

Indice

<u>1. INTRODUZIONE</u> pag.	1
1.1 Ingegneria tissutale pag.	1
1.2 Biomateriali pag.	2
1.3 Polimeri biodegradabili pag.	5
1.3.1 Biomateriali sintetici pag.	6
1.3.2 Biomateriali biorisorbibili di derivazione biologica pag.	8
1.4 Il chitosano nel drug delivery e nell'ingegneria tissutale pag.	11
1.5 Applicazioni del chitosano pag.	14
1.6 Scaffold tridimensionali per l'ingegneria tissutale pag.	14
1.6.1 Scaffold di chitosano impiegati nell'ingegneria tissutale pag.	15
1.6.1 Applicazioni del chitosano e suoi derivati nella ricostruzione o riparazione di organi..... pag.	16
1.7 Hydrogel pag.	22
1.7.1 Hydrogel come drug delivery system pag.	23
1.7.2 Classificazione degli hydrogel pag.	24
1.8 Tecniche di preparazione di scaffold polimerici pag.	25
1.9 Biocompatibilità e biodegradabilità pag.	27
<u>2. FINALITA' DELLA RICERCA</u> pag.	30
<u>PRIMA PARTE</u> pag.	32
3. Materiali e metodi pag.	32
3.1 Materiali pag.	32
3.2 Metodi pag.	33
3.2.1 Purificazione e preparazione di scaffold e film	

di chitosano	pag.	33
3.2.2 Soluzioni di chitosano	pag.	33
3.2.3 Produzione di film e di scaffold tubulari monostrato.....	pag.	34
3.2.4 Preparazione di scaffold tubulari monostrato.....	pag.	36
3.3 Caratterizzazione chimico-fisica	pag.	38
3.3.1 Prove di stress meccanico	pag.	38
3.4 Caratterizzazione microstrutturale.....	pag.	39
3.4.1 Analisi al SEM e misura della dimensione dei pori	pag.	39
3.4.2 Porosità percentuale	pag.	39
3.5 Studi di permeazione della bile	pag.	39
3.6 Test di citocompatibilità	pag.	41
3.6.1 Colture cellulari	pag.	41
3.6.2 Colture cellulari di controllo.....	pag.	41
3.6.3 Semina cellulare su scaffold tubulare	pag.	42
3.7 Osservazione al microscopio ottico delle sezioni istologiche ..	pag.	42
3.8 Proliferazione e mantenimento del differenziamento		
cellulare.....	pag.	43
3.8.1 Immunoistochimica	pag.	43
4. Risultati e discussione	pag.	45
4.1 Matrici tridimensionali tubulari	pag.	45
4.2 Determinazione del peso molecolare del chitosano	pag.	46
4.3 Caratterizzazione chimico-fisica degli scaffold tubulari	pag.	47
4.4 Analisi al SEM e misura della porosità	pag.	48
4.5 Studi di permeazione della bile	pag.	52
4.6 Test di citocompatibilità	pag.	53
4.6.1 Colture cellulari	pag.	53
4.6.2 Sezioni istologiche	pag.	54
4.7 Proliferazione e mantenimento del differenziamento		

cellulare	pag.	56
4.6.1 Immunoistochimica.....	pag.	56
4.8 Discussione	pag.	58
4.9 Conclusione prima parte	pag.	61
<u>SECONDA PARTE</u>	pag.	62
5. Materiali e metodi	pag.	62
5.1 Materiali	pag.	62
5.2 Metodi	pag.	62
5.2.1 Purificazione del di chitosano	pag.	62
5.2.2 Soluzioni di chitosano	pag.	61
5.2.3 Scaffold circolari di chitosano	pag.	63
5.2.4 Film circolari di chitosano	pag.	63
5.2.5 Bistrato (scaffold+film).....	pag.	64
5.3 Caratterizzazione chimico-fisica e microstrutturale	pag.	65
5.4 Assorbimento di acqua in relazione al grado di disidratazione degli scaffold	pag.	65
5.5 Studi di biocompatibilità	pag.	65
6. Risultati e discussione	pag.	68
6.1 Purificazione e preparazione di scaffold e film di chitosano ...	pag.	68
6.2 Caratterizzazione chimico-fisica degli scaffold	pag.	68
6.2.1 Porosità percentuale	pag.	68
6.2.2 Assorbimento di acqua in relazione al grado di disidratazione degli scaffold.....	pag.	70
6.2.3 Microscopia elettronica a scansione (SEM) e misura della dimensione dei pori	pag.	71
6.3 Caratterizzazione meccanica degli scaffold	pag.	74
6.3.1 Modulo di Young e allungamento alla rottura.....	pag.	74

6.4 Caratterizzazione chimico-fisica dei film	pag. 78
6.5 Caratterizzazione meccanica dei film.....	pag. 79
6.5.1 Modulo di Young e allungamento alla rottura.....	pag. 79
6.6 Caratterizzazione chimico-fisica e meccanica del bistrato di chitosano.....	pag. 80
6.7 Studi di biocompatibilità	pag. 81
6.8 Discussione	pag. 86
6.9 Conclusione seconda parte.....	pag. 88
5. CONCLUSIONI GENERALI	pag. 89
BIBLIOGRAFIA.....	pag. 90