

108



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**TÉCNICA HÍBRIDA PROTOTIPADO RÁPIDO / ELECTROHILADO  
PARA ANDAMIOS CELULARES DE ESTRUCTURA MIXTA**

TESIS QUE PRESENTA

**JOSUÉ AUSTRIA PÉREZ**

Para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias (Ingeniería Biomédica)**

**ASESOR: Dr. ROBERTO OLAYO GONZÁLEZ**

**JURADO CALIFICADOR**

PRESIDENTE	Dr. GERARDO MUÑOZ HERNÁNDEZ	(UAM-C)
SECRETARIO	Dr. ROBERTO OLAYO GONZÁLEZ	(UAM-I)
VOCAL	Dra. ATLÁNTIDA MARGARITA RAYA RIVERA	(HIMFG)

**México, D.F. julio de 2013**

## Dedicatoria y agradecimientos

A Fernando Austria Escobedo (1943-2013), por el ratito tan alegre que fue la vida contigo, por tu constante, incondicional, paciente e insustituible apoyo y guía, ejemplo y sabio consejo, por tu brazo, que siempre fue fuerte y siempre fue amigo. Gracias por la confianza y la tranquilidad que me daba conversar contigo. Por todos los años, por todos los días, Gracias. Dios te bendiga y te guíe en tu nuevo camino, Papá.

Quiero agradecer a todos aquellos que en algún momento me brindaron su ayuda, sin la cual este trabajo no habría podido realizarse:

A mi esposa Itandehui y a mis hijos Daniela y Fernando por ser mi motivación en cada día. A mi madre, Ma. Eugenia Pérez Palacios, por su cariño, apoyo total y comprensión. Al Dr. Roberto Olayo González, por su invaluable y generoso respaldo académico y personal. A los amigos, Everardo, Herón, Nancy, Pedro, por su solidaria e imprescindible presencia en las dificultades y en las alegrías. A mis maestros, Dr. Juan Morales Corona, Dr. Humberto Vázquez Torres, Dr. Juan Carlos Echeverría Arjonilla. Ing. Donaciano Jiménez Vázquez, M. en C. Miguel Cadena Méndez por su enriquecedora cátedra y su soporte profesional y desinteresado. A el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICyTDF) por el soporte financiero proporcionado. A los departamentos de Urología y Ortopedia, a través del Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del HIMFG, en especial a la Dra. Atlántida M. Raya Rivera por su imprescindible soporte técnico. A los maestros Irma S. Salas Juárez, y J.M. Alfonso Ochoa Cano por su muy valioso y oportuno apoyo. A Eugenia Méndez Macías, Everardo Severiano Barojas, David Austria Pérez y Fernando Austria Escobedo, quienes invirtieron su tiempo y su talento de manera entusiasta y cooperativa en la concepción y ejecución de este trabajo. A mis sinodales, Dra. Atlántida Margarita Raya Rivera, Dr. Gerardo Muñoz Hernández, Dr. Roberto Olayo González, por su valiosa y acertada revisión. A Nancy Narváez Sandoval por mil y muchas más cosas.

## ABSTRACT

It was verified the feasibility of combining the techniques of rapid prototyping and electrospinning by building a device capable of producing a new type of hybrid cell scaffold with possibilities of application in reconstructive orthopedic and any other application that requires a definition of controllable form and a micro and nanofiber microarchitecture. This appliance has been made based on free hardware and software technologies, Makerbot, Arduino and Processing basically. The technique is proposed to take advantage of the excellent performance of the electrospun scaffolding as culture media and at the same time exceeding the mechanical limitations of these materials by intercalating electrospun and melted polymer layers, both deposited under controlled conditions. It was assumed that this kind of scaffold would have enough rigidity to serve as a temporarily prostheses with the peculiarity that it is degradable and at the same time it will promote cell proliferation and the formation of new bone tissue inside the biomaterial.

## RESUMEN

Se verificó la viabilidad de combinar las técnicas prototipado rápido y electrohilado mediante la construcción de un aparato capaz de producir un nuevo tipo de andamio celular híbrido con posibilidades de aplicación en ortopedia reconstructiva y cualquier otra aplicación que requiera de una definición de forma controlable y una microarquitectura de micro y nanofibras. Este aparato se ha realizado basándose en tecnologías de hardware y software libres, Makerbot, Arduino y Processing básicamente. Se propone una técnica para aprovechar el excelente desempeño de los andamios electrohilados como medios de cultivo a la vez que se superan las limitantes mecánicas de estos materiales intercalando, entre cada capa electrohilada, una capa de polímero fundido depositado controladamente, esta capa provee de soporte mecánico y definición de forma al andamio bajo la hipótesis de que un material de este tipo tendrá la rigidez necesaria para fungir temporalmente como prótesis con la peculiaridad de degradarse paulatinamente, y al mismo tiempo promoverá la proliferación celular y la formación de neot Tejido óseo hacia el interior del volumen de biomaterial.

# ÍNDICE

ABSTRACT .....	I
RESUMEN .....	I
ÍNDICE.....	II
LISTA DE FIGURAS .....	V
LISTA DE ABREVIATURAS .....	VI
<b>I INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
I.I ANTECEDENTES .....	1
I.II LA INGENIERÍA DE TEJIDOS.....	2
I.III SOLUCIONES ACTUALES Y SUS LIMITACIONES .....	3
I.IV SOLUCIONES EN DESARROLLO .....	4
I.V JUSTIFICACIÓN .....	6
I.VI PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO DEL APARATO PROPUESTO .....	9
<b>II REVISIÓN DE LA LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
II.I ANATOMÍA DEL HUESO .....	13
II.II BIOMATERIALES .....	14
II.II.1 <i>Definición, clasificación, aplicaciones y características ideales</i> .....	14
Biomateriales metálicos .....	16
Biomateriales poliméricos .....	19
Biomateriales poliméricos biodegradables .....	20
Biomateriales cerámicos .....	22
Biomateriales compuestos .....	24
II.II.2 <i>Procesamiento de los biomateriales</i> .....	24
II.II.3 <i>Procesos en la interface del biomaterial</i> .....	25
Reacción de cuerpo extraño.....	25
II.III NANOTECNOLOGÍA .....	26
II.III.1.1 <i>Aplicaciones médicas de las nanotecnologías</i> .....	26
II.III.1.2 <i>Nanobiomateriales</i> .....	27
II.III.1.3 <i>Nanotecnologías para la ingeniería de tejidos</i> .....	27
II.IV LA TÉCNICA ELECTROHILADO .....	27
II.IV.1 <i>Nanofibras por Electrohilado</i> .....	27
II.IV.2 <i>Configuraciones básicas</i> .....	28
II.IV.3 <i>Aplicaciones en ingeniería de tejidos</i> .....	30
II.IV.4 <i>Factores asociados a la morfología</i> .....	30
II.IV.5 <i>Materiales utilizados en la fabricación de micro y nanofibras electrohiladas</i> .....	34
Nanocompositos polímero/cerámica .....	34
Agentes porógenos .....	34
II.V PROTOTIPADO RÁPIDO E IMPRESIÓN EN 3 DIMENSIONES .....	34
II.V.1 <i>Principales técnicas RP</i> .....	35

Esterolitografía .....	35
RP de metales.....	36
Sinterizado laser selectivo .....	36
Depósito de fundidos base cera .....	37
Superposición de laminados .....	37
Inyección de tinta .....	37
Consolidación por ultrasonido .....	37
II.V.2 <i>Dispositivos específicos para ingeniería de tejidos</i> .....	37
II.V.3 <i>Impresoras 3D DIY basadas en el proyecto RepRap.</i> .....	38
II.V.4 <i>Aplicaciones del prototipado rápido</i> .....	38
II.V.5 <i>Aplicaciones médicas del prototipado rápido</i> .....	39
II.V.6 <i>Aplicaciones en ingeniería de tejidos</i> .....	40
II.V.7 <i>Combinaciones del RP con otras tecnologías</i> .....	42
II.V.8 <i>Andamios mixtos RP-EH</i> .....	42
II.VI   ESTADO ACTUAL DE LOS ANDAMIOS PARA INGENIERÍA DE TEJIDOS.....	42
<b>III   DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN .....</b>	<b>44</b>
III.I   CONSIDERACIONES DE DISEÑO DEL APARATO PROPUESTO .....	44
III.I.1 <i>Selección de la tecnología depósito dirigido de fundidos</i> .....	44
III.I.2 <i>Componentes básicos del sistema</i> .....	45
III.II   DETALLES DE LA CONSTRUCCIÓN .....	45
III.II.1 <i>Extrusor</i> .....	45
III.II.2 <i>Sistemas electro-mecánicos</i> .....	46
Plataforma de formado .....	46
Desplazamientos lineales compuerta entre subcámaras y ejes X' y Z' .....	47
Inyector neumático .....	47
Brazo inyector .....	48
Sistema de limpieza del inyector.....	48
Ventilación .....	48
III.II.3 <i>Soporte de recolección</i> .....	49
III.II.4 <i>Fuente de alto voltaje</i> .....	49
III.II.5 <i>Cámara</i> .....	49
III.II.6 <i>Control de temperatura</i> .....	51
III.II.7 <i>Control electrónico</i> .....	51
III.II.8 <i>Lógica de operación</i> .....	54
Algoritmo de impresión.....	54
Algoritmo simplificado microcontrolador electrohilado/alternancia .....	55
Algoritmo simplificado interfaz gráfica de usuario (GUI) .....	57
Algoritmo operador.....	58
III.III   INTEGRACIÓN, CALIBRACIÓN Y PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO .....	59
III.IV   CONSTRUCCIÓN DE UN ANDAMIO HÍBRIDO.....	60
<b>IV   DISCUSIÓN.....</b>	<b>61</b>
<b>V   CONCLUSIONES.....</b>	<b>64</b>
V.I   PROPUESTAS PARA TRABAJOS POSTERIORES .....	65
<b>GLOSARIO .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>67</b>

APÉNDICE A	ARQUITECTURA DEL MICROCONTROLADOR ATMEL® AT2560 .....	74
APÉNDICE B	DIAGRAMA ELÉCTRICO-ELECTRÓNICO MAKERBOT THING-O-MATIC .....	75
APÉNDICE C	INFORMACIÓN TÉCNICA ACTUADORES LINEALES SERVOCITY .....	76
APÉNDICE E	HOJA TÉCNICA VÁLVULA SOLENOIDE ECI (ABSTRACTO).....	77
APÉNDICE F	HOJA TÉCNICA SENSOR DE PRESIÓN (ABSTRACTO).....	80
APÉNDICE G	HOJA TÉCNICA ÁCIDO POLILÁCTICO (EXTRUÍDO) .....	84
APÉNDICE H	TARJETA DE CONTROL DE POTENCIA LOGOS ELECTROMECHANICAL .....	87

## LISTA DE FIGURAS

Fig. I-1	Ejemplo de la estrategia de reconstrucción de la ingeniería de tejidos.....	3
Fig. I-2	Ejemplo de reconstrucción ósea experimental por RP.....	4
Fig. I-3	Implante de andamio de pabellón auricular humano en roedor.....	5
Fig. I-4	Microfotografías de fibras electrohiladas.....	6
Fig. I-6	Equipo de impresión tridimensional (SONY™).....	7
Fig. I-5	BD® 3D Calcium phosphate scaffold.....	7
Fig. I-7	Esquema de electrohilado convencional con recolección por tambor.....	8
Fig. I-8	Esquema del andamio propuesto.....	9
Fig. I-9	Esquema simplificado del aparato construido.....	11
Fig. I-10	Estrategia básica de impresión de la técnica propuesta.....	12
Fig. II-1	Regiones de un hueso largo (corte transversal).....	13
Fig. II-2	Pasado, presente y futuro de los biomateriales aplicados a la clínica.....	14
Fig. II-3	Clasificación de los biomateriales según su origen.....	15
Fig. II-4	Factores que afectan las interacciones entre un biomaterial y el tejido.....	26
Fig. II-5	Cono de Taylor del electrohilado y andamio de fibras electrohiladas.....	28
Fig. II-6	Esquema básico y fibras configuración <i>needleless</i> .....	29
Fig. II-7	Configuración básica de electrohilado por inyector.....	29
Fig. II-8	Dos modalidades del electrohilado por inyección.....	30
Fig. II-9	Efectos de la magnitud del campo eléctrico en el fluido.....	33
Fig. II-10	Posibles inestabilidades que pueden inducirse en un jet viscoelástico.....	33
Fig. II-11	Estereolitografía.....	36
Fig. II-12	Principales campos de aplicación del prototipado rápido.....	39
Fig. II-13	Ejemplos de aplicaciones médicas del prototipado rápido.....	40
Fig. II-14	Artefactos en el RP.....	41
Fig. III-1	Esquema del aparato híbrido Impresión 3D/electrohilado.....	44
Fig. III-2	Impresora 3D Makerbot™ Thig-o-Matic Stepstruder MK6 plus.....	46
Fig. III-3	Circuitos eléctrico y neumático del inyector de electrohilado.....	47
Fig. III-4	Rejilla de recolección.....	49
Fig. III-5	Chasis de aluminio.....	51
Fig. III-6	Distribución de <i>pines</i> tarjeta Arduino y diagrama eléctrico del aparato.....	53
Fig. III-7	Una capa diseccionada del modelo extruido/electrohilado.....	54
Fig. III-8	Interfaz gráfica de usuario etapa de electrohilado/alternancia de técnicas.....	59
Fig. IV-1	Subcámara de electrohilado y andamio extruido/electrohilado.....	63
Fig. V-1	Recolector de tambor para electrohilado convencional en construcción.....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS

### A

ABS – acrilonitrilo-butadieno-estireno  
AC – corriente alterna  
ADK – *Accessory Development Kit*  
AISI – *American Iron and Steel Institute*  
ARD – Arduino®  
ATSM – *American Society for Testing Materials*

### C

CAD – diseño asistido por computadora (*computer aided design*)  
CNC – control numérico computarizado  
CT – tomografía computarizada

### D

DC – corriente directa  
DIY – hágalo usted mismo (*do it yourself*)

### E

ECM – matriz extracelular  
EH – electrohilado

### F

FDM – modelado por depósito de (materiales) fundidos (*fused deposition modeling*)

### H

HAp – hidroxiapatita  
HDPE – polietileno de alta densidad  
HIMFG – Hospital Infantil de México Federico Gómez

### I

IDE – entorno de desarrollo integrado  
IT – ingeniería de tejidos

### L

LIT – Laboratorio de Ingeniería de Tejidos (HIMFG)

### M

MRI – imagenología por resonancia magnética

### O

OFF apagado  
ON encendido

## P

PC – policarbonato  
PCL – poli(caprolactona)  
PET – poli(etilen tereftalato)  
PGLA – poli(ácido glicólico)  
PID – proporcional-integrador-derivativo (control)  
PLA – poli(ácido láctico)  
PPy – poli(pirrol-yodo)  
PSZ – zirconia parcialmente estabilizada  
PVA – poli(alcohol vinílico)  
PVC – poli(cloruro de vinilo)  
PWM – modulación por ancho de pulso

## R

rhBMP – proteínas óseas morfogenéticas replicantes humanas  
RP – prototipado rápido (técnica)

## S

SAF2507 – 2507  
SSR – relevador de estado sólido (*solid state relay*)

## T

TA – temperatura ambiente  
TG – temperatura de transición vítrea  
ToM – (Impresora 3D Makerbot™) Thing-o-Matic  
TZP zirconia tetragonal estabilizada en policristales

## U

UHMWPE – poli(etileno) de ultra alto peso molecular (*ultra high molecular weight poli ethilen*)  
USD – dólar americano  
UV – ultravioleta

# I INTRODUCCIÓN

## I.I ANTECEDENTES

Ante la necesidad de restitución de la funcionalidad anatómica/fisiológica de estructuras con problemas de origen genético, lesionadas por accidente, enfermedad, extirpación o deterioro natural, el humano ha aprovechado, desde los inicios de la civilización, la capacidad de tolerancia del cuerpo para repararlo, implantando materiales ajenos al mismo. Los primeros implantes de los que se tiene registro son aplicaciones dentales de origen animal, metales y piedras. Sin embargo, el escaso conocimiento de los conceptos biocompatibilidad y esterilización implicó una baja posibilidad de éxito en la mayoría de los implantes anteriores a la Segunda Guerra Mundial. La ciencia médica moderna ha encontrado soluciones como son los trasplantes de origen animal y/o humano; sin embargo, estos suelen presentar una alta incidencia de complicaciones debidas al rechazo por parte del sistema inmunológico o, en el caso del uso de tejido autólogo de región diferente a la tratada, pueden incluso resultar en una malignización del órgano reparado<sup>1,2</sup>. Una alternativa de creación relativamente nueva es el uso de biomateriales que estimulen, refuercen y utilicen los mecanismos de reparación propios del cuerpo para su rehabilitación. Un biomaterial es cualquier sustancia (que no sea una droga) o combinación de sustancias sintéticas o naturales, que pueden ser usadas como parte o sustitución total de un sistema que trata, aumenta o reemplaza cualquier tejido, órgano y/o función del cuerpo por algún periodo de tiempo. Los biomateriales deben tener la capacidad de estar en contacto con el tejido vivo y no causar efectos adversos o tóxicos ni inducir reacción inflamatoria o de cuerpo extraño; ni desencadenar respuesta del sistema inmunológico y no deben alterar genéticamente a las células en su entorno. Cada año, el uso de biomateriales en la medicina clínica salva y mejora la vida de decenas de miles de personas<sup>3,4</sup>.

Las lesiones óseas de origen traumático y patológico son un problema de salud pública importante que, entre otros, tiene como factores de riesgo los siguientes: Edad avanzada, sexo femenino, posmenopausia, raza, osteoporosis primaria, sedentarismo, alteraciones de la visión o del equilibrio, anormalidades de la marcha, pérdida de grasa y masa muscular, factores ambientales, deficiencias en el equipamiento urbano, laboral y/o doméstico; evento vascular cerebral, síncope, hipotensión, enfermedad de Parkinson, demencia, paraparesia, medicación (benzodiazepinas, antidepresivos, tricíclicos, antipsicóticos, corticoesteroides y barbitúricos), desnutrición, abuso de alcohol o de otras sustancias, inmovilización, etc. Así mismo, las lesiones óseas suelen tener consecuencias como son: Descompensación de las enfermedades crónicas, trastornos hidroelectrolíticos,

trombosis venosa profunda, tromboembolismo, retención aguda de orina, incontinencia urinaria y/o fecal, pérdida de capacidad funcional, estreñimiento y obstrucción intestinal, dolor, hemorragia interna, anemia, síndrome confusional agudo, infecciones, inmovilidad, depresión y muerte<sup>5</sup>. Siendo las lesiones en hueso el punto de convergencia de un número tan grande de eventos clínicos, el estudio de estrategias de reparación eficientes es de suma relevancia en el campo de la medicina, la ingeniería biomédica y las demás ciencias biológicas involucradas en el tema.

Las soluciones actuales suelen reemplazar de por vida las estructuras que tratan, la nueva tendencia en el diseño de materiales es que éstos sean solo un remplazo temporal, vía hacia una autorestauración orgánica. En la última década la ingeniería de tejidos óseos ha registrado avances sin precedentes, una estrecha colaboración de equipos multidisciplinarios (ingenieros, biotecnólogos, biólogos, médicos, etc.) comienza a generar resultados de amplia aplicación clínica en el mediano plazo. Los retos actuales son: Diseño y construcción de estructuras de soporte personalizadas y optimizadas en recursos y efectividad, dominio de los mecanismos de señalización a nivel célula, reconstrucción de defectos óseos de gran tamaño (superiores al 8% de la pieza)<sup>6,7</sup>.

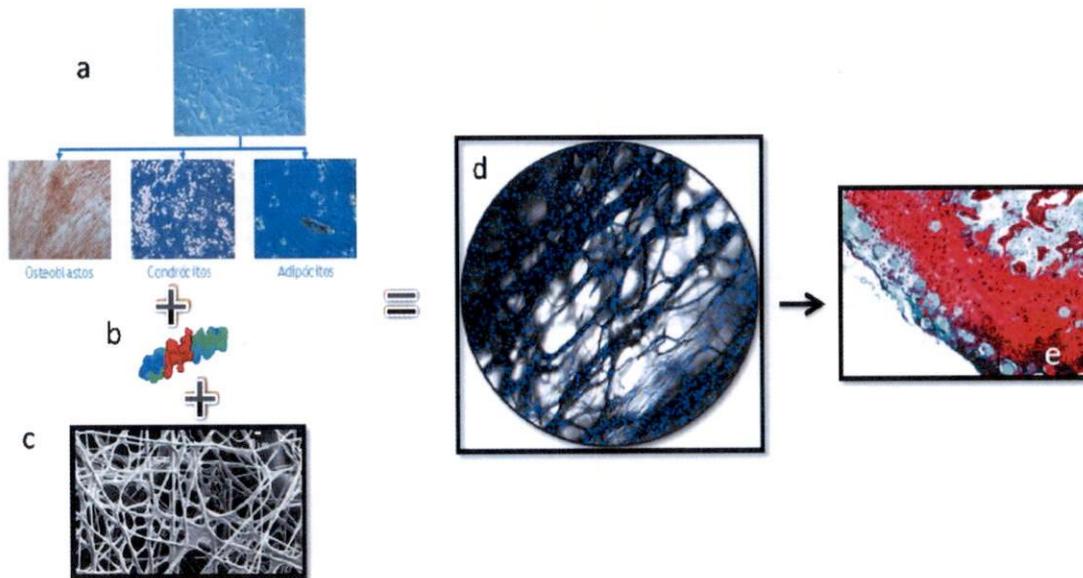
## I.II LA INGENIERÍA DE TEJIDOS

Los crecimientos celulares *in vitro* en cajas convencionales, son una herramienta útil para el estudio biológico básico de las células, sin embargo, su aplicación clínica es prácticamente inviable debido a que suele perderse la funcionalidad al forzar su proliferación en medios rígidos bidimensionales planos.

La estrategia básica de la ingeniería de tejidos es usar células, una estructura de soporte, y factores inductores del crecimiento, la diferenciación y/o la reproducción celular para crear tejido funcional implantable (Fig. I-1). La idea principal es diseñar un andamio capaz de soportar y guiar la formación de la matriz extracelular y la regeneración de tejido en tres dimensiones mediante el uso de materiales con una porosidad interconectada que permita el crecimiento en volumen y la vascularización<sup>8-10</sup>.

Para que el implante tenga éxito, es necesario que la estructura base sea biodegradable y/o bioabsorbible; los materiales comúnmente usados son composites de polímeros naturales (colágeno, glicosaminos, celulosa, etc.) y sintéticos (PLA, PGLA, PCL, PVA, etc.), aprobados para uso clínico y biocerámicas (alúmina, circonia, hidroxiapatita y fosfatos de calcio). Estos materiales tienen propiedades mecánicas adecuadas y tienen la capacidad de integrarse, en un tiempo característico, a algún ciclo bioquímico para su salida del cuerpo<sup>1,11</sup>.

Los andamios, de escala micro y nanos, suelen ser de morfología fibrosa o esponjosa, determinada por el método de producción con que se obtienen; entre los métodos más usados se encuentran el entretejido de fibras electrohiladas, la separación de fases, los hidrogeles, las membranas laminadas, la obtención de películas por evaporación de solvente, la liofilización, el moldeado de fundidos, la extrusión, el procesado a alta presión, los péptidos autoensamblados y la nanolitografía<sup>10,12,13</sup>.



**Fig. I-1** Ejemplo de la estrategia de reconstrucción de la ingeniería de tejidos a) Diferenciación de células madre mesenquimáticas en osteoblastos, condrocitos y adipocitos (ECBio). b) Factores bioactivos. c) Andamio de biomaterial (microfotografía SEM). d) Crecimiento celular sobre andamio funcionalizado (microscopía confocal con tinciones de Hoescht). e) Sección histológica de andamio mineralizado ilustrando la regeneración cartilaginosa y su integración en el tejido óseo circundante. (MilleniumBiologix AG, Schlieren, Switzerland, Sulzer Medica, interthur, Switzerland and Dr. Pierre Mainil-Varlet, University of Bern, Switzerland).

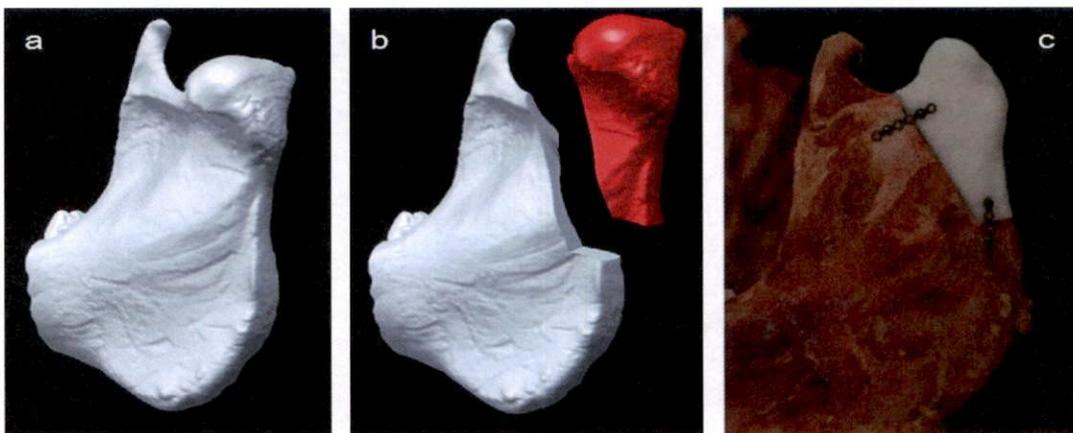
### I.III SOLUCIONES ACTUALES Y SUS LIMITACIONES

Las aplicaciones clínicas actuales de la ingeniería de tejidos óseos y dentales consisten principalmente en piezas de reemplazo o de refuerzo fijadas por inserción ósea e intramucosa, estas son generalmente metálicas (acero, titanio, cromo, oro, platino, aluminio y sus aleaciones) que por naturaleza son propensas a corrosión; Se usan también biocerámicas y biovidrios, cementos y esmaltes óseos, interfaces de acoplamiento hueso-músculo, hueso-hueso de poliuretanos, nylon y teflón, principalmente. Sin embargo el uso de materiales inertes no suele ofrecer soluciones completas pues, aunque idealmente una prótesis implantada debe funcionar satisfactoriamente durante toda la vida del paciente, de

manera que no sea necesario su reemplazo, en los diseños actuales, la vida de las prótesis varía entre 10 y 15 años; adicionalmente, las prótesis estáticas carecen de capacidad de adaptación de forma y tamaño coordinada con la fisiología del sitio de implante. Por lo anterior existe un gran interés en la comunidad científica por desarrollar prótesis biomiméticas de mayor durabilidad y adaptabilidad. Una prótesis ideal, requiere además de propiedades mecánicas y potencial angiogénico adecuados.<sup>11,12,14</sup>

#### I.IV SOLUCIONES EN DESARROLLO

El diseño estructural de una prótesis de biomaterial es un problema de un gran número de variables que generalmente no tiene una solución analítica útil. Buscando la construcción de estructuras con micro y macroarquitectura personalizadas, en las que la porosidad sea funcional y no comprometa las propiedades mecánicas, en la práctica se prefiere el uso de métodos numéricos, tales como el análisis de elemento finito, que es un método robusto ampliamente utilizado basado en la descomposición de una estructura compleja en un gran número de elementos pequeños interconectados por nodos. Así, el diseño actual de una estructura de soporte tisular experimental puede hacerse usando reconstrucción virtual 3D del hueso afectado a partir de técnicas de imagen (tomografía computarizada, CT, e imagenología por resonancia magnética, MRI) y herramientas de diseño asistido por computadora (CAD); para posteriormente fabricarse por algún método de impresión tridimensional capa por capa o por bioimpresión (Fig. I-2).<sup>15</sup>



**Fig. I-2** Ejemplo de reconstrucción ósea experimental por RP, a) Reconstrucción CAD de una rama mandibular porcina a partir de imágenes de CT. b) Planeación de la sección a reparar. c) Estructura fijada al hueso afectado.<sup>15</sup>

La ingeniería de tejidos es posiblemente el método más prometedor para la restauración anatómica y funcional de piezas óseas; un número importante de investigaciones sobre diversas técnicas y materiales buscan convertirla en la opción más segura, accesible, disponible y eficaz para satisfacer la necesidad de soluciones en ortopedia clínica. Sin embargo, el estado actual de estas técnicas no permite producir andamios viables, pues en la gran mayoría de los casos se carece de vascularización y funcionalidad (e.g. Fig. I-3). Esto se atribuye a la falta de control en el diseño de la microarquitectura, aunado al bajo índice de éxito de los biofactores actuales<sup>1,9,16,17</sup>. Contrario a lo anterior, los estudios de crecimientos celulares sobre fibras electrohiladas gozan de un alto índice de éxito y Olayo y cols han hecho estudios con células gliales, nerviosas<sup>18,19</sup>, hepáticas<sup>20,21</sup> y testiculares<sup>22</sup>



**Fig. I-3** Implante de andamio de pabellón auricular humano en roedor. Su macroarquitectura es la adecuada, sin embargo no forma tejido funcional debido a que carece de vascularización<sup>3</sup>

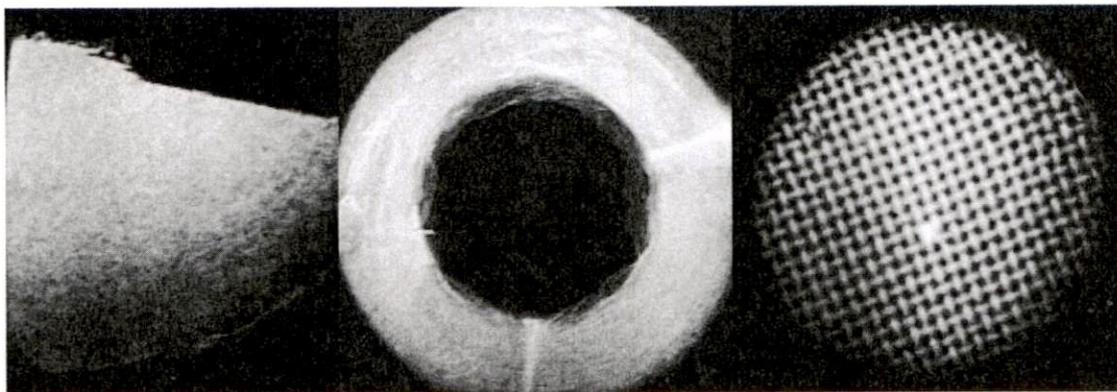
obteniendo resultados preliminares que indican que el uso de polímeros semiconductores derivados del pirrol tiene una función citoprotectora con posible acción regeneradora de tejido vivo funcional.

El principal inconveniente de la técnica electrohilado es que la orientación, posición, regularidad de diámetro, forma (rizada, lacia, quebrada, etc.), y longitud de las fibras siguen siendo aleatorios en general y actualmente no existen equipos comerciales ni material reportado sobre sistemas que brinden un control aceptable de estas características necesarias para la construcción de materiales de uso clínico exitoso, de tal suerte que el desarrollo de nuevos materiales capaces de soportar

la formación de la matriz extracelular ósea es un tema de investigación vigente que se busca resolver desde diferentes perspectivas, entre ellas, el mejoramiento de los medios de producción y del control de calidad del proceso completo de obtención de los soportes celulares. Consecuentemente, el desarrollo de un método de impresión tridimensional multicapa basado en el electrohilado de fibras, que muestre factibilidad de producción masiva asistida por computadora, es un importante reto en el contexto actual de la ingeniería de tejidos; En esta dirección, se han reportado diversos intentos de combinación del electrohilado con técnicas como el modelado rápido o la litografía obteniendo impresiones 3D con cierto grado de éxito<sup>23</sup>; sin embargo no se ha reportado la implementación de la técnica en un sistema de impresión tridimensional multicapa que produzca materiales que imiten, al menos las características de porosidad y diámetro de fibra suficientes para la producción de andamios exitosos. Salvo por algunos casos aislados de soluciones en desarrollo con un costo del orden de los cientos de miles de dólares (NC-NFES-1NANO-CAT Near Field Electrospinning Apparatus desarrollado por el Center of Advanced Technology), la gran mayoría de los aparatos experimentales<sup>24-26</sup> y equipos comerciales (e.g. Linari Biomedical, IME technologies, NaBond), recurren al movimiento

de rotación y traslación en un eje del electrodo de recolección con el fin de formar andamios con forma de sólidos de revolución con una alineación de fibras definida por la geometría y el tipo de movimiento y velocidad del mencionado colector (Fig.I-4), sin embargo pruebas de proliferación celular y desempeño mecánico en materiales implantados (torsión, tensión y compresión) han demostrado que, incluso con acomodamiento aleatorio, se pueden producir materiales que cuentan con una mejor densidad de población celular y una mayor resistencia a la fractura que los generados por movimientos cíclicos del área de recolección<sup>27</sup>.

En el diseño del aparato reportado en el presente trabajo se tomaron en consideración elementos que se han documentado capaces de mejorar el control en la definición de la regularidad del diámetro, orientación y morfología de las fibras con el propósito de obtener fibras de buena calidad, depositadas mayoritariamente en el área de recolección definida, y que formen telas con un tamaño de poro característico, lo cual es indispensable para la formación de la matriz extracelular<sup>28,29</sup>.



**Fig. I-4** Microfotografías de fibras electrohiladas mostrando diferentes alineamientos, Izq. Andamio ordenado aleatoriamente obtenido por electrospinning convencional, centro y Der. Andamios obtenidos por métodos de recolección móvil: © 2009 IME Technologies.

#### I.V JUSTIFICACIÓN

La regeneración de tejidos, particularmente tejido óseo es un tema muy en boga entre la comunidad científica, abordado desde diferentes perspectivas que plantean estrategias para la construcción de andamios bioactivos capaces de promover la adecuada regeneración de secciones grandes de huesos largos<sup>30</sup>.

El presente trabajo busca sentar precedentes básicos para la construcción de bioprótesis bioactivas hacia una mejor solución para los pacientes infantiles con osteosarcoma de grado

avanzado cuya intervención quirúrgica implica la extirpación de secciones de gran tamaño de huesos largos como fémur, tibia o húmero, y para quienes la solución actual son los implantes metálicos extensibles, los cuales requieren generalmente de, por ejemplo, para las extremidades inferiores, igualación de la longitud por calzado, mientras es posible, y mediante subsecuentes intervenciones para la elongación de la prótesis.

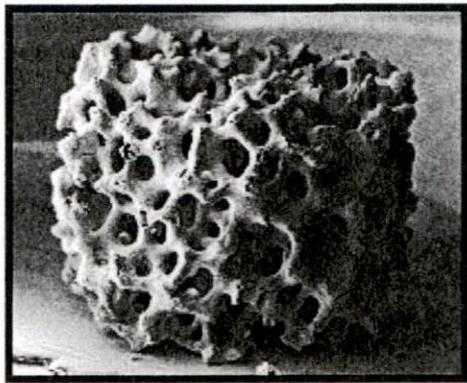


Fig. I-5 BD® 3D Calcium phosphate scaffold<sup>10</sup>

El Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Hospital Infantil de México Federico Gómez requiere de un andamio de materiales compuestos (PCL/PLA/HAp/PPy) destinado al desarrollo experimental de métodos quirúrgicos basados en el cultivo de células de médula ósea. Esta serie de estudios están encaminados a la formación de hueso bioartificial para proveer de prótesis, en el mediano plazo, al Servicio de Ortopedia Pediátrica del hospital. El objetivo final es la creación de un nuevo tratamiento para el osteosarcoma, un tipo de cáncer óseo que se

origina en las células de la cubierta externa del hueso y que es una causa importante de mortalidad infantil (según datos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS))\* . Los andamios comercialmente disponibles (e.g. Fig. I-5) aún no alcanzan el nivel de desarrollo necesario para su aplicación clínica, ya que aunque están hechos de polímeros y cerámicos

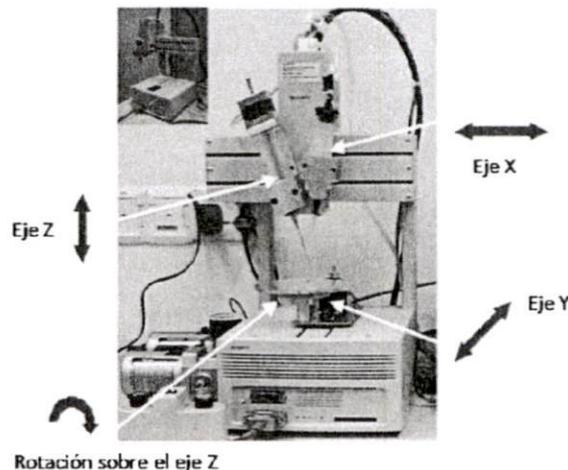
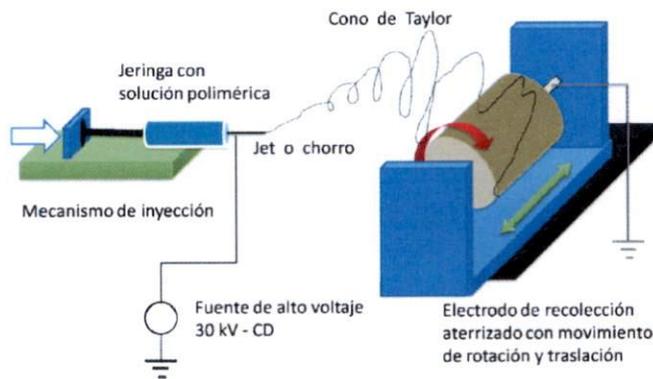


Fig. I-6 Equipo de impresión tridimensional (SONY™).

con aprobación FDA (U.S. Food and Drug Administration), son para fines exclusivos de investigación en animales. Este tipo de materiales no cumplen con las características

indispensables para inducir efectivamente la regeneración ósea, no tienen la microarquitectura adecuada, e incluso algunos de ellos son cancerígenos<sup>31</sup>, además de tener un costo elevado. La búsqueda de andamios con una mayor oportunidad de éxito implicó el diseño y construcción de un nuevo aparato experimental, pues las características de los productos obtenidos con los equipos comerciales actualmente disponibles (como el mostrado en la Fig. I-6) no resultan adecuadas para la construcción de un implante clínicamente viable, como se detalla en la documentación de estos productos (por ejemplo en la referencia 10) y como ha sido comprobado en el LIT-HIMFG a través de las pruebas que se han venido realizando.

En un estudio anterior, se construyó un aparato de electrohilado convencional con recolección por tambor (Fig. I-7) mediante el cual se comprobaron los principios de operación de la técnica electrohilado reportados en la literatura, se corroboró que el acomodamiento de las fibras es aleatorio, y que se puede aproximar el diámetro y la morfología básica (fibras lacias o rizadas) mediante parámetros como la concentración de la solución polimérica y la distancia entre electrodos; con este aparato se han obtenido andamios de gran utilidad experimental<sup>21</sup>, sin embargo, las necesidades clínicas obligan a un control más fino de la arquitectura micro (diámetro(s), morfología(s), orientación(es) y composición química de las fibras, y, tamaño promedio y conectividad de los poros) y macro (propiedades de bulto y de superficie del implante, considerado como un todo). En el diseño del aparato desarrollado en el presente trabajo se ha procurado maximizar en lo posible la capacidad de control sobre las variables del experimento a fin de poder producir andamios con la calidad necesaria para ser candidatos viables a pruebas *in vivo*.



**Fig. I-7** Esquema de electrohilado convencional con recolección por tambor.<sup>21</sup>

Mediante la construcción de un aparato híbrido capaz de combinar las técnicas prototipado rápido y electrohilado se propone un andamio poco estudiado con posibilidades de aplicación en ortopedia reconstructiva. Los trabajos de crecimientos celulares sobre andamios electrohilados realizados en conjunto con el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), han demostrado que los andamios electrohilados tratados superficialmente con plasma de Ppy ofrecen un medio sobresalientemente adecuado para la proliferación *in vitro* de células óseas de conejo; sin embargo, la aplicación de estos andamios a un protocolo de reemplazo de secciones grandes *in vivo* estaría limitada principalmente por las pobres propiedades mecánicas de estos materiales.

Una propuesta para superar las limitantes mecánicas y aprovechar el excelente desempeño de estos medios de cultivo es combinar el electrohilado con el depósito por extrusión controlada de plásticos para formar un andamio de capas intercaladas de tela de fibras electrohiladas y paredes sólidas extruidas, con capacidad de carga mecánica. La hipótesis de trabajo es que un andamio de este tipo tendría la rigidez necesaria para fungir temporalmente como prótesis con la peculiaridad de degradarse al tiempo que promovería la proliferación celular y la formación de tejido óseo por el crecimiento de regiones sanas hacia el interior del volumen de biomaterial, siendo la tasa de degradación de las estructuras micrométricas menor a la de las nanométricas, lo cual se asume como adecuado para una prótesis temporal viable. La estrategia propuesta tiene las ventajas siguientes: ambas técnicas por separado, y la técnica híbrida resultante, tienen la capacidad de implementarse para producir piezas personalizadas de tamaño real, con costos razonables y pueden adaptarse a procesos automatizados con mínima intervención de un operador.

## I.VI PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO DEL APARATO PROPUESTO



**Fig. I-8** Esquema del andamio propuesto, en rojo material extruido, en azul material electrohilado.

Dados los resultados positivos de algunos trabajos sobre andamios de estructura reticular de al menos dos órdenes de magnitud mostrando una viabilidad aceptable de los cultivos celulares (incluyendo una producción adecuada de fosfatasa alcalina y la preservación del fenotipo celular), así como la versatilidad de las técnicas electrohilado e impresión 3D<sup>32-35</sup>, se propone un equipo que tiene la capacidad de conjuntar las técnicas electrohilado e impresión tridimensional por superposición de capas, ambas de polímeros biodegradables. Este equipo permite la fabricación de andamios híbridos, alternando capas extruidas con capas electrohiladas (Fig. I-8), las primeras tienen como

función brindar forma macroscópica definida y soporte mecánico a la prótesis a un tiempo de degradación entre 1 y 4 años; las segundas buscan tener la estructura, composición y dimensiones óptimas para ser un medio de cultivo adecuado para las células óseas (con un tiempo de absorción entre 1 y 180 días). Los tiempos de absorción se deberán analizar mediante pruebas in vivo para cada andamio en particular, estos dependerán de sus características, principalmente de la estructura y composición de cada material (suele buscarse empatar estos tiempos con el ritmo de regeneración del tejido neoformado<sup>36</sup>); la determinación de los tiempos de absorción queda fuera del alcance del presente trabajo.

En el diseño del aparato desarrollado se ha buscado la capacidad para imprimir patrones sencillos definidos y reproducibles que permitan, mediante una serie de algoritmos, habilitar a las técnicas electrohilado y prototipado rápido a trabajar de manera conjunta y coordinada para producir, mediante la alternancia de capas de cada técnica, andamios con estructura de dos órdenes de magnitud diferentes.

Los componentes básicos del aparato propuesto son (Fig. I-9):

- un extrusor de filamentos plásticos
- un inyector neumático electrificado con alto voltaje
- una mesa de recolección móvil

Los tres referidos a un sistema cartesiano de 3 dimensiones.

### **Extrusor de filamentos plásticos**

Consta de un mecanismo engranado que jala el filamento de polímero, para hacerlo pasar a través de un dado capilar a alta temperatura (220°C) depositando en la plataforma de recolección un filamento fundido de un diámetro unas 10 veces menor al del filamento de entrada. El cabezal extrusor cuenta con movimiento vertical.

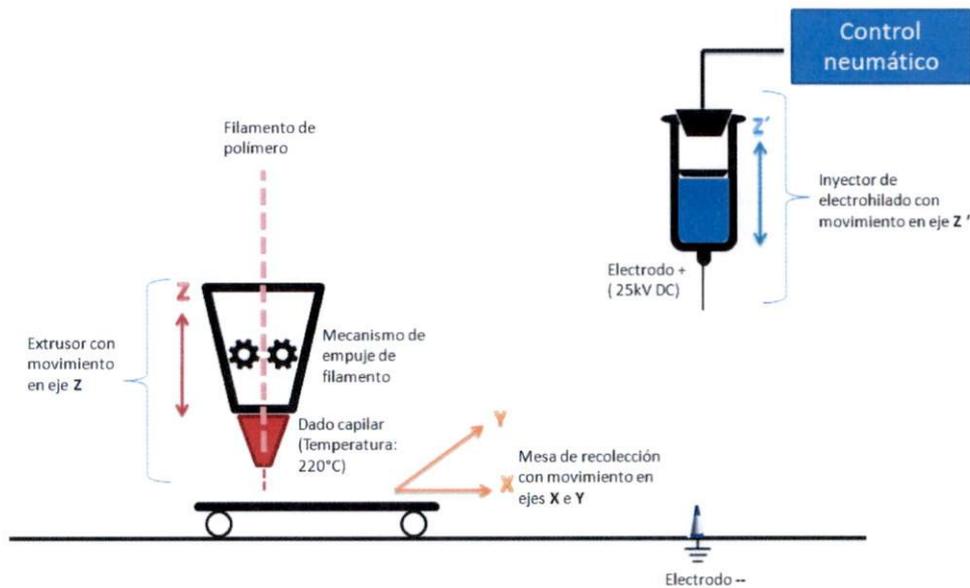
### **Inyector neumático electrificado con alto voltaje**

Se ha construido un inyector neumático impulsado por una presión controlada en lazo cerrado. En la aguja se ha conectado el polo positivo de una fuente de alto voltaje (0-25kV DC), el electrodo negativo es de forma cónica y está fijo al centro de la plataforma de recolección. El cabezal inyector cuenta con movimiento vertical.

### **Mesa de recolección móvil**

La mesa o plataforma de recolección móvil es la encargada de la recolección ordenada de materiales extruidos y electrohilados en el área de trabajo. Mediante el desplazamiento motorizado programable sobre los ejes X e Y puede recoger los materiales en forma de trazos simples que se acumulan para formar volúmenes de estructura predefinida.

Para el adecuado funcionamiento del sistema electrónico y la minimización de perturbaciones al electrohilado ha sido indispensable el aislamiento y el blindaje electrostático del sistema mediante una cámara. Se han usado paredes de varias capas de materiales (PVC espumado, espuma de poliuretano, madera, porcelana y polipropileno) con diferentes propiedades aislantes (eléctricas, químicas y térmicas). El blindaje electrostático consiste en una jaula de Faraday formada por la estructura de aluminio y una rejilla de acero zincado intercalada en cada pared. La temperatura al interior de la cámara es controlada entre la TA y los 90°C.



**Fig. I-9** Esquema simplificado del aparato construido, los componentes básicos son un extrusor de filamentos plásticos, un inyector neumático electrificado con alto voltaje y una mesa de recolección móvil, los tres referidos a un sistema cartesiano de 3 dimensiones

### Secuencia de trabajo

El funcionamiento básico de construcción de un andamio híbrido, mediante el aparato propuesto se resume como sigue (Fig. I-10):

- Paso 1. Se “imprime” un arreglo de barras paralelas
- Paso 2. Se posiciona la mesa de recolección al alcance del inyector de electrohilado y se recubre el arreglo anterior con una delgada tela de fibras electrohiladas
- Paso 3. La mesa de recolección regresa al alcance del extrusor y se “imprime” un nuevo arreglo de barras, ortogonales a las del paso 1.
- Paso 4. Idéntico al paso 2
- Se repite la secuencia. (Tanto el extrusor como el inyector se desplazan en el eje vertical después de cada iteración).

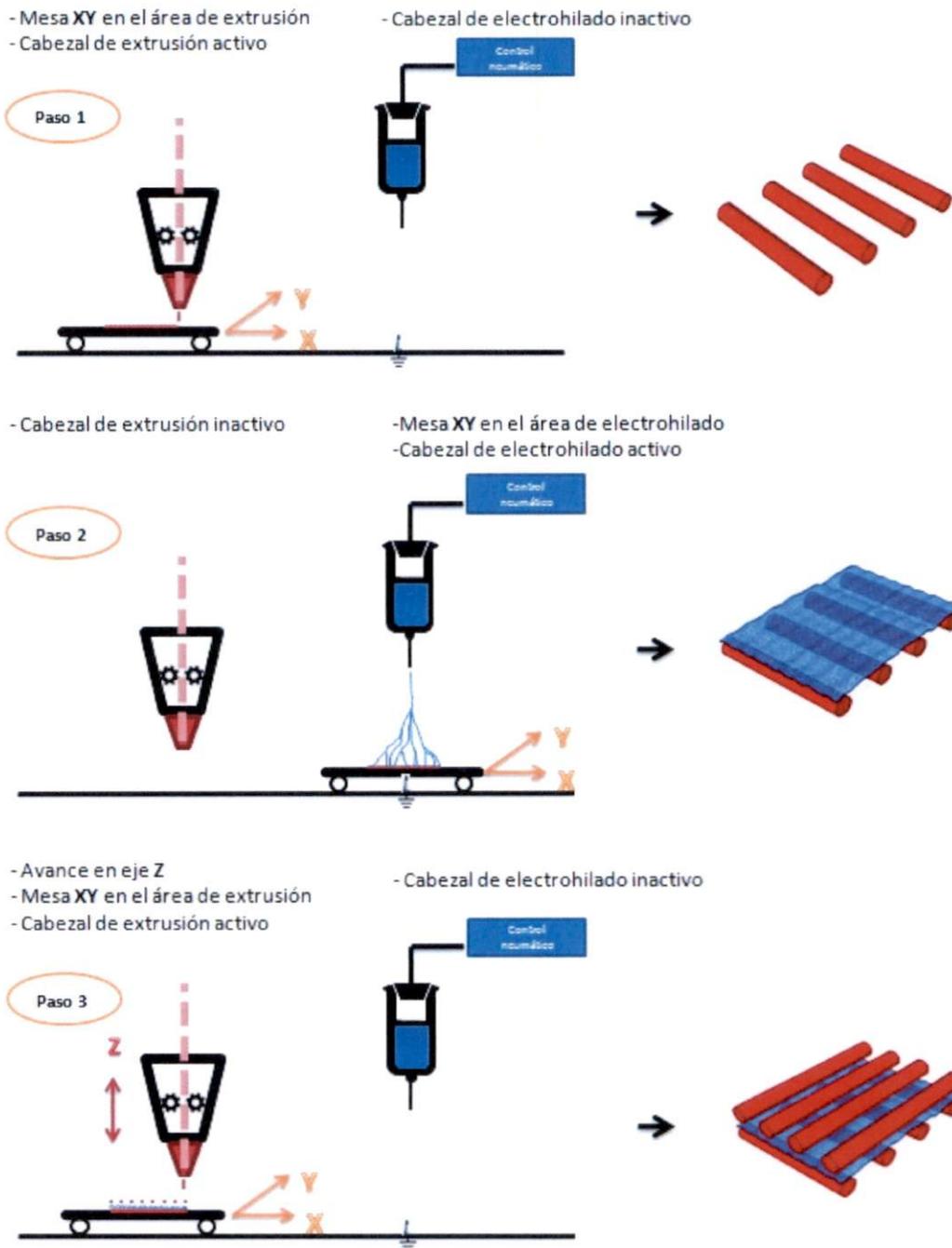


Fig. I-10 Estrategia básica de impresión de la técnica propuesta. En el paso 1 se “imprime” un arreglo de barras paralelas; en el paso 2 se posiciona la mesa de recolección al alcance del inyector de electrohilado y se recubre el arreglo anterior con una delgada tela de fibras electrohiladas; En el paso 3 la mesa de recolección regresa al alcance del extrusor y se “imprime” un nuevo arreglo de barras, ortogonales a las del paso 1. El paso 4 es idéntico al paso 2 y se repite la secuencia. Tanto el extrusor como el inyector se desplazan en el eje vertical después de cada iteración.

## II REVISIÓN DE LA LITERATURA

### II.1 ANATOMÍA DEL HUESO

A pesar de su sencillo aspecto, los huesos constituyen una estructura viva, activa y compleja, en continua remodelación dinámica. Los tejidos que componen el hueso son: óseo, cartilaginoso, conectivos densos, epitelial, adiposo, hematopoyéticos y nervioso. Sus funciones son dar soporte y movimiento (junto con los músculos) al cuerpo, proteger los órganos internos, almacenar y liberar minerales, producir las células sanguíneas y almacenar triglicéridos. Los huesos largos tienen cuatro regiones principales, de interior a exterior: Médula ósea, hueso esponjoso, hueso compacto y periósteo (Fig. II-1). Los cuatro tipos principales de células óseas son las osteógenas, los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos. La matriz ósea contiene sales minerales en abundancia (especialmente hidroxapatita), así como fibras de colágena<sup>37</sup>.

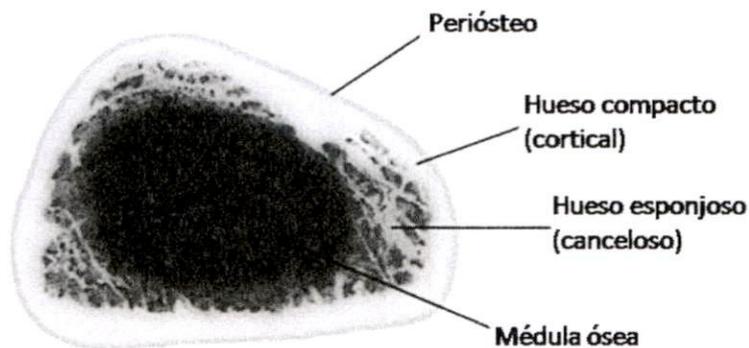


Fig. II-1 Regiones de un hueso largo (corte transversal)<sup>37</sup>

Los huesos se forman mediante un proceso llamado osificación (u osteogénesis), que se inicia cuando las células mesenquimatosas se transforman en células osteógenas. Estas últimas se dividen y dan origen a células que se diferencian en osteoblastos y osteoclastos. La osificación endocondral ocurre en una plantilla de cartílago hiliar; el centro de osificación primario de un hueso largo está en la diáfisis, el cartílago degenera y deja espacios que se fusionan para formar la cavidad medular, los osteoblastos secretan matriz ósea; a continuación tiene lugar la osificación de la epífisis, donde el tejido óseo sustituye al cartílago, excepto en la capa epifisaria. Los huesos incrementan su diámetro cuando los osteoblastos añaden tejido óseo nuevo alrededor de la superficie externa del hueso (crecimiento por aposición). La remodelación constituye un proceso continuo en el que

los osteoclastos excavan microscópicos túneles en el tejido óseo antiguo, que después los osteoblastos reconstruyen<sup>37</sup>.

## II.II BIOMATERIALES

### II.II.1 Definición, clasificación, aplicaciones y características ideales

Biomaterial es cualquier sustancia (que no sea una droga) o combinación de sustancias sintéticas o naturales, que pueden ser usadas como parte o sustitución total de un sistema que trata, aumenta o reemplaza cualquier tejido, órgano y/o función del cuerpo por algún periodo de tiempo,<sup>38</sup>. El uso actual predominante de los biomateriales es en dispositivos médicos e implantes no degradables (Fig. II-2)<sup>39,40</sup>.

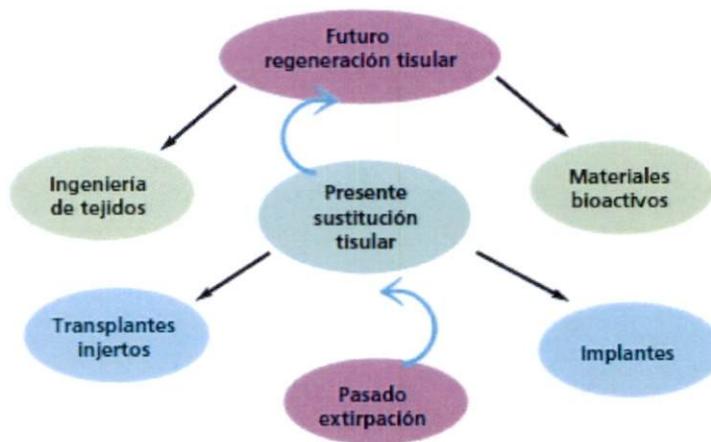


Fig. II-2 Pasado, presente y futuro de los biomateriales aplicados a la clínica quirúrgica<sup>40</sup>.

Un biomaterial ideal debe ser lo suficientemente resistente a las agresiones del cuerpo en el que se aplica, a la vez que no debe agredirlo. Debe resistir a la hidrólisis y demás ataques químicos, erosión, esfuerzos mecánicos a tensión, compresión y corte, fatiga etc. (durante el tiempo necesario para cumplir su objetivo). Sus interfaces con tejido u otros materiales deben integrarlo adecuadamente a estos. Los biomateriales deben tener un rechazo y respuesta inmune mínimos por parte del receptor y en lo posible deben ser ligeros, accesibles en costo y disponibilidad y durar un tiempo característico deseado, acorde a su propósito; no deben tener actividad trombogénica, carcinogénica, hemolítica o alérgica,

entre otras y deben ser fácilmente esterilizables en un medio que no deteriore sus propiedades,<sup>1,41,42</sup>.

Los biomateriales se pueden clasificar de diversas formas, por ejemplo:

- Según el uso al que estén destinados: Implantables y no implantables
- Degradables y no degradables
- Según su origen (Fig. II-3):
  - **Alogénicos.** Procedentes de individuos de la misma especie, es decir, humanos (e.g. hueso liofilizado, desmineralizado o no desmineralizado).
  - **Xenogénicos.** Procedentes de individuos orgánicos de diferente especie: bovinos, porcinos, caprinos, algas, coral, etc. (e.g. sustitutos óseos minerales microporosos).

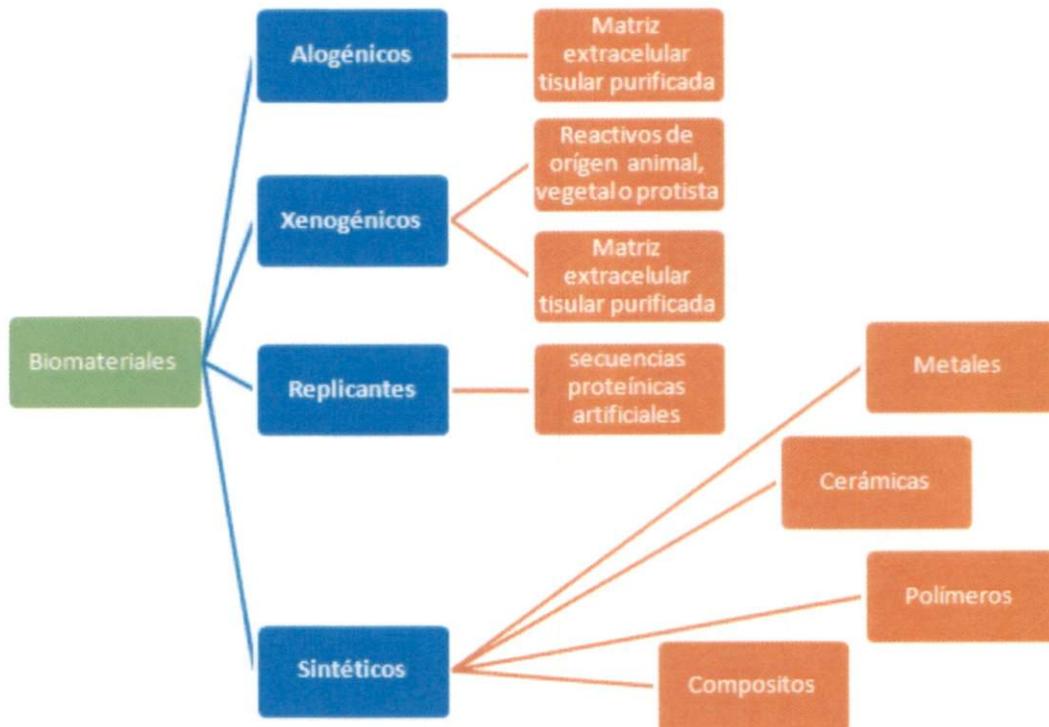


Fig. II-3 Clasificación de los biomateriales según su origen.

- **Sintéticos.** No proceden de individuos orgánicos, sino que son fabricados mediante procesos artificiales (e.g., hidroxiapatitas sintéticas, biocerámicas y biovidrios).
- **Replicantes.** Son secuencias proteínicas similares a las humanas, obtenidas mediante ingeniería genética a través de diferentes especies, generalmente bacterianas (e.g., las proteínas óseas morfogenéticas replicantes humanas [rhBMP])<sup>11,39,43,44</sup>.

**Tabla II-1** Biomateriales en los sistemas del cuerpo

<i>Sistema</i>	<i>Ejemplos</i>
Esquelético	Reemplazo total de articulación, placas, tornillos y clavos, varillas intramedulares.
Muscular	Suturas, estimuladores musculares.
Nervioso	Líneas de drenado hidrocefálico, marcapasos, estimuladores nerviosos.
Endócrino	Islotes pancreáticos microencapsulados.
Reproductivo	Mamoplastía y otras aplicaciones estéticas.
Cardiovascular	Cardioversores, marcapasos, válvulas, corazón artificial, vasos sanguíneos, stents.

### **Biomateriales metálicos**

Los metales tienen una presencia predominante en las prótesis ortopédicas, la estomatología, los dispositivos implantables, las sondas y el instrumental quirúrgico. Los materiales metálicos sufren corrosión en los fluidos corporales, los cuales tienen una cantidad apreciable de cloruros (cerca de 0,5%), que puede perforar las capas pasivas de cromo de las aleaciones de acero inoxidable y las de cobalto-cromo. Las aleaciones de titanio son insensibles al ataque de los cloruros, por eso tienen menor corriente de corrosión en altos potenciales a comparación de las de Co-Cr y aceros inoxidables. Los materiales de implante desarrollan un potencial de corrosión en los fluidos corporales. Este potencial es,

en ocasiones, bastante diferente al potencial termodinámico encontrado en condiciones estándar (25 °C, pH = 7)<sup>1,42,44</sup>.

### *Aceros inoxidable*

Los aceros inoxidable para implantes pertenecen a la familia de aleaciones cromo-níquel-molibdeno. Deben contener un máximo de 0,03% de carbono (C) para evitar la precipitación de los carburos de cromo (Cr<sub>23</sub>C<sub>6</sub>) y mejorar la resistencia a la corrosión.

Se utilizan dos tipos de aceros inoxidable en implantes. El primero de ellos es el ASTM F138 (AISI 316L), con la siguiente composición química: C: 0,03% máx., Cr: 17-20, Ni: 12-14, Mo: 2-4%. El níquel sirve para estabilizar la fase austenítica. Dicho acero endurece rápidamente con el trabajado en frío y tiene características paramagnéticas. Sin embargo, dicho acero sufre corrosión en el ambiente del cuerpo. Por eso se recomienda que las placas y los tornillos sean de acero al vanadio, usado en placas y tornillos para reparación ósea del mismo fabricante y del mismo modo de procesamiento. Con esto se evita un posible problema de corrosión por par galvánico de materiales de diferente composición química. La principal causa de rotura de los implantes de ASTM F138 es la corrosión fatiga, por el mecanismo de desgarre de las capas pasivas de la placa y del tornillo en el mismo acto quirúrgico.

El otro tipo de acero inoxidable, el SAF 2507, tiene la siguiente composición: 0,03% máximo C, 25% Cr, 7% Ni, 4% Mo, 0,3% N. Es parcialmente paramagnético; su estructura es ferrita (ferromagnética) y austenita (paramagnética). Esta característica es potencialmente inadecuada en el caso de someter el paciente a una evaluación clínica que utilice la resonancia magnética nuclear. Se entrega solubilizado desde 1,050 °C y tiene propiedades mecánicas superiores a las del AISI 316L por tener estructura dúplex. Su costo comparado con el 316L es similar y su resistencia a la corrosión es mucho mayor, pues tiene mayor contenido de cromo y nitrógeno. También posee un potencial de picadura que es mayor que el del AISI 316L. Por eso, la incidencia de la corrosión-fatiga en la rotura de estos implantes es menor. Ambos tipos de aceros tienen aplicaciones en diseños tales como vástagos para prótesis totales de cadera, varillas intramedulares, tornillos y placas de compresión<sup>42</sup>.

### *Aleaciones de Co-Cr*

Las aleaciones de cobalto-cromo tienen un elevado contenido de cromo que lleva a la formación de la capa superficial pasivante Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; poseen mayor módulo de Young (E) comparado con el acero inoxidable o el titanio, lo cual permite que los implantes sean más rígidos. Sin embargo, la gran diferencia de módulo de elasticidad con el hueso puede ser

potencialmente desventajosa, por la liberación de esfuerzos al hueso. Pueden ser procesadas para producir implantes con la más alta combinación de resistencia a la tensión y a la fatiga. Las mejores propiedades se producen cuando están en la condición de trabajado en frío. El excesivo endurecimiento por el trabajado puede ser un problema e inducir aumento de fragilidad. Los tipos recomendados para aplicaciones en implantes son las aleaciones forjadas, aunque se utilizan en ocasiones las aleaciones coladas a la cera perdida, del tipo CoCrMo (Vitallium™). Dichas aleaciones están normalizadas bajo la ASTM F75. Tienen la siguiente composición química 59-69% Co, 27-30% Cr, 5-7% Mo. Sin embargo, poseen las más bajas propiedades mecánicas de toda la familia de aleaciones Co-Cr. Son muy usadas por su bajo costo y por la facilidad para producir formas difíciles. Las aleaciones CoCrMo forjadas están normalizadas en la ASTM 799. Su composición química es 58-59% Co, 27-30% Cr, 5-7% Mo. Poseen propiedades de resistencia a la fluencia, a la tensión y a la fatiga las cuales son el doble de las exhibidas por la ASTM F75. Las aleaciones CoCrWNi forjadas (ASTM F90) contienen 45-56% Co, 19-21% Cr, 14-16% W, 9-11% Ni. El W y Ni se adicionan para mejorar maquinabilidad y procesabilidad. Poseen muy altos valores de resistencia a la fluencia y a la tensión cuando son trabajadas en frío. Las aleaciones CoNiCrMo forjadas (ASTM F592) tienen 29-38 % Co, 19-21 % Cr, 9-10,5% Mo, 33-37 % Ni y presentan muy alta resistencia a la tensión debido a una combinación excepcional de endurecimiento por trabajado en frío, endurecimiento por solución sólida y endurecimiento por precipitación del (Co<sub>3</sub>Mo). Por ello, poseen el más alto valor de resistencia a la fatiga de todas las aleaciones metálicas (700-800 MPa). Es la más ampliamente usada aunque su costo es alto<sup>42</sup>.

#### *Aleaciones de titanio*

Las aleaciones de titanio presentan una excepcional resistencia específica (resistencia tensión/densidad). Presentan el fenómeno de pasivación por la formación espontánea de una capa de TiO<sub>2</sub>, son los mejores materiales bioinertes para aplicaciones en implantes. Sus principales desventajas son su dificultad para maquinar y que su fundición debe realizarse en atmósfera inerte (N<sub>2</sub>, Ar) o de alto vacío (menor a 10<sup>-7</sup> torr), porque el exceso de oxígeno se difunde fácilmente en el titanio causando su fragilidad. Su módulo de Young es el más parecido al del hueso, pero es más bajo que el del Co-Cr o el del acero inoxidable. Se suelen recubrir con hidroxiapatita o titanio por la técnica de rociado térmico. En implantes ortopédicos se utiliza Ti6Al4V, norma ASTM F136. Su composición química contiene 89-91% Ti, 5.5-6.5% Al, 3.5-4.5% V. Su microestructura es una mezcla de granos de  $\alpha$  y  $\beta$ , por eso exhibe mejores propiedades mecánicas comparadas con el titanio químicamente puro<sup>42</sup>.

### *La aleación Ni-Ti (Nitinol™)*

Contiene aproximadamente 56% de Ni (resto titanio) y posee excelentes propiedades de memoria de forma y superelasticidad a temperatura ambiente. Tiene interesantes aplicaciones potenciales en implantes. Sutiles diferencias entre los constituyentes níquel y titanio en porcentaje por peso, producen diferencias apreciables en las temperaturas de transformación de martensita a austenita. En cirugía ortopédica se utiliza la composición de 55,8% de níquel, cuyo punto Af (Austenite finish) en el calentamiento varía de 10 a 20 °C, normalmente como anclaje al hueso de tendones y ligamentos. Se usa extensivamente para stents en cirugía cardiovascular, grapas para aneurisma en cirugía endovascular y alambres de ortodoncia en odontología. Posee excelente biocompatibilidad, alta resistencia a la corrosión y excelente citocompatibilidad<sup>42</sup>.

### **Biomateriales poliméricos**

Los materiales poliméricos sintéticos se usan ampliamente en material médico desechable, prótesis, materiales dentales, implantes, coberturas, dispositivos extracorpóreos, encapsulantes, sistemas de liberación de drogas, productos para ingeniería de tejidos, etc. En sustitución de materiales metálicos y cerámicos, respecto a los cuales presentan ventajas como su versatilidad, facilidad de procesamiento, costo razonable, disponibilidad, entre otras. Entre los polímeros más utilizados se encuentran el poli(etileno de ultra alto peso molecular) y el poli(metil metacrilato).

#### *Poli(etileno) de ultra alto peso molecular UHMWPE*

Este tipo de polietileno tiene un peso molecular mayor a  $2 \times 10^6$  g/mol. Su estructura cristalina es ortorrómbica. Tiene la más alta tenacidad de todos los tipos de PE, buena estabilidad química y bajo costo. Las formas de alta densidad son las más cristalinas, variando de 70 a 80%. Sólo las formas de alta densidad pueden ser esterilizadas. Usado en la copa acetabular y la superficie patelar en prótesis de rodillas, por tener bajo coeficiente de fricción (0,08-0,15). Un nuevo tipo de polietileno de alta densidad (HDPE) con cristalinidad cercana al 50%, irradiado con una fuente de rayos gamma (del tipo Co60) en la superficie expuesta a las cargas compresivas, se está usando con éxito en articulaciones funcionales. Los radicales libres formados por la interacción entre las cadenas de polietileno en las regiones amorfas y los fotones de alta energía favorecen el entrecruzamiento de las cadenas y aumentan notablemente la resistencia a la fluencia (creep). Es importante anotar que un exceso de radiación destruye irreversiblemente el polietileno, presentando excesivo entrecruzamiento entre las cadenas favoreciendo la fragilidad.

### *Poli(metil metacrilato) PMMA*

Presenta excelente tenacidad y estabilidad química. El agua absorbida internamente hace disminuir la resistencia a la tensión y el módulo de Young hasta estabilizarse con el tiempo a un valor constante (efecto plastificante). Se usa como cemento para adherir el vástago de acero inoxidable al fémur, tanto en las prótesis de cadera como de rodilla. Puede presentar complicaciones (como la necrosis localizada) en el mismo acto quirúrgico por el aumento de temperatura durante la polimerización. Además los monómeros no reaccionados causan disminución de la presión sanguínea. Cuando ocurre el aflojamiento de la prótesis, se presenta una respuesta inflamatoria a los particulados en los tejidos adyacentes, la cual se asocia a osteólisis.<sup>42,44</sup>

### **Biomateriales poliméricos biodegradables**

El término biodegradación suele asociarse con materiales que se fragmentan de manera natural a través de mecanismos hidrolíticos sin la necesidad de enzimas o mecanismos enzimáticos. Otros términos como absorbible, erosionable y reabsorbible son usados en la literatura para indicar biodegradación. El interés en los biomateriales poliméricos biodegradables ha venido en aumento durante los últimos años. Esto se debe a dos ventajas claves de estos materiales: Primera, las reacciones de cuerpo extraño que pudieran desencadenar no son crónicas de por vida, ya que (al menos idealmente) en algún momento estos materiales dejarán de estar presentes en el cuerpo del paciente. Segunda, algunos de estos materiales son incluso capaces de convocar a la autoregeneración de tejido mediante la interacción de su biodegradación con células inmunológicas como los macrófagos. Los implantes quirúrgicos hechos a partir de biomateriales biodegradables pretenden ser un puente hacia la regeneración orgánica de tejido lesionado, enfermo y/o envejecido, su campo de estudio es muy amplio y su posible aplicación clínica muy prometedora. Dado que las células de los mamíferos son dependientes del anclaje, los andamios de biomateriales deben proveer un ambiente en el que el comportamiento apropiado de las células (adhesión, proliferación, migración y diferenciación) pueda ocurrir y así pueda darse la formación de tejido funcional. Mientras que los poliésteres aromáticos son en su mayoría totalmente resistentes al ataque microbiano, la mayoría de los poliésteres alifáticos son biodegradables, debido a sus enlaces éster, potencialmente hidrolizables. Destacan polímeros de origen natural como los polihidroxialcanoatos, entre ellos el poli-3-hidroxiбутirato (PHB), el poli(hidroxi valerato) y el poli(hidroxi hexanato), la celulosa y el quitosano. Son también importantes polímeros obtenidos de recursos renovables como el poli(ácido láctico) y polímeros sintéticos como el poli(butileno succinato), la poli(caprolactona), los poli(anhídridos), el poli(alcohol vinílico), etc.<sup>39,44</sup>

### *El poli(ácido láctico)*

El poli(ácido láctico) (PLA) es el biopolímero más ampliamente investigado y utilizado en la gran mayoría de las aplicaciones, incluida la implantología. Pertenece al grupo de los poliésteres y copoliésteres alifáticos, su degradación en medios activos produce CO<sub>2</sub> y agua, sin acumulación de productos degradados. Se puede controlar su mecanismo y velocidad de biodegradación. El PLA tiene una temperatura de transición vítrea alrededor de los 55° y una temperatura de fusión de 175° Aprox. Se disuelve en varios solventes orgánicos como el tetrahidrofurano, el benceno, el acetonitrilo, el dioxano y solventes clorados como el cloroformo.

De acuerdo a su origen, existen dos tipos de PLA: petroquímico y vegetal, el PLA de origen vegetal, proviene de la interrupción de la degradación enzimática de productos como el maíz y la caña de azúcar, se plantea que tiene las ventajas comparado con su contraparte petroquímica, de tener como insumo recursos renovables a corto y mediano plazo (maíz, arroz, trigo, etc.), contar con un proceso de manufactura que requiere menor energía, provocar menor contaminación por gases de efecto invernadero y degradación al 100% a mediano plazo (bajo condiciones adecuadas).

### *Limitantes del PLA*

Pobre ductilidad—El PLA es un material muy frágil con un porcentaje de elongación menor al 10%, esto lo hace no apropiado para aplicaciones que requieren deformación plástica a altos niveles de tensión, a pesar de que su esfuerzo a tensión y su modulo de Young son comparables a los del poli(etilen tereftalato) (PET).

Baja tasa de degradación—La tasa de degradación del PLA depende de su cristalinidad, su peso molecular, la distribución de su peso molecular, su morfología, higroscopicidad, etc. La degradación *in vivo* del PLA puede tardar hasta algunos años, esto no es conveniente para algunas aplicaciones en las que incluso se necesitaría remover mediante una cirugía subsecuente en caso de no alcanzarse una adecuada degradación. Para aumentar la tasa de degradación y mejorar las propiedades mecánicas del PLA se recurre a la modificación de las propiedades de bulto mediante la copolimerización y la mezcla con plastificantes y con otros polímeros degradables y no degradables, entre otras técnicas.

Hidrofobicidad—EL PLA tiene un ángulo de contacto estático de 80° (aprox.) lo que resulta en una baja afinidad celular y una posible respuesta inflamatoria al contacto con los fluidos biológicos del sitio de implante.

Carencia de grupos de cadena lateral reactiva—El PLA es químicamente inerte, esto hace que la modificación de sus propiedades de bulto y superficie no suela ser sencilla.

### *Modificación superficial del PLA*

Con el fin de controlar la hidrofiliidad y rugosidad del PLA, buscando hacerlas más adecuadas para las diversas aplicaciones de este biomaterial, se recurre a su modificación superficial mediante alguna de las técnicas disponibles: Recubrimientos, captura de biomacromoléculas, aditivos migratorios, conjugación química, tratamiento con plasma y el fotoinjerto en sus diferentes modalidades.<sup>45,46</sup>

### **Biomateriales cerámicos**

Las cerámicas pueden clasificarse en no absorbibles, las cuales son relativamente inertes (alumina, zirconia, nitratos de silicón, carbones), bioactivas o de superficie reactiva, son semi-inertes (biovidrios, hidroxiapatita densa), y biodegradables o reabsorbibles, no inertes, (fosfatos y aluminatos de calcio). Sus principales aplicaciones son las reparaciones óseas y dentales.

#### *Zirconia*

Hay dos tipos de zirconias implantables: La zirconia parcialmente estabilizada (PSZ) y la zirconia tetragonal estabilizada en policristales (TZP). La zirconia tiene una estructura monoclinica desde la temperatura ambiente hasta los 950 °C. La adición de ciertos óxidos, como el MgO, estabilizan la fase tetragonal en cantidades de hasta 10% molar. Dichos óxidos también estabilizan las fases cúbica y monoclinica. En el caso del MgO, las regiones de máxima solubilidad son ~30% para la estructura cúbica, 9,5% para la tetragonal y 2,5% para la estructura monoclinica. El cambio de fase (reversible) de la estructura tetragonal a la monoclinica conlleva un aumento volumétrico de ~3,5% (~1,2% lineal). Normalmente, la estructura tetragonal se transforma en monoclinica con aumento de volumen en ausencia de presiones externas. Cuando se sinteriza y se procesa la zirconia a temperaturas en las que prevalece la estructura cúbica y se enfría a temperatura ambiente, se precipitan en esta matriz partículas en forma de lente de zirconia tetragonal, la cual permanece así a temperatura ambiente (es decir, no se transforman a la fase monoclinica) porque la matriz cúbica previene la expansión, induciendo en las partículas tetragonales un estado de esfuerzos altamente compresivo. Esta transformación aumenta la tenacidad, ya que en condiciones de microagrietamiento, los precipitados tetragonales en las cercanías de la grieta se transforman a su forma monoclinica, porque en este punto se permite la liberación parcial de los esfuerzos compresivos, la expansión consecuente evita la propagación de la grieta y también la fractura súbita de la cerámica. Se utiliza en la cabeza esférica de las prótesis femorales, en las prótesis de rodilla artificial y en forma de tornillos y placas de compresión.

### *Hidroxiapatita*

La hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , tiene una composición química parecida al hueso. Sin embargo, el hueso presenta una estructura de menor cristalinidad. La hidroxiapatita puede sintetizarse a partir de sales de calcio y fosfato o de ácido fosfórico e hidróxido de calcio. Se puede obtener también por vía hidrotermal, transformando la estructura del coral por medio de fosfato de amonio a alta presión y temperatura. Puede obtenerse también por prensado cerámico o por depósito biomimético a partir de soluciones fisiológicas artificiales. La estructura de la hidroxiapatita bien cristalizada es hexagonal, normalmente prismas rómbicos. La cristalinidad aumenta con la temperatura del tratamiento térmico, de manera similar a como lo hace el hueso. A  $1.050\text{ }^\circ\text{C}$ , ambas estructuras son prácticamente idénticas, con una ligera variación en los tamaños de celda, asociada a presencia de magnesio (que reemplaza parte del calcio), carbonato (que reemplaza algo del fosfato) y flúor (que reemplaza algo del hidroxilo). En esta condición se presenta una muy baja solubilidad y puede usarse como biomaterial estructural. Se utiliza como recubrimiento para prótesis de  $\text{TiAlV}$  para una respuesta controlada en la interfase implante/tejido. Sin embargo, las altas temperaturas del rociado, transforman parte de la hidroxiapatita en una mezcla de  $\text{CaO}$ , a -F3C (fosfato tricálcico, tipo whitlockita) y F4C (fosfato tetracálcico). Un tratamiento con vapor por 6 h o por mantenimiento a  $600\text{ }^\circ\text{C}$  restablece parte de la hidroxiapatita transformada. Se usa en las prótesis en forma de vértebras, de espaciadores de vértebras o de cresta ilíaca. Puede usarse como material para reparar hueso dañado por trauma, para rellenar espacios vacíos por pérdidas de hueso, para reparar vértebras fusionadas (como la espinal y lumbosacral), discos herniados o defectos maxilofaciales y dentales.

Otros tipos de fosfatos de calcio para uso biomédico, diferentes de la hidroxiapatita, son el fosfato tricálcico  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  y el fosfato tetracálcico  $\text{F}_4\text{C}(4\text{CaOP}_2\text{O}_5)$ , los cuales son reabsorbibles y se usan como vehículos temporales para la administración de medicamentos, generalmente, antibióticos. También se utilizan diversos tipos de fosfatos de calcio con solubilidad controlada como ALCAP (fosfato de calcio y aluminio,  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5 = 50/34/16$ ), ZCAP (fosfato de zinc y calcio  $\text{ZnO}/\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ ), ZSCAP ( $\text{ZnSO}_4/\text{ZnO}/\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ ) y FECAP ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ ). La fluoroapatita es el compuesto que presenta la más baja solubilidad de todos los fosfatos de calcio

### *Alúmina.*

Se conoce por los nombres de "corindón" y "zafiro", usualmente en la forma a  $-\text{Al}_2\text{O}_3$ . Sólo las alúminas con más de 99,5% de alúmina se usan para prótesis. Se observa que la resistencia se incrementa al disminuir el tamaño de grano, por ello se adiciona un contenido inferior a 0,5 %  $\text{MgO}$  para impedir el crecimiento de grano en la sinterización. Es muy

rígida, posee un módulo de Young sobresalientemente alto, presentando problemas asociados a la liberación de esfuerzos hacia el sitio de implante. Presenta menor resistencia a la flexión y menor tenacidad a la fractura comparada con la zirconia. Se usa en cabezas femorales, tornillos de hueso y placas de compresión, prótesis de rodillas junto con UHMWPE.

### *Biovidrios*

Los biovidrios pueden ser cristalinos o amorfos, se caracterizan por formar fuertes enlaces interfaciales con los tejidos adyacentes al injerto, los cuales se suelen incrementar con el tiempo. Presentan liberación esfuerzos hacia el hueso aun cuando su módulo de Young es parecido al de este. Se usan en forma densa o como recubrimiento.<sup>42,44</sup>

### **Biomateriales compuestos**

Son materiales formados por dos o más fases, en los que, al que se encuentra en mayor porcentaje se le denomina matriz, y, al de menor porcentaje, carga. La matriz, así como la carga, pueden ser de diversos materiales; es así como se pueden obtener compositos de matriz metálica, inorgánica (óxidos metálicos y no metálicos), orgánica (polímeros) entre otras, y cargas de estos mismos materiales. Esto permite obtener compositos de matriz-carga, metal-metal, metal-inorgánico o inorgánico-metal, orgánico-metal, orgánico-inorgánico, entre otras. El término composito suele reservarse para aquellos materiales en que las distintas fases están separadas en una escala mayor a la atómica y propiedades como el módulo de elasticidad han sufrido alteraciones importantes respecto a los materiales homogéneos. Así, los plásticos reforzados con fibra de vidrio son materiales compuestos, más no las aleaciones como el latón. Las espumas se consideran un composito en el que una de las fases es el aire atrapado en ellas. Ejemplos de compositos naturales son el hueso, la madera, la dentina, el cartílago y la piel. Los compositos naturales suelen exhibir estructuras jerárquicas en granularidad, porosidad y estructura fibrosa. Ejemplos de biomateriales compositos son los cementos óseos reforzados y algunos rellenos dentales.<sup>1,42,44</sup>

### **II.II.2 Procesamiento de los biomateriales**

Todos los materiales tienen una composición química determinada, pero sus propiedades finales están íntimamente ligadas a la estructura del material y ésta es una consecuencia directa de los procesos de fabricación. Los materiales metálicos pasan por un proceso de fundición, solidificación, conformación y tratamiento térmico. Cada metal tiene su propio

proceso de tratamiento térmico con el fin de conseguir las mejores propiedades mecánicas, y a la vez, conseguir altas propiedades de resistencia a la corrosión. Los materiales cerámicos no se funden (a excepción del bioglass™) sino que son compactados bajo presión y sinterizados en caliente. La hidroxiapatita requiere de un proceso de precipitación para después realizarse un tratamiento térmico. El polietileno y el polimetilmetacrilato requieren de reacciones de adición de los radicales formados a partir del etileno o del metilmetacrilato respectivamente, cuando se tratan en presencia de un peróxido. Los biopolímeros suelen ser modificados en sus propiedades de bulto y de superficie, un ejemplo de modificación superficial es el tratamiento por plasma; el término plasma se refiere a una mezcla de iones positivos y electrones producidos por ionización. En la última década se ha usado para mejorar la mojabilidad y afinidad celular de los biomateriales poliméricos biodegradables observándose que algunos tratamientos con plasma crean grupos amino reactivos capaces de crear anclajes basados en enlaces covalentes polares así como enlaces por puente de hidrógeno. El principal inconveniente de los tratamientos por plasma es que sus efectos no son permanentes a temperatura intracorporea ni ambiente debido al reacomodo de las especies modificadoras de superficie que tienden a minimizar la energía interfacial mediante movimientos macromoleculares térmicamente activados.<sup>42,46</sup>

### II.II.3 Procesos en la interface del biomaterial

Las interacciones entre un biomaterial y el tejido vivo en contacto con él se ven afectadas por factores como la estructura química, la energía interfacial, las propiedades eléctricas y la topografía (Fig. II-4). Inmediatamente después de la implantación de un material, suceden una serie de reacciones en el huésped que en general siguen la siguiente secuencia: inicialmente el implante es rodeado de una solución acuosa, la cual altera la apariencia de su superficie. Es en este sentido que en una primera instancia, el material es caracterizado como hidrofílico o hidrofóbico, un parámetro relacionado es su adhesión celular, también ligada a la energía libre. Subsecuentemente se presenta una adsorción de proteínas, cuyo estado conformacional, monto y tipo están determinados por las propiedades superficiales del biomaterial. Finalmente, la amplia variedad de receptores en la superficie de las células, las habilitan a adherirse a las proteínas adsorbidas.<sup>40,47</sup>

#### Reacción de cuerpo extraño

Los efectos acumulativos derivados de los procesos ocurridos en la interface material-tejido pueden culminar en alguno de los siguientes resultados: 1) integración, 2) extrusión, 3) reabsorción o 4) encapsulamiento. Aunque la integración es el objetivo, la implantación de materiales en tejido blando suele conducir a uno de los casos restantes. La extrusión ocurre cuando el tejido epitelial adyacente desplaza el material hacia un lugar diferente del área

objetivo, en caso extremo, hasta fuera del cuerpo. La reabsorción ocurre en materiales biodegradables y solo queda una cicatriz en el sitio del implante. En muchos casos el material es encapsulado por una membrana hipocelular con un alto contenido de colágeno.<sup>40,47</sup>

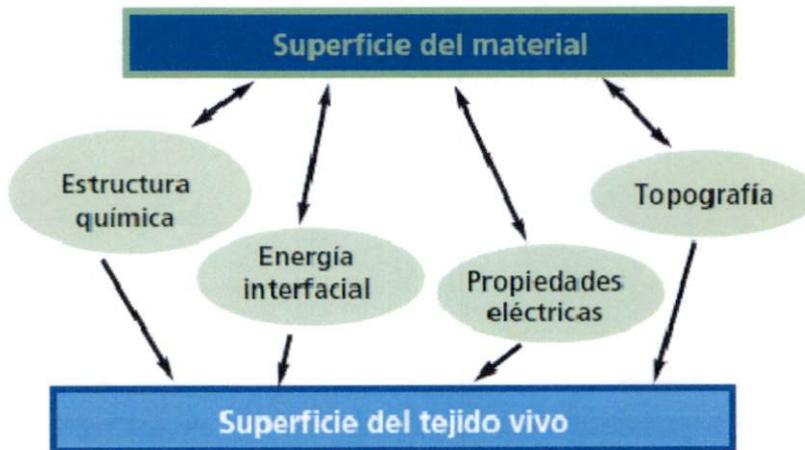


Fig. II-4 Factores que afectan las interacciones entre un biomaterial y el tejido vivo en contacto con él.

## II.III NANOTECNOLOGÍA

### II.III.1.1 Aplicaciones médicas de las nanotecnologías

Nanotecnología implica la producción y/o alteración controlada de la estructura de la materia a niveles del orden de los nanómetros o a nivel molecular. Las aplicaciones de los materiales nanoestructurados y de las nanotecnologías para producirlos se están desarrollando muy rápidamente, sus aplicaciones más destacadas han sido en la ingeniería de tejidos, la terapia celular, el diagnóstico médico, la ingeniería genética y la liberación controlada y focalizada de fármacos. Como ejemplo importante de aplicación diagnóstica puede mencionarse el uso de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro como marcadores celulares en resonancia magnética de alta resolución.<sup>23,48</sup>

### II.III.1.2 Nanobiomateriales

Son materiales de geometría en la escala nano o contruidos a partir de componentes en esta escala. Los ejemplos incluyen materiales con una unidad estructural básica en el rango 1-100 nm (nanoestructurados), sólidos cristalinos con tamaños de grano 1-100 nm (nanocristales), productos de revestimiento multicapa en el rango 1-100 nm (nanorecubrimientos), polvos muy finos, con un tamaño medio de las partículas en el rango 1-100 nm (nanopartículas), y fibras con un diámetro en el rango 1 - 100 nm (Nanofibras). Múltiples trabajos postulan que los sistemas vivos suelen ser regidos por el comportamiento molecular en la escala nanométrica. Los bloques moleculares de construcción de los sistemas vivos, proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y carbohidratos son ejemplos de materiales que poseen propiedades singulares determinadas por el tamaño, plegado, y patrones en la nanoescala. La organización de las células y las propiedades correspondientes de los tejidos resultan ser muy dependientes de la estructura de la matriz extracelular (ECM). La ECM tiene una compleja estructura jerárquica espacial con niveles de organización que se extienden varios órdenes de magnitud (de los nanómetros a los centímetros). Esto apunta hacia una preferencia biológica por los biomateriales compuestos de escala nanométrica.<sup>24,49</sup>

### II.III.1.3 Nanotecnologías para la ingeniería de tejidos

Las arquitecturas nanoestructuradas artificiales han mostrado imitar, al menos de forma aproximada, las características de la matriz extracelular (ECM) y soportar la adhesión, proliferación y diferenciación de varios tipos celulares además de servir como agentes de liberación controlada de fármacos, factores de crecimiento y citoquinas, con el objetivo de promover la adecuada formación de neot Tejido funcional sano. Una considerable parte de la investigación se centra en los andamios fibrosos biomiméticos obtenidos por las técnicas electrohilado y autoensamble, así como en las nanofibras y nanotubos de carbón.<sup>23,49</sup>

## II.IV LA TÉCNICA ELECTROHILADO

### II.IV.1 Nanofibras por Electrohilado

El electrohilado o *electrospinning* es una técnica de producción de fibras delgadas a partir de la elongación de un polímero en estado líquido mediante fuerzas de atracción electrostática. El polímero puede encontrarse fundido o en solución. Las fuerzas de atracción empleadas provienen de un campo electrostático intenso entre un par de electrodos (positivo y negativo), viajando el chorro o *jet* desde un electrodo (comúnmente

el positivo) hacia el otro (electrodo de recolección, comúnmente tierra) formando en su viaje una trayectoria ramificada en forma de cono (cono de Taylor) (Fig. II-5). Las fibras formadas, de diámetros desde algunos nanómetros hasta unos cientos de micrómetros, suelen acomodarse de forma aleatoria (a menos que se induzca algún tipo de ordenamiento), formando textiles cuya estructura se ha asociado a estructuras biológicas como la matriz extracelular de algunos tejidos (Fig. II-5). Las fibras electrohiladas han encontrado sus principales aplicaciones en áreas científicas y tecnológicas emergentes como las nanotecnologías y la ingeniería de tejidos como filtros avanzados, sistemas de liberación controlada de sustancias y mayoritariamente como andamios. Aunque la técnica electrohilado fue patentada hace aproximadamente un siglo, ha encontrado su *boom* solo en la última década. Se atribuye su amplia aceptación actual al reciente desarrollo de las ciencias biológicas, a la sencillez de implementación de la técnica y a que se pueden obtener cantidades relativamente grandes de materiales que han venido reportándose como buenos medios de cultivo celular.

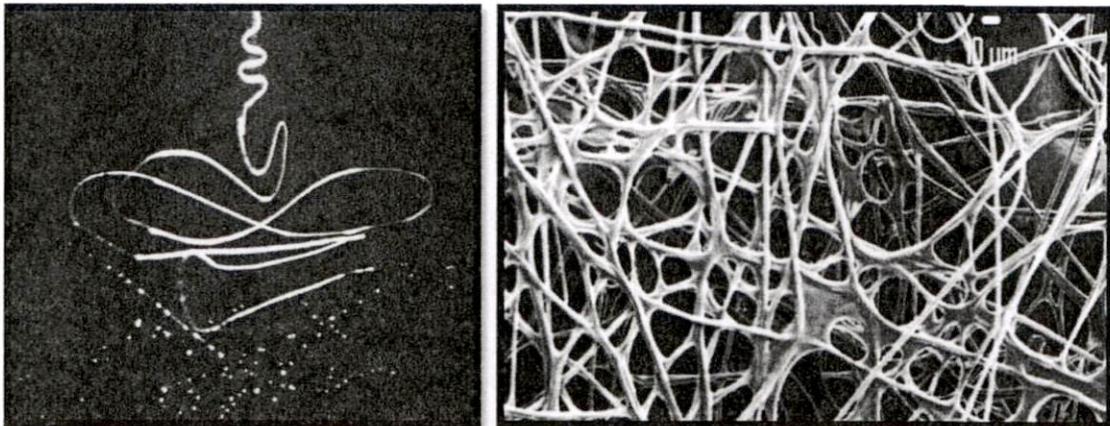
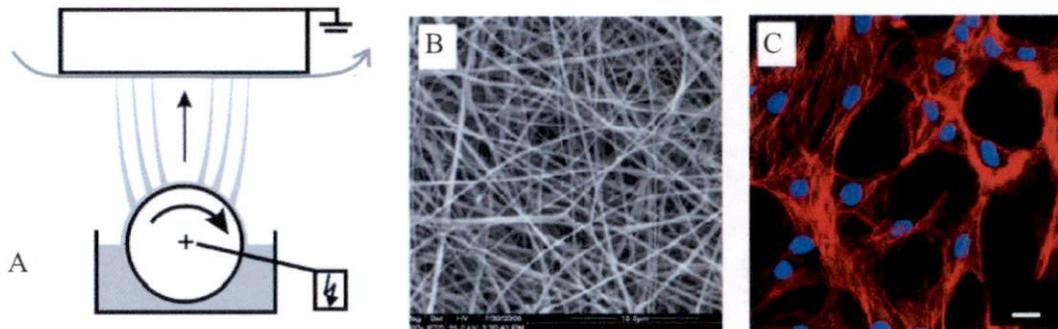


Fig. II-5 Izq. Cono de Taylor del electrohilado de una solución de glicerol al 88% imagen adquirida con una cámara de alta velocidad CCD y lentes de Fresnel.<sup>50</sup> Der. Andamio de fibras electrohiladas (PVB al 20%).<sup>21</sup>

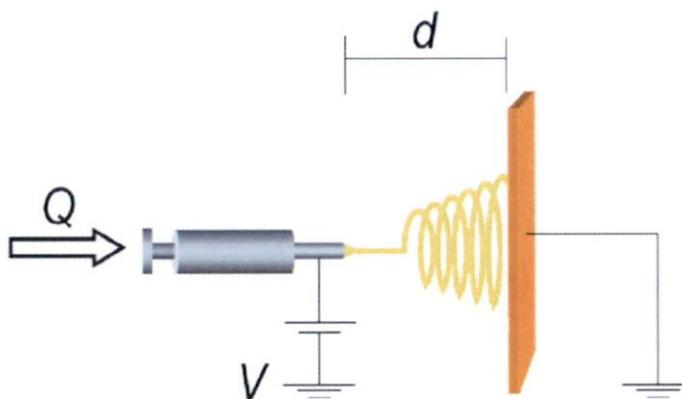
## II.IV.2 Configuraciones básicas

Actualmente existen dos configuraciones básicas de la técnica electrohilado, la tradicional, que alimenta el polímero por inyección a través de un capilar, y una técnica de reciente creación llamada “needleless electrospinning” (electrohilado sin aguja), o comercialmente, “Nanospider™ technology”, en la que la solución polimérica es alimentada mediante algún sólido de revolución bañado de ella (Fig. II-6). Esta última técnica tiene como ventajas una mayor productividad, mejor reproductibilidad y una baja variación entre las muestras de prueba obtenidas en laboratorio y la producción a escala industrial.



**Fig. II-6** A) Esquema básico de la configuración *needleless*. B) Microfotografía SEM de fibras de poli(amida) obtenidas con equipo Nanospider.<sup>TM</sup> C) Microfotografía confocal de células (MSC) humanas crecidas en andamio orientado aleatoriamente.<sup>48</sup>

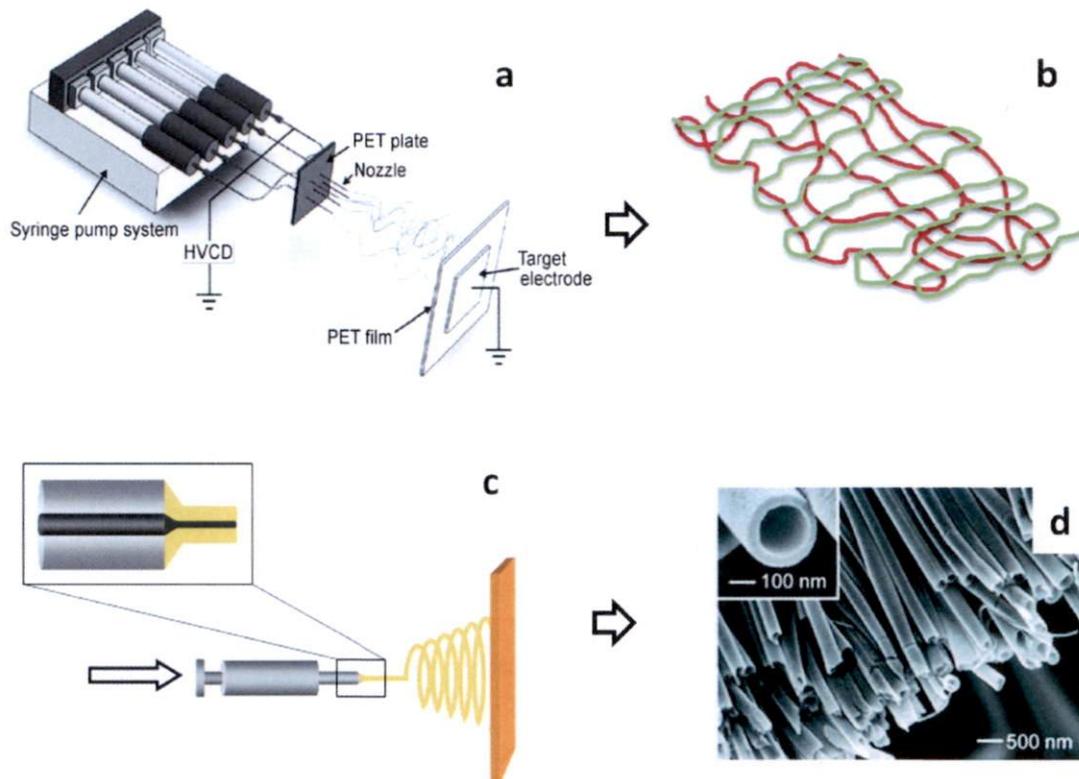
Fig. II-7) tiene ventajas como que produce fibras más delgadas (de diámetro entre 2 y 3 órdenes de magnitud menor al diámetro interno de la aguja), cuenta con una gran versatilidad, por ejemplo, pueden obtenerse andamios de dos o más fibras de diferentes



**Fig. II-7** Configuración básica de electrohilado por inyector,  $Q$  indica un flujo,  $d$  la distancia entre electrodos y  $V$  un alto voltaje de CD<sup>51</sup>.

polímeros mediante la convergencia de varios inyectores sobre un mismo recolector (Fig. II-8), en este arreglo uno de los polímeros inyectados puede servir como agente porógeno, o como refuerzo mecánico. También se pueden hilar fibras tipo núcleo-coraza (Fig. II-8) mediante arreglos coaxiales de agujas, esto es útil para fabricar fibras huecas o rellenas de alguna sustancia que deba liberarse paulatinamente.<sup>51-53</sup>

Existen en el mercado una variedad de instrumentos para implementar la técnica electrohilado, principalmente consisten en una bomba de inyección de jeringas acoplada a una fuente de alto voltaje y un arreglo inyector-colector.



**Fig. II-8** Dos modalidades del electrohilado por inyección. **a)** Arreglo paralelo de jeringas concurrentes. **b)** Andamio de fibras mixtas producido por a). **c)** Electrohilado coaxial, **d)** Fibras de dos fases producidas por c).<sup>51,53</sup>

### II.IV.3 Aplicaciones en ingeniería de tejidos

Una de las aplicaciones más importantes de los polímeros en medicina es la reconstrucción de tejido a partir del cultivo controlado de células sobre estructuras de soporte guía. La técnica electrohilado es un modo de formar dichas estructuras usando nanofibras, las cuales ofrecen, debido a la topología resultante de su entrelazado, características óptimas de biocompatibilidad y anclaje para el crecimiento celular.

### II.IV.4 Factores asociados a la morfología

La morfología de las fibras electrohiladas depende de factores relativos al fluido polimérico, los parámetros del experimento y el ambiente de trabajo (Tabla II-2). Los

principales factores que afectan las características de las fibras electrohiladas asociados al polímero son:

- Peso molecular
- Estructura isomérica
- Entrecruzamiento
- Tensión superficial
- Aditivos

Respecto al fluido polimérico:

- Tipo de solvente
- Concentración
- Viscosidad
- Conductividad eléctrica
- Rigidez dieléctrica
- Temperatura

En cuanto al proceso:

- Magnitud del campo eléctrico
- Distancia de depósito
- Flujo
- Tamaño del capilar
- Técnica de recolección
- Humedad relativa

Son particularmente importantes parámetros como la concentración, la temperatura, el flujo, la humedad relativa, la magnitud del campo eléctrico, la distancia entre electrodos, la tensión superficial y el tamaño del capilar, Taylor relacionó estos últimos mediante un modelo matemático que aproxima el voltaje crítico necesario para la inicialización del jet:

$$V_c = 4 \frac{H^2}{L^2} \left( \ln \frac{2L}{r} - 1.5 \right) (0.117\pi\gamma r) [kV]$$

H es la distancia entre los electrodos, L es la longitud del tubo capilar, r es el radio del tubo y  $\gamma$  es la tensión superficial del fluido (unidades: H, L y r en cm;  $\gamma$  en dina / cm). Taylor también describió el chorro o jet del electrohilado como un cono (cono de Taylor) que se estabiliza cuando su vértice tiene un ángulo  $\phi = 49,3^\circ$ .<sup>54</sup>

**Tabla II-2** Efectos de los parámetros del proceso sobre la morfología de las fibras<sup>51</sup>

<i>Parámetro del proceso</i>	<i>Efecto sobre la morfología de las fibras</i>
Viscosidad / concentración	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La formación de defectos tipo fibras “rosario” es inversamente proporcional a la viscosidad.</li> <li>• Los diámetros de las fibras varían proporcionalmente a la viscosidad.</li> </ul>
Conductividad / densidad de carga del fluido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A mayor conductividad mejora la uniformidad de las fibras y disminuye su diámetro.</li> </ul>
Tensión superficial	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No hay conclusión contundente sobre sus efectos.</li> </ul>
Peso molecular, momento dipolar y constante dieléctrica del polímero.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A mayor peso molecular se reduce el goteo y las fibras “rosario”.</li> <li>• Una constante dieléctrica grande asegura la ocurrencia del electrohilado.</li> </ul>
Flujo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un flujo lento produce fibras con diámetros pequeños</li> <li>• Un flujo demasiado rápido no permite que las fibras alcancen el colector secas.</li> </ul>
Intensidad del campo eléctrico / voltaje	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El voltaje demasiado alto provoca defectos “rosario”.</li> <li>• La correlación entre el voltaje y el diámetro de las fibras es ambiguo.</li> </ul>
Distancia entre electrodos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se requiere una distancia mínima para que las fibras lleguen secas al recolector.</li> <li>• Distancias inadecuadas provocan defectos en las fibras.</li> </ul>
Composición y geometría del recolector	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se obtienen fibras lisas con recolectores metálicos lisos, recolectores porosos producen fibras porosas.</li> <li>• Se obtienen fibras alineadas usando marcos conductores, tambores y discos rotatorios.</li> </ul>
Ambiente de trabajo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un incremento en la temperatura baja la viscosidad del fluido y produce fibras delgadas.</li> <li>• Un exceso de humedad puede provocar porosidades.</li> </ul>

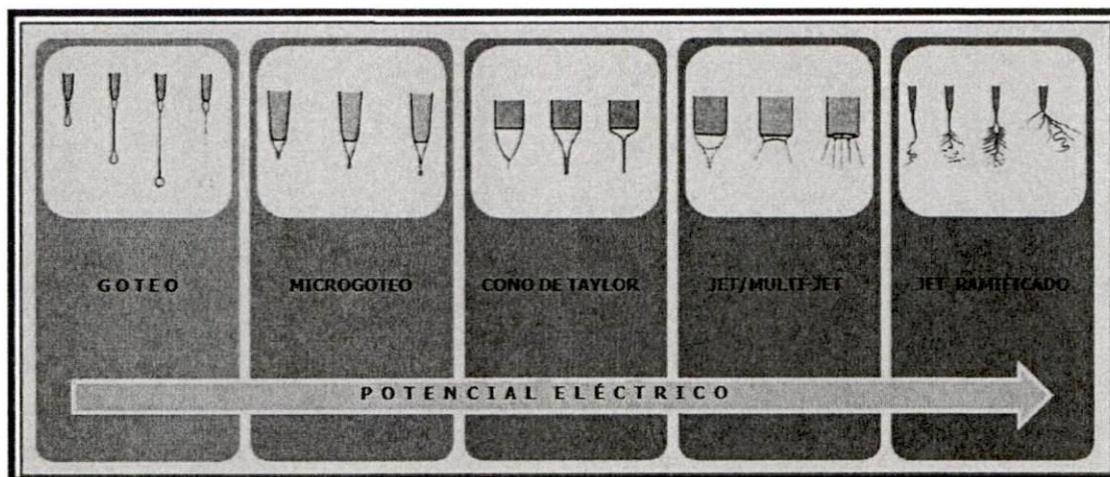


Fig. II-9 Efectos de la magnitud del campo eléctrico en la forma que toma el fluido al salir de la aguja.<sup>55</sup>

La humedad es una variable muy importante en la creación de fibras, ya que a un porcentaje relativamente alto de humedad generaría un ambiente propicio para la ionización de partículas del biopolímero, la reacción temprana de las soluciones y retardo de la evaporación de los solventes, produciendo goteo y mala formación de fibras. Un porcentaje

óptimo de humedad relativa está entre el 10 % y el 40%.<sup>56</sup>

La magnitud del campo electrostático es especialmente importante, dada una distancia constante, la variación en el potencial eléctrico define la forma del fluido después de salir de la aguja como se ilustra en la Fig. II 9.<sup>55,58</sup>

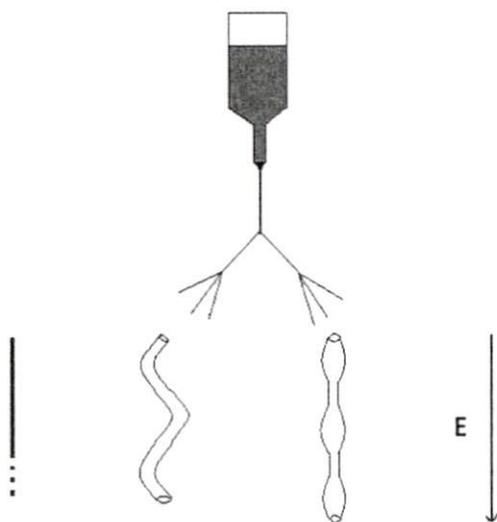


Fig. II-10 Posibles inestabilidades que pueden inducirse en un jet viscoelástico eyectado en presencia de un campo eléctrico intenso E.<sup>57</sup>

Como consecuencia de las múltiples variaciones en los parámetros que gobiernan el fenómeno electrohilado (propiedades del polímero, la solución y el proceso), resultan tres morfologías básicas posibles: goteo, fibras onduladas de diámetro constante, y fibras "lacias y varicosas" (Fig. II-10).<sup>56,57,59</sup>

## II.IV.5 Materiales utilizados en la fabricación de micro y nanofibras electrohiladas.

Pueden electrohilarse polímeros naturales y sintéticos, biodegradables y no biodegradables, puros o compuestos, se pueden usar como cargas metales, cerámicas, agentes activos, nanopartículas, cromóforos e incluso virus.<sup>51,53</sup>

### Nanocompositos polímero/cerámica

La literatura reporta la viabilidad de desarrollar compositos encapsulando nanopartículas de hidroxiapatita dentro de nanofibras de polímeros en una estructura tipo núcleo-coraza, por suspensión de hidroxiapatita en solución polimérica, o también por electroaspersión (*electrospraying*) de nanohidroxiapatita en paralelo con electrohilado de polímero. Los andamios resultantes gozan de mejor osteoconductividad y osteointegración.<sup>60</sup>

### Agentes porógenos

Múltiples pruebas *in vitro* han mostrado que los cultivos celulares en andamios electrohilados tienden a formar una monocapa celular sobre la superficie de estos debido hipotéticamente a que no se puede dar la penetración celular en poros menores a 10  $\mu\text{m}$ , sin embargo, también se ha encontrado evidencia de que en condiciones naturales *in vivo* si hay una migración celular hacia el interior de los andamios de nanofibras, aunque no es claro cuál es el mecanismo por el que esto puede ocurrir y se ha planteado la capacidad de las células para abrirse camino entre los poros pequeños pero deformables del andamio. Una estrategia para garantizar una porosidad adecuada en andamios para uso *in vitro* e *in vivo* es la inclusión de agentes porógenos, sustratos de presencia fugaz cuya misión es dejar huecos en una estructura. La inclusión de fibras de materiales con una muy alta tasa de degradación en un arreglo paralelo de electrohilado concurrente produce excelentes porosidades interconectadas, continuas y de diámetro aproximadamente característico.<sup>23,51,53</sup>

## II.V PROTOTIPADO RÁPIDO E IMPRESIÓN EN 3 DIMENSIONES

El prototipado rápido (RP) es un proceso automatizado que abarca una serie de tecnologías para la obtención de objetos volumétricos, diseñados por computadora, mediante la adición y/o sustracción de capas de sustratos utilizando control numérico computarizado (CNC). Las técnicas de RP actuales se basan en el desplazamiento fino, en el plano cartesiano XYZ, de un cabezal (que porta herramientas de corte, desbaste, sinterización, y/o depósito

de materiales) con respecto a una superficie de formado sobre la cual está fijo el material a maquinar o sobre la cual se va depositando el material en forma de líquido, polvo y/o lámina. Es común el uso de estructuras auxiliares temporales de soporte mecánico, las cuales son parte implícita del modelo formado y son retiradas una vez que no se necesitan más. Los objetos producidos por estas técnicas pueden ser destinados a su uso directo o pueden servir de medios para la construcción de otros objetos, funcionando como moldes o maquetas. Estas tecnologías atraviesan actualmente por un *boom* a nivel mundial, su mercado es muy variado y cambiante e incluso recurre a campañas de financiamiento de proyectos, principalmente para el desarrollo de dispositivos *Hágalo usted mismo* (DIY), los cuales están revolucionando la forma de usar estas tecnologías, haciéndolas de consumo masivo y extendiendo la comprensión de su uso y su funcionamiento hacia grandes sectores de la población que hace apenas pocos años no las conocían ni tenían acceso a ellas. En México comienzan a ser adoptadas, principalmente por universidades y empresas que ofrecen el servicio de generación de modelos.

### II.V.1 Principales técnicas RP

En la actualidad existe una serie de técnicas comerciales de RP en estado de mejora continua las cuales ofrecen beneficios y desventajas característicos, estas tecnologías están encontrando un creciente campo de aplicación. Se suele llamar impresión 3D a las técnicas aditivas de RP en general; se describen brevemente las principales:

#### Estereolitografía

Es una técnica de realización aditiva en la que se polimeriza *in situ* un área sobre un soporte mojado con resina fotocurable, esta capa solidifica y sirve sucesivamente de soporte a la capa siguiente (Fig. II-11). Los espesores de capa comunes oscilan entre 50 y 150 micras. Esta técnica es la más difundida pues es también la más antigua y desarrollada, sus costos de inversión inicial y de operación son, en general, menos elevados que sus alternativas. Los modelos obtenidos con esta técnica tienen calidad cercana a la obtenida por fresado CNC, los tiempos de producción son razonables y las propiedades mecánicas de los objetos formados son aceptables. Recientemente han salido al mercado, mediante campañas de financiamiento estilo *Kickstarter*, los primeros equipos de estereolitografía de bajo costo (alrededor de USD\$3,000.00), los cuales ofrecen una calidad cercana a los equipos profesionales diez veces más caros (Fig. II-11).

Tratamientos postprocesado: Los objetos generados por estereolitografía suelen necesitar un lavado para remover la resina residual no curada y un segundo fotocurado en un horno de luz UV.

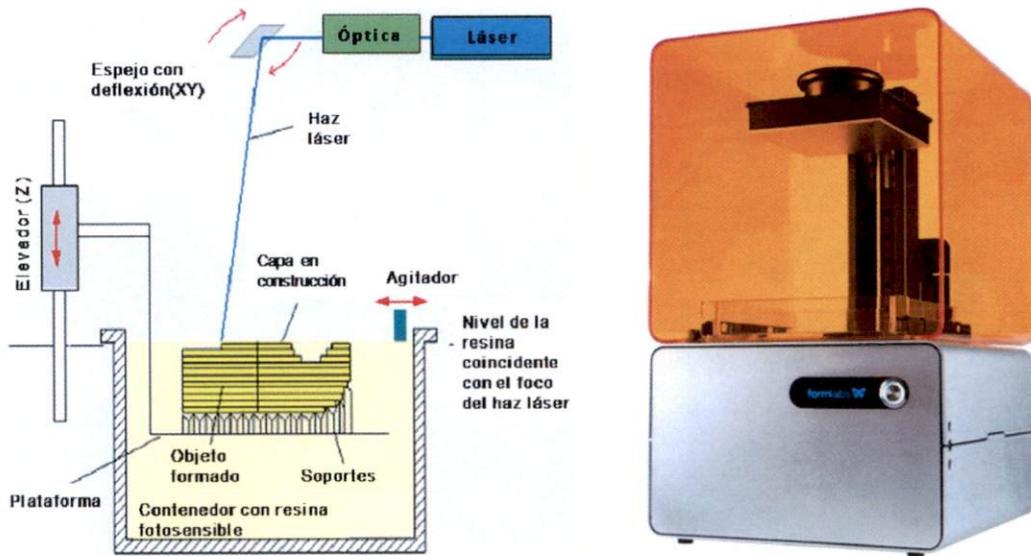


Fig. II-11 Izq. Esquema de un estereolitógrafo.<sup>61</sup> Der. Estereolitógrafo de bajo costo marca Formlabs.

Marcas representativas: 3DSYSTEMS CORPORATION, CMET INC., DSM-SOMOS, ENVISIONTEC, SONY/D-MEC, STRATASYS, FORMLABS.

### RP de metales

Es una tecnología de realización aditiva basada en el depósito ordenado de polvos metálicos para su posterior sinterización por altas temperaturas o incidencia de luz láser u ondas ultrasónicas, permite obtener objetos de una variedad de metales. Marcas representativas: ArcamAB, Concept Laser, Solidica.

### Sinterizado laser selectivo

Es una tecnología de realización aditiva basada en el depósito ordenado de polvos cerámicos para su posterior sinterización por incidencia de luz láser, requiere de limpieza del polvo residual no fraguado y de un horneado que completa la solidificación del objeto formado. Marcas representativas: EOS GmbH, Optomec, PhenixSystems.

### **Depósito de fundidos base cera**

Tecnología aditiva que inyecta sustratos fundidos base cera para capa por capa formar volúmenes con un alto nivel de detalle. Su principal aplicación es la elaboración de moldes sacrificables para joyería, estomatología y otras aplicaciones que requieran el moldeo de piezas pequeñas personalizadas. Se requiere de un baño en agua caliente para disolver las estructuras de soporte, las cuales están hechas de material con menor TG que el objeto de interés. Marcas representativas: Solidscape.

### **Superposición de laminados**

Tecnología aditiva que apila recortes de papel o plásticos en hoja con gran precisión adhiriéndolos con pegamentos especiales. Marcas representativas: Cubic Technologies, Mcor Technologies.

### **Inyección de tinta**

Tecnología aditiva que inyecta chorros de composites coloreados aglutinantes generalmente fotocurables. Suele ser la opción más adecuada cuando se requieren modelos heterogéneos en color y composición, pues se dispone de una gran variedad de colores y materiales duros y de consistencia similar a la del hule. Marcas representativas: Objet Geometries, Optomec (Capacidad para impresión de elementos biológicos y electrónicos), Z Corporation.

### **Consolidación por ultrasonido**

Es una tecnología usada principalmente para la formación de estructuras metálicas. Consiste en la superposición de hojas muy finas de metales como el aluminio, el cobre, el hierro y el níquel, entre otros. Las hojas se consolidan en un único volumen mediante soldadura ultrasónica. Entre de las ventajas que ofrece esta técnica está la posibilidad de reforzamiento con fibras con orientación precisa, además, la posibilidad de daño por temperatura a estas fibras durante el proceso se minimiza<sup>62</sup>.

## **II.V.2 Dispositivos específicos para ingeniería de tejidos**

El mercado de las impresoras tridimensionales cada vez está más dirigido hacia aplicaciones específicas y la ingeniería de tejidos es una de las áreas en que el prototipado rápido tiene grandes posibilidades de aplicación; Es posible crear andamios de

biomateriales y también se experimenta con siembras ordenadas de células de múltiples tejidos inmersas en vehículos como los hidrogeles, existen actualmente tres tecnologías de impresión de células: laser, inyección de tinta y extrusión.<sup>63</sup> Marcas representativas: Envisiontec 3D-Bioplotter®.

### **II.V.3 Impresoras 3D DIY basadas en el proyecto RepRap.**

El proyecto RepRap es una iniciativa para popularizar las técnicas de realización aditiva mediante la simplificación del hardware y el software, los cuales son libres y un gran porcentaje de sus componentes son autoreplicables. Estos equipos que suelen entregarse en forma de *kits*, comúnmente no ensamblados, modificables por el usuario, usan la tecnología de depósito de filamento extruido; Un filamento sólido de polímero es empujado a través de un dado de extrusión a temperatura mayor a la temperatura de fusión del polímero depositando un filamento de polímero fundido sobre una placa de construcción que se desplaza en 3 ejes cartesianos respecto al cabezal de extrusión. La superposición de capas forma cuerpos volumétricos en los que se aprecian con claridad las capas que los forman. Este método de impresión es el más sencillo y económico, pero también el de menor calidad. Entre sus ventajas puede mencionarse el bajo costo de la inversión inicial (entre 400 y 2,800 USD) operación e insumos, los cuáles pueden ser diferentes plásticos, por ejemplo: ácido poliláctico (PLA), alcohol polivinílico (PVA), acrilonitrilo-butadienoestireno (ABS), policloruro de vinilo (PVC), policarbonato (PC), polipropileno (PP), policaprolactona (PCL) y, experimentalmente, cualquier termoplástico en forma de filamento de 3 o 1.75 mm de diámetro.

Sobresalen Makerbot, como pionera en popularizar el proyecto RepRap, y con la mayor comunidad de usuarios. Ultimaker, como la más rápida y con mejor calidad y tamaño de impresión y Mauk Cartesio por su robustez, calidad y tamaño de impresión y capacidad para portar varias cabezas que pueden ser extrusores, herramientas de desbaste o accesorios de dibujo. Los grandes fabricantes también comienzan a participar en este mercado, están en puerta una serie mejoras en construcción que ofrecen precios más competitivos y mejor calidad de producto y de impresión. Marcas representativas: RepRap Project, Solidoodle, 3D Systems, PP3DP Up!, LeapFrog, BitsfromBytes, Ultimaker, Makerbot, Mauk, Aleph Objects, Fab@home.

### **II.V.4 Aplicaciones del prototipado rápido**

Las diferentes tecnologías del prototipado rápido cuentan con una creciente diversidad de aplicaciones en áreas como las artes, educación, diseño de vestuario y calzado, arquitectura y construcción, paleontología, arqueología, ciencia de materiales, robótica, ciencias

sociales, automatización y control, química, física, ingeniería, estomatología, joyería, y clínica médica, entre otras. Se ilustra la distribución de la literatura científica y el registro de patentes en torno al RP de acuerdo a sus principales áreas de aplicación (Fig. II-12). La ingeniería biomédica, las ciencias de la computación y las tecnologías de la información y las comunicaciones, la robótica y la automatización se consideran por separado de la ingeniería *tradicional* (mecánica, aeronáutica, naval, etc.) debido a su naturaleza multidisciplinaria y novedosa.<sup>64-66</sup>

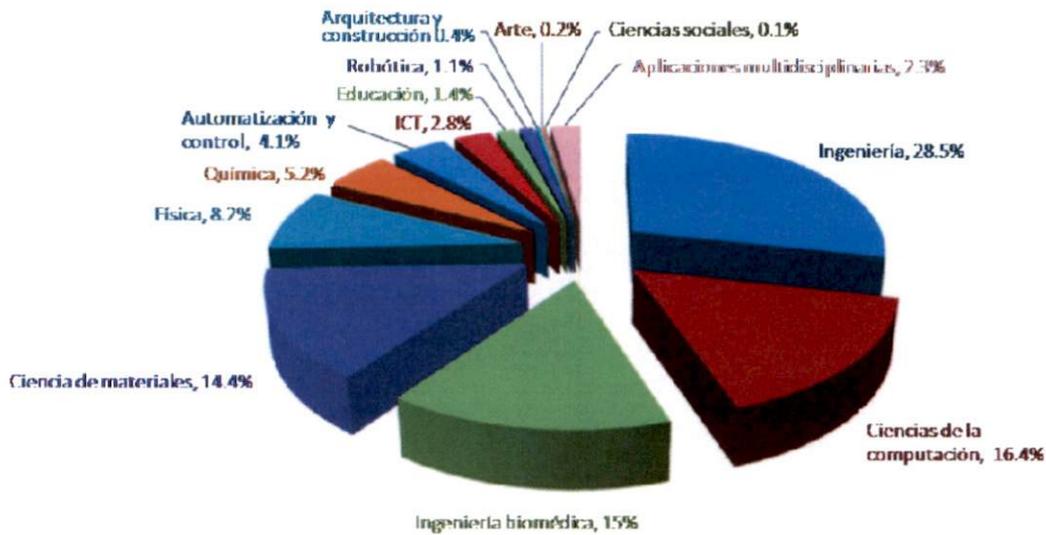
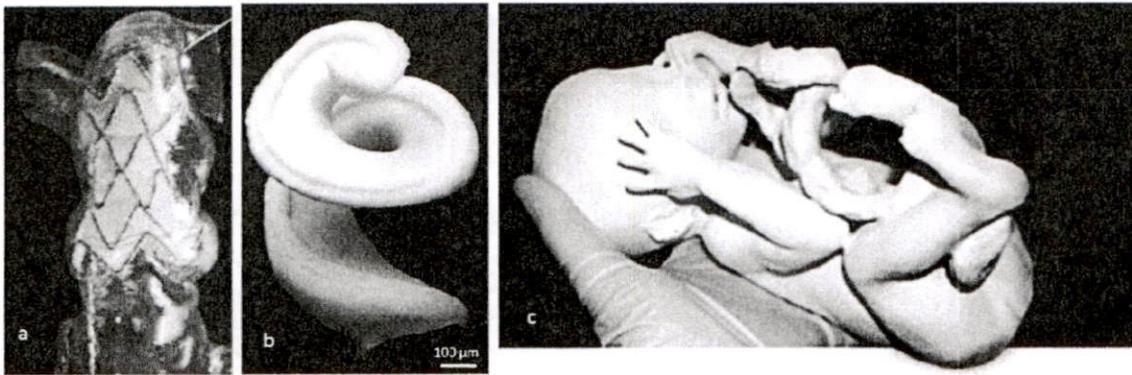


Fig. II-12 Principales campos de aplicación del prototipado rápido. Abreviatura: ICT, tecnologías de la información y las comunicaciones.<sup>64</sup>

### II.V.5 Aplicaciones médicas del prototipado rápido

La aplicación del RP se extiende a diversas especialidades médicas como son: traumatología, ortopedia, otorrinolaringología, cirugía plástica reconstructiva, neurología, cirugía oncológica, cirugía general, oftalmología odontología, como alternativa en la simplificación de sus metodologías de trabajo. También en, implantología, cirugía maxilofacial, prótesis maxilofaciales, ortodoncia, odontopediatría, patología, prótesis bucal, periodoncia, materiales dentales y endodoncia, entre muchas otras (Fig. II-13). Pueden obtenerse modelos tridimensionales anatómicos y biológicos personalizados como herramientas de diagnóstico, pronóstico, planeación de estrategias quirúrgicas, tratamiento farmacológico, generación de moldes, desarrollo de *laboratorios en un chip*, y producción de andamios para restauración de tejidos duros y blandos.<sup>67-69</sup>



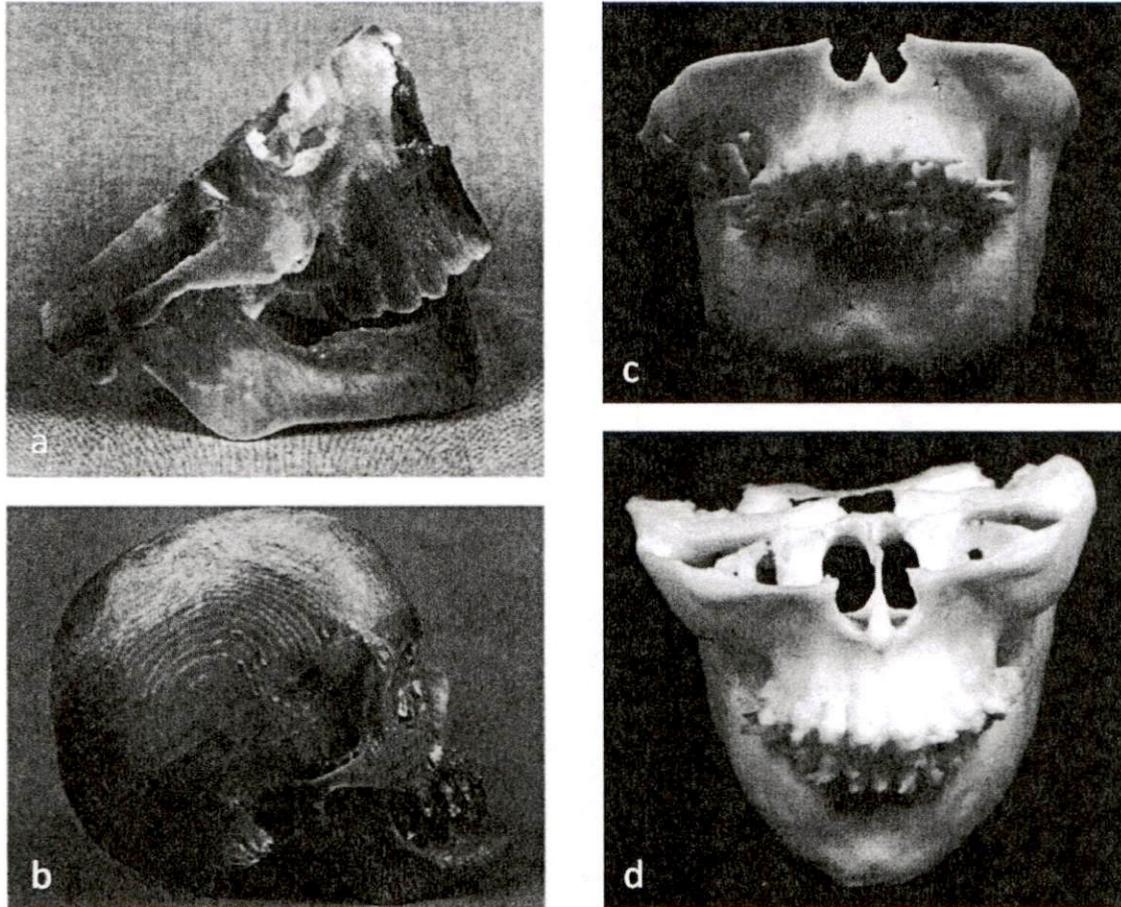
**Fig. II-13** Ejemplos de aplicaciones médicas del prototipado rápido. a) Simulación de implantación de una válvula pulmonar percutánea en un modelo predictivo de arteria pulmonar dilatada generado por RP. (Andrew Taylor. Virtual surgery, 3D modeling add options for cardiac patients). b) Modelo 1:50 obtenido por depósito de fundido de una cóclea de ratón.<sup>70</sup> c) Reconstrucción 3D de feto a partir de ultrasonido, (J. Lopes Dos Santos, 3D Showprint London 2012).

Los modelos de uso médico recurren predominantemente a la estereolitografía y al depósito de fundidos, las aplicaciones principales son la cirugía maxilofacial, la neurocirugía, la ortopedia y las diferentes ramas de la odontología. Una limitante muy importante en la aplicación clínica del RP son los artefactos indeseados que provocan distorsiones en los modelos médicos. Las fuentes de estos artefactos suelen estar bien identificadas: importación y adquisición defectuosa de datos, distorsión ocasionada por el *gantry* en CT, movimiento e implantes metálicos del paciente, elección inadecuada de umbrales, algoritmos de bajo desempeño (Fig. II-14). Es recomendable que los modelos anatómicos generados por RP sean sometidos a rigurosos controles de calidad en cada una de sus etapas que aseguren la minimización de las imprecisiones que puedan tener graves consecuencias en los procedimientos en que se utilizan.<sup>67</sup>

#### II.V.6 Aplicaciones en ingeniería de tejidos

Un elemento clave involucrado en la ingeniería de tejidos es el andamio, que sirve como substrato y/o marco para el crecimiento celular, la agregación y el desarrollo de tejido. Las células poseen capacidad para censar el microambiente en que se encuentran, incluyendo la textura del material sobre el cual reposan, en función de esto, adaptan su morfología, la configuración de su citoesqueleto y su señalización intra y extracelular. De esta manera, el diseño del andamio resulta crucial en las estrategias de la ingeniería de tejidos, son aspectos importantes la micro y la macroarquitectura, la porosidad, el tamaño de poro y su interconectabilidad, la topología, la composición química, sus propiedades mecánicas y su tasa de degradación, entre otros. Existe una gran cantidad de trabajos con resultados muy prometedores sobre diferentes técnicas de producción de andamios, (e.g. evaporación de solvente, lixiviación de partículas, espumado por gas, laminación de membranas, entrelazado de fibras, moldeado de materiales fundidos, etc.), sin embargo el desarrollo de los procesos de producción para su aplicación clínica suele tener limitaciones aún no

superadas como la pobre reproductibilidad, la dificultad para formar estructuras con homogeneidad controlada, la interconectividad insuficiente de las porosidades, la necesidad del uso de solventes tóxicos, la falta de control sobre la arquitectura y la topología. El prototipado rápido, en conjunto con las herramientas de diseño asistido por computadora



**Fig. II-14** a) Superficie sin imperfecciones obtenida de un algoritmo con alta resolución b ) Reconstrucción en la que se distinguen claramente los contornos de malla debido a la baja resolución del algoritmo empleado c) Artefacto metálico debido a dispersión de los rayos X originada por una restauración dental metálica d) Remoción parcial del artefacto metálico mediante procesamiento digital de imágenes.<sup>67</sup>

(CAD) no presenta estas limitaciones y se ha venido planteando con diferentes grados de éxito en los últimos años como una alternativa o complemento de los métodos de producción de andamios tradicionales. Las diferentes tecnologías de RP han sido empleadas para producir andamios de materiales como los hidrogeles, gelatina, aleaciones de titanio, fotopolímeros y cerámicas<sup>64,65,67,71</sup>.

## II.V.7 Combinaciones del RP con otras tecnologías

Las técnicas de RP cuentan con sus propias limitaciones, una que suele ser común es la incapacidad para formar materiales con composición jerárquica, y preferentemente con microarquitectura aleatoria; algunas propuestas para superar estas limitantes están surgiendo basadas en modificaciones y/o combinaciones de las tecnologías convencionales buscando dar viabilidad a la industrialización de la producción de los andamios para IT. Estos nuevos métodos incluyen tecnologías experimentales como son: El sistema multicabezal de depósito (MHDS), el sistema de extrusión por tornillo (SES), el bioextrusor, el sistema combinado FDM-EH, el sistema combinado plotter-EH, el sistema combinado 3DF-EH, el sistema combinado liofilizado-plotter, el sistema de extrusión basado en porógenos y diversas modificaciones de las tecnologías de RP.<sup>72</sup>

## II.V.8 Andamios mixtos RP-EH

Se han desarrollado trabajos experimentales sobre la técnica emergente RP-EH obteniéndose andamios mixtos que combinan las ventajas de ambas técnicas (versatilidad de producción de formas volumétricas definidas para el caso del RP y producción masiva de andamios de morfología parecida a la de la ECM) y que han mostrado una mejora radical comparados con sus contrapartes RP y EH. Aunque se ha expuesto la utilidad de la combinación de estas técnicas, el desarrollo de un aparato que las conjunte para conseguir un proceso automatizado que produzca andamios personalizados característicos sigue siendo un tema de investigación con gran potencial de aplicación.<sup>35,73-75</sup>

## II.VI ESTADO ACTUAL DE LOS ANDAMIOS PARA INGENIERÍA DE TEJIDOS.

El reto de la ingeniería de tejidos es imitar lo que pasa en la naturaleza, la tendencia en la arquitectura de andamios es hacia materiales con potencial angiogénico dado que se ha aceptado que la nutrición por el mecanismo de difusión tiene un alcance máximo de 200  $\mu\text{m}$ , insuficiente para la irrigación de andamios poblados de dimensiones considerables. Se han venido realizando múltiples trabajos buscando una adecuada vascularización de los andamios, entre ellos incluso hay algunos que retoman viejos métodos como la vascularización intrínseca usando el modelo AV loop (Erol & Spira, 1979), pero todos ellos parten de la adecuada irrigación por vasos sanguíneos es un requisito indispensable para casi cualquier andamio exitoso.

El uso combinado de la imagenología médica, las herramientas computacionales CAE y CAD y las tecnologías de prototipado rápido promete generar dispositivos biomédicos personalizados sustentables en el mediano plazo.

Es ahora claro que los procesos de mecanotransducción son decisivos en la neoformación de tejido y se busca empatar las propiedades mecánicas de los andamios con aquellas del tejido que se pretende restaurar. Adicionalmente, comienza a haber un consenso en cuanto a la necesidad de cargar los andamios con factores de crecimiento, promotores de adhesividad, citoquinas, fármacos y/o genes terapéuticos que optimicen el anclaje y la proliferación de las diferentes líneas celulares cultivadas, en especial las que garanticen una adecuada vascularización e inervación tisular.

Se han realizado intentos por reproducir *in vitro* prácticamente todos los tejidos y órganos del cuerpo, en especial se ha investigado en torno a hígado, tejido nervioso, riñón, intestino, páncreas y músculo y válvulas cardiacos. También hay muchos trabajos sobre tejidos conectivos, como tendones, ligamentos, hueso y cartílago. Actualmente, los trabajos que han gozado de mayor éxito han sido aquellos que tratan con remplazos de piel, vejiga, vías aéreas y hueso. Sin embargo hay una extensa cantidad de materia de estudio pendiente en esta área multidisciplinaria; en este sentido, se destina una enorme cantidad de recursos a la investigación en IT, y como primeros resultados de esto pueden comenzar a encontrarse en el mercado biomateriales para medicina regenerativa y otros tantos se encuentran en fase de pruebas clínicas.<sup>15,72,76,77</sup>

Todo lo anterior permite concluir que el andamio ideal aún sigue siendo tema de un gran número de investigaciones multidisciplinarias encaminadas a la resolución de una muy importante necesidad clínica a través de diferentes estrategias, todas ellas con algún grado de éxito, pero con mucho trabajo por delante.

### III DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN

#### III.I CONSIDERACIONES DE DISEÑO DEL APARATO PROPUESTO

##### III.I.1 Selección de la tecnología depósito dirigido de fundidos

Se seleccionó el modelado por depósito dirigido de fundidos basado en el proyecto RepRap por ser una tecnología sencilla, intervenible por el usuario en hardware y en software, que ocasiona el mínimo posible de interferencias mutuas con el electrohilado, tiene capacidad para usar una variedad de biomateriales como suministro de impresión y no exige algún posprocesado que pudiera dañar las fibras electrohiladas.

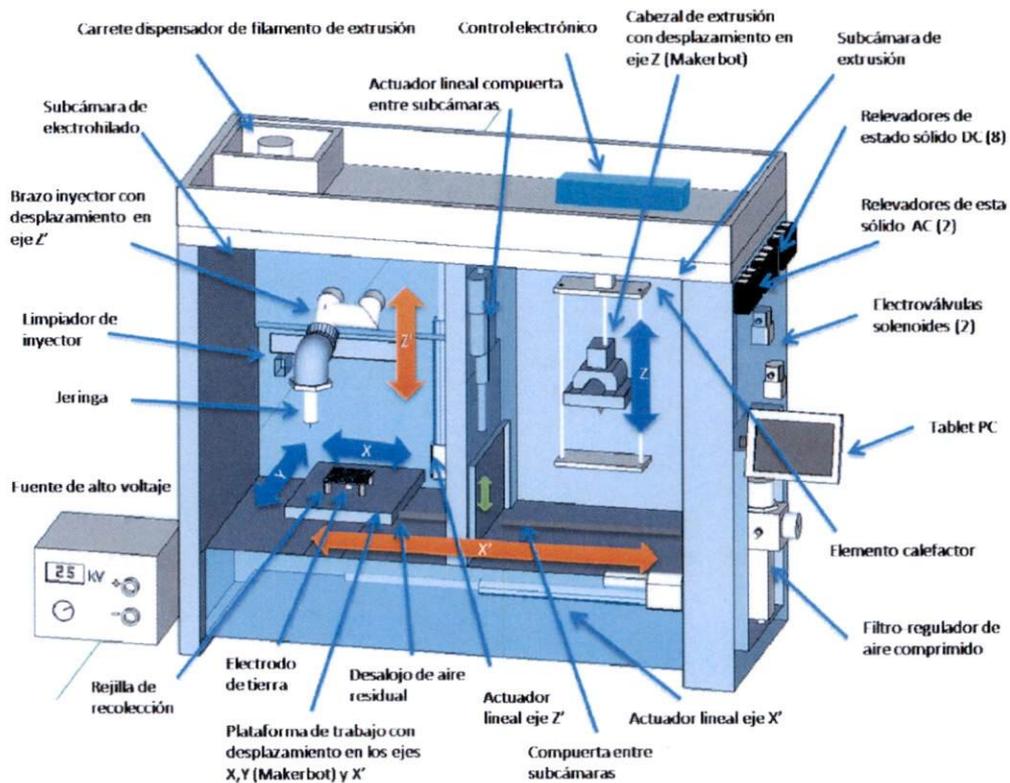


Fig. III-1 Esquema del aparato híbrido Impresión 3D/electrohilado

### III.I.2 Componentes básicos del sistema

El aparato se compone de dos subsistemas principales correspondientes a la técnicas electrohilado e impresión 3D (Fig. III-1), el subsistema de electrohilado se compone de:

- Una subcámara con aislamiento térmico, eléctrico y químico y blindaje electrostático que además proporciona soporte mecánico a los componentes del subsistema.
- Un cabezal móvil (en el eje Z) de inyección.
- Un control neumático de inyección.
- Un dispositivo de limpieza de inyector.
- Una fuente de alto voltaje
- Un control de temperatura
- Un sistema de ventilación

El subsistema de impresión 3D está formado por:

- Una subcámara con aislamiento térmico y blindaje electrostático que además proporciona soporte mecánico a los componentes del subsistema.
- Un cabezal móvil (en el eje Z) de extrusión.
- Un arreglo dispensador de filamento polimérico.
- Un control de temperatura
- Un sistema de ventilación

Los componentes compartidos del sistema son:

- Una plataforma de recolección con movimiento en el plano XY
- Una compuerta electromecánica que comunica las subcámaras
- La electrónica de control basada en Arduino™
- La electrónica de potencia
- Una interfaz gráfica de usuario (Tablet PC táctil)
- El software de comunicación y control

## III.II DETALLES DE LA CONSTRUCCIÓN

### III.II.1 Extrusor

Se tomó el extrusor de una impresora 3D Makerbot™ Thig-o-Matic Stepstruder MK6 plus (Fig. III-2), la cual fue adquirida en forma de kit, se ensambló, se calibró y se comprobó su correcto funcionamiento mediante la impresión de modelos predefinidos en filamentos de 3mm de plásticos ABS, PVA y PLA. Se protegieron los elementos del extrusor sensibles a

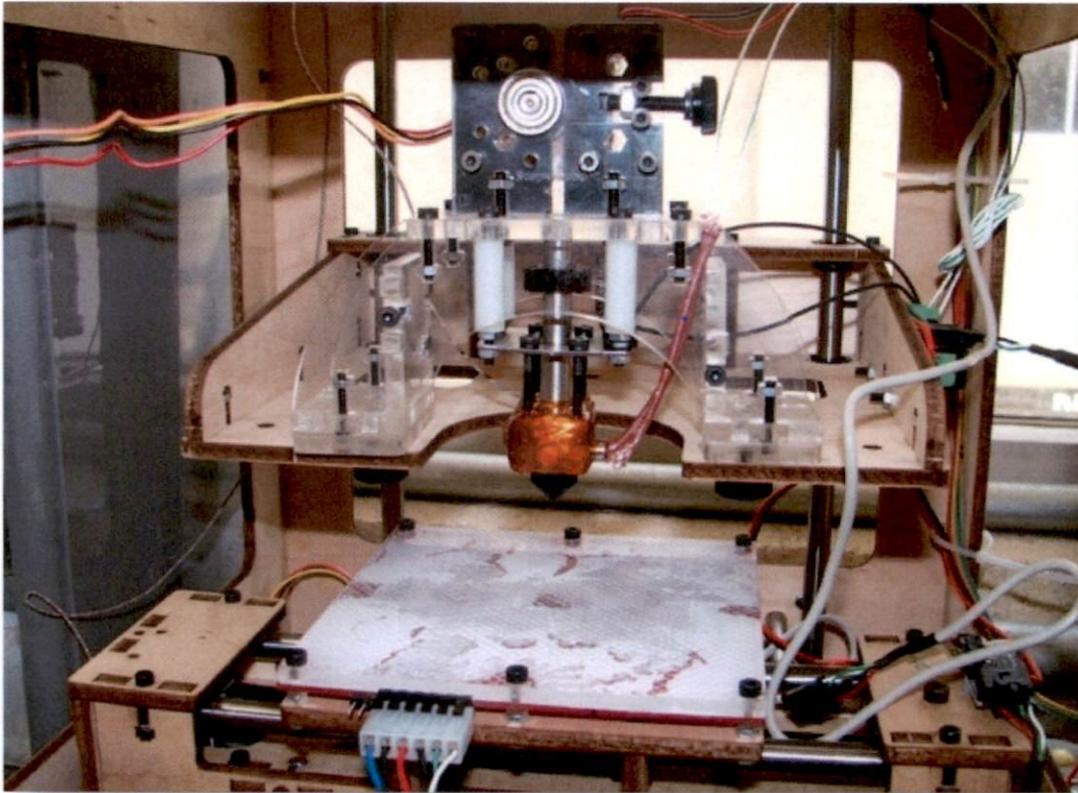


Fig. III-2 Impresora 3D Makerbot™ Thig-o-Matic Stepstruder MK6 plus

la temperatura, así como el filamento de extrusión mediante su albergue dentro de un tubo de aluminio acorazado con polipropileno, que además brinda soporte mecánico al extrusor (brazo/cabezal extrusor).

### III.II.2 Sistemas electro-mecánicos

#### Plataforma de formado

Se construyó a partir de la plataforma de construcción original de la impresora Makerbot ToM, realiza los movimientos finos en el plano XY, cada eje es accionado por un motor a pasos bipolar tipo NEMA 17 acoplado al carro por polea dentada. Se reforzó la estructura de la plataforma y se recubrió con una placa cerámica que la protege de las altas temperaturas y del derrame de sustancias químicas además de aislar eléctricamente los componentes electrónicos que la controlan. Se ha colocado fija sobre una segunda plataforma (plataforma de alternancia X') que se desplaza sobre el eje X' con movimientos

rápidos. Esta segunda plataforma traslada alternadamente la plataforma de formado completa de una subcámara a otra, dependiendo de la función activa en cada momento (electrohilado / extrusión).

### Desplazamientos lineales compuerta entre subcámaras y ejes X' y Z'

La compuerta entre subcámaras, la plataforma de alternancia X' y el brazo de inyección Z' se desplazan sobre rieles embalados y son accionados por actuadores lineales controlados por radiofrecuencia (Apéndice C).

### Inyector neumático

Se reprodujo el inyector neumático en lazo cerrado (Fig. III-3) detallado en la referencia [78], rediseñando el soporte de la jeringa, de modo que descansa sobre un brazo de tubería de PVC cédula 40, dentro del cual se alojan las líneas neumática y de alto voltaje.

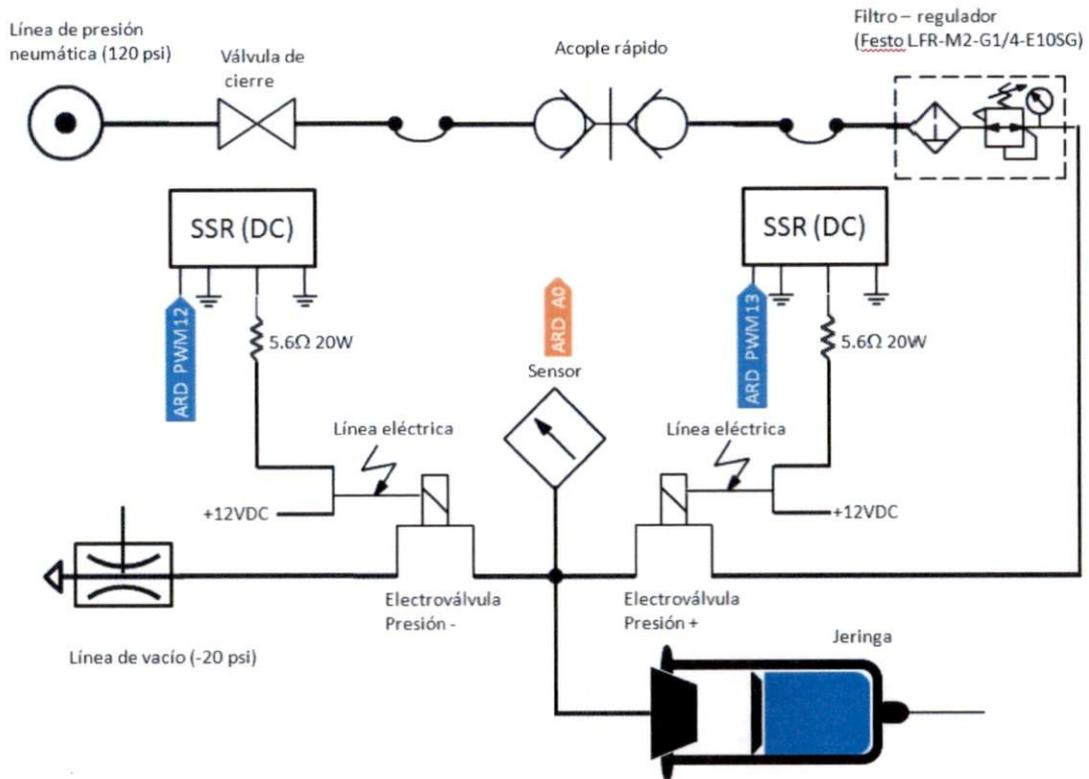


Fig. III-3 Circuitos eléctrico y neumático del inyector de electrohilado.

## **Brazo inyector**

Brinda soporte y posicionamiento a la jeringa de EH, sirve de canal de conducción de las líneas de alto voltaje y neumática. Cuenta con desplazamiento sobre el eje Z' referido al centro del recolector, considerando que en ningún caso la aguja más larga utilizada (25.63 mm) debe aproximarse a más de 50 mm del centro del recolector, por lo que la distancia mínima entre el centro del recolector y la punta de la jeringa de 50 ml. sin aguja se fijó en 76 mm. Retomando el trabajo de Taylor citado en el apartado II.IV.4, se calculó la distancia máxima entre el centro del recolector y la punta de la jeringa, asumiendo el uso de una aguja de diámetro interno 0.03 cm., longitud 3 cm., una tensión superficial del fluido máxima de 300 mN/m, y un voltaje de 25kV. El valor calculado fue 21.53 cm., sin embargo se consideró una tolerancia aproximada del 20% y un margen adicional de 7 cm. necesarios para la función de limpieza del inyector, dejándose una distancia total máxima entre electrodos de 32 cm. En su extremo libre porta la jeringa, la cual es parte esencial de la configuración del experimento de electrohilado por inyección, contiene la solución polimérica y permite su perfusión, en este caso por desplazamiento neumático del émbolo. Las jeringas usadas son de uso clínico de 50 ml. de capacidad, desechables, con aguja dispensadora desechable tipo Luer.

## **Sistema de limpieza del inyector**

Aunque se han planteado algunos experimentos bajo la técnica híbrida EH-RP, existen limitantes que no permiten su aplicación amplia y exitosa. Aunque la literatura no suele reportarlo (al menos de forma explícita), una de las principales limitantes son los frecuentes taponamientos de la aguja del inyector, típicos en los experimentos de electrohilado. Este trabajo propone la incorporación de un sistema electromecánico de limpieza del inyector, el cual trabaja en cada ciclo de descanso, manteniendo la aguja en condiciones óptimas para mantener el adecuado flujo de la solución inyectada. El sistema consiste en un vial (sobre un soporte replegable) lleno de un solvente de enjuague, el cual es puesto al alcance del inyector en los ciclos de descanso, durante estos ciclos el inyector maneja alternadamente presiones positivas y negativas desplazando volúmenes muy pequeños de solvente.

## **Ventilación**

Consiste en un arreglo de ventiladores que inducen un flujo de aire a través de cada cámara con el objetivo de arrastrar los productos de desecho hacia el exterior evitando la saturación del ambiente con vapores y humos que pudieran alterar la calidad de los procesos.

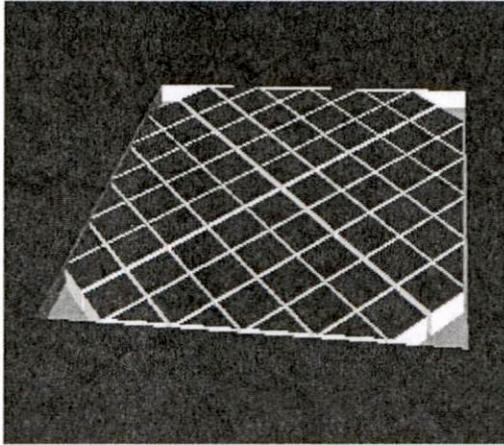


Fig. III-4 Rejilla de recolección.

### III.II.3 Soporte de recolección

Se “imprimió” previamente un soporte de recolección en forma de rejilla (Fig. III-4), el cual tiene como función servir como superficie de anclaje y sostén de las primeras capas del andamio, a la vez que permite una adecuada ventilación y solidificación de los materiales depositados. Al estar elevado sobre soportes en sus esquinas, permite el alojamiento del electrodo de tierra debajo del plano de trabajo.

### III.II.4 Fuente de alto voltaje

Se utilizó una fuente de alto voltaje de 25 kV marca Phywe la cual fue manejada por un control de dos posiciones (control ON/OFF) en lazo abierto. La fuente sólo es activada durante los ciclos de EH con la condición de que la puerta de la cámara se encuentre cerrada (por seguridad del operador), lo cual se verifica con el respectivo interruptor<sup>79</sup>.

### III.II.5 Cámara

El conjunto de dispositivos fue montado en una cámara que cuenta con acceso frontal y tiene las siguientes funciones:

- Soporte de los componentes mecánicos, neumáticos, eléctricos y electrónicos.

Los componentes del sistema fueron diseñados y construidos de forma modular, para un fácil mantenimiento, reparación y escalamiento. La estructura simple y robusta de la cámara permite montar firmemente cada módulo con un mínimo de tornillos, haciendo sencillas las tareas de ensamble.

- Control de la temperatura y la humedad relativa al interior.

El proceso de extrusión requiere del control de temperatura de la correspondiente cámara, mientras que en el EH mejora notablemente su calidad. Además mediante productos desecantes y la acción del control de temperatura puede controlarse de manera aproximada la humedad relativa del espacio confinado, haciendo el proceso menos susceptible a cambios en las condiciones ambientales que pudieran variar las características entre andamios producidos en diferentes momentos.

- Seguridad eléctrica.

Todos los componentes se controlan a distancia, por lo que no hay la necesidad de hacer ninguna manipulación directa durante la extrusión; la cámara evita riesgos eléctricos innecesarios garantizando la seguridad eléctrica en el área de trabajo aislando en su interior los altos voltajes.

- Proteger a los elementos móviles de eventuales colisiones.
- Blindar el campo eléctrico intenso en el interior de la subcámara de electrohilado.
- Confinación de productos de desecho.

Debido a las diferentes fuerzas que participan en el proceso, es común que pequeñas trazas de material salgan proyectadas hacia el entorno de funcionamiento. Aunque suman un porcentaje despreciable del total del material extruido, la exposición directa prolongada a estas fugas de polímeros y a los solventes evaporados desprendidos puede constituir un riesgo importante para la salud del operador. La cámara cerrada permite un excelente monitoreo del proceso a través de la puerta de pared doble de vidrio transparente, a la vez que brinda protección contra la dispersión de residuos.

La cámara se construyó con paredes de tambor de varias capas sólidas y de espumas de poliuretano y de poliestireno. La capa exterior es de poli(cloruro de vinilo) (PVC), que posee buena resistencia a impactos, es higiénico, no altera la química del experimento, es durable, estéticamente apropiado, autoextinguible y ligero. La capa intermedia es de madera (buen aislante térmico y eléctrico) y la interna es de un recubrimiento porcelánico (excelente aislante térmico y eléctrico y extremada impermeabilidad, y resistencia elevada al ataque químico de los reactivos empleados en el electrohilado); entre las capas sólidas se intercaló una capa espumada y una jaula de Faraday formada por un bastidor de aluminio (que da estructura a la cámara) y una rejilla de acero zincado. Los elementos móviles son de polipropileno (PP) que aunque resiste menos el calor que la porcelana, es buen aislante eléctrico, es ligero, fácil de maquinar y antiadherente e insoluble (a temperaturas moderadas), su único problema es que es fácilmente electrizable por inducción, lo cual no es conveniente, pues se puede convertir en un foco indeseado de atracción de fibras; para evitar fuentes importantes de ruido en el electrohilado, se utilizó PP únicamente en donde fue indispensable y se evitó su uso en sitios en los que podría alterar fuertemente el campo eléctrico del EH.

La cámara es dividida en áreas de electrohilado y de extrusión por una compuerta automática tipo guillotina que sólo se abre para dejar pasar la plataforma de recolección de un área a otra al inicio del depósito cada capa.

### III.II.6 Control de temperatura

Con objeto de mantener el material recién depositado a una temperatura ligeramente por debajo de la temperatura de transición vítrea del mismo, para que al contacto con el nuevo material depositado, exista una unión molecular, fusionándose ambos materiales, el impresor 3D Makerbot cuenta originalmente con un elemento calefactor resistivo en forma de placa, sobre la cual se deposita el material impreso. Esta disposición de calentamiento no es compatible con el electrohilado, pues tiene una gran cantidad de metales (en el experimento de electrohilado se ha procurado la ausencia de metales adicionales a los electrodos de alto voltaje) además de que se prefieren las superficies de recolección en forma de rejilla y no de placa sólida, pues esta última dificulta el adecuado secado de las fibras las cuales, de quedar húmedas, se fusionan formando películas, en vez de redes de fibras. Otra alteración que el calor por contacto provoca a la estructura de las fibras es que las capas de fibras electrohiladas más cercanas a la placa de recolección se fusionan por temperatura, esto es debido a que para mantener la temperatura de la capa más alta de la impresión cercana a su temperatura de transición vítrea, debe proporcionarse una temperatura mayor a las capas en contacto con la placa, habiendo un gradiente de temperatura en el volumen de material formado. En un sistema de calentamiento de cámara el gradiente de temperatura entre dos puntos del volumen formado es despreciable, con esto se puede proteger a las fibras de temperaturas puntuales y no de rangos de temperatura. Teniendo esto en cuenta, se implementó un control de temperatura por radiación y convección en cada cámara, cada control (de acción PID) es accionado por una lámpara infrarroja y un sistema de circulación forzada de aire que calienta de manera controlada toda la subcámara.

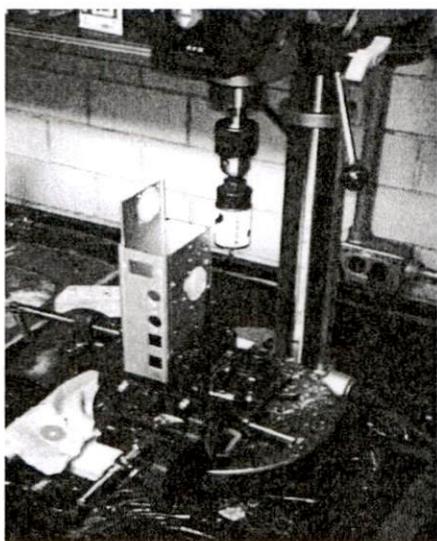


Fig. III-5 Chasis de aluminio.

### III.II.7 Control electrónico

El control digital de la electromecánica está basado en una tarjeta Arduino Mega ADK para Android, la cual se puede comunicar con dispositivos que operen con sistemas operativos Windows®, Mac OS X®, Linux y Android. La tarjeta Arduino está basada en el microcontrolador AVR Atmel AT Mega 2560. Se utilizó una interfaz de usuario desarrollada con el entorno de desarrollo integrado (IDE) Processing 1.5.1 y ejecutada en una tablet PC con Windows 7. Se utilizaron los siguientes recursos de la tarjeta Arduino: 12 salidas PWM, puertos de comunicación por protocolos RS232 e I<sup>2</sup>C, 1 convertidor analógico a digital y 2 salidas digitales. La circuitería de la

etapa de control y potencia se introdujo dentro de un chasis de aluminio (Fig. III-5)

conectado a la tierra física (para protegerla de la alta tensión). Se conectó según lo siguiente:

Distribución de *pin*s tarjeta Arduino y diagrama eléctrico (Fig. III-6)

PWM11 -> PDC -> AL Brazo Z'

PWM4 -> PDC -> F2

PWM5 -> PDC -> F4

PWM6 -> PDC -> AL Plataforma X'

PWM7 -> PDC -> F3

PWM8 -> PDC -> AL Compuerta Z''

PWM9 -> PDC -> F1

PWM10 -> PDC -> E

PWM3 -> PAC -> L1

PWM12 -> PDC -> Válvula solenoide presión +

PWM13 -> PDC -> Válvula solenoide presión -

D24 -> PAC -> Alimentación de la fuente de alta tensión

D25 -> PDC -> Activación del motor de extrusión.

I<sup>2</sup>C <- T

A0 <- P

Abreviaturas:

PDC Etapa de potencia corriente directa

PAC Etapa de potencia corriente alterna

AL Actuador lineal

L Lámpara infrarroja

E Mecanismo de enjuague de aguja

T Sensor de temperatura

P Sensor de presión

F Ventilador

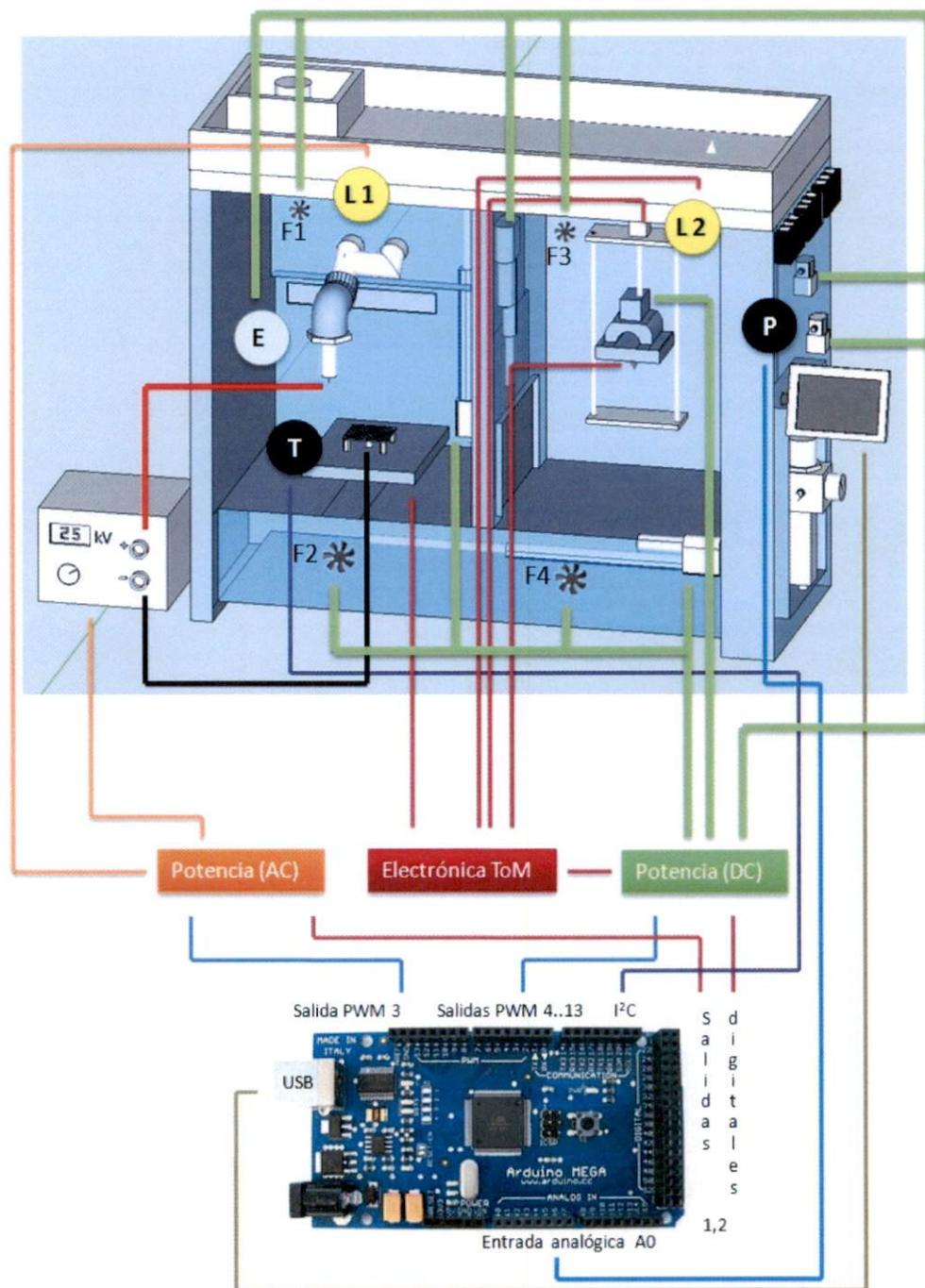


Fig. III-6 Distribución de *pin*s tarjeta Arduino y diagrama eléctrico del aparato.

### III.II.8 Lógica de operación

Para el funcionamiento del aparato híbrido se programaron 4 algoritmos, el primero consiste en la obtención de un código con extensión .stl, a partir de un modelo 3D, construido con la herramienta de modelado Google Sketch Up 8.0.1. Un segundo algoritmo maneja el proceso de electrohilado y los cambios de técnica (extrusión/electrohilado), este programa reside en el microcontrolador ATmega 2560 de la tarjeta Arduino. El tercer algoritmo se ejecuta en una tabletPC sirviendo como interfaz gráfica de usuario (Fig. III-8). Un cuarto algoritmo debe ser realizado por el operador pues, actualmente, el sistema es semiautomatizado y requiere de la intervención activa de un usuario que vigile continuamente el proceso e interactúe con este.

#### Algoritmo de impresión

Con este código se realizan los trazos de la extrusión y los movimientos de la plataforma XY durante el electrohilado, se obtuvo a partir de un modelo que intercala repetidamente las capas extruidas con las electrohiladas (Fig. III-7), durante el trazo de estas últimas, se desactiva el extrusor y en su lugar se activa el inyector de electrohilado. La impresión es pausada y la plataforma XY cambiada de subcámara entre cada capa. La transformación de los modelos 3D a código GCode se realizó mediante la aplicación informática ReplicatorG 37 con los parámetros detallados en el apartado III.IV. Se anexan archivos de la conversión del modelo CAD a código *standar triangulation language* (extensión .stl).

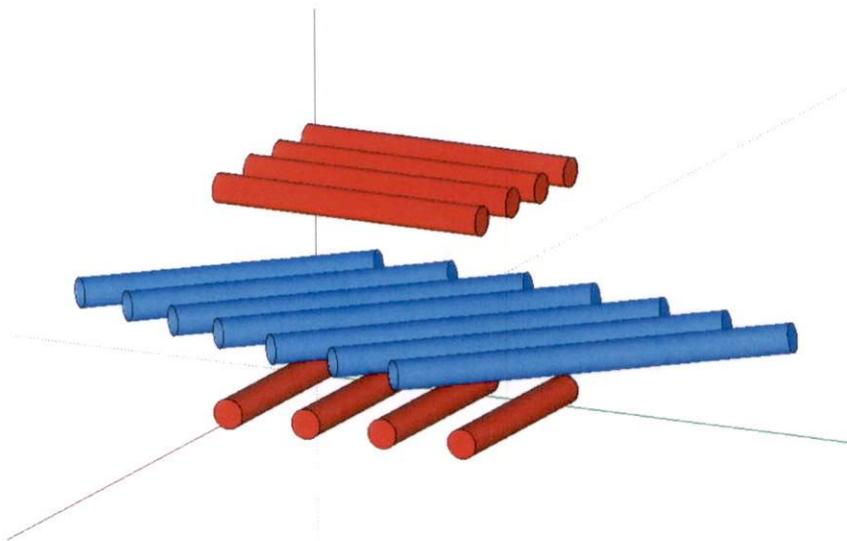


Fig. III-7 Una capa diseccionada del modelo extruido/electrohilado, en rojo material extruido, en azul trazos que sirven para el barrido XY del electrohilado, (extrusor ToM desactivado).

## Algoritmo simplificado microcontrolador electrohilado/alternancia

Se ha desarrollado sobre la plataforma libre Arduino, que si bien no es la más eficiente en cuanto a administración de recursos, su facilidad para poner en marcha aplicaciones con un cierto grado de complejidad en tiempos mínimos, la hacen ideal para desarrollar prototipos de proyectos.

1. Inicio
2. Incluir biblioteca PID\_v1.h
3. Declarar objetos
4. *PIDtemperatura(atributos temp\_in, temp\_out, temp\_setpoint, constantes iniciales de ajuste, dirección DIRECT)*
5. *PIDpresión\_pos(atributos presión\_pos\_in, presión\_pos\_out, presión\_pos\_setpoint, constantes iniciales de ajuste, dirección DIRECT)*
6. *PIDpresión\_neg(atributos presión\_neg\_in, presión\_neg\_out, presión\_neg\_setpoint, constantes iniciales de ajuste, dirección REVERSE)*

Rutina setup {

1. Inicializar salidas PWM 2..13 y D 24..25 en cero
2. Inicializar variables
3. Inicializar comunicaciones
4. Activar los controles PID en modo AUTOMATIC
5. Buscar dispositivo GUI
6. Realizar *apretón de manos* con dispositivo GUI
7. Si dispositivo GUI no reconocido -> regresar a paso 5
8. Cargar en memoria volátil [parámetros\_por\_omisión] desde memoria EEPROM
9. Enviar [parámetros\_por\_omisión] a dispositivo GUI
10. Leer sensores (temperatura y presión) y cargarlos como atributos de entrada
11. Invocar el método Compute en los objetos de la clase PID
12. Accionar los actuadores (temperatura y presión) con los valores calculados de PID

}

Rutina Loop

1. Enviar lectura de temperatura por el puerto cada 5 segundos.
2. Mientras  $z \leq z_{max}$  {

```

3. Si datos en el puerto -> invocar Rutina actualizar parámetros
4. Si arrancar_ciclo = TRUE {
    i. Abrir compuerta entre subcámaras
    ii. Desacoplar la aguja del solvente de lavado
    iii. Replegar contenedor de solvente de lavado
    iv. Incrementar z en un paso
    v. Desplazar plataforma X' a subcámara EH
    vi. Desactivar extrusor (se apaga el led del SSR DC correspondiente)
    vii. Cerrar compuerta entre subcámaras
    viii. Activar alta tensión
    ix. Esperar tiempo de exposición EH
    x. Desactivar alta tensión
    xi. Activar extrusor (se prende el led del SSR DC correspondiente)
    xii. Abrir compuerta entre subcámaras
    xiii. Desplegar contenedor de solvente de lavado
    xiv. Desplazar plataforma X' a subcámara de extrusión
    xv. Enclavar la aguja en el solvente de lavado
    xvi. Cerrar compuerta entre subcámaras
    xvii. Leer sensores (temperatura y presión) y cargarlos como atributos de
        entrada
    xviii. Invocar el método Compute en los objetos de la clase PID
    xix. Accionar los actuadores (temperatura y presión) con los valores
        calculados de PID
    xx. arrancar_ciclo = FALSE
}
}

```

Rutina actualizar parámetros {

```

1. Refreshar [parámetros] desde datos del puerto
2. Si play = 0 -> Salidas PWM 2..13 y D 24..25 = 0
3. En caso contrario {
    i. Actualizar salidas PWM 2..13 y D 24..25 con [parámetros]
    ii. arrancar_ciclo = TRUE
}
}

```

## Algoritmo simplificado interfaz gráfica de usuario (GUI)

La operación del aparato RP/EH requiere de dos interfaces de usuario, una es el software ReplicatorG 37, la cual maneja el proceso de extrusión y los movimientos de recolección del EH, la otra maneja el resto del proceso de EH y la alternancia de las técnicas (Fig. III-8).

1. Inicio
2. Incluir biblioteca G4P (GUI Components)

Rutina setup {

1. Inicializar entorno gráfico
2. Inicializar comunicaciones
3. Buscar microcontrolador
4. Realizar *apretón de manos* con microcontrolador
5. Si microcontrolador no reconocido -> regresar a paso 3
6. Recibir valores por omisión desde microcontrolador
7. Cargar en memoria volátil los valores por omisión
8. Desplegar GUI con los valores por omisión

}

Rutina loop {

1. Ejecutar Rutina Termograma
2. *arrancar\_ciclo* = FALSE
3. Si pantalla tocada {
  - i. Leer coordenada
  - ii. Caso coordenada {
    1. Perilla de ajuste: *variable\_a\_ajustar* apunta hacia la variable que actualizará su valor al mover esta perilla
    2. Parámetros de electrohilado: cambiar *variable\_a\_ajustar* a la variable presionada
    3. Teclas de comandos: cambiar el valor de la variable booleana correspondiente
    4. Otro: ignorar

}

iii. Enviar datos por puerto

}

}

Rutina Termograma {

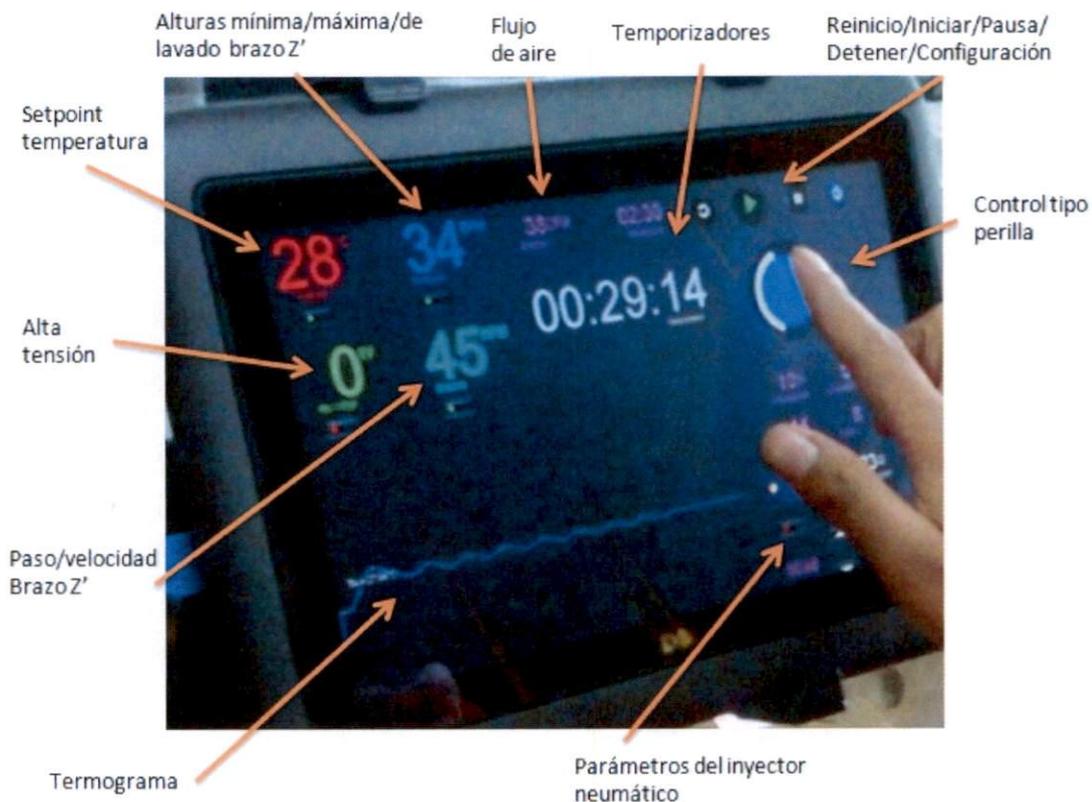
1. Recibir lectura de temperatura
2.  $y_{termograma}$  = mapeo de la lectura de temperatura al área de despliegue del termograma
3. Pintar un punto en  $(x_{termograma}, y_{termograma})$
4. incrementar  $x_{termograma}$  en 1.
5. si  $x_{termograma}$  alcanza el fin del área de despliegue del Termograma {
  - i. Limpiar pantalla
  - ii.  $x_{termograma} = 0$

}

}

### Algoritmo operador

1. Esperar el alcance del estado estable del termograma de la subcámara EH
2. Inicio de extrusión
3. Pausar “impresión” cuando se observe que se ha terminado de “imprimir” una capa
4. Arrancar ciclo desde la interfaz de EH/alternancia de técnicas
5. Reanudar “impresión” cuando se observe el apagado del led indicador del relevador de estado sólido activador del extrusor
6. Pausar “impresión” cuando se observe el encendido del led indicador del relevador de estado sólido activador del extrusor
7. Reanudar impresión cuando observe que se ha cerrado la compuerta entre cámaras
8. Si la “impresión” no ha concluido -> regresar al paso 3



**Fig. III-8** Interfaz gráfica de usuario etapa de electrohilado/alternancia de técnicas.

### III.III INTEGRACIÓN, CALIBRACIÓN Y PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO

Se ensambló el inyector neumático y se montaron los componentes del aparato de acuerdo al esquema y diagramas propuestos (Fig. III-1, Fig. III-3 y ), cada componente y el equipo integrado fueron probados; primeramente sin carga y, una vez observado su correcto funcionamiento, se comprobó el adecuado desempeño de la etapa de electrohilado mediante la obtención de fibras de acetato de polivinilo al 15 % en etanol durante 40 minutos de operación continua, con lo cual se verificó la ausencia de problemas asociados al diseño, el ensamble, los materiales y el uso del aparato y se realizaron los ajustes pertinentes para recoger la mayor cantidad de sobre el objetivo de recolección destinado para tal fin. De manera análoga se obtuvo un modelo de prueba y calibración en forma de cubo hueco, mediante la extrusión de PLA de 3 mm. empleando la etapa correspondiente.<sup>80</sup>

El aparato construido cuenta con los siguientes requerimientos de instalación:

Espacio de operación: 150 x 78 x 110 cm (ancho, fondo, alto).

Alimentación eléctrica: 110 VAC, 24A

Línea de aire comprimido (55-150 PSI)

Línea de vacío (mínimo -2 PSI)

Chimenea de desalojo de vapores orgánicos (4" diámetro mínimo)

### III.IV CONSTRUCCIÓN DE UN ANDAMIO HÍBRIDO

Se construyó un andamio híbrido de prueba basado en la impresión de un patrón 0°/90°, el cual ofrece simplicidad de trazo y algunos autores han concluido que es el de mejor desempeño mecánico a compresión<sup>81</sup>. En conjunto con los Departamentos de Ortopedia e Ingeniería de Tejidos del HIMFG se concluyó que el andamio a construir debería ser de geometría sencilla (cubo de arista 2 cm. aprox.), pero que permitiera hacer una primera evaluación, al menos de manera aproximada, acerca de la resolución alcanzada por el equipo. Se buscó además que su posterior reproducción bajo condiciones asépticas controladas pudiera tener aplicación inmediata en experimentos *in vivo*. Se construyó así un andamio PLA/PLA con los siguientes parámetros de producción:

#### *PLA electrohilado*

Solución: PLA petroquímico 12% (peso/volumen) en cloroformo (85%) adicionado con etanol (15%).

Alta tensión: 25.5 kV.

Setpoint presión positiva: 47 psi.

Setpoint presión negativa: -1 psi.

Distancia inicial entre electrodos: 17 cm.

Paso en Z': 0.8 mm.

Tiempo de exposición de cada capa: 2 min.

Solvente de lavado (enjuague): cloroformo grado reactivo.

Temperatura: 34°C

Velocidad de barrido en X: 100 min<sup>-1</sup>

Velocidad de barrido en Y: 100 min<sup>-1</sup>

Paso en X: 3 mm.

Paso en Y: 3 mm.

#### *PLA extruido*

Filamento: PLA vegetal de 3 mm. (diámetro real: 2.88 mm.)

Tasa de alimentación del extrusor: 20 mm/s.

Paso en Z': 0.5 mm.

Temperatura de subcámara: 44°C

Temperatura del extrusor: 220°C

Velocidad de avance horizontal: 55 mm/s

El tiempo de construcción de la muestra fue de aproximadamente 37 min.

#### IV DISCUSIÓN

Se construyó un aparato híbrido capaz de combinar las técnicas prototipado rápido y electrohilado para producir un nuevo tipo de andamio celular poco estudiado con posibilidades de aplicación en ortopedia reconstructiva.

Teniendo como antecedentes algunos trabajos de crecimientos celulares sobre andamios electrohilados realizados en conjunto con el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), se ha llegado a dos primeras conclusiones:

- a. Los andamios electrohilados tratados superficialmente por plasma de polipirrol yodo (PPY) ofrecen un medio sobresalientemente adecuado para la proliferación *in vitro* de células óseas de conejo.
- b. La aplicación de estos andamios a un protocolo de reemplazo de secciones grandes *in vivo* estaría limitada por las pobres propiedades mecánicas de estos materiales, esto se evidencia por la incapacidad de apilamiento para formar cuerpos volumétricos autosoportados en los que ninguna de sus tres dimensiones es despreciable.

El presente trabajo propone una técnica para superar las limitantes mecánicas y aprovechar el excelente desempeño de estos medios de cultivo; esta técnica consiste en combinar el electrohilado con el depósito por extrusión controlada de plásticos para formar un andamio de capas intercaladas de tela de fibras electrohiladas y paredes sólidas extruídas con capacidad de carga mecánica. La hipótesis de diseño a verificar es que un andamio de este tipo tendría la rigidez necesaria para fungir temporalmente como prótesis con la peculiaridad de degradarse al tiempo que promovería la proliferación celular y la formación de tejido óseo por el crecimiento de regiones sanas hacia el interior del volumen de biomaterial. Se encontraron pocos trabajos que implementan esta filosofía y todos ellos reportan un mejor desempeño de los andamios híbridos comparados con su contraparte pura. Con estos antecedentes se ha planteado la construcción de un equipo con el que se puedan fabricar andamios como los descritos antes con la particularidad de que tanto el inyector del electrohilado como la boquilla extrusora tienen movimiento relativo con el área de recolección; este aparato se ha realizado basándose en tecnologías de hardware y software libres, Makerbot, Arduino y Processing básicamente.

La implementación del aparato constó de 7 etapas:

1. Diseño global
2. Desarrollo de la electrónica de control
3. Construcción de dispositivos electromecánicos
4. Programación del microcontrolador
5. Programación de interface de usuario (microcomputadora)
6. Calibración y pruebas de funcionamiento
7. Construcción de una propuesta de andamio de nanocompositos

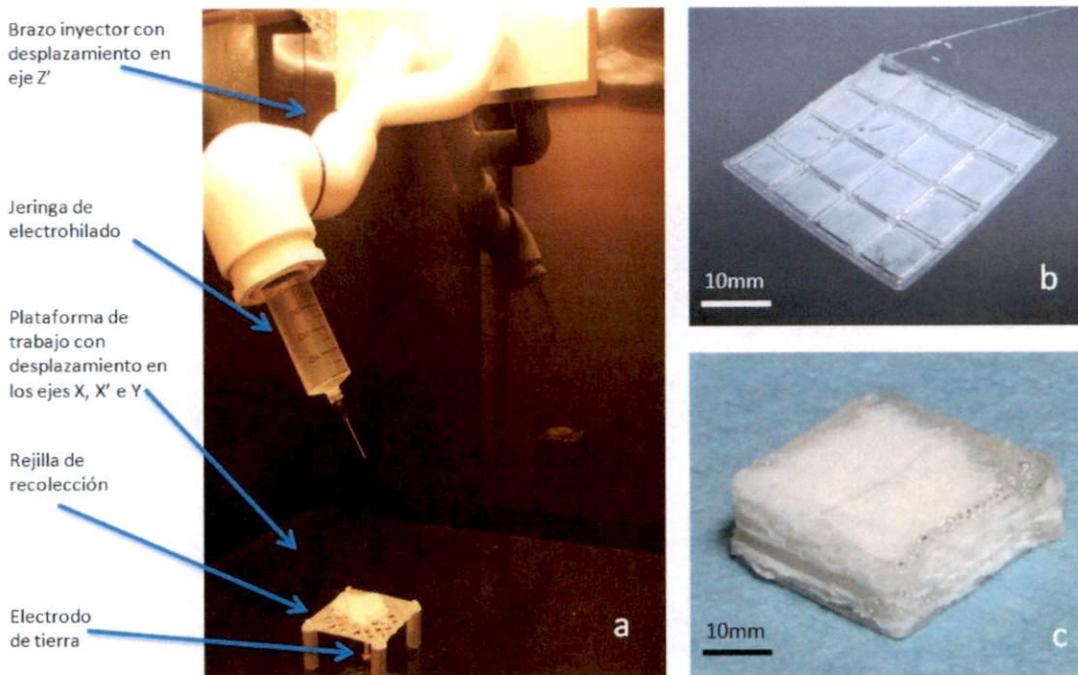
Cualitativamente se puede concluir que se han podido combinar las técnicas electrohilado e impresión tridimensional de termoplásticos extruídos para formar andamios con potencial como medios de cultivo tridimensionales, los cuáles cuentan con suficiente rigidez para proponerlos como andamios con posibilidades de conservar su estructura durante las maniobras de implantación en paciente, así como durante su estancia temporal hacia una degradación total paulatina. Su implantación experimental tendrá como prerequisite una serie de pruebas entre las cuales se proponen su caracterización mecánica y estudios biológicos *in vitro* de andamios tratados superficialmente con plasma de ppy.

El aparato construido cuenta con capacidad para producir materiales de manera independiente o combinada de forma semiautomatizada (Fig. IV-1). En el caso de la impresión tridimensional, el control de temperatura ambiental mejora la calidad de la adhesión entre capas, comparado contra la placa de calentamiento original del Makerbot. Otra mejora consiste en el cajón de almacenamiento de la bobina de filamento polimérico, la cual dispensa el material de manera similar a la original, pero es mucho más fácil de recargar, pues no implica desarmar todo el contenedor, sino simplemente abrir un cajón y

cambiar el carrete. El sistema de desplazamiento del cabezal de extrusión en el eje Z resultó ser más robusto que el original, lo que disminuyó al mínimo los ruidos y vibraciones durante su activación a altas velocidades.

Respecto a la subcámara de EH, el control de temperatura permite un mejor control de las variables ambientales controlando además de manera indirecta la humedad y promoviendo un mejor secado de las fibras formadas, sirviendo además para el tratamiento térmico postproducción de los andamios.

Esto implica que una vez que sea puesto a disposición del laboratorio, se podrán obtener materiales electrohilados de mejor calidad, con mayor facilidad y mejor control de los parámetros del proceso y con la capacidad para almacenar de manera automática y personalizada por usuario, una bitácora electrónica de uso (comparando con el aparato de EH actualmente usado).



**Fig. IV-1** a) Subcámara de electrohilado en funcionamiento b) Una sola capa de andamio extruido/electrohilado c) Superposición de 12 capas.

## V CONCLUSIONES

Entre los métodos artificiales de reemplazo de tejido dañado, los andamios de nanofibras ocupan un lugar muy relevante. Actualmente hay un gran número de estudios sobre diversas técnicas y materiales buscando estructuras que adopten la geometría del tejido que emulan y que provean de un medio favorable para la regeneración celular. La idea esencial es diseñar una nueva generación de biomateriales de vida extendida y alto desempeño basados en la facilitación de los mecanismos de autoreparación del propio cuerpo.

Entre las ventajas principales del uso de materiales artificiales sobre trasplantes donados están: la compatibilidad más asegurada, la reducción de problemas inmunológicos, la disminución de los riesgos de contaminación y la posibilidad de controlar el tiempo de vida de estos. El constante avance científico y tecnológico apunta a una tendencia en el desarrollo de nanotecnologías, esto, combinado con las nuevas aplicaciones de los materiales, nos da un gran abanico de posibilidades de uso.

De acuerdo a algunos autores, existen varios criterios que debe cumplir el andamio ideal para ser utilizado en la regeneración de tejidos óseos, entre los que destacan los siguientes:

- 1.- Debe ser biocompatible y sus productos de degradación deben ser no citotóxicos.
- 2.- Debe ser biodegradable, y a su vez la velocidad de degradación debe adecuarse a la velocidad de formación del nuevo tejido.
- 3.- Debe poseer un grado elevado de porosidad interconectada, formada por una variedad de macro y microporos, de forma tal que permita el crecimiento celular en su interior, así como la vascularización del tejido y el transporte de nutrientes y desechos.
- 4.- Debe poseer propiedades mecánicas suficientes para regenerar el tejido óseo, en zonas donde deban soportarse cargas. Además, el material debe mantener su integridad estructural al menos durante el período de neoformación ósea.

Considerando lo anterior se puede concluir lo siguiente:

El desarrollo de la herramienta planteada tiene un gran potencial de aplicación en el área de las prótesis bioactivas, su apropiada aplicación requeriría de la capacidad de construcción de andamios de dimensiones consistentes con las estructuras anatómicas que se pretenden reemplazar.

Si bien la técnica híbrida que se ha estudiado muestra amplias posibilidades de aplicación, esta se encuentra en fase de desarrollo, no es un problema trivial ni resuelto, de hecho, ambas técnicas que la componen son tecnologías emergentes, existe una vasta cantidad de trabajo por realizar en torno a estas técnicas por separado y más aún en su uso combinado.

Los resultados obtenidos no implican que la tecnología híbrida RP/EH se pueda replicar con éxito en escalas mayores para obtener prótesis humanas de dimensiones considerables, se observó por ejemplo que ya a cierta altura, el andamio de prueba elaborado se comienza a comportar como un aislante entre electrodos provocando alteraciones menores en el jet del electrohilado, se teme que estas alteraciones puedan llegar a intensificarse tanto que limiten la altura de los andamios a dimensiones extremadamente pequeñas. Una posible solución a este problema sería disponer de una fuente de mayor capacidad, para intensificar el campo eléctrico conforme se avance en el depósito de capas.

La calibración de la impresora 3D utilizada no es trivial, deben encontrarse los parámetros óptimos para cada material y éstos cambian de una máquina a otra, por lo que no hay documentación disponible de aplicación universal, en vez de esto, hay guías que proponen diversos métodos de ajuste, los cuales no siempre llevan a los mejores resultados.

Es de crucial importancia el adecuado purgado del extrusor, previo a la construcción de cada andamio, debido a que el PLA y algunos otros polímeros sufren una degradación considerable una vez que permanecen a altas temperaturas durante tiempos prolongados en el dado de extrusión después de una sesión de uso.

## V.I PROPUESTAS PARA TRABAJOS POSTERIORES

- Actualización de la etapa de extrusión, integrando un cabezal extrusor de mayor resolución espacial y mayor volumen de impresión con el fin de poder construir tubos electrohilados con refuerzo entramado extruido y andamios de dimensiones más consistentes con los tamaños de una prótesis ósea humana.

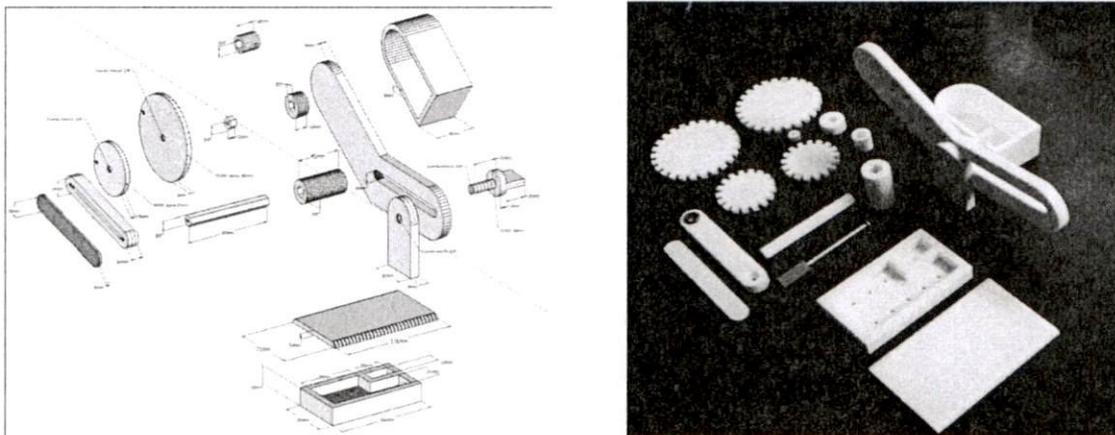


Fig. V-1 Recolección de piezas para un tambor de electrohilado convencional compatible con el aparato desarrollado

- Construcción de un andamio tubular de PLA/HAp/PCL/Gelatina/Sacarosa/Ácido ascórbico teniendo especial cuidado en el purgado de la etapa de extrusión, para evitar la contaminación con polímero degradado remanente. También se debe cuidar escrupulosamente su esterilización y su manejo y almacenamiento en condiciones asépticas.
- Construcción de electrodos de recolección intercambiables en arreglos de disco, tambor ventilado (Fig. V-1), placa y filamento de alambre de níquel-titanio aprovechando la capacidad de reconocimiento de diferentes tipos de recolector con que cuenta el aparato.
- Construcción de electrodos y accesorios para la implementación opcional de la técnica *needleless electrospinning*, con el fin de explorar su combinación con el prototipado rápido.
- Integración del software skeinforge con las rutinas de arduino y processing.
- Mejora en la porosidad del andamio mediante el electrohilado paralelo o coaxial de agentes porógenos.
- Experimentación con diferentes patrones de recolección (EH).
- Analizar, mediante métodos de procesamiento digital de imágenes, la irregularidad en las paredes del cubo (andamio), a fin de concluir acerca de las variaciones dimensionales y su estadística.
- Modificación superficial del andamio por tratamientos con plasma.
- Caracterización del andamio, que incluye pruebas mecánicas para hacer un pronóstico sobre su comportamiento en pruebas *in vivo*.
- Ensayos biológicos a los materiales formados.

## GLOSARIO

**Microarquitectura.** Características estructurales medibles en el orden de micras ( $10^{-6}$  m), para los propósitos este trabajo: diámetro(s), morfología(s) y orientación(es) de las fibras y de las porosidades.

**Macroarquitectura.** Propiedades macroscópicas ( $10^{-3}$  - $10^0$  m) como las de bulto y las topográficas del implante, considerado como un todo.

**Sistema de electrospinning convencional.** Implementación derivada directamente de la configuración original, patentada en la primera década del siglo pasado; en lazo abierto y con parámetros de producción carentes de mecanismos de regulación asistida por computadora.

**Sistema porógeno.** Elemento(s) embebido(s) en un material durante su proceso de producción con la finalidad de producir quедades en él.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J. & Lemons, J. E. *Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine* (2nd Edition). 40–67,115–127,181–197 at <[http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?\\_EXT\\_KNOVEL\\_DISPLAY\\_bookid=3002](http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=3002)>
2. Botha, S. Physical, mechanical, chemical, biological and optimal surface characteristics for bio-acceptability. *J Dent Assoc S Afr.* **52**, 73–82 (1997).
3. Weinand, C. *et al.* Human shaped thumb bone tissue engineered by hydrogel-beta-tricalciumphosphate/poly-epsilon-caprolactone scaffolds and magnetically sorted stem cells. *Annals of Plastic Surgery* **59**, 46–52; discussion 52 (2007).
4. Miller, G. E. *Artificial Organs. Synthesis Lectures on Biomedical Engineering* **1**, 1–72 (2006).
5. López, G., Chacón, K. & Rivera, Á. INCIDENCIA DE FRACTURA DE CADERA EN COSTA RICA. *REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA* **LXIV**, 125–132 (2007).
6. Valentinuzzi, M. E. *Understanding The Human Machine A Primer for Bioengineering. Series on Biomaterials and Bioengineering Vol. 4.* 259–263, 267–269, 359–362 (World Scientific Publishing: 2004).
7. Guda, T., Appleford, M., Oh, S. & Ong, J. L. A cellular perspective to bioceramic scaffolds for bone tissue engineering: the state of the art. *Current topics in medicinal chemistry* **8**, 290–9 (2008).
8. Hollister, S. J. Porous scaffold design for tissue engineering. *Nature materials* **4**, 518–24 (2005).
9. Jukes, J. M. *et al.* Endochondral bone tissue engineering using embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**, 6840–5 (2008).
10. Bd Gentest, B. B. TECHNICAL BRIEF Tissue Engineering and Cellular Therapy. at <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.197.4589>>
11. Hench, L. L. Bioactive materials: The potential for tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research* **41**, 511–518 (1998).

12. Yang, S., Leong, K. F., Du, Z. & Chua, C. K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue engineering* **7**, 679–89 (2001).
13. Laurencin, C. T. & Nair, L. S. *Nanotechnology and Tissue Engineering: The Scaffold*. 123–155, 199–217, 262–280, 317–323 (CRC Press: 2008).
14. Salgado, A. J., Coutinho, O. P. & Reis, R. L. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromolecular bioscience* **4**, 743–65 (2004).
15. Ciocca, L., De Crescenzo, F., Fantini, M. & Scotti, R. CAD/CAM and rapid prototyped scaffold construction for bone regenerative medicine and surgical transfer of virtual planning: a pilot study. *Computerized Medical Imaging and Graphics* **33**, 58–62 (2009).
16. Ramin, E. & Harris, R. a Advanced computer-aided design for bone tissue-engineering scaffolds. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* **223**, 289–301 (2009).
17. Ciocca, L., De Crescenzo, F., Fantini, M. & Scotti, R. CAD/CAM and rapid prototyped scaffold construction for bone regenerative medicine and surgical transfer of virtual planning: a pilot study. *Computerized medical imaging and graphics: the official journal of the Computerized Medical Imaging Society* **33**, 58–62 (2009).
18. Pérez-Tejada, E. *et al.* Diferenciación de células nerviosas sobre películas poliméricas de pirrol polimerizado por plasma. *Memorias del XXII Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de México* BIO–O–09 (2009).
19. Olayo, R. *et al.* Implantes de polímeros sintetizados por plasma en lesiones de médula. *La Física Biológica en México: Temas Selectos 2* 195–205 (2008).
20. Ramírez-Fernández, O. *et al.* Crecimiento volumétrico de hepatocitos en estructuras basadas en biomateriales. *International Conference on Materials, Surfaces and Vacuum* BIO–03 (2008).
21. Austria, J. *et al.* Plasma surface modification of nanofibers obtained by electrospinning. *1st US-Mexico Symposium on advances in polymer science, Macromex 2008 Memories* TGN–P–011 (2008).
22. Morales, J. *et al.* Pruebas in vivo e in vitro de producción de testosterona en andamios poliméricos recubiertos con una película delgada de polipirrol sintetizada por plasma. *Memorias XXII Congreso nacional de la Sociedad Polimérica Mexicana* BIO–O–07, ISBN: 978–970–764–827–2 (2009).
23. Smith, I. O., Liu, X. H., Smith, L. A. & Ma, P. X. Nanostructured polymer scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* **1**, 226–236 (2009).

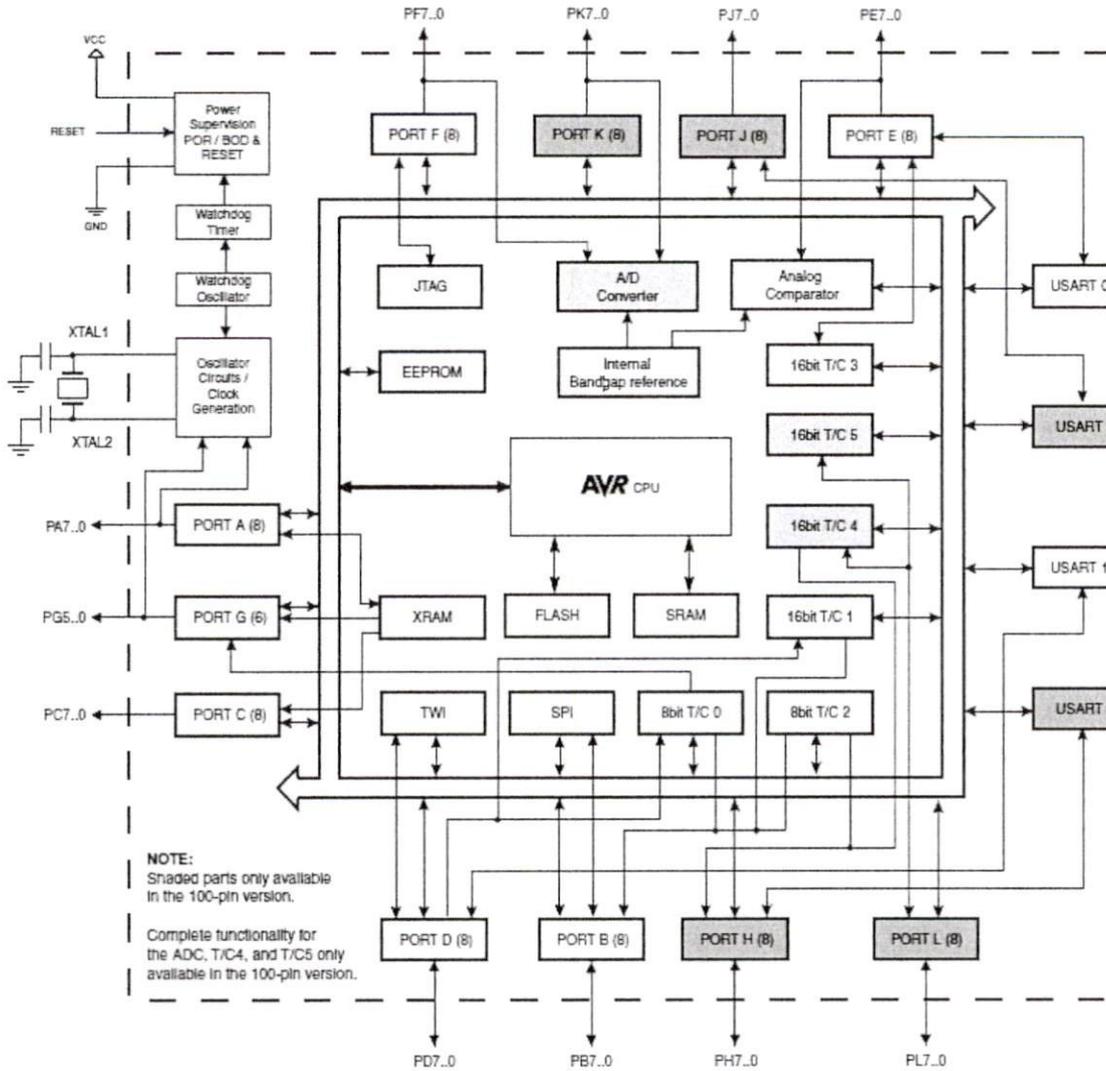
24. Yang, X., Shah, J. D. & Wang, H. Nanofiber Enabled Layer-by-Layer Approach Toward Three-Dimensional Tissue Formation. *Tissue Engineering Part A* **15**, 945–956 (2009).
25. Moroni, L., Schotel, R. & Hamann, D. 3D Fiber-Deposited Electrospun Integrated Scaffolds Enhance Cartilage Tissue Formation. *Advanced Functional Materials* **18**, 53–60 (2008).
26. Ma, Z., Kotaki, M., Inai, R. & Ramakrishna, S. Potential of Nanofiber Matrix as Tissue-Engineering Scaffolds. *Tissue Engineering* **11**, 101–109 (2005).
27. Baji, A., Mai, Y.-W., Wong, S.-C., Abtahi, M. & Chen, P. Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties. *Composites Science and Technology* **70**, 703–718 (2010).
28. Klein-Nulend, J., Bacabac, R. G. & Mullender, M. G. Mechanobiology of bone tissue. *Pathologie Biologie* **53**, 576–580 (2005).
29. Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A. M. & Chiellini, E. Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Progress in Polymer Science* **35**, 403–440 (2010).
30. Mondy, W. L. *et al.* Computer-aided design of microvasculature systems for use in vascular scaffold production. *Biofabrication* **1**, (2009).
31. Biosciences, B. D. BD Three Dimensional Calcium Phosphate Scaffold.
32. Santos, M. I. *et al.* Endothelial cell colonization and angiogenic potential of combined nano- and micro-fibrous scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* **29**, 4306–4313 (2008).
33. Pham, Q. P., Sharma, U. & Mikos, A. G. Electrospun Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Microfiber and Multilayer Nanofiber/Microfiber Scaffolds: Characterization of Scaffolds and Measurement of Cellular Infiltration. *Biomacromolecules* **7**, 2796–2805 (2006).
34. Chen, R., Morsi, Y., Patel, S., Ke, Q. & Mo, X. A novel approach via combination of electrospinning and FDM for tri-leaflet heart valve scaffold fabrication. *Frontiers of Materials Science in China* **3**, 359–366 (2009).
35. Park, S. H., Kim, T. G., Kim, H. C., Yang, D.-Y. & Park, T. G. Development of dual scale scaffolds via direct polymer melt deposition and electrospinning for applications in tissue regeneration. *Acta Biomaterialia* **4**, 1198–1207 (2008).
36. Lan Levengood, S. K. *et al.* Multiscale osteointegration as a new paradigm for the design of calcium phosphate scaffolds for bone regeneration. *Biomaterials* **31**, 3552–3563 (2010).

37. Tortora, G. & Grabowsky, S. *Principles of Anatomy and Physiology*. 164–181 (Wiley: 2000).
38. Clinical Applications of Biomaterials. *NIH Consens Statement 1982 Nov 1-3 4(5)* 1–19 (1982).
39. Atala, A. Regenerative Medicine: Past and Present. *Medicine Studies* **1**, 11–31 (2009).
40. Bartolomé, F. *et al. Nuevos materiales en la sociedad del siglo XXI*. (Consejo Superior de Investigaciones Científicas: 2007).at  
<<http://hdl.handle.net/10261/3155>>
41. Roach, P., Eglin, D., Rohde, K. & Perry, C. Modern biomaterials: a review—bulk properties and implications of surface modifications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **18**, 1263–1277 (2007).
42. Echavarría, A. Medellín, Colombia. *Revista Facultad de Ingeniería* 95–108 (2003).
43. LIZARBE, M. A. Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. *Rev. Real Acad. Cienc. Exactas, Físicas y Naturales (España)* **101**, 227–249 (2007).
44. Parida, P., Behera, A. & Mishra, S. C. Classification of Biomaterials used in Medicine. *International Journal of Advances in Applied Sciences (IJAAS)* **1**, 31–35 (2012).
45. Garlotta, D. A literature review of poly (lactic acid). *Journal of Polymers and the Environment* **9**, 63–84 (2001).
46. Rasal, R. M., Janorkar, A. V & Hirt, D. E. Poly(lactic acid) modifications. *Progress in Polymer Science* **35**, 338–356 (2010).
47. Schiavone, D. L. & Tan, W. Biomedical Nanotechnology. Edited by Neelina H. Malsch. *Small* **2**, 288 (2006).
48. Kubinová, Š. & Syková, E. Nanotechnologies in regenerative medicine. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies* **19**, 144–156 (2010).
49. Christenson, E. M. *et al.* Nanobiomaterial applications in orthopedics. *Journal of Orthopaedic Research* **25**, 11–22 (2007).
50. KOWALEWSKI, T. A., NSKI, S. B. Ł. O. & BARRAL, S. Experiments and modelling of electrospinning process. *TECHNICAL SCIENCES* **53**, (2005).

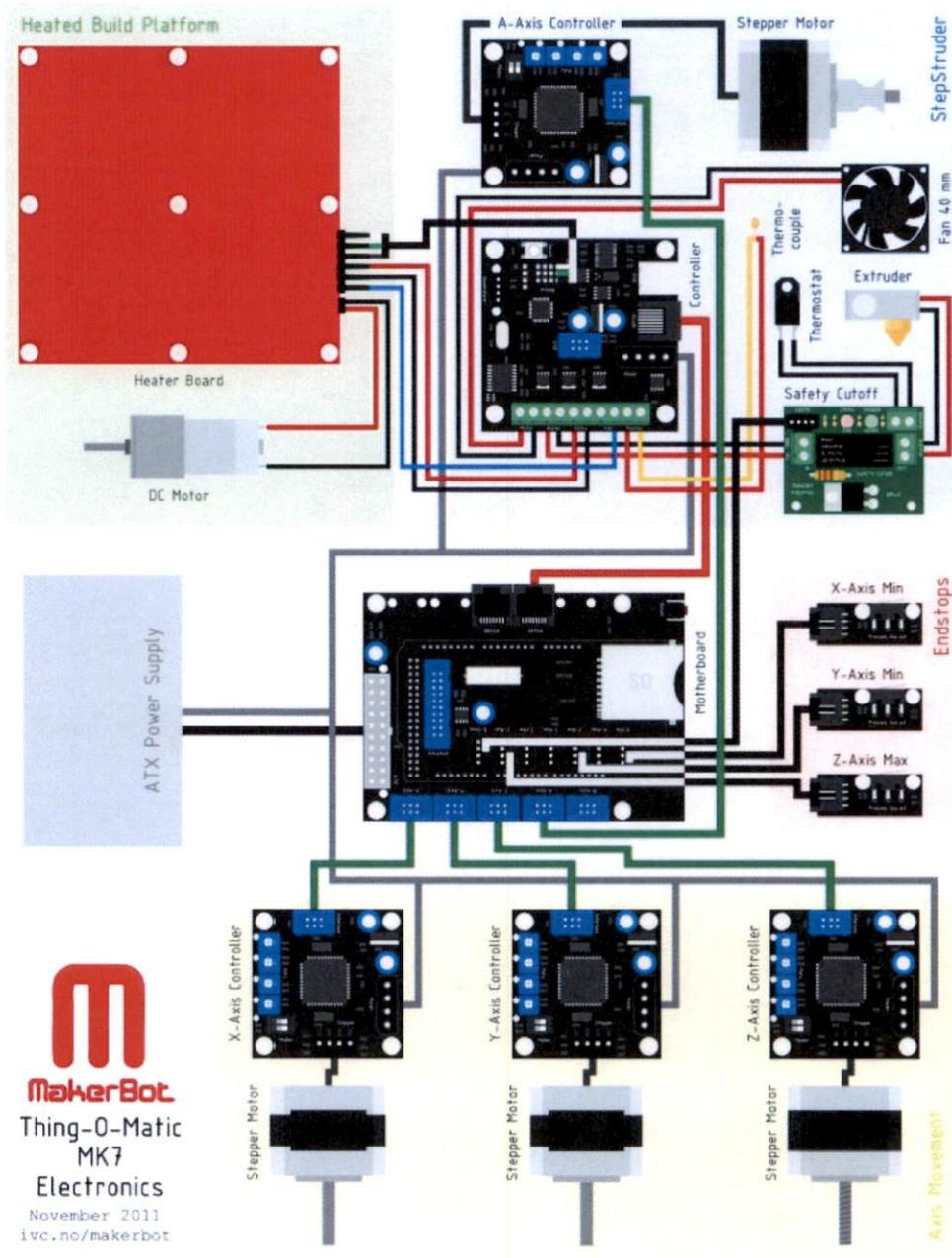
51. Pham, Q. P., Sharma, U. & Mikos, A. G. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. *Tissue engineering* **12**, 1197–1211 (2006).
52. Reneker, D. H., Yarin, A. L., Fong, H. & Koombhongse, S. Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. *JOURNAL OF APPLIED PHYSICS* **87**, (2000).
53. Greiner, A. & Wendorff, J. H. Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. *Angewandte Chemie International Edition* **46**, 5670–5703 (2007).
54. Taylor, G. Electrically Driven Jets. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences* **313**, 453–475 (1969).
55. Alves, A. K. Obtenção de micro e nanofibras de TiO<sub>2</sub> por electrospinning: caracterização de propriedades e atividade fotocatalítica. (2008).
56. Gamboa, W., Mantilla, O., Castillo, V., De Colombia, F. C. & De Bioingeniería, G. PRODUCCIÓN DE MICRO Y NANO FIBRAS A PARTIR DE LA TÉCNICA “ELECTROSPINNING” PARA APLICACIONES FARMACOLÓGICAS.
57. Tao, J. Effects of Molecular Weight and Solution Concentration on Electrospinning of PVA. (2003).
58. Azad, A.-M., Matthews, T. & Swary, J. Processing and characterization of electrospun Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-stabilized ZrO<sub>2</sub> (YSZ) and Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-doped CeO<sub>2</sub> (GDC) nanofibers. *Materials Science and Engineering-B* **123**, 252–258 (2005).
59. Li, D. & Xia, Y. Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel? *Advanced materials* **16**, 1151–1170 (2004).
60. Woo, K. M. *et al.* Nano-fibrous scaffolding promotes osteoblast differentiation and biomineralization. *Biomaterials* **28**, 335–343 (2007).
61. Beal, V. E. Avaliação do uso de insertos obtidos por estereolitografia na moldagem de pós metálicos por injeção. (2002).
62. Kumar, S. & Kruth, J.-P. Composites by rapid prototyping technology. *Materials & Design* **31**, 850–856 (2010).
63. Ozbolat, I. & Yu, Y. Bioprinting towards Organ Fabrication: Challenges and Future Trends. (2013).

64. Lantada, A. D. & Morgado, P. L. Rapid Prototyping for Biomedical Engineering: Current Capabilities and Challenges. *Annual Review of Biomedical Engineering* **14**, 73–96 (2012).
65. Yan, Y. *et al.* Rapid prototyping and manufacturing technology: principle, representative technics, applications, and development trends. *Tsinghua Science & Technology* **14**, 1–12 (2009).
66. Chua, C. K., Leong, K. F. & Lim, C. C. S. *Rapid prototyping: principles and applications*. (World Scientific Publishing Company: 2010).
67. Winder, J. & Bibb, R. Medical Rapid Prototyping Technologies: State of the Art and Current Limitations for Application in Oral and Maxillofacial Surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **63**, 1006–1015 (2005).
68. Li, J. P., De Wijn, J. R., Van Blitterswijk, C. A. & De Groot, K. Porous Ti 6 Al 4 V scaffold directly fabricating by rapid prototyping: Preparation and in vitro experiment. *Biomaterials* **27**, 1223–1235 (2006).
69. Castillo, R. J. & Ríos, A. B. La estereolitografía en la Facultad de Odontología de la UNAM. *Revista Odontológica Mexicana* **9**, 48–50 (2005).
70. Santi, P. A., Rapson, I. & Voie, A. Development of the mouse cochlea database (MCD). *Hearing research* **243**, 11 (2008).
71. Hoque, M. E., Chuan, Y. L. & Pashby, I. Extrusion based rapid prototyping technique: An advanced platform for tissue engineering scaffold fabrication. *Biopolymers* **97**, 83–93 (2012).
72. Abdelaal, O. A. M. & Darwish, S. M. H. Review of Rapid Prototyping Techniques for Tissue Engineering Scaffolds Fabrication. *Characterization and Development of Biosystems and Biomaterials* 33–54 (2013).
73. Centola, M. *et al.* Combining electrospinning and fused deposition modeling for the fabrication of a hybrid vascular graft. *Biofabrication* **2**, 014102 (2010).
74. Owida, A., Chen, R., Patel, S., Morsi, Y. & Mo, X. Artery vessel fabrication using the combined fused deposition modeling and electrospinning techniques. *Rapid Prototyping Journal* **17**, 37–44 (2011).
75. Lee, H. *et al.* Designed hybrid scaffolds consisting of polycaprolactone microstrands and electrospun collagen-nanofibers for bone tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **97B**, 263–270 (2011).
76. O'Brien, F. J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today* **14**, 88–95 (2011).

77. PELTOLA, S. M., MELCHELS, F. P. W., GRIJPMAN, D. W. & KELLOMÄKI, M. A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. *Annals of medicine* **40**, 268–280
78. Hernández, I. & Morales, J. *Desarrollo y caracterización de un sistema sensor de fuerza para aplicaciones en medicina regenerativa*. (México, D.F., 2012).
79. Ogata, K. *Ingeniería de control moderna*. (Pearson Educación: 2003).
80. Alciatore, D. G., Hestand, M. B., Cedeño, S. C. & Olguín, V. C. *Introducción a la Mecatrónica y los Sistemas de Medición*. (McGraw-Hill/Interamericana: 2008).
81. Zein, I., Hutmacher, D. W., Tan, K. C. & Teoh, S. H. Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. *Biomaterials* **23**, 1169–1185 (2002).



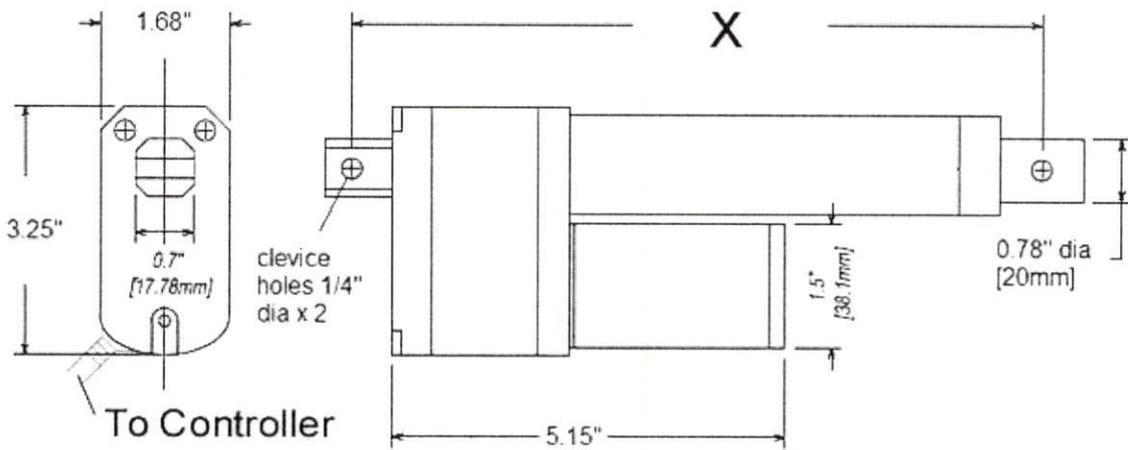
Arquitectura de microcontrolador AT2560 de Atmel®, núcleo de la tarjeta Arduino.



La tarjeta madre se conecta a modo de módulo “shield” a una tarjeta Arduino Mega 2560 modificada en hardware en su función de restablecimiento según documentación según de Makerbot.

Control System: +Pulse Width Control 1500usec Neutral  
 Required Pulse: 3-5 Volt Peak to Peak Square Wave  
 Operating Voltage: 6.0-12 Volts DC  
 Operating Temperature Range: -20 to +60 Degree C  
 -13 to +149 Degrees F  
 Operating Speed (12V): .59" second at No load  
 Operating Speed (12V): .39" second at Max load  
 Dynamic Thrust (12V): 115 lbs. Thrust  
 Static Load: 500 lbs.  
 Fully Retracted: 2000usec Pulse Width  
 Half Extended: 1500usec Pulse Width

Fully Extended: 1000usec Pulse Width  
 Current Drain (12V): 11.9mah Idle  
 Current Drain (12V): 700mah operating No load  
 Current Drain (12V): 3500mah operating Max load  
 Dead band Width: 8usec  
 Motor Type: 3 Pole Ferrite  
 Potentiometer: 10K  
 Gear Type: 4 Metal Gears  
 Connector Wire Length: 24"  
 Recommended Fuse: 5amp inline  
 IP Grade: 2IP 63-total dust protection, water resistant





1/8" NPT Solenoid Valve

Series 400

Alcon/ECI's Series 400 Direct Acting Solenoid Valve is a low cost, lightweight, compact size valve featuring external yoke and molded coil for maximum protection and insulation.

Features

- 2-way & 3-way flow patterns
- 18 Gauge, 18" Leads
- Magnetic latching option available
- "Actuator only" for manifold mounting or to pilot larger valves

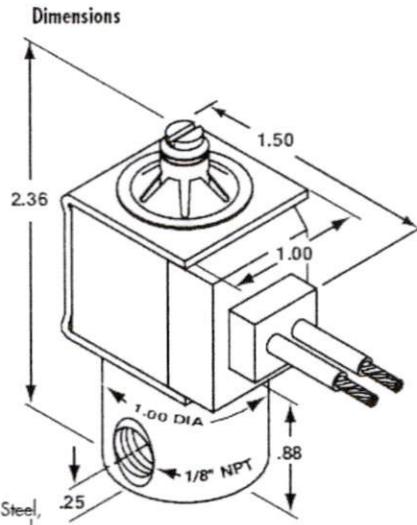


2-way Series 400

1/8" Series 400

Technical Specification

<b>Electrical:</b>	
<b>Voltages Available:</b>	AC 50/60 Hz - 12, 24, 120 or 240 volts DC - 6, 12 or 24 volts DC Latching - 9, 12, 18 or 24 volts
<b>Power Consumption:</b>	AC - 5 watts, DC - 6 watts
<b>Coil Construction:</b>	Class A, as standard (221°F/105°C)
<b>Coil Encapsulant:</b>	Thermoplastic Polyester (PET)
<b>Coil Leads:</b>	18 AWG Stranded Copper Cross Link Polyethylene Insulation (UL type 3173)
<b>Operating Temperature:</b>	to 120°F (49°C)
<b>Materials:</b>	
<b>Seals:</b>	Nitrile, Fluoroelastomer or EPDM
<b>Internal Components:</b>	Stainless Steel
<b>Shading Ring (AC units):</b>	Copper or Silver
<b>Yoke:</b>	Zinc Plated Steel or Stainless Steel
<b>Base Nut:</b>	Brass or Stainless Steel
<b>Valve Body Material:</b>	Glass filled Polypropylene, Brass or Stainless Steel
<b>Top Fitting:</b>	1/8" NPT (female) Brass or Stainless Steel, 1/8" Brass barb, 10 - 32 (female) thread



All dimensions in inches.  
Add .19 inches to height for latching coil.

Special voltages, coil construction, seals, or materials are available.

Standard Flow Data - 1/8" NPT Polypropylene and Metal Bodies

Nominal Orifice Diameter	Flow-H <sub>2</sub> O (GPM)							Nominal Orifice Diameter	Flow-Air (SCFM)						
	Maximum GPM Water Flow								Maximum SCFM Air Flow						
	10	25	50	100	150	200	250		10	25	50	100	150	200	250
	psi	psi	psi	psi	psi	psi	psi		psi	psi	psi	psi	psi	psi	psi
1/32 (.031)	0.06	0.10	0.14	0.20	0.24	0.28	.032	1/32 (.031)	0.30	0.56	0.80	1.70	2.10	2.70	3.30
3/64 (.047)	0.15	0.24	0.35	0.46	0.61	0.70	0.80	3/64 (.047)	0.75	1.40	2.00	3.50	5.25	6.75	8.25
1/16 (.063)	0.24	0.38	0.56	0.80	0.98	1.12	1.28	1/16 (.063)	1.20	2.24	3.20	5.60	8.40	10.80	13.20
3/32 (.094)	0.51	0.82	1.19	1.70	2.05			3/32 (.094)	2.55	4.76	6.80	11.90	18.60		
1/8 (.125)	0.84	1.34	1.96	2.80				1/8 (.125)	4.20	7.84	11.20	19.60			
5/32 (.156)	1.19	1.90						5/32 (.156)	5.93	11.06					

For additional technical information visit [www.alcon-ecivalves.com](http://www.alcon-ecivalves.com)

**B** Phone: (909) 305-2363 Fax: (909) 305-2373 Email: [sales@ecivalves.com](mailto:sales@ecivalves.com)

1/8" Flow Patterns*		Orifice Diameter		Max. Operating Pressure		C <sub>v</sub> Factor	
De-energized	Energized	Body	Stop	AC	DC	Body	Stop
<b>2-way Normally Closed</b>							
		1/32		250	250	.019	
		3/64		250	250	.046	
		1/16		250	200	.080	
		2/32		150	100	.170	
		1/8		90	70	.280	
		5/32		30	25	.395	
<b>2-way Normally Open</b>							
		1/32	1/32	250	250	.019	.019
		3/64	3/64	200	200	.046	.046
		1/16	3/64	150	150	.080	.080
<b>3-way Normally Closed</b>							
		1/32	1/32	125	125	.019	.019
		3/64	3/64	90	90	.046	.046
		1/16	3/64	60	60	.080	.046
		3/32	3/64	30	30	.170	.046
		3/64	1/16	90	90	.046	.080
		1/16	1/16	60	60	.080	.080
		3/32	1/16	30	30	.170	.080
<b>3-way Normally Open</b>							
		1/32	1/32	200	200	.019	.019
		3/64	3/64	150	150	.046	.046
		1/16	3/64	125	125	.080	.046
		3/32	3/64	125	125	.170	.046
		3/64	1/16	150	150	.046	.080
		1/16	1/16	125	125	.080	.080
		3/32	1/16	125	125	.170	.080
<b>Diverting</b>							
		1/32	1/32	250	200	.019	.019
		3/64	3/64	200	180	.046	.046
		1/16	3/64	150	135	.080	.046
		3/32	3/64	100	90	.170	.046
		3/64	1/16	200	180	.046	.080
		1/16	1/16	150	150	.080	.080
		3/32	1/16	100	100	.170	.080
<b>Selector</b>							
		1/32	1/32	125	125	.019	.019
		3/64	3/64	90	90	.046	.046
		1/16	3/64	60	60	.080	.046
		3/32	3/64	30	30	.170	.046
		1/16	1/16	60	60	.080	.080
		3/32	1/16	30	30	.170	.080

\*All flow patterns are available with all Alcon/EO Series valves except Series 1200 which is 2-way Normally Closed.

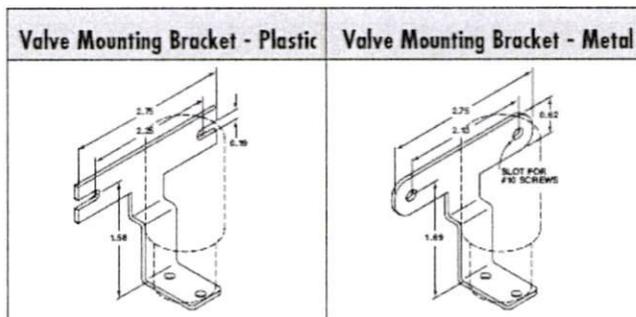
**Mounting Holes - 1/8" NPT Polypropylene and Metal Bodies**

Standard	Alternate (Polypropylene Only)

Note: Lower cost versions of the polypropylene body are available without mounting holes.

<b>Seal Material Compatibility Reference Guide</b>			
Ratings: 1. Minor Effect 2. Moderate Effect 3. Not Recommended	Nitrile (BUNA-N)	Fluoro Elastomer (VITON®)	Ethylene Propylene (EPDM)
Acetic Acid	2	2	1
Acetone	3	3	1
Anhydrous Ammonia	2	3	1
Bleach Solutions	3	1	1
Chlorine (wet)	3	1	3
Citric Acid	1	1	1
Denatured Alcohol	1	1	1
Diesel Oil	1	1	3
Freon	3	3	3
Gasoline	2	1	3
Hydrochloric Acid (cold) 35%	3	1	1
Hydrochloric Acid (hot) 35%	3	2	3
Hydrofluoric Acid (cold) 35%	3	1	3
Hydrofluoric Acid (hot) 35%	3	3	3
Isopropyl Alcohol	2	1	1
Kerosene	1	1	3
Liquefied Petroleum Gas	1	1	3
Methane	1	1	3
Methylene Chloride	3	2	3
Methyl Ethyl Ketone	3	3	1
Mineral Oil	1	1	3
Natural gas	1	1	3
Nitrogen	1	1	1
Oxygen (cold)	2	1	1
Steam (under 300°F)	3	3	1
Vinegar	2	3	2
Water	1	1	1

Notes: This is only a partial listing. Contact the factory if your media is not shown above. Special seal materials are available.

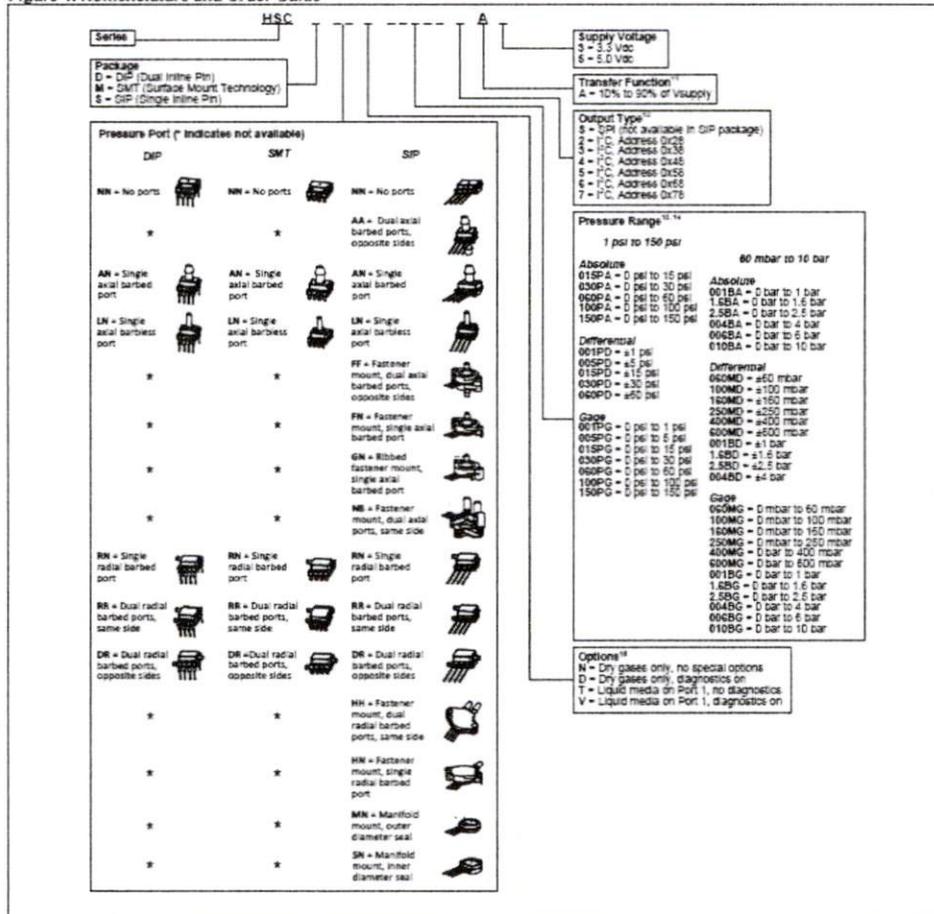


All dimensions in inches.

Reference Guide

TruStability® Silicon Pressure Sensors: HSC Series—High Accuracy

Figure 1. Nomenclature and Order Guide



Notes:

- The transfer function limits define the output of the sensor at a given pressure input. By specifying Pmin. and Pmax., the output at Pmin. and Pmax., the complete transfer function of the sensor is defined. See Figure 2 for a graphical representation of the transfer function. Other transfer functions are available. Contact Honeywell Customer Service for more information.
- Analog output is also available. Contact Honeywell Customer Service for more information.
- Custom pressure ranges are available. Contact Honeywell Customer Service for more information.
- See Table 5 for an explanation of sensor pressure types.
- See CAUTION on previous page.

±1% Total Error Band, Digital Output, 1 psi to 150 psi (60 mbar to 10 bar)

Figure 2. Transfer Function Limits

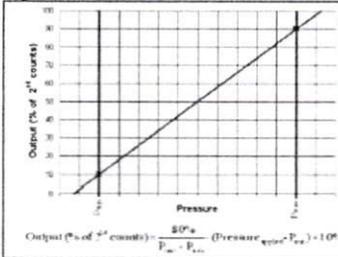


Figure 3. Completed Catalog Listing Example

**HSCSANN100PGSA3**  
SIP package, AN pressure port, no diagnostics, 100 psi gage, SPI output, 10% to 90% calibration at 3.3 Vdc.

Table 5. Pressure Types

Pressure Type	Description
Absolute	Output is proportional to the difference between applied pressure and a built-in reference to vacuum. P <sub>min</sub> is set at absolute zero pressure (full vacuum).
Differential	Output is proportional to the difference between the pressures applied to each port. (Port 1 – Port 2) 50% point of transfer function set at Port 1 = Port 2.
Gage	Output is proportional to the difference between applied pressure and atmospheric (ambient) pressure. P <sub>min</sub> is set at atmospheric pressure.

Table 6. Sensor Output at Significant Percentages

% Output	Digital Counts (decimal)	Digital Counts (hex)
0	0	0x0000
10	1638	0x0666
50	8192	0x2000
90	14746	0x399A
100	16383	0x3FFF

Table 7. Pressure Range Specifications for 1 psi to 150 psi

Order Code	Pressure Range		Over-pressure**	Burst Pressure**	Common Mode Pressure**	Long-term Stability (1000 hr, 25 °C [77 °F])
	P <sub>min</sub>	P <sub>max</sub>				
<b>Absolute</b>						
015PA	0 psi	15 psi	30 psi	60 psi	NA	±0.25% FSS
030PA	0 psi	30 psi	60 psi	120 psi	NA	±0.25% FSS
060PA	0 psi	60 psi	120 psi	240 psi	NA	±0.25% FSS
100PA	0 psi	100 psi	250 psi	250 psi	NA	±0.25% FSS
150PA	0 psi	150 psi	250 psi	250 psi	NA	±0.25% FSS
<b>Differential</b>						
001PD	-1 psi	1 psi	10 psi	10 psi	150 psi	±0.35% FSS
005PD	-5 psi	5 psi	30 psi	40 psi	150 psi	±0.35% FSS
015PD	-15 psi	15 psi	30 psi	60 psi	150 psi	±0.25% FSS
030PD	-30 psi	30 psi	60 psi	120 psi	150 psi	±0.25% FSS
060PD	-60 psi	60 psi	120 psi	240 psi	250 psi	±0.25% FSS
<b>Gage</b>						
001PG	0 psi	1 psi	10 psi	10 psi	150 psi	±0.35% FSS
005PG	0 psi	5 psi	30 psi	40 psi	150 psi	±0.35% FSS
015PG	0 psi	15 psi	30 psi	60 psi	150 psi	±0.25% FSS
030PG	0 psi	30 psi	60 psi	120 psi	150 psi	±0.25% FSS
060PG	0 psi	60 psi	120 psi	240 psi	250 psi	±0.25% FSS
100PG	0 psi	100 psi	250 psi	250 psi	250 psi	±0.25% FSS
150PG	0 psi	150 psi	250 psi	250 psi	250 psi	±0.25% FSS

## TruStability® Silicon Pressure Sensors: HSC Series—High Accuracy

Table 8. Pressure Range Specifications for 60 mbar to 10 bar

Order Code	Pressure Range		Over-pressure**	Burst Pressure**	Common Mode Pressure**	Long-term Stability (1000 hr, 25 °C [77 °F])
	P <sub>min</sub>	P <sub>max</sub>				
Absolute						
001BA	0 bar	1 bar	2 bar	4 bar	NA	±0.25% FSS
1.6BA	0 bar	1.6 bar	4 bar	8 bar	NA	±0.25% FSS
2.5BA	0 bar	2.5 bar	6 bar	8 bar	NA	±0.25% FSS
004BA	0 bar	4 bar	8 bar	16 bar	NA	±0.25% FSS
006BA	0 bar	6 bar	17 bar	17 bar	NA	±0.25% FSS
010BA	0 bar	10 bar	17 bar	17 bar	NA	±0.25% FSS
Differential						
060MD	-60 mbar	60 mbar	500 mbar	700 mbar	10 bar	±0.35% FSS
100MD	-100 mbar	100 mbar	500 mbar	700 mbar	10 bar	±0.35% FSS
160MD	-160 mbar	160 mbar	500 mbar	700 mbar	10 bar	±0.35% FSS
250MD	-250 mbar	250 mbar	1.4 bar	2.5 bar	10 bar	±0.35% FSS
400MD	-400 mbar	400 mbar	1.4 bar	2.5 bar	10 bar	±0.35% FSS
600MD	-600 mbar	600 mbar	2 bar	4 bar	10 bar	±0.25% FSS
001BD	-1 bar	1 bar	2 bar	4 bar	10 bar	±0.25% FSS
1.6BD	-1.6 bar	1.6 bar	4 bar	8 bar	10 bar	±0.25% FSS
2.5BD	-2.5 bar	2.5 bar	6 bar	8 bar	10 bar	±0.25% FSS
004BD	-4 bar	4 bar	8 bar	16 bar	10 bar	±0.25% FSS
Gage						
060MG	0 mbar	60 mbar	500 mbar	700 mbar	3.5 bar	±0.35% FSS
100MG	0 mbar	100 mbar	500 mbar	700 mbar	10 bar	±0.35% FSS
160MG	0 mbar	160 mbar	500 mbar	700 mbar	10 bar	±0.35% FSS
250MG	0 mbar	250 mbar	1.4 bar	2.5 bar	10 bar	±0.35% FSS
400MG	0 mbar	400 mbar	1.4 bar	2.5 bar	10 bar	±0.35% FSS
600MG	0 mbar	600 mbar	2 bar	4 bar	10 bar	±0.35% FSS
001BG	0 bar	1 bar	2 bar	4 bar	10 bar	±0.25% FSS
1.6BG	0 bar	1.6 bar	4 bar	8 bar	10 bar	±0.25% FSS
2.5BG	0 bar	2.5 bar	6 bar	8 bar	10 bar	±0.25% FSS
004BG	0 bar	4 bar	8 bar	16 bar	16 bar	±0.25% FSS
006BG	0 bar	6 bar	17 bar	17 bar	17 bar	±0.25% FSS
010BG	0 bar	10 bar	17 bar	17 bar	17 bar	±0.25% FSS

**Notes:**

- Overpressure: The maximum pressure which may safely be applied to the product for it to remain in specification once pressure is returned to the operating pressure range. Exposure to higher pressures may cause permanent damage to the product. Unless otherwise specified this applies to all available pressure ports at any temperature with the operating temperature range.
- Burst pressure: The maximum pressure that may be applied to any port of the product without causing escape of pressure media. Product should not be expected to function after exposure to any pressure beyond the burst pressure.
- Common mode pressure: The maximum pressure that can be applied simultaneously to both ports of a differential pressure sensor without causing changes in specified performance.

Table 9. Pinout for SMT and DIP Packages

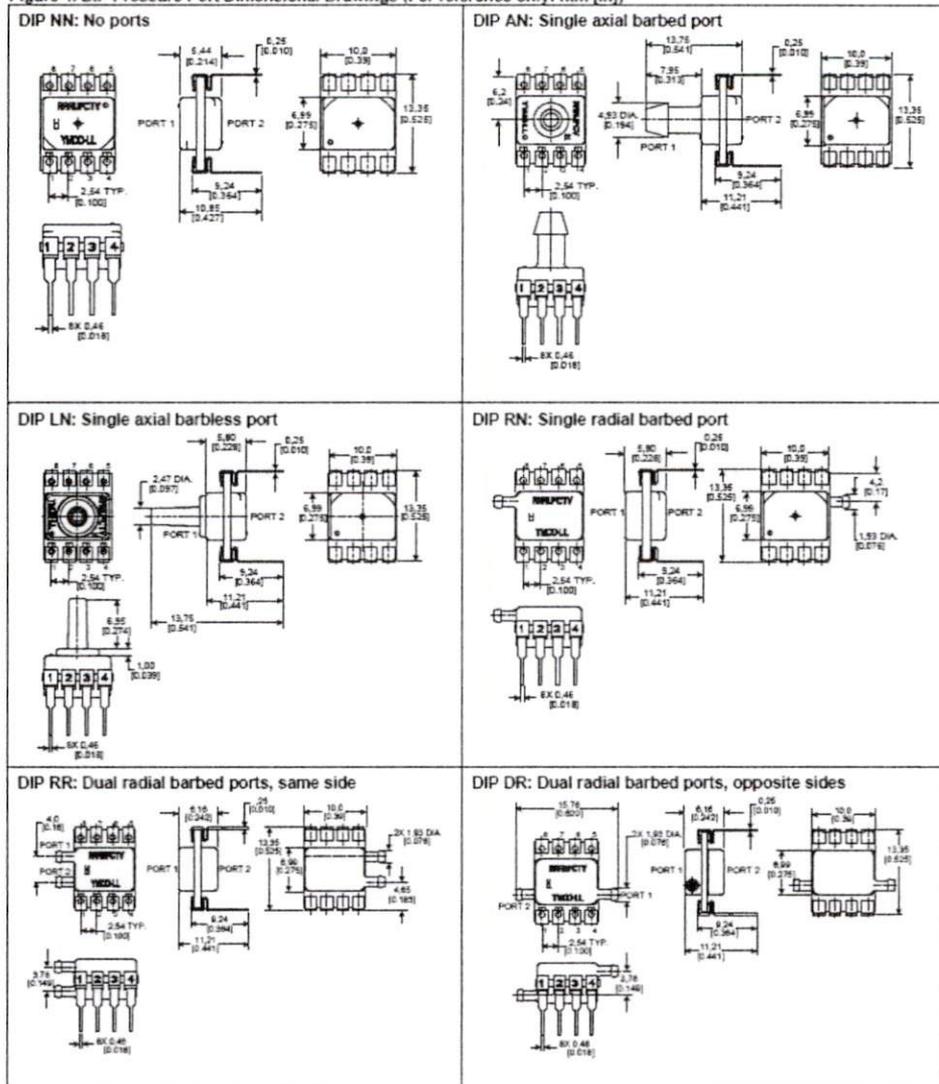
Output Type	Pin 1	Pin 2	Pin 3	Pin 4	Pin 5	Pin 6	Pin 7	Pin 8
I <sup>2</sup> C	GND	V <sub>supply</sub>	SDA	SCL	NC	NC	NC	NC
SPI	GND	V <sub>supply</sub>	MISO	SCLK	SS	NC	NC	NC

Table 10. Pinout for SIP Package

Output Type	Pin 1	Pin 2	Pin 3	Pin 4
I <sup>2</sup> C	GND	V <sub>supply</sub>	SDA	SCL

±1% Total Error Band, Digital Output, 1 psi to 150 psi (60 mbar to 10 bar)

Figure 4. DIP Pressure Port Dimensional Drawings (For reference only: mm [in])





NatureWorks® PLA Polymer 4042D  
 Biaxially Oriented Films – General Purpose

**Film Characteristics/  
 Applications**

NatureWorks® PLA (polylactide) polymer 4042D – a product from NatureWorks LLC – can be converted into a biaxially oriented film with use temperatures up to 265°F (130°C). This film has excellent optics, good machinability and excellent twist and deadfold. These properties make 4042D film an ideal candidate for candy twistwrap and other packaging applications. Additional properties include advantageous barrier to flavor and grease and superior oil resistance.

**Polymer Characteristics**

PLA polymer is available in pellet form. Drying prior to processing is essential. The polymer is stable in the molten state, provided that the extrusion and drying procedures are followed.

**Machine Configuration**

PLA polymers will process on conventional extruders using general purpose screws with L/D ratios from 24:1 to 30:1 and compression ratio of 2.5:1 to 3:1. Smooth barrels are recommended. PLA resins will process on conventional cast tenter equipment. Optimization to your specific equipment may require NatureWorks LLC technical support.

**Process Details**

**Startup and Shutdown**

PLA polymer 4042D is not compatible with a wide variety of polyolefin resins, and special purging sequences should be followed:

1. Clean extruder and bring temperatures to steady state with low-viscosity, general-purpose polystyrene or polypropylene.
2. Vacuum out hopper system to avoid contamination.
3. Introduce PLA polymer into the extruder at the operating

Processing Temperature Profile		
Melt Temperature	410°F	210°C
Feed Throat	113°F	45°C
Feed Temperature	355°F	180°C
Compression Section	375°F	190°C
Metering Section	390°F	200°C
Adapter	390°F	200°C
Die	375°F	190°C
Screw Speed	20-100 rpm	
MD Draw Temp.	140-160°F	60-70°C
TD Draw Temp.	160-175°F	70-80°C
Heat Set Oven	205-285°F	120-140°C

conditions used in Step 1.

4. Once PLA polymer has purged, reduce barrel temperatures to desired set points.
5. At shutdown, purge machine with high-viscosity polystyrene or polypropylene.

**Drying**

In-line drying is required. A moisture content of less than 0.025% (250ppm) is recommended to prevent viscosity degradation. Typical drying conditions are 4 hours at 175°F (80°C) or to a dew point of -30°F (-35°C), with an airflow rate greater than 0.5 cfm/lb of resin throughput. The resin should not be exposed to atmospheric conditions after drying. Keep the package sealed until ready to use and promptly reseal any unused material.

Typical Material & Application Properties <sup>(1,2)</sup>			
Film Properties		Value	ASTM Method
Density		1.25 g/cc	D1505
Tensile Strength MD		16 kpsi	D882
	TD	21 kpsi	D882
Tensile Modulus MD		450 kpsi	D882
	TD	560 kpsi	D882
Elongation at Break	MD	160%	D882
	TD	100%	D882
Elmendorf Tear	MD	15 g/mil	D1922
	TD	13 g/mil	D1922
Spencer Impact		2.5 joules	
Transmission Rates	Oxygen	550 cc-mil/m <sup>2</sup> /24 hr atm	D1434
	Carbon Dioxide	3,000 cc-mil/m <sup>2</sup> /24 hr atm	D1434
	Water Vapor	325 g-mil/m <sup>2</sup> /24 hr atm	E96
Optical Characteristics	Haze	2.1%	D1003
	Gloss, 20°	90	D1003
Thermal Characteristics	Glass Transition Temperature	126°F (52°C)	D3416
	Melting Point	275°F (135°C)	D1003

<sup>(1)</sup> Typical properties; not to be construed as specifications. <sup>(2)</sup> All properties measured on 1.0 mil film.  
<sup>(3)</sup> Typical values for a film oriented 3.5% in MD and 5% in TD

## NatureWorks® PLA Polymer 4042D

### Compostability

Composting is a method of waste disposal that allows organic materials to be recycled into a product that can be used as a valuable soil amendment. PLA is made primarily of polylactic acid, a repeating chain of lactic acid, which undergoes a 2-step degradation process. First, the moisture and heat in the compost pile attack the PLA polymer chains and split them apart, creating smaller polymers, and finally, lactic acid. Microorganisms in compost and soil consume the smaller polymer fragments and lactic acid as nutrients. Since lactic acid is widely found in nature, a large number of organisms metabolize lactic acid. At a minimum, fungi and bacteria are involved in PLA degradation. The end result of the process is carbon dioxide, water and also humus, a soil nutrient. This degradation process is temperature and humidity dependent. Regulatory guidelines and standards for composting revolve around four basic criteria: Material Characteristics, Biodegradation, Disintegration, and Ecotoxicity. Description of the requirements of these testing can be found in the appropriate geographical area: DIN V 54900-1 (Germany), EN 13432 (EU), ASTM D 6400 (USA), GreenPla (Japan). This grade of NatureWorks® PLA meets the requirements of these four standards with limitation of maximum layer thickness of 1650 µm and for coating layers up to 37 µm thick.

### FDA Status

#### U.S. Status-

This is to advise you that on January 3, 2002 FCN 000178 submitted by NatureWorks LLC to FDA became effective. This effective notification is part of list

currently maintained on FDA's website at

<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/opa-fcn.html>. This grade of NatureWorks® PLA may therefore be used in food packaging materials and, as such, is a permitted component of such materials pursuant to section 201(s) of the Federal, Drug, and Cosmetic Act, and Parts 182, 184, and 186 of the Food Additive Regulations. All additives and adjuncts contained in the referenced NatureWorks® PLA formulation meet the applicable sections of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act. The finished polymer is approved for all food types and B-H use conditions. We urge all of our customers to perform GMP (Good Manufacturing Procedures) when constructing a package so that it is suitable for the end use. Again, for any application, should you need further clarification, please do not hesitate to contact NatureWorks LLC.

### European Status

This grade of NatureWorks® PLA complies with Commission Directive 2002/72/EC as amended by 2004/19/EC. No SML's for the above referenced grade exist in Commission Directive 2002/72/EC or as amended by 2004/19/EC. NatureWorks LLC would like to draw your attention to the fact that the EU-Directive 2002/72/EC, which applies to all EU-Member States, includes a limit of 10 mg/dm<sup>2</sup> of the overall migration from finished plastic articles into food. In accordance with EU-Directive 2002/72/EC the migration should be measured on finished articles placed into contact with the foodstuff or appropriate food simulants for a period and at a temperature which are chosen by reference to the contact conditions in actual use, according to the rules laid down in EU-Directives 93/8/EEC (amending 82/711/EEC)

and 85/572/EEC. Please note that it is the responsibility of both the manufacturers of finished food contact articles as well as the industrial food packers to make sure that these articles in their actual use are in compliance with the imposed specific and overall migration requirements. This grade as supplied meets European Parliament and Council Directive 94/62/EC of 20 December 1994 on packaging and packaging waste heavy metal content as described in Article 11. It is recoverable in the form of material recycling, energy recovery, composting, and biodegradable per Annex II point 3, subject to the standards of the local community. Again, for any application, should you need further clarification, please do not hesitate to contact NatureWorks LLC.

### Bulk Storage Recommendations

The resin silos recommended and used by NatureWorks LLC are designed to maintain dry air in the silo and to be isolated from the outside air. This design would be in contrast to an open, vented to atmosphere system that we understand to be a typical polystyrene resin silo. Key features that are added to a typical (example: polystyrene) resin silo to achieve this objective include a cyclone and rotary valve loading system and some pressure vessel relief valves. The dry air put to the system is sized to the resin flow rate out of the silo. Not too much dry air would be needed and there may be excess instrument air (-30°F dew point) available in the plant to meet the needs for dry air. Our estimate is 10 scfm for a 20,000 lb/hr rate resin usage. Typically, resin manufacturers specify aluminum or stainless steel silos for their own use and avoid epoxy-lined steel.



# 1X3 Hex Switch Manual

*High current, high side switching*

## Introduction

The Logos Electromechanical hex switch is designed to enable users to switch DC loads up to 5A at up to 30V with no heat-sinking. It uses International Rectifier IPS6041 fully-protected high side MOSFET switches, which includes over-temp, over-current, and under-voltage protection on each switch. The high-side topology is safer in many applications than the more common low-side topology because a short to ground cannot energize the circuit while the switch is turned off, as it can with a low-side switch. Each channel has a protection diode to absorb the kick from switching off large inductive loads.

The board is built with generous traces to handle the current with minimal voltage loss and heating on the board. A 74HC595 8-bit shift registers allow the control of six high current channels from only four logic inputs,

and make it possible to daisy-chain as many as

50 boards together, for a total of 300 high current channels. In addition, it can be daisy-

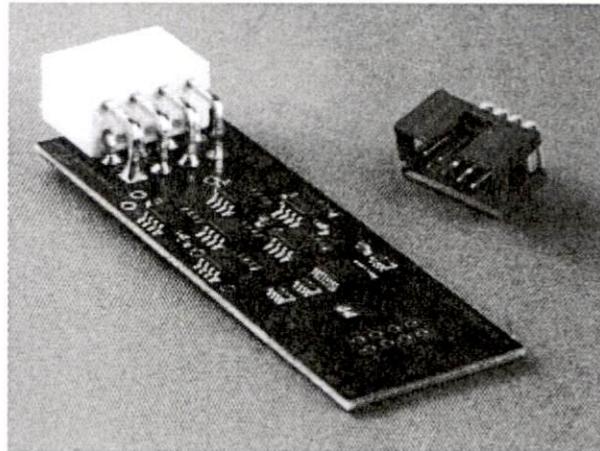


Figure 1: Kit Contents

1 •

chained with all other Logos output boards with a shift register input, i.e. those with a part number of the form \*-SRG-\*

## Board Overview

---

### Board Layout

This board is divided into two sections – the logic section and the power section. The logic section, on the right side of Figure 2, carries the shift register that provides control of the switches. The power section on the left carries six IPS6041GPBF high side high current switches. Each can switch a 5A current at up to 30V. An anti-parallel diode protects each switch, enabling this board to be used for fast switching of inductive loads such as motors or solenoids.

All of the power for all six switches comes in through a single pin on the power connector. The Molex Mini-Fit Jr connector is rated to handle up to 12A per channel. Therefore, the continuous current draw from all switches must not be allowed to exceed

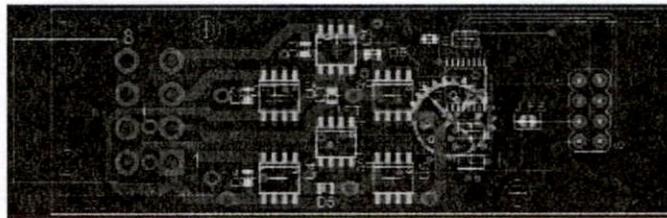


Figure 2: Board Layout

12A in order to avoid overloading the connector.

Like all 1X3 series boards, this board is designed for

convenient mounting.

The mounting holes and connectors are arranged to facilitate mounting the board inside an enclosure with the connectors projecting out on each side. Files for 3D printing a suitable enclosure will be coming soon to Thingiverse.

## Pin Descriptions

Table 1: Input Connector Pinout

Input Pin	Name	Function
1	+5V	+5V power for shift registers
2	SCK	Serial Clock (positive edge)
3	GND	Ground
4	MR	Master Reset (active low)
5	DAT	Data Return
6	LAT	Register Clock (positive edge)
7	SOUT	Serial Data Out (to next board)
8	SIN	Serial Data In (from last board/host)

- **DAT:** Data return. This allows boards on a daisy chain to return data to the host. Each shift register compatible board has a jumper (J-FB) that allows this pin to be connected to the SOUT pin. The last board in a chain must have this pin jumpered to SOUT in order to enable data return.
- **LAT:** A positive edge on this pin latches the current contents of all of the the shift register to the outputs.
- **MR:** Pulling the Master Reset low clears all of the shift registers.
- **SCK:** A positive edge on this pin move the current value of the SIN pin to the least significant bit of the first shift register (IC1), and shifts every current bit in each shift register one bit up.
- **SIN:** The value of this pin is shifted in to the least significant bit of the first shift register
- **SOUT:** When a bit is shifted past the end of the second shift register (IC2) it appears on this pin. This is what allows multiple shields to be daisy chained.

3 \*

Table 2: Power Connector Pinout

Power Pin	Name	Function
1	PWR	Power input for all switches
2	OUT1	Output for Switch 1 (bit 1)
3	OUT2	Output for Switch 2 (bit 2)
4	OUT3	Output for Switch 3 (bit 3)
5	OUT4	Output for Switch 4 (bit 4)
6	OUT5	Output for Switch 5 (bit 5)
7	OUT6	Output for Switch 6 (bit 6)
8	GND	Circuit ground (shorted to GND on input)

Pin 1 is marked by a square hole. Pin numbers count up down the same row as pin 1 and then up the other row from the same end as pin 1.

### Electrical Characteristics

Table 3: Switch Electrical Characteristics

Symbol	Parameter	Max	Typ	Min	Units
$R_{ds(on)}$	Resistance, on state	0.13	0.12	0.11	$\Omega$
$V_{clamp}$	Clamping Voltage	39	39	37	V
$I_{lim}$	Current Limit	10	7	4	A
$V_{ccOp}$	Recommended Operating Voltage Range	28	-	6	V
$T_{d_{on}}$	Turn-on Delay Time	-	5	15	$\mu s$
$T_r(90\%)$	Rise Time to 90% of $V_{cc}$	-	4	20	

4 \*

## Board Usage

### Electrical Connection

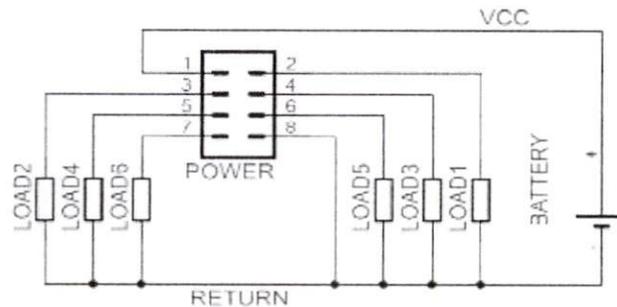


Figure 3: Typical Connection

The power connection to this board is through an eight-pin Molex Minifit Jr connector. This is the same family of connectors as is used for power supplies on most desktop computers. The connector body and crimp contacts are sold separately.

Figure 3 shows a schematic of a typical connection.

### Software Interface

The switches are controlled by a 74HC595 shift register. The switches are wired to bits 1-6 of the shift register. Bits 0 and 7 are unconnected.

If you are using an Arduino as a host, the `shiftOut()` function provides a convenient method for controlling the shift register. The following code will write the contents of `switchByte` to the hex switch outputs. The pin names are as seen in Table 1.

```
digitalWrite(LAT, LOW); // Prepares latch
digitalWrite(MR, HIGH); // Deactivates master reset
shiftOut(SCK, SIN, MSBFIRST, switchByte); // shift data for S1-S6
digitalWrite(LAT, HIGH); // latch data
```

5 •

## Daisy Chaining

This board is designed to be daisy-chained in order to get greatly expanded numbers of high current outputs off a fixed number of digital output pins.

This requires a cable of the type shown in Figure 4. All of the pins are carried over, with the exception of SIN & SOUT (pins 8 & 7, respectively). SOUT of the source board must be connected to SIN of the next board, and so on down the chain.

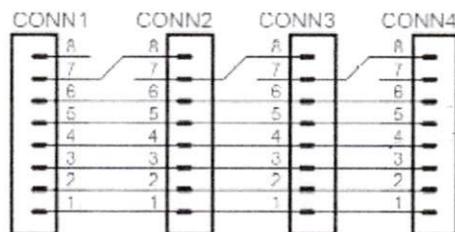


Figure 4: Daisy Chain Cable Schematic

If you're using IDC connectors with ribbon cable to make your daisy chain cable, this is straightforward. Assemble the first connector normally. At the second connector, separate and swap conductors seven and eight. After assembling the connector, cut conductor seven (now plugged into pin eight of the second connector) downstream of the second connector and conductor eight (now plugged into pin seven of the second connector) upstream of the connector. Assemble the third connector normally, but after you have assembled it, trim conductor eight downstream and conductor seven upstream. Assemble the fourth connector as you did the second and the fifth as you did the third, alternating for any additional connectors. See Figure 5 for how it should look.