

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

INGENIERÍA EN DISEÑO DE PRODUCTOS

VALPARAÍSO – CHILE



**“DISEÑO Y DESARROLLO DE MOLDES Y MATRICES DE SUPERFICIE
MICROESTRUCTURADAS PARA LA FORMACIÓN DE SCAFFOLDS QUE PERMITAN LA
DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS MUSCULARES”**

CONSTANZA GABRIELA GARCÍA SERRA

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERA EN DISEÑO DE PRODUCTOS

Dr. JUAN CARLOS BRIEDE

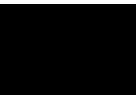
Dr. PABLO PRIETO

Dr. CRISTIAN ACEVEDO

MARZO 2020

DEDICATORIA

Para Fernando, Sandra, Balti y Tiki



AGRADECIMIENTOS

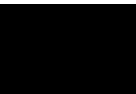
A mis profesores guías, Pablo, Juan Carlos y Cristián, por la confianza y la oportunidad de trabajar con ellos.

A mi mamá y papá que me enseñaron a trabajar por lo que quiero y siempre me apoyaron para poder lograrlo.

A mis amigos y familiares que han estado conmigo durante mi desarrollo personal y profesional.

A Jorge Maggiolo por ayudarme y estar conmigo durante toda la investigación.

Al proyecto FONDECYT N° 1190100 por dejarme ser parte como tesista en el proyecto y por el apoyo económico.

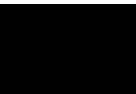


RESUMEN

La siguiente memoria forma parte del proyecto FONDECYT N° 1190100, en el Centro de Biotecnología “Dr. Daniel Alkalay Lowitt”, este proyecto consiste Desarrollo de micropatrones para fabricar carne cultivada.

La carne in vitro es un tejido muscular comestible producido en laboratorio, varios estudios informan del beneficio de producir este alimento, por ejemplo, el bienestar animal, la reducción de enfermedades transmitidas por animales y la disminución del impacto ambiental del sector ganadero.

Para producir este tipo de alimento, hay una serie de elementos que deben ser estudiados y optimizados,



uno de ellos es la microestructura de la matriz donde se cultivarán las células, estas deben poseer forma de canal, esto porque permiten la alineación de las células diferenciadas para la generación de fibras musculares que, unidas entre sí, forman la carne comestible.

Para la producción de estos moldes microestructurados, se utiliza la tecnología de impresión 3D estereolitografía en dos materiales distintos, Resina Tough y Resina Dental SG.

En primer lugar, es necesario diseñar cada molde en programas CAD, en este caso se utilizó Autodesk Fusion 360, para luego ser modelado en 3D.

Luego se procede a importar el modelo en el software que prepara la pieza para ser impresa y separa capa por capa de curado de resina, permite posicionar la pieza en la impresora, modificar parámetros respecto a la densidad del material de soporte de la pieza y determina cuanto tiempo se va a demorar la pieza en producirse.

Tras obtener la pieza fabricada, esta debe ser post procesada. Primero, se sumerge en alcohol isopropílico durante 1 hora aproximadamente, va a depender del tipo de resina que se utilice, el cual retira el exceso de resina no solidificada por la máquina.

Posterior al lavado, se introduce en una cámara de luz ultravioleta que rota en 360° con temperatura de 60 °C durante 1 hora, también va a depender del tipo de resina que se utilice, que cura la pieza en su totalidad.

Finalmente, se procede a observar los canales microestructurados de la pieza en una lupa microscópica, donde se examina el tamaño del surco, y se decide si es apto o no para el cultivo de las células musculares.

En esta memoria, se trabajó principalmente con surcos de forma cuadrada, sin embargo, ninguno de los moldes satisfacía los requisitos de dimensiones que permitirían el

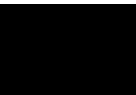
cultivo de células musculares, por lo que finalmente se optó por cambiar a una forma triangular, la cual cumple con los requisitos de tamaño para el cultivo celular finalizado así la presente investigación.

ABSTRACT

The following report is part of the FONDECYT project No. 1190100, at the Biotechnology Center “Dr. Daniel Alkalay Lowitt”, this project consists in the development of micropatterns to produce cultured meat.

In vitro meat is an edible muscle tissue produced in laboratory, several studies report the benefit of producing this food, for example, animal welfare, the reduction of animal-transmitted diseases and the reduction of the environmental impact of the livestock sector.

To produce this type of food, there are a number of elements that must be studied and optimized, one of them is the microstructure of the matrix



where the cells will be grown, they must have a channel shape, because they allow the alignment of differentiated cells for the generation of muscle fibers that, joined together, form edible meat.

To produce these micro structured molds, 3D printing stereolithography technology is used in two different materials, Tough Resin and Dental SG Resin.

First, it is necessary to design each mold in CAD programs, in this case it was used Autodesk Fusion 360, and then be modeled in 3D.

Then we proceed to import the model into the software that

prepares the piece to be printed and separates layer by layer of resin curing, allows to position the piece in the printer, modify parameters regarding the density of the support material of the piece and determines how long will the piece take to produce.

After obtaining the manufactured piece, it must be post processed. First, it is immersed in isopropyl alcohol for approximately 1 hour, it will depend on the type of resin used, which removes the excess resin not solidified by the machine.

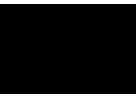
After washing it, is introduced into an ultraviolet light chamber that rotates in 360 ° with a temperature of 60 ° C

for 1 hour, this will also depend on the type of resin used, which cures the entire piece.

Finally, we proceed to observe the micro structured channels of the piece in a microscopic magnifying glass, where the size of the groove is examined, and it is decided whether it is suitable for the cultivation of muscle cells.

In this report, we mainly worked with grooves of square shape, however, none of the molds satisfied the requirements of dimensions that would allow the cultivation of muscle cells, so finally we decided to change to a triangular shape, which fulfill with the size requirements for cell

culture thus completed the present investigation.



ÍNDICE

DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	7
ÍNDICE.....	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
INTRODUCCIÓN.....	17
OBJETIVOS DEL PROYECTO.....	20
OBJETIVO GENERAL	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
CAPÍTULO 1: CONTEXTO GENERAL DEL ESTUDIO.....	21
1.1 CARNE CULTIVADA.....	21
1.2 HISTORIA.....	22

1.3 VENTAJAS.....	24	4.1 MANUFACTURA ADITIVA.....	43
1.4 DESVENTAJAS.....	26	4.2 ABORDAJE METODOLÓGICO	47
CAPÍTULO 2: CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA.....	27	4.3 MOLDES A PARTIR DE LA ESTEREOLITOGRAFÍA.....	48
2.1 CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA.....	27	4.3.1 MOLDE NÚMERO 1.....	49
2.2 MISIÓN, VISION Y OBJETIVOS.....	29	4.3.2 MOLDE NÚMERO 2.....	50
2.3 MODELO DE NEGOCIOS.....	29	4.3.3 MOLDE NÚMERO 3.....	52
2.4 ALGUNOS PROYECTOS.....	30	4.3.4 MOLDE NÚMERO 4.....	53
CAPÍTULO 3: BIOMATERIALES	33	4.3.5 MOLDE NÚMERO 5.....	54
3.1 DEFINICIONES.....	33	4.3.6 MOLDE NÚMERO 6.....	55
3.2 TIPOS DE BIOMATERIALES	36	4.3.7 MOLDE NÚMERO 7.....	56
3.3 SCAFFOLDS.....	38	4.3.8 MOLDE NÚMERO 8	57
3.3.1. FABRICACIÓN.....	40	4.3.9 MOLDE NÚMERO 9.....	61
3.3.2 ESTEREOLITOGRAFÍA	40	4.3.10 MOLDE NÚMERO 10.....	62
CAPÍTULO 4: METODOLOGÍA	43	4.3.11 MOLDE NÚMERO 11.....	63

4.3.12 CONTROL 0,05.....	64	ANEXOS.....	92
4.3.13 MOLDE NÚMERO 12.....	65		
4.3.14 MOLDE NÚMERO 13.....	66		
4.3.15 MOLDE NÚMERO 14.....	67		
4.3.16 CONTROL 0,1.....	68		
4.3.17 MOLDE NÚMERO 15.....	72		
4.3.18 MOLDE NÚMERO 16.....	73		
4.3.19 MOLDE NÚMERO 17.....	74		
4.3.20 MOLDE NÚMERO 18	75		
4.3.21 MOLDE NÚMERO 19.....	78		
4.3.22 MOLDE NÚMERO 20.....	79		
4.3.23 MOLDE NÚMERO 21.....	82		
4.3.24 MOLDE NÚMERO 22.....	83		
CONCLUSIONES.....	85		
BIBLIOGRAFÍA.....	88		

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. 1 Comparación de consumo de energía, emisión de gases de invernaderos, uso de tierra y agua para la producción de carne cultivada y carne tradicional por cada 1000 kg de carne producidos (Pérez, 2017)..25

CAPÍTULO 2

Figura 2. 1 Logotipo Centro de Biotecnología.....27
Figura 2. 2 Instalaciones Centro de Biotecnología ubicado en General Bari 699, Valparaíso 28
Figura 2. 3 Caso clínico humano.....32

CAPÍTULO 3

Figura 3. 1 Regeneración de cartílago articular con Carticel (A) y prótesis completa de rodilla (B) 35
Figura 3. 2 Clasificación de los biomateriales sintéticos en función de su naturaleza química..... 36
Figura 3. 3 Funcionamiento de una máquina de estereolitografía (Kalpakjian y Schmid, 2008)..... 42

CAPÍTULO 4

Figura 4. 1 Impresora de estereolitografía Form2, Wash y Cure. 44
Figura 4. 2 Cartucho de resina Tough, Formlabs.....44

Figura 4. 3	Figura 4. 3 A la izquierda, posicionamiento por defecto al abrir la pieza, a la derecha, posicionamiento tras activar opción de impresión en un clic.....	46
Figura 4. 4	Diagrama paso a paso metodología aplicada.....	47
Figura 4. 5	Diagramación molde N°1	49
Figura 4. 6	Diagramación molde N°2	50
Figura 4. 7	Diagramación molde N°3	52
Figura 4. 8	Diagramación molde N°4	53
Figura 4. 9	Diagramación molde N°5	54
Figura 4. 10	Diagramación molde N°6	55

Figura 4. 11	Diagramación molde N°7	56
Figura 4. 12	Diagramación molde N°8	57
Figura 4. 13	Fotografía Molde N°3...	59
Figura 4. 14	Fotografía Molde N°4..	59
Figura 4. 15	Fotografía Molde N°5...	60
Figura 4. 16	Fotografía Molde N°6...	60
Figura 4. 17	Fotografía Molde N°7...	60
Figura 4. 18	Fotografía Molde N°8 ..	60
Figura 4. 19	Diagramación molde N°9	61
Figura 4. 20	Diagramación molde N°10	62
Figura 4. 21	Diagramación molde N°11	63
Figura 4. 22	Diagramación control de 0,05 [mm]	64

Figura 4. 23 Diagramación molde N°12.....	65
Figura 4. 24 Diagramación molde N°13.....	66
Figura 4. 25 Diagramación molde N°14.....	67
Figura 4. 26 Diagramación control de 0,05 [mm].....	68
Figura 4. 27 Fotografía Control 0,1..	70
Figura 4. 28 Fotografía Control 0,05	70
Figura 4. 29 Fotografía Molde N°9 ..	70
Figura 4. 30 Fotografía Molde N°10	70
Figura 4. 31 Fotografía Molde N°11....	71
Figura 4. 32 Fotografía Molde N°12..	71
Figura 4. 33 Fotografía Molde N°13..	71
Figura 4. 34 Diagramación molde N°15.....	72

Figura 4. 35 Diagramación molde N°16.....	73
Figura 4. 36 Diagramación molde N°17.....	74
Figura 4. 37 Diagramación molde N°18	75
Figura 4. 38 Fotografía Molde N°15	77
Figura 4. 39 Fotografía Molde N°18	77
Figura 4. 40 Diagramación molde N°19.....	78
Figura 4. 41 Diagramación molde N°20	79
Figura 4. 42 Fotografía Molde N°19.	81
Figura 4. 43 Fotografía Molde N°20	81
Figura 4. 44 Diagramación molde N°21.....	82
Figura 4. 45 Diagramación molde N°22.....	83
Figura 4. 46 Fotografía Molde N°21	84

ANEXOS

Figura A. 1.....92

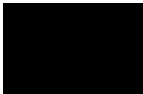
Figura A. 2.....92

Figura A. 3.....92

Figura A. 4.....92

Figura A. 5.....93

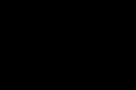
Figura A. 6.....93



INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la demanda de la industria ganadera ha incrementado de tal manera que eventualmente, en los próximos años, no existirá la capacidad de producción necesaria para satisfacerla.

Por otro lado, se debe considerar el impacto ambiental que esta genera. Actualmente, la industria ganadera produce un 9% de dióxido de carbono, 65% de óxido nitroso y 37% del metano, que son los principales gases de invernadero y acelerantes del calentamiento global, asimismo es responsable del 64% de la producción de amoníaco, que genera lluvia ácida.



Por lo tanto, existe la necesidad de encontrar soluciones que permitan reemplazar los métodos de producción de carne convencionales. Una de las alternativas más prometedoras es la producción de carne en laboratorio, la denominada “carne cultivada o in-vitro”.

Es aquí en donde el centro de biotecnología Dr. Daniel Alkalay Lowitt de la Universidad Técnica Federico Santa María en el área de ingeniería de tejidos ha tomado el reto para el desarrollo de este tipo de productos, obteniendo así el FONDECYT N° 1190100, el cual se

titula: “Desarrollo de micropatrones para fabricar carne cultivada”.

Para poder producir este tipo de alimento, existe una serie de elementos que deben ser estudiados y optimizados, uno de ellos es la micro y nanoestructura de la matriz donde se cultivarán las células madre, ya que los canales micro estructurados permiten la alineación de las células diferenciadas posibilitando la generación de fibras musculares, que, unidas entre sí formarán la carne comestible.

Las células no pueden ser cultivadas en cualquier material,

sino que necesitan de un medio especializado, llamados biopolímeros o scaffolds, estos poseen la característica de ser líquidos en primera instancia, por lo cual se necesita de algún molde para que al momento de solidificar adopte una forma favorable para el desarrollo de las células.

OBJETIVOS DEL PROYECTO

OBJETIVO GENERAL

- Diseñar y desarrollar moldes y matrices de superficie microestructurada entre 0,03 [mm] y 0,07 [mm] para la generación de scaffolds para el cultivo de células musculares.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

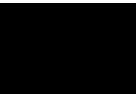
- Diseñar matrices utilizando distintas formas de microestructuras.
- Seleccionar técnicas de manufactura de los moldes y matrices.
- Producir Scaffolds para el cultivo de células musculares.

CAPÍTULO 1: CONTEXTO GENERAL DEL ESTUDIO

1.1 CARNE CULTIVADA

La carne cultivada o carne in-vitro, es aquella carne animal que no proviene directamente del cuerpo de un animal, sino que proviene del cultivo de células musculares extraídas previamente de animales (Kurzweil, 2005).

La producción de este tipo de carne comestible es posible gracias a la ingeniería de tejidos, esta ha estudiado los comportamientos de las células, las cuales, dependiendo del medio y la estimulación, pueden diferenciarse en células musculares, que, al unirse entre sí, forman fibras musculares que, al ensamblarse, se obtiene la carne comestible.



1.2 HISTORIA

La idea de crear carne cultivada en un laboratorio no es reciente, si no, que se remonta alrededor del año 1931, en donde Winston Churchill, en uno de sus ensayos llamado “Cincuenta años después”, en el cual describe los cambios sociales y posibles avances en la ciencia y tecnología. En una de sus ideas dice: *“Debemos escapar de lo absurdo que es criar un pollo entero para comer la pechuga o el ala, y sustituirlo por el crecimiento de estas partes por separado en un medio adecuado”* (Stephens et al, 2015).

Diez años después, el holandés Willem Van Eelen, prisionero en un

campo de concentración japonés en indonesia, al sufrir maltratos, se sintió identificado con el trato animal en las granjas y pensó que se debía investigar una forma de hacer carne, sin tener que maltratar animales. Ya en 1950, recibido de medicina, dedicó toda su vida en encontrar la forma de poder hacer carne cultivada, si bien no obtuvo resultados, en 1991 se le atribuyó una patente sobre la producción industrial de carne (Stephens et al, 2015).

Ya en 2002, la NASA, se muestra interesada en este proyecto, y decide financiar a Morris Benjaminson, del Touro College de Nueva York, para la realización del proyecto, esto para

poder alimentar a los astronautas en periodos de viajes largos (Cohen, 2011).

El Dr. Benjaminson, logró sacar células de músculo de pez dorado y cultivarlas, logrando así filetes de pez dorado, lamentablemente por las leyes estadounidenses estos no pudieron ser degustados, ya que está prohibido el consumo de productos experimentales. Según expertos catadores, estos filetes de pez dorado, poseían la apariencia y olor idénticos a uno real (Stephens et al, 2015).

Con el pasar del tiempo la NASA decidió cortar el proyecto, debido a que encontraron otras formas más económicas para alimentar a los

astronautas en sus viajes (Cohen, 2011).

En el año 2005, el Doctor Van Eelen, logró financiar su proyecto gracias al financiamiento entregado por el estado holandés, consiguiendo así US \$3M de dólares estadounidenses. Con el dinero se generaron variados proyectos, en los cuales destacan, el estudio de células embrionarias, las cuales pueden ser estimuladas para convertirse en células musculares y cuál es el medio de cultivo óptimo para el crecimiento de las células (Cohen, 2011).

En el año 2008 PETA, organización dedicada a los derechos de los animales, anuncia un premio de US

\$1M al primer laboratorio que logre generar piezas de pollos comestibles hechas in-vitro (Stephens et al, 2015).

A finales del año 2010, los fondos obtenidos por el Doctor Van Eelen, se van agotando, pero un donador anónimo, decide financiar el proyecto para creación de la primera hamburguesa en laboratorio (Stephens et al, 2015).

En 2013, se da a conocer el nombre de quien financió el proyecto, este resulta ser Sergey Brin, el cofundador de Google. El mismo año también se hace una conferencia en donde se da a conocer la primera hamburguesa in-vitro la cual es cocinada por el chef Richard McGowan y testeada por el

Doctor Mark (uno de los científicos a cargo) y los críticos gastronómicos Hanni Ruetzler y Josh Schonwald (Stephens et al, 2015).

Finalmente, en febrero del 2015, el Doctor Van Eelen fallece a la edad de 91 años, dejando un gran legado como investigador y promotor de la producción de “carne sin víctimas”

1.3 VENTAJAS

Existe un gran número de ventajas vinculadas con la producción de carne cultivada, y la gran mayoría relacionadas con el gran problema que hay detrás de la industria ganadera actual.

En primer lugar, existe un mejor control de las condiciones sanitarias de la producción, pudiendo así evitar la zoonosis o enfermedades transmitidas de animales a personas por faenas sin los controles sanitarios correspondientes.

Otra de las ventajas destacables es la reducción del impacto ambiental, esto se debe a que el ganado debe estar en un lugar físico, lo que provoca la deforestación para el uso de terrenos, además este debe ser alimentado, lo que conlleva al uso de recursos como hiedra, heno y agua (ver Figura 1).

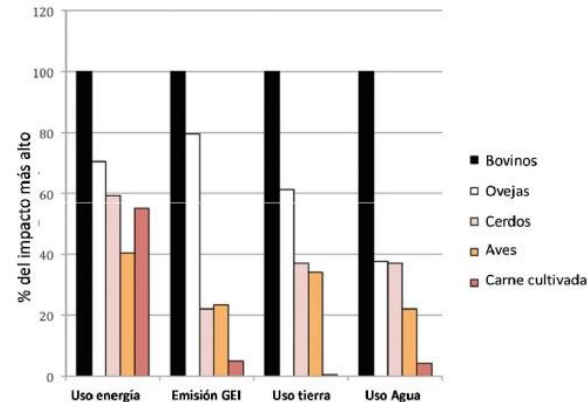


Figura 1. 1 Comparación de consumo de energía, emisión de gases de invernadero, uso de tierra y agua para la producción de carne cultivada y carne tradicional por cada 1000 kg de carne producidos (Pérez, 2017).

Ya entrando en los beneficios de la carne cultivada propiamente tal, tenemos que, al estar en condiciones controladas, nos permite la manipulación de perfiles nutritivos, disminuyendo las grasas saturadas y el colesterol (Pérez, 2017).

1.4 DESVENTAJAS

La principal desventaja que posee la producción de carne cultivada es su costo. La hamburguesa presentada en 2013 por el Doctor Mark costó alrededor de €250.000 las 5 oz (aproximadamente 142 grs), lo que no da a conocer que por el momento no es posible competir con la producción de carne convencional a gran escala (VelSid, 2014).

Otras de las desventajas de la producción de este tipo de alimento, es la aceptación de la gente (consumidores de carne), esto se debe a que se genera una percepción de un alimento artificial que al

consumirlo en reiteradas ocasiones podría dañar la salud.

Finalmente, tenemos los grupos veganos extremos que afirman que este tipo de fabricación de igual manera viola los derechos de los animales, ya que, si bien se requieren únicamente células para comenzar la producción, de igual forma se necesita a un animal donante de estas células, teniendo pequeñas “granjas” de animales (Tovar et al, 2011).

CAPÍTULO 2: CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA

2.1 CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA

El centro de biotecnología Dr Daniel Alkalay Lowitt (CB-DAL), es un centro de investigación dependiente de la vicerrectoría académica de la Universidad Técnica Federico Santa María.



Figura 2.1 Logotipo Centro de Biotecnología

El centro es responsable de impulsar y desarrollar investigaciones en el ámbito de la biotecnología,

gestionando y ejecutando proyectos multidisciplinarios en conjunto con todos los departamentos de la universidad, como también con otras universidades y empresas, tanto nacionales como extranjeras.

Fundada el 20 de enero del 2000, por el consejo superior de la universidad, este busca contribuir al desarrollo de

la Biotecnología haciendo aportes inéditos en investigación, extensión y formación en área de la biotecnología.



Figura 2. 2 Instalaciones Centro de Biotecnología ubicado en General Bari 699, Valparaíso

2.2 MISIÓN, VISION Y OBJETIVOS

La misión del centro de biotecnología busca: “Incorporar la dimensión biotecnológica en todas las áreas en que la Universidad Técnica Federico Santa María define su quehacer en Ciencia y Tecnología”.

Por otro lado, la visión pretende: “Ser referente nacional e internacional en la Biotecnología”.

Finalmente, dentro de su objetivo general se encuentra “el desarrollo de investigación en Biotecnología fortaleciendo las áreas existentes en la UTFSM e implementando áreas con impacto estratégico, tanto dentro de la Universidad como en el medio productivo nacional”.

2.3 MODELO DE NEGOCIOS

El modelo de negocio está basado en servicios de apoyo al desarrollo agrícola y ganadero, orientados a la sustentabilidad del proceso exportador. Además, formula programas de formación de recursos humanos para satisfacer la demanda de capacitación formal en el área de la Biotecnología, complementaria a la formación profesional y capacitación técnica a nivel de sectores industriales y productivos básicos.

2.4 ALGUNOS PROYECTOS

DISEÑO DE BIOMATERIAL HÍBRIDO PARA INGENIERÍA DE TEJIDOS

Los biomateriales biológicamente activos como biopolímeros e hidrogeles se han utilizado en aplicaciones médicas que proporcionan resultados favorables en la ingeniería de tejidos. En esta investigación, se diseñó un dispositivo de vendaje para heridas mediante la integración de un hidrogel de coágulo autólogo que transporta células madre mesenquimales en un scaffold biopolimérico. Este biomaterial híbrido se probó in-vitro e in-vivo, y se usó en un caso clínico humano.

El scaffold biopolimérico se hizo con gelatina, quitosano y ácido hialurónico, utilizando un método de liofilización.

El scaffold era un material poroso diseñado para evaluar tanto las propiedades físicas (transición vítrea, temperatura de fusión y tamaño de poro) como las propiedades biológicas (viabilidad celular y expresión de fibronectina). Se utilizaron dos tipos de quitosano (120 y 300 kDa) para fabricar el scaffold, siendo el de mayor peso molecular el más activo biológicamente y estable después de la esterilización con irradiación gamma (25 kGy).

Se formuló un hidrogel de coágulo con plasma autólogo y cloruro de calcio, utilizando un enfoque basado en el diseño de experimentos. El hidrogel óptimo se usó para incorporar células en el scaffold poroso, formando un biomaterial para apósito para heridas.

El dispositivo de vendaje para heridas se probó primero in vitro usando células humanas, y luego, se evaluó su bioseguridad in vivo usando un modelo de conejo. Los resultados in vitro mostraron una alta viabilidad celular después de una semana (99.5%), alto índice mitótico (19.8%) y alta expresión de fibronectina. La aplicación in vivo a conejos mostró

una capacidad de biodegradabilidad adecuada (entre 1 y 2 semanas), y la evaluación histológica confirmó la ausencia de signos de rechazo y reepitelización en la zona de la herida.

Finalmente, el biomaterial de apósito para heridas se usó en un solo caso humano para implantar células autólogas en una cirugía de piel. El examen médico indicó alta biocompatibilidad, biodegradación parcial a la semana, capacidad de regeneración temprana a las 4 semanas y ausencia de signos de rechazo.

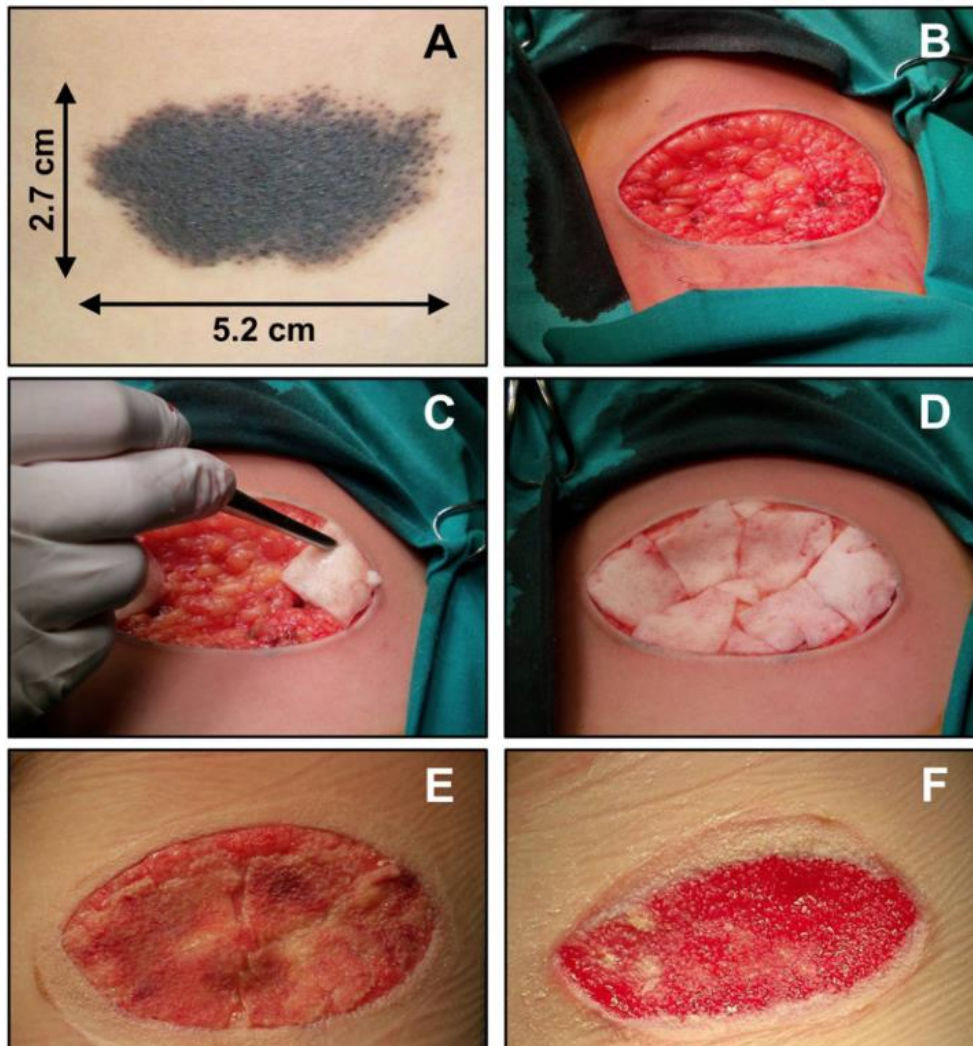


Figura 2.3 Caso clínico humano.

CAPÍTULO 3:

BIOMATERIALES

3.1 DEFINICIONES

Existen diversas definiciones para el concepto de biomaterial, la primera de ellas es la entregada por la Real Academia Española, la cual la define como:

m. Biol. Material tolerado por el organismo, utilizado para prótesis y otros fines.

Según la segunda conferencia para el consenso de definiciones en biomateriales, realizada en Reino Unido, en el año 1992, un biomaterial se define como:

Un material ideado para interactuar con los sistemas biológicos para

evaluar, tratar, aumentar o sustituir cualquier tejido, órgano o función del cuerpo". (Peña y Alvarado, 2010)

Malin Edvardsson señala que al contrario de lo que implica la palabra, un biomaterial no es necesariamente biológico o está basado en una materia bio-relacionada. El material en sí puede ser cualquier cosa, desde un metal hasta un plástico o variedades de compuestos. También puede ser bio-inspirado y derivado de la naturaleza. Es un material diseñado con el propósito de interactuar con el cuerpo, es decir, diseñado para residir en un entorno biológico. (Ratner et al, 2018).

Se denomina biomaterial a los productos empleados para reproducir la función de tejidos vivos en los sistemas biológicos de forma segura, mecánicamente funcional y aceptable fisiológicamente, que son temporal o permanentemente implantados en el cuerpo y que tratan de restaurar el defecto existente y, en algún caso, conseguir la regeneración tisular (Williams, 1976). El biomaterial en contacto con tejidos vivos no debe producir en ellos ningún tipo de alteración, lo que limita las materias primas con las que se puede abordar su diseño. Sin embargo, los biomateriales constituyen un conjunto de materiales cuya principal

característica es su gran diversidad. Entre ellos se incluyen metales, cerámicas, vidrios, acero y otras aleaciones metálicas, polímeros sintéticos de múltiples clases, polímeros naturales, tejidos biológicos modificados, etc. (Hench y Ethrige, 1982).

Como conclusión de definiciones respecto a los biomateriales se puede distinguir como un material con la capacidad de interactuar de manera benigna con el cuerpo y/o elementos biológicos, cumpliendo con una respuesta biocompatible.

En la actualidad, se utilizan distintos tipos de biomateriales en el área de la medicina como, por ejemplo, lentes



Figura 3.1 Regeneración de cartílago articular con Carticel (A) y prótesis completa de rodilla (B)

de contacto, marcapasos, válvulas cardíacas artificiales, injertos de piel, etc.

3.2 TIPOS DE BIOMATERIALES

La clasificación de los biomateriales puede realizarse atendiendo a su comportamiento cuando se implantan o bien atendiendo a su naturaleza química (Binyamin et al, 2006; Williams, 1999).

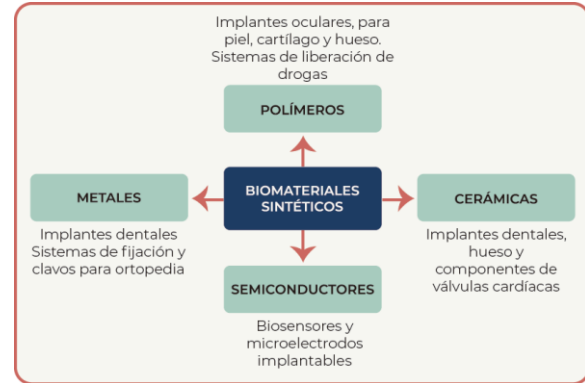


Figura 3. 2 Clasificación de los biomateriales sintéticos en función de su naturaleza química.

Aunque en el diseño de una prótesis pueden combinarse varios productos, según la naturaleza química de los biomateriales sintéticos (Ver Figura 3.2) se pueden establecer tres grandes grupos: metales, cerámicas y polímeros. Un cuarto grupo, menos extendido, lo componen los semiconductores para

el diseño de aquellos implantes que, por ejemplo, requieran biosensores. A todos estos habría que añadir los materiales de origen biológico.

A continuación, se presenta una tabla la cual resume algunos ejemplos de biomateriales según su naturaleza química y aplicaciones.

TIPO DE MATERIAL	COMPOSICIÓN	APLICACIONES
METAL	Aleación Niquel-Titanio	Stent Vascular, alambres de ortodoncia
METAL	Titanio	Fijación de fracturas, sustitución de las articulaciones
POLÍMERO	Poliuretano	Catéteres, tubos, vendaje para heridas, corazones artificiales
POLÍMERO	Polimetilmetacrilato	Cemento óseo, lentes intraoculares
CERÁMICO	Carbón	Válvulas de corazón, electrodos
CERÁMICO	Hidroxiapatita	Recubrimiento de implantes

Tabla 3.1 Ejemplos de biomateriales según su clasificación (Santos, 2013).

3.3 SCAFFOLDS

Los scaffolds o andamios son biomateriales de tipo polimérico (también conocido como biopolímero), su función principal es actuar como una matriz extracelular (ECM por sus siglas en inglés), para la formación de tejidos producto del cultivo de células y ocasionalmente el uso de estímulos biofísicos o en la presencia de un biorreactor (Martin et al., 2004).

Las ECM artificiales se crean para que tipos de células interactúen con su entorno tridimensional el cual brinda un soporte mecánico hasta que las células formen tejidos estructurales

estables (Khamdemhosseini et al. 2005).

Numerosos scaffolds producidos a partir de biomateriales y fabricados utilizando diversas técnicas de manufactura han sido utilizados con el propósito de regenerar diferentes tejidos y órganos del cuerpo.

Independientemente del tipo de tejido, para diseñar un scaffold de manera idónea, debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Biocompatibilidad:

El primer criterio para cualquier scaffold en la ingeniería de tejidos es que debe ser biocompatible. Las células deben adherirse, cumplir con

su funcionamiento normal, y migrar a la superficie y eventualmente a través del scaffold y comenzar a proliferar antes de colocar una nueva matriz sin ser rechazado por el organismo.

2. Biodegradabilidad:

Los scaffolds no están destinados a ser implantes permanentes. Por lo tanto, el andamio debe ser biodegradable para permitir que las células produzcan su propia matriz extracelular (Babensee, 1998). Los subproductos de esta degradación también deben ser no tóxicos y capaces de salir del cuerpo sin interferir con otros órganos. Para permitir que se produzca la degradación junto con la formación de tejido, se requiere una respuesta

inflamatoria combinada con una infusión controlada de células tales como macrófagos (Brown, 2009; Lyons, 2010).

3. Propiedades mecánicas:

Los scaffolds, además deben cumplir con propiedades mecánicas como elasticidad, resistencia a la tracción, a la fatiga y a la fractura. Estas propiedades deben ser lo más cercano al tipo de tejido que se desea trabajar, por ejemplo, si van a trabajar con tejidos duros, como lo son los huesos, se deben implementar scaffolds rígidos, al contrario, si se trabaja con elementos blandos como piel, se necesitará de scaffolds flexibles (Nerem, 2007).

3.3.1. FABRICACIÓN

A continuación, se presenta un listado de técnicas de fabricación de scaffolds (Sabino, et al., 2017):

1. Hilado y tejido de fibras
2. Solvent Casting
3. Espumado con gas
4. Moldeo desde fundido
5. Extrusión
6. Electrospinning
7. Prototipado rápido de formas libres sólidas
8. Sinterización selectiva por láser (SLS)
9. Estereolitografía (SLA)
10. Fabricación por corte y laminado

11. Fotopolimerización por luz UV (SGC)
12. Bioextrusión
13. Deposición de material fundido (FDM)
14. Sistemas Híbridos o doble escala

En la presente investigación se profundizará en el desarrollo de scaffolds mediante la estereolitografía.

3.3.2 ESTEREOLITOGRAFÍA

La estereolitografía es un método de fabricación aditiva que, en su forma más común, funciona mediante la emisión de un láser ultravioleta (UV)

en un tanque de resina de fotopolímero (Crivello y Reichmanis, 2014).

Para poder imprimir objetos, se requiere de la utilización de un software de fabricación asistida o de diseño asistido por computadora (CAM / CAD) (Lipson, et al., 2004), el láser UV se utiliza para sellar el fotopolímero dependiendo de la parametrización que realiza el software.

Los fotopolímeros son sensibles a la luz ultravioleta, por lo que la resina se solidifica fotoquímicamente y forma una sola capa del objeto 3D deseado. (Fouassier, 2003). Luego, la plataforma de construcción baja una

capa y una cuchilla recubre la parte superior del tanque con resina. Este proceso se repite para cada capa del diseño hasta que se completa el objeto 3D. Las partes completas deben lavarse con un solvente (alcohol isopropílico) para limpiar la resina húmeda de sus superficies (Ngo, 2016).

Finalmente, se somete nuevamente a un curado con luz ultravioleta en el total de la pieza para sellar los puntos que fueron cubiertos por excesos de resina.

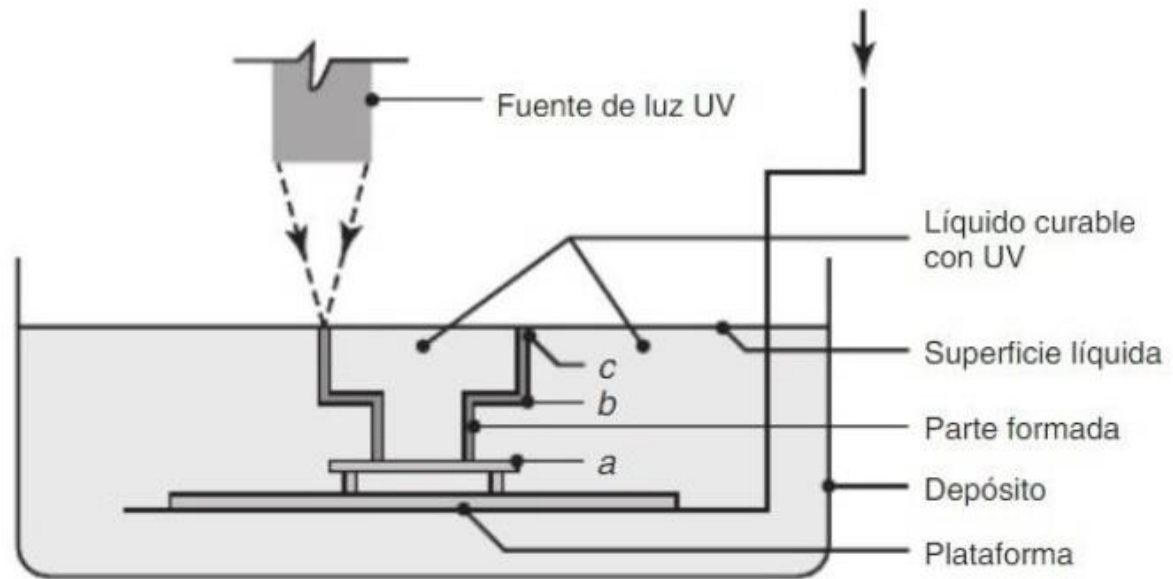


Figura 3. 3 Funcionamiento de una máquina de estereolitografía (Kalpakjian y Schmid, 2008).

CAPÍTULO 4: METODOLOGÍA

4.1 MANUFACTURA ADITIVA

Para el desarrollo de esta investigación, todas las matrices fueron manufacturadas con el equipo de impresión de estereolitografía de FormLabs. En este caso, se utilizó la impresora Form2, encargada de fabricar las piezas, en conjunto con el equipo de post proceso de lavado y curado Wash y Cure respectivamente (Ver Figura 4.1).

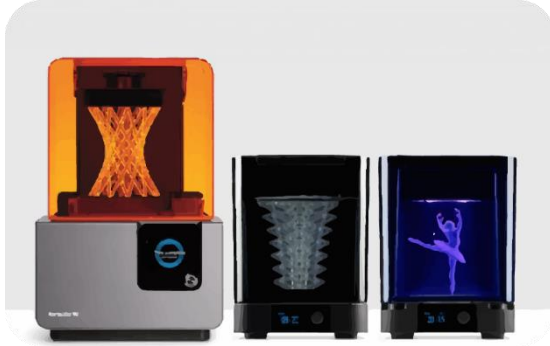


Figura 4. 1 Impresora de estereolitografía Form2, Wash y Cure.

La impresora Form2 requiere de un material fotopolimérico. Al momento de comenzar la investigación, el departamento de Ingeniería en Diseño contaba con cuatro tipos de resina fotopolimérica: Clear, Black, Gray y Tough, las primeras tres se diferenciaban básicamente según su color, mientras que la resina Tough,

(Ver Figura 4.2) entrega propiedades mecánicas similares a un plástico ABS, teniendo en consideración que las células replican ciertas propiedades que le entrega el scaffold, se toma la decisión de utilizar este tipo de resina.

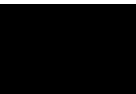


Figura 4. 2 Cartucho de resina Tough, Formlabs.

Para poder utilizar la impresora Form2, es necesario el software PreForm, programa que permite visualizar la plataforma de la impresora, simular el tiempo de impresión, generar soporte a la bandeja de impresión, modificar parámetros de la pieza (resolución, tamaño, etc.) y la posición de la pieza al momento de imprimirse, esta última variable, es sumamente importante debido a que el bandejón con resina líquida se encuentra en la zona inferior de la impresora, esta va constantemente subiendo y bajando para depositar material, y al ser un material fluido, se debe evitar la generación de burbujas en la pieza.

Además, PreForm tiene la opción de *impresión en un clic*, la cual permite al programa de manera automática realizar los cambios de parámetros y variables mencionados anteriormente con fin de optimizar el tiempo de impresión.

En la Figura 4.3, se presenta un *antes y después* de la opción *impresión en un clic*.



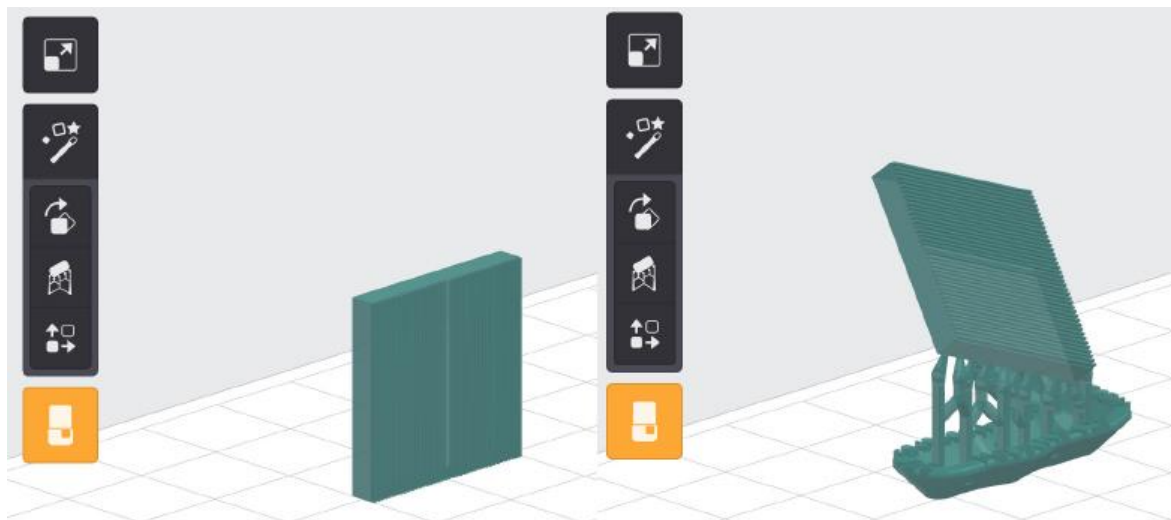


Figura 4. 3 A la izquierda, posicionamiento por defecto al abrir la pieza, a la derecha, posicionamiento tras activar opción de impresión en un clic.

4.2 ABORDAJE METODOLÓGICO

Para abordar la metodología aplicada en la presente investigación, se

realizan los pasos indicados en la Figura 4.4 iterativamente hasta lograr un resultado final.



Figura 4. 4 Diagrama paso a paso metodología aplicada.

4.3 MOLDES A PARTIR DE LA ESTEREOLITOGRAFÍA

Para el desarrollo de los moldes tridimensionales, en primer lugar, es necesario modelarlos en un programa CAD, para esta ocasión se utilizó el software de Autodesk Fusion 360. Todos los modelos se exportan en formato “.stl” para poder ser reconocido como un formato imprimible.

Se utilizaron ambas resoluciones de la impresora (0.1 [mm] y 0.05 [mm]) para el desarrollo de los moldes.

4.3.1 MOLDE NÚMERO 1

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,07 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,5 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0.05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 5 [h] 45 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 7 [h] 45 [min]

OBSERVACIONES: Se logra distinguir un pequeño surco, sin embargo, no tiene profundidad.

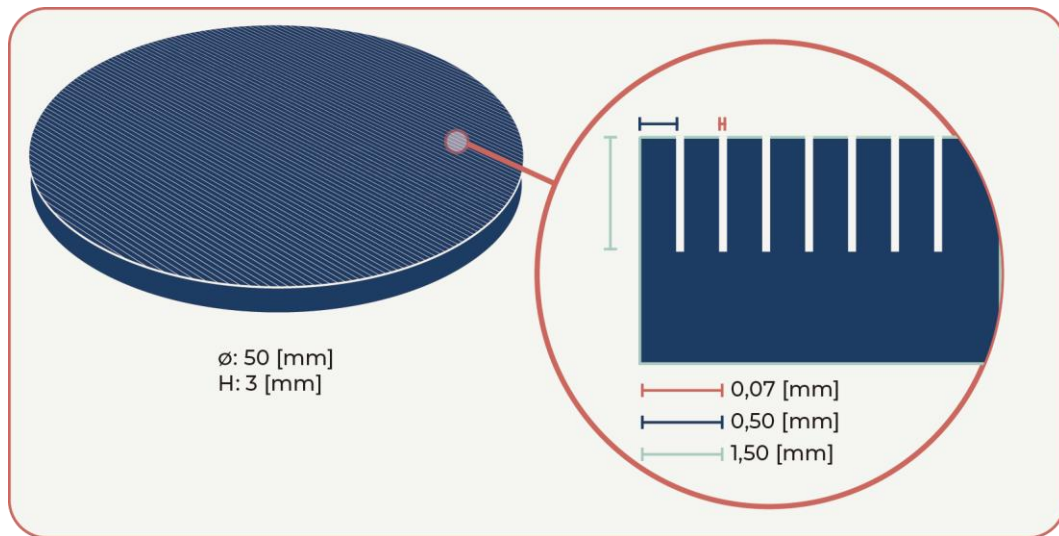


Figura 4.5 Diagramación molde N°1

4.3.2 MOLDE NÚMERO 2

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,07 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,5 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0.1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 3 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 5 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Se logra distinguir un pequeño surco, sin embargo, no tiene profundidad.

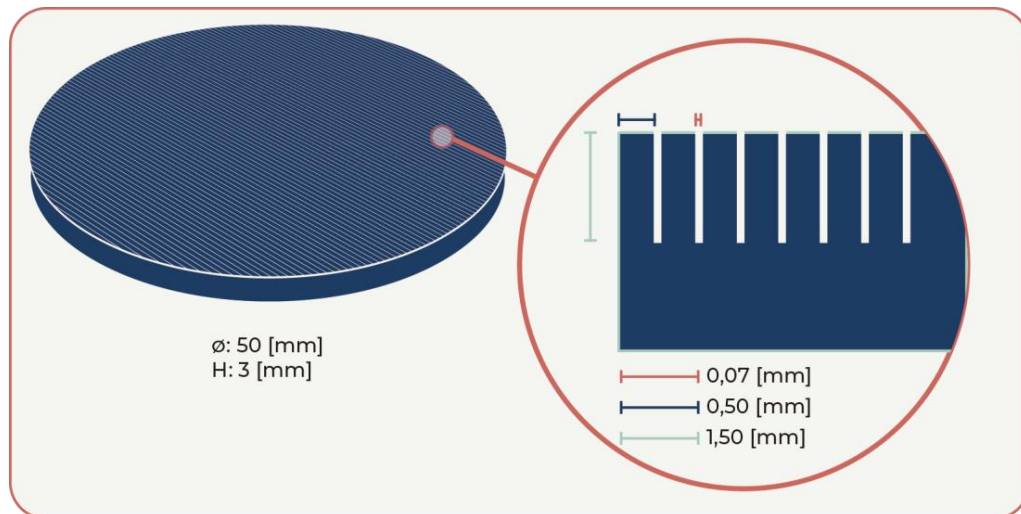


Figura 4. 6 Diagramación molde N°2

DISCUSIÓN MOLDE 1 Y 2:

Respecto a los moldes planteados anteriormente, mismo diseño, distinta resolución, se logra apreciar en ambos casos un relieve, sin embargo, ninguno cumple con las expectativas relacionadas con el diseño aplicado. Además, no presenta diferencias significativas entre una resolución y la otra dado que en ninguno de los casos el surco se formó fidedignamente respecto al diseño.

A continuación, se presentará el desarrollo de los siguientes moldes, los cuales, con la finalidad de optimizar tiempo, se imprimen tres moldes simultáneamente según la resolución de la máquina, es decir, tamaño de surco 0,5 – 0,3 – 0,1 [mm] para la resolución de 0,05 [mm] y

tamaño de surco 0,5 – 0,3 – 0,1 [mm] para la resolución de 0,1 [mm]. Por lo que, en ambos casos, el tiempo de fabricación significará lo mismo.

4.3.3 MOLDE NÚMERO 3

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,5 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,5 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 9 [h] 45 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 11 [h] 45 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, pero no la profundidad determinada.

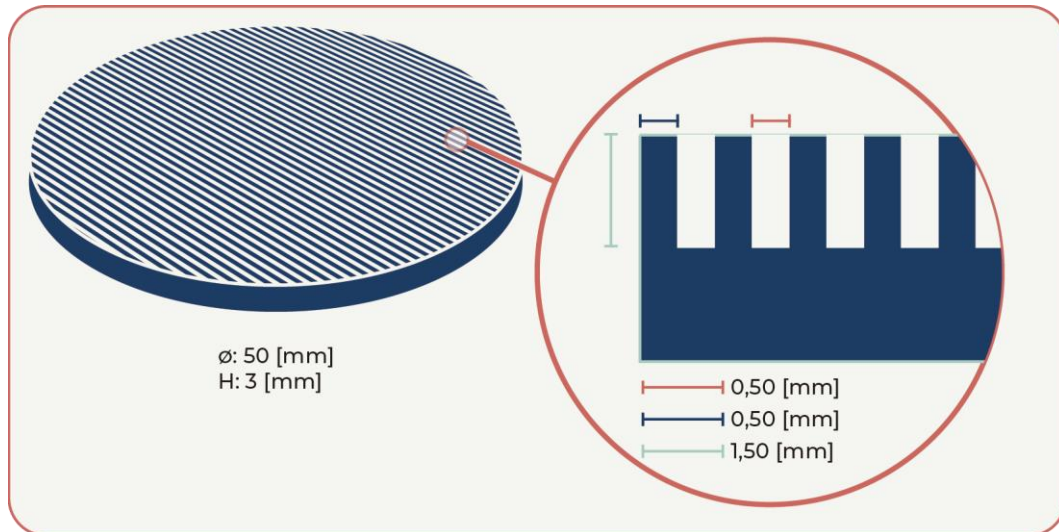


Figura 4. 7 Diagramación molde N°3

4.3.4 MOLDE NÚMERO 4

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,3 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,3 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 9 [h] 45 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 11 [h] 45 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, pero no la profundidad determinada.

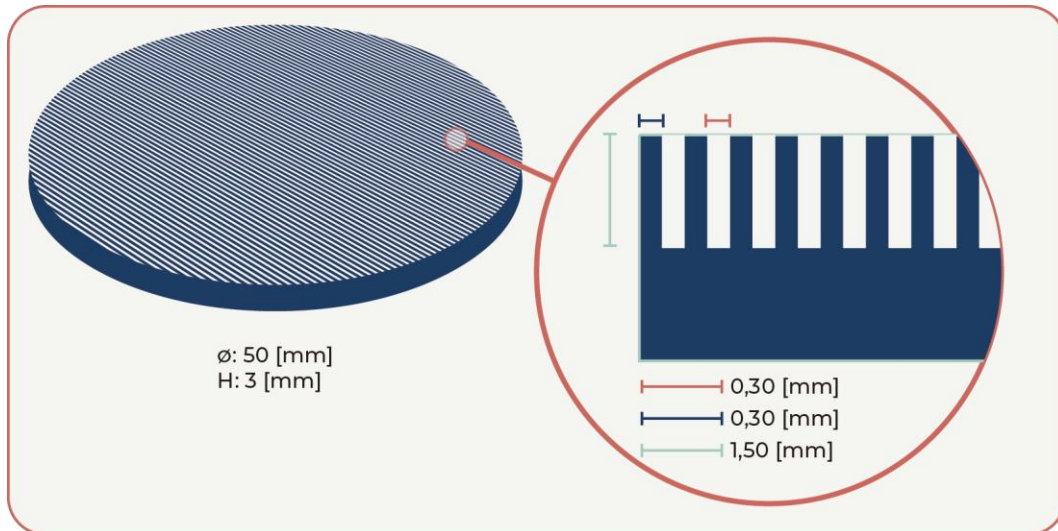


Figura 4. 8 Diagramación molde N°4

4.3.5 MOLDE NÚMERO 5

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,1 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,1 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 9 [h] 45 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 11 [h] 45 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, pero no existe una profundidad significativa.

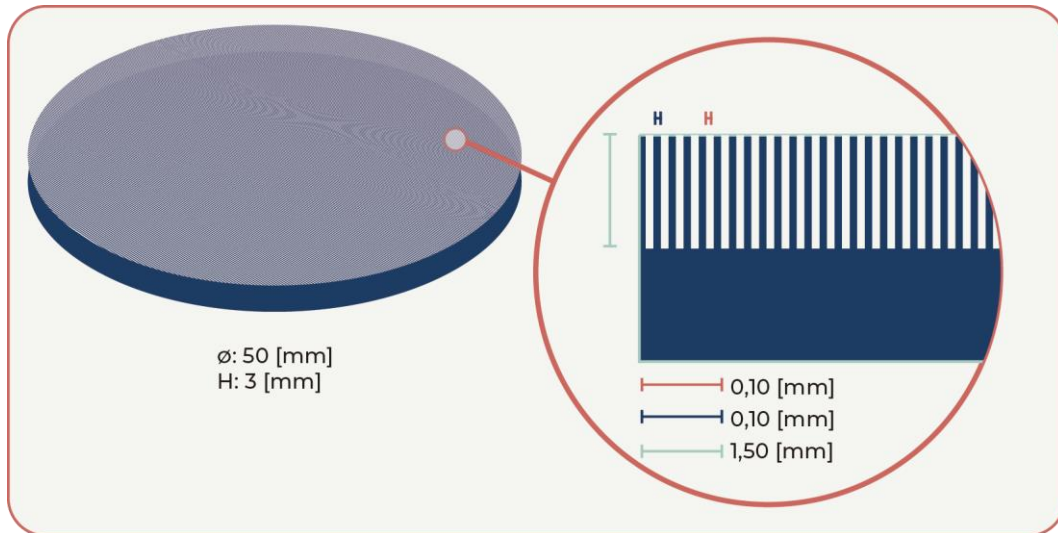


Figura 4. 9 Diagramación molde N°5

4.3.6 MOLDE NÚMERO 6

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,5 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,5 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 5 [h] 45 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 7 [h] 45 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, pero no la profundidad determinada.

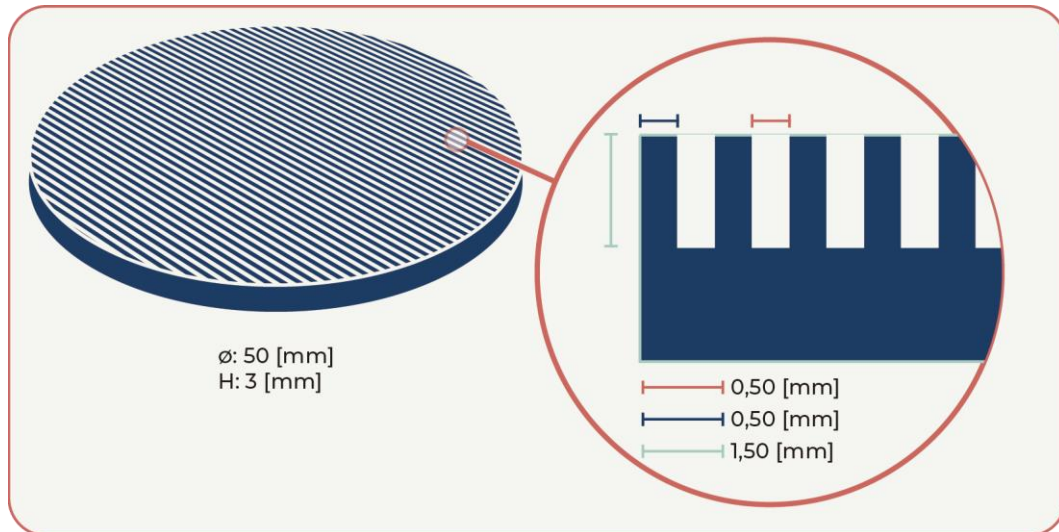


Figura 4.10 Diagramación molde N°6

4.3.7 MOLDE NÚMERO 7

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,3 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,3 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 5 [h] 45 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 7 [h] 45 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, pero no la profundidad determinada.

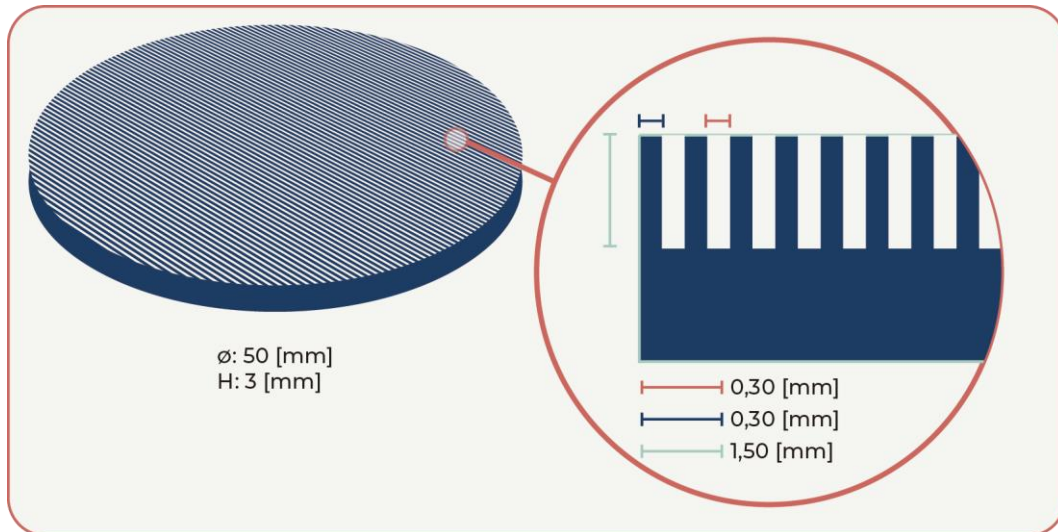


Figura 4.11 Diagramación molde N°7

4.3.8 MOLDE NÚMERO 8

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,1 [mm] con un alto de 1,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,1 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 5 [h] 45 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 7 [h] 45 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, pero no existe una profundidad significativa.

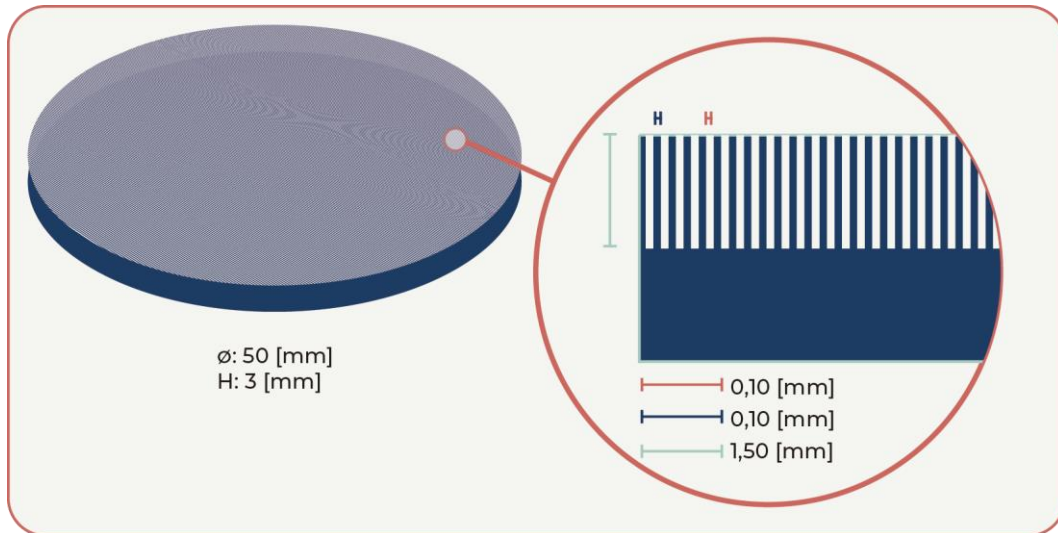
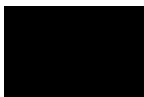


Figura 4.12 Diagramación molde N°8



DISCUSIÓN MOLDES 3 – 8:

Dado que en ninguno de los casos se logra efectivamente la profundidad aplicada en el diseño del modelo, se opta por disminuir la profundidad de 1,5 [mm] a 0,5 [mm]. Se opta por esta medida, ya que con los moldes 3 y 6 se comprueba que independiente del tipo de resolución que la máquina permita, se logra formar un surco de 0,5 [mm]

Por otro lado, se determina que es necesario tener un control para cada resolución, esto significa una pieza sin surcos, con finalidad de evaluar el comportamiento del polímero y la resina solidificada.

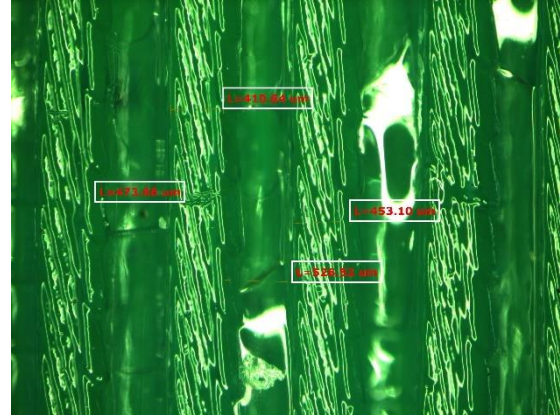


Figura 4. 13 Fotografía Molde N°3

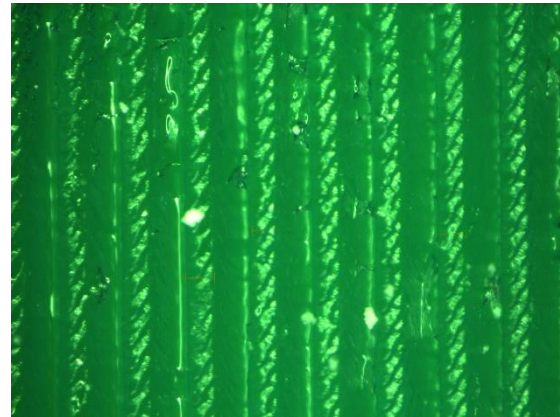


Figura 4. 14 Fotografía Molde N°4

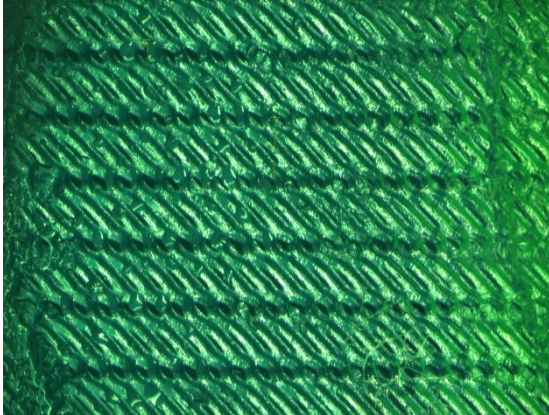


Figura 4. 15 Fotografía Molde N°5



Figura 4. 17 Fotografía Molde N°7

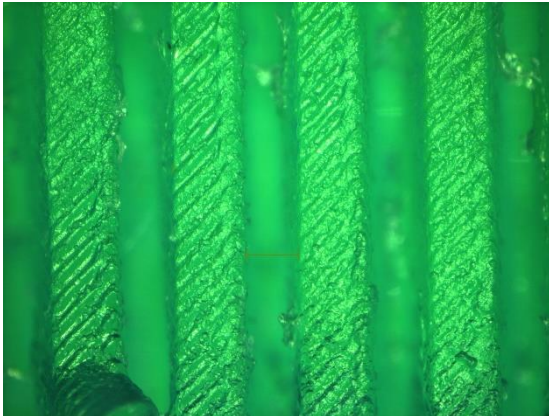


Figura 4. 16 Fotografía Molde N°6

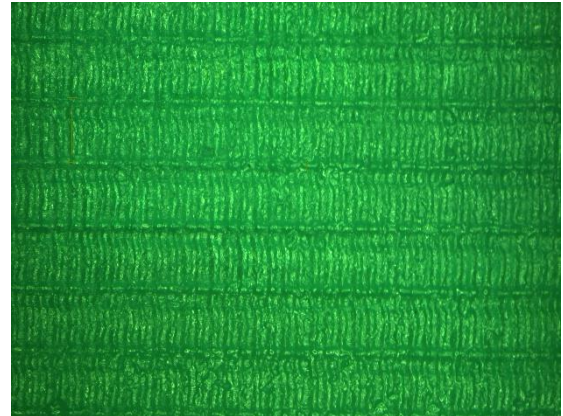


Figura 4. 18 Fotografía Molde N°8

4.3.9 MOLDE NÚMERO 9

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,5 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,5 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, con la profundidad deseada.

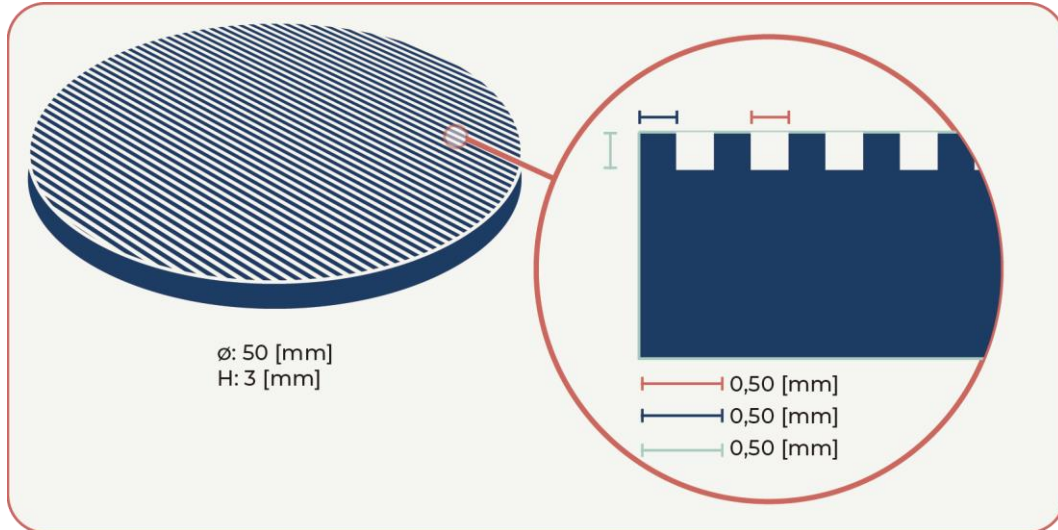


Figura 4.19 Diagramación molde N°9

4.3.10 MOLDE NÚMERO 10

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,3 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,3 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, sin embargo, son irregulares. La profundidad es menor a la deseada.

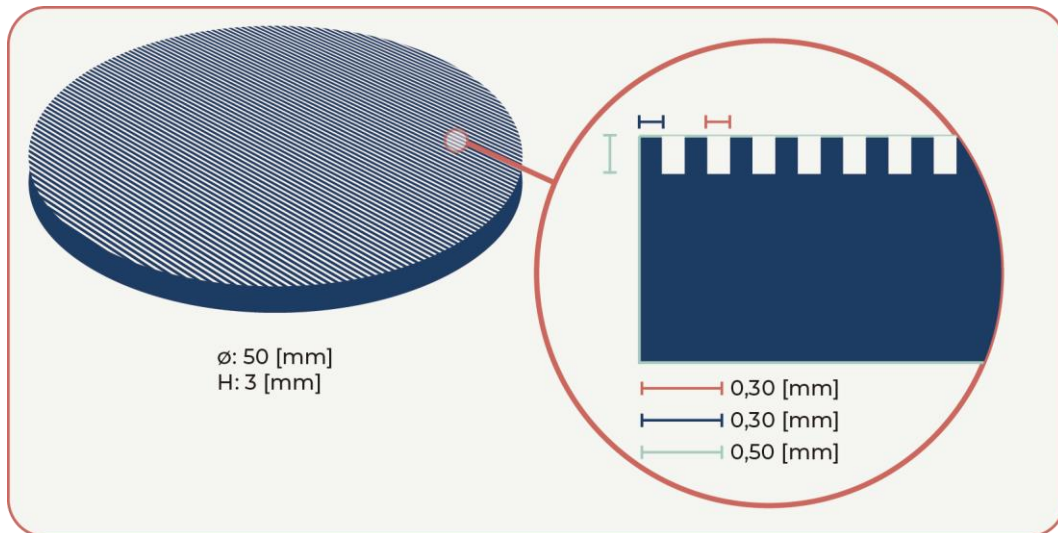


Figura 4. 20 Diagramación molde N°10

4.3.11 MOLDE NÚMERO 11

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,1 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,1 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, sin embargo, son irregulares. La profundidad no es significativa.

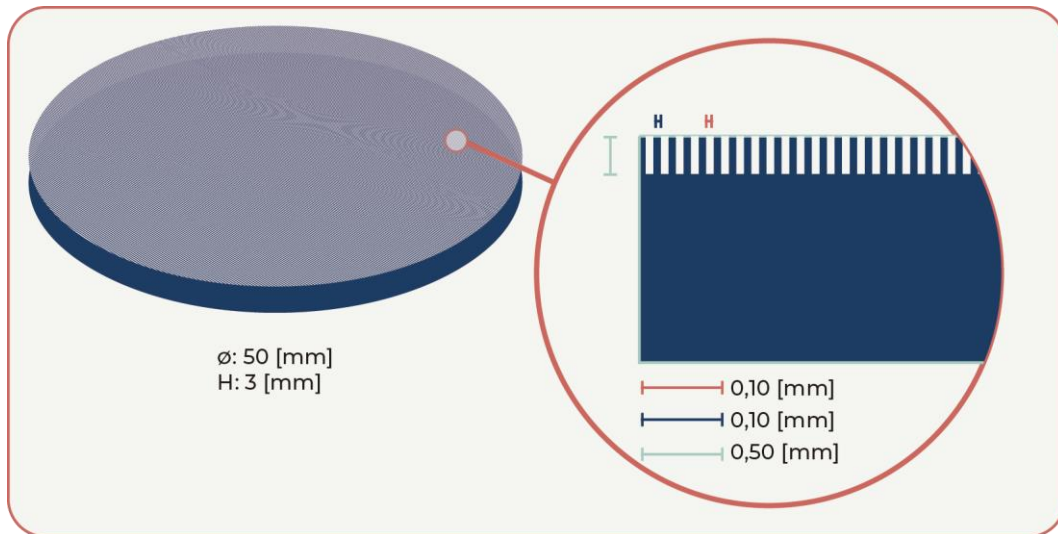


Figura 4. 21 Diagramación molde N°11

4.3.12 CONTROL 0,05

TIPO DE SURCO:

Control, sin surcos

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

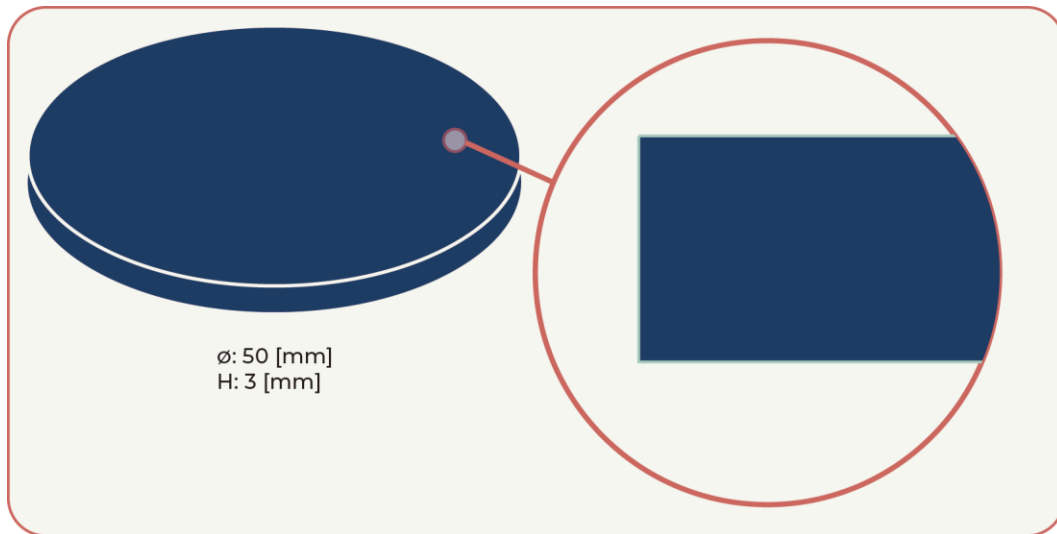


Figura 4. 22 Diagramación control de 0,05 [mm]

4.3.13 MOLDE NÚMERO 12

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,5 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,5 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, con la profundidad deseada.

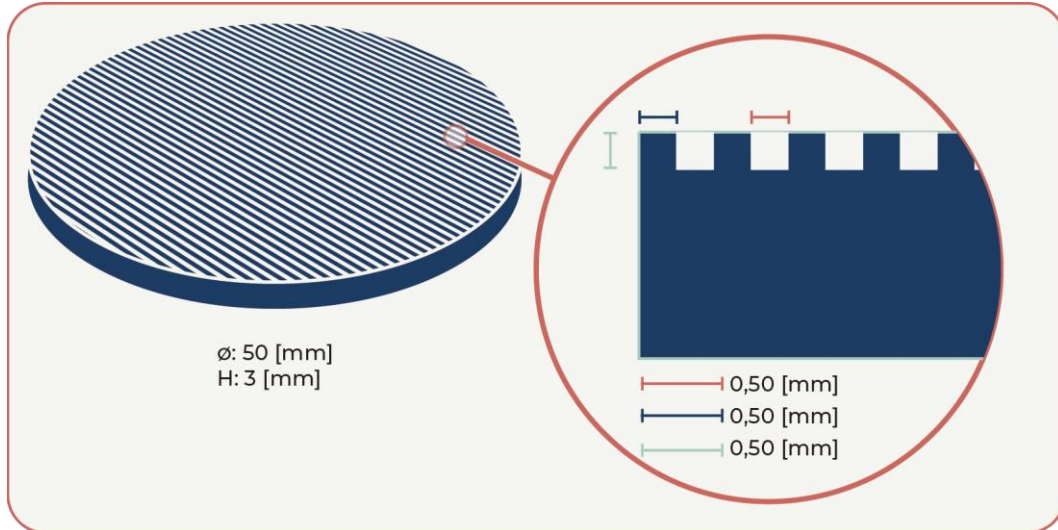


Figura 4. 23 Diagramación molde N°12

4.3.14 MOLDE NÚMERO 13

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,3 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,3 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, sin embargo, son irregulares. La profundidad es menor a la deseada.

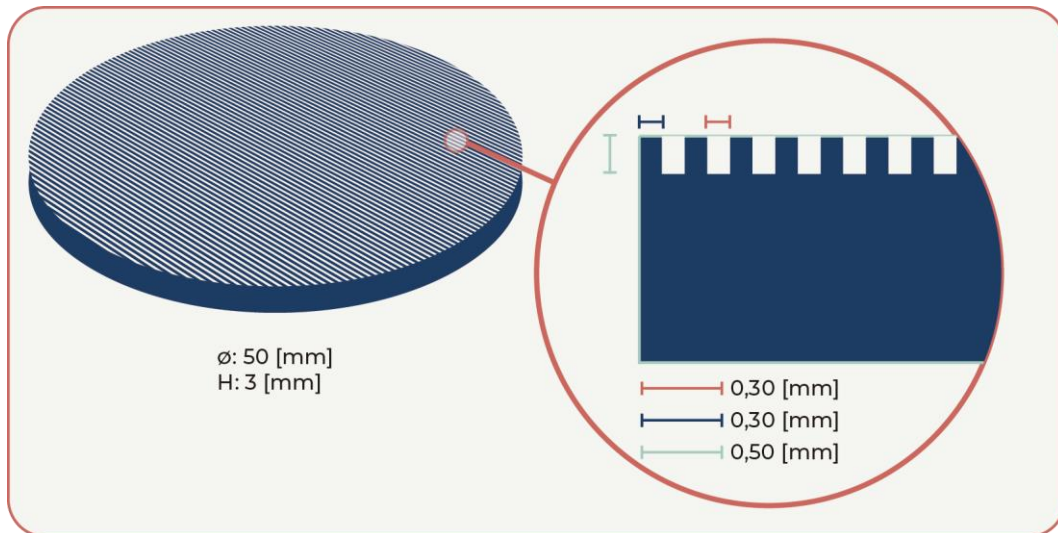


Figura 4. 24 Diagramación molde N°13

4.3.15 MOLDE NÚMERO 14

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,1 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,1 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Se forman los surcos, sin embargo, son irregulares. La profundidad no es significativa.

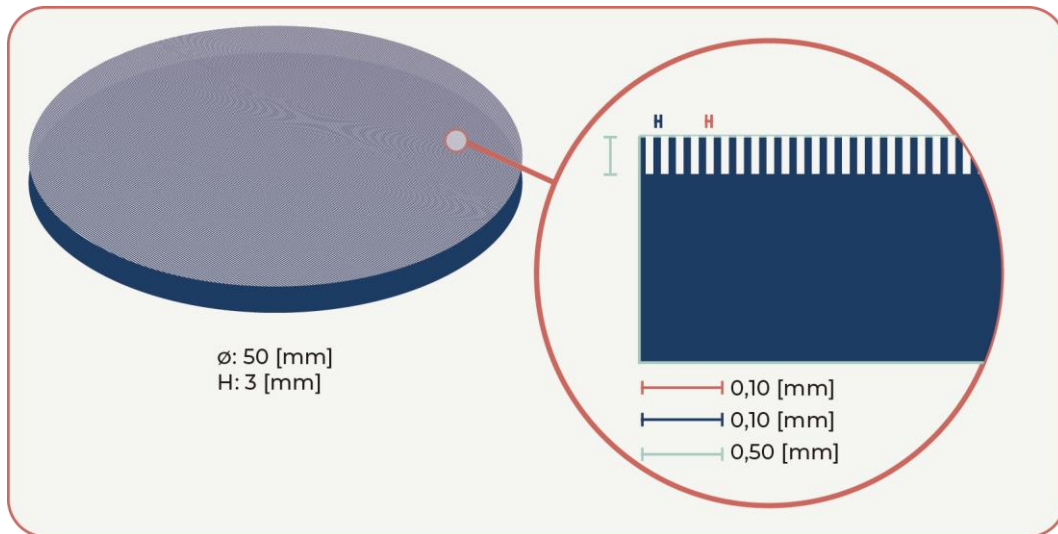


Figura 4. 25 Diagramación molde N°14

4.3.16 CONTROL 0,1

TIPO DE SURCO:

Control, sin surcos

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

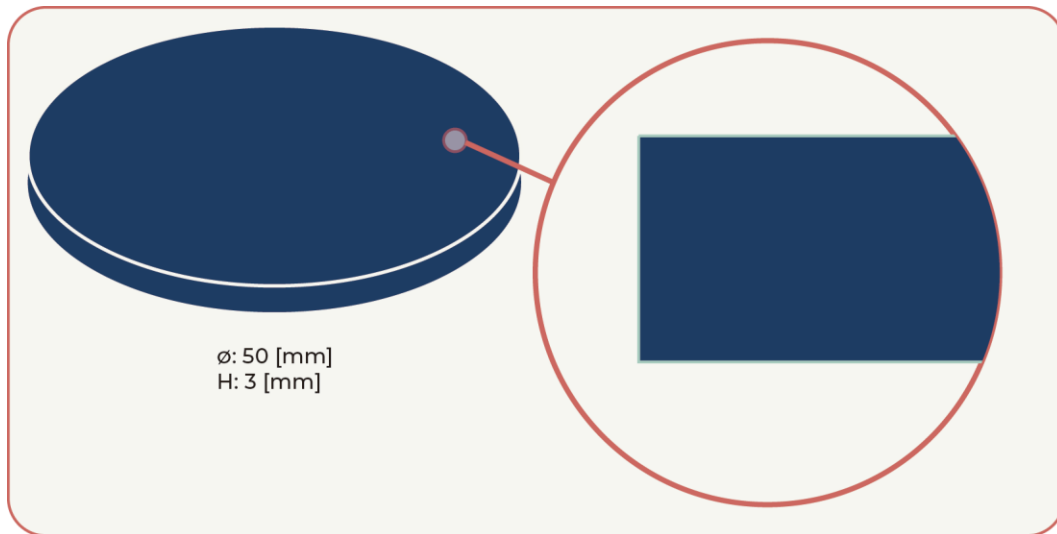


Figura 4. 26 Diagramación control de 0,05 [mm]

DISCUSIÓN MOLDES 9 – 14:

Tras disminuir la profundidad de los surcos de 1,5 [mm] a 0,5 [mm] se determina que los moldes 11 y 14, cuyo tamaño de surco corresponde a 0,1 [mm], se descarten debido a que no se logra fabricar el molde con las medidas necesarias para el cultivo de células, al igual que los moldes 9 y 12, cuyo tamaño de surco corresponde a 0,5 [mm] debido a que este es muy grande como para poder permitir el desarrollo de las células musculares.

Si bien los moldes 10 y 13, correspondientes al tamaño de surco 0,3 [mm] también se consideran muy grandes para el cultivo, este se logra formar relativamente bien en

términos del diseño realizado en CAD, se opta por acotar los tamaños de surco en tres dimensiones manteniendo una profundidad de 0,5 [mm]:

- 0,2 [mm]
- 0,25 [mm]



Figura 4. 27 Fotografía Control 0,1

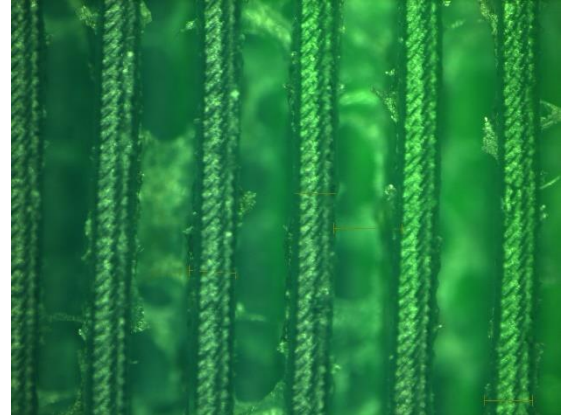


Figura 4. 29 Fotografía Molde Nº9



Figura 4. 28 Fotografía Control 0,05

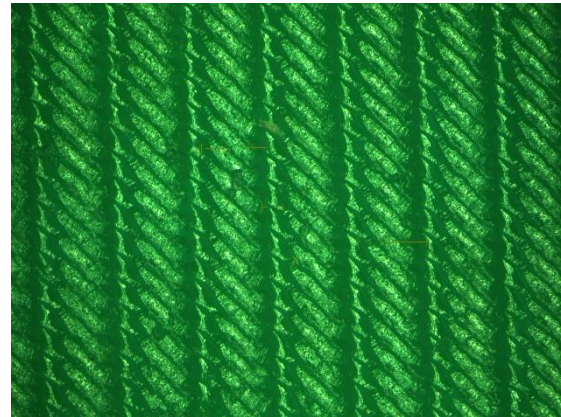


Figura 4. 30 Fotografía Molde Nº10

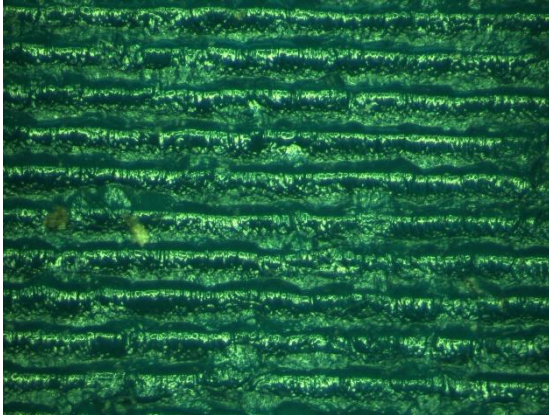


Figura 4. 31 Fotografía Molde N°11



Figura 4. 33 Fotografía Molde N°13



Figura 4. 32 Fotografía Molde N°12

4.3.17 MOLDE NÚMERO 15

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,2 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,2 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: El molde presenta complicaciones en las aristas de los surcos, queda material depositado. Presenta una mayor definición en la superficie.

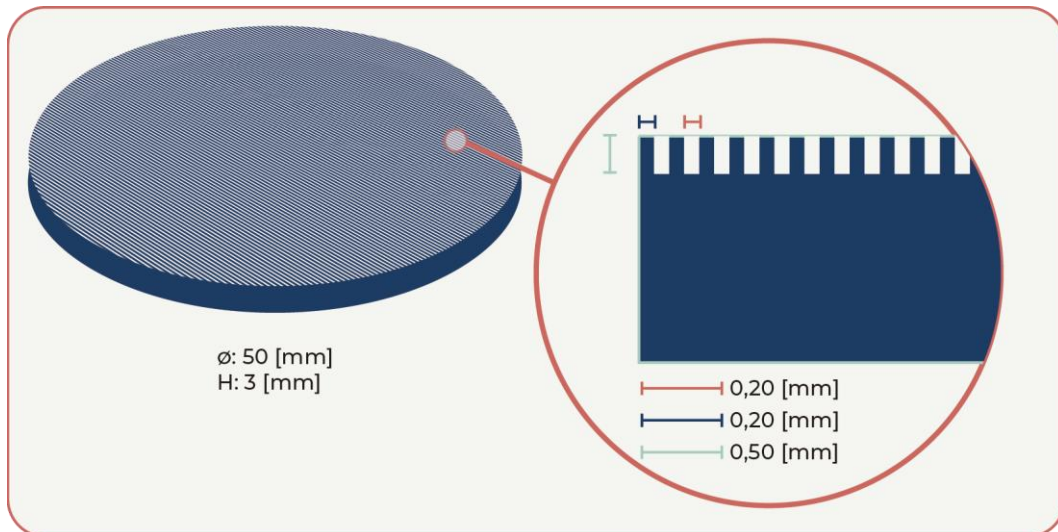


Figura 4. 34 Diagramación molde N°15

4.3.18 MOLDE NÚMERO 16

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,25 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,25 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Los surcos siguen siendo demasiado grandes para fomentar el cultivo de las células.

Presenta una mayor definición en la superficie.

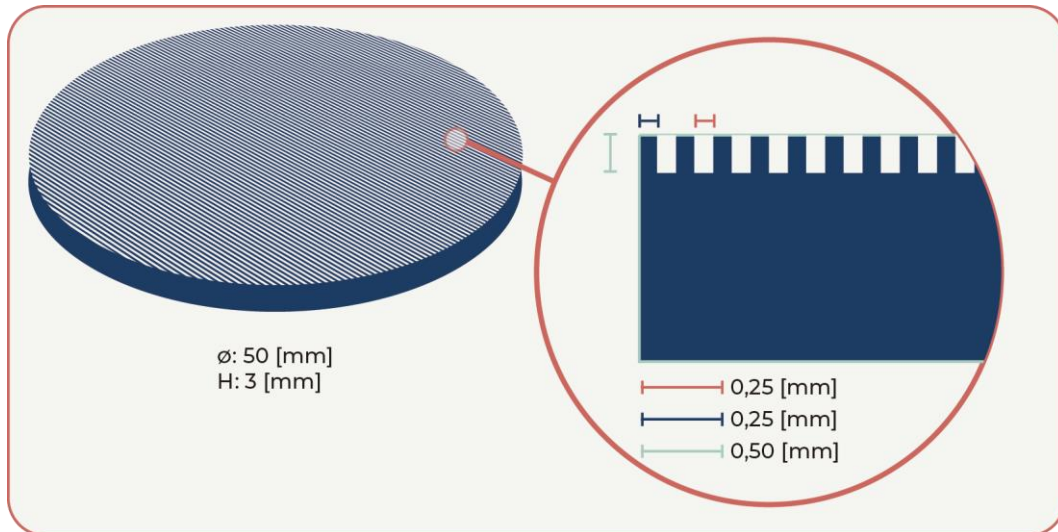


Figura 4. 35 Diagramación molde N°16

4.3.19 MOLDE NÚMERO 17

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,2 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,2 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: El molde presenta complicaciones en las aristas de los surcos, queda material depositado. No hay grandes diferencias entre tipo de resolución.

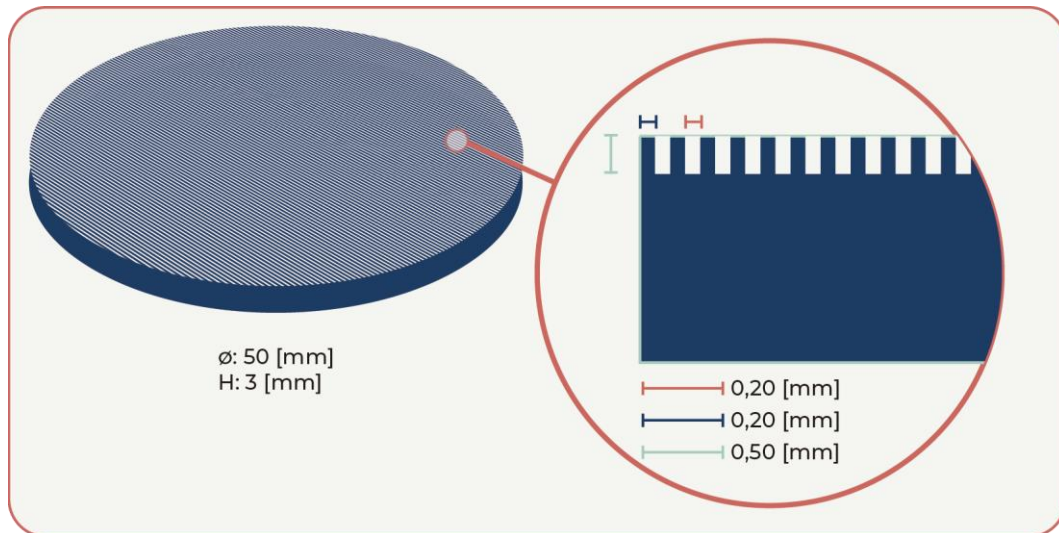


Figura 4. 36 Diagramación molde N°17

4.3.20 MOLDE NÚMERO 18

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos paralelos de 0,25 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,25 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,1 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 10 [h] 15 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 12 [h] 15 [min]

OBSERVACIONES: Los surcos siguen siendo demasiado grandes para fomentar el cultivo de las células.

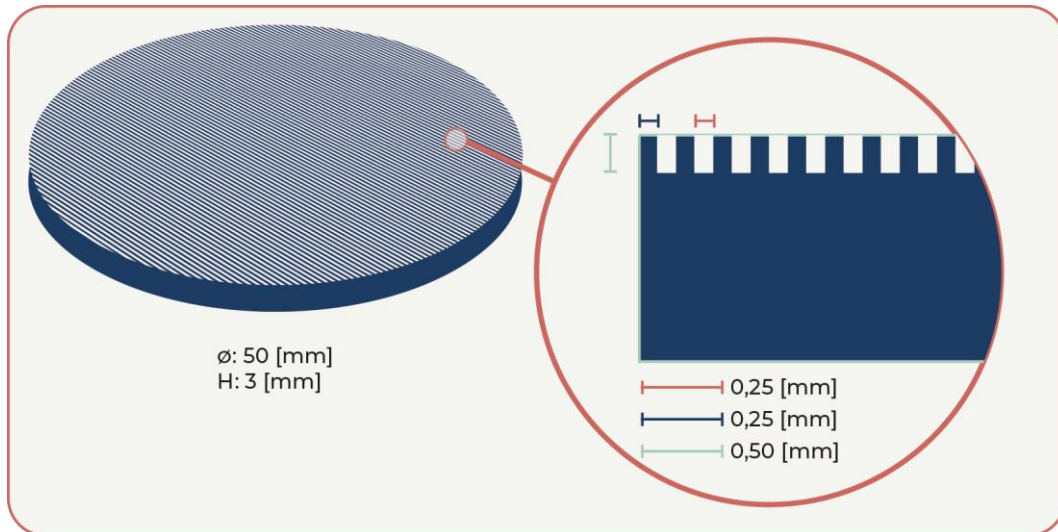


Figura 4. 37 Diagramación molde N°18

DISCUSIÓN MOLDES 15 – 18:

Luego de definir las nuevas dimensiones a experimentar (0,2 y 0,25 [mm]), se rescata que todos los moldes, salvo los moldes con tamaño de surco 0,5 [mm], tienen un problema de fabricación a causa de la impresora, donde el material se deposita en zonas que no estaban predeterminadas por el diseño en el software. Además, los moldes que si se consideran lo suficientemente definidos morfológicamente, son demasiado grandes para poder satisfacer las necesidades de las células musculares para su reproducción.

Además, se concluye que la dimensión que realmente importa en los moldes es la superficie, ya que, al momento de verter el polímero, esta es la que eventualmente depositará las células.

Por esta razón, se toma la decisión de cambiar morfológicamente el diseño de los moldes, reemplazando los surcos cuadrados por triangulares, donde la “punta” del triángulo significa la dimensión más pequeña, la cual será la base del polímero para el cultivo de las células.

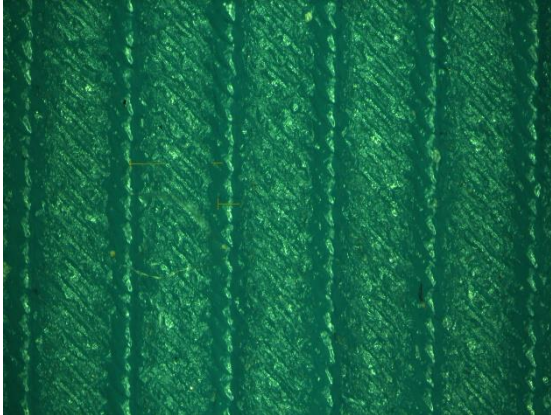


Figura 4. 38 Fotografia Molde N°15

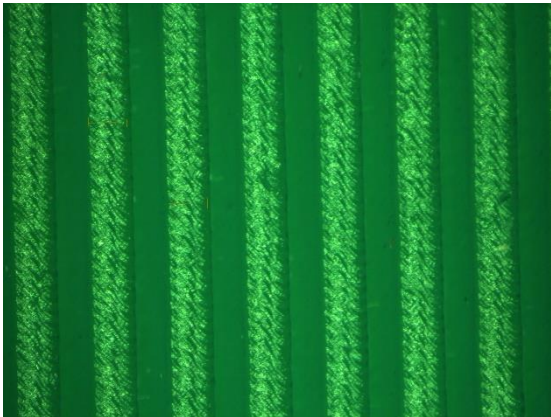


Figura 4. 39 Fotografia Molde N°18

4.3.21 MOLDE NÚMERO 19

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos triangulares paralelos de 0,15 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,15 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 7 [h] 30 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 9 [h] 30 [min]

OBSERVACIONES: En comparación con los moldes anteriores, este se diferencia bastante al tacto de la superficie de los surcos.

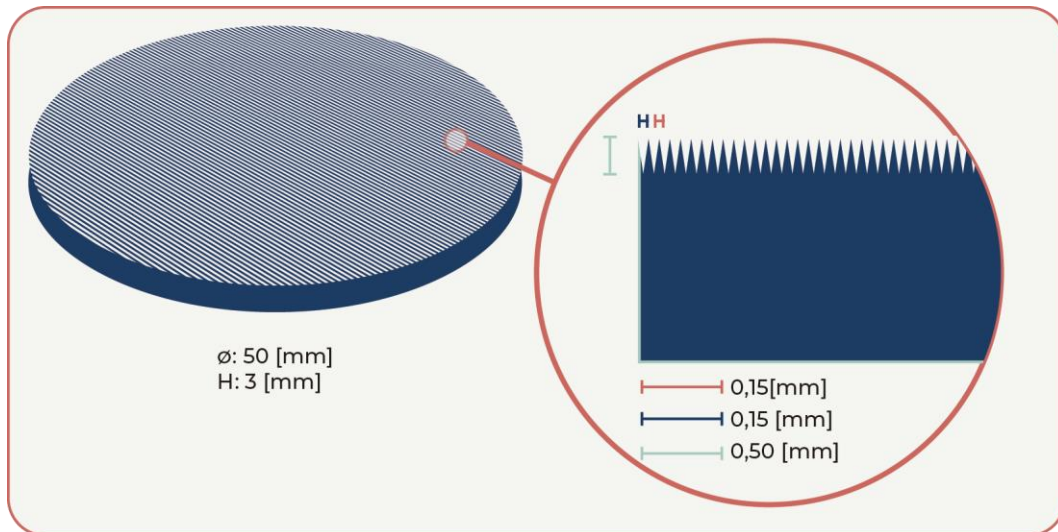


Figura 4. 40 Diagramación molde N°19

4.3.22 MOLDE NÚMERO 20

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos triangulares paralelos de 0,11 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,11 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 7 [h] 30 [min]

Tiempo Lavado: 60 [min]

Tiempo Curado: 60 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 9 [h] 30 [min]

OBSERVACIONES: En comparación con los moldes anteriores, este se diferencia bastante al tacto de la superficie de los surcos.

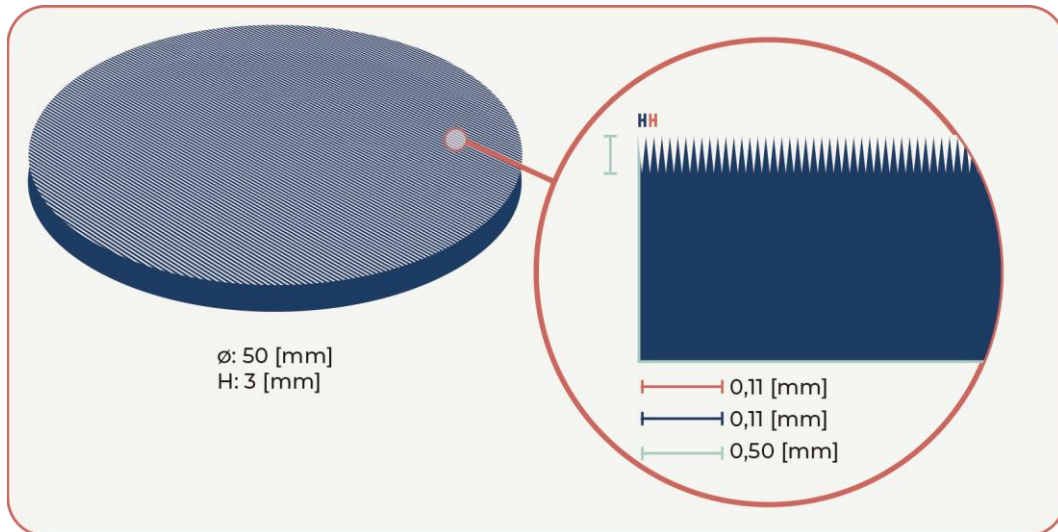


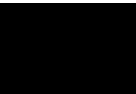
Figura 4. 41 Diagramación molde N°20

DISCUSIÓN MOLDES 19 – 20:

Tras la reformulación del diseño principal de los moldes variando desde una morfología transversal cuadrada a una triangular, permite que el tamaño de los surcos sea significativamente menor en comparación a los moldes fabricados anteriormente.

Sin embargo, se opta por utilizar un material diferente para comprobar si se pueden obtener mejores resultados, por lo que se utiliza la resina de Formlabs Dental SG, la cual como lo indica su nombre, se utiliza para la impresión de piezas odontológicas. Se escoge esta resina debido a que es biocompatible.

En consecuencia, se procede a replicar el diseño del molde 19 y 20 en la resina especificada.



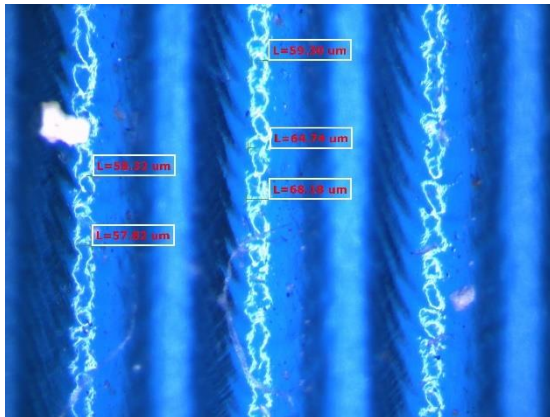


Figura 4. 42 Fotografía Molde N°19

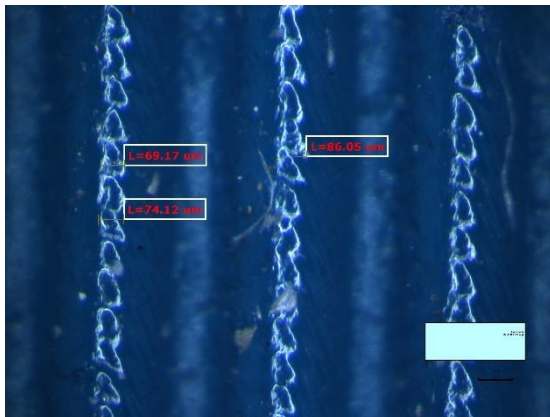


Figura 4. 43 Fotografía Molde N°20

4.3.23 MOLDE NÚMERO 21

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos triangulares paralelos de 0,15 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,15 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 3 [h] 30 [min]

Tiempo Lavado: 20 [min]

Tiempo Curado: 20 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 4 [h] 10 [min]

OBSERVACIONES: Los triángulos se presentan más definidos en las puntas.

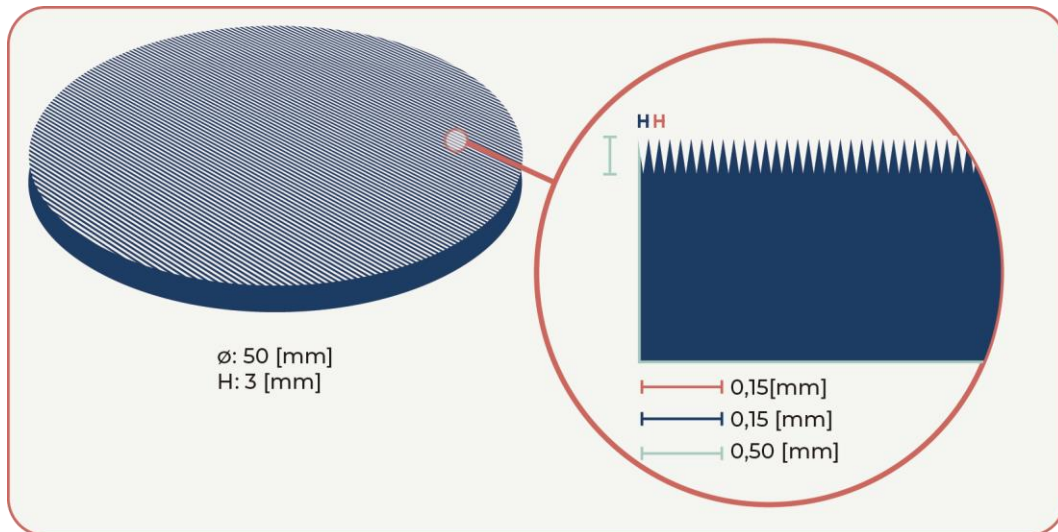


Figura 4. 44 Diagramación molde N°21

4.3.24 MOLDE NÚMERO 22

TIPO DE SURCO:

Se modelan surcos triangulares paralelos de 0,11 [mm] con un alto de 0,5 [mm] con una distancia entre surco de 0,11 [mm].

RESOLUCIÓN IMPRESORA:

0,05 [mm]

TIEMPO DE FABRICACIÓN

Tiempo impresión: 3 [h] 30 [min]

Tiempo Lavado: 20 [min]

Tiempo Curado: 20 [min] a 60 [°C]

Tiempo Total: 4 [h] 10 [min]

OBSERVACIONES: Los triángulos se presentan más definidos en las puntas.

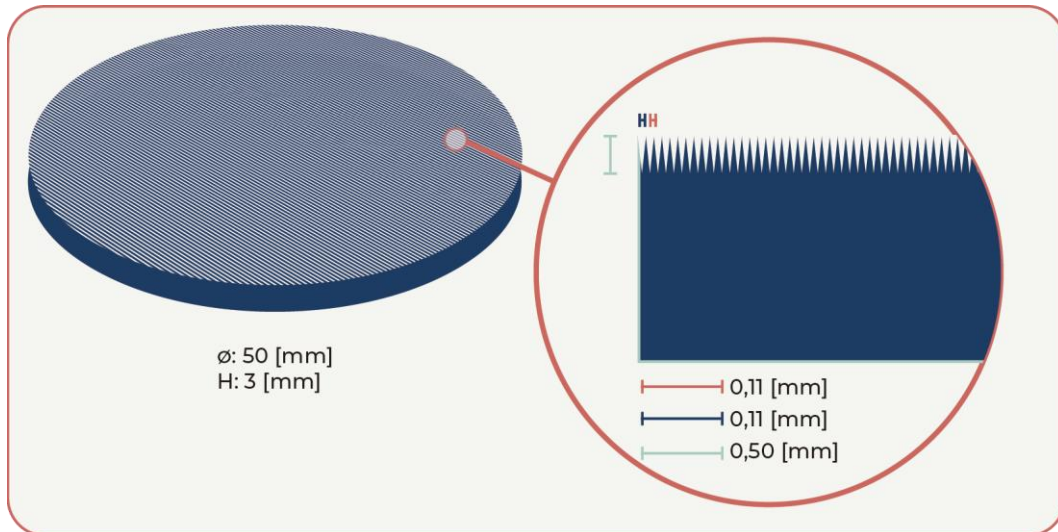


Figura 4. 45 Diagramación molde N°22

DISCUSIÓN MOLDES 21-22

Ambos moldes presentan mejoras de fabricación en comparación a los moldes 19 y 20 respectivamente, esto se debe completamente al cambio de resina. Por otro lado, se optimiza en términos de tiempo ya que en una misma resolución (0,05 [mm]) se reduce de un total de 9 [h] 30 [min] a 4 [h] 10 [min].

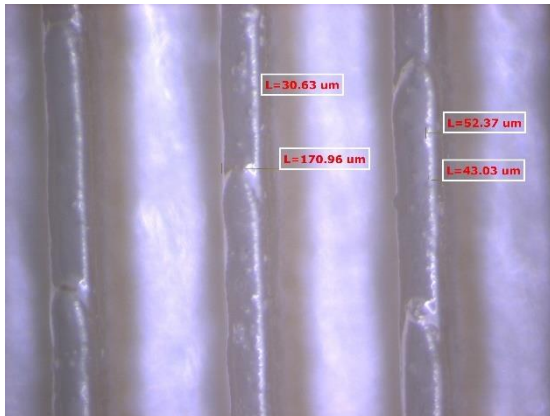


Figura 4. 46 Fotografía Molde N°21

CONCLUSIONES

El objetivo del presente trabajo constaba de diseñar y desarrollar moldes con surcos micro estructurados con dimensiones entre 0,03 y 0,07 [mm] entre los canales del surco, esto con el objetivo de usarlos como moldes para la creación de scaffolds que permitan reproducción de células musculares para la generación de carne in-vitro.

Para poder cumplir con el objetivo de la presente investigación, se utilizó la estereolitografía como herramienta específica de impresión 3D para el desarrollo de cada uno de los moldes.

En primer lugar, se utilizó la resina Tough de Formlabs, debido a las

propiedades mecánicas que esta le otorga a cada pieza.

Principalmente, se utilizó el mismo diseño de moldes diferenciándose uno al otro según la resolución de la impresora (0,05 y 0,1 [mm]), donde la diferencia entre una calidad y la otra no era significativa en el resultado, el tamaño del surco donde se utilizaron las siguientes medidas: 0,07 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,25 ; 0,3 y 0,5 [mm]. Además, se varió el parámetro de profundidad de surco, utilizando valores de 1,5 y 0,5 [mm]. Sin embargo, ninguno de estos moldes pudo satisfacer las medidas planteadas en un principio para optimizar el desarrollo y

reproducción de las células musculares.

Por lo que se toma la decisión de replantear el diseño principal que cada molde tenía de un formato de surco cuadrado y modificarlo a uno con surco triangular, con la finalidad de que la superficie de cada molde tenga la menor área de contacto, lo cual representa el depósito de las células en el scaffold.

Efectivamente, los resultados de los moldes de surco triangular se acercaron considerablemente a las medidas previamente establecidas. No obstante, debido a la adquisición de una resina odontológica Dental SG, llama la atención en términos de

su biocompatibilidad, por lo que se decide replicar los moldes de surco triangular en esta resina, logrando una mayor definición de los surcos, logrando plasmar un surco con la medida mínima requerida, equivalente a 0,03 [mm].

BIBLIOGRAFÍA

Kurzweil, R. (2005). The Singularity is Near. UK: Penguin Books.

Stephens, N., Kramer, C., Denfeld, Z., & Strand, R. (2015). "What is "In Vitro Meat".

Cohen, D. (2011). "El filete del futuro no será de vaca, sino de laboratorio"- BBC Mundo.

Recuperado de:

http://www.bbc.com/mundo/movil/noticias/2011/10/111027_carne_laboratorio_celulas_madre_jg.shtml

Perez, M (2017). "Carne cultivada ¿el futuro llegó hace rato?" - 25 Congreso Aapresid, Santa Fe, Argentina.

VelSid, “La viabilidad económica de la carne in vitro es el mayor desafío que se debe superar”

Recuperado de:

<https://gastronomiaycia.republica.cu/2014/05/29/la-viabilidad-economica-de-la-carne-in-vitro-es-el-mayor-desafio-que-se-debe-superar/>

Tovar, L. “Un fraude in-vitro”

Recuperado de:

<http://filosofiavegana.blogspot.cl/2011/07/un-fraude-in-vitro.html>

Real Academia Española. (2001).
Diccionario de la lengua española

(23.^a ed.). Consultado en
<https://dle.rae.es/?w=biomaterial>

Peña, M. A. V., Alvarado, D. A. G. (2010).
“Scaffolds implants for bone regeneration. Materials, techniques and modeling by means of reaction-diffusion Systems”. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas 29, 140-154.

Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Shoen, F. J., Lemons, J. E. (2018). “Biomaterials Science, an introduction to materials in medicine, 3rd ed.

Williams, D.F. (1976). Biomaterials and biocompatibility. Med Prog Technol, 4:31-42 4.

Williams, D.F. (1999). The Williams dictionary of biomaterials. Liverpool, UK. University Press.

Hench, L.L., Ethridge, E.C.E. (1982). Biomaterials. An interfacial approach. Biophysics and Bioengineering Series Vol 4, Academic Press. NY.

Binyamin, G. Shafi, B.M., Mery, C.M. (2006) Biomaterials: a primer for surgeons. Semin Pediatr Surg, 15: 276-283

Santos, L. (2013). "Síntesis y caracterización de Scaffolds poliméricos para la ingeniería de tejidos", 63–91

Martin, I., et al. (2004). Trends Biotechnol, 22 p. 80.

Khamdemhosseini, A., Langer, R., Borenstein, J., Vacanti, J. P. (2005). "Microscale technologies for tissue engineering and biology". PANS 103, 2480- 2487.

Babensee, J.E. *et al.* (1998). Adv. Drug Del. Rev., 33 p. 111

Brown, B.N., (2009). Biomaterials, 30 (8), p. 1482.

Lyons, F. (2010). Biomaterials, 31 (35), p. 9232.

Nerem, R. M. (2007). The challenge of imitating nature. En "Principles of Tissue Engineering". (Lanza, R., Langer, R., Vacanti, J. eds.), pp.7-14. Elsevier Academic Press, Burlington MA, USA.

Kim, B. S., Mooney, D. J. (1998).
Biomed. Mater 41: 322-332.

Sabino, M. A., Loaiza, M., Dernowsek,
J., Rezende, R., Da Silva, J. V. L., (2017).
Técnicas para la fabricación de
andamios poliméricos con
aplicaciones en ingeniería de tejidos.
Centro de Tecnologia da Informação
Renato Archer (CTI), Campinas, SP,
Brasil

Crivello, J.V., Reichmanis, E. (2014).
"Photopolymer Materials and
Processes for Advanced
Technologies." Chemistry of Materials
Chem. Mater. 26.1 533.

Lipson, H., Francis, C. M., Hai, J., and
Paventi, C. (2004). "3-D Printing the

History of Mechanisms." Journal of
Mechanical Design J. Mech. Des.
1029-033.

Fouassier, J. P., (2003).
"Photopolymerization Reactions."
The Wiley Database of Polymer
Properties 3. 25.

Ngo, Dong. "Formlabs Form 2 3D
Printer review: An excellent 3D
printer for a hefty price". Recuperado
de:

<https://www.cnet.com/reviews/formlabs-form-2-3d-printer-review/#!>

Kalpakjian, S., Schmid, S (2008)
"Manufactura, ingeniería y
tecnología". Pearson Educación.

ANEXOS

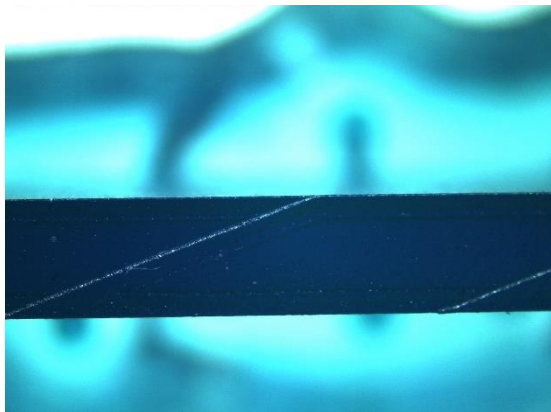


Figura A. 1

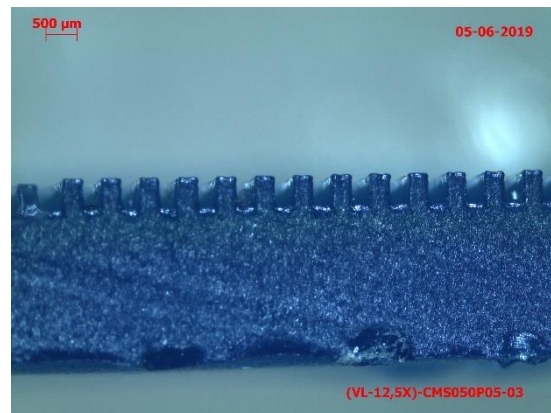


Figura A. 3

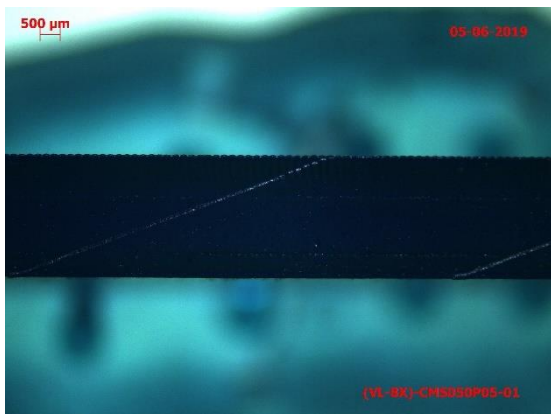


Figura A. 2



Figura A. 4

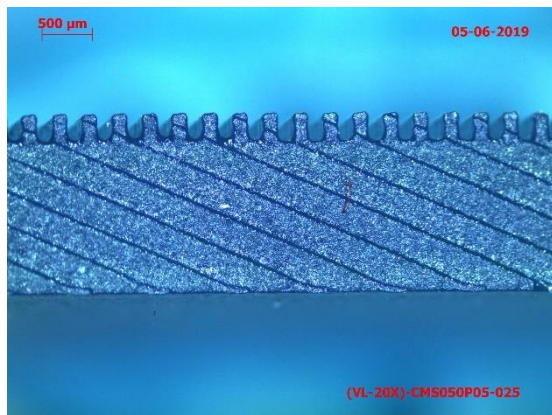


Figura A. 5

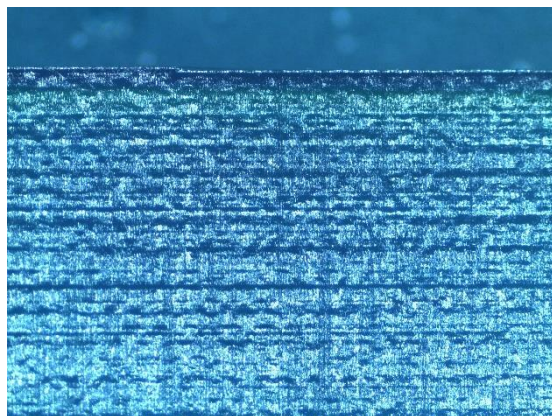


Figura A. 6