la taquicardia, el temblor y las arritmias cardíacas.

IV. NANOMEDICINA

El término *nanomedicina*, recientemente propuesto por diversas organizaciones del ámbito de la salud, como el National Institutes of Health de Estados Unidos, se refiere a las aplicaciones de la nanotecnología en el tratamiento, diagnóstico, monitorización y control de los sistemas biológicos. La nanomedicina es un gran área de estudio que incluye nanopartículas que actúan mimetizando elementos biológicos (por ejemplo, nanotubos de carbón funcionalizados), biomateriales del tipo nanofibras y nanoestructuras poliméricas (por ejemplo las nanofibras de péptidos y péptidos anfifílicos para ingeniería de tejidos, o los polímeros con memoria de forma que pueden utilizarse como interruptores) y dispositivos basados en microfabricación a nanoescala (por ejemplo, microchips de silicón para liberación de fármacos). Además, existe una amplia gama de tecnologías de partículas a nanoescala capaces de dirigirlas a diferentes células y elementos extracelulares del organismo para que liberen fármacos, materiales genéticos y agentes de diagnóstico específicamente en esas localizaciones. Es más, la investigación en el ámbito de la liberación y vectorización de agentes farmacéuticos, terapéuticos y de diagnóstico por vía intravenosa o intersticial con partículas a nanoescala es una línea prioritaria dentro de los proyectos en nanomedicina.

IV.1. Nanopartículas con propiedades inherentes de diagnóstico

La nanotecnología es un área de la ciencia que permite, mediante la manipulación de átomos y moléculas, la construcción de estructuras a escala nanométrica, que presentan propiedades únicas. De hecho, las propiedades físicas y químicas de los materiales pueden mejorar o cambiar drásticamente a medida que disminuye su tamaño hasta grupos moleculares o atómicos. Algunas partículas nanométricas tienen utilidad en aplicaciones diagnósticas en biología y medicina. Así, *nanopartículas de oro* tienen aplicación como desactivadores o “quencher” en estudios de transferencia de energía resonante de fluorescencia. Estas nanopartículas se han utilizado para evaluar la unión de un conjugado DNA-nanopartículas de oro a secuencias complementarias de RNA. *Nanopartículas de óxido de hierro* con propiedades superparamagnéticas se utilizan como agentes de contraste en imágenes de resonancia magnética para monitorizar la expresión génica o detectar patologías como cáncer, inflamación de cerebro, artritis o placas ateroscleróticas, ya que estas nanopartículas producen cambios en los tiempos de relajación spin-spin de moléculas de agua vecinas.

IV.2. Nanovehículos transportadores de fármacos

Dentro de este grupo, existen distintos tipos de sistemas cuyo punto en común es su tamaño nanométrico. Pueden incluirse las micelas poliméricas, las arquitecturas proteínicas tipo jaula, las capsidas derivadas de virus, los poliplexes, los liposomas y los nanogeles (Figura 10). En primer lugar, los agentes terapéuticos y los de diagnóstico puede ser encapsulados, unidos covalentemente o adsorbidos en los mencionados nanotransportadores. Este tipo de aproximaciones experimentales permiten superar fácilmente problemas de solubilidad de los fármacos, particularmente de un gran número de nuevos fármacos que son insolubles en agua. En segundo lugar, en virtud de su pequeño tamaño y mediante funcionalización de su superficie con polímeros sintéticos y ligandos apropiados, los transportadores nanoparticulados pueden ser dirigidos hacia células y localizaciones específicas dentro del cuerpo al ser administrados por inyección intravenosa o subcutánea. De esta forma puede mejorarse la sensibilidad

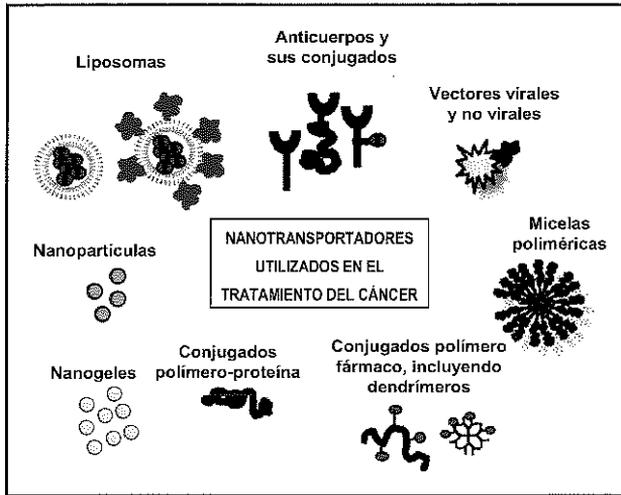


FIGURA 10. Distintos tipos de nanotransportadores de fármacos.

de detección en técnicas de imagen médica, incrementarse la efectividad terapéutica de un fármaco y disminuir sus efectos secundarios. Algunos de estos transportadores pueden ser diseñados de tal forma que se activen por cambios del pH del medioambiente, por un estímulo químico, por aplicación de un campo magnético oscilante o por aplicación de una fuente de calor externa. Tales modificaciones permiten controlar la integridad de la partícula, las velocidades de liberación de fármacos, y la localización de la liberación, por ejemplo dentro de un orgánulo específico. Algunos se diseñan para ser multifuncionales, como el caso de los transportadores dirigidos hacia receptores celulares que liberan simultáneamente fármacos y sensores biológicos.

Las estrategias de liberación basadas en nanoescala han comenzado a tener un impacto significativo en la planificación y mercado global de las compañías farmacéuticas.

IV.3. Mecanismos de aclaramiento y selección pasiva de dianas mediante nanosistemas

La red de vasos sanguíneos y linfáticos del cuerpo humano proporciona rutas naturales para la distribución de nutrientes, el aclaramiento de mate-

riales indeseados, y la liberación de compuestos terapéuticos. Sin embargo, esta red parece ofrecer muy poco en lo concerniente al acceso controlado y específico a los tejidos. A pesar de estas limitaciones, los sistemas nanoparticulados proveen posibilidades de acceso a poblaciones celulares y a compartimentos corporales. Cuando se inyectan por vía intravenosa, las partículas son aclaradas rápidamente de la circulación, predominantemente por el hígado (células de Kupffer) y los macrófagos del bazo (zona marginal y pulpa roja) (Figura 11). Esta forma de aclaramiento, específica en cuanto a su localización, pero pasiva, es una faceta del papel de eliminación de desechos de las células de la respuesta inmune inespecífica respecto a partículas extrañas. La opsonización, consistente en la deposición en la superficie de las nanopartículas de factores plasmáticos tales como fibronectina, inmunoglobulinas y proteínas del complemento, frecuentemente ayudan al reconocimiento por parte de los macrófagos. Sin embargo, el tamaño y las características de superficie de las nanopartículas juegan un papel importante en los procesos de opsonización y en las cinéticas de aclaramiento. Las partículas de mayor tamaño (por encima de 200 nm) son más eficientes en la activación del sistema del complemento y por lo tanto se aclaran más rápidamente de la sangre por las células de Kupffer que sus homólogas de menor tamaño. La unión de proteínas sanguíneas y opsoninas a las nanopartículas difiere considerablemente en cantidad y patrón, dependiendo de propiedades de superficie tales como presencia y tipo de grupos funcionales y densidad de carga de superficie. Así, una opsonización diferencial puede llevar a diferencias en la velocidad de aclaramiento y el secuestro por los macrófagos de las nanopartículas.

Las partículas de pequeño tamaño también implican una gran área superficial. Esto puede suponer un problema si se produce agregación de las

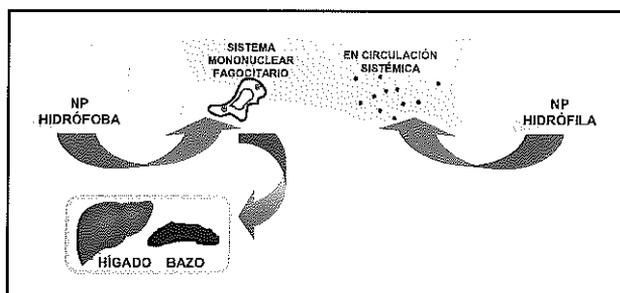


FIGURA 11. Influencia de la superficie de las nanopartículas en su aclaramiento plasmático.

nanopartículas primarias en el medioambiente biológico, lo cual subsecuentemente determina el tamaño efectivo de partícula y por tanto la cinética de aclaramiento. En realidad, nanopartículas como los dendrímeros floclan en el medio biológico. Otro caso es el de las interacciones entre algunos nanosistemas basados en lípidos y lipoproteínas que conducen a cambios muy significativos de tamaño. Por lo tanto, en el diseño de nanopartículas un parámetro importante a tener en cuenta es la composición de su superficie. En efecto, la modificación de la superficie de las nanopartículas con polímeros sintéticos puede resolver la agregación y permitir el control sobre la interacción de las nanopartículas en los sistemas biológicos. Hay numerosos ejemplos en la literatura donde la superficie de los nanotransportadores se ha modificado mediante la unión de cadenas de poli(etilenglicol) u otros polímeros similares a modo de “pelos macromoleculares”. Esta estrategia suprime el reconocimiento de los macrófagos, como consecuencia de una menor adsorción de proteínas y una menor superficie de opsonización. La supresión de los eventos de la opsonización es una primera etapa importante para incrementar la retención pasiva de las nanopartículas en sitios y compartimentos distintos de los macrófagos en la sangre, e implica que las nanopartículas con la superficie modificada tengan un mayor tiempo de circulación en el torrente sanguíneo.

Las propiedades de circulación prolongada son ideales para una liberación lenta y controlada de agentes terapéuticos en la sangre para tratar desordenes vasculares. Las partículas de circulación prolongada también pueden tener aplicación en imágenes vasculares (por ejemplo para la detección de hemorragias o anomalías vasculares). Pero la ingeniería de superficie no es la única forma de mantener las nanopartículas lejos del alcance de los macrófagos. Los recientes avances en la química de polímeros sintéticos permiten un control preciso sobre la arquitectura y polidispersidad de los polímeros, conjugados poliméricos y copolímeros de bloque. Algunos de estos nuevos materiales pueden formar estructuras autoensambladas a nanoescala, estabilizadas estéricamente, con propiedades que les permiten evadirse de los macrófagos.

Por otra parte, la inyección intersticial de nanopartículas puede ser la mejor elección si el objetivo es un ganglio linfático específico o un grupo de ellos localizados en una región concreta. En los capilares linfáticos, numerosas células endoteliales se superponen en sus márgenes y pierden mecanismos de adhesión en muchos sitios. Inmediatamente después de

una inyección intersticial, muchas de las células endoteliales superpuestas se separan y se generan pasillos entre el intersticio y el lumen linfático, a través de los cuales las partículas acceden a los nódulos vía el linfático aferente. En los ganglios linfáticos, los macrófagos de los sinusoides medulares y del paracortex son los principales responsables de la captura de las partículas. El destino de las nanopartículas inyectadas intersticialmente depende de su tamaño y de las características de su superficie. El tamaño de las partículas debe ser suficientemente grande para evitar su rápida salida a los capilares sanguíneos; partículas en el intervalo 30 a 100 nm generalmente satisfacen este criterio, mientras que partículas mayores de 100 nm se desplazan muy lentamente y son susceptibles de aclaramiento por los macrófagos intersticiales. De las características de superficie de las partículas depende su grado de agregación en el intersticio, por lo tanto la cinética de drenaje y retención en los ganglios linfáticos puede optimizarse mediante la manipulación de la superficie de las partículas. Por ejemplo, las nanopartículas hidrófilas, al contrario que sus homólogas hidrófobas, experimentan repulsión e interaccionan muy poco con la sustancia base del intersticio y drenan rápidamente hacia los linfáticos iniciales.

IV.4. Direccionalización de nanotransportadores

IV.4.1. Los macrófagos como dianas

La tendencia de los macrófagos del sistema retículo endotelial para el rápido reconocimiento y aclaramiento de los sistemas particulados hace que los macrófagos puedan considerarse dianas para los nanotransportadores. El macrófago es una célula de defensa del huésped cuya contribución a la patogénesis es bien conocida. Alteraciones en la función de aclaramiento y de efector inmunológico de los macrófagos contribuyen a desordenes comunes como la aterosclerosis, autoinmunidad e infecciones. El macrófago, por lo tanto, es una diana farmacéutica válida para el diseño de sistemas vectorizados hacia este tipo celular. En algunos casos los lisosomas y/o el citoplasma de los macrófagos son el sitio de residencia intracelular de microorganismos, ejemplo de ello es *Toxoplasma gondii*, varias especies de *Leishmania*, *Mycobacterium tuberculosis*, y *Listeria monocytogenes*. La vectorización pasiva de vehículos nanoparticulados con agentes antimicrobianos encapsulados es una buena estrategia para la

muerte efectiva de este tipo de agentes microbianos. La endocitosis llevará el transportador a los lisosomas, donde los patógenos son resistentes. La degradación del transportador por las enzimas lisosomales libera el fármaco en el propio fagosoma o en el citoplasma, bien por difusión o por transporte específico, dependiendo de la naturaleza fisicoquímica del fármaco. Las formulaciones aprobadas para su administración a seres humanos se limitan a nanosistemas basados en lípidos (110-200 nm) cargados con anfotericina B, y se recomiendan para el tratamiento de leishmaniasis visceral o para infecciones causadas por hongos específicos. Esta forma de direccionalización ha reducido significativamente la cantidad de anfotericina B necesaria para obtener la efectividad clínica requerida, consiguiéndose concentraciones terapéuticas del fármaco en los macrófagos infectados. Otros efectos beneficiosos son la significativa reducción de la nefrotoxicidad, un efecto secundario común asociado a la administración de anfotericina B, y la liberación de citoquinas proinflamatorias.

Los avances en biología celular han permitido obtener información sobre la estructura, características de reconocimiento y funciones de señalización de una gran variedad de receptores de macrófagos y células dendríticas, especialmente los relacionados con sus características inmunogénicas y adyuvantes. Estos receptores pueden considerarse dianas terapéuticas sobre las que actúen los nanotransportadores. En este sentido, los receptores de manosa juegan un papel importante en el reconocimiento antigénico y el transporte en los órganos linfoides. El acoplamiento de mananos oxidados a los nanotransportadores conduce a un rápido reconocimiento por parte de los receptores de manosa de la célula, seguido por internalización, presentación a células CD8⁺, y una respuesta de linfocitos T1. Además, la forma soluble del receptor de manosa unido a nanopartículas puede utilizarse para el transporte de antígenos, ya que interacciona con el dominio rico en cisteína de las glicoproteínas sulfatadas expresadas por subpoblaciones de células mieloides en órganos linfáticos secundarios. Otro receptor dependiente de mananos y expresado en macrófagos, neutrófilos, y células dendríticas es Dectina-1, que podría utilizarse para vectorizar partículas.

Una aproximación interesante, por lo tanto, es el diseño y evaluación de nanotransportadores que direccionen una combinación de antígenos y activadores de células dendríticas inmaduras in vivo para estimular la respuesta inmune, o bien agentes apropiados que silencien dicha respuesta.

IV.4.2. El endotelio como diana

La direccionalización de nanosistemas hacia los vasos sanguíneos es una idea atractiva, especialmente considerando que el endotelio juega un papel importante en numerosos procesos patológicos, incluyendo el cáncer (angiogénesis desregulada), inflamación y trombosis. Diferentes estudios han puesto de manifiesto que la composición de superficie de los nanotransportadores implica un control sobre su captura y distribución, mediante direccionalización pasiva, en células endoteliales específicas. Por ejemplo, los primeros estudios con nanopartículas de poliestireno, diseñadas para minimizar su absorción por las células de Kupffer, ponen de manifiesto su captación exclusiva por las células endoteliales de los senos de la médula ósea de conejos; seguida de su internalización mediada por receptor. Otro ejemplo es la localización en las células endoteliales de los vasos sanguíneos cerebrales de nanopartículas recubiertas con polisorbato-80 cuando se administran por inyección intravenosa en ratas. Estos patrones de distribución parecen no tener relación con las características morfológicas de localizaciones específicas del endotelio, sino que probablemente reflejan una expresión de receptores específicos de los vasos, para los cuales dichas partículas o las proteínas plasmáticas asociadas a su superficie son ligandos.

Los recientes avances en biología molecular y celular han permitido adquirir numerosos conocimientos sobre genómica y proteómica del sistema vascular humano, identificándose, de esta forma, nuevas dianas endoteliales en los seres humanos. Estos conocimientos pueden utilizarse de diversas formas para vehiculizar agentes terapéuticos, especialmente al sistema vascular de tumores sólidos. Entre estas dianas están algunas integrinas ($\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 5$, $\alpha 5 \beta 1$) que están reguladas en las células endoteliales angiogénicas y juegan un papel en el proceso de angiogénesis. Estas integrinas se unen con elevada afinidad a secuencias que contienen motivos RGD (Arg-Gly-Asp), lo cual puede utilizarse en una aproximación experimental. En relación con este aspecto, se ha desarrollado un nonapéptido cíclico RGD-4C, que presenta gran avidez por unirse a algunas de las integrinas mencionadas ($\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 5$). La unión de doxorubicina a este nonapéptido cíclico (RGD-4C) genera un compuesto mucho más efectivo que la doxorubicina sola, y con menos efectos secundarios a nivel cardíaco y hepático, los principales órganos de acción tóxica de la doxorubicina. También se ha observado que el nonapéptido cíclico

RGD-4C se une a células de cáncer de mama humano, así como a células endoteliales, pero no se une a células normales no endoteliales. Estos y otros intentos anti-angiogénicos de vectorización de nanopartículas hacia células endoteliales asociadas a tumores son prometedores, pero la destrucción local de células endoteliales dentro de un programa angiogénico no será suficiente para conseguir la destrucción del tumor.

IV.4.3. Extravasación: direccionalización hacia tumores sólidos

El desarrollo de la denominada tecnología “sigilosa” ha permitido la acumulación pasiva, por extravasación, de nanopartículas administradas por inyección intravenosa en sitios patológicos que expresan un endotelio vascular defectuoso y agujereado. Se han abordado numerosos estudios de liberación de fármacos y de agentes para estudios de imagen a nanoescala, la mayoría de ellos dirigidos a tumores sólidos.

IV.4.3.1. Direccionalización pasiva de los sistemas nanoparticulados

Este tipo de vectorización aprovecha algunas características del crecimiento tumoral. La difusión en el tumor se ve dificultada cuando éste alcanza un volumen de 2 mm^3 o superior. Esta limitación en la difusión afecta a la entrada de nutrientes, a la excreción de desechos y a la llegada de oxígeno. El tumor es capaz de subvertir las limitaciones en la difusión incrementando la vascularización mediante la angiogénesis. Una característica de la angiogénesis es la tortuosidad aberrante y las anomalías en la membrana basal y la pérdida de revestimiento por pericitos de las células endoteliales. La vascularización incompleta del tumor tiene como resultado vasos defectuosos con huecos de tamaño comprendido entre 100 nm y $2 \text{ }\mu\text{m}$ dependiendo del tipo de tumor. Además, la presión intersticial es más elevada en el centro de los tumores que en la periferia debido a que los tumores carecen de un sistema linfático bien definido. El aumento de la presión interna causa un flujo de fluido hacia el exterior, lo que disminuye la difusión de fármacos hacia el centro del tumor. Sin embargo, los fármacos y los nanotransportadores que llegan al intersticio del tumor tienen un tiempo de retención más elevado que en los tejidos nor-

males. La combinación de vascularización defectuosa y pobre drenaje linfático resulta en lo que se conoce como Efecto de Retención y Permeabilidad Incrementada (EPR: Enhanced Permeation and Retention). Los nanotransportadores de tamaño menor que las fenestraciones pueden entrar en el intersticio y quedar atrapados en el tumor (Figura 12).

Como resultado de la heterogeneidad de la difusión, la distribución espacial de las nanopartículas “sigilosas” en tumores sólidos es heterogénea e impredecible. Por lo tanto, la difusión de macromoléculas y nanopartículas variará con los tipos de tumor, su localización anatómica, y posiblemente por factores que incluyen la composición y/o estructura de la matriz extracelular.

A pesar de estas limitaciones, hay formulaciones nanoparticuladas aprobadas por la FDA (Federal Drug Administration; Estados Unidos) y la EMA (European Medicines Agency) para el tratamiento del cáncer. Entre los sistemas aprobados se encuentra la doxorubicina incluida en distintos tipos de liposomas de circulación prolongada (Myocet™, Elan Pharmaceuticals; Doxil®, Ortho Biotech; Caelyx®, Schering Plough) para el tratamiento de sarcoma de Kaposi relacionado con SIDA, el cáncer refractario de ovario y la metástasis de cáncer de mama. Estas formulaciones presentan una farmacocinética mucho más favorable en comparación con el fármaco no encapsulado.

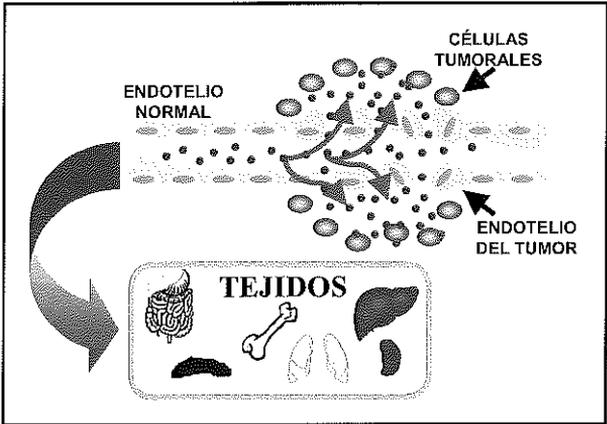


FIGURA 12. Esquema de extravasación de nanotransportadores a través del epitelio desestructurado de los vasos sanguíneos en los tumores.

Cuando se plantea la utilización de nanotransportadores “sigilosos” para su aplicación como sistemas de liberación controlada en el tratamiento del cáncer, han de tenerse en cuenta una serie de consideraciones experimentales. En primer lugar, el transportador debe tener una capacidad elevada de carga de fármaco y permanecer estable dentro del sistema vascular con una mínima pérdida de fármaco. En segundo lugar, la mayoría de los sistemas nanoparticulados extravasados, como por ejemplo liposomas, no interaccionan con células tumorales diana. Estos sistemas se distribuyen heterogéneamente en agrupaciones perivasculares que no se desplazan de forma significativa. El proceso de extravasación de las nanopartículas debe ir seguido de la salida del fármaco desde el transportador, lo que tienen como resultado la exposición al fármaco de las células circundantes (células tumorales, macrófagos asociados al tumor, componentes del sistema vascular del tumor). En su localización, el fármaco ha de liberarse a una velocidad adecuada que permita mantener los niveles de fármaco libre en un intervalo terapéutico. Sin embargo, la velocidad de liberación de fármacos desde liposomas depende del tipo de fármaco y del método de encapsulación. Así por ejemplo, liposomas con cisplatino encapsulado carecen de actividad antitumoral a pesar de acumularse en el intersticio del tumor; y ello es debido a la pequeña y extremadamente lenta liberación de cisplatino desde los liposomas extravasados. Sin embargo, liposomas de la misma composición lipídica cargados con doxorubicina presentan propiedades antitumorales, lo que indica la liberación de doxorubicina en forma monomérica o dimérica desde los liposomas. Por ello, el potencial terapéutico de liposomas cargados con doxorubicina en modelos animales con tumores resistentes al fármaco se encuentra en estudio.

El tema de la liberación de fármacos desde nanotransportadores sigue siendo central en la quimioterapia del cáncer. El tipo de nanotransportador es fundamental, ya que una vez extravasado ha de liberar el fármaco a una velocidad adecuada. Las aproximaciones más efectivas se han realizado con liposomas y con micelas poliméricas, aunque estas últimas tienen un pequeño volumen de encapsulación. Hay algunos avances basados en aproximaciones bioquímicas que pueden desencadenar la liberación del fármaco desde liposomas acumulados en el intersticio. Una de estas aproximaciones es la desestabilización de liposomas mediada enzimáticamente. Por ejemplo, la concentración local de fosfolipasa A2 secretora (sPLA2) es muy elevada en tejidos inflamados y cancerosos. La hidrólisis de un enlace éster específico de los fosfolípidos constituyentes del liposoma por esta

fosfolipasa A2 secretora conduce a la formación de un ácido graso y un lisolípido, que actúan sinérgicamente perturbando la membrana del lisosoma y con ello generando un efecto permeabilizante. Por lo tanto, la elección de una adecuada composición lipídica puede servir para controlar el grado de desestabilización de las vesículas y con ello la liberación del fármaco encapsulado. Estudios realizados con vesículas lipídicas sensibles a la fosfolipasa A2 secretora (sPLA2) cargadas con cisplatino indican su efectividad en la destrucción de células tumorales en presencia de dicha fosfolipasa.

IV.4.3.2. *Direccionalización activa de nanotransportadores*

Otro tipo de aproximaciones experimentales en la terapia del cáncer es mediante la direccionalización o vectorización activa de nanotransportadores hacia las células cancerosas y otros elementos extracelulares. La direccionalización activa implica la utilización de moléculas vectorizantes conjugadas superficialmente para mejorar la llegada del sistema nanoparticulado a su sitio de acción. Una opción prometedora en este sentido es la unión a cadenas poliméricas de anticuerpos monoclonales específicos frente al tumor; sin embargo, algunos estudios indican que la direccionalización por anticuerpos no aumenta la localización en el tumor, sino que aumenta la internalización en modelos animales. Las regiones o zonas de vectorización son importantes porque determinan el mecanismo de entrada celular. Nanopartículas con tiempos prolongados de circulación pueden experimentar un transporte efectivo al sitio del tumor mediante el efecto de Retención y Permeabilidad Incrementada (EPR), y la molécula direccionalizadora puede aumentar la endocitosis de los nanotransportadores. La internalización de los sistemas nanoparticulados de liberación de fármacos incrementa el efecto terapéutico del mismo. Si la nanopartícula se une a las células del endotelio vascular mediante un epítipo no-internalizante, concentraciones elevadas de fármaco estarán disponibles en la superficie exterior de la célula diana. Aunque esto tiene una mayor eficiencia que el fármaco libre en la circulación, sólo una porción del fármaco liberado alcanzará la célula diana. En la mayoría de los casos, la internalización de los nanotransportadores es importante para la efectividad de algunos agentes antitumorales, especialmente en la liberación de genes, silenciamiento génico y otras bioterapias.

Los marcadores de proliferación celular son una diana importante en la terapéutica del cáncer, ya que muchos de estos marcadores están muy

sobreexpresado en ciertas células tumorales (Figura 13). Los nanotransportadores direccionados activamente han seguido los mismos esquemas de los anticuerpos monoclonales para elegir como blanco los receptores de proliferación celular. Así, los cuatro criterios básicos de direccionalización de los anticuerpos monoclonales para aplicación en la terapéutica del cáncer son:

- 1) el antígeno de interés está sobreexpresado en las células tumorales;
- 2) el antígeno es un componente importante en la progresión de la enfermedad;
- 3) el antígeno está en una forma estable en la superficie de la célula tumoral; y



FIGURA 13. Esquema de diferentes moléculas utilizadas en la vectorización de nanotransportadores.

- 4) el antígeno está expresado en un elevado porcentaje en la célula tumoral y en una gran variedad de tumores.

Las dianas de proliferación celular mejor establecidas para direccionalización de nanopartículas incluyen las de los aptámeros de ácidos nucleicos, el receptor epidérmico humano, los receptores de transferrina y los receptores de folato.

IV.4.3.2.1. *Aptámeros de ácidos nucleicos*

Los aptameros de ácidos nucleicos son hebras simples de DNA, RNA u oligonucleótidos sintéticos que se pliegan en estructuras únicas capaces de unirse a dianas específicas con elevada afinidad y especificidad. Los aptameros de ácidos nucleicos son una nueva clase de ligandos de pequeño tamaño (10-20 kDa), no inmunogénicos, fáciles de aislar y que presentan una elevada especificidad y afinidad por su antígeno diana, al menos en la escala picomolar. Además, los aptameros son moléculas sintéticas que pueden modificarse fácilmente. La interacción aptamero antígeno es muy específica y se produce mediante un mecanismo complejo que implica el plegamiento del aptamero sobre su antígeno como un “clip sobre un papel”. Los aptameros ofrecen las ventajas de los materiales sintéticos que pueden ser producidos a escala preparativa con elevada pureza, lo que ha resultado en su rápida incorporación al campo de la investigación y la medicina clínica. El grupo del Profesor Robert Langer en el MIT (Instituto Tecnológico de Massachusetts, Estados Unidos) ha comenzado a utilizar aptameros para direccionalizar nanosistemas poliméricos de liberación de fármacos; la administración intratumoral de estos sistemas cargado concretamente con doxetacel ha permitido una elevada supervivencia de los ratones tratados en comparación con los controles. También han preparado conjugados doxorubicina-aptamero dirigidos al antígeno de membrana PSMA, una de las dianas más estudiadas para el tratamiento del cáncer de próstata, con resultados prometedores.

IV.4.3.2.2. *Receptor epidermal humano*

La familia del receptor epidermal humano (HER), receptores tirosina quinasa, ofrece dos dianas muy reguladas en la superficie de las células tumorales. Estos receptores tirosina quinasa, el receptor del factor de cre-

cimiento epidérmico (EGFR) y el receptor epidermal humano-2 (HER-2), median una ruta de señalización celular para el crecimiento y la proliferación en respuesta a la unión de factores de crecimiento. Como resultado, ambos receptores son de los más investigados en la terapéutica del cáncer.

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) tienen seis ligandos endógenos conocidos: el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento transformante α (TGF- α), anfíregulina, betacelulina, y el factor de crecimiento epidérmico que une heparina (HB-EGF). La utilización de cualquiera de estos ligandos como motivos para la direccionalización ofrece un método para la vectorización hacia los receptores EGFR. La unión de ligandos a EGFR resulta en la activación de cascadas de señalización intracelular, y el complejo es internalizado para su destrucción y reciclaje. Un tercio de los tumores sólidos expresan EGFR, y en muchos de estos tumores, la expresión de este receptor caracteriza un estado avanzado de la enfermedad. EGFR está sobreexpresado en cánceres de mama, pulmón, colorectal y cerebro.

Un tratamiento actual que se dirige hacia EGFR es el anticuerpo monoclonal Cetuximab (Imclone Systems Inc., New York, and Bristol-Myers Squibb, Princeton); que usualmente se administra en una terapia combinada para incrementar la efectividad en cánceres de cabeza y cuello. Un tratamiento efectivo sería utilizar este motivo de vectorización para hacer llegar al tumor un sistema nanoparticulado que libere agentes quimioterapéuticos u otro tipo de compuestos terapéuticos.

El receptor HER-2 también juega un papel importante en la patogénesis de muchos tipos distintos de cánceres, y ofrece una diana muy atractiva para estrategias terapéuticas con anticuerpos monoclonales. Trastuzumab (Herceptin®, Genentech, San Francisco), un anticuerpo monoclonal que antagoniza la función de HER-2, y que está aprobado por la FDA, se utiliza como motivo vectorizante en varios sistemas nanoparticulados. HER-2 se utiliza actualmente como diana frente a cáncer de mama, pulmón y ovario.

IV.4.3.2.3. *Receptores de transferrina*

Debido a la presencia de un elevado número de receptores de transferrina en las células metastáticas y resistentes a fármacos en comparación

con las células normales sanas, el receptor de transferrina es una diana muy pertinente en la terapéutica del cáncer. La transferrina es una glicoproteína séica no-hemo que une hierro y lo transporta a las células en proliferación. Una vez que se une a los receptores de transferrina en la superficie celular, la transferrina sufre endocitosis. El receptor de transferrina está sobreexpresado en las células malignizadas debido a que el requerimiento de hierro es mayor. La direccionalización a receptores de transferrina se ha utilizado en ensayos clínicos en humanos con adriamicina, cisplatino y toxina diftérica.

Mark Davis del instituto de Tecnología de California ha sido el precursor en la vectorización con transferrina, utilizando conjugados autoensamblables fármaco-polímero-transferrina para tratar células malignizadas. Nanopartículas del conjugado transferrina-poli(etilenglicol)-admantano (Tf-PEG-AD) se han utilizado para liberación de genes en células K562, observándose cuatro veces más transfección comparado con las mismas nanopartículas sin transferrina. Por otra parte, liposomas conjugados con transferrina co-encapsulando doxorubicina y verapamil han sido muy efectivos en subvertir la resistencia a multi fármacos. Todo ello indica la utilidad de la vectorización de nanotransportadores con transferrina hacia sus receptores específicos, en la terapéutica del cáncer.

IV.4.3.2.4. *Receptores de folato*

El ácido fólico, también conocido como vitamina B₉, es una vitamina hidrosoluble necesaria para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina. El ácido fólico no posee actividad coenzimática, pero si su forma reducida, el ácido tetrahidrofólico (FH₄), que actúa como transportador de grupos monocarbonados en numerosas biosíntesis, entre ellas la de purinas, y esto lo hace esencial en la síntesis de DNA y RNA. La deficiencia en ácido fólico no es habitual en el ser humano; ya que se encuentra en las vísceras de animales, verduras de hoja verde, legumbres, frutos secos y granos enteros, como las almendras y la levadura de cerveza. El ácido fólico se pierde en los alimentos conservados a temperatura ambiente y durante la cocción. A diferencia de otras vitaminas hidrosolubles, el ácido fólico se almacena en el hígado y no es necesario ingerirlo diariamente.

La naturaleza, por tanto, ha desarrollado mecanismos efectivos para la entrada de folato al interior celular. Existen dos mecanismos al respecto, el primero implica una proteína de membrana (transportador de folato), que interacciona con el folato con baja afinidad ($K_D = 1-5 \mu\text{M}$) y lo transporta al citoplasma. El segundo mecanismo utiliza un receptor, denominado receptor de folato, que consiste en una glicoproteína de 30 KDa anclada a la membrana mediante un glicosil-fosfatidilinositol, que une folato, especialmente la forma oxidada (ácido fólico), con elevada afinidad ($K_D = 100 \text{ pM}$) y lo introduce en la célula por endocitosis. Este receptor es una de las dianas más estudiadas en la terapéutica del cáncer. El transportador de folato está presente en casi todas las células, sin embargo el receptor de folato de alta afinidad está sobreexpresado en muchas células cancerosas comparado con los tejidos normales, en algunos casos hasta dos órdenes de magnitud. Además, las células normales transportan folato reducido a través de sus membranas, pero no transportan conjugados de folato de ningún tipo. Las células malignizadas transportan conjugados de folato a través del receptor de folato (Figura 14). Finalmente, como el receptor de folato tiene una afinidad muy elevada por el ácido fólico, conjugados liposoma-ácido fólico pueden administrarse a bajas concentracio-

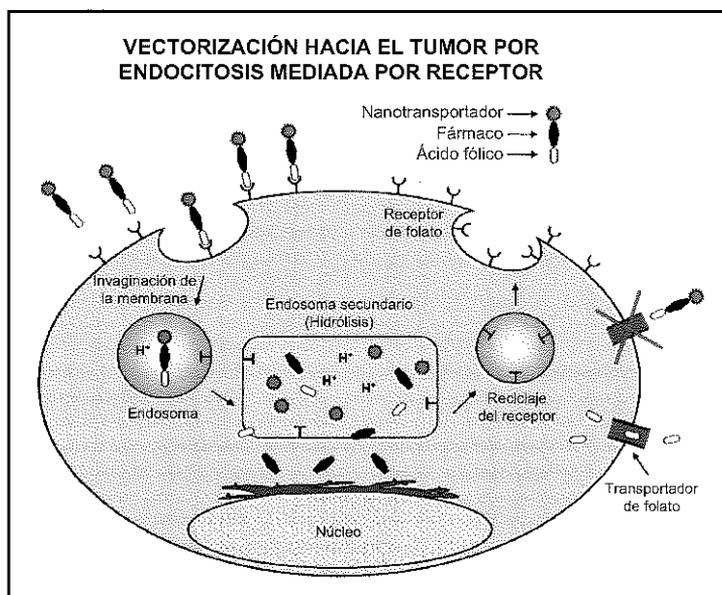


FIGURA 14. Esquema de vectorización de nanotransportadores hacia células tumorales mediante unión de ácido fólico.

nes con una elevada probabilidad de saturar el receptor de folato. Los receptores de folato están sobreexpresados en cánceres de ovario, pulmón, cerebro, cabeza y cuello, renal y de mama. Los ligandos de folato son muy utilizados para direccionalización porque no son tóxicos, ni inmunogénicos, son fáciles de conjugar con los transportadores, retienen una elevada afinidad de unión y son estables durante el almacenamiento y en circulación.

IV.4.3.2.3.1. Nanogeles vectorizados con folato para el tratamiento del cáncer

Dentro de los nanotransportadores, los nanogeles ofrecen una gran versatilidad y pueden vectorizarse hacia células tumorales mediante la unión de ácido fólico. En este sentido, el grupo del Profesor Katime, en la Universidad del País Vasco, ha sintetizado distintos nanohidrogeles copoliméricos entrecruzados funcionalizados con ácido fólico, entre estos nanohidrogeles están los constituidos por acrilato de p-nitrofenilo (NPA) y N-isopropilacrilamida (NIPAM) modificados con aminas, así como los constituidos por N-piridin-4-ilmetilacrilamida, (2-acriloilamino-etil)ácido carbámico tert-butil éster y N-isopropilacrilamida. Estos nanogeles son sensibles a la temperatura y al pH del medio, de tal forma que permanecen colapsados a temperaturas superiores a 33 °C y a valores de pH superiores a 6, y se hinchan en medio ácido. La estrategia que se persigue con estos nanosistemas es, por una parte, la internalización en la célula tumoral, mediada por el receptor de folato, al cual estarían direccionados los nanogeles por la presencia de ácido fólico en su superficie; y, por otra parte, su hinchamiento en el interior celular, debido a la acidificación del pH que se generaría al formarse un endosoma, lo que favorecería la liberación de fármaco encapsulado. Estos nanogeles han permitido la encapsulación de 5-fluorouracilo y de tamoxifeno, y los estudios de viabilidad celular en cultivos celulares de la línea MCF-7 de cáncer de mama indican su eficacia. La administración subcutánea en ratas de los nanogeles-folato cargados con tamoxifeno pone de manifiesto un incremento del tiempo medio de residencia del fármaco en comparación con su administración en disolución.

Todo lo anteriormente expuesto nos lleva a concluir que los principales objetivos de la nanotecnología en el cáncer son desarrollar modalida-

des de diagnóstico y terapéuticas aún más seguras y eficaces en la lucha contra el mismo. Los nanotransportadores vectorizados con fármaco encapsulado son una prometedora clase de terapéutica, con el potencial de mejorar la eficacia y la seguridad de fármacos disponibles actualmente. También existe la posibilidad de crear fórmulas terapéuticas completamente nuevas utilizando la nanotecnología. Hay un arsenal creciente de plataformas nanotecnológicas en estudio, incluyendo nanopartículas poliméricas, nanohidrogeles, liposomas, nanocápsulas, dendrímeros, y nanopartículas polinucleotídicas. También hay un número creciente de moléculas para direccionalización hacia dianas específicas, que pueden utilizarse en la ingeniería de nanotransportadores. Entre estas moléculas para vectorización se encuentran anticuerpos y fragmentos de anticuerpos, péptidos, aptameros, carbohidratos y moléculas pequeñas como ácido fólico. Las propiedades intrínsecas de los nanotransportadores, incluyendo la densidad de ligandos de su superficie, afectan a la eficacia del tratamiento, y por tanto han de ser optimizadas. Las dianas terapéuticas situadas dentro del sistema vascular son fácilmente accesibles para que se internalicen los bioconjugados, pero las barreras físicas y fisiológicas de los tumores sólidos podrían limitar la difusión de los nanotransportadores terapéuticos a la hora de acceder a las células diana. Cada clase de nanotransportador podría ser útil para una aplicación específica en función del medioambiente fisiológico específico y los requerimientos clínicos. Por lo tanto, ahora están emergiendo nanotransportadores multifuncionales que combinan radioterapia y quimioterapia, con o sin propiedades de imagen. Para avanzar en estas tecnologías son necesarias nuevas aproximaciones experimentales que incluyan la automatización de los procesos de síntesis y selección. Las futuras áreas de innovación nanotecnológica para el tratamiento del cáncer incluyen el desarrollo de sistemas de liberación con bio-respuesta y autorregulación. Son momentos muy emocionantes en la investigación biomédica y, con el apoyo continuo, la medicina seguirá siendo uno de los principales beneficiarios de la nanotecnología en los próximos años.

He dicho.

V. BIBLIOGRAFÍA

- ALEXIS, F.; PRIDGEN, E.; MOLNAR, L. K.; FAROKHZAD, O. C.: "Factors Affecting the Clearance and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles". *Mol. Pharmaceutics* 2008, 5, 505-515.
- ALEXIS, F.; RHEE, J. W.; RICHIE, J. P.; RADOVIC-MORENO, A. F.; LANGER, R.; FAROKHZAD, O.C.: "New frontiers in nanotechnology for cancer treatment". *Urol Oncol Semin Original Investigations* 2008, 26, 74-85.
- ALVAREZ-FIGUEROA, M. J.; BLANCO-MÉNDEZ, J.: "Transdermal delivery of methotrexate: iontophoretic delivery from hydrogels and passive delivery from microemulsions". *Int. J. Pharm.* 2001, 215, 57-65.
- AMBROSIO, L.; DE SANTIS, R.; IANNACE, S.; NETTI, P. A.; NICOLAIS, L.: "Viscoelastic behaviour of composite ligament prostheses". *J. Biomed. Mat. Res.* 1998, 42, 6-12.
- ANSETH, K. S., BOWMAN, C. N.; BRANNON-PEPPAS, L.: "Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination". *Biomaterials* 1996, 17, 1647-1657.
- BAGALKOT, V.; FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R. et al.: "An Aptamer-doxorubicin physical conjugate as a novel targeted drug-delivery platform". *Angw Chem Int Ed Engl* 2006, 45, 8149-8152.
- BATRAKOVA, E. V.; KABANOV, A.V.: "Pluronic block copolymers: Evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers". *J Control Rel* 2008, 130, 98-106.
- BELLOCOQ, N. C.; PUN, S. H.; JENSEN, G. S.; DAVIS, M. E.: "Transferrin-containing, cyclodextrin polymer-based particles for tumor-targeted gene delivery". *Bioconj Chem* 2003, 14, 1122-1132.
- BLANCO, M. D.; GARCÍA, O.; GÓMEZ, C.; SASTRE, R. L.; TEJÓN, J. M.: "In vivo drug delivery of 5-fluorouracil using poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-acrylamide) hydrogels". *J. Pharm. Pharmacol.* 2000, 52, 1319-1325.
- BLANCO, M. D.; GARCÍA, O.; TRIGO, R. M.; TEJÓN, J. M.; KATIME, I.: "5-Fluorouracil release from copolymeric hydrogels of itaconic acid monoester. I. Acrylamide-co-monomethyl itaconate". *Biomaterials* 1996, 17, 1061-1067.
- BLANCO, M. D.; GÓMEZ, C.; GARCÍA, O.; TEJÓN, J. M.: "Ara-C release from poly(acrylamide-co-monomethyl itaconate) hydrogels: in vitro and in vivo studies. Polym". *Gels and Networks* 1998, 6, 57-69.
- BLANCO, M. D.; REGO, J. M.; HUGLIN, M. B.: "Drug release with simultaneous dimensional changes from a new copolymeric hydrogel". *Polymer* 1994, 35, 3487-3491.
- BLANCO, M. D.; TRIGO, R. M.; GARCÍA, O.; TEJÓN, J. M.: "Controlled release of cytarabine from poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels". *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* 1997, 8, 709-719.
- BLANCO, M. D.; TRIGO, R. M.; TEJÓN, C.; GÓMEZ, C.; TEJÓN, J. M.: "Slow releasing of ara-C from poly(2-hydroxyethyl methacrylate) and de poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-N-vinyl-2-

- pyrrolidone) hydrogels implanted subcutaneously in the back of rats". *Biomaterials* 1998, 19, 861-869.
- BLANCO, M. D., OLMO, R.; TEJÓN, J. M.: "Biomateriales: Hidrogeles". En: *Propedéutica Quirúrgica*. Ed. Tebar, 2004, pp. 551-568
- BLANCO, M. D., OLMO, R.; TEJÓN, J. M.: "Hydrogels". En: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. James Swarbrick, Ed., 2002; Marcel Dekker, Inc. U.S.A. pp. 1-21
- BLANCO, M. D.; GARCÍA, O.; TRIGO, R. M.; TEJÓN, J. M.; KATIME, I.: "5-Fluorouracil release from copolymeric hydrogels of itaconic acid monoester. I. Acrylamide-co-monomethyl itaconate". *Biomaterials*, 1996, 17(11), 1061-1067.
- BLANCO, M. D.; GARCÍA, O.; GÓMEZ, C.; SASTRE, R. L. TEJÓN, J. M.: "In vivo drug delivery of 5-Fluorouracil using poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-acrylamide) hydrogels". *J Pharm Pharmacol* 2000, 52, 1319-1325
- BLANCO, M. D.; GUERRERO, S.; TEJÓN, C.; OLMO, R.; PASTRANA, L.; KATIME, I.; TEJÓN, J. M.: "Preparation and characterization of nanoparticulated poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel for the controlled release of anti-tumour drugs". *Polym Int* 2008, 57, 1215-1225.
- BRANNON-PEPPAS, L.; BLANCHETTE, J. O.: "Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy". *Advan Drug Deliv Rev* 2004, 56, 1649-1659.
- BRAZEL, C. S.; PEPPAS, N. A.: "Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers". *Polymer* 1999, 40, 3383-3398.
- BROMBERG, L.: "Polymeric micelles in oral chemotherapy". *J Control Rel* 2008, 128, 99-112.
- BROOM, N. D.; OLOYEDE, A.: "The importance of physicochemical swelling in cartilage illustrated with a model hydrogel system". *Biomaterials* 1998, 19, 1179-1188.
- BRYANT, S. J.; ANSETH, K. S.: "The effects of scaffold thickness on tissue engineered cartilage in photocrosslinked poly(ethylene oxide) hydrogels". *Biomaterials* 2000, 22, 619-626.
- BYRNE, J. D.; BETANCOURT, T.; BRANNON-PEPPAS, L.: "Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics". *Advan Drug Deliv Rev* 2008, 60, 1615-1626.
- CALICETI, P.; SALMASO, S.; LANTE, A.; YOSHIDA, M.; KATAKAI, R.; MARTELLINI, F.; MEI, L. H. I.; CARENZA, M.: "Controlled release of biomolecules from temperature-sensitive hydrogels prepared by radiation polymerization". *J. Control. Release* 2001, 75, 173-181.
- COLOMBO, P.; SONVICO, F.; COLOMBO, G.; BETTINI, R.: "Novel Platforms for Oral Drug Delivery". *Pharm Res* 2009, 26, 601-611.
- COOK, A. D.; HRKACH, J. S.; GAO, N. N.; JOHNSON, I. M.; PAJVANI, U. B.; CANNIZZARO, S. M.; LANGER, R.: "Characterization and development of RGD-peptide-modified poly(lactic acid-co-lysine) as an interactive resorbable biomaterial". *J Biomed Mater Res* 1997, 35, 513-23.
- CRANK, J.: *The Mathematics of Diffusion*, 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford. Chapter 4, 1975.
- CROKHELL, P. H.; FITTON, J. H.; TIGHE, B. J.: "Towards a synthetic articular cartilage". *J. Biomater Sci. Polym Edn*. 1993, 4, 615-630.
- CSABA, N.; GARCÍA-FUENTES, M.; ALONSO, M. J.: "Nanoparticles for nasal vaccination". *Advan Drug Deliv Rev* 2009, 61, 140-157.
- CHIRILA, T. V.; HONG, Y.; DALTON, P. D.; CONSTABLE, I. J.; REFOJO, M. F.: "The use of hydrophilic polymers as artificial vitreous". *Prog Polym Sci* 1998, 23, 475-508.
- CHUNG, C.; BURDICK, J. A.: "Engineering cartilage tissue". *Advan Drug Deliv Rev* 2008, 60, 243-262.
- DAVIDENKO, N.; BLANCO, M. D.; PENICHE, C.; BECHERÁN, L.; GUERRERO, S.; TEJÓN, J. M.: "Effect of different parameters on characteristics of chitosan-poly(acrylic acid) nanoparticles obtained by the method of coacervation". *J Appl Polym Sci* 111: 2362-2371 (2009).
- DZIUBLA, T. D.; TORJMAN, M. C.; JOSEPH, J. I.; MURPHY-TATUM, M.; LOWMAN, A. M.: "Evaluation of porous networks of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) as interfacial drug delivery devices". *Biomaterials* 2001, 22, 2893-2899.

- EBDON, J. R. (Ed.): *New Methods of polymer synthesis*. Blackie & Sons Ltd., Glasgow, 1991.
- ELVIRA, C.; GALLARDO, A.; SAN ROMAN, J.; CIFUENTES, A.: "Covalent polymer-drug conjugates". *Molecules* 2005, 10, 114-125
- FALAMARZIAN, M.; VARSHOSAZ, J.: "The effect of structural changes on swelling kinetics of polybasic/hydrophobic pH-sensitive hydrogels". *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 1998, 24, 667-669.
- FAROKHZAD, O. C.; KARP, J. M.; LANGER, R.: "Nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer targeting". *Expert Opin Drug Deliv* 2006, 3, 311-324.
- FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R.: "Nanomedicine: Developing smarter therapeutic and diagnostic modalities". *Adv Drug Deliv Rev* 2006, 58, 1456-1459.
- FERRARI, M.: "Cancer Nanotechnology: Opportunities And Challenges". *Nature Rev Cancer* 2005, 5, 161-171.
- FREEMAN, M. E.; FUREY, M. J.; LOVE, B. J.; HAMPTON, J. M.: "Friction, wear, and lubrication of hydrogels as synthetic articular cartilage". *Wear* 2000, 241, 129-135.
- GAN, L. H.; DEEN, G. R.; GAN, Y. Y.; TAM, K. C.: "Water sorption studies of new pH-responsive N-acryloyl-N'-methyl piperazine and methyl methacrylate hydrogels". *Eur. Polym. J.* 2001, 37, 1473-1478.
- GARCÍA, O.; TRIGO, R. M.; BLANCO, M. D.; TEJÓN, J. M.: "Influence of degree of crosslinking on 5-fluorouracil release from poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels". *Biomaterials* 1994, 15, 689-694.
- GAUDANA, R.; JWALA, J.; BODDU, S. H. S.; MITRA, A. K.: "Recent Perspectives in Ocular Drug Delivery". *Pharm Res* 2009, 26, 1197-1216.
- GÓMEZ, C.; BLANCO, M. D.; BERNARDO, M. V.; OLMO, R.; MUÑIZ, E.; TEJÓN, J. M.: "Cytarabine release from comatrices of albumin microspheres in a poly(lactide-co-glycolide) film: in vitro and in vivo studies". *Eur J Pharm Biopharm* 2004, 57, 225-233.
- GU, Z. Q.; XIAO, J. M.; ZHANG, X. H.: "The development of artificial articular cartilage —PVA—hydrogel". *Biomed. Mat. Eng.* 1998, 8, 75-81.
- GUERRERO, S.; MUÑIZ, E.; TEJÓN, C.; OLMO, R.; TEJÓN, J. M.; BLANCO, M. D.: "Ketotifen-loaded microspheres prepared by spray-drying poly(D,L-lactide) and poly(D,L-lactide-co-glycolide) polymers: characterization and in vivo administration". *J Pharm Sci* 2008, 97, 3153-3169.
- GUERRERO-RAMÍREZA, L. G.; NUÑO-DONLUCAS, S. M.; CESTEROS, L. C.; KATIME, I.: "Smart copolymeric nanohydrogels: Synthesis, characterization and properties". *Mater Chem Phys* 2008, 112, 1088-1092.
- GUÉLIN WANG, G.; ULUDAG, H.: "Recent developments in nanoparticle-based drug delivery and targeting systems with emphasis on protein-based nanoparticles". *Expert Opin. Drug Deliv* 2008, 5, 1-17.
- HAMIDI, M.; AZADI, A.; RAFIEI, P.: "Hydrogel nanoparticles in drug delivery". *Adv Drug Deliv Rev* 2008, 60, 1638-1649.
- HAO, J.; DENG, X.: "Semi-interpenetrating networks of bacterial poly(3-hydroxybutyrate) with net-poly(ethylene glycol)". *Polymer* 2001, 42, 4091-4097.
- HARVITT, D.; BONANNO, J.: "Re-evaluation of the oxygen diffusion model for predicting minimum contact lens Dk/t values needed to avoid corneal anoxia". *Optom Vis Sci* 1999, 76, 712-719.
- HIGA, O. Z.; ROGERO, S. O.; MACHADO, L. D. B.; MATHOR, M. B.; LUGÃO, A. B.: "Biocompatibility study for PVP wound dressing obtained in different conditions". *Rad. Phys. Chem.* 1999, 55, 705-707.
- HOARE, T. R.; KOHANE, D. S.: "Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges". *Polymer* 2008, 49, 1993-2007.
- HOFFMAN, A. S.: "Hydrogels for biomedical applications". *Adv Drug Deliv Rev* 2002, 43, 3-12.

- HOLLAND, T. A.; MIKOS, A. G.: "Biodegradable polymeric scaffolds. Improvements in bone tissue engineering through controlled drug delivery". *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2006, 102, 161-185.
- HUANG, R.; KE, W.; LIU, Y.; JIANG, C.; PEI, Y.: "The use of lactoferrin as a ligand for targeting the polyamidoamine-based gene delivery system to the brain". *Biomaterials* 2008, 29, 238-246.
- HUGLIN, M. B.; REHAB, M. M. A. M.: "Mechanical and thermodynamic properties of butyl acrylate-N-vinylpyrrolidone hydrogels". *Polymer* 1987, 28, 2200-2206.
- INUMA, H.; MARUYAMA, K.; OKINAGA, K.; SASAKI, K.; SEKINE, T.; ISHIDA, O.; OGIWARA, N.; JOHKURA, K.; YONEMURA, Y.: "Intracellular targeting therapy of cisplatin-encapsulated transferrin-polyethylene glycol liposome on peritoneal dissemination of gastric cancer". *Int J Cancer* 2002, 99, 130-137.
- JABR-MILANE, L. S.; VAN VLERKEN, L. E.; YADAV, S.; AMIJ, M. M.: "Multi-functional nanocarriers to overcome tumor drug resistance". *Cancer Treatment Rev* 2008, 34, 592-602.
- JU, H. K.; KIM, S. Y.; LEE, Y. M.: "pH/temperature-responsive behaviour of semi-IPN and comb-type graft hydrogels composed of alginate and poly(N-isopropylacrylamide)". *Polymer* 2001, 42, 6851-6857.
- JULLERAT-JEANNERET, L.: "The targeted delivery of cancer drugs across the blood-brain barrier: chemical modifications of drugs or drug-nanoparticles?" *Drug Discovery Today* 2008, 13, 1099-1106.
- KAMEN, B. A.; CAPDEVILA, A.: "Receptor-mediated folate accumulation is regulated by the cellular folate content". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986, 83, 5983-5987
- KATIME, I.: *Química Física Macromolecular*. Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco: Bilbao (Spain), 1994.
- KATIME, I.; NOVOA, R.; ZULUAGA, F.: "Swelling kinetics and release studies of theophylline and aminophylline from acrylic acid/n-alkyl methacrylate hydrogels". *Eur. Polym. J.* 2001, 37, 1465-1471.
- KIETZMANN, M.: "Improvement and retardation of wound healing: effects of pharmacological agents in laboratory animal studies". *Veterinary Dermatology* 1999, 10, 83-88.
- KIM, S. Y.; CHO, S. H.; LEE, Y. M.: "Biotin-conjugated block copolymeric nanoparticles as tumor-targeted drug delivery systems". *Macromol Res* 2007, 15, 646-655.
- KOBAYASHI, T.; ISHIDA, T.; OKADA, Y.; ISE, S.; HARASHIMA, H.; KIWADA, H.: "Effect of transferrin receptor-targeted liposomal doxorubicin in P-glycoprotein-mediated drug resistant tumor cells". *Int J Pharm* 2007, 329, 94-102.
- KOHENEN T.: "The variety of foldable intraocular lens materials". *J. Cataract Refract Surg* 1996, 22, 1255-1257.
- KORSMEYER, R. W.; PEPPAS, N. A.: "Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. III. Drug release from glassy poly(HEMA-co-NVP) copolymers". *J. Control. Rel.* 1984, 1, 89-98.
- KRATZ, F.: "Albumin as a drug carrier: Design of prodrug, drug conjugates and nanoparticles". *J Control Rel* 2008, 132, 171-183.
- KUMAR, M. N. V. R.; KUMAR, N.: "Polymeric controlled drug-delivery systems: perspective issues and opportunities". *Drug Develop Indus. Pharm.* 2001, 27, 1-30.
- KUO, C. K.; MA, P. X.: "Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties". *Biomaterials* 2001, 22, 511-521.
- LASKIN, J. J.; SANDLER, A. B.: "Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumours". *Cancer Treat Rev* 2004, 30, 1-17.
- LEHR, C. M.: "Lectin-mediated drug delivery: The second generation of bioadhesives". *J. Control. Rel.* 2000, 65, 19-29.
- LI, S. K.; D'EMANUELE, A.: "On-off transport through a thermoresponsive hydrogel composite membrane". *J. Control. Rel* 2001, 75, 55-67.

- LIN, C. C.; ANSETH, K. S.: "PEG Hydrogels for the Controlled Release of Biomolecules in Regenerative Medicine". *Pharm. Res.* 2009, 26, 631-643.
- LIN, C. C.; METTERS, A. T.: "Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling". *Adv Drug Deliv Rev* 2006, 58, 1379-1408.
- LIU, Z.; JIAO, Y.; WANG, Y.; ZHOU, C.; ZHANG, Z.: "Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems". *Adv Drug Deliv Rev* 2008, 60, 1650-1662.
- LOKE, W. K.; LAU, S. K.; YONG, L. L.; KHOR, E.; SUM, C. K.: "Wound dressing with sustained antimicrobial capability". *J. Biomed. Mat. Res.* 2000, 53, 8-17.
- LOWMAN, A. M.; PEPPAS, N. A.: "Hydrogels". In *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*; MATTHOWITZ, E., Ed.; John Wiley and Sons: New York, 1999, vol. 2, 397-418.
- LU, Y.; LOW, P. S.: "Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents". *Adv Drug Deliv Rev* 2002, 54, 675-693.
- LUO, Y.; KIRKER, K. R.; PRESTWICH, G. D.: "Cross-linked hyaluronic acid hydrogel films: new biomaterials for drug delivery". *J. Control. Release* 2000, 69, 169-184.
- LLOYD, A. W.; FARAGHER, R. G. A.; DENYER, S. P.: "Ocular biomaterials and implants". *Biomaterials* 2001, 22, 769-785.
- MADHALLY, S. V.; MATTHEW, H. W.: "Porous chitosan scaffolds for tissue engineering". *Biomaterials* 1999, 20, 1133-1142.
- MANN, B. K.; SCHMEDLEN, R. H.; WEST, J. L.: "Tethered-TGF- β increases extracellular matrix production of vascular smooth muscle cells". *Biomaterials* 2001, 22, 439-444.
- MARIS, B.; VERHEYDEN, L.; VAN REETH, K.; SAMYN, C.; AUGUSTIJNS, P.; KINGET, R.; VAN DEN MOOTER, G.: "Synthesis and characterisation of inulin-azo hydrogels designed for colon targeting". *Int. J. Pharm.* 2001, 213, 143-152.
- MELLOTT, M. B.; SEARCY, K.; PISHKO, V.: "Release of protein from highly cross-linked hydrogels of poly(ethylene glycol) diacrylate fabricated by UV polymerization". *Biomaterials* 2001, 22, 929-941.
- MIYATAA, T.; URAGAMIA, T.; NAKAMAE, K.: "Biomolecule-sensitive hydrogels". *Adv Drug Deliv Rev* 2002, 54, 79-98.
- MIYAZAKI, T.; ASAMI, N.; URGAMI, T.: "A reversible antigen-responsive hydrogel". *Nature* 1999, 399, 765-769.
- MOGHIMI, S. M.: "Recent development in polymeric nanoparticles engineering and their applications in experimental and clinical oncology". *Anticancer Agents Med Chem* 2006, 6, 553-561.
- MOGHIMI, S. M.; HUNTER, A. C.; CLIFFORD MURRI J. C.: "Nanomedicine: current status and future prospects". *FASEB J* 2005, 19: 311-330.
- MUNDARGI, R. C.; BABU, V. R.; RANGASWAMY, V.; PATEL, P.; AMINABHAVI, T. M.: "Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives". *J Control Rel* 2008, 125, 193-209.
- NAGAI, T.; MACHIDA, Y.: "Buccal delivery systems using hydrogels". *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1993, 11, 179-191.
- NOGUCHI, T.; YAMAMURO, T. OKA, M.; KUMAR, P.; KOTOURA, Y.; HYON, S.; IKADA, Y.: "Poly(vinyl alcohol) hydrogel as an artificial articular cartilage: evaluation of biocompatibility". *J. Appl. Biomater.* 1991, 2, 101-107.
- OKA, M.; NOGUCHI, T.; KUMAR, P.; IKEUCHI, K.; YAMAMURO, T.; HYON, S.H.; IKADA, Y.: "Development of an artificial articular cartilage". *Clin. Mat.* 1990, 6, 361-381.
- OKA, M.; USHIO, K.; KUMAR, P.; IKEUCHI, K.; HYON, S. H.; NAKAMURA, T.; FUJITA, H.: "Development of artificial articular cartilage. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers". *Part H, Journal of Engineering in Medicine* 2000, 214, 59-68.
- OTSUKA, H.; NAGASAKI, Y.; KATAOKA, K.: "PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications". *Adv Drug Deliv Rev* 2003, 55, 403-419.

- OXLEY, H. R.; CORKHILL, P. H.; FITTON, J. H.; TIGHE, B. J.: "Macroporous hydrogels for biomedical applications: methodology and morphology". *Biomaterials* 1993, 14, 1064-1072.
- PAOLICELLI, P.; DE LA FUENTE, M.; SANCHEZ, A.; SEJO, B.; ALONSO, M. J.: "Chitosan nanoparticles for drug delivery to the eye". *Expert Opinion On Drug Delivery* 2009, 6, 239-253.
- PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H.: "Hydrogels in pharmaceutical formulations". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 50, 27-46.
- PEPPAS, N. A.; KEYS, K. B.; TORRES-LUGO, M.; LOWMAN, A. M.: "Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery". *J. Control. Rel* 1999, 62, 81-87.
- PÉREZ-ÁLVAREZ, L.: "Síntesis y caracterización de microgeles pH-sensibles. Diseño de un nanodispositivo en la terapia del cáncer". *Tesis Doctoral*. Universidad del País Vasco, diciembre de 2006.
- PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; SÁEZ-MARTÍNEZ, V.; HERNÁNDEZ, E.; HERRERO, M.; KATIME, I.: "Specific pH-Responsive Folate-Conjugate Microgels Designed for Antitumor Therapy". *Macromol Chem Phys* 2009, 210, 000-000.
- PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R.: "Polymers in drug delivery". *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2001, 5, 447-451.
- PODUAL, K.; DOYLE III, F. J.; PEPPAS, N. A.: "Glucose-sensitivity of glucose oxidase-containing cationic copolymer hydrogels having poly(ethylene glycol) grafts". *J. Control. Rel.* 2000, 67, 9-17.
- PROKOP, A.; DAVIDSON, J. M.: "Nanovehicular Untracellular Delivery Systems". *J Pharm Sci* 2008, 97, 3518-3590.
- PUJALS, S.; FERNÁNDEZ-CARNEADO, J.; LÓPEZ-IGLESIAS, C.; KOGAN, M. J.; GIRALT, E.: "Mechanistic aspects of CPP-mediated intracellular drug delivery: Relevance of CPP self-assembly". *Biochim Biophys Acta* 2006, 1758, 264-279.
- QUINTANAR-GUERRERO, D.; VILLALOBOS-GARCÍA, R.; ALVAREZ-COLÍN, E.; CORNEJO-BRAVO, J. M.: "In vitro evaluation of the bioadhesive properties of hydrophobic polybasic gels containing N,N-dimethylaminoethyl methacrylate-co-methyl methacrylate". *Biomaterials* 2001, 22, 957-961.
- RAEMDONCK, K.; DEMEESTER, J.; DE SMEDT, S.: "Advanced nanogel engineering for drug delivery". *Soft Matter*, 2009, 5, 707-715.
- RAO, J. K.; RAMESH, D. V.; RAO, K. P.: "Implantable controlled delivery systems for proteins based on collagen-pHEMA hydrogels". *Biomaterials* 1994, 15(5), 383-389.
- RAZZAK, M. T.; DARWIS, D.; SUKIRNO, Z.: "Irradiation of polyvinyl alcohol and polyvinyl pyrrolidone blended hydrogel for wound dressing". *Rad. Phys. Chem.* 2001, 62, 107-113.
- RISBUD, M. V.; BHAT, S. V.: "Properties of polyvinyl pyrrolidone/ β -chitosan hydrogel membranes and their biocompatibility evaluation by haemorheological method". *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2001, 12, 75-79.
- RISBUD, M. V.; HARDIKAR, A. A.; BHAT, S. V.; BHONDE, R. R.: "pH-sensitive freeze-dried chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogels as controlled release system for antibiotic delivery". *J. Control Rel* 2000, 68, 23-30.
- RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A.: "A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices". *J. Control. Rel.* 1987, 5, 37-42.
- ROBERTS, G. A. F.: *Chitin Chemistry*. The Macmillan Press Ltd., London, 1992.
- RUIZ, J.; MANTECÓN, A.; CÁDIZ, V.: "Synthesis and properties of hydrogels from poly(vinyl alcohol) and ethylenediaminetetraacetic dianhydride". *Polymer* 2001, 42, 6347-6354.
- RUIZ, J.; MANTECÓN, A.; CÁDIZ, V.: "Synthesis and properties of hydrogels from poly(vinyl alcohol) and ethylenediaminetetraacetic dianhydride". *Polymer* 2001, 42, 6347-6354.
- SÁEZ-MARTÍNEZ, V.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; MERRERO, M. T.; HERNÁNDEZ, E.; KATIME, I.: "pH-Sensitive microgels functionalized with folic acid". *Eur Polym J* 2008, 44, 1309-1322.

- SASTRE, R. L.; BLANCO, M. D., GÓMEZ, C.; SOCORRO, J. M.; TEIJÓN J. M.: "Cytarabine trapping in poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-acrylamide) hydrogels: drug delivery studies". *Polym. Int.* 1999, 48, 843-850.
- SASTRE, R. L.; OLMO, R.; TEIJÓN, C.; MUÑIZ, E.; TEIJÓN, J. M.; BLANCO, M. D.: "5-Fluorouracil plasma levels and biodegradation of subcutaneously injected drug-loaded microspheres prepared by spray-drying poly(D,L-lactide) and poly (D,L-lactide-co-glicolide) polymers". *Int J Pharm* 2007, 338, 180-190.
- SAVAS, H.; GÜVEN, O.: "Investigation of active substance release from poly(ethylene oxide) hydrogels". *Int. J. Pharm.* 2001, 224, 151-158.
- SCHMALJOHANN, D.: "Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery". *Adv Drug Deliv Rev* 2006, 58, 1655-1670.
- SCHMIDT, J.; ROWLEY, J.; KONG, H. J.: "Hydrogels used for cell-based drug delivery". *J Biomed Mater Res* 2008, 87A: 1113-1122.
- SERRES, A.; BAUDYS, M.; WANKIM, S.: "Temperature and pH-sensitive polymers for human calcitonin delivery". *Phar. Res.* 1996, 13, 196-201.
- SHANTHA, K. L.; HARDING, D. R. K.: "Preparation and in vitro evaluation of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone-polyethylene glycol diacrylate)-chitosan interpolymeric pH-responsive hydrogels for oral drug delivery". *Int. J. Pharm.* 2000, 207, 65-70.
- SOANE, R. J.; FRIER, M.; PERKINS, A. C.; JONES, N. S.; DAVIS, S. S.; ILLUM, L.: "Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans". *Int. J. Pharm.* 1999, 178, 55-65.
- SOPPIMATH, K. S.; KULKARNI, A. R.; AMINABHAVI, T. M.: "Chemically modified polyacrylamide-guar gum-based crosslinked anionic microgels as pH-sensitive drug delivery systems: preparation and characterization". *J. Control. Rel* 2001, 75, 331-345.
- STAMMEN, J. A.; WILLIAMS, S.; KU, D. N.; GULDBERG, R. E.: "Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression". *Biomaterials* 2001, 22, 799-806.
- STRINGER, J. L.; PEPPAS, N. A.: "Diffusion of small molecular weight drugs in radiation-crosslinked poly(ethylene oxide) hydrogels". *J. Control. Rel* 1996, 42, 195-202.
- STUBBE, B.; MARIS, B.; VAN DEN MOOTER, G.; DE SMEDT, S. C.; DEMEESTER, J.: "The in vitro evaluation of 'azo containing polysaccharide gels' for colon delivery". *J. Control. Rel.* 2001, 75, 103-114.
- SUDIMACK, J.; J. LEE, R. J.: "Targeted drug delivery via the folate receptor". *Adv Drug Deliv Rev* 2000, 41, 147-162.
- SUH, J. K. F.; MATTHEW, H. W. T.: "Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review". *Biomaterials* 2000, 21, 2589-2598.
- SUTTON, D.; NASONGKLA, N.; BLANCO, E.; GAO, J.: "Functionalized Micellar Systems for Cancer Targeted Drug Delivery". *Pharm Res* 2007, 24, 1029-1046.
- SUZUKI, Y.; TANIHARA, M.; NISHIMURA, Y.; SUZUKI, K.; KAKIMARU, Y.; SHIMIZU, Y.: "A new drug delivery system with controlled release of antibiotic only in the presence of infection". *J. Biomed. Mater. Res.* 1998, 42, 112-116.
- TEIJÓN, C.; GUERRERO, S.; OLMO, R.; TEIJÓN, J. M.; BLANCO, M. D.: "Swelling properties of copolymeric hydrogels of poly(ethylene glycol) monomethacrylate and monoesters of itaconic acid for use in drug delivery". *J Biomed Mater Res B-Applied Biomaterials* (En prensa 2009).
- TEIJÓN, J. M.; TRIGO, R. M.; GARCÍA, O.; BLANCO, M. D.: "Cytarabine trapping in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels: drug delivery studies". *Biomaterials* 1997, 18, 383-388.
- TOIT, R. SIMPSON, T. L.; FONN, D.; CHALMERS, R. L.: "Recovery from hyperemia after overnight wear of low and high transmissibility hydrogels lenses". *Curr Eye Res* 2001, 22, 68-73.
- TORRES-LUGO, M.; PEPPAS, N. A.: "Molecular design and in vitro studies of novel pH-sensitive hydrogels for the oral delivery of calcitonin". *Macromolecules* 1999, 32, 6646-6651.

- ULUBAYRAM, K.; CAKAR, A. N.; KORKUSUZ, P.; ERTAN, C.; HASIRCI, N.: "EGF containing gelatin-based wound dressings". *Biomaterials*, 2001, 22, 1345-1356.
- VAKKALANKA, S. K.; BRAZEL, C. S.; PEPPAS, N. A.: "Temperature and pH-sensitive terpolymers for modulated delivery of streptokinase". *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 1996, 8, 119-129.
- VARSHOSAZ, J.; FALAMARZIAN, M.: "Drug diffusion mechanisms through pH-sensitive hydrophobic/polyelectrolyte hydrogel membranes". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2001, 51, 235-240.
- VASIR, J. K.; LABHASETWAR, V.: "Biodegradable nanoparticles for cytosolic delivery of therapeutics". *Adv Drug Deliv Rev* 2007, 59, 718-728.
- WANG, Y. C.; LIU, X. Q.; SUN, T. M.; XIONG, M. H.; WANG, J.: "Functionalized micelles from block copolymer of polyphosphoester and poly(ϵ -caprolactone) for receptor-mediated drug delivery". *J Control Rel* 2008, 12832-40.
- WANG, Y. Y.; HONG, C. T.; CHIU, W. T.; FANG, J. Y.: "In vitro and in vivo evaluations of topically applied capsaicin and nonivamide from hydrogels". *Int. J. Pharm.* 2001, 224, 89-104.
- WENG, Y.; CAO, Y.; SILVA, C. A.; VACANTI, M. P.; VACANTI, C. A.: "Tissue-engineered composites of bone and cartilage for mandible condylar reconstruction". *J. Oral and Maxillofacial Surgery* 2001, 59, 185-190.
- WICHTERLE O.; LIM, D.: "Hydrophilic gels for biological use". *Nature* 1960, 185, 117-118.
- WOERLY, S.; PLANT, G. W.; HARVEY, A. R.: "Cultured rat neuronal and glial cells entrapped within hydrogel polymer matrices: a potential tool for neural tissue replacement". *Neuroscience Letters* 1996, 205, 197-201.
- WOERLY, S.; PLANT, G. W.; HARVEY, A. R.: "Neural tissue engineering: from polymer to biohybrid organs". *Biomaterials* 1996, 17, 301-310.
- WONG, C. F.; YUEN, K. H.; PEH, K. K.: "Formulation and evaluation of controlled release Eudragit buccal patches". *Int. J. Pharm.* 1999, 178, 11-22.
- WU, P.; FISHER, A. C.; FOO, P. P.; QUEEN, D.; GAYLOR, J. D. S.: "In vitro assessment of water vapour transmission of synthetic wound dressings". *Biomaterials*, 1995, 16, 171-175.
- XUE, W.; CHAMP, S.; HUGLIN, M. B.: "Network and swelling parameters of chemically crosslinked thermoreversible hydrogels". *Polymer* 2001, 42, 3665-3669.
- XUE, W.; CHAMP, S.; HUGLIN, M. B.: "Thermoreversible swelling behaviour of hydrogels based on N-isopropylacrylamide with a zwitterionic comonomer". *Eur. Polym. J.* 2001, 37, 869-875.
- YOSHII, F.; ZHANSHAN, Y.; ISOBE, K.; SHINOZAKI, K.; MAKUUCHI, K.: "Electron beam crosslinked PEO and PEO/PVA hydrogels for wound dressing". *Rad. Phys. Chem.* 1999, 55, 133-138.
- YOUNG, C. D.; WU, J. R.; TSOU, T. L.: "High-strength, ultra-thin and fiber-reinforced PHEMA artificial skin". *Biomaterials* 1998, 19, 1745-1752.
- ZHAO, H.; YUE, L.; YUNG, L.: "Selectivity of folate conjugated polymer micelles against different tumor cells". *Intl J Pharm* 2008, 349, 256-268.
- ZHAO, X.; KATO, K.; FUKUMOTO, Y.; NAKAMAE, K.: "Synthesis of bioadhesive hydrogels from chitin derivatives". *Int. J. Adhesion & Adhesives* 2001, 21, 227-232.
- ZILKHA, A.: "Non-bond crosslinked polymer hydrogels". *Eur. Polym. J.* 2001, 37, 2145-2146.

**DISCURSO DE CONTESTACIÓN
DEL EXCELENTÍSIMO SEÑOR DOCTOR
DON AMANDO GARRIDO PERTIERRA**

**Excmo. Señor Presidente de
la Real Academia de Doctores de España,
Excmos. Señoras y Señores Académicos,
Señoras y Señores:**

Es para mí un gran honor haber sido designado por la Junta de Gobierno de esta Real Academia de Doctores de España para contestar el discurso de ingreso del Dr. José María Teijón Rivera. Un encargo extraordinariamente grato, ya que en el Dr. Teijón concurren suficientes cualidades y méritos para alcanzar la distinción de Académico Numerario y, además, por la gran amistad que nos une nacida hace muchos años, pero también cultivada y madurada a lo largo del tiempo. Mi más sincero agradecimiento a esta Corporación por la encomienda de esta honrosa misión.

Un perspicaz observador dijo que *en este mundo la felicidad es la suma de los pequeños placeres de la vida*. El Dr. Teijón es un hombre feliz porque sabe disfrutar de su familia, de sus amigos y de su trabajo. Tuvo la suerte de casarse con una magnífica mujer, Alicia, quien une a su encanto, la gracia y un saber estar que todos los amigos admiramos; en este día de afirmación de los méritos de José María debemos hacer mención especial a los de Alicia, que, discretamente siempre se ha mantenido en segundo plano y a la que damos la enhorabuena por el incondicional apoyo a su esposo. Matrimonio con dos extraordinarios hijos, César y José María. El primero de ellos, Doctor en Medicina, forma parte del grupo de investigación de su padre. Un grupo de investigación del que conozco a todos sus excelentes miembros y a los que, por la parte que les corresponde, también felicito calurosamente.

COMENTARIOS A SU TRAYECTORIA PROFESIONAL

La amistad es un sentimiento desinteresado, generoso, de entrega y respeto que, cuando se ha mantenido a lo largo del tiempo, comprende un conjunto de deberes y compromisos gratos de cumplir. No quisiera apartarme de la objetividad necesaria al exponer las obras más destacadas que caracterizan la vida académica y científica del Dr. Teijón, para que este docto auditorio pueda juzgar la veracidad de mis aseveraciones.

Su entrega y amor a la docencia le obligó a discurrir por distintas sendas de la enseñanza, superar todas las dificultades y abrir nuevas posibilidades, siempre con un entusiasta afán de superación. Como dijo Machado, *ha sabido hacer caminos andando* por todas las escalas de la enseñanza. Se dedicó muy precozmente a la docencia, ya que en 1965 aprobó las oposiciones de Maestro de Primera Enseñanza. Al mismo tiempo que ejerció de maestro, cursó la Licenciatura en Ciencias Químicas que finalizó en 1971. Ese mismo año es nombrado Profesor Adjunto Contratado de la Facultad Ciencias Químicas de la Universidad Complutense y, en 1977, Profesor Adjunto interino. En 1976 gana la oposición de Agregado Numerario de Bachillerato y, unos años más tarde (1980), la de Catedrático Numerario de Bachillerato. Posteriormente es nombrado Profesor Titular interino de la Universidad Complutense hasta el año 1986, en que obtiene el título de Profesor Titular Numerario. En 2003 gana por oposición la cátedra de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Vigo. Su actividad docente ha sido cuali y cuantitativamente muy intensa puesto que, en algunos cursos, ha impartido simultáneamente las asignaturas de Química General, Fisiología General, Fisiología Especial y Química Biológica. Desde el año 2004 es Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense.

Su trayectoria docente y también investigadora ha cristalizado en la autoría de 28 libros de su especialidad y 110 artículos, 78 de ellos publicados en revistas internacionales de la mayor solvencia y prestigio científico. También ha tomado parte en más de un centenar de Congresos Nacionales e Internacionales presentando 134 comunicaciones. Ha sido director de 15 Tesinas de Licenciatura y 19 Tesis Doctorales, que, todas ellas, obtuvieron la máxima calificación. Como Investigador Principal de

22 proyectos de investigación financiados por diversas entidades como la CAICYT, DGICIT, FIS, CAM, etc. ha demostrado siempre su responsabilidad, dedicación y capacidad investigadora.

Pertenece a diversas asociaciones científicas de prestigio entre las que se encuentran la Sociedades Españolas de Bioquímica y Biología Molecular, Física y Química y Fisiología, siendo supervisor de varias revistas extranjeras del área de su especialidad como el *Journal of Applied Polymer Science*, *Biomaterials*, *Polymer Journal*, *Journal of Inorganic Biochemistry*. Es Asesor de la Fundación General de la UCM para Investigación y Desarrollo y Evaluador de proyectos de la ANEP del Ministerio de Educación y Cultura.

Nuestro beneficiario, en la Universidad, no se ha limitado a cumplir con las misiones esenciales de enseñar e investigar sino que ha realizado otras funciones absolutamente necesarias para un funcionamiento adecuado de la misma y que también ha desarrollado con gran efectividad. En la Facultad de Medicina ha sido Vicedecano de Asuntos Económicos desde 1999 a 2002, Secretario Académico del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular desde 1987 a 1989, Inspector de Servicios de la Universidad Complutense desde 1990 a 2003 y Coordinador y Delegado del curso de Orientación Universitaria entre 1989 y 2001. Es frecuente observar cómo, sin tener en cuenta horarios ni vacaciones, se entrega a su labor con un gran sentido de la responsabilidad. En premio a su dedicación, talento y laboriosidad la Junta de Gobierno de la Universidad Complutense le concedió la Medalla de Servicios Prestados a la Universidad.

COMENTARIOS A SUS INVESTIGACIONES Y A SU DISCURSO

Desde hace más de un año estamos en una crisis profunda íntimamente unida a serias incertidumbres y problemas que nos asaltan continuamente y que, probablemente, sean preludio de un cambio a una nueva época. En la mayoría de ellos hay una referencia a la ciencia, bien porque se deben a una aplicación inicua de sus ideas o de sus métodos o porque, aún sabiendo que existen soluciones, no se quieren o no se saben aplicar. El caso de la superpoblación mundial es a la vez paradigma y paradoja. Mediante la aplicación de medidas de Medicina preventiva y de Higiene

sanitarias se ha reducido de forma drástica la terrible mortalidad infantil, pero la humanidad no ha tenido la comprensión ni la lucidez necesarias para hacer uso de ese hecho beneficioso, como atestiguan trágicamente el número de niños fallecidos en los suburbios de las grandes ciudades y en los países del tercer mundo.

Seguramente, esta crisis se acabará resolviendo como otras, con medidas inteligentes y con nuevos acuerdos sobre normas y valores, aun cuando queden abiertas algunas grietas y fracturas. Ante una crisis similar a ésta se atribuye a Albert Einstein la siguiente reflexión *“No pretendamos que las cosas cambien si siempre hacemos lo mismo. La crisis es la mejor bendición que puede sucederle a las personas y los países porque la crisis trae progresos. La creatividad nace de la angustia, como el día nace de la noche. Es en la crisis donde nace la inventiva, los descubrimientos y las grandes estrategias. Quien supera la crisis se supera a si mismo sin quedar superado. Quien atribuye a la crisis sus fracasos y penurias, violenta su propio talento y respeta más a los problemas que a las soluciones. La verdadera crisis es la crisis de la incompetencia. El problema de las personas y de los países es la pereza para encontrar las salidas y soluciones. Sin crisis no hay desafíos y sin desafíos la vida es una rutina, una lenta agonía. Sin crisis no hay méritos. Es en la crisis donde aflora lo mejor de cada uno, porque sin crisis todo viento es caricia. Hablar de crisis es promoverla, y callar en la crisis es exaltar el conformismo. En vez de esto, trabajemos duro. Acabemos de una vez con la única crisis amenazadora: la tragedia de no querer luchar por superarla”*. De esta misma opinión era partidario Daniel Caraso, el hombre que dio nombre al yogur, fundador de Danone en Europa, orgulloso de su nacionalidad española y que murió el 17 de Mayo pasado, próximo a cumplir 104 años. Caraso en una entrevista decía *“La crisis dará lugar a una nueva forma de hacer las cosas y de entender las empresas”*. Por eso, hay que rechazar todo pesimismo, todo primitivismo, todo recurso a un tiempo pasado, porque la nostalgia es, en este tema, una negación del hombre, que es un ser dinámico y proyectivo. Precisamente, la proyectividad es una de las características más definitorias de la especie humana. El hombre en todo momento está buscando nuevos horizontes, planteándose retos y aceptando desafíos. Si no fuera así, se habría extinguido como especie biológica o estaría confinado en determinadas zonas del planeta, de las que jamás habría podido salir. Los animales se encuentran a gusto en el ambiente al que están adaptados por su biología, los hombres no. Los seres humanos

necesitan ir más allá y seguirán necesitando mientras existan como especie. La Ciencia es una de las formas de realizar esa proyección tan profundamente humana.

Dentro de las Ciencias, la Bioquímica ocupa un lugar preferente porque ha proporcionado los métodos y conocimientos necesarios para una mejor comprensión de la base molecular de la vida. En los últimos años, el ritmo de los descubrimientos en esta disciplina ha sido tan extraordinario, que se ha puesto a la vanguardia de la investigación haciendo posible el nacimiento y desarrollo de una nueva ciencia, la Biología Molecular. La determinación de la secuencia completa del genoma, la caracterización, diagnóstico y control de enfermedades genéticas, así como el desarrollo de fármacos de nuevo diseño, no es más que el anticipo de un futuro esperanzador sobre la base de la ingeniería genética, la ingeniería de proteínas y la biotecnología molecular.

En el impacto de la Bioquímica y Biología Molecular sobre la Medicina, puede ponerse como modelo la utilización de los biomateriales, sustancias que se usan para reparar, restablecer, reemplazar o curar tejidos dañados o enfermos. Precisamente nuestro recipiendario lleva muchos años dedicado a la investigación de estas sustancias y en su magistral discurso, nos ha expuesto un campo de gran interés en Biomedicina.

Si, etimológicamente, el término biomateriales no ofrece ninguna dificultad, sí puede resultar un tanto incierta la extensión del significado, ya que puede ir desde la consideración de un “material biológico” —el hueso, el colágeno, la sangre, etc. entre los de origen animal; la madera, el caucho, los biominerales, etc. entre los de origen vegetal o mineral— a la de cualquier “material que cumpla una función biológica”, con lo que la extensión del concepto podría llegar a alcanzar a ciertos productos como sangre artificial, expansores de plasma, adsorbentes, adhesivos, etc. Bajo la idea con que se interpreta en la actualidad el término “biomaterial”, se considera un material no farmacológico apropiado para su inclusión en sistemas que potencian o sustituyan las funciones de los órganos y tejidos corporales. Para que sea adecuado, no solo debe resultar mecánicamente satisfactorio, sino también biocompatible, es decir debe interactuar con el hospedador de forma no tóxica, controlable y predecible. En un principio, los investigadores se centraron en el desarrollo de materiales con baja reactividad con los tejidos y que produzca una reacción mínima. El com-

portamiento inerte constituye aún un objetivo importante para muchos propósitos, pero no hay nada totalmente inerte para el organismo. Mas aún, los investigadores admiten que no todas las reacciones entre los materiales extraños y el organismo son necesariamente perjudiciales. Por supuesto, se descartan aquellos que provocan inflamaciones o una reacción de rechazo. En cambio, se valora cada vez más algunos materiales muy interactivos. Por ejemplo, varios materiales de implantación forman enlaces químicos con el tejido circundante, lo que estabiliza el implante. Otros materiales son reabsorbidos gradualmente por el organismo cuando dejan de cumplir su finalidad.

Aunque se desconozcan en la actualidad muchas de las causas del envejecimiento fisiológico, sus consecuencias son del todo evidentes. Los dientes duelen y se caen o han de ser extraídos; las articulaciones se vuelven artríticas; los huesos se hacen frágiles y se rompen; la visión y la audición se pierden; el sistema circulatorio da señales de bloqueo; el corazón pierde el control de su ritmo; las manchas y los tumores aparecen en la piel y los huesos. También los accidentes, las guerras y hasta el deporte, figuran entre las causas más o menos naturales del deterioro del cuerpo humano. Causas que originan la necesidad de realizar en el mundo unos treinta millones de implantes al año, sin contar los dentales y los cocleares, utilizando más de un centenar de diferentes biomateriales.

En los registros arqueológicos de China y Egipto se han podido poner de manifiesto el empleo de piedra y marfil en las sustituciones de dientes y la utilización de hebras de seda para suturar heridas; se ha encontrado en una momia egipcia perteneciente a la IV o V dinastía (2.500 años a.C.) dos molares ligados por un hilo de oro. En Siria (600-400 a.C.) se descubrieron vestigios de prótesis en marfil de cuatro dientes inferiores; en el siglo XVI (1565) Fabricio describe la utilización del oro y el marfil; en el siglo XVIII (1775), Pujol lo hace del bronce; en el XIX se utiliza la plata (Rodgers, 1827) y el platino (Levert, 1829); y ya en el siglo XX, se describe por primera vez el empleo del tántalo (Lambotle, 1902), el titanio (Leventhal, 1951), el acero inoxidable (Sherman, 1912) y la aleación de cobalto-cromo-molibdeno (Venable, 1936). El polimetacrilato de metilo se emplea en 1934 por Barber, las cerámicas en 1962 por Smith; en la década de los 60 se emplea el grafito y los carbones pirolíticos por Bokros y los perfluorcarbonos por Osterhom; en la década de los 70, Driskell, Degroot y Jarco describen la utilización del hidroxiapatito y los fosfatos

de calcio; en los 80, Parsons y Alexander implantan fibras de carbono pirrolítico revestidas con ácido poliláctico; en esta década se comienzan a utilizar materiales poliméricos como soportes de fármacos para regular y dosificar su liberación en el organismo (Anserdon y Kim, 1986; Baker, 1987). En los 90 se introduce la bioingeniería de tejidos animales en que plásticos o biopolímeros que sirven de sustratos a cultivos celulares y trasplantes (Langer y Vacanti, 1995).

Si los biomateriales han de reemplazar, como vemos a tejidos vivos, con capacidad de crecimiento y regeneración, y cuyas propiedades físicas son el resultado de millones de años de una optimización evolutiva, no cabe la menor duda del compromiso que su éxito o fracaso representa en la restauración o reparación del organismo. Éxito o fracaso que van a depender de una situación compleja en la que intervienen factores químicos, físicos, biológicos, tecnológicos y clínicos. Estas propiedades, en la mayoría de los tejidos, se intentan imitar mediante la cuidadosa selección de metales, cerámicas, polímeros o sus combinaciones, especialmente diseñadas para que la compatibilidad con el organismo sea óptima. Esta “compatibilidad bioquímica” que deben poseer los biomateriales, debe complementarse con una “compatibilidad biomecánica” en cuanto a su armonización mecánica con los tejidos adyacentes y con una “capacidad bioadhesiva” en su adherencia del material a los tejidos vivos.

La necesidad de mejorar el procesamiento de los biomateriales es un objetivo primordial en la ciencia y la tecnología de materiales; con la idea de identificar nuevas estrategias biomiméticas se intensifica en la actualidad el análisis de los materiales naturales y sus métodos de producción. Las estrategias biomiméticas para el procesamiento de estos materiales imponen la utilización de principios biológicos y químicos para controlar la producción de biomateriales y su diseño microestructural. El complejo proceso de la biomineralización realizado por las células, la finura de su regulación, el preciso control molecular y el desarrollo de su microarquitectura son buenos candidatos a la imitación por parte de los procedimientos artificiales.

Los principios básicos del prototipo de la biomineralización se ilustran con dos casos extremos: la producción de nácar por los moluscos y la de la cáscara de huevo por las aves. Casos a los que pueden añadirse los de la dentina, esmalte, hueso y cartílago. El compuesto mineral es el mismo,

carbonato cálcico, sin embargo las velocidades a los que se lleva a cabo su segregación es notablemente distinta: la producción de nácar es muy lenta, unos pocos gramos al año, mientras que la de la cubierta del huevo es cerca de 1.000 veces más rápida, unos 5 gramos al día. Y de este tipo de procesos, con sus estrategias de síntesis y acoplamiento pueden deducirse enseñanzas para la ciencia de los materiales. En los casos anteriores, cuando las biocerámicas tipo nácar se sintetizan lentamente, se producen estructuras laminares en las que las finas placas cerámicas, embebidas en la matriz orgánica, se disponen paralelas a la superficie. Cuando, al contrario, la síntesis es rápida, como en las cubiertas de los huevos de las aves, las estructuras en columna de la parte mineral y la matriz se disponen de manera perpendicular a dicha superficie. Esto es, la diferencia entre ambos materiales no reside en la naturaleza química del compuesto, que es la misma, sino en la estructura. Hay en la naturaleza otros materiales con estructuras más complejas. En cualquier caso, el conocimiento de los sistemas moleculares que controlan las síntesis biológicas, constituyen un enorme reto para los científicos de nuevos materiales en su intento de copiar la estructura, propiedades y relaciones funcionales de las elegantes estructuras naturales. A este conocimiento contribuyen, entre otras situaciones: la distribución espacial de la matriz de los biopolímeros de origen celular; la regulación molecular del proceso de biomineralización; la nucleación mineral y su control molecular en el seno de la matriz; la supersaturación local debida a la presencia de iones, polielectrolitos, proteínas ligantes de calcio, enzimas o fosfolípidos. A estas estrategias biológicas de biomineralización pueden añadirse, la formación de cristales de tamaño y orientación definidos y su relación con la estructura de la matriz; la remodelación de la fase mineral mediante procesos realizados por células y el crecimiento macroscópico de muchas unidades sintetizadas independientemente, que se unen y empaquetan en un frente móvil.

Durante los últimos mil millones de años de evolución, los organismos multicelulares han desarrollado una serie de proteínas con un amplio margen de posibilidades de unión. Estas macromoléculas son secretadas y depositadas en la vecindad de las células formando, junto con otras sustancias, una red organizada conocida como “matriz extracelular”. Las matrices extracelulares mantienen unidas las células o las retienen fijas a sustratos, intervienen en su comunicación, y son esenciales durante la evolución, particularmente de los vertebrados donde grandes masas de células se organizan en tejidos. Además, las matrices extracelulares no

son plataformas rígidas o semirrígidas en las que residen las células, sino factores dinámicos en la regulación ambiental de la diferenciación celular, mediadas por interacciones de los receptores con el citoesqueleto. Tales interacciones de las células con sus matrices extracelulares son procesos importantes en el desarrollo embrionario, la regulación del crecimiento, la modulación de la morfología, la migración celular, la transformación oncogénica y las metástasis. La mayor parte de los procesos moleculares que existen entre las células y la matriz se están conociendo cada vez mejor, gracias sobre todo a la determinación de la estructura primaria de las proteínas y a la localización precisa de los dominios de unión. La tecnología del ADN recombinante conduce al aislamiento de los cADN y a la posterior determinación de la secuencia nucleotídica y de aminoácidos. Hecho fundamental para la comprensión de las propiedades y funciones de las moléculas y, en nuestro caso, de los modelos de biomineralización.

Por lo que se refiere a los biomateriales poliméricos de síntesis, su naturaleza química abarca principalmente, entre los más comunes, al polimetacrilato de metilo, los cauchos de silicona, los polietilenos de peso molecular ultraelevado, los poliuretanos, el polipropileno, el politetrafluoroetileno (PTFE), los hidrogeles acrílicos y las polisulfonas. Cada uno de ellos con características más adecuadas a la índole de sus aplicaciones: semipermanentes, temporales o extracorpóreos. Entre los implantes quirúrgicos más permanentes, que emplean estos materiales, figuran las prótesis de huesos y articulaciones, de esófago y gastrointestinales, vasculares y valvulares, los injertos plásticos y las prótesis intraoculares, en dependencia de las exigencias particulares de dureza, fatiga, elasticidad, elongación y moldeo. Así, los polímeros porosos, como el polipropileno y los poliésteres fibrosos, buscan su especial acomodo en la sustitución de tendones, ligamentos y superficies de articulaciones. La estructura orientada de las fibras de polipropileno otorga al polímero un elevado módulo de elasticidad y de resistencia a la fatiga, comparado con el de otros biopolímeros sintéticos. El bajo módulo de elasticidad, la elongación elevada y la baja resistencia del caucho de silicona (polidimetilpolisiloxano) hace a este material de especial utilidad en el aumento de los tejidos blandos. El elevado módulo de elasticidad y elongación, así como la gran inercia química del politetrafluoroetileno y sus compuestos de carbón y alúmina, hacen de este polímero un material de extensa aplicación en los últimos años. La índole temporal de las aplicaciones, como en

el caso de las suturas biodegradables, obliga al empleo de polímeros del tipo del ácido poliglicólico o poliglicoláctico o, incluso, de los poliuretanos; los adhesivos y recubrimientos pueden llegar a estar constituidos por hidrogeles acrílicos y resinas epoxídicas. La frecuente utilización de dispositivos complejos del tipo de órganos artificiales extracorpóreos para el bombeo (corazón), diálisis (riñón), oxigenación (pulmón), dosificación de insulina (páncreas), etc. es causa de exigencias adicionales de hemocompatibilidad, frente a la menor necesidad de propiedades rigurosas.

Teniendo en cuenta que el éxito de los diferentes productos utilizados como biomateriales depende, en muy buena medida, de sus interacciones “in vivo” con células y fluidos biológicos, se diseñan en la actualidad materiales complejos de polímeros reforzados con sustancias minerales como fibras de carbono o metales porosos. En varios laboratorios de Estados Unidos se han desarrollado también distintos materiales cerámicos, vítreos y vitro-cerámicos, todos ellos “bioactivos”, que forman enlaces químicos entre su superficie y el hueso adyacente estimulando la formación de hueso nuevo. Los nuevos materiales también mejoran la reparación de ligamentos y tendones: fibras elásticas y resistentes que unen respectivamente el hueso al hueso y el músculo al hueso. Entre ellos se encuentran el Kevlar (un polímero similar al caucho revestido de silicona), la fibra de poliéster dacrón (tereftalato de polietileno) y los polímeros de PTFE con fibras de carbono pirolizado. En la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de New Jersey implantan fibras de carbono pirolizado revestidas, cada una, con ácido poliláctico. Este híbrido tiene la ventaja de que, al cabo de dos semanas de su implantación en el organismo, el ácido poliláctico se reemplaza por células que producen colágeno. El colágeno es una sustancia que puede participar bajo formas variadas: colágeno microcristalino, colágeno fibrilar, esponjas de colágeno, compuestos con glucosaminoglicanos, con glutaraldehído, y complejos sepiolita (silicato de magnesio)-colágeno. En estos casos, la biocompatibilidad viene influida por el comportamiento del colágeno en procesos de modificación del entorno celular, tales como los de metabolismo, crecimiento y morfología. Los colágenos constituyen el tipo de compuestos más abundantes en el reino animal, el hombre incluido. Esta proteína representa el 90% del contenido orgánico de los tejidos tales como hueso, piel, tendones y ligamentos y su metabolismo está directamente implicado en muchos procesos fisiológicos de regeneración tisular y adaptación biológica. Se abre de esta forma la posibilidad de diseñar nuevos bioma-

teriales, en los que la manipulación de numerosas variables —químicas, físicas y tecnológicas— podrá modular las propiedades y la aplicabilidad de estos interesantes productos.

La naturaleza y aplicaciones de los biomateriales avanzan día a día. Un receptor destacado es el constituido por la llamada “materia blanda”, los polímeros flexibles y los agentes tensoactivos. Con el infantil experimento de las pompas de jabón, se han desarrollado los sistemas de “bica-pa”, con abundantes aspectos teóricos —incluso los que los relacionan con la teoría de las cuerdas de la física de partículas— y prácticos del tipo del de la modelización de los glóbulos rojos y el agente tensoactivo pulmonar, cuya deficiencia o disfunción es causa de graves anomalías patológicas humanas. En la actualidad se están sintetizando geles poliméricos denominados inteligentes, uno de los campos más prometedores de este siglo. Geles dotados de capacidad de responder a los estímulos; y así hincharse o encogerse, absorber o eliminar agua, en respuesta a variaciones de luz, pH, temperatura y/o campos eléctricos. La tecnología basada en este tipo de geles podrá desarrollar, por ejemplo, sistemas de liberación controlada de medicamentos. La modificación de la estructura química de las redes poliméricas mediante la adición de cadenas laterales podrá modular la naturaleza de las respuestas. A finales del siglo pasado investigadores de la Universidad de Washington diseñaron una bomba para la dosificación de insulina basada en estos materiales. Su intención era regular de manera automática el suministro de insulina en el tratamiento de la diabetes, una enfermedad que, se ha calculado, sufren cerca de 200 millones de personas en el mundo. Posteriormente investigadores de la Universidad de Tejas y Monterrey, trabajando conjuntamente, han utilizado hidrogeles iónicos capaces de absorber grandes cantidades de agua sin disolverse, con un aumento reversible de volumen debido a la acción de fuerzas electrostáticas internas dependiente del pH del ambiente. Gracias a su afinidad por el agua y su viscoelasticidad estos materiales embeben una solución concentrada de insulina y glucosa oxidasa, una enzima que transforma la glucosa en ácido glucónico. Cuando se elevan excesivamente los niveles de glucosa, el ácido producido por la enzima hincha el gel provocando la salida de insulina de las partículas poliméricas. Estos investigadores proponen varias opciones para colocar los hidrogeles: en el peritoneo (una región cercana al páncreas), subcutáneamente, por vía oral o mediante inyección intravenosa. Esta última posibilidad presenta el problema del tamaño de las partículas, ya que la sangre se difunde rápida-

mente por todo el organismo y puede obstruir los capilares sanguíneos. Es una condición imprescindible para su uso en humanos que las partículas de hidrogeles sean lo suficientemente pequeñas para no obstruir venas y arterias. En el 2003, el Dr. Maitra y col. de la Universidad de Delhi en la India sintetizaron, por primera vez, nanopartículas de polivinilpirrolidona capaces de atrapar moléculas con fines terapéuticos. La liberación de las moléculas depende del grado de entrecruzamiento del material polimérico, del tamaño de la partícula, del pH y/o de la temperatura. Recientemente investigadores de la Universidad del País Vasco han sintetizado partículas de nanohidrogeles de tamaño homogéneo y muy pequeño (15-30 nanómetros). Estas partículas, que se cargan con ácido fólico (que tiene la capacidad de detectar células cancerígenas), y el fármaco antitumoral correspondiente, atraviesan fácilmente las membranas celulares y liberan el fármaco en el interior de la célula malignizada. Precisamente, nuestro beneficiario, que trabaja en colaboración con dichos investigadores, está realizando pruebas en cultivos celulares e “in vivo” para demostrar la eficacia terapéutica de estos nanohidrogeles.

El diseño de éstos y otros materiales similares, no sólo permitirá su acción sobre células cancerosas sino que reaccionarán con moléculas específicas (metabolitos, contaminantes, etc.) y se podrán utilizar en el tratamiento de muchas enfermedades. Esta claro que el único límite de estos geles inteligentes será la inteligencia de los investigadores, y en el caso del Dr. Teijón, es considerable.

Excmo. Señor Presidente, Excmos. Señoras y Señores Académicos

El Dr. Teijón, como hemos podido observar, entra en la Academia por sus muchos méritos. La exposición de su *curriculum* nos ha dado idea de la ingente tarea desarrollada a lo largo de su vida con tenacidad e ilusión y estoy seguro que prestará a esta Real Academia la contribución de su saber, prestigio, madurez e inteligencia.

Los Académicos, somos afortunados porque vamos a tener un compañero con una gran capacidad de innovación, clarividencia, altruista y siempre con un semblante alegre. Este último aspecto es, quizás, testimonio de lo que dijo, hace cerca de quinientos años, el escritor y filósofo

Michel Eyquem De Montaigne: *La prueba más clara de la sabiduría es una alegría continua.*

Termino agradeciendo nuevamente a la Corporación el honor que me ha conferido para contestar al discurso del nuevo Académico, a quien felicito entusiastamente y, con un gran abrazo, le doy la más cordial bienvenida.

Muchas gracias.

