



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

DISEÑO Y FABRICACIÓN DE UN SCAFFOLD PARA REGENERAR CARTÍLAGO DE PABELLÓN AURICULAR

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO MECÁNICO
PRESENTA:
IVÁN BALTAZAR PÉREZ GUZMÁN

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. FRANCISCO SÁNCHEZ PÉREZ



México, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Este trabajo está dedicado a mis padres María y José
Eduardo por su apoyo incondicional y sus infinitos cuidados.
Por ustedes es que he llegado hasta este punto.*

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por ser las personas que siempre me han impulsado y me han alentado a perseguir mis objetivos: a mi madre María por todos los cuidados que me ha procurado y por enseñarme que siempre hay que empezar las cosas con determinación y actitud positiva, por ser un ejemplo de entrega incondicional; a mi padre José Eduardo por todos los consejos y pláticas que me ayudaron a nunca rendirme y por ser el más grande ejemplo de integridad y honestidad. A ambos por dejarme como herencia una formación integral.

A mis hermanos por tantos buenos recuerdos entre risas y peleas, por ser mis “compañeros de casa”, mis cómplices y ahora mis colegas. A mi hermana Ana, mi “nana” algún día espero tener la fuerza que siempre has demostrado. A mi hermano Eduardo, gracias por enseñarme que los sueños únicamente son metas que estamos a punto de alcanzar.

A todos aquellos quienes han llegado a formar parte de mí durante esta travesía. A mis amigos de arquitectura: Cinty por brindarme tu apoyo y alentarme en la recta final de este viaje; Chabela, por ser mi “Pepe Grillo” y por haberme brindado tu bella amistad. A los amigos de Ingeniería: Cristian (Dodoria), Nathaly (Amiga pocket), Adal, Omar, Fernando, David (Deivid), Rodrigo (Puber), Raúl (Ojos), Josué (Tyson), Rodrigo (Changoso) por hacer más llevadera esta etapa llenándola de risas, bromas y albúres y por tolerar mi tan peculiar sentido del humor. A Maira por estar siempre de buen humor compartiendo ratos de alegría y por tu ayuda en el laboratorio.

A Yara por tu apoyo a cada paso, por siempre creer en mis capacidades, por tu curiosidad que siempre alimentó la fascinación por mi carrera y por los momentos de esparcimiento que aliviaban el estrés.

A la Dra. María Cristina Velasquillo por el apoyo brindado durante la realización de este trabajo, por haberme recibido con la mejor disposición y por el tiempo y la paciencia que me brindó.

A mi director el M. en C. Francisco por haberme apoyado desde el principio, por los contactos con los que me presentó y por haber hecho del tiempo invertido en el proyecto más relajado con las pláticas de ciencia, deportes, vida cotidiana y sobre todo por la buena dosis de risas.

A los profesores que conocí dentro del aula y a los que conocí fuera de ella, todos me enseñaron algo ya fuera directa o indirectamente. Al Dr. Lázaro y la Dra. Nelly por ayudarme a descubrir el interesante mundo de la Ingeniería Biomédica. A la Ing. Alejandra por las facilidades que me brindó para la realización de mis experimentos. A los ingenieros Martín, Adolfo, Almaraz e Israel por las interesantes y en muchas ocasiones divertidas charlas dentro del laboratorio.

A la Universidad por medio de sus facultades de arquitectura e ingeniería. Por ayudarme a formarme con una mentalidad creativa, lógica y con fuerte sentido humanista. Siempre recordaré la emoción que sentí la primera vez que vague por tus pasillos, circuitos y múltiples y hermosas áreas verdes.

*Quién come del fruto del
árbol del conocimiento, siempre es
arrojado de algún paraíso.*

W. R. Inge

ÍNDICE DE IMÁGENES Y TABLAS	vii
NOMENCLATURA	x
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	3
1.0 INTRODUCCIÓN	3
1.1 SÓLIDOS CELULARES	4
1.1.1 Definición	4
1.1.2 Estructura	5
1.1.3 Forma de la celda	7
1.1.4 Densidad y módulo de elasticidad para sólidos celulares de celda abierta	9
1.1.5 Aplicaciones de los sólidos celulares	12
1.2 BIOMATERIALES	13
1.2.1 Definición	13
1.2.2 Metales	15
1.2.3 Cerámicos	16
1.2.4 Polímeros	18
1.2.5 Compuestos	21
2. SCAFFOLDS	26
2.0 INTRODUCCIÓN	26
2.1 DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LOS SCAFFOLDS	27
2.2 ASPECTOS NECESARIOS PARA DISEÑAR SCAFFOLDS	28
2.2.1 Biocompatibilidad y biodegradabilidad	28

2.2.2 Velocidad de degradación del scaffold y de crecimiento del nuevo tejido.....	29
2.2.3 Propiedades mecánicas.....	30
2.2.4 Arquitectura y morfología.....	31
2.3 PROCESOS DE FABRICACIÓN.....	33
2.3.1 Métodos tradicionales.....	34
2.3.1.1 Colada con lixiviación de partículas.....	34
2.3.2 Tecnologías de fabricación por adición.....	35
2.3.2.1 Tecnologías de deposición de disolución fundida.....	35
2.3.2.2 Tecnologías de adhesión de partículas.....	38
2.3.2.3 Otros métodos.....	40
2.4 TENDENCIAS: INGENIERÍA DE TEJIDO ASISTIDA POR COMPUTADORA (CATE).....	41
2.4.1 Definición de CATE.....	42
2.4.2 Modelado de tejido asistido por computadora.....	42
2.4.3 Bioinformática de tejido asistida por computadora.....	43
2.4.3 Manufactura de tejidos y órganos.....	44
3. METODOLOGÍA DE DISEÑO.....	45
3.0 INTRODUCCIÓN.....	45
3.1 METODOLOGÍA.....	46
3.1.1 Construcción del modelo virtual tridimensional.....	47
3.1.2 Fabricación del molde de ABS y del molde de sacrificio de silicón.....	49
3.1.3 Preparación de la mezcla de la solución polimérica y el agente porogénico.....	51
3.2 GENERALIDADES DE CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	53
3.2.1 Densidad relativa.....	53
3.2.2 Porosidad total y tamaño de poro.....	54
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	55
4.1 ESTRUCTURA Y PROPIEDADES MECÁNICAS DEL SCAFFOLD.....	55
4.1.1 Macroestructura del scaffold.....	55
4.1.2 Densidad relativa, porosidad y tamaño de poro.....	56
4.1.3 Módulo de elasticidad.....	63
4.1.4 Memorias de cálculo.....	65

CONCLUSIONES	70
APÉNDICE A	72
APÉNDICE B	76
REFERENCIAS	79

ÍNDICE DE IMÁGENES Y TABLAS

Figura 1.1	Modelo de sólido celular con paredes onduladas y con celdas irregulares	5
Figura 1.2	Comparación de algunas propiedades mecánicas entre sólidos reales y sólidos celulares	5
Figura 1.3	Espuma metálica de celda cerrada y espuma cerámica de celda abierta	6
Figura 1.4	Polígonos encontrados en sólidos celulares bidimensionales	7
Figura 1.5	Agrupamientos bidimensionales de celdas	7
Figura 1.6	Poliedros encontrados en sólidos tridimensionales	8
Figura 1.7	Agrupamientos tridimensionales de celdas	8
Figura 1.8	Sólido celular y sólido poroso	9
Figura 1.9	Volúmenes en un sólido celular	10
Figura 1.10	Celda unitaria abierta	11
Figura 1.11	Módulo de elasticidad de diferentes biomateriales	14
Figura 1.12	Esfuerzo último de diferentes biomateriales	14
Figura 1.13	Porcentaje de deformación de diferentes biomateriales	15
Figura 1.14	Tipos de refuerzos	21
Figura 1.15	Modelos de Voigt y Reuss	23
Figura 2.1	Construct	28
Figura 2.2	Etapas del proceso SCPL	35
Figura 2.3	Esquema de los componentes de un proceso MDM	37
Figura 2.4	Esquema de los componentes de un proceso 3DP	39
Figura 2.5	Esquema de los componentes de un proceso SLS	39
Figura 2.6	Esquema de los componentes de un proceso SLA	40
Figura 2.7	Esquema de los componentes de un proceso de electrospinning	41
Figura 2.8	Cortes frontales de torso humano	43
Figura 3.1	Diagrama de los pasos para fabricar el scaffold de PLA	46

Figura 3.2	Visualización del tejido epitelial desde un corte axial.....	47
Figura 3.3	Visualización del tejido epitelial desde un corte sagital.....	47
Figura 3.4	Reconstrucción 3Dl.....	48
Figura 3.5	Acercamiento del pabellón auricular.....	49
Figura 3.6	Pabellón auricular aislado.....	49
Figura 3.7	Vista de las secciones transversales que componen el modelo 3D.....	50
Figura 3.8	Molde de ABS fabricado con un equipo FDM.....	50
Figura 3.9	Moldes negativos de silicón.....	51
Figura 4.1	Scaffold de la parte superior del pabellón auricular.....	55
Figura 4.2	Densidad relativa con diferentes porogénicos.....	56
Figura 4.3	Porosidad con diferentes porogénicos.....	57
Figura 4.4	Diámetros de poros con diferentes porogénicos.....	58
Figura 4.5	Densidad relativa de las muestras 50% grenetina, 50% azúcar.....	59
Figura 4.6	Porosidad de las muestras 50% grenetina, 50% azúcar.....	59
Figura 4.7	Porosidad y densidad relativa de las muestras 50% grenetina, 50% azúcar.....	60
Figura 4.8	Tamaños de poros encontrados en las muestras 50% grenetina, 50% azúcar.....	61
Figura 4.9	Poros medianos y poros grandes.....	62
Figura 4.10	Poros pequeños.....	62
Figura 4.11	Módulos de elasticidad de las muestras 50% grenetina, 50% azúcar.....	63
Figura 4.12	Módulos de elasticidad y densidad relativa de las muestras 50% grenetina, 50% azúcar.....	64
Tabla 1.1	Clasificación de los sólidos celulares.....	6
Tabla 1.2	Densidades relativas de algunos materiales.....	9
Tabla 1.3	Clasificación de los dispositivos médicos por contacto.....	13
Tabla 1.4	Clasificación de los biomateriales.....	15
Tabla 1.5	Aplicaciones de los biocerámicos de acuerdo a su forma y fase.....	17
Tabla 1.6	Aplicaciones biomédicas de los polímeros.....	18
Tabla 2.1	Tecnologías para fabricar de scaffolds tridimensionales.....	33
Tabla 2.2	Tecnologías de deposición de disolución fundida.....	36
Tabla 3.1	Cantidad de porogénico utilizada para los discos.....	52

NOMENCLATURA

ABS	Acrilonitrilo butadieno estireno (<i>Acrylonitrile butadiene styrene</i>)
Am-TCP	Fosfato tricálcico amorfo
Ap-TCP	Fosfato tricálcico apatítico
BIS-GMA	Bisfenol A glicidil metacrilato (<i>Bisphenol A-Glycidyl Methacrylate</i>)
BMP	Proteínas morfogenéticas óseas (<i>Bone Morphogenetic Proteins</i>)
CAD	Diseño Asistido por Computadora (<i>Computer Aided Design</i>)
CaP	Fosfato de Calcio (<i>Calcium Phosphate</i>)
CATE	Ingeniería de tejido asistida por computadora (<i>Computer-Aided Tissue Engineering</i>)
CF	Fibra de carbono (<i>Carbon fiber</i>)
CT	Tomografía computada (<i>Computed Tomography</i>)
ECM	Matriz extra celular (<i>Extracellular Matrix</i>)
EVA	Etilvinilacetato (<i>Ethylene Vinyl Acetate</i>)
FDM	Modelado por deposición fundida (<i>Fused Deposition Model</i>)
GF	Fibras de vidrio (<i>Glass Fibers</i>)
HA	Hidroxiapatita (<i>Hydroxyapatite</i>)
HDPE	Polietileno de alta densidad (<i>High-density Polyethylene</i>)
LCP	Polímero de cristal líquido (<i>Liquid crystal polymer</i>)
LDM	Manufactura por deposición a baja temperatura (<i>Low-temperature Deposition Manufacturing</i>)
LDPE	Polietileno de baja densidad (<i>Low-density Polyethylene</i>)
LLDPE	Polietileno lineal de baja densidad (<i>Linear low-density Polyethylene</i>)
MDM	Manufactura por deposición mediante multi-inyectores (<i>Multi-nozzle deposition manufacturing</i>)
MRI	Resonancia magnética (<i>Magnetic-Resonance Imaging</i>)
PAM	Microjeringa presurizada (<i>Pressure-assisted mycrosyringe</i>)

PBT	Tereftalato de polibutileno (<i>Polybutylene terephthalate</i>)
PCL	Policaprolactona (<i>Polycaprolactone</i>)
PE	Polietileno (<i>Polyethylene</i>)
PED	Deposición por extrusión de precisión (<i>Precision Extruding Deposition</i>)
PEGT	Tereftalato de polietilenglicol (<i>Polyethylene Glycol Terephthalate</i>)
PEM	Manufactura por extrusión de precisión (<i>Precise Extrusion Manufacturing</i>)
PEEK	Poliétercetona (<i>Polyether ether ketone</i>)
PET	Polietilentereftalato (<i>Poly(ethylene terephthalate)</i>)
PGA	Ácido poli glicólico (<i>Poly(glycolic acid)</i>)
PLA	Ácido poli láctico (<i>Poly(lactic acid)</i>)
PLGA	Copolímero de ácido poli láctico y ácido poli glicólico (<i>Poly(lactic-co-glycolic acid)</i>)
PLL	Polilisina (<i>Polylysine</i>)
PMMA	Polimetilmetacrilato (<i>Poly(methyl methacrylate)</i>)
PP	Polipropileno (<i>Polypropylene</i>)
PPF	Polipropileno fumarato (<i>Polypropylene Fumarate</i>)
PU	Poliuretano (<i>Polyurethane</i>)
PS	Poliestireno (<i>Polystyrene</i>)
PTFE	Politetrafluoroetileno (<i>Polytetrafluoroethylene</i>)
PVC	Policloruro de vinilo (<i>Polyvinyl chloride</i>)
RP	Prototipado rápido (<i>Rapid Prototyping</i>)
RPBOD	Prototipado rápido por un sistema dispensador robótico (<i>Rapid Prototyping Robotic Dispensing System</i>)
RVE	Elemento de volumen representativo (<i>Representative Volume Element</i>)
SCPL	Colado con disolvente y lixiviación de partículas (<i>Solvent Casting Particulate Leaching</i>)
SFF	Fabricación de sólidos por adición (<i>Solid Free Forming</i>)
SLA	Estereolitografía (<i>Stereolithography</i>)
SLS	Sinterizado láser (<i>Selective Laser Sintering</i>)
TCP	Fosfato tricálcico
UHMWPE	Polietileno de ultra alto peso molecular (<i>Ultra-high-molecular-weight Polyethylene</i>)
3DP	Impresión tridimensional (<i>Three-Dimensional Printing</i>)

INTRODUCCIÓN

La incidencia de deformidades auriculares es de 1 en cada 6,000 nacimientos, de ellas la microtia es la más frecuente la cual se presenta en un 60 a 70% de los pacientes¹. Los principales tratamientos utilizados para subsanar este tipo de deformidades son: la reconstrucción auricular autóloga, las prótesis auriculares externas y los implantes osteointegrados. La Ingeniería de Tejido ofrece una alternativa a los tratamientos mencionados ya que permite fabricar implantes a partir de materiales biocompatibles y biodegradables que son sembrados con factores de crecimiento, medicamentos y células las cuales pueden multiplicarse dentro de dichos elementos para formar un tejido con una geometría definida. Estos elementos son conocidos como scaffolds.

El objetivo principal del presente trabajo se centró en la fabricación de un scaffold que promueva el crecimiento y la diferenciación de células precursoras de cartílago elástico el cual es un tejido conectivo especializado formado por una matriz extracelular, fibras elásticas y fibras de colágeno. El scaffold fue fabricado con ácido poli láctico (PLA), un polímero biocompatible y biodegradable que es ampliamente usado en suturas quirúrgicas (normalmente en combinación con ácido poli glicólico (PGA)). El tamaño de sus poros y la porosidad fueron las principales variables que se tomaron en consideración ya que la estructura interna del scaffold dicta en gran medida el éxito del crecimiento y la proliferación de las células dentro del mismo.

¹ Pérez, A., Pérez, M., Isaak, J. & González, M. (2006). Prótesis auricular externa e implantes osteointegrados: una opción quirúrgica para el tratamiento de deformidades auriculares. *Medigraphic*, 63, 307-313

Para lograr el objetivo principal se plantearon objetivos secundarios los cuales fueron: obtener un modelo virtual tridimensional de la geometría deseada (pabellón auricular), y fabricar un molde físico a partir del modelo virtual.

El modelo virtual se reconstruyó a partir de secciones obtenidas vía tomografía computada (CT) las cuales fueron proporcionadas por la Dra. María Cristina Velasquillo de una paciente del Instituto Nacional de Rehabilitación (INR). El modelo físico se fabricó con ayuda de un equipo de prototipado rápido (RP) que sigue el principio del modelado por deposición fundida (FDM). Un molde de sacrificio intermedio se obtuvo con un material usado por los odontólogos para tomar impresiones dentales hecho a base de silicón. A partir de este molde y siguiendo la metodología de la colada con disolvente y lixiviación de partículas (SCPL) se obtuvo el scaffold.

El trabajo se dividió en cuatro capítulos. El primer capítulo se centra en los conceptos generales que servirán de base para que lector comprenda el desarrollo del resto del trabajo. En el segundo capítulo se profundiza en el estudio de los scaffolds y los métodos más comunes de fabricación de ellos, cada uno se explica brevemente para que se tengan nociones de las ventajas y desventajas que poseen. Los pasos que se siguieron para fabricar el scaffold se enlistan en el tercer capítulo, en él también se presentan las generalidades de la caracterización que se realizó al material final. Un análisis detallado de los resultados obtenidos se presenta en el cuarto capítulo. Se incluyen gráficos e imágenes así como una interpretación de ellos para un mejor entendimiento de lo que se realizó.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.0 Introducción.

En este capítulo se hace una revisión de dos conceptos importantes para el desarrollo del presente trabajo. En primer lugar se introduce a los sólidos celulares. Esta sección se divide en cinco temas. Primero se enuncia la definición de sólido celular. El segundo y tercer subtema tratan acerca de la estructura de los sólidos celulares y las formas que pueden tener las celdas, respectivamente. La densidad relativa es una propiedad física que tiene influencia en el comportamiento mecánico de los sólidos celulares, esto se explica en el cuarto subtema y se ofrecen algunas ecuaciones que relacionan la densidad con algunas propiedades mecánicas. Finalmente en el quinto subtema se enumeran algunas de las aplicaciones más comunes de los sólidos celulares.

La segunda sección hace referencia a los biomateriales. Está dividida en cinco subtemas. En el primero se ofrecen la definición y la clasificación de los biomateriales. Los subtemas dos a cinco hacen referencia a los biometales, biocerámicos, biopolímero y biocompuestos, respectivamente. Para cada uno de ellos se enuncian algunos ejemplos y sus aplicaciones dentro de las ciencias biomédicas.

1.1 SÓLIDOS CELULARES.

1.1.1 Definición.

La palabra célula proviene del latín *cella* que significa “compartimiento pequeño o espacio cerrado” [1]. Esta raíz etimológica nos ayuda a definir a un sólido celular como un material formado por una red de células, o celdas, de paredes rígidas unidas entre sí formando arreglos bidimensionales o tridimensionales. Este tipo de materiales los podemos encontrar en la naturaleza cuando se requiere tener buena resistencia mecánica con la menor cantidad de material posible. La madera, el corcho, las esponjas, los corales y el hueso trabecular son algunos ejemplos de sólidos celulares naturales. Los materiales celulares no solamente se encuentran en la naturaleza, el hombre ha estudiado los materiales presentes en la naturaleza y ha sido capaz de imitar sus características para crear sus propios materiales celulares. Éstos se pueden fabricar a partir de metales, polímeros, cerámicos o compuestos dependiendo de la necesidad que deban cubrir [2].

El comportamiento físico de los sólidos celulares depende, en gran medida, de la topología de las celdas, su geometría interna, su densidad relativa y el material del cual están formadas sus paredes [3,4]. Sin embargo, la mayoría de los materiales celulares no presentan estructuras periódicas por lo que también es importante analizar el nivel de desorden y la interacción de las celdas en una escala mesoscópica² [3], ya que al igual que los sólidos densos, las imperfecciones presentes dentro de los materiales celulares determinan el comportamiento mecánico de éstos. Éstas pueden ser ondulaciones y variaciones de espesor en las paredes de las celdas (figura 1.1a), geometrías no uniformes de las celdas (figura 1.1b) y ausencia de paredes [4,5]. Existen varios reportes acerca de los efectos de las imperfecciones en las propiedades mecánicas de los sólidos celulares. Por ejemplo, se ha demostrado que las paredes onduladas reducen considerablemente la rigidez de los sólidos celulares, mientras que la variación en el espesor de las paredes y las geometrías no uniformes sólo modifican un poco propiedades como el módulo cortante, el módulo de Young y la relación de Poisson. Para mayor información se invita al lector a revisar las referencias correspondientes [5-7].

² **Escala mesoscópica.** Se refiere a la escala de longitud en la que se puede discutir razonablemente las propiedades de un material sin tener que discutir el comportamiento de los átomos individuales.

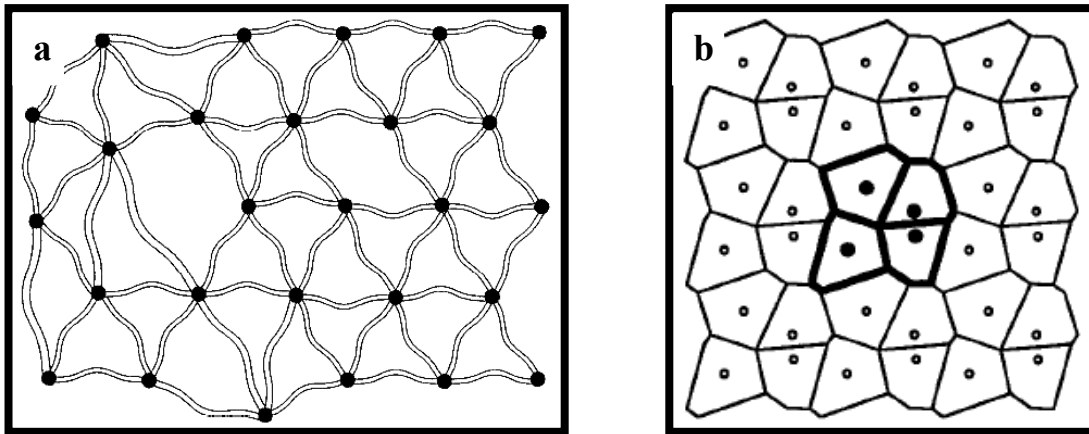


FIGURA 1.1 a) Modelo con paredes onduladas, b) Modelo con celdas irregulares.

1.1.2 Estructura.

En la sección anterior se mencionó que la estructura y la forma de las celdas determinan, en gran medida, las propiedades físicas y mecánicas de los materiales celulares. En la Figura 1.2 se muestra la comparación entre cuatro propiedades físicas de sólidos reales y de sólidos celulares.

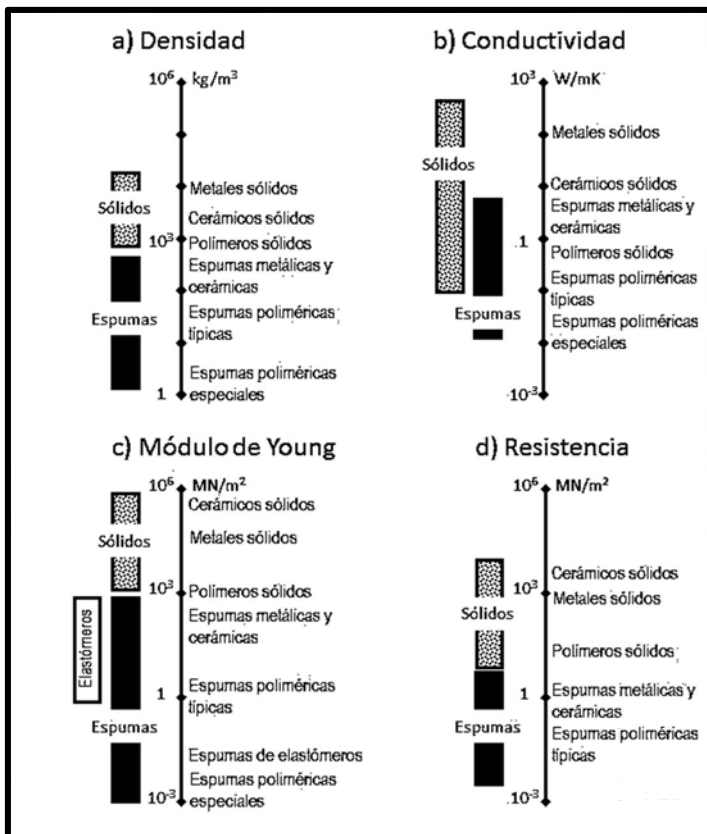


FIGURA 1.2 Comparación de algunas propiedades físicas entre sólidos reales y sólidos celulares.

- Densidad
- Conductividad térmica
- Módulo de Young
- Esfuerzo

Los sólidos celulares tienen una menor densidad y conductividad térmica en comparación con los sólidos densos por lo que los primeros son muy útiles para diseñar componentes rígidos y de bajo peso, también pueden fabricarse con ellos aislantes térmicos confiables y de bajo precio. Los sólidos celulares son ideales para absorber energía de impactos ya que son capaces de deformarse más que los sólidos densos cuando son sometidos a esfuerzos de compresión [1]. Más ejemplos de aplicaciones se ofrecen en la sección 1.1.5.

Una primera clasificación que se hace de los sólidos celulares es de acuerdo a su estructura y la de sus celdas, como se muestra en la Tabla 1.1.

TABLA 1.1 CLASIFICACIÓN DE LOS SÓLIDOS CELULARES.

Panal de abeja (Bidimensionales)	Espumas (Tridimensionales)
Celda cerrada	Celda abierta Celda cerrada Celda mixta

Un sólido celular es de celda cerrada (Figura 1.3a) cuando cada una de las celdas está rodeada completamente por el material del cual está compuesto. Por el contrario, cuando las celdas se encuentran interconectadas entre sí, se tiene un sólido celular de celdas abiertas (Figura 1.3b).

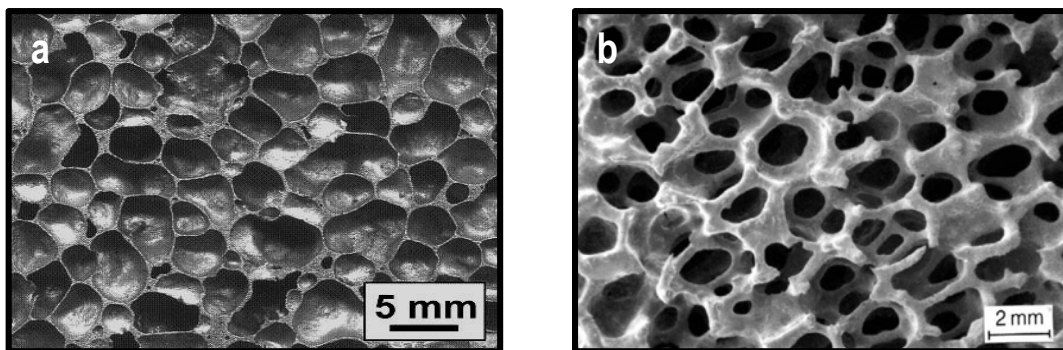


FIGURA 1.3 a) Espuma de celda cerrada, b) Espuma de celda abierta

1.1.3 Forma de la celda.

La forma de la celda es una característica de la microarquitectura de los sólidos celulares. Ésta tiene un efecto muy pequeño en los valores de resistencia del material, sin embargo tiene un fuerte impacto en su comportamiento mecánico [4]. Cuando las celdas son equiaxiales el material es isótropo³, pero cuando las celdas se encuentran estiradas o aplastadas ligeramente las propiedades mecánicas dependen de la dirección de aplicación de las fuerzas [1].

Las principales geometrías que pueden tener las celdas para formar redes bidimensionales, desarrolladas de manera artificial, se muestran en la Figura 1.4.

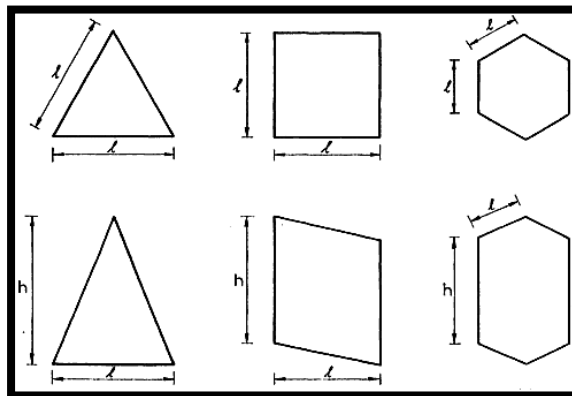


FIGURA 1.4 Polígonos encontrados en sólidos celulares bidimensionales

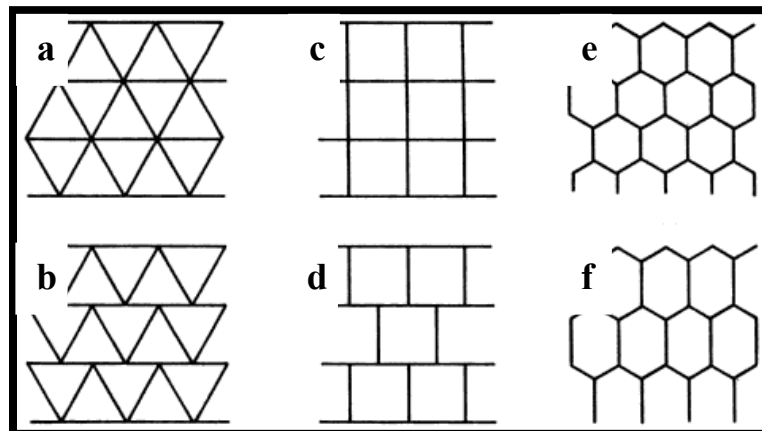


FIGURA 1.5 Agrupamientos bidimensionales de celdas. Triángulos equiláteros con $Z_e^4 = 6$ (a) y $Z_e = 4$ (b); cuadrados con $Z_e = 4$ (c) y $Z_e = 3$ (d); hexágonos regulares (e) e irregulares (f) $Z_e = 3$ para ambos.

³ **Material isótropo.** Materiales cuyas propiedades físicas y mecánicas no dependen de la dirección en la que estén orientados.

⁴ **Conectividad de borde (Z_e).** Se refiere al número de bordes que convergen en un nodo o vértice.

Para las estructuras tridimensionales existe una mayor variedad de geometrías posibles. En la Figura 1.6 se muestran los poliedros principales que pueden agruparse en redes tridimensionales como las mostradas en la Figura 1.7. En los sólidos celulares tridimensionales se definen dos tipos de conectividades; conectividad de borde y conectividad de caras⁵.

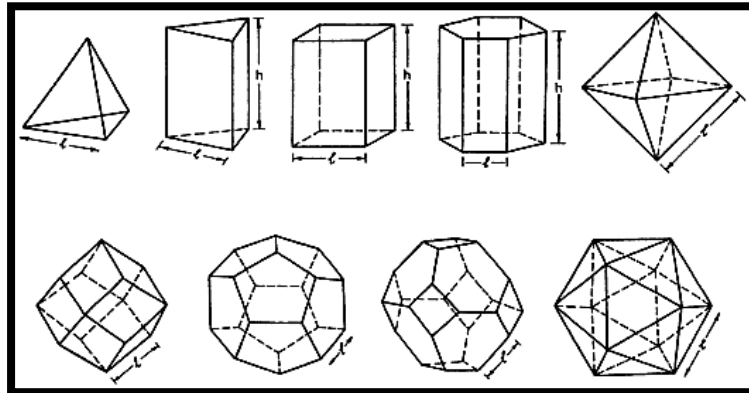


FIGURA 1.6 Poliedros encontrados en sólidos tridimensionales

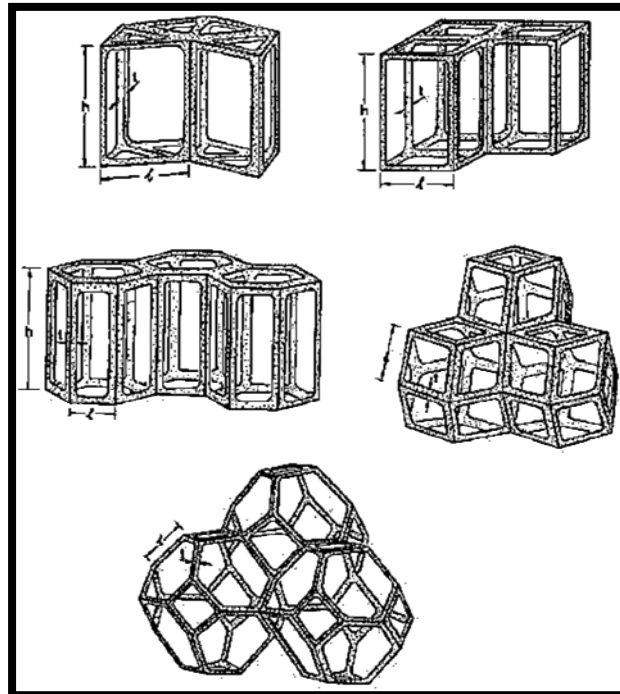


FIGURA 1.7 Agrupamientos tridimensionales de celdas

⁵ **Conectividad de caras.** El número de caras que concurren en un vértice.

1.1.4 Densidad y módulo de elasticidad para sólidos celulares de celda abierta.

Los sólidos celulares se describen por su estructura geométrica, es decir, la forma, el tamaño de las celdas y la manera en que éstas se encuentran distribuidas. Desde un punto de vista mecánico una de las propiedades más importantes de un sólido celular es la densidad relativa, ya que la mayoría de las propiedades del material celular dependen de ella [1,3,4]. Sin embargo Wöß et al. (2004) definieron que, para materiales con la misma densidad relativa, la microarquitectura influye en propiedades mecánicas como el esfuerzo de cedencia y el módulo de Young. Por definición, la densidad relativa es la comparación de la densidad de una sustancia con la densidad de otra que sirve como referencia. Para un sólido celular queda definida mediante la expresión:

$$\rho_{rel} = \frac{\rho^*}{\rho_o} \quad \text{----- (1.1)}$$

donde ρ^* es la densidad del sólido celular y ρ_o es la densidad del material del que están hechas las paredes de las celdas. Típicamente la ρ_{rel} de un sólido celular es menor a 0.3, los materiales cuya ρ_{rel} es mayor a 0.3 son considerados materiales con poros aislados.

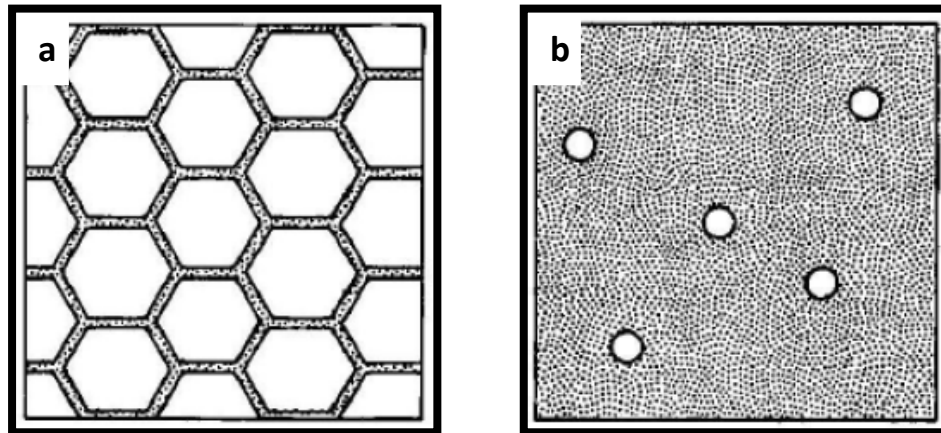


FIGURA 1.8 a) Sólido celular, b) Sólido poroso

TABLA 1.2 DENSIDADES RELATIVAS DE ALGUNOS MATERIALES.

Material	ρ_{rel}
<i>Espumas especiales de ultra baja densidad</i>	0.001
<i>Espumas poliméricas (aislamiento)</i>	0.05-0.20
<i>Corcho</i>	0.14
<i>Maderas blandas</i>	0.15-0.40

La ρ_{rel} del material del cual están hechas las paredes es la misma que la fracción volumétrica del mismo (v_o), definida por la ecuación (1.2)

$$v_o = \frac{V_o}{V^*} \quad \text{----- (1.2)}$$

donde V_o representa el volumen del material exterior y V^* es el volumen del sólido celular, ambos expresados en (m^3) (figura 1.9).

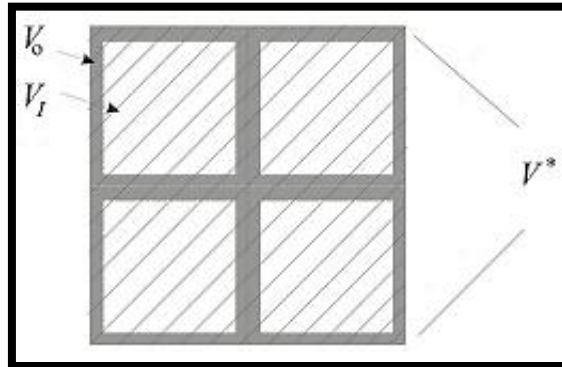


FIGURA 1.9 Volúmenes en un sólido celular.

La ecuación 1.12 se puede comprobar si consideramos la densidad del material celular (ecuación 1.3) y la densidad del material del que están formadas las paredes (ecuación 1.4), para el caso en el que el material interior es aire (ecuación 1.5)

$$\rho^* = \frac{m^*}{V^*} \quad \text{----- (1.3)}$$

$$\rho_o = \frac{m_o}{V_o} \quad \text{----- (1.4)}$$

$$m^* = m_o \quad \text{----- (1.5)}$$

Por lo tanto, podemos expresar la fracción volumétrica del material exterior mediante la expresión (1.6).

$$v_o = \frac{V_o}{V^*} = \frac{\frac{m_o}{\rho_o}}{\frac{m^*}{\rho^*}} = \frac{\frac{\rho_o}{m^*}}{\frac{\rho^*}{m^*}} \quad \text{----- (1.6)}$$

$$v_o = \frac{\rho^*}{\rho_o}$$

Por otra parte, la fracción volumétrica para el material interior se expresa como:

$$v_I = \frac{V_I}{V^*} \quad \text{----- (1.7)}$$

Nótese que de la ecuación (1.2) podemos obtener:

$$v_o = \frac{v_o}{v^*} = \frac{v^* - v_I}{v^*} = 1 - \frac{v_I}{v^*} =$$

$$v_o = 1 - \rho_I \quad \text{----- (1.8)}$$

Para determinar el módulo de elasticidad de un sólido celular con celdas abiertas se parte del análisis de una celda unitaria (Figura 1.10). Para este caso, el material se encuentra sujeto a fuerzas de compresión.

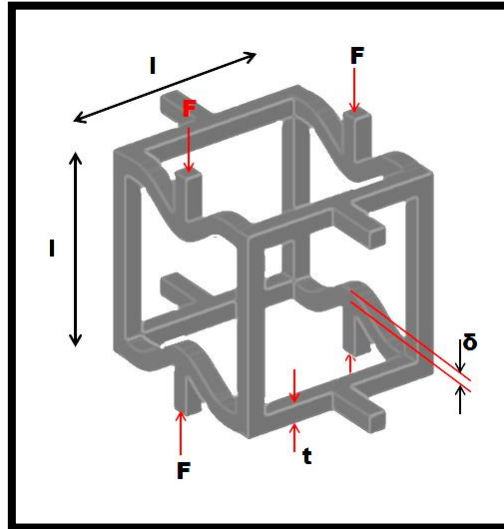


FIGURA 1.10 Celda unitaria abierta

Si el espesor de las barras que conforman la celda es mucho menor que la longitud de la celda ($t \ll l$), entonces:

$$\frac{\rho^*}{\rho_o} = C_2 \left(\frac{t}{l} \right)^2 \quad \text{----- (1.9)}$$

El esfuerzo y la deformación se definen como:

$$\sigma = \frac{F}{l^2}; \quad \varepsilon = \frac{\delta}{l}$$

Si consideramos a los elementos que componen las paredes de la celda como vigas, la deflexión se calcula con la expresión:

$$\delta = \frac{Fl^3}{E_o I^4}; \quad I \cong t$$

Sabemos que el módulo de elasticidad se calcula como el cociente del esfuerzo entre la deformación, entonces, de las expresiones anteriores obtenemos:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \frac{Fl}{l^2\delta} = \frac{FE_o t^4}{Fl^4}$$

$$E = E_o \left(\frac{t}{l}\right)^4 \quad \text{----- (1.10)}$$

Para el análisis de materiales celulares conviene expresar la Ecuación 1.10 en función de la densidad relativa, entonces queda como:

$$\frac{E^*}{E_o} = C_2 \left(\frac{\rho^*}{\rho_o}\right)^2 \quad \text{----- (1.11)}$$

donde E_o y ρ_o son el módulo de Young y la densidad del material del cual está hecho el sólido celular respectivamente. En una curva esfuerzo-deformación típica para un material celular se identifica una región denominada meseta o “plateau”. La relación entre el esfuerzo plateau⁶ y el esfuerzo de cedencia está dado por la ecuación:

$$\frac{\sigma_{pl}}{\sigma_{ys}} = C \left(\frac{\rho^*}{\rho_o}\right)^{3/2} \quad \text{----- (1.12)}$$

La constante C depende de la microestructura del material sólido [3]. Aún no se determina con certeza la relación entre las constantes C y los exponentes pero se sabe que éstas dependen de la periodicidad o el desorden dentro del material. Otras variables importantes que influyen en el comportamiento elástico de los sólidos celulares son el arreglo geométrico de las celdas y la forma de las paredes de las mismas [4,5,7].

1.1.5 Aplicaciones de los sólidos celulares.

A continuación se enlistan las principales aplicaciones de los materiales celulares fabricados por el hombre.

- a) **Aislamiento térmico.** Los sólidos celulares son muy buenos aislantes térmicos debido al volumen de aire contenido dentro de ellos.
- b) **Embalaje.** Debido a la gran capacidad de absorber energía, los sólidos celulares son empleados para proteger objetos frágiles durante su transporte.
- c) **Estructurales.** Se fabrican estructuras livianas con gran rigidez y resistencia a base de paneles de sándwich de fibra de vidrio o paneles de abeja de aluminio.

⁶ Véase apéndice A.

- d) Flotabilidad.** Para este tipo de aplicaciones se emplean los sólidos celulares de celda cerrada, los cuales a su vez no se corroen fácilmente.
- e) Otras.** Debido a la red de celdas interconectadas que presentan los sólidos celulares de celda abierta suelen usarse como filtros. También tienen aplicaciones en la ingeniería de tejido ya que la porosidad que tienen simulan los conductos vasculares presentes en el cuerpo humano.

1.2 BIOMATERIALES

1.2.1 Definición.

La European Society for Biomaterials (ESB) define a un biomaterial como “*un material cuyo propósito es interactuar con sistemas biológicos para evaluar, tratar o reemplazar cualquier tejido, órgano o función dentro del cuerpo*” [8].

TABLA 1.3 CLASIFICACIÓN DE LOS DISPOSITIVOS MÉDICOS POR CONTACTO

Tipo de dispositivo	Aplicación
<i>Dispositivos superficiales</i>	Piel, membranas mucosas y heridas superficiales.
<i>Dispositivos de comunicación externa</i>	Vasos sanguíneos, tejido, hueso, dentina.
<i>Dispositivos para Implantación</i>	Tejido, hueso, vías de transporte de sangre.

Para lograr obtener un biomaterial que pueda ser utilizado de manera segura dentro del cuerpo humano se debe seguir una metodología bien establecida. Inicialmente se debe identificar el tipo de dispositivo que se utilizará de acuerdo a la necesidad que se deberá satisfacer (Tabla 1.3). Una vez que se tiene clara la aplicación que se le dará al biomaterial se procede a identificar los tejidos con los cuales estará en contacto y el tiempo que se mantendrá implantado. Finalmente, después de determinar los parámetros antes mencionados, se realizan las pruebas de biocompatibilidad necesarias (*in vitro* e *in vivo*) para determinar los efectos de la interacción entre el biomaterial y los tejidos circundantes [9]. Algunos autores incluyen como un factor más a tomar en consideración la capacidad del material para ser manufacturado a gran escala y con un buen control de calidad [10].

Desde el punto de vista mecánico, para hacer una correcta selección de un material se deben considerar: el módulo de elasticidad, el esfuerzo último, la deformación y la resistencia a la fractura. En las Figuras 1.10 a 1.12 se muestran gráficas comparativas de algunas propiedades mecánicas para diferentes biomateriales.

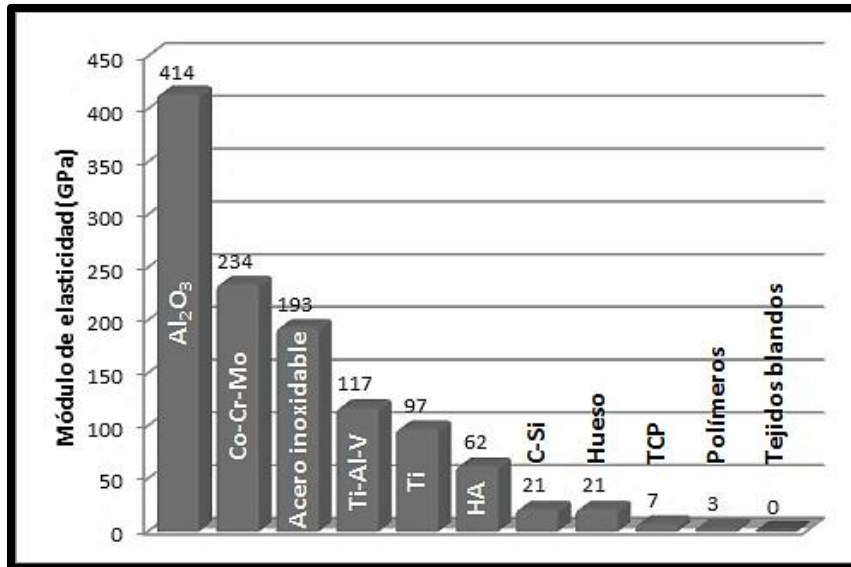


FIGURA 1.11 Módulo de elasticidad de diferentes biomateriales.

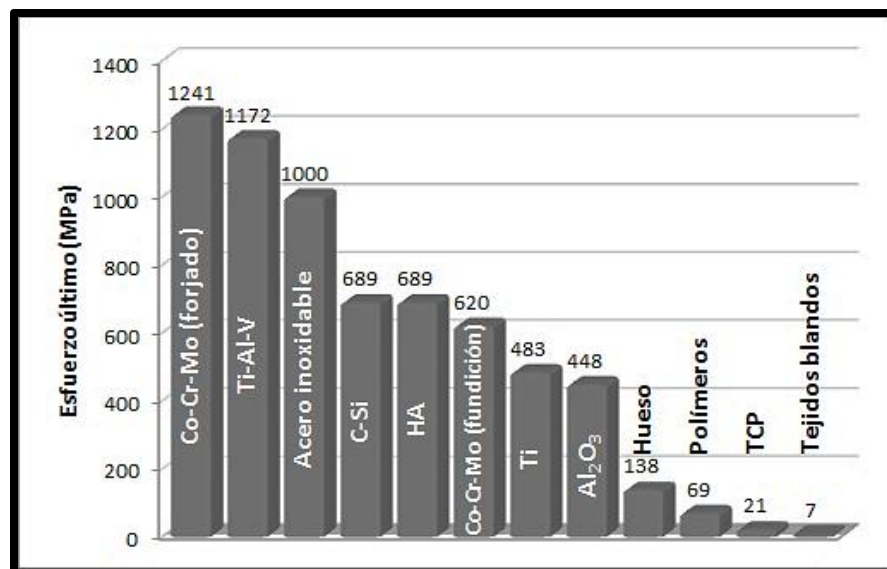


FIGURA 1.12 Esfuerzo último de diferentes biomateriales.

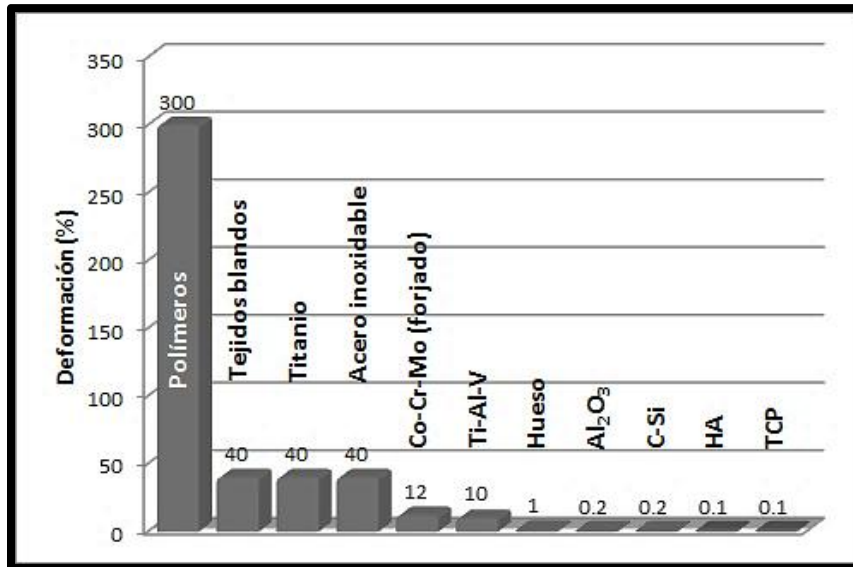


FIGURA 1.13 Porcentaje de deformación de diferentes biomateriales.

Los materiales usados en la ingeniería de tejido se pueden clasificar como se muestra en la Tabla 1.4. En las siguientes secciones se presentan algunos de los materiales más utilizados dentro de la ingeniería biomédica.

TABLA 1.4 CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMATERIALES.

Clasificación		Ejemplos
Biológicos	<i>Suaves</i>	Piel, tendón, pericardio, córnea.
	<i>Duros</i>	Hueso, dentina, cutícula.
Sintéticos	<i>Metales</i>	Acero inoxidable, aleaciones de Co-Cr, Titanio y sus aleaciones, oro, platino.
	<i>Polímeros</i>	UHMWPE, PMMA, PEEK, PU, PTFE, silicón.
	<i>Cerámicos</i>	Alúmina, zirconia, carbono, fosfatos de calcio, biovidrio.
	<i>Compuestos</i>	CF/PEEK, CF/UHMWPE, CF/PMMA.

1.2.2 Metales

Durante el último siglo los implantes se han fabricado a partir de tres grupos de materiales biocompatibles o biomateriales; metales, cerámicos y polímeros. Los metales tienen resistencia a los esfuerzos de tensión, a la fatiga y a la fractura superiores a los otros tipos de materiales. Sin embargo los metales muestran varias desventajas; no son biodegradables, los productos derivados de la corrosión de los metales pueden ser tóxicos,

tienen un alto peso específico, tienen una inadecuada afinidad para la integración de células y tejidos y no pueden fabricarse geometrías complejas con ellos [11,12].

Para que un material metálico pueda ser utilizado como biomaterial debe cubrir ciertos requisitos de integridad mecánica y de biocompatibilidad. En la parte mecánica se requiere que sean resistentes a la deformación permanente, al desgaste y a la iniciación y propagación de grietas. Los requisitos de biocompatibilidad incluyen aquellos que se enfocan en los efectos del ambiente fisiológico en el desempeño *in vivo* del implante así como los efectos del implante sobre el tejido local [11].

Los implantes metálicos típicos son de aceros inoxidables (316 y 316L), aleaciones de Titanio (Ti6Al4V) y aleaciones de Cobalto y Cromo (CoCrMo, CoNiCrMo, CoCrW Ni y CoNiCrMoWFe). Algunos metales se utilizan como sustitutos pasivos para reemplazar tejido duro como articulaciones de cadera y rodilla. También son auxiliares en la recuperación de fracturas, ejemplos de esto son las placas óseas, los tornillos, dispositivos para fijación de columna e implantes dentales. Los stents⁷, guías para catéteres y arcos ortodóncicos son elementos activos que se fabrican a partir de ciertas aleaciones. [12,13].

1.2.3 Cerámicos.

La humanidad ha utilizado los cerámicos desde hace siglos, este tipo de materiales tienen una alta resistencia a la compresión, al desgaste, se deforman poco y poseen baja fricción [8,14]; sin embargo su uso estaba limitado a la alfarería debido a su fragilidad, la susceptibilidad de desarrollar muescas o micro grietas y su baja resistencia a la tensión y a los impactos [15]. Durante el último siglo se han desarrollado métodos innovadores para fabricar cerámicos por lo que su uso se ha extendido a otras áreas como la ingeniería biomédica. Los cerámicos que se usan para fines médicos se conocen como biocerámicos y su principal aplicación es reparar o sustituir hueso, articulaciones y dientes. También ayudan a reemplazar partes del sistema cardiovascular, principalmente válvulas cardíacas [14-16].

⁷ **Stent.** Es un tubo pequeño que se coloca dentro de una arteria, un vaso sanguíneo u otra estructura hueca del cuerpo con el fin de mantenerla abierta.

Los biocerámicos se clasifican en fosfatos de calcio (CaP) y otros, dependiendo de su composición química. Se presentan en diferentes fases, pueden ser monocristales⁸ (zafiro), policristales⁹ (alúmina, hidroxiapatita), vidrios (Bioglass®), cerámicos vítreos (A/W vitrocerámico¹⁰) o compuestos (PE-HA). En la tabla 1.5 se muestran algunas de las aplicaciones de los cerámicos dependiendo de su forma y su fase [16]. Los cerámicos también pueden ser clasificados como no reabsorbibles o inertes (alúmina, zirconia), bioactivos (HA, vidrios) y biodegradables o reabsorbibles (CaP) [15,17].

TABLA 1.5 APLICACIONES DE LOS BIOCERÁMICOS DE ACUERDO A SU FORMA Y FASE.

Forma	Fase	Aplicación
Polvo	<i>Policristal</i> <i>Vidrio</i>	Rellenos, tratamientos terapéuticos y regeneración de tejidos.
Recubrimiento	<i>Policristal</i> <i>Vidrio</i> <i>Vitrocerámico</i>	Unión de tejidos, protección contra la corrosión.
Sólido denso	<i>Monocristal</i> <i>Policristal</i> <i>Vidrio</i> <i>Vitrocerámico</i> <i>Compuesto</i>	Reemplazo de tejido, incremento de tejido.

La alúmina (Al_2O_3) es un material cerámico que tiene una alta dureza, un valor bajo de fricción y una excelente resistencia al desgaste y a la corrosión por lo que su uso para fabricar articulaciones es muy extendido dentro de la ortopedia [18]. El carbono se utiliza principalmente como recubrimiento superficial ya que tiene una excelente compatibilidad con la sangre y la capa que se forma es lo suficientemente delgada para no interferir con la flexibilidad de los injertos, también se utiliza en dispositivos para reparar válvulas cardíacas y venas dañadas [16,19]. Los CaP son ampliamente utilizados como rellenos de defectos óseos por su capacidad de inducir la formación de hueso además de que son biocompatibles, osteoconductivos¹¹, osteoinductivos¹² y bioactivos [20,21]. Los sulfatos de

⁸ **Monocristal.** Material en el que la red cristalina es continua y no está interrumpida por bordes de grano hasta los bordes de la muestra.

⁹ **Policristal.** Material formado por pequeños cristales de diferente tamaño y orientación.

¹⁰ **A/W vitrocerámico.** Material bifásico formado por una fase apatítica, una fase wollastonita y una fase residual vítrea.

¹¹ **Osteoconductividad.** Es la habilidad de un material para servir como plantilla para la formación de hueso mediante la estimulación de la adhesión de las células para que proliferen y produzcan hueso.

calcio poseen propiedades físicas y químicas que los convierten en una buena opción para fabricar injertos ya que son completamente solubles *in vivo* y promueven la bioactividad ya que desprenden iones de calcio, modifican el pH y precipitan apatitas localmente. Otros ejemplos de biocerámicos son la zirconia ($ZrSiO_4$) y el biocoral. [15]

1.2.4 Polímeros.

Los polímeros han sido ampliamente utilizados para fabricar suministros médicos desechables, materiales dentales, implantes, vendajes, encapsulantes, sistemas de liberación controlada de medicamentos y como sustitutos de metales y cerámicos en prótesis. Tienen la ventaja de poder ser fácilmente manufacturados para producir diferentes formas (barras, películas, fibras, hojas, etc.) a un precio considerablemente bajo y con propiedades mecánicas y físicas específicas. Existen cientos de polímeros que pueden ser sintetizados y utilizados como biomateriales, sin embargo sólo se usan aproximadamente veinte tipos de polímeros principalmente. En la Tabla 1.6 se muestran algunos de los más comúnmente utilizados y su aplicación [22,23].

TABLA 1.6 APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LOS POLÍMEROS.

Polímero sintético	Acrónimo	Aplicaciones
Polivinilcloruro	<i>PVC</i>	Empaques quirúrgicos, dispositivos de diálisis, conectores, botellas de catéteres y cánulas.
Polietileno	<i>PE</i>	Botellas farmacéuticas, catéteres, bolsas, recipientes flexibles, implantes ortopédicos.
Polipropileno	<i>PP</i>	Jeringas desechables, membrana oxigenadora de sangre, suturas, injertos vasculares artificiales.
Polimetilmetacrilato	<i>PMMA</i>	Bombas de sangre, membranas para diálisis, lentes intraoculares, cementos óseos.
Poliestireno	<i>PS</i>	Recipientes para cultivo de tejido, filtros.
Polietilentereftalato	<i>PET</i>	Suturas, mallas, injertos vasculares artificiales, válvulas de corazón.
Politetrafluoroetileno	<i>PTFE</i>	Catéteres e injertos vasculares artificiales.
Poliuretano	<i>PU</i>	Películas y tubos.
Poliamida	<i>Nylon</i>	Catéteres, suturas y moldes.

Los polímeros se clasifican de acuerdo a su fuente de obtención en artificiales y naturales. Otra clasificación de los polímeros obedece a su comportamiento térmico, de esta

¹² **Osteoinductividad.** Se refiere a la habilidad de inducir la formación de hueso sin la necesidad de agentes osteoinductivos como las proteínas morfogénicas de hueso (BMP)

manera tenemos polímeros termoplásticos y termoestables. También se clasifican de acuerdo a la estabilidad de sus moléculas en degradables y no degradables. Finalmente, si se considera la estructura de las cadenas de los polímeros, estos se dividen en lineares, enramados y entrecruzados. A continuación se mencionan algunos de los polímeros más utilizados en la ingeniería biomédica.

Los elastómeros de silicón son ampliamente utilizados como biomateriales debido a su excelente biocompatibilidad, únicamente se ha llegado a presentar una ligera inflamación posterior a su implantación. El silicón se caracteriza por tener una gran flexibilidad entre sus cadenas y una alta permeabilidad al oxígeno. Son elementos importantes en las prótesis de senos [24,25]. Algunos copolímeros de etileno y acetato de vinilo (EVA) se utilizan en dispositivos para implantación y dispositivos tópicos. El copolímero más utilizado contiene 40% de acetato de vinilo. Las matrices de EVA son las más estudiadas para liberar fármacos de manera controlada tanto para sustancias de bajo peso molecular como para macromoléculas [24]. Los PU se utilizan en recubrimientos para catéteres, guías de marcapasos y balones intragástricos de corta estancia. Se han reportado algunos casos en los que los PU degradan en compuestos carcinogénicos [24,26]. El PE es uno de los polímeros más utilizados para fabricar catéteres debido a su bajo costo y a la facilidad con la que puede ser manufacturado. Comercialmente se encuentra como HDPE (polietileno de alta densidad), LDPE (polietileno de baja densidad), LLDPE (polietileno linear de baja densidad), VLDPE (polietileno de muy baja densidad) y UHMWPE (polietileno de ultra alto peso molecular). Con PP se fabrican cuerpos de jeringas, prótesis externas y otros dispositivos que no requieren ser implantados. Los copolímeros de ABS resultan útiles cuando se requiere fabricar elementos para diálisis y conexiones de jeringas y catéteres [24,26]. Las fibras de colágeno pueden sustituir la mayor parte de los tendones y la piel. Su función principal es reforzar, mecánicamente, el tejido conectivo [26]. El colágeno es relativamente barato y es fácil de manufacturar por lo que tiene una gran variedad de aplicaciones, por ejemplo, se utiliza para regenerar venas, válvulas cardiacas, tendones, ligamentos, piel, sistema nervioso periférico, tejido meniscal y cartilaginoso y también se pueden fabricar dispositivos para liberación controlada de medicamentos [24]. El ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA), y los copolímeros de PLA y PGA

(PLGA) se encuentran entre los biomateriales más utilizados dentro de la ingeniería de tejido y para sistemas de liberación de fármacos [24].

Existen más polímeros que pueden ser utilizados en la ingeniería de tejido, para conocer más a fondo estos materiales se invita al lector a revisar las referencias mencionadas.

Esterilización.

Una etapa muy importante en el proceso de fabricación de cualquier biomaterial es la etapa de esterilización, ésta se realiza después de que el producto ha sido manufacturado y antes de que éste sea empacado. No todos los polímeros pueden ser esterilizados por métodos convencionales (calor seco, autoclave, radiación, gas de óxido de etileno) debido a su menor estabilidad química y térmica en comparación con los metales y los cerámicos. Por ejemplo, la esterilización por calor seco se realiza a temperaturas que varían entre 160 y 190 °C, estas temperaturas son superiores a las de fusión de muchos polímeros incluyendo el PE y el PMMA. Los únicos polímeros que pueden ser esterilizados por este método son el PTFE y las gomas de silicona. Durante la esterilización por autoclave el material se somete a altas presiones y a temperaturas entre 125 y 130 °C por lo que tampoco es una opción viable para esterilizar los polímeros. La radiación con ^{60}Co tiende a degradar a los polímeros, por ejemplo, altas dosis de ^{60}Co provocan que el PE se vuelva duro y quebradizo.

Los agentes químicos tales como los gases de óxido de etileno y de propileno, y las soluciones fenólicas e hipocloradas han sido ampliamente utilizadas para esterilizar a los polímeros ya que pueden ser usados a bajas temperaturas. Si bien los agentes químicos ocasionan la degradación de los polímeros, el tiempo de exposición a estos es muy corto y muchos de los implantes a base de polímeros pueden ser esterilizados por éste método [27]. Algunas de las normas que regulan los procesos de esterilización de dispositivos médicos y productos para la salud se enlistan a continuación:

- ISO 11135 Sterilization of health-care products — Ethylene oxide .
- ISO 11137 Sterilization of health care products — Radiation
- ISO 11737 Sterilization of medical devices - Microbiological methods.

- ISO 20857 Sterilization of health care products - Dry heat.
- ISO 25424 Sterilization of medical devices -- Low temperature steam and formaldehyde

1.2.5 Compuestos

Los materiales compuestos son sólidos que contienen dos o más materiales o fases diferentes (una matriz y un refuerzo) en una escala mayor a la atómica, cuyas propiedades, por ejemplo el modulo elástico, se han modificado significativamente en comparación con un material homogéneo. Tomando en cuenta la definición anterior, materiales como los plásticos reforzados y los materiales naturales pueden ser considerados compuestos mientras que las aleaciones metálicas no lo son. Algunos ejemplos de materiales compuestos naturales son el hueso, la madera, la dentina, el cartílago y la piel. Los materiales compuestos, en ingeniería biomédica, se usan como rellenos dentales, cementos óseos e implantes ortopédicos con superficies porosas [28].

Hay diferentes formas de clasificar a los materiales compuestos, una de ellas es por el tipo de refuerzos. Existen típicamente tres tipos de refuerzos, partículas (sin dimensiones de longitud), fibras (con una dimensión) y placas o láminas (con dos dimensiones), como se muestra en la Figura 1.13 [28]. También pueden ser clasificados de acuerdo al material que compone la matriz, así tenemos compuestos con matriz metálica, compuestos con matriz cerámica y compuestos con matriz polimérica [30]. Los materiales compuestos que se utilizan dentro de la medicina o de la ingeniería biomédica se denominan biocompuestos, éstos pueden clasificarse de acuerdo a su capacidad para biodegradarse. Dentro de esta clasificación encontramos a los compuestos totalmente reabsorbibles, los parcialmente reabsorbibles y los no reabsorbibles. Los compuestos reabsorbibles son aquellos en los que, tanto la matriz como los materiales de refuerzo pueden ser completamente absorbidos por el huésped dentro del cual se implantan. Los compuestos parcialmente reabsorbibles se fabrican con una matriz completamente reabsorbible y materiales de refuerzo que no lo son. Finalmente, un material no reabsorbible está compuesto por con una matriz y materiales de refuerzo que no pueden ser absorbidos por el huésped dentro del cual se colocan.

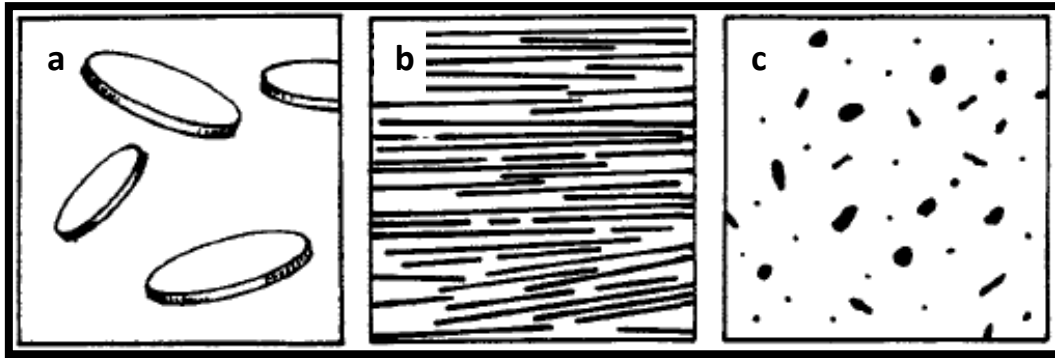


FIGURA 1.14 Tipos de refuerzos. a) Láminas, b) Fibras y c) Partículas

Los materiales compuestos se han desarrollado para mejorar algunas características de materiales de una sola clase; por ejemplo las barras o clavos intramedulares se fabrican a partir de acero inoxidable, pero Lin et al. (1997) desarrollaron un compuesto de GF/PEEK para aplicaciones intramedulares, mientras que Kettunen et al. (1999) fabricaron una barra intramedular de un compuesto de CF reforzada con LCP (Vectra A950). Las prótesis de cadera se fabrican con aleaciones de Cr-Co y Ti para el vástago femoral mientras que el componente acetabular se fabrica generalmente de UHMWPE. También se han fabricado prótesis con un vástago de compuestos de CF/PS, CF/C y CF/PEEK, éste último tiene un comportamiento mecánico similar al del fémur y pruebas en animales han demostrado que dicho compuesto muestra una mínima respuesta por parte del tejido muscular circundante. Las placas ortopédicas se fabrican convencionalmente de acero inoxidable y aleaciones de Cr-Co y Ti, sin embargo, estos materiales “blindan” el hueso. En lugar de los materiales antes mencionados, se pueden fabricar placas con compuestos poliméricos no reabsorbibles, por ejemplo compuestos termoestables de CF/epoxy o GF/epoxy y compuestos termoplásticos como CF/PMMA, CF/PP, CF/PS, CF/PE, CF/PBT y CF/PEEK. Las resinas dentales están compuestas de una matriz de BIS-GMA y cuarzo con bario y sílice coloidal como refuerzos. Entre los materiales utilizados para reparar ligamentos y tendones encontramos el UHMWPE, PP, PET, PTFE, PU, Kevlar 49, carbono y fibras de colágeno [30].

Las propiedades de los materiales compuestos dependen, en gran medida, de su estructura. Los compuestos se diferencian de los materiales homogéneos por el control que se puede tener sobre la estructura a gran escala y sobre las propiedades deseadas. En general, las propiedades de los materiales compuestos dependen de la forma de las

heterogeneidades, la fracción volumétrica que ocupan y la interfaz entre los constituyentes. Algunas propiedades mecánicas de los materiales compuestos pueden ser predichas utilizando modelos matemáticos. Las estructuras más sencillas de analizar son los modelos de Voigt y de Reuss (Figura 1.14) [30].

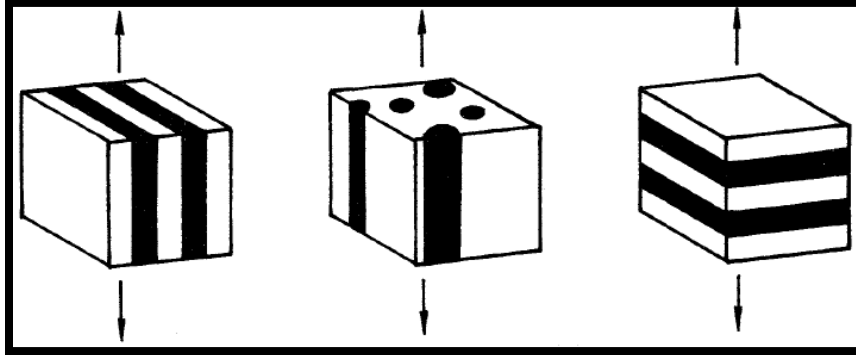


FIGURA 1.15 Modelo de Voigt a) laminar, b) fibroso y Reuss c) compuesto, sujetos a fuerzas de tensión indicadas por las flechas.

Las propiedades mecánicas de los compuestos son un promedio referido a un volumen finito llamado elemento de volumen representativo (RVE). Las cantidades obtenidas se conocen como “*cantidades efectivas*”. Si representamos el RVE como V' y los volúmenes de la fibra y la matriz como V'_f y V'_m respectivamente, el esfuerzo promedio se define como:

$$\bar{\sigma}_i = \frac{1}{V'} \int_{V'} \sigma_i dV = \frac{1}{V'} \left[\int_{V'_f} \sigma_i dV + \int_{V'_m} \sigma_i dV \right]$$

$$\bar{\sigma}_i = \frac{V'_f}{V_i} \left(\frac{1}{V'_f} \int_{V'_f} \sigma_i dV \right) + \frac{V'_m}{V_i} \left(\frac{1}{V'_m} \int_{V'_m} \sigma_i dV \right)$$

$$\bar{\sigma}_i = V_f \bar{\sigma}_i^f + V_m \bar{\sigma}_i^m \quad \text{----- (1.13)}$$

donde $V_f = V'_f/V'$ y $V_m = V'_m/V'$ representan las fracciones volumétricas de la fibra y la matriz respectivamente. De manera similar, la deformación promedio del compuesto está dada por la Ecuación (1.12)

$$\bar{\varepsilon}_i = V_f \bar{\varepsilon}_i^f + V_m \bar{\varepsilon}_i^m \quad \text{----- (1.14)}$$

Si consideramos un compuesto unidireccional con sus fibras alineadas a lo largo de la dirección x , la regla de las mezclas nos indica que las deformaciones longitudinales de la fibra, la matriz y el compuesto son las mismas cuando una carga uniaxial se aplica longitudinalmente. Los esfuerzos transversales y cortantes de la fibra, la matriz y el compuesto son, respectivamente, iguales cuando otra clase de carga uniaxial se aplica. Bajo una condición de esfuerzo longitudinal se tienen las siguientes restricciones:

$$\varepsilon_{xx} = \varepsilon_{xx}^f = \varepsilon_{xx}^m, \quad \sigma_{yy} = \sigma_{yy}^f = \sigma_{yy}^m = 0, \quad \sigma_{xy} = \sigma_{xy}^f = \sigma_{xy}^m = 0$$

debido al esfuerzo uniaxial obtenemos:

$$\begin{aligned} \sigma_{xx} &= E_{xx}\varepsilon_{xx} = V_f\sigma_{xx}^f + V_m\sigma_{xx}^m = V_fE_{xx}^f\varepsilon_{xx}^f + V_mE_{xx}^m\varepsilon_{xx}^m \\ \sigma_{xx} &= (V_fE_{xx}^f + V_mE_{xx}^m)\varepsilon_{xx} \end{aligned}$$

por lo tanto, el módulo de Young longitudinal del compuesto se obtiene mediante la Ecuación 1.13.

$$E_{xx} = V_fE_{xx}^f + V_mE_{xx}^m \quad \text{----- (1.15)}$$

De manera similar, para la relación de Poisson de un material compuesto tenemos:

$$\begin{aligned} \varepsilon_{yy} = -\nu_{xy}\varepsilon_{xx} &= V_f\varepsilon_{yy}^f + V_m\varepsilon_{yy}^m = V_f(-\nu_{xy}^f\varepsilon_{xx}^f) + V_m(-\nu_{xy}^m\varepsilon_{xx}^m) \\ \varepsilon_{yy} &= -(V_f\nu_{xy}^f + V_m\nu_{xy}^m)\varepsilon_{xx} \end{aligned}$$

por lo tanto

$$\nu_{xy} = V_f\nu_{xy}^f + V_m\nu_{xy}^m \quad \text{----- (1.16)}$$

Si se aplica un esfuerzo transversal, los estados de esfuerzos generados en las fibras, la matriz y el compuesto son:

$$\sigma_{xx} = \sigma_{xx}^f = \sigma_{xx}^m = 0, \quad \sigma_{yy} = \sigma_{yy}^f = \sigma_{yy}^m \neq 0, \quad \sigma_{xy} = \sigma_{xy}^f = \sigma_{xy}^m = 0$$

La deformación en la dirección y se expresa como:

$$\varepsilon_{yy} = \frac{\sigma_{yy}}{E_{yy}} = V_f\varepsilon_{yy}^f + V_m\varepsilon_{yy}^m = V_f\left(\frac{\sigma_{yy}^f}{E_f}\right) + V_m\left(\frac{\sigma_{yy}^m}{E_m}\right) = \left(\frac{V_f}{E_f} + \frac{V_m}{E_m}\right)\sigma_{yy}$$

Por lo tanto, el módulo de Young transversal se obtiene mediante la Ecuación 1.15

$$\frac{1}{E_{yy}} = \frac{V_f}{E_f} + \frac{V_m}{E_m} \quad \text{----- (1.17)}$$

Finalmente, si únicamente se aplica un esfuerzo cortante los estados de esfuerzos generados en las fibras, la matriz y el compuesto son:

$$\sigma_{xx} = \sigma_{xx}^f = \sigma_{xx}^m = 0, \quad \sigma_{yy} = \sigma_{yy}^f = \sigma_{yy}^m = 0, \quad \sigma_{xy} = \sigma_{xy}^f = \sigma_{xy}^m \neq 0$$

de la deformación debida a esfuerzos cortantes obtenemos:

$$\varepsilon_{xy} = \frac{\sigma_{xy}}{G_{xy}} = V_f \varepsilon_{xy}^f + V_m \varepsilon_{xy}^m = V_f \left(\frac{\sigma_{xy}^f}{G_f} \right) + V_m \left(\frac{\sigma_{xy}^m}{G_m} \right) = \left(\frac{V_f}{G_f} + \frac{V_m}{G_m} \right) \sigma_{xy}$$

asi, podemos calcular el modulo cortante mediante la Ecuación 1.16

$$\frac{1}{G_{xy}} = \frac{V_f}{G_f} + \frac{V_m}{G_m} \quad \text{----- (1.18)}$$

Como se ha explicado, los biomateriales tienen una gran variedad de aplicaciones dependiendo de las necesidades que se deban cubrir. Por ejemplo, los metales son una excelente opción cuando se requiere una buena resistencia mecánica. Los cerámicos en su forma densa son utilizados cuando se requiere de una buena resistencia a la compresión y en su forma porosa son útiles para fabricar scaffolds. Los polímeros se ocupan cuando se requiere de una resistencia moderada y elasticidad considerable, para fabricar instrumentos desechables y cuando se requiere manufacturar geometrías complejas por ejemplo scaffolds. Esta última aplicación es el tema central del siguiente capítulo.

2.0 Introducción.

A lo largo del desarrollo de las cuatro secciones que comprenden el presente capítulo se explica el concepto de scaffold y se describen algunos de los métodos comerciales de fabricación de scaffolds, así como las tendencias a futuro dentro de la Ingeniería de tejido.

En la primera sección se ofrece una definición del concepto de scaffold y se enlistan las características que deben tener y las funciones que deben cumplir. La segunda sección trata acerca de las variables que se deben considerar para diseñar correctamente un scaffold. Los procesos de diseño se describen brevemente en la tercera sección. Dichos procesos se dividen en métodos tradicionales y en tecnologías de fabricación por adición, éstas últimas son las más utilizadas en la actualidad debido a la implementación de técnicas no invasivas de obtención de imágenes y la incorporación del CAD. Finalmente en la cuarta sección se hace mención a las tendencias a futuro dentro de la fabricación de scaffolds. Se introduce el concepto de Ingeniería de tejido asistida por computadora, la cual es una conjunción entre conocimientos de Biología, Ingeniería e Informática para diseñar, modelar y manufacturar tanto tejidos como órganos.

2.1 Definición y características de los scaffolds.

Las células no son capaces de crecer en orientaciones tridimensionales que definan la forma anatómica del tejido del cual forman parte. En lugar de eso, las células simplemente comienzan a migrar formando capas bidimensionales. Para lograr que las células se reproduzcan formando una geometría específica es necesario que se siembren dentro de matrices porosas que simulen el comportamiento de la matriz extra celular (ECM). Estas estructuras son conocidas como scaffolds [31,32]. De lo anterior se puede definir a un scaffold como una estructura tridimensional que permite la formación de tejido dentro de ella.

Para que los scaffolds lleven a cabo su función deberán cumplir con ciertas funciones críticas las cuales se enumeran a continuación [33]:

1. Proveer un espacio para prevenir la invasión de tejidos vecinos.- dentro del área afectada.
2. Proveer una estructura de sostén temporal para el tejido que va a reemplazar.
3. Crear un sustrato que permita que las células se adhieran, crezcan, proliferen y se diferencien¹³.
4. Servir como vehículo de transporte para las células, facilitando su retención y distribución dentro de la región donde se desea el nuevo tejido.
5. Proveer un espacio para promover la vascularización, la formación y remodelación de nuevos tejidos.
6. Permitir el transporte eficiente de nutrientes, factores de crecimiento y la remoción de material de desecho.

Para que los scaffolds cumplan con las funciones antes enlistadas es necesario que reúnan una serie de condiciones muy particulares [8,31,34-36]. Estas condiciones son:

1. Ser biocompatibles y biodegradables.
2. Degradar con una rapidez proporcional a la rapidez de regeneración del tejido.
3. Tener propiedades mecánicas similares a la del tejido que van a reemplazar.

¹³ **Diferenciación celular.** Se trata del proceso mediante el cual células de un linaje específico sufren modificaciones en su expresión génica, para adquirir la morfología y las funciones de un tipo de célula específico

4. Tener una superficie que permita que las células se adhieran, crezcan, proliferen y se diferencien. Así mismo debe permitir la formación de una nueva ECM.
5. Tener una arquitectura óptima considerando el tamaño de poros, la porosidad, la interconectividad y permeabilidad, que permita el transporte eficiente de nutrientes, factores de crecimiento y la remoción de material de desecho.
6. Ser fácilmente procesable para formar estructuras tridimensionales complejas que puedan ser reproducibles de una manera controlada.

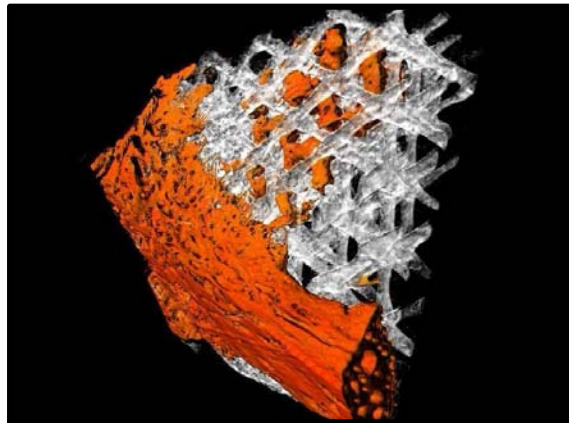


FIGURA 2.1 Construct¹⁴: en rojo se muestra el tejido en crecimiento; en blanco se muestra el scaffold¹⁵.

2.2 Aspectos necesarios para diseñar scaffolds.

Existen varios aspectos que deben ser considerados durante el proceso de diseño de un scaffold. Los materiales con los cuales se va a fabricar deben ser biocompatibles tanto en su estado inicial como durante su proceso de degradación, deben ser degradables y poseer las propiedades mecánicas adecuadas para resistir las condiciones de esfuerzos a las cuales estará sometido el nuevo tejido. Los scaffolds tienen que ser porosos, permeables y deben tener la estructura química y superficial adecuada para permitir la adhesión celular [35].

2.2.1 Biocompatibilidad y biodegradabilidad.

El primer aspecto a considerar cuando se diseña un scaffold es que el material con el cual será fabricado debe ser biocompatible. El scaffold ha de presentar una respuesta

¹⁴ Construct. Un scaffold sembrado con células y factores de crecimiento.

¹⁵ Imagen obtenida de <http://physics.anu.edu.au/appmaths/capabilities/xct-gallery.php>

positiva con las células que le serán sembradas y una respuesta inmune apropiada del tejido huésped dentro del cual será implantado, esto con la finalidad de prevenir una respuesta inflamatoria que pueda comprometer la curación y ocasionar que el scaffold sea rechazado por el cuerpo. En otras palabras, las interacciones entre el scaffold, las células y el tejido huésped deben ser favorables sin ningún peligro potencial derivado de una citotoxicidad¹⁶ inducida o una respuesta inmunológica adversa [8,33]. Para minimizar la reacción en contra de objetos extraños dentro del cuerpo, se pueden tomar algunas precauciones. Las células autólogas¹⁷ no provocan respuestas inmunes, por lo tanto, se pueden incorporar células dentro del scaffold para minimizar el riesgo de inflamación o de rechazo. Es importante que las células sembradas dentro del scaffold no se pierdan de manera prematura por isquemia¹⁸ o apoptosis¹⁹. Para evitar su pérdida se adicionan factores de crecimiento que induzcan el crecimiento de vasos y se controla la velocidad de degradación del scaffold.

Es importante recordar que el scaffold servirá como una estructura temporal y posteriormente será reemplazado por tejido nativo, por lo cual deberá ser removido gradualmente del lugar de implantación mediante un proceso denominado biodegradación. Los subproductos derivados de éste proceso no deben ser tóxicos y tienen que ser capaces de salir del cuerpo sin interactuar con otros órganos [8,33].

2.2.2 Velocidad de degradación del scaffold y de crecimiento del nuevo tejido.

La velocidad de degradación del scaffold y la velocidad de crecimiento del tejido son aspectos muy importantes y en ocasiones difíciles de equilibrar. Idealmente, la velocidad de bioresorción²⁰, bioerosión o biodegradación del scaffold deberá ser igual a la velocidad de crecimiento del tejido en el lugar de implantación para proveer una transición casi imperceptible en la transferencia de las cargas entre la estructura en proceso de degradación y el tejido en desarrollo. Si la velocidad de desintegración del scaffold es muy

¹⁶ **Citotoxicidad.** Es la habilidad de un agente de interactuar con las células y destruirlas.

¹⁷ **Células autólogas.** Son las células que provienen del mismo paciente.

¹⁸ **Isquemia.** Cualquier condición que impide que la sangre alcance los órganos y tejidos del cuerpo, con la consecuente disminución del aporte de oxígeno, nutrientes y eliminación de desechos.

¹⁹ **Apoptosis.** Es la destrucción celular programada provocada por ella misma, con el fin de controlar su desarrollo y crecimiento.

²⁰ **Bioresorción.** Se refiere a la completa eliminación de un material extraño y los subproductos derivados de su degradación mediante la absorción dentro del cuerpo, por ejemplo, mediante filtración o metabolización.

alta, el nuevo tejido puede encontrarse sometido a cargas mayores de las que es capaz de soportar y puede resultar afectado de manera negativa. Por el contrario, si la velocidad de desintegración del scaffold es muy baja, el tejido puede verse blindado contra cargas que, en condiciones naturales, le ayudarían a fortalecerlo durante su desarrollo y por lo tanto se vuelve más susceptible a lesiones posteriores [33]. Hutmacher (2000)²¹ propuso dos estrategias para la selección de materiales poliméricos para aplicaciones de tejido musculoesquelético, dependiendo del tiempo que el scaffold asumirá la tarea de soportar las cargas. En la primera estrategia el scaffold soporta las cargas hasta que la estructura ha sido completamente remodelada por el tejido huésped, por lo que se diseña de tal forma que conserve su resistencia hasta el momento en que el tejido en crecimiento pueda asumir el rol estructural. En la segunda estrategia, la labor del scaffold es soportar mecánicamente las células durante su proliferación y diferenciación hasta que el tejido prematuro sea colocado dentro de un bioreactor²². Una vez que se retira del bioreactor la ECM asume la función del scaffold mientras éste se degrada gradualmente, dejando espacio para el desarrollo de nuevas células y tejido. Para este caso, el scaffold debe ser capaz de mantener un soporte tridimensional hasta que el tejido tenga la suficiente integridad mecánica para soportarlo él mismo [38].

2.2.3 Propiedades mecánicas.

Las propiedades mecánicas del scaffold o construct deben ser iguales a las del tejido huésped al momento de la implantación, para que de esa forma el tejido no se vea comprometido debido a la falla mecánica del scaffold antes de la regeneración del tejido. Los metales y algunos cerámicos no se degradan por lo que mantienen su integridad mecánica durante su vida de implantación, sin embargo, pueden llegar a comprometer la reparación y función del tejido debido al blindaje contra esfuerzos, la posibilidad de que el tejido se fracture en la interfase tejido-implante y el espacio reducido para el crecimiento de nuevo tejido por la presencia de una barrera física permanente.

²¹ Véase referencia 37.

²² **Bioreactor.** dispositivo con el cual se intenta imitar y reproducir las condiciones fisiológicas para mantener y promover el cultivo celular para el crecimiento de tejido.

Existen métodos para mejorar la capacidad de carga de los scaffolds. Una de ellas es el uso de un bioreactor para acondicionar mecánicamente el implante para que esté listo para soportar las cargas a las cuales será sometido al momento de su implantación. Otra forma de mejorar las propiedades mecánicas de los scaffolds, es alterar los métodos de fabricación para optimizar las propiedades requeridas modificando algún aspecto o combinándolo con otro método [8,33,35].

2.2.4 Arquitectura y morfología.

Los scaffolds necesitan de un alto grado de porosidad para facilitar el transporte de productos y el desarrollo de tejidos. Para asegurar lo anterior, debemos considerar el tamaño, la geometría, la orientación, la interconectividad y la actividad superficial de los poros [33,37].

Tamaño y forma de los poros. La importancia de la porosidad del construct radica en la necesidad de las células de transportarse dentro de él así como para permitir el transporte de nutrientes y para eliminar desechos y subproductos derivados de la degradación del construct. Sin embargo, no existe un tamaño de poro específico que favorezca las actividades mencionadas ya que cada tipo de célula necesita de condiciones particulares. Por ejemplo Sosnowski et al. (2006) fabricaron scaffolds con PLL/PLGA con una distribución de poros bimodal, encontraron que los poros en un rango de 50-400 μm promueven el crecimiento y la proliferación de los osteoblastos²³ dentro del scaffold, mientras que los micro poros en el rango de 2 nm-5 μm en las paredes del scaffold permiten la difusión de nutrientes así como de los productos de la hidrólisis del poliéster. Oh et al. (2007) fabricaron scaffolds cilíndricos de PCL con un incremento gradual del tamaño de poro a lo largo del eje longitudinal usando un moderno método de centrifugación. El tamaño de los poros dentro del scaffold se incrementó gradualmente desde 88 a 405 μm , las secciones con tamaño de poro entre 380-405 μm mostraron un mejor crecimiento para los condrocitos y osteoblastos mientras que el rango de 186-200 μm resultó mejor para

²³ **Osteoblastos.** Son células diferenciadas que se encargan de formar la matriz ósea.

el crecimiento de fibroblastos. Finalmente las secciones con tamaños de poro en el rango de 290-310 μm resultaron las mejores para la formación de hueso [33].

Porosidad. Es la cantidad de espacio vacío que hay dentro de la estructura del scaffold. Se ha estudiado en varias ocasiones la necesidad de tener una gran porosidad y área superficial para promover la distribución uniforme de las células así como una adecuada interconectividad para la difusión óptima de nutrientes y desechos. Un estudio muestra que los scaffolds deben tener una porosidad de 90% para permitir la adecuada difusión durante el cultivo celular, sin embargo, Goldstein et al. (1999) sugieren que los scaffolds fabricados de PLG deben tener una porosidad que no exceda el 80% para implantarse dentro de defectos ortopédicos, esto con la finalidad de no comprometer la integridad del scaffold [33].

Interconectividad de poros. Un scaffold no sólo debe ser poroso sino que los poros dentro de él deben estar interconectados para el suministro adecuado de nutrientes y la remoción de los desechos al exterior del scaffold. Al respecto existen varios trabajos. Lee et al. (2006) fabricaron scaffolds de PPF con una arquitectura controlada para estudiar los efectos del tamaño de poro y la interconectividad en el crecimiento de hueso. Fabricaron scaffolds con tres tamaños de poros (300, 600 y 900 μm) y con 0%, 10%, 20% o 30% de los poros cerrados. Encontraron que la porosidad y la permeabilidad disminuye cuando se incrementa la cantidad de poros cerrados, especialmente cuando el tamaño de poro es de 300 μm . Suh et al. (2002) compararon la proliferación de condrocitos en scaffolds de PLG con la misma porosidad (95%) preparados por colado con disolvente y lixiviación de partículas (SCPL) usando sal y gelatina como agentes porogénicos. Los scaffolds producidos usando gelatina mostraron una mejor adhesión celular y proliferación, esto se atribuye a la mejor interconectividad. La extracción de la sal implica que los poros que quedan se encuentran interconectados, sin embargo, esto no asegura una estructura permeable ya que pueden existir espacios muertos con una sola apertura, lo cual impide la interconectividad conjunta de la estructura [33].

2.3 PROCESOS DE FABRICACIÓN.

Con la finalidad de producir scaffolds que cumplan los requisitos mencionados en el apartado anterior, se han desarrollado varias técnicas las cuales incluyen métodos tradicionales como el colado, el moldeo y la extrusión; tecnologías textiles como hilado y tejeduría; y fabricación rápida de prototipos [38].

TABLA 2.1 TECNOLOGÍAS PARA FABRICAR SCAFFOLDS TRIDIMENSIONALES.

Método de fabricación	Requisitos del material	Tamaño de poro [μm]	Porosidad [%]	Arquitectura
Colado con disolvente y lixiviación de partículas.	Soluble	30-300	20-90	Poros esféricos con partículas del material porogénico residuales
Laminación de membranas	Soluble	30-300	<85	Estructura de poros irregular
Non woven (No tejido)	Fibras	20-100	<95	Propiedades mecánicas deficientes.
Moldeado por deposición fundida	Termoplástico	50-500	<80	
Extrusión con lixiviación de partículas	Termoplástico	<100	<84	Poros esféricos, con partículas residuales de material porogénico
Liofilización	Soluble	<200	<97	Alto volumen de micro poros interconectados.
Separación de fases inducida térmicamente	Soluble	<200	<97	Alto volumen de micro poros interconectados
Impresión 3D	Soluble	45-150	<60	100% de interconectividad de macro poros, diseño y fabricación capa por capa.

2.3.1 Métodos tradicionales.

Entre los métodos tradicionales de fabricación de scaffolds se encuentran el colado con solvente y lixiviación de partículas²⁴, la espumación, separación de fases, colado y

²⁴ Este método se describe con mayor detalle por formar parte esencial del desarrollo del presente trabajo.

liofilización [31]. Con estos métodos no se puede tener un buen control del tamaño, la geometría y la interconectividad de los poros [39]. Los scaffolds producidos vía SCPL no presentan una completa interconectividad de poros y suelen formar una película de polímero sin partículas porogénicas en la superficie expuesta al ambiente. Con el método de espumación se ha reportado que sólo el 10 – 30% de los poros se encuentran interconectados.

2.3.1.1 Colado con solvente y lixiviación de partículas (SCPL).

Es uno de los métodos más comunes y más sencillos para fabricar scaffolds. Este método involucra mezclar un agente porogénico soluble en agua en una solución de polímero. Posteriormente la solución se vacía en un molde con la forma deseada. Una vez que el solvente se retira por evaporación o liofilización las partículas de sal son lixiviadas para obtener una estructura porosa. Los agentes porogénicos puede ser sal, azúcar, gelatina o parafina. Para el caso de la parafina se utiliza un solvente orgánico como el hexano. Con este método se puede tener un buen control del tamaño de poro mediante el tamaño del agente porogénico y de la porosidad mediante la proporción del agente y el polímero. La principal desventaja radica en que no se tiene un buen control de la estructura interna del scaffold ya que los poros pueden no estar completamente interconectados o uniformemente distribuidos. También en ocasiones pueden quedar residuos de solvente dentro del scaffold.

Este proceso se puede modificar para mejorar la permeabilidad, la interconectividad y para tener una mejor distribución de los poros. Para esto se pone a vibrar el molde mientras se disuelven las partículas de sal para evitar que las partículas sedimenten dentro del scaffold por acción de la gravedad [33,38,39]. Este proceso está limitado a membranas delgadas de hasta 3 mm de espesor, para producir estructuras tridimensionales más grandes dichas membranas se laminan unas sobre otras [31].

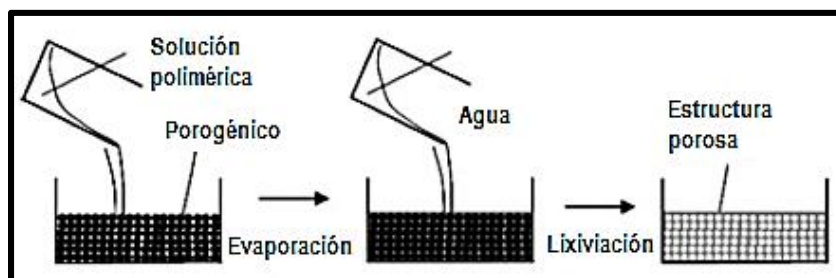


FIGURA 2.2 Etapas del proceso SCPL.

2.3.2 Tecnologías de fabricación por adición.

Los métodos SFF resultan ser una buena alternativa para fabricar scaffolds con una microestructura controlada y con geometrías complejas. Mediante estos procesos se puede controlar el tamaño, la geometría y la distribución de los poros, así como la porosidad y también se pueden crear estructuras internas para mejorar el transporte de nutrientes dentro del scaffold [31]. En general, estos procesos parten de un modelo virtual creado mediante un software de CAD, posteriormente el modelo se representa en capas las cuales corresponden a los cortes transversales del objeto. Los cortes se envían a la máquina de SFF la cual reproduce el modelo capa por capa, cada capa nueva se adhiere a la anterior hasta tener el modelo completo. En algunos casos se requiere remover del modelo estructuras temporales de soporte [31,39,40]. Los modelos virtuales se pueden obtener mediante CT o MRI lo cual permite obtener scaffolds que tengan la forma exacta del lugar donde se implantaran [31]. Yeong et al. (2004) clasifican las tecnologías SFF en: i) deposición de disolución fundida y ii) adhesión de partículas.

2.3.2.1 Tecnologías de deposición de disolución fundida.

Cada capa es creada mediante la extrusión de un filamento de material a través de un orificio mientras se mueve sobre un plano siguiendo el contorno de la sección transversal del modelo en CAD. El material se enfría, se solidifica y se une a la capa anterior. El proceso se repite hasta formar el objeto. Algunos ejemplos comerciales de las tecnologías de deposición de disolución fundida son: modelado por deposición fundida (FDM), deposición de fibras 3D, deposición por extrusión de precisión (PED), manufactura por extrusión de precisión (PEM), manufactura por deposición a baja temperatura (LDM), manufactura por deposición por multi-inyectores (MDM), microjeringa presurizada (PAM) y prototipado rápido por un sistema dispensador robótico (RPBOD). En la Tabla 2.2 Se muestran las capacidades de las tecnologías mencionadas.

TABLA 2.2 TECNOLOGÍAS DE DEPOSICIÓN DE DISOLUCIÓN FUNDIDA.

Tecnología	Resolución [µm]	Materiales	Ventajas	Desventajas
FDM	250	PCL, PP-TCP, PCL-HA, PCL-TCP	Buenas propiedades mecánicas	Se requiere de altas temperaturas para manipular el material
Deposición de fibras 3D	250	PEGT-PBT	El material se puede usar en forma de pellets	Se requiere de altas temperaturas
PED	250	PCL	El material se puede usar en forma de pellets	Se requiere de altas temperaturas
PEM	200-500	PLLA-TCP	El material se puede usar en forma de pellets	Se requiere de altas temperaturas
LDM	400	PLLA-TCP	Permite la incorporación de biomoléculas	Se requiere del uso de solventes
MDM	400	PLLA-TCP	Permite el uso de varios materiales al mismo tiempo y la incorporación de biomoléculas	Se requiere el uso de solventes
PAM	10-600	PCL, PLLA	Permite la incorporación de biomoléculas y se tiene una resolución muy fina	Se requiere el uso de solventes y el diámetro de la jeringa no permite la incorporación de partículas
RPBOD	400-1000	Quitosano-HA	Permite la incorporación de biomoléculas	Se requiere un control preciso de las propiedades del material y del medio

FDM. Este método consiste en alimentar un depósito caliente con un filamento de material para posteriormente hacerlo pasar a través de una boquilla. La temperatura a la salida debe ser lo suficientemente alta para fundir las capas entre sí. Una de las desventajas de esta tecnología es la necesidad de que el material con el cual se alimenta la máquina debe tener un diámetro específico. Otro inconveniente involucra la temperatura de operación, ésta es tan alta que impide la incorporación de biomoléculas.

Deposición tridimensional de fibras. Este método tiene la diferencia que el material con el cual se alimenta la máquina se introduce en forma de pellets. El flujo de material se regula aplicando presión a la jeringa.

LDM. Este sistema se elimina la necesidad de elevar la temperatura del material de trabajo ya que el proceso se realiza en un ambiente a temperaturas bajo 0° C.

MDM. Esta tecnología es similar a la LDM con la ventaja de incorporar más boquillas lo cual permite que se pueda trabajar con más de un material a la vez, por ejemplo, las estructuras de soporte pueden fabricarse con un material soluble en agua lo que facilita su posterior remoción.

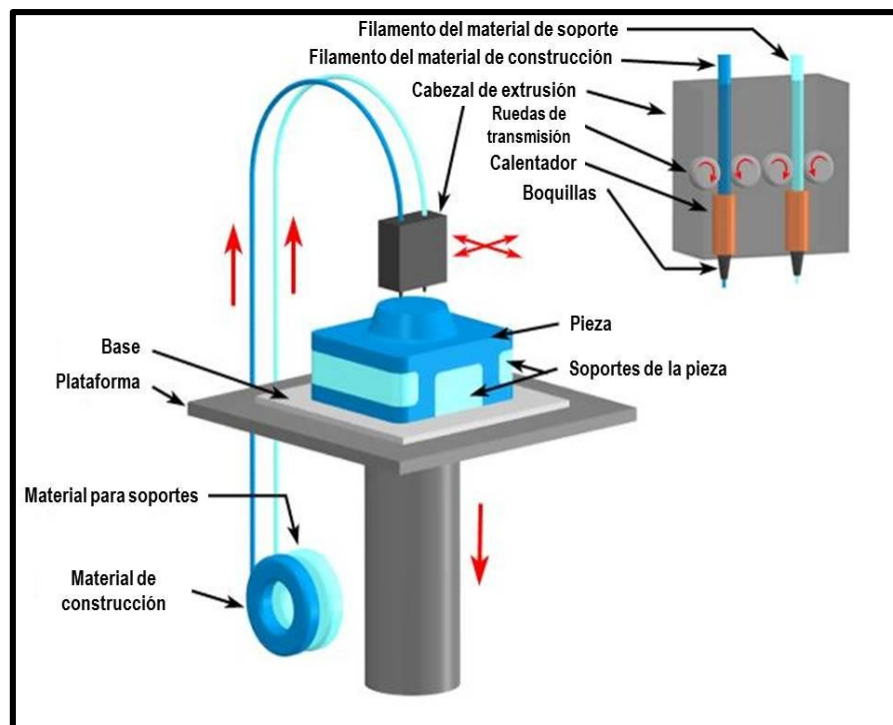


FIGURA 2.3 Esquema de los componentes de un proceso MDM²⁵.

PAM. Una microjeringa se utiliza para expulsar la solución polimérica a presión constante para formar el contorno deseado. La principal desventaja de esta tecnología es el tamaño de la jeringa, la cual es tan delgada que requiere de mucha precaución al momento de manejarla para evitar que se rompa, también se necesita de una presión grande para expulsar el material.

²⁵ Imagen obtenida de <http://www.custompartnet.com/>

2.3.2.2 Tecnologías de adhesión de partículas.

Mediante las tecnologías de adhesión de partículas se pueden obtener scaffolds con una buena microporosidad y con una superficie rugosa, la cual ayuda a que exista una mejor adhesión de las células. El procedimiento general consiste en unir partículas selectivamente en una capa delgada de material en forma de polvo, las capas delgadas se unen unas con otras hasta formar un objeto tridimensional. Durante el proceso de fabricación el polvo que no se une actúa como estructura de soporte para las partes del modelo que no están conectadas o que se encuentran en voladizo. Entre los procesos de adhesión de partículas más comunes encontramos la impresión tridimensional (3DP) y el sinterizado selectivo por láser (SLS) [39]. Los procesos de fabricación de scaffolds por adhesión requieren el uso de solventes orgánicos los cuales son difíciles de retirar de la pieza en su totalidad y resultan dañinos para el cuerpo humano. Otro problema con este tipo de tecnologías deriva del polvo que queda atrapado dentro de los canales, los cuales son muy pequeños lo que dificulta retirar el polvo sobrante [40].

3DP. En este proceso se expulsa un chorro de adhesivo a través de un cabezal de impresión de inyección, el solvente une selectivamente una delgada capa de partículas de polvo siguiendo el contorno de la sección transversal del modelo en CAD para formar un sólido. Para este método se necesita de un solvente orgánico, sin embargo, se ha propuesto usar polímeros a base de almidón los cuales son solubles en agua para evitar el uso de solventes orgánicos y mejorar de esa manera la biocompatibilidad del scaffold.

SLS. En los procesos de sinterizado por láser, los objetos se construyen sinterizando polvos en una cama. La interacción del láser con el polvo aumenta la temperatura local hasta la temperatura de transición vítrea del polvo. Esto resulta en la fusión de las partículas unas con otras y con la capa anterior. Este proceso está limitado por la potencia del láser, y la difusión térmica del polvo. Cuando se fabrican piezas cerámicas vía SLS, se hace una mezcla cerámico-polímero en la cual el polímero se utiliza como un adhesivo con un bajo punto de fusión [39, 40]. Se han realizado mejoras a los procesos de sinterizado láser para producir scaffolds de mejor calidad. Es posible crear objetos más pequeños y con mayor calidad si se utilizan: un láser

con un punto más fino, polvos más finos y capas más delgadas. También se han encontrado formas de eliminar el polvo atrapado entre los canales. Algunas soluciones incluyen el uso de vibraciones ultrasónicas, aire comprimido o un solvente más efectivo [39].

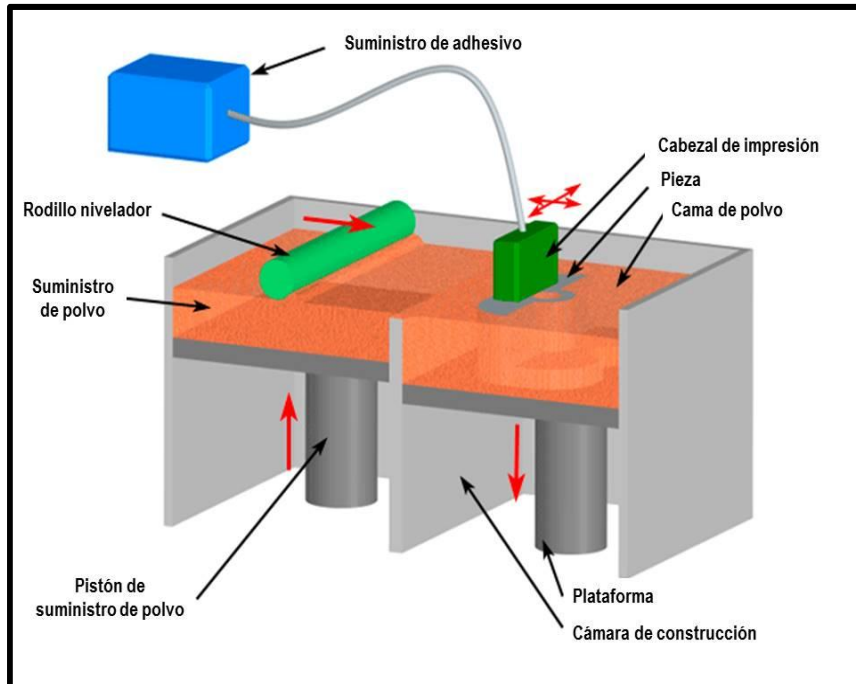


FIGURA 2.4 Esquema de los componentes de un proceso 3DP²⁵.

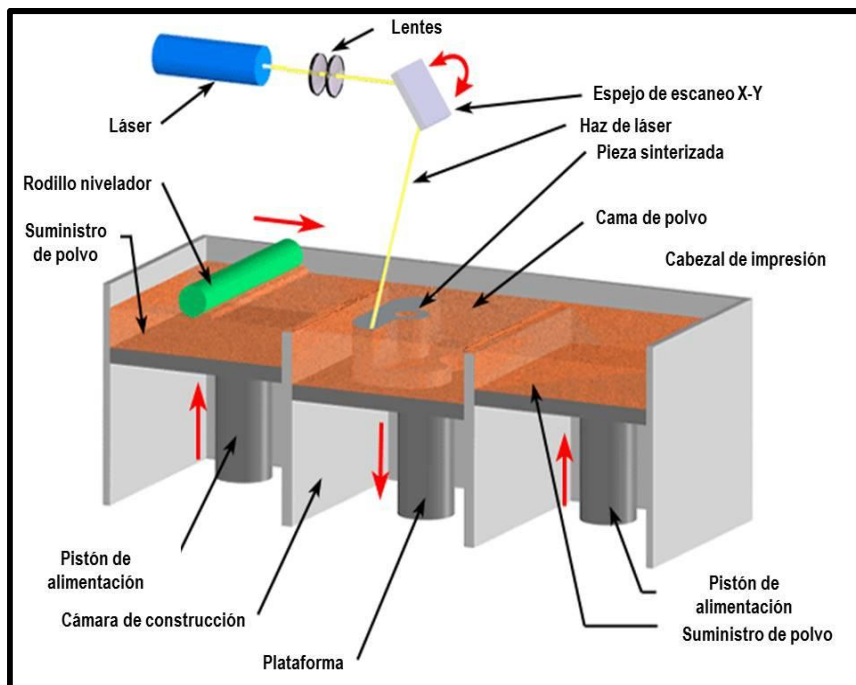


FIGURA 2.5 Esquema de los componentes de un proceso SLS²⁵.

2.3.2.3 Otros métodos.

Fotopolimerización. El principio de este método se basa en la polimerización de resinas fotopoliméricas la cual se inicia mediante radiación electromagnética. Las resinas son mezclas de monómeros de bajo peso molecular capaces de reaccionar en cadena para formar cadenas largas de polímeros cuando se activan mediante radiación de una longitud de onda específica. Un ejemplo comercial de este proceso de fabricación es la estereolitografía (SLA), este proceso consiste en la polimerización selectiva de un monómero líquido fotocurable mediante un haz ultravioleta. El haz UV se guía sobre el líquido fotocurable de acuerdo a las secciones transversales obtenidas mediante CAD. Una vez que se termina el elevador desciende y el proceso se repite hasta que el modelo se ha completado. Este método de fabricación requiere que se añadan estructuras de soporte para evitar que los elementos que no se encuentran interconectados o que se encuentran en voladizo caigan, estos soportes son retirados manualmente una vez que el modelo se ha completado.

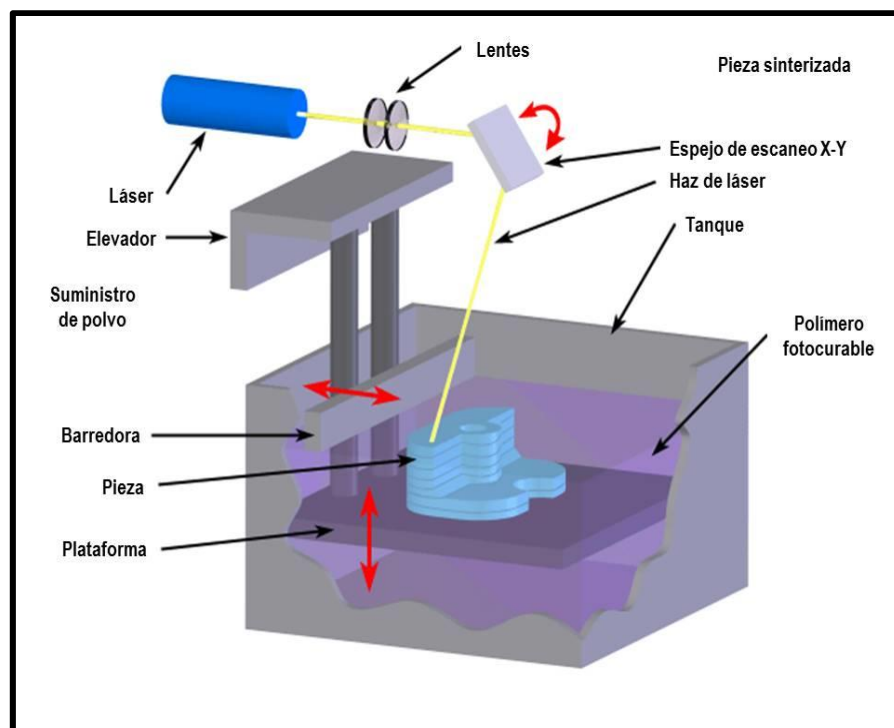


FIGURA 2.6 Esquema de los componentes de un proceso SLA²⁵.

Electrospinning. Este método ha sido utilizado ampliamente para producir nanofibras mediante fuerzas eléctricas. Cuando un campo eléctrico aplicado a una solución polimérica crea fuerzas lo suficientemente grandes para romper la tensión superficial un chorro cargado eléctricamente sale disparado y se solidifica sobre una fibra cargada eléctricamente, dichos filamentos pueden ser manipulados para fabricar diferentes geometrías mediante la manipulación de las fuerzas eléctricas [33].

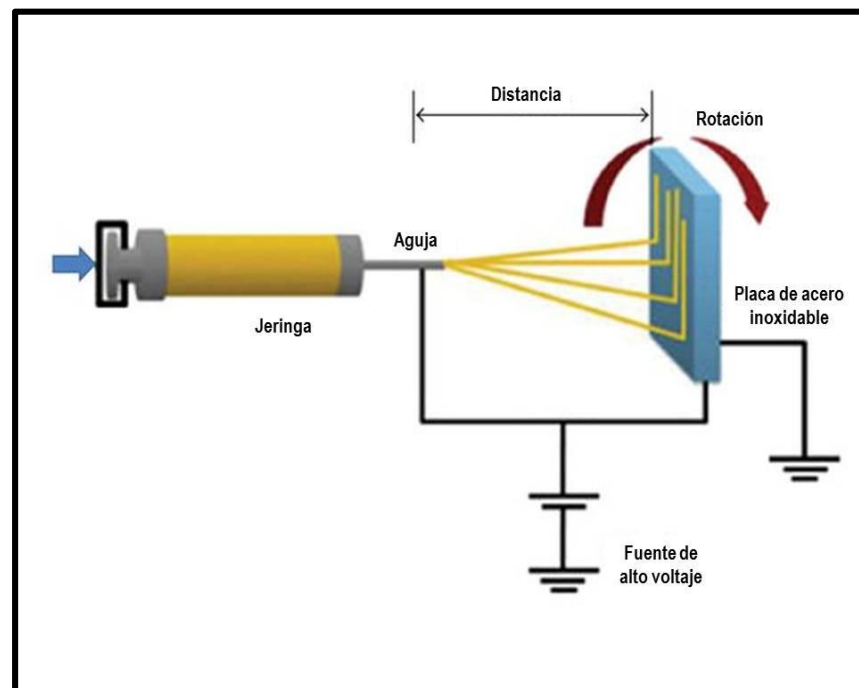


FIGURA 2.7 Esquema de los componentes de un proceso de electrospinning²⁶.

2.4 TENDENCIAS: INGENIERÍA DE TEJIDO ASISTIDA POR COMPUTADORA (CATE).

El CAD ha sido ampliamente utilizado dentro de la ingeniería biomédica con aplicaciones que van desde la medicina clínica hasta el diseño personalizado de implantes. Esto se debe en gran medida gracias al desarrollo de tecnologías no invasivas para la obtención de imágenes. Las imágenes obtenidas de las diferentes estructuras del cuerpo han ayudado a construir modelos virtuales 3D con los cuales se pueden hacer diferentes tipos de análisis y simulaciones, así como fabricar implantes y scaffolds con características muy

²⁶ Imagen obtenida de <http://www.hindawi.com/journals/jnm/2011/929378/>

similares al sitio de implantación. Este tipo de modelado se conoce como “modelado Bio-CAD” [43].

2.4.1 Definición de CATE.

La ingeniería de tejido asistida por computadora (CATE) integra avances tanto en Biología, Ingeniería Biomédica, Informática y procesos modernos de diseño y manufactura para aplicarlos a la Ingeniería de tejido. En otras palabras, es un área que se encarga de modelar, analizar, simular, diseñar y manufacturar tejidos y órganos apoyada en herramientas de CAD-CAM, procesamiento de imágenes médicas y tecnologías de SFF. La CATE cumple tres funciones principales dentro de la Ingeniería de tejido: modelado de tejido asistido por computadora, Bioinformática de tejido asistida por computadora y diseño y manufactura de tejido [43-45].

2.4.2 Modelado de tejido asistido por computadora.

Se refiere a la visualización, reconstrucción y modelado tridimensional del tejido. También incluye el modelado biofísico ayudar en la simulación y planeación de un evento quirúrgico. El modelado de tejido asistido por computadora consiste en dos grandes procesos: la adquisición de imágenes por métodos no invasivos y la reconstrucción 3D. Para obtener las imágenes se debe considerar la técnica que se utilizará, ésta debe ser capaz de producir vistas tridimensionales del tejido u órgano analizado, debe ser capaz de diferenciar entre diferentes tipos de tejidos y debe mostrar con buen detalle la estructura vascular del sitio. Las principales modalidades no invasivas para obtener imágenes son la tomografía computada (CT), la resonancia magnética (MRI) y la microscopía óptica. La reconstrucción 3D se realiza a partir de las imágenes bidimensionales obtenidas por los métodos enlistados. Cada imagen corresponde a una sección del tejido y órgano, éstas se superponen unas con otras hasta formar un modelo 3D completo. Una vez hecha la reconstrucción, es posible diferenciar cada tipo de tejido y aislarlo del resto del sistema con ayuda de software especializado disponible comercialmente.

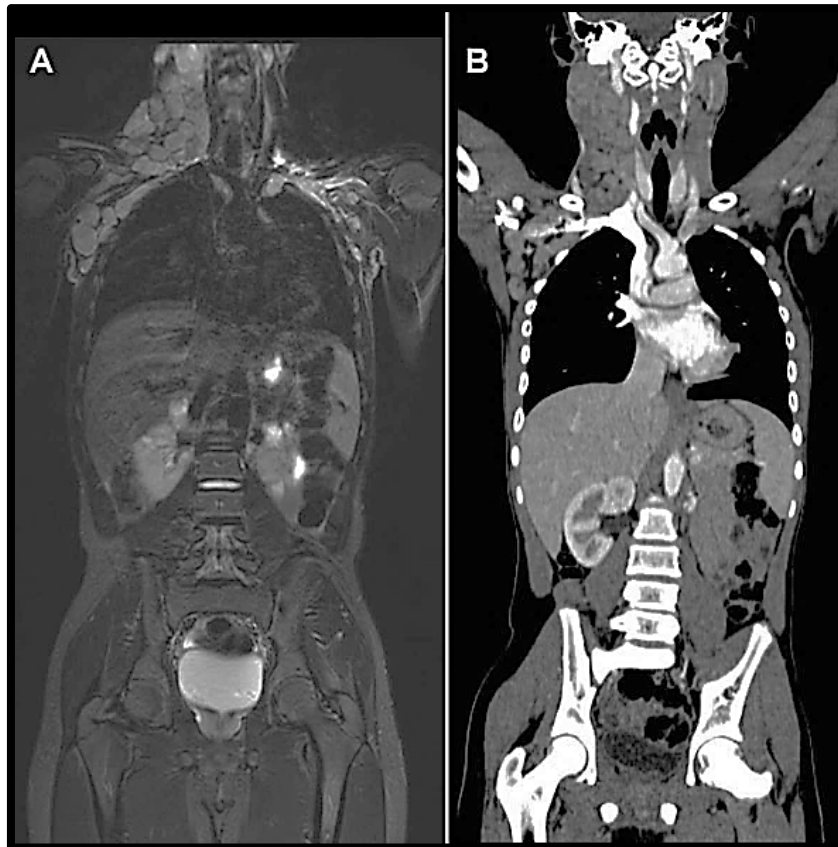


FIGURA 2.8 Cortes frontales de torso humano a) obtenido vía MRI; b) obtenido vía CT²⁷.

2.4.3 Bioinformática de tejido asistida por computadora.

En la actualidad se cuenta con vastas bases de datos bioinformáticas. Se tienen cientos de mapas genéticos, de estructuras de proteínas y polimorfismos de un nucleótido simple²⁸, etcétera. Sin embargo toda esta información resultaría poco útil si no se contara con una herramienta que ayude a sacar provecho de ella. La bioinformática es la llave para hacer uso de las bases de datos bioinformáticas ya que ayuda a comprender el metabolismo y los constituyentes celulares a una escala muy pequeña. Es una herramienta auxiliar en la clasificación, identificación y caracterización del tejido en diferentes niveles jerárquicos, el diseño biomimético y el modelado de sistemas biológicos. Este conocimiento es aplicado directamente a la caracterización y el análisis a nivel tisular [44].

²⁷ Imagen obtenida de http://www.mghradrounds.org/clientuploads/may_2010/figure1.jpg

²⁸ **Polimorfismo de nucleótido simple.** Es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base de una secuencia del genoma.

2.4.4 Manufactura de tejidos y órganos.

Los avances realizados en las tecnologías de SFF han permitido el desarrollo de la impresión 3D de células y órganos. Un requisito fundamental para estos procesos es la capacidad de entregar, al mismo tiempo, material para el scaffold, células vivas, nutrientes, medicamentos y factores de crecimiento. La deposición de todos los elementos mencionados se debe realizar en el instante y posición adecuados y en la cantidad necesaria. Al igual que los procesos de SFF requiere:

- 1) Un esquema del modelo el cual es un programa que contiene la información de la geometría y las características biológicas y físicas del tejido y órgano que será impreso.
- 2) Un modelo de impresión, éste consiste en un programa que contiene los comandos de control de la impresión, la planeación del proceso y el camino que deben recorrer las herramientas.
- 3) Maquinaria, que es la herramienta cuya función es la impresión.
- 4) El sistema de cultivo el cual va a mantener y permitir el crecimiento de los objetos vivos impresos.

En la fabricación de un scaffold intervienen una gran cantidad de variables, algunas de ellas son de carácter geométrico, otras de carácter físico-químico y otras de carácter biológico. Es por ello que se hace necesaria la intervención de diferentes áreas de conocimiento para obtener un producto optimizado para una aplicación específica. En el siguiente capítulo se explica la metodología para fabricar un scaffold, de un polímero biodegradable, para la reconstrucción de un pabellón auricular. El método de fabricación será un híbrido entre un método tradicional y un método SFF.

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA DE DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN

3.0 Introducción.

El contenido de este capítulo se dividió en dos subtemas. La primera sección se enfoca en la metodología que se siguió para la realización del proyecto. Las imágenes para la reconstrucción tridimensional se obtuvieron mediante CT. El procesamiento de ellas se realizó con un software especializado de libre distribución llamado InVesalius y con 3DsMax, programa de CAD. Se realizó un molde de ABS con ayuda de tecnologías SFF, a partir de él se obtuvieron moldes de sacrificio de silicón. El scaffold se fabricó con un método tradicional llamado SCPL para lo cual se utilizaron tres agentes porogénicos diferentes. En el capítulo 4 se hace un análisis de los resultados obtenidos para cada uno de ellos.

La segunda sección se centra en la caracterización del scaffold. Inicialmente se determinan las condiciones de la estructura y posteriormente se hace un análisis de las que se esperan del material. La evaluación de los resultados obtenidos se explica con detalle en el capítulo 4.

3.1 Metodología.

La necesidad de desarrollar una metodología para fabricar un scaffold con la geometría del pabellón auricular surge como resultado de los esfuerzos del Laboratorio de Biotecnología del Instituto Nacional de Rehabilitación, a cuyo cargo se encuentra la Dra. María Cristina Velasquillo, de brindar una atención más oportuna a sus pacientes. Actualmente, los requerimientos de scaffolds han sido cubiertos por una empresa estadounidense. Los scaffolds que ellos fabrican presentan una forma bien definida pero carecen del detalle a nivel estructural que se requiere para facilitar las labores quirúrgicas de implantación. Sin mencionar las demoras y los costos inherentes por concepto de importación.

Para atender las cuestiones mencionadas se realizó la propuesta de metodología que se describe en este capítulo. De esta manera se brinda al INR una herramienta que sirva de precedente para que sean ellos quienes fabriquen los scaffolds que requieran y de esta manera puedan procurar a sus pacientes una mejor y más pronta atención.

Para fabricar el scaffold se optó por utilizar una combinación entre un método tradicional de fabricación de scaffolds (SCPL) y un método de SFF (FDM). La Figura 3.1 muestra los pasos que se siguieron para la fabricación del scaffold de PLA.

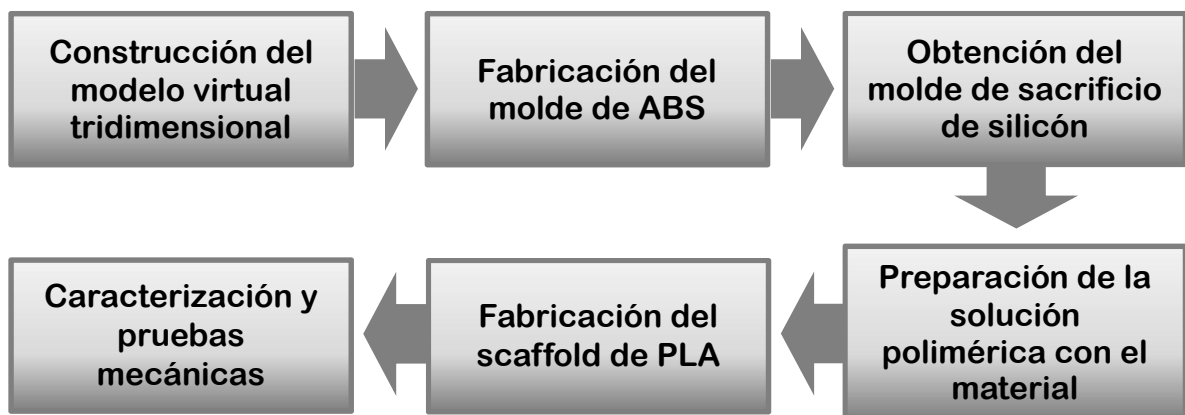


FIGURA 3.1 Diagrama de los pasos para fabricar el scaffold de PLA.

3.1.1 Construcción del modelo virtual tridimensional.

Las imágenes fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) y se obtuvieron mediante CT. Los cortes se exportaron a un programa (*InVesalius 3.0*) que crea modelos tridimensionales a partir de cortes obtenidos mediante CT o MRI. Para comenzar la construcción del modelo virtual 3D se eligió el tejido a partir del cual se construyó el modelo. El programa tiene una serie de filtros para la selección de diferentes tejidos o estructuras presentes en las imágenes importadas, para el caso particular de este trabajo se eligió el filtro de *tejido epitelial adulto*. En la Figura 3.2 se muestra en anaranjado el tejido seleccionado mediante el filtro en una de las secciones (70 de 131).

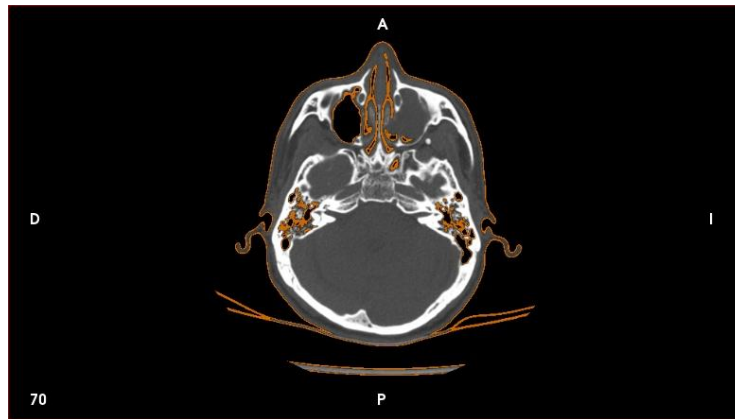


FIGURA 3.2 Visualización del tejido epitelial desde un corte axial.

In *Vesalius 3.0* es un programa enfocado a la medicina por lo que tiene diferentes herramientas para visualizar las imágenes que se importan. Un ejemplo se presenta en la Figura 3.3, en ella se muestran píxeles seleccionados de 60 cortes en una sola imagen. Para más información acerca del manejo del programa se invita al lector a consultar el manual.

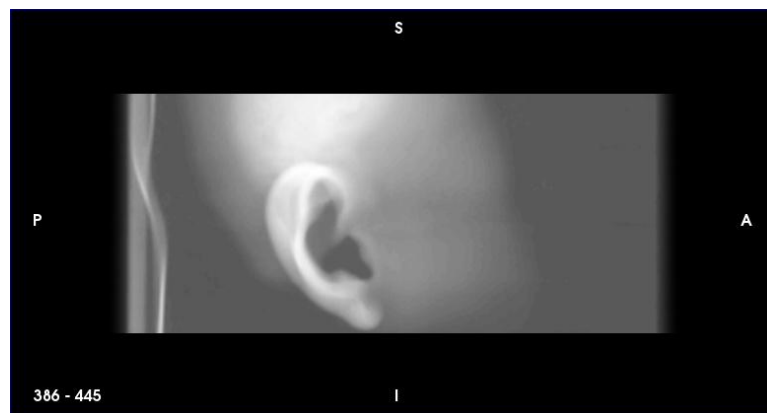


FIGURA 3.3 Visualización del tejido epitelial desde un corte sagital.

Ya que el tejido fue identificado se realizó la reconstrucción 3D de la superficie seleccionada. El resultado se muestra en la Figura 3.4. Se observa que el filtro identificó la cama como parte del tejido, esto se debe a que la selección se realiza mediante la detección de píxeles en un rango específico de la escala de grises. Este detalle se corrigió posteriormente con la ayuda de un programa de CAD. InVesalius 3.0 permite exportar, tanto las imágenes de los cortes de los diferentes planos como la reconstrucción de las superficies seleccionadas. Estas superficies se exportaron como un archivo con extensión .STL para poder manipularlo fácilmente en cualquier programa de CAD.

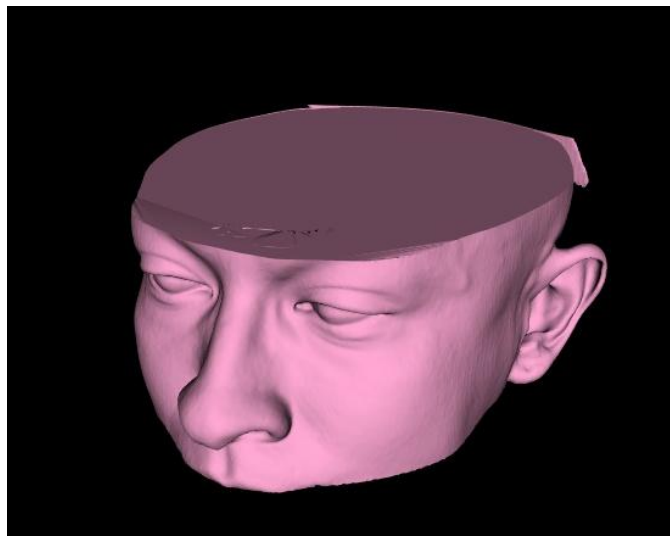


FIGURA 3.4 Reconstrucción 3D.

El modelo que se obtuvo fue la reconstrucción del tejido en su totalidad pero se necesita trabajar únicamente con el pabellón auricular. La superficie se editó en *Autodesk 3ds Max 2014* para eliminar las zonas que no formaran parte del pabellón auricular. Como la superficie de trabajo es muy grande y está descrita por una gran cantidad de polígonos (Figura 3.5), las regiones con las que no se trabajó se eliminaron con la ayuda de planos auxiliares de corte. Esta tarea consiste en seleccionar un plano que pase por la superficie y la divida en dos secciones, una de las cuales se elimina por completo del área de trabajo. Los planos pueden trasladarse a lo largo de los planos de referencia XY, YZ y XZ y pueden rotar alrededor de los ejes de referencia X, Y y Z. Este método de trabajo es el más sencillo y el que consume menor cantidad de recursos informáticos.

Inicialmente se realizaron cortes generales sobre los planos XY, YZ y XZ para reducir el tamaño del archivo y optimizar el rendimiento de la computadora. Una vez que se redujo la superficie, se realizaron cortes más precisos rotados respecto a los ejes X, Y y Z para obtener la mínima superficie de trabajo que mostrara las estructuras principales del pabellón auricular (Figura 3.6).

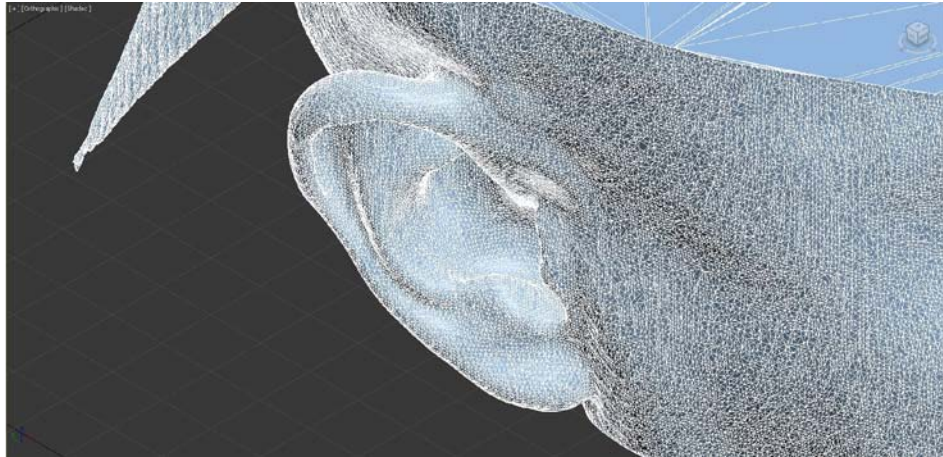


FIGURA 3.5 Acercamiento del pabellón auricular, se observan los polígonos que definen a la superficie.

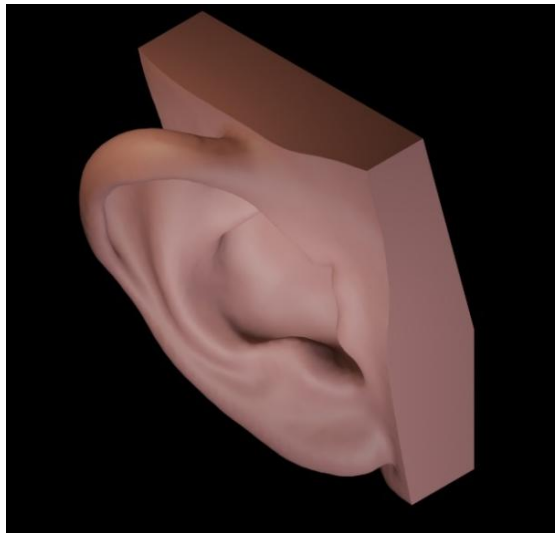


FIGURA 3.6 Pabellón auricular aislado del resto de la cabeza.

3.1.2 Fabricación del molde de ABS y obtención del molde de sacrificio de silicón.

El molde de ABS se fabricó con una impresora 3D que sigue el principio de FDM. La impresora que se ocupó fue el modelo *Cube 2* de la marca *3DSystems*. El volumen máximo permisible de impresión es de 14 x 14 x 14 cm, la resolución es de 200 μm y el

material de impresión puede ser ABS o PLA. El modelo virtual se importó al programa *Cube Software*, el cual es una interfaz entre la computadora y la impresora, en formato .STL. A partir de este archivo el programa obtiene las secciones transversales (Figura 3.7) que conforman el modelo físico. El programa ofrece la opción de imprimir los modelos como sólidos o huecos. El modelo que se muestra en la Figura 3.8 fue fabricado hueco ya que de esta forma se requiere de una menor cantidad de material y de tiempo de fabricación.

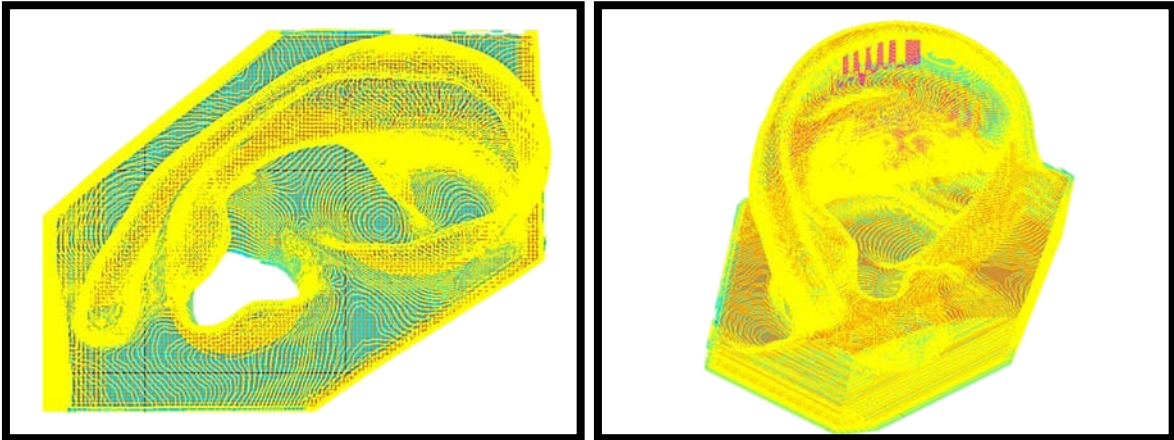


FIGURA 3.7 Vista a) superior, b) isométrico del modelo, en amarillo se muestran los contornos que componen las secciones transversales, en morado se muestran las estructuras temporales de soporte.



FIGURA 3.8 Molde de ABS fabricado con un equipo de FDM.

Para fabricar el molde de silicón se utilizó una masa de silicón “Speedex putty” de la marca Coltene, esta masa se necesita mezclar con un activador para que frague. El activador utilizado fue “Speedex Universal Activator” de la marca Coltene. La mezcla se preparó de acuerdo a las instrucciones provistas por el fabricante. Con la mezcla se tomó la impresión de la totalidad de molde de ABS para obtener un negativo del pabellón auricular. El silicón se dejó fraguar durante un par de minutos y el desmolde se realizó cuando la mezcla era aun ligeramente maleable y era posible retirar el silicón de las zonas más escondidas del molde de ABS (Figura 3.9). Adicionalmente se realizó un molde del hélix para que el proceso de colado se realice en dos etapas, ya que esta estructura es muy delgada y llega a sufrir fracturas durante el proceso de fabricación.



FIGURA 3.9 Moldes negativos de silicón.

3.1.3 Preparación de la mezcla de la solución polimérica y el agente porogénico.

Los porogénicos que pueden ser utilizados son sal, azúcar, grenetina y parafina. Para el caso de este trabajo se descartó el uso de la parafina ya que el proceso de lixiviación se realiza con ayuda de un solvente en lugar de agua.

Se prepararon tres soluciones poliméricas (PLA-sal, PLA-azúcar y PLA-grenetina) con la finalidad de determinar la más apropiada para la fabricación del scaffold. El PLA se disolvió en cloruro de metileno en una proporción de 5ml de solvente por 1g de polímero. La solución se agitó constantemente para asegurar que el polímero se disolviera más rápidamente y que se obtuviera una solución homogénea. Este proceso se realizó dentro de una campana de extracción ya que los vapores, resultado de la evaporación del solvente,

son tóxicos y dañinos para la salud. Mientras el polímero se disolvía se prepararon los porogénicos, tanto la sal como el azúcar se molieron manualmente en un mortero de agatha para reducir el tamaño de las partículas, a la grenetina no se le realizó ninguna clase de preparación. Las cantidades utilizadas para cada uno de los materiales se muestran en la Tabla 3.1, estas cantidades se calcularon considerando tres discos de 15 mm de radio y 5 mm de espesor para cada uno de los porogénicos.

TABLA 3.1 CANTIDAD DE POROGENICO UTILIZADA PARA CADA DISCO.

Porogénico	Densidad g/cm ³	Masa g	Volumen cm ³
Sal	2.17	20.3	9.35
Azúcar	1.59	14.8	9.35
Grenetina hidrolizada	1.35	12.6	9.35

Se prepararon tres mezclas diferentes, la primera con el PLA y la sal (proporción en masa PLA:sal 1:8), la segunda con el PLA y el azúcar (proporción en masa PLA:azúcar de 1:5.9) y la tercera con el PLA y la grenetina hidrolizada (proporción en masa PLA:grenetina de 1:4.8). Las tres soluciones se vaciaron dentro de los moldes de los discos. Esto se realizó en 2 pasos con la finalidad de permitir que el solvente se evaporara de una manera más efectiva y que no se formaran burbujas de aire durante el proceso de evaporación. Entre cada paso se dejaron pasar 20 minutos. Los moldes se dejaron dentro de la campana de extracción durante 12 horas después del colado para que se evaporara la mayor cantidad de solvente.

El proceso de lixiviación se realizó en agua destilada durante 1 día para retirar del interior el material porogénico. Los discos se sumergieron dentro de 100 ml de agua destilada, la cual se cambió cada 6 horas. Este procedimiento se realizó dentro de un recipiente el cual fue acondicionado con una bomba para pecera y un difusor de burbujas para evitar que el agua se estancara y penetrara bien al interior del scaffold.

Después de haber analizado los discos se determinó que el azúcar y la grenetina son los mejores porogénicos para el objetivo de este trabajo por lo que se realizó un molde de

pabellón auricular con la solución de PLA y una combinación de azúcar y grenetina. El procedimiento es similar al utilizado para fabricar los discos y se describe a continuación.

Se preparó la mezcla de PLA, azúcar y grenetina como se describió con anterioridad. En esta ocasión el colado se realizó en cuatro etapas, en cada una de ellas se llenó una cuarta parte del molde y se dejó transcurrir un tiempo de 20 minutos entre cada etapa. Esto se realizó con la finalidad de que el material porogénico sedimentara y se tuviera una distribución más uniforme de él. También favoreció la evaporación del solvente y evito que se formaran burbujas de aire durante el proceso. Los moldes se dejaron dentro de la campana de extracción 12 horas después de haber realizado el colado. El molde de PLA se retiró del molde de sacrificio teniendo cuidado de no comprometer la integridad de las estructuras más delgadas (hélix). Una vez que se tuvo el primer molde de PLA se realizó un segundo proceso de colado con el negativo de silicón del hélix. Se utilizó un método similar al anteriormente descrito con la diferencia que se realizó en una sola etapa. Nuevamente se esperó 12 horas después de haber realizado el colado antes de desmoldar.

El molde se lixivió, dentro del mismo recipiente en el cual se lixiviaron los discos, en agua destilada durante 1 día. Nuevamente se cambió el agua cada 6 y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 12 horas.

3.2 Generalidades de caracterización de las muestras.

3.2.1 Densidad relativa.

La densidad relativa es la comparación de la densidad de la espuma polimérica con la del polímero en su forma sólida. El valor de la densidad relativa se obtuvo utilizando la ecuación 1.1:

$$\rho_{rel} = \frac{\rho^*}{\rho_o}$$

donde ρ^* es la densidad del sólido celular y ρ_o es la densidad del material.

3.2.2 *Porosidad total y tamaño de poro.*

La porosidad total de las muestras se determinó usando la ecuación 3.1:

$$Porosidad\ Total = 1 - \frac{m}{V * \rho}$$

donde m, V y ρ son la masa, el volumen y la densidad de la muestra respectivamente. Para determinar la masa se utilizó una balanza electrónica, el volumen se midió con un Vernier y la densidad se determinó del cociente de la masa entre el volumen.

El tamaño de los poros se determinó utilizando un microscopio óptico con objetivos de 50 y 100 aumentos.

Con la metodología descrita se logró obtener un scaffold con la geometría deseada (pabellón auricular), cuya densidad relativa se encuentra dentro del rango de los sólidos celulares y con una porosidad que a simple vista parece uniforme y homogénea. Además se lograron obtener poros de tamaños que satisfacen las necesidades para la proliferación de células que sean precursoras de la ECM del cartílago elástico. Información detallada al respecto de lo anteriormente mencionado se ofrece en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Estructura y propiedades mecánicas del scaffold

4.1.1 Macroestructura del scaffold.

La pieza que se muestra en la Figura 4.1 es el resultado de la conjunción del método tradicional SCPL y la tecnología FDM. El nivel de detalle de la estructura es superior a la de los especímenes que recibe el INR ya que es posible identificar con mayor facilidad las estructuras que componen al oído externo. En comparación con los implantes hechos a base de silicón, la ventaja principal del scaffold fabricado por el método híbrido anteriormente descrito, es que el polímero utilizado (PLA) degradará completamente para ser sustituido por tejido natural.

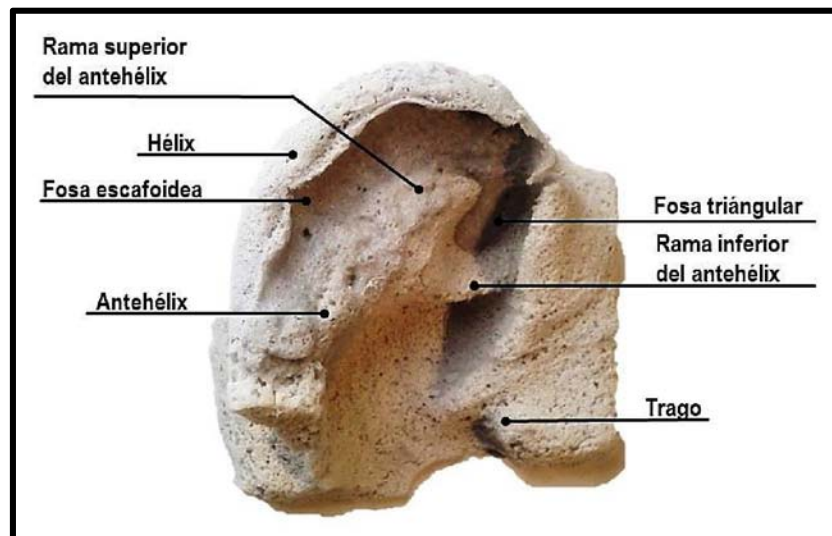


FIGURA 4.1 Scaffold de la parte superior del pabellón auricular con las estructuras principales identificadas.

A simple vista se observa que el scaffold presenta una porosidad uniforme en la totalidad del molde, el contorno se encuentra bien definido y es posible identificar claramente las estructuras principales. Al tacto, el scaffold se siente liviano y con una textura que asemeja la de una esponja. Únicamente se presenta una “costra” en la parte del molde que se encontraba expuesta al medio ambiente. Esto es inherente al método de fabricación y se debe a la sedimentación del agente porogénico durante la evaporación del solvente. Para evitar este fenómeno se propone el uso de una mesa vibratoria para que las partículas que se encuentran disueltas en la solución polimérica no sedimenten.

4.1.2 Densidad relativa, porosidad y tamaño de poro.

La densidad relativa de un sólido celular juega un papel importante en el comportamiento mecánico del material, es por ello que resulta importante conocer el valor de ésta propiedad. Para determinar el valor de la densidad relativa del scaffold fabricado se analizaron diferentes muestras, fabricadas siguiendo la metodología descrita en el capítulo anterior. Las masas de cada una de las muestras se obtuvieron con ayuda de una balanza electrónica con una precisión de centésimas de gramo y los volúmenes se midieron con un Vernier. El valor de la densidad relativa se calculó utilizando la ecuación 1.1 siendo el valor de la densidad del material que conforma las paredes del sólido celular de 1.32 g/cm^3 .

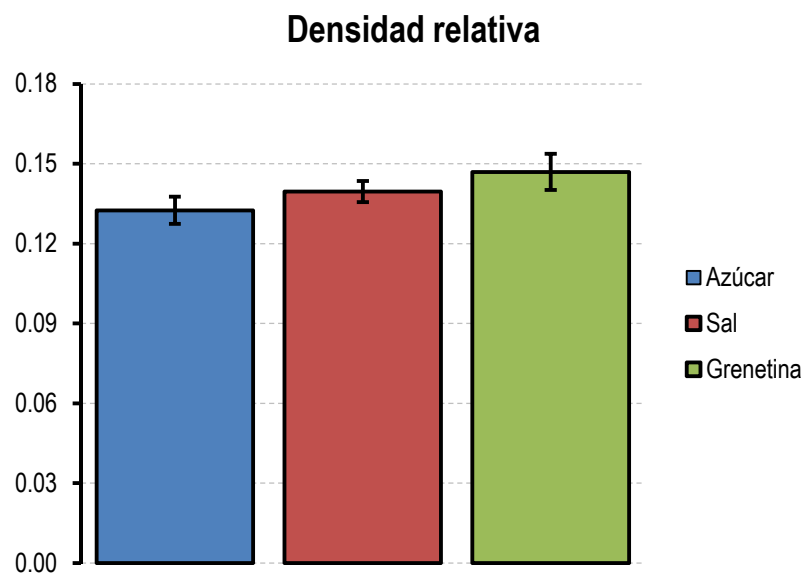


FIGURA 4.2 Densidad relativa con diferentes porogénicos. Las líneas negras indican la desviación estándar para $n=5$.

Con los tres tipos de partículas porogénicas es posible fabricar sólidos celulares con una densidad relativa menor a 0.15. Con el azúcar como porogénico es posible obtener un material celular densidad relativa de 0.1325 ± 0.0051 . Considerando únicamente la densidad relativa como factor determinante, se puede elegir el azúcar como el mejor agente porogénico para fabricar el scaffold, sin embargo éste no será el único factor a considerar.

La porosidad se determinó mediante la ecuación 3.1, para obtenerla se utilizaron nuevamente muestras de diferentes tamaños, los valores de masa y volumen son los mismos que se utilizaron para calcular la densidad relativa.

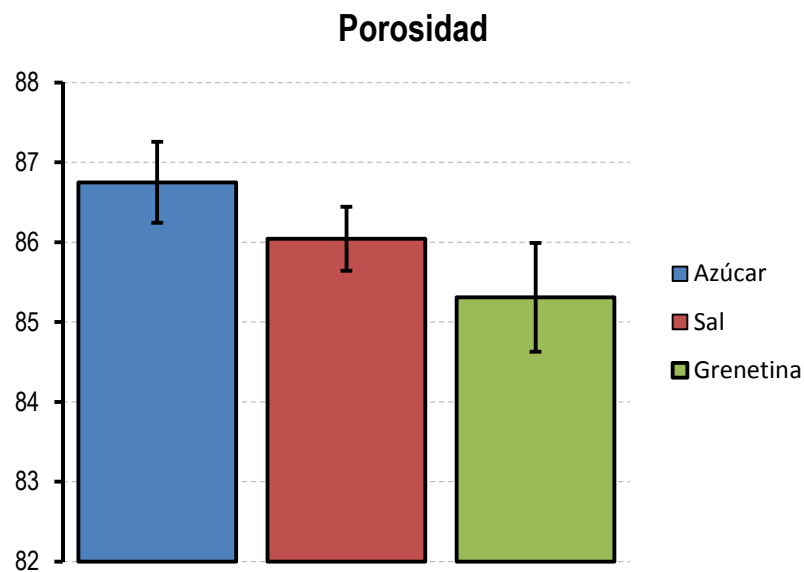


FIGURA 4.3 Porosidad con diferentes porogénicos. Las líneas negras indican la desviación estándar para $n=5$.

No se encontró en la literatura consultada un valor específico para la porosidad que debe tener un scaffold para cartílago auricular, sin embargo se menciona un valor de 95% para el crecimiento y la proliferación de condrocitos. Otro aspecto que se debe considerar es que la porosidad no debe ser muy alta para evitar comprometer el estado físico del construct durante su degradación. Tomando en cuenta lo anterior, se consideró que el azúcar es el mejor agente porogénico considerando la porosidad como factor determinante. Las muestras fabricadas de PLA y azúcar tuvieron un valor de porosidad de $86.75 \pm 0.51\%$.

Finalmente se analizó el diámetro de los poros presentes en las diferentes muestras. Para ello se utilizó un microscopio óptico con objetivos de 50 y 100X. Se midieron los

diámetros aproximados de poros tomados en diferentes secciones de las muestras. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.4. La grenetina mostró el promedio de diámetro de poro más pequeño ($108.46 \pm 25.7 \mu\text{m}$) mientras que la sal mostró los poros más grandes y con la mayor dispersión de los datos ($354.12 \pm 65.72 \mu\text{m}$). El azúcar fomentó la formación de poros medianos ($285.88 \pm 24.14 \mu\text{m}$).

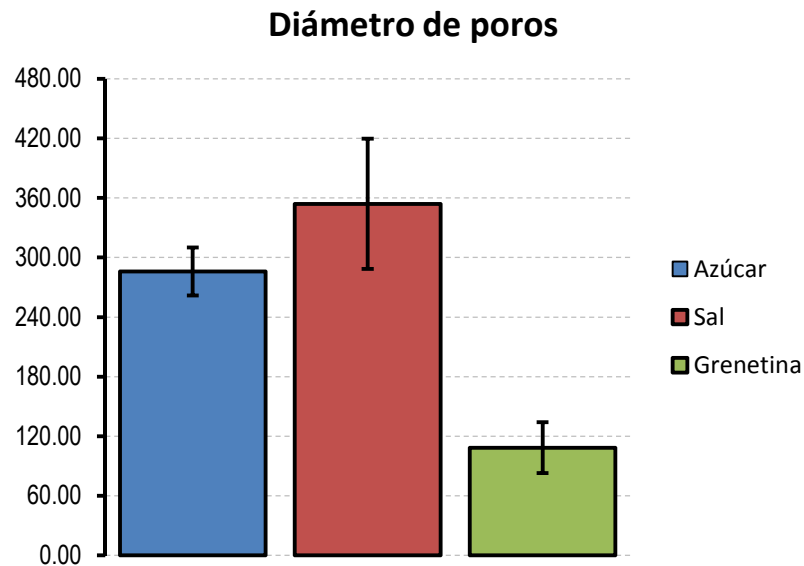


FIGURA 4.4 Diámetro de poros para diferentes porogénicos. Las líneas negras indican la desviación estándar para $n=8$ (azúcar y grenetina) y $n=12$ (sal).

Con los datos anteriormente presentados se decidió hacer pruebas mezclando dos agentes porogénicos (azúcar y grenetina). El azúcar se eligió por la capacidad que tiene de formar materiales celulares con una baja densidad relativa y por consecuencia una alta porosidad, mientras que la grenetina permite la formación de poros con diámetros pequeños los cuales permiten una mejor difusión de nutrientes dentro del scaffold. Otro aspecto que se consideró fue el comportamiento del material durante el proceso de fabricación. La sal tiene a sedimentar más rápidamente que el azúcar y la grenetina por lo cual no se tiene una distribución homogénea de partículas y se forma una costra más gruesa en la parte que se encuentra expuesta al medio ambiente.

Se fabricaron dos muestras con las dimensiones de una probeta de polímero utilizada dentro del laboratorio para ensayos de tracción las cuales fueron cortadas en secciones para hacer las mediciones necesarias.

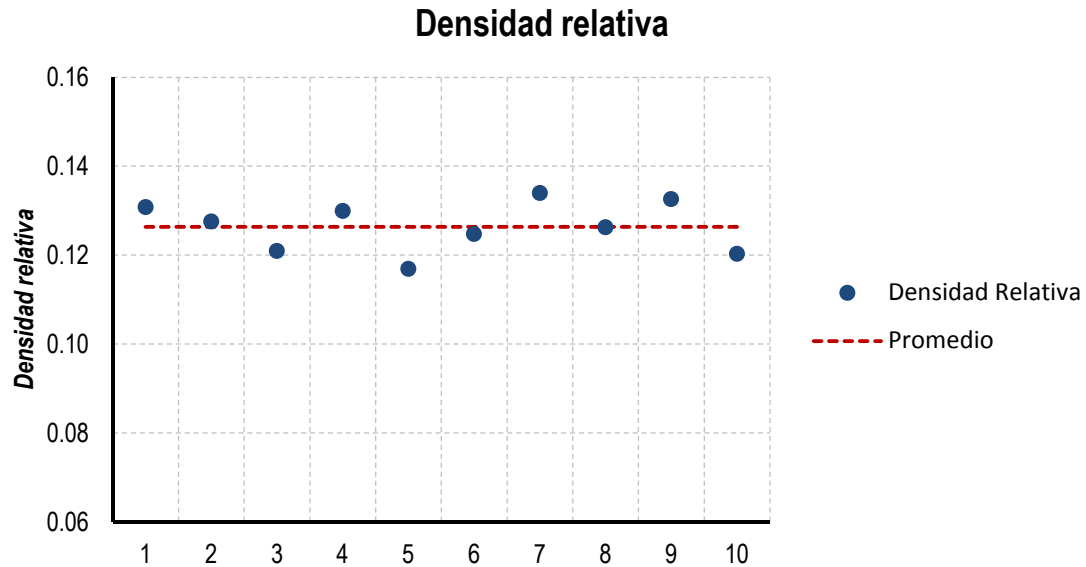


FIGURA 4.5 Densidad relativa de las muestras 50%, grenetina 50% azúcar.

La porosidad es de $87.36 \pm 0.69\%$, este valor nos indica que el método utilizado, pese a estar basado en un método convencional de fabricación de scaffolds, nos genera un objeto con una porosidad adecuada para aplicaciones de ingeniería de tejido. El valor es cercano al 95% que es el valor óptimo para el desarrollo de condrocitos.

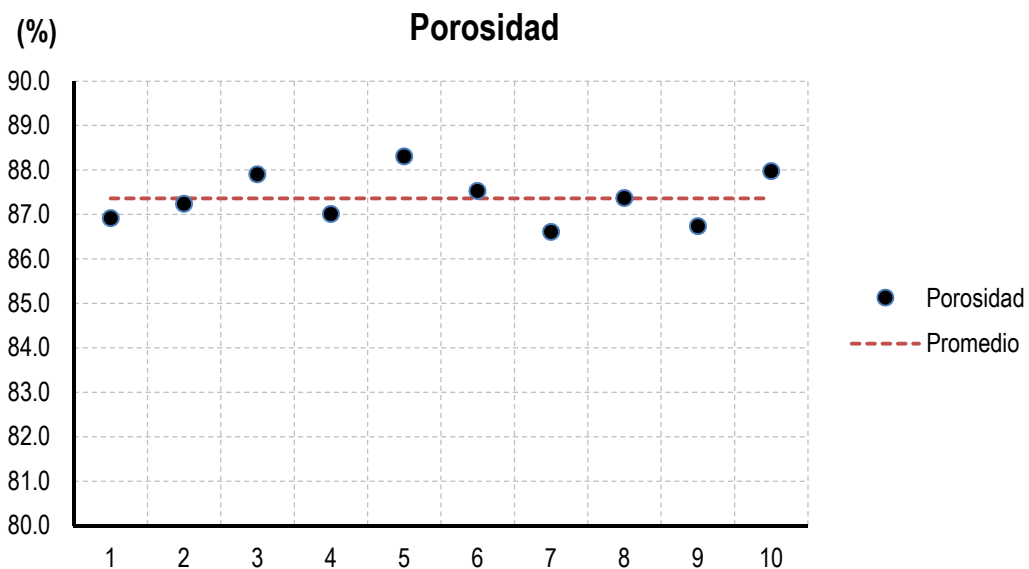


FIGURA 4.6 Porosidad de las muestras 50%, grenetina 50% azúcar.

De las gráficas de porosidad y densidad relativa se observa que el valor de densidad aumenta cuando la porosidad disminuye y viceversa, es decir, la densidad relativa es inversamente proporcional a la porosidad. Sabiendo esto, si se controla con una mayor

precisión la porosidad se puede fabricar un material con una densidad relativa particular. Para un proceso SCPL la porosidad se controla con la cantidad de partículas porogénicas que se añaden. A mayor concentración de partículas, mayor será la porosidad y viceversa.

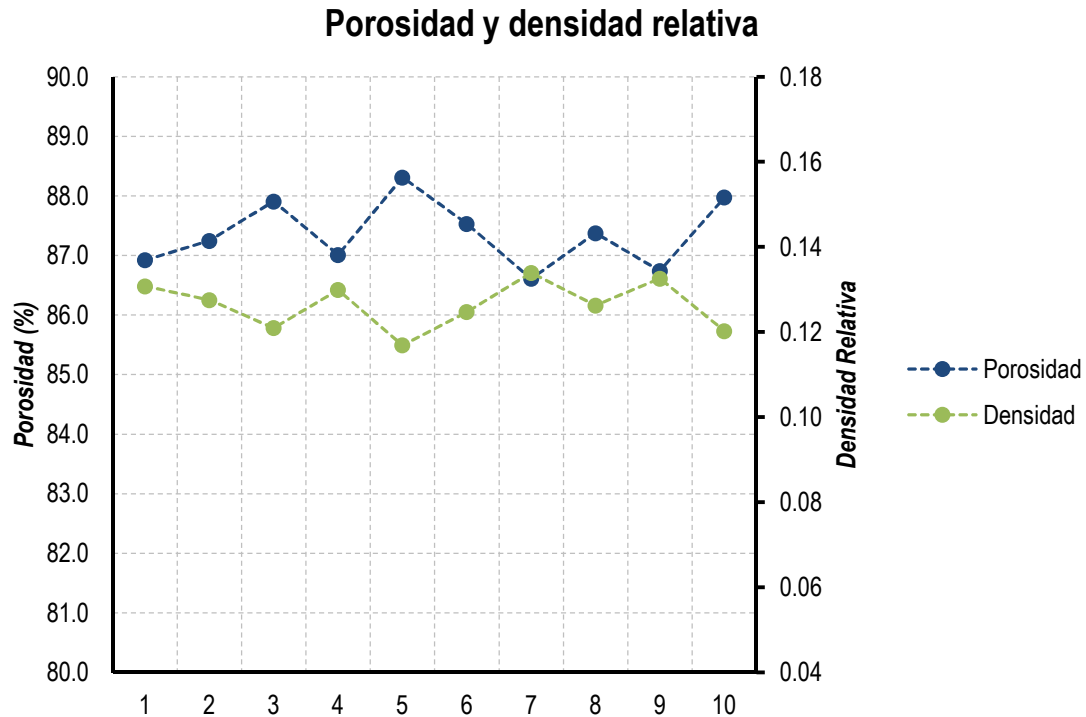


FIGURA 4.7 Porosidad y densidad relativa de las muestras 50%, grenetina 50% azúcar. En el eje principal (izquierda) se muestran los valores de la porosidad, en el eje secundario (derecha) se presentan los valores de densidad relativa.

Para determinar el diámetro y la frecuencia de los poros se realizaron 35 mediciones en diferentes zonas de la muestra (20 en la parte central y 15 en la periferia) dos de ellas se descartaron por salir de los intervalos propuestos. Se encontró que la posición no influye ni en la concentración de poros ni en el tamaño de los mismos. Dentro de las muestras se presentaron tres tamaños de poros, grandes (entre 220 y 300 μm), medianos (entre 120 y 220 μm) y pequeños (entre 120 y 40 μm). La distribución de ellos se muestra en la Figura 4.8. En azul se muestran las frecuencias de los poros grandes, en morado las de los medianos los medianos y en verde las de los pequeños. Los poros grandes predominan en el scaffold pero también es posible encontrar una gran cantidad de poros pequeños. Los primeros promueven la adhesión y proliferación de los condrocitos dentro del scaffold. Los condrocitos son células que se encuentran dispersas dentro del tejido cartilaginoso. Los poros más pequeños permiten la difusión de nutrientes así como de los productos derivados

de la degradación del material del cual está fabricado el scaffold. Dentro de los poros de tamaño mediano se pueden desarrollar mejor los fibroblastos, células que se encargan de sintetizar la ECM del cartílago elástico.

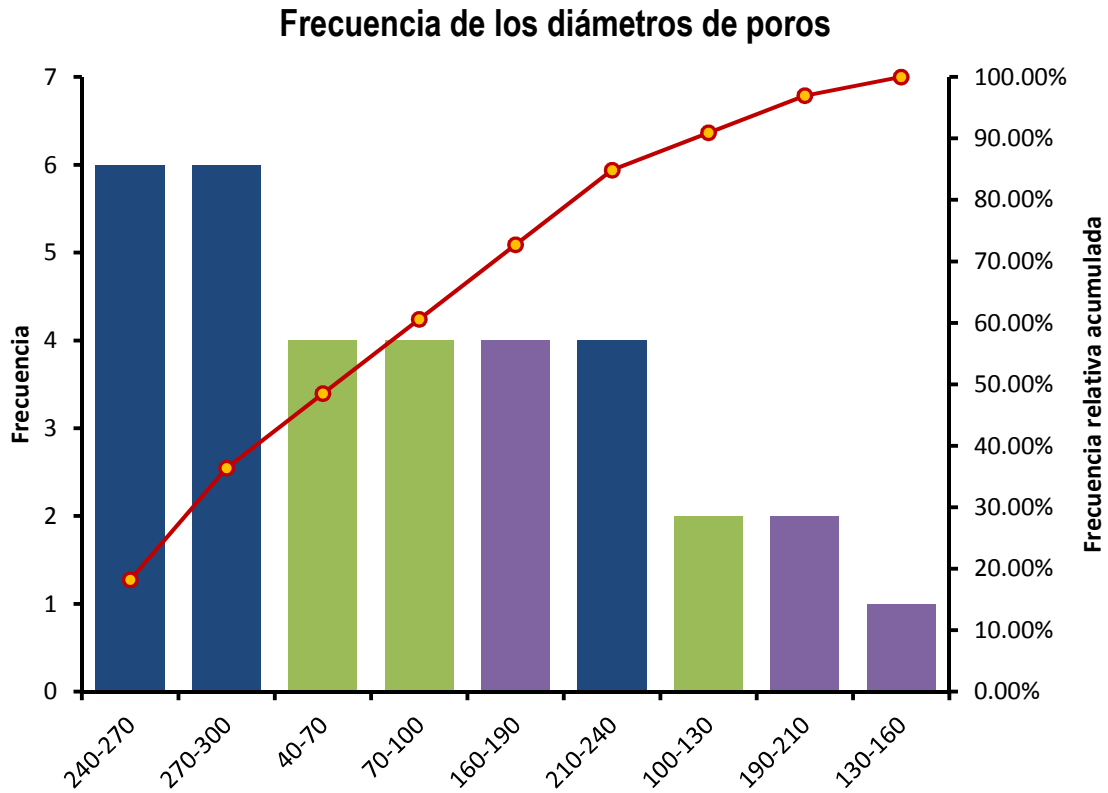


FIGURA 4.8 Tamaños de poros encontrados en las muestras. En azul se presentan las frecuencias de los poros grandes, en morado las de los medianos y en verde las de los pequeños.

Los poros grandes (Figura 4.9) son formados principalmente por el azúcar, la geometría de ellos no es perfectamente regular debido a que el azúcar se presenta en forma de cristales y no partículas esféricas. Los poros más pequeños (Figura 4.10) se deben a la grenetina hidrolizada cuya presentación es en forma de polvos finos. Los poros se encuentran interconectados entre sí. Una buena interconectividad mejora el transporte de nutrientes dentro de la totalidad del scaffold y permite la remoción de desechos al exterior del mismo, también favorece la adhesión y la proliferación de las células ya que éstas pueden migrar y poblar con mayor facilidad la parte más interna del scaffold y con ello se evita que se presente el efecto M&M.



FIGURA 4.9 Poros medianos y poros grandes, la imagen fue obtenida con un microscopio óptico con un aumento de 50X. a) 180.9 μm , b) 292.7 μm , c) 212.2 μm

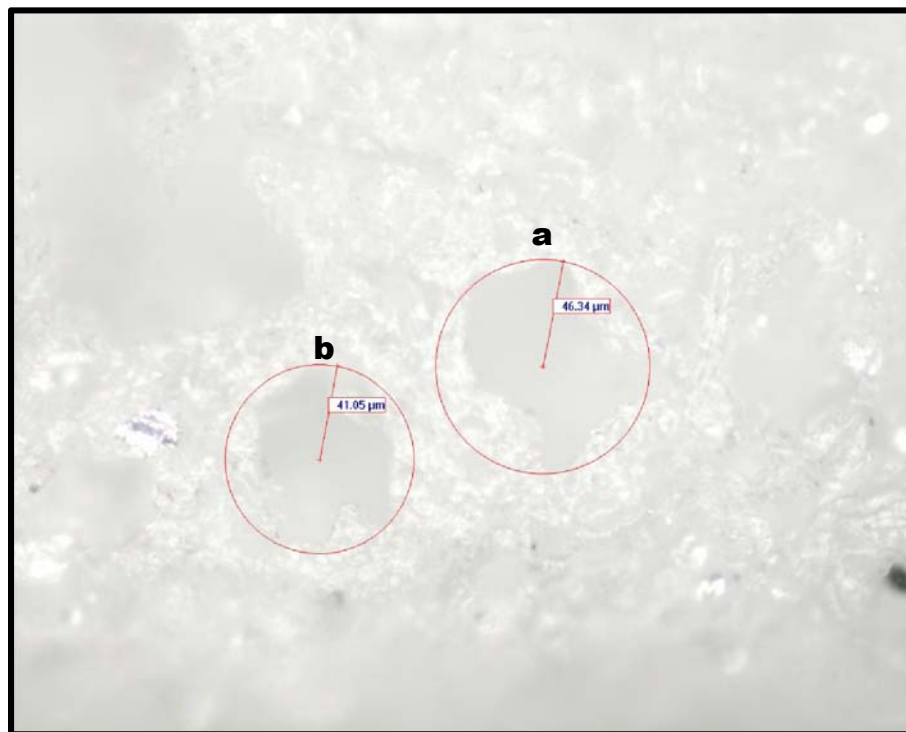


FIGURA 4.10 Poros pequeños, la imagen fue obtenida con un microscopio óptico con un aumento de 200X. a) 46.34 μm , b) 41.05 μm

4.1.3 Módulo de elasticidad.

Es importante que el scaffold se diseñe imitando en la medida de lo posible las condiciones del tejido en el sitio de implantación. El pabellón auricular se compone de cartílago elástico el cual está sometido a esfuerzos de tensión, flexión y torsión. El módulo de elasticidad se determinó con la ecuación 1.9. Los valores de las constantes C_1 y n fueron 1 y 2 respectivamente, debido a que el material consistía de celdas abiertas. El valor del módulo de Young calculado fue de 48 ± 5.2 MPa. En la Figura 4.11 se muestran los valores calculados para cada una de las muestras comparadas con valores encontrados en la literatura para el cartílago hialino (similar al cartílago elástico) y para el fibrocartílago.

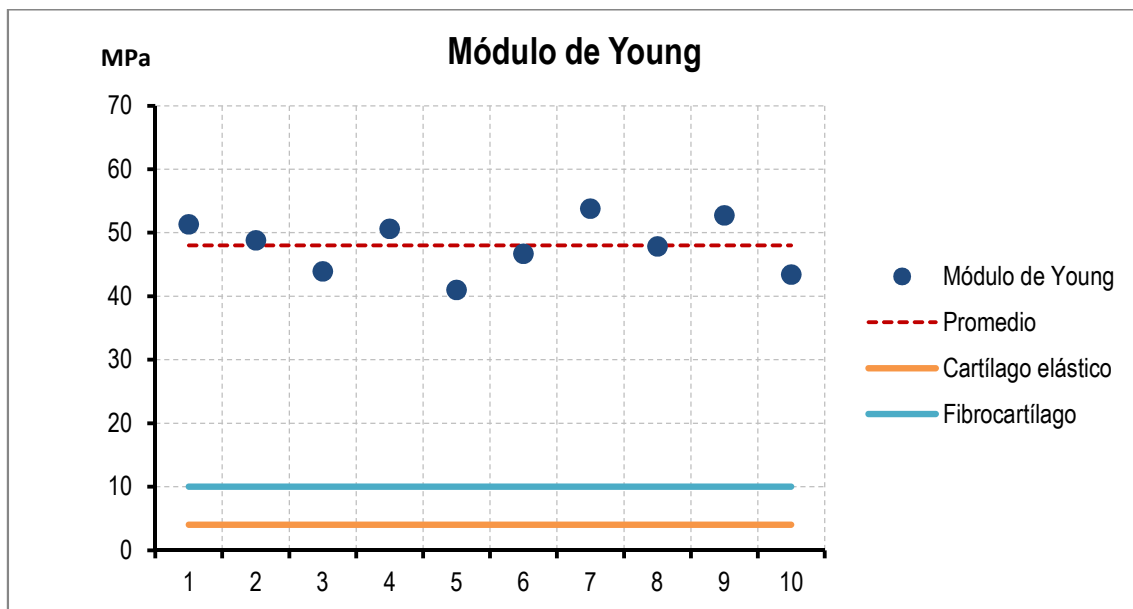


FIGURA 4.11 Comparación de los módulos de elasticidad de las muestras 50%, grenetina 50% azúcar, cartílago hialino (anaranjado) y fibrocartílago (cian).

Existe una relación entre la densidad relativa y el módulo de elasticidad del material. Cuando la densidad relativa disminuye el módulo de elasticidad también disminuye, en otras palabras, E es directamente proporcional a la densidad relativa. Si se desea obtener un material con un determinado módulo de elasticidad es necesario controlar el valor de la densidad relativa del material celular. También se puede definir una densidad relativa y a partir de ella buscar el material que mejor se adecúe a la necesidad que se va a cubrir.

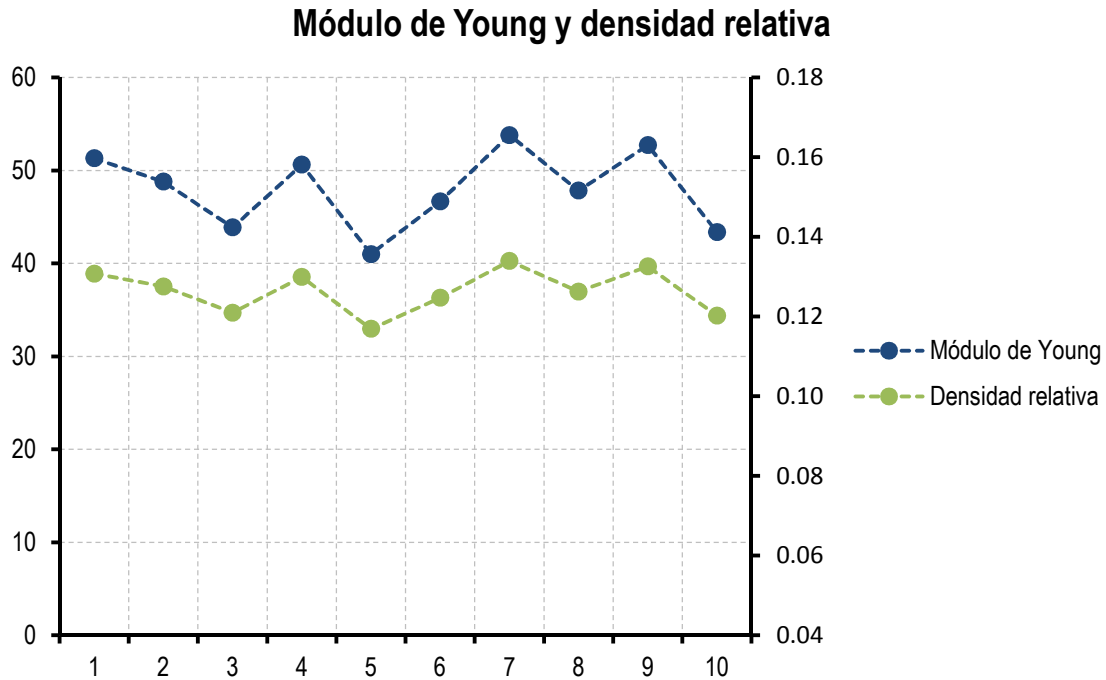


FIGURA 4.12 Módulos de elasticidad y densidades relativas de las muestras 50%, grenetina 50% azúcar. En el eje principal (izquierda) se muestran los valores del módulo de elasticidad, en el eje secundario (derecha) se presentan los valores de la densidad relativa.

Para el caso de este trabajo en particular, las propiedades mecánicas del material no requieren de un estudio más profundo ya que el construct no será implantado inmediatamente al paciente, en su lugar, el tejido será cultivado *ex vivo* y una vez que se tenga el cartílago éste será implantado al paciente. Por lo que únicamente se debe controlar la velocidad de degradación del material para evitar que pierda su geometría durante el tiempo que dure el proceso de crecimiento del neo-tejido.

Con los datos mostrados se determinó que el proceso utilizado permite fabricar un scaffold con las condiciones necesarias de porosidad y tamaño de poro para que se le practiquen pruebas biológicas que determinen si permite la formación del tejido deseado. Además, la geometría de la estructura se obtuvo por medios no invasivos lo cual amplía el área de aplicación de método no únicamente a estructuras exteriores sino también a órganos y estructuras internas.

4.1.4 Memorias de cálculo.

- Para el azúcar como porogénico

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Porosidad (%)	$ X_i - X_{av} $	$(X_i - X_{av})^2$
1	4.5	1.125	0.19	87.2054	0.457207117	0.209038348
2	4.32	1.08	0.18	87.3737	0.625557286	0.391321918
3	2.86	0.715	0.13	86.2259	0.522284771	0.272781382
4	2.76	0.69	0.12	86.8248	0.076589345	0.005865928
5	2.4	0.6	0.11	86.1111	0.637068977	0.405856881
			Promedio	86.7482	Sumatoria	1.284864457
					Desv. Est.	0.51

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad SS (g/cm ³)
1	4.5	1.125	0.19	0.1689
2	4.32	1.08	0.18	0.1667
3	2.86	0.715	0.13	0.1818
4	2.76	0.69	0.12	0.1739
5	2.4	0.6	0.11	0.1833
			Promedio	0.1749

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad relativa	$ X_i - X_{av} $	$(X_i - X_{av})^2$
1	4.5	1.125	0.19	0.1279	0.004572071	2.09038E-05
2	4.32	1.08	0.18	0.1263	0.006255573	3.91322E-05
3	2.86	0.715	0.13	0.1377	0.005222848	2.72781E-05
4	2.76	0.69	0.12	0.1318	0.000765893	5.86593E-07
5	2.4	0.6	0.11	0.1389	0.00637069	4.05857E-05
			Promedio	0.1325	Sumatoria	0.000128486
					Desv. Est.	0.0051

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Módulo de Young (MPa)	$ X_i - X_{av} $	$(X_i - X_{av})^2$
1	4.5	1.125	0.19	49.1106	3.649676191	13.3201363
2	4.32	1.08	0.18	47.8268	4.933558788	24.34000232
3	2.86	0.715	0.13	56.9178	4.157476786	17.28461323
4	2.76	0.69	0.12	52.0760	0.684301016	0.468267881
5	2.4	0.6	0.11	57.8704	5.11005921	26.11270513
			Promedio	52.7603	Sumatoria	81.52572486
					Desv. Est.	4.0380

- Para la sal como porogénico

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Porosidad (%)	X _i -X _{av}	(X _i -X _{av}) ²
1	4.93	1.2325	0.22	86.4773	0.734164493	0.538997502
2	4.68	1.17	0.21	86.4025	0.659301335	0.43467825
3	2.76	0.69	0.13	85.7268	0.016351515	0.000267372
4	3.36	0.84	0.16	85.5700	0.173199498	0.029998066
5	2.94	0.735	0.15	84.5393	1.203914814	1.44941088
			Promedio	85.7432	Sumatoria	2.45335207
					Desv. Est.	0.7005

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad SS (g/cm ³)
1	4.93	1.2325	0.22	0.1785
2	4.68	1.17	0.21	0.1795
3	2.76	0.69	0.13	0.1884
4	3.36	0.84	0.16	0.1905
5	2.94	0.735	0.15	0.2041
			Promedio	0.1882

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad relativa	X _i -X _{av}	(X _i -X _{av}) ²
1	4.93	1.2325	0.22	0.1352	0.007341645	5.38998E-05
2	4.68	1.17	0.21	0.1360	0.006593013	4.34678E-05
3	2.76	0.69	0.13	0.1427	0.000163515	2.67372E-08
4	3.36	0.84	0.16	0.1443	0.001731995	2.99981E-06
5	2.94	0.735	0.15	0.1546	0.012039148	0.000144941
			Promedio	0.1426	Sumatoria	0.000245335
					Desv. Est.	0.0070

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Módulo de Young (MPa)	X _i -X _{av}	(X _i -X _{av}) ²
1	4.93	1.2325	0.22	54.8586	6.265610254	39.25787186
2	4.68	1.17	0.21	55.4677	5.656519916	31.99621756
3	2.76	0.69	0.13	61.1170	0.007248599	5.25422E-05
4	3.36	0.84	0.16	62.4676	1.343362208	1.804622023
5	2.94	0.735	0.15	71.7102	10.58601656	112.0637466
			Promedio	61.1242	Sumatoria	185.1225106
					Desv. Est.	6.0848

- Para la grenetina hidrolizada como porogénico.

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Porosidad (%)	$ X_i - X_{av} $	$(X_i - X_{av})^2$
1	2.86	0.715	0.14	85.1663	0.14373995	0.020661173
2	3.06	0.765	0.15	85.1456	0.164515372	0.027065308
3	1.92	0.48	0.09	85.7955	0.485365793	0.235579953
4	0.96	0.24	0.05	84.2172	1.092917035	1.194467646
5	1.54	0.385	0.07	86.2259	0.915806564	0.838701663
			Promedio	85.3101	Sumatoria	2.316475743
					Desv. Est.	0.6807

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad SS (g/cm ³)
1	2.86	0.715	0.14	0.1958
2	3.06	0.765	0.15	0.1961
3	1.92	0.48	0.09	0.1875
4	0.96	0.24	0.05	0.2083
5	1.54	0.385	0.07	0.1818
			Promedio	0.1939

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad relativa	$ X_i - X_{av} $	$(X_i - X_{av})^2$
1	2.86	0.715	0.14	0.1483	0.001437399	2.06612E-06
2	3.06	0.765	0.15	0.1485	0.001645154	2.70653E-06
3	1.92	0.48	0.09	0.1420	0.004853658	2.3558E-05
4	0.96	0.24	0.05	0.1578	0.01092917	0.000119447
5	1.54	0.385	0.07	0.1377	0.009158066	8.38702E-05
			Promedio	0.1469	Sumatoria	0.000231648
					Desv. Est.	0.0068

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Módulo de Young (MPa)	$ X_i - X_{av} $	$(X_i - X_{av})^2$
1	2.86	0.715	0.14	66.0112	1.134126071	1.286241946
2	3.06	0.765	0.15	66.1962	1.319160773	1.740185146
3	1.92	0.48	0.09	60.5307	4.34630281	18.89034812
4	0.96	0.24	0.05	74.7293	9.8522643	97.06711184
5	1.54	0.385	0.07	56.9178	7.959248334	63.34963405
			Promedio	64.8770	Sumatoria	182.3335211
					Desv. Est.	6.0388

- Para 50% grenetina hidrolizada y 50% azúcar como porogénicos

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Porosidad (%)	$ X_i - X_{av} $	$(X_i - X_{av})^2$	
1	3.54	0.6372	0.11	86.9220	0.440283634	0.193849678	
2	1.98	0.3564	0.06	87.2462	0.116034465	0.013463997	
3	1.74	0.3132	0.05	87.9059	0.543644878	0.295549753	
4	1.62	0.2916	0.05	87.0100	0.352215958	0.124056081	
5	2.88	0.5184	0.08	88.3090	0.946782254	0.896396637	
6	2.7	0.486	0.08	87.5296	0.167383327	0.028017178	
7	1.32	0.396	0.07	86.6085	0.753724497	0.568100617	
8	2.88	0.72	0.12	87.3737	0.011503541	0.000132331	
9	1.6	0.4	0.07	86.7424	0.61980959	0.384163928	
10	3.78	0.945	0.15	87.9750	0.612754143	0.375467639	
				Promedio	87.3622	Sumatoria	2.87919784
						Desv. Est.	0.5366

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad SS (g/cm ³)	
1	3.54	0.6372	0.11	0.1726	
2	1.98	0.3564	0.06	0.1684	
3	1.74	0.3132	0.05	0.1596	
4	1.62	0.2916	0.05	0.1715	
5	2.88	0.5184	0.08	0.1543	
6	2.7	0.486	0.08	0.1646	
7	1.32	0.396	0.07	0.1768	
8	2.88	0.72	0.12	0.1667	
9	1.6	0.4	0.07	0.1750	
10	3.78	0.945	0.15	0.1587	
				Promedio	0.1668

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Densidad relativa	X _i -X _{av}	(X _i -X _{av}) ²
1	3.54	0.6372	0.11	0.1308	0.004402836	1.9385E-05
2	1.98	0.3564	0.06	0.1275	0.001160345	1.3464E-06
3	1.74	0.3132	0.05	0.1209	0.005436449	2.9555E-05
4	1.62	0.2916	0.05	0.1299	0.00352216	1.24056E-05
5	2.88	0.5184	0.08	0.1169	0.009467823	8.96397E-05
6	2.7	0.486	0.08	0.1247	0.001673833	2.80172E-06
7	1.32	0.396	0.07	0.1339	0.007537245	5.68101E-05
8	2.88	0.72	0.12	0.1263	0.000115035	1.32331E-08
9	1.6	0.4	0.07	0.1326	0.006198096	3.84164E-05
10	3.78	0.945	0.15	0.1203	0.006127541	3.75468E-05
			Promedio	0.1264	Sumatoria	0.00028792
					Desv. Est.	0.0054

Muestra	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Masa (g)	Módulo de Young (MPa)	X _i -X _{av}	(X _i -X _{av}) ²
1	3.54	0.6372	0.11	51.3106	3.310299934	10.95808565
2	1.98	0.3564	0.06	48.7978	0.797513125	0.636027185
3	1.74	0.3132	0.05	43.8803	4.119985118	16.97427737
4	1.62	0.2916	0.05	50.6219	2.621574641	6.872653599
5	2.88	0.5184	0.08	41.0037	6.99658459	48.95219592
6	2.7	0.486	0.08	46.6531	1.347181589	1.814898234
7	1.32	0.396	0.07	53.7996	5.799290616	33.63177164
8	2.88	0.72	0.12	47.8268	0.173563675	0.030124349
9	1.6	0.4	0.07	52.7290	4.728678443	22.36039982
10	3.78	0.945	0.15	43.3803	4.620041787	21.34478611
			Promedio	48.0003	Sumatoria	163.5752199
					Desv. Est.	4.0444

CONCLUSIONES

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en el capítulo anterior, los objetivos planteados al inicio de este proyecto se consideran satisfactoriamente cumplidos:

1. Obtención de un modelo virtual tridimensional del pabellón auricular.
2. Fabricación de un molde del pabellón auricular a partir del modelo virtual mediante un proceso de prototipado rápido.
3. Fabricación de un scaffold del pabellón auricular a partir de un polímero biodegradable.

El modelo virtual tridimensional obtenido a partir de las secciones CT mostró un alto nivel de detalle en comparación con intentos realizados con un equipo doméstico de escaneo tridimensional. Con ambos métodos es posible obtener un contorno bien definido de la estructura biológica, sin embargo, las subestructuras que componen el pabellón auricular son únicamente distinguibles en el modelo procesado a partir de las imágenes de CT. Es por ello que es éste método el mejor para modelar estructuras biológicas en general. La mayor desventaja radica la necesidad de exponer al paciente a una pequeña cantidad de energía ionizante.

Los métodos SFF son útiles para fabricar scaffolds con un alto nivel de detalle, como se pudo constatar con el modelo del pabellón auricular que se fabricó en ABS. Sin embargo están limitados por los materiales con los cuales pueden trabajar y por la resolución y el principio de funcionamiento de la máquina con la cual se trabaja. Por otro lado, los métodos convencionales ofrecen la oportunidad de trabajar con una mayor variedad de materiales, pero su debilidad estriba en el poco control que se tiene sobre la

microestructura del scaffold. El scaffold que se obtuvo presentó una geometría muy bien definida y una porosidad adecuada. La mayor parte de los poros se encontraron interconectados y los diámetros de ellos son los óptimos para promover el crecimiento y la migración de las células, así como el transporte de nutrientes.

Cabe mencionar que la aplicación de la metodología descrita en el presente trabajo ayuda a reducir el tiempo de espera de un producto similar que provenga del extranjero. El tiempo requerido para tener un producto listo para que le sean sembradas células es de 4 días. En el primer día se obtienen las imágenes y se realizan la edición del archivo digital y la impresión del molde inicial. En el día 2 se fabrica el negativo de silicón y se hace el colado del polímero en dicho molde. En el tercer día se lleva a cabo la lixiviación de los agentes porogénicos y finalmente en el cuarto día se seca el molde y se esteriliza.

Es posible mejorar la calidad del producto final si se toman en cuenta las siguientes consideraciones:

1. El tamaño de las partículas porogénicas influyen directamente en el tamaño de los poros. Para asegurar un mejor control, para los porogénicos que requieren de un molido previo, se propone utilizar un molino mecánico.
2. Las condiciones ambientales como la temperatura ambiente y la humedad influyen durante el proceso de fabricación. La temperatura modifica la velocidad con la cual el solvente se evapora, y la humedad propicia la nucleación de las partículas porogénicas. Para evitar que lo anteriormente descrito suceda se propone utilizar una cámara en la cual se puedan controlar las condiciones ambientales del proceso.

El PLA es un polímero biodegradable y biocompatible que ofrece las características mecánicas para la aplicación que se propone en el trabajo, sin embargo, es posible combinarlo con otro polímero. El copolímero de PLGA resulta una buena opción ya que si se varían las concentraciones de PLA y PGA se puede controlar la velocidad de degradación del copolímero. Se propone como un trabajo futuro la fabricación de un scaffold de copolímero PLGA en diferentes proporciones para evaluar cuál es la más óptima para fomentar la formación de cartílago elástico.

APÉNDICE A

- Composición química de los aceros inoxidables 316L y 108.

Elemento	Composición (%)	
	316L	108 (BioDur®)
Carbono	0.03 máx.	0.08 máx.
Manganeso	2.00 máx.	21.00 – 24.00
Fósforo	0.03 máx.	0.03 máx.
Azufre	0.03 máx.	0.01 máx.
Silicio	0.75 máx.	0.75 máx.
Cromo	17.00 – 20.00	19.00 – 23.00
Níquel	12.00 – 14.00	0.10 máx.
Molibdeno	2.00 – 4.00	0.50 – 1.50
Nitrógeno	-	0.90 min.

- Propiedades mecánicas del acero 316 y 316L.

Propiedad	Templado	Trabajo en frío
Módulo de Young (GPa)	193	-
Esfuerzo a tensión (MPa)	485	860
Esfuerzo de cedencia (0.2%) (MPa)	172	690
Deformación 2 in ¹ (%)	40	12
Dureza Rockwell	95 HRB	-

¹ 2 pulgadas de longitud de análisis.

- Composición química de las aleaciones Co-Cr usadas en la ingeniería biomédica.

Elemento	CoCrMo		CoCrWNI		CoNiCrMo		CoNiCrMoWFe	
	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.
Cr	27.0	30.0	19.0	21.0	19.0	21.0	18.00	22.00
Mo	5.0	7.0	-	-	9.0	10.5	3.00	4.00
Ni	-	2.5	9.0	11.0	33.0	37.0	15.00	25.00
Fe	-	0.75	-	3.0	-	1.0	4.00	6.00
C	-	0.35	0.05	0.15	-	0.025	-	0.05
Si	-	1.00	-	1.00	-	0.15	-	0.50
Mn	-	1.00	-	2.00	-	0.15	-	1.00
W	-	-	14.0	16.0	-	-	3.00	4.00
P	-	-	-	-	-	0.015	-	-
S	-	-	-	-	-	0.010	-	0.010
Ti	-	-	-	-	-	1.0	0.50	3.50
Co	Restante hasta balancear							

- Propiedades mecánicas de las aleaciones de Co-Cr.

Propiedad	CoCrMo ²	CoCrWNI ³	CoNiCrMo ⁴	CoNiCrMo ⁵
Módulo de Young (GPa)	210	210	232	232
Esfuerzo a tensión (MPa)	655	860	1200	1793
Esfuerzo de cedencia (0.2%) (MPa)	450	310	965 – 1000.	1585
Deformación 2 in (%)	8	10	50	8

- Composición química del titanio.

Elemento	Composición (%)			
	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Nitrógeno	0.03	0.03	0.05	0.05
Carbono	0.10	0.10	0.10	0.10
Hidrógeno	0.015	0.015	0.015	0.015
Hierro	0.20	0.30	0.30	0.50
Oxígeno	0.18	0.25	0.35	0.40
Titanio	Restante hasta balancear			

² Fundido

³ Forjado

⁴ Templado

⁵ Trabajo en frío

- Composición química de las aleaciones de Titanio.

Elemento	Composición (%)	
	Ti6Al4V	TiNi (Nitinol)
Nitrógeno	0.05	-
Carbono	0.08	-
Hidrógeno	.0125	-
Hierro	0.25	0.66
Oxígeno	0.13	-
Aluminio	5.50 – 6.50	-
Vanadio	3.50 – 4.50	-
Níquel	-	54.01
Cobalto	-	0.64
Cromo	-	0.76
Manganeso	-	0.64
Titanio	Restante hasta balancear	

- Propiedades mecánicas del Ti y sus aleaciones.

Propiedad	Titanio				Aleaciones	
	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Ti6Al4V	Ti13Nb13Zr
Módulo de Young (GPa)	105	105	105	105	113	-
Esfuerzo a tensión (MPa)	240	345	440	550	950	1030
Esfuerzo de cedencia (0.2%) (MPa)	170	275	370	485	880	900
Deformación 2in (%)	24	20	18	15	14	15

- Propiedades físicas y mecánicas de la alúmina y la zirconia.

Propiedad	Alúmina	Zirconia	
		Parcialmente estabilizada	Totalmente estabilizada
Módulo de Young (GPa)	380	205	100 – 200
Resistencia a la flexión (MPa)	200 – 600	400 – 620	900
Resistencia a la compresión (MPa)	1900 – 2100	1700 – 2000	1500
Resistencia a la tensión (MPa)	200 – 250	800 – 1500	-
Densidad (g/cm ³)	3.9	5.7	5.5 – 6.1
Dureza (Mohs)	9.0	6.5	6.5

- Propiedades físicas y mecánicas del sulfato de calcio

	Sulfato calcio seco	Sulfato de calcio húmedo
<i>Gravedad específica</i>	2.32 – 2.33	-
<i>Dureza (Mohs)</i>	1.5 – 2.0	-
<i>Resistencia a la compresión (MPa)</i>	20 – 30	10 – 15
<i>Resistencia a la tensión (MPa)</i>	4 – 6	2 – 4

- Propiedades físicas y mecánicas del carbono

	Grafito	Vítreo	Pirolítico
<i>Densidad (g/cm³)</i>	1.5 – 1.9	1.5	1.5 – 2.0
<i>Módulo de elasticidad (GPa)</i>	24	24	28
<i>Resistencia a la compresión (MPa)</i>	138	172	517

- Hoja de seguridad del Cloruro de Metileno³².

Datos del producto

Nombre: Cloruro de Metileno

Sinónimos: Diclorometano

Fórmula Química: C-H₂-Cl₂

Efectos a la salud

Efectos agudos a la salud. Muy peligroso en caso de contacto con los ojos (irritante), de ingestión, de inhalación. Peligroso en caso de contacto con la piel (irritante). La inflamación en el ojo se caracteriza por enrojecimiento, lagrimeo y comezón.

Efectos crónicos a la salud. La sustancia es tóxica para los pulmones, el sistema nervioso, el hígado, las membranas mucosas, el sistema nervioso central.

Primeros auxilios.

Contacto con los ojos: Remover lentes de contacto. En caso de contacto, enjuagar inmediatamente los ojos con abundante agua fría durante 15 minutos. Buscar atención médica de inmediato.

Contacto con la piel: Lavar inmediatamente la zona con abundante agua. Cubrir la zona irritada con un emoliente. Remueva la ropa y calzado contaminados y lávelos antes de volver a usarlos. Buscar atención médica.

Contacto severo con la piel: Lavar la zona con jabón desinfectante y cubrir el área contaminada con una crema antibacterial. Buscar inmediatamente atención médica.

Inhalación: Aléjese a una zona ventilada. Si hay paro respiratorio proporcionar respiración artificial. Si la respiración es complicada proporcionar oxígeno. Buscar atención médica en caso de que se presente algún síntoma.

³² Obtenida de: <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9926060>

Inhalación severa: Evacuar a la persona a una zona ventilada. Aflojar la ropa (corbatas, collares, cinturones). Si la respiración es complicada suministrar oxígeno. Si la persona no respira suministrar respiración artificial. Buscar atención médica.

Ingestión: No induzca el vómito a menos que así lo indique el personal médico. Buscar atención médica inmediatamente. Aflojar la ropa apretada (corbatas, collares, cinturones).

Fuego y explosión.

Inflamabilidad: Puede ser combustible a altas temperaturas.

Temperatura de auto-ignición: 556°C

Productos de combustión: Óxidos de carbón (CO, CO₂), compuestos halogenados.

Riesgo de incendio en presencia de otras sustancias: No disponible.

Riesgo de explosión en presencia de impacto mecánico: No disponible.

Riesgo de explosión en presencia de descarga estática: No disponible.

Métodos para combatir incendios pequeños: Use polvo químico seco.

Métodos para combatir incendios grandes: Use un aspersor de agua o espuma. No use chorro de agua.

Manejo y almacenaje.

Manténgase alejado del calor. Manténgase alejado de fuentes de ignición. Los recipientes vacíos poseen un riesgo de incendiarse, permita que el material residual se evapore en una campana de extracción. Mantenga el recipiente cerrado en un área fresca y bien ventilada.

Protección.

Lentes de seguridad. Bata. Mascarilla. Guantes.

Propiedades físicas y químicas.

Apariencia: Líquido

Olor: No disponible

Sabor: No disponible

Peso molecular: 84.93 g/mol

Color: No disponible

pH (1% sol/agua): No disponible

Punto de ebullición: 39.75 °C

Punto de fusión: -9637 °C

Temperatura crítica: No disponible

Gravedad específica: 1.3266

Presión del vapor: 46.5 kPa (@20°C)

Densidad del vapor: 2.93

Volatilidad: No disponible

Umbral de olor: 214 ppm

Solubilidad: Soluble en metanol, éter dietílico, n-octanol, acetona. Parcialmente soluble en agua fría.

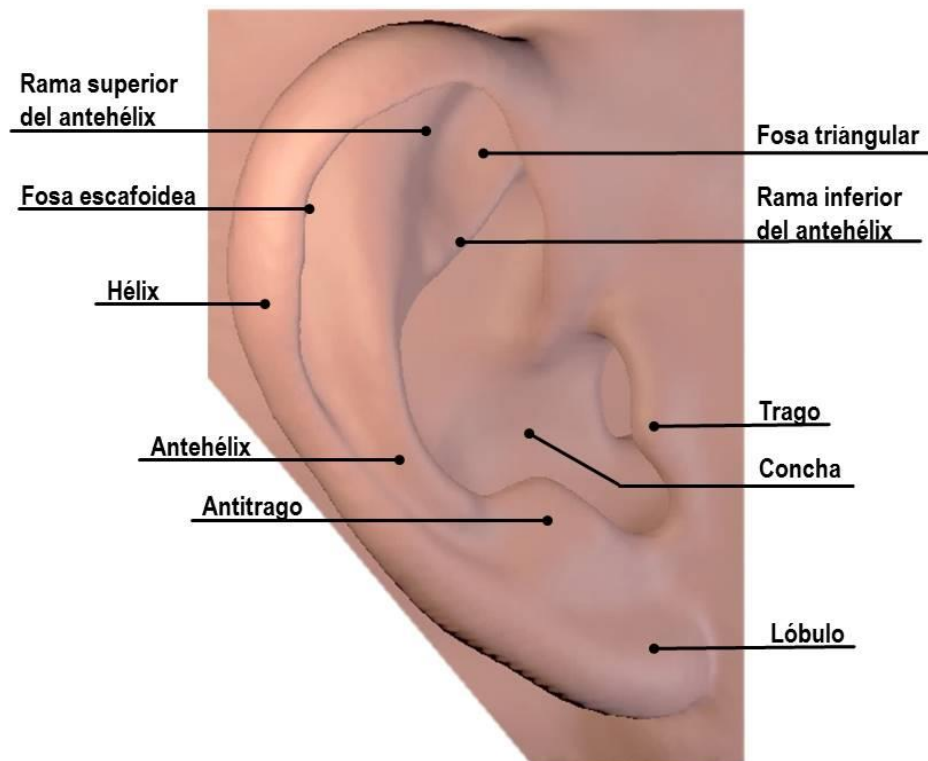
Clasificación NFPA

Salud: 2

Inflamabilidad: 1

Reactividad: 0

- Estructuras del pabellón auricular.



REFERENCIAS

- [1] Gibson, L. J. & Ashby, M. F. (1997). *Cellular solids: Structure and properties*. Reino Unido: Cambridge University Press.
- [2] Wöß, A., Stampfl, J. & Fratzl, P. (2004). Cellular Solids beyond the Apparent Density - an Experimental Assessment of Mechanical Properties. *Advanced Engineering Materials*, 6 (3), 1-9.
- [3] Roberts A. P. & Garboczi E. J. (2001). Elastic moduli of model random three-dimensional closed-cell cellular solids. *Acta Materialia*, 49 (2), 189-197.
- [4] Li K., Gao X.-L. & Subhash G. (2003). Effects of cell shape and cell wall thickness variations on the elastic properties of two-dimensional cellular solids. *International Journal of Solids and Structures*, 42, 1777-1795.
- [5] Grenestedt J. L. (1998). Influence of Imperfections on Effective Properties of Cellular Solids. En D. S. Schwartz, D. S. Shih, A. G. Evans & H. N. Wadley. (Eds.), *Porous and Cellular Materials for Structural Applications*. PA: Materials Research Society.
- [6] Cellular Solids: *Some definitions of cellular solids*. (s.f.). <http://ansatte.hin.no/am/studenter/modmatr/bookmatpart3.pdf>
- [7] Yamada Y., Wen C., Shimojima K., Mabuchi M., et al. (2000). Effects of Cell Geometry on the Compressive Properties of Nickel Foams. *Materials Transactions*, 41(9), 1136-1138.
- [8] O'Brien F. J. (2011). Biomaterials and scaffolds for tissue engineering.
- [9] Anderson J. M. (2006). Fundamental Biological Requirements of a Biomaterial. En Guelcher S. A. & Hollinger J. O. (Eds.). *An Introduction to Biomaterials*. (pp 3-13). EUA: CRC Press, Taylor & Francis Group.

-
- [10] Teoh S. H. (2004). Introduction to biomaterials engineering and processing – an overview. En S. H. Teoh (Ed.). *Engineering Materials for Biomedical Applications*. (pp 1.1-1.15). World Scientific
- [11] Piehler H. R. (2006). Metallic Biomaterials. En S. A. Guelcher & J. O. Hollinger (Eds.). *An Introduction to Biomaterials*. (pp.291-305). USA: CRC Press, Taylor & Francis.
- [12] Sumita M. & Teoh S. H. (2004). Durability of metallic implant materials. En S. H. Teoh (Ed.). *Engineering Materials for Biomedical Applications*. (pp). World Scientific
- [13] Park J. B. & Kim Y. K. (2007). Metallic Biomaterials. En J. B. Park & D. Bronzino (Eds.). *Biomaterials: Principles and Applications*. (pp. 1-18). FL: CRC Press.
- [14] Hench L. L. & Wilson J. (1999). Introduction. En *An Introduction to Bioceramics*. L. Hench & J. Wilson (Eds). World Scientific.
- [15] Billote W. C. (2007). Ceramic Biomaterials. J. B. Park & D. Bronzino (Eds.). En *Biomaterials: Principles and Applications* (pp.21-). FL: CRC Press-Taylor & Francis.
- [16] Kumta P. N. (2006). Ceramic Biomaterials. En S. A. Guelcher & J. O. Hollinger (Eds.). *An Introduction to Biomaterials*. (pp. 311-338). USA: CRC Press, Taylor & Francis.
- [17] Hench L. (1991). Bioceramics: From Concept to Clinic. *Journal of the American Ceramic Society*, 74(7), 1487-1506.
- [18] Nissan B., Choi A. H. & Cordingley R. (2008). Alumina ceramics. En T. Kokubo (Ed.), *Bioceramics and their clinical applications* (pp.223-240). Cambridge: Woodhead Publishing Limited & CRC Press LLC
- [19] Chevalier J., Gremillard L. (2008). Zirconia ceramics. En T. Kokubo (Ed.), *Bioceramics and their clinical applications* (pp.223-240). Cambridge: Woodhead Publishing Limited & CRC Press LLC

-
- [20] Zheng W. (2011). *Preparation and Characterisation of Tri-calcium Phosphate Scaffolds with Tunnel-like Macro-pores for Bone Tissue Engineering* (Tesis de maestría). Queensland University of Technology, Queensland, Australia.
- [21] Ruhé P., Wolke J., Spauwen P. & Jansen J. (2005). Calcium phosphate ceramics for bone tissue engineering. *CRC Biomedical Engineering Handbook*.
- [22] Lee H. B., Khang G. & Lee J. H. (2007). Polymeric Biomaterials. En Y. Wong & D. Bronzino (Eds.). *Biomaterials*. FL: Taylor & Francis Group.
- [23] Lin Q. (2006). Polymer Basics. En D. Shi. *Introduction to Biomaterials* (pp.). China: World Scientific Publishing.
- [24] Saltzman W. M. (2004). Introduction to Polymers. En *Tissue Engineering: Principles for the Design of Replacement Organs and Tissue* (pp. 453-479). New York: Oxford University Press.
- [25] Abramson S., Alexander H., Best S., Bokros J. C., Brunski J. B., Colas A., ..., Yanas I. V. (2004). Classes of Materials Used in Medicine. En B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (Eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* (pp. 80-84, 127-136). USA: El Sevier Academic Press.
- [26] Haarer J. C. & Dee K. C. (2006). Proteins and Amino Acid-Derived Polymers. En Guelcher S. A., Hollinger J. O. (Eds.). *An Introduction to Biomaterials*. (pp 121-135). EUA: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- [27] Yoon M. D. & Fisher J. P. (2006). Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering Applications. En J. D. Bronzino (Ed.), *The Biomedical Engineering Handbook: Tissue Engineering and Artificial Organs* (pp. 37-1 a 37-12). USA: Taylor & Francis Group.
- [28] Lakes R. S. (2007). Composite Biomaterials. En *Biomaterials*. Y. Wong, D. Bronzino (Eds). FL:
- [29] Ramakrishna S., Huang Z., Kumar G., Batchelor A. & Mayer J. (2004). *An Introduction to Biocomposites*. Londres: Imperial College Press.

- [30] Huang, Z.-M. & Ramakrishna S. (2004). Composites in biomedical applications. En T. S. Hin (Ed.). *Engineering Materials for Biomedical Applications Vol. 1* (pp. 9-1-9-49). Singapur: World Scientific.
- [31] Sachlos E. & Czernuszka J. T. (2003). Making Tissue Engineering Scaffolds Work. Review on the Application of Solid Freeform Fabrication Technology to the Production of Tissue Engineering Scaffolds. *European Cells and Materials*, 5, 29-40.
- [32] Boland E. D., Espy P. G. & Bowlin G. L. (2008). Tissue Engineering Scaffolds. En G. E. Wnek & G. L. Bowlin (Eds.). *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering Vol. 4* (pp. 2828-2835). USA: Informa Healthcare.
- [33] Karande, T. S. & Agrawal C. M. (2008). Functions and Requirements of Synthetic Scaffolds in Tissue Engineering. En *Nanotechnology and Tissue Engineering* (pp. 53-75). USA: CRC Press-Taylor & Francis.
- [34] Hollister S. J., Maddox R. D., Taboas J. M. (2002). Optimal design and fabrication of scaffolds to mimic tissue properties and satisfy biological constraints.
- [35] Yang S., Leong K-H. Du Z., Chua C-K. (2002). The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors.
- [36] Harrison K. (2007). Introduction to polymeric scaffolds for tissue engineering. En *Biomedical polymers* (pp. 6-27). FL: CRC Press LLC.
- [37] Hutmacher, D. W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21, 2529-2543.
- [38] Boland E. D., Espy P. G. & Bowlin G. L. (2008). Tissue Engineering Scaffolds. En *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*.
- [39] Yang S., Leong K-H. Du Z., Chua C-K. (2002). The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part II. Rapid Prototyping Techniques.
- [40] Yeong W-Y., Chua C-K., Leong K-F & Chandrasekaran M. (2004). Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential. *Trends in Biotechnology*, 12(22).

- [41] Hutmacher, D. W. (2008). Design, Fabrication, and Characterization of Scaffolds via Solid Free-Form Fabrication Techniques. En P. K. Chu & X. Liu (Eds.). *Biomaterials Fabrication and Processing Handbook*. USA: CRC Press
- [42] Mikos A. G. & Temenoff J. S. (2000). Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3(2).
- [43] Sun W., Starly B., Nam J. & Darling A. (2005). Bio-CAD modeling and its applications in computer-aided tissue engineering. *Computer-Aided Design*, 37, 1097-1114.
- [44] Sun W., Darling A., Starly B. & Nahm J. (2004). Computer-aided tissue engineering: overview, scope and challenges. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 39, 29-47.
- [45] Mironov V., Boland T., Trusk T., Forgacs G. & Markwald R. (s.f.). Organ printing: computer-aided jet-based 3D tissue engineering.

Referencias citadas por los autores.

- Lin, T. W., Corvelli, A. A., Frondosa, C. G., Roberts, J. C. & Hungerford, D. S. (1997). Glass peek composite promotes proliferetaion and osteocalcin production of human osteoblastic cells. *Journal Biomedical Materials Research*, 36(2), 137-144.
- Kettunen, J., Makela, A., Miettinen, H., Nevalainen, T., Heikkila, M., Tormala, P. & Rokkanen P. (1999). *Fixation of femoral shaft osteotomy with an intramedullary composite rod: An experimental study on dogs with a two-year follow-up*. *Journal Biomedical Materials Research*, 10(1), 33-45.
- Sosnowski, S., Wozniak P. & Lewandowska-Szumiel M. (2006). Polyester-scaffolds with bimodal pore size distribution of tissue engineering. *Macromolecules Bioscience*, 6(6), 425-434.

Oh, S. H., Park, I. K., Kim J. M. & Lee J. H. (2007). In vitro and in vivo characteristics of PCL scaffolds with pore size gradient fabricated by a centrifugation method. *Biomaterials*, 28(9), 1664-1671.

Goldstein, A. S., Zhu, G., Morris, G. E., Meszlenyi, R. K. & Mikos, A. G. (1999), Effect of osteoblastic culture conditions on the structure of poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foam scaffolds. *Tissue Engineering*, 5(5), 421-433.

Lee, K.W., Wang, S., Lu, L., Jabbari, E., Currier, B. L. & Yaszemski, M. J. (2006), Fabrication and characterization of poly(propylene fumarate) scaffolds with controlled pore structures using 3-dimensional printing and injection molding. *Tissue Engineering*, 12(10), 2801-2811.

AGRADECIMIENTO:

Agradecimiento a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM (DGAPA), por el financiamiento a través del Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza, al proyecto **PAPIME IN101114**, denominado **OPTIMIZACIÓN DE LA ENSEÑANZA DE MANUFACTURA MEDIANTE LA IMPLEMENTACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE IMPRESIÓN TRIDIMENSIONAL**.