



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES**

**“ANDAMIOS DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO)/GELATINA
ELECTROHILADOS EN COLECTOR ROTATORIO NO PLANO,
PARA EL CRECIMIENTO DE CÉLULAS MADRE
MESENQUIMALES OBTENIDAS DE ORINA.”**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES**

P R E S E N T A

I.Q. ELIZA MIRANDA BUENDIA

Tutor:

Dr. Alfredo Maciel Cerda.
Instituto de Investigaciones en Materiales.

Comité tutor

Dr. Ricardo Vera Graziano.
Instituto de Investigaciones en Materiales.

Dr. Jesús Gabriel Silva Escobedo.
Escuela Militar de Graduados de Sanidad.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, al Instituto de Investigaciones en Materiales y al Colegio Militar de Graduados de Sanidad por brindarme las herramientas necesarias para el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Alfredo Maciel Cerda por estar al pendiente en cada una de las etapas de mi formación académica, porque siempre que requerí de su asesoría o apoyo me dio el tiempo y la dedicación para culminar este proyecto.

Al Dr. Ricardo Vera Graziano por sus enseñanzas, por sus consejos y por permitirme ser parte del grupo de investigación.

Al Dr. Filiberto Rivera Torres por su tiempo, por sus enseñanzas, por sus consejos y por tenerme la paciencia necesaria para poder presentar de la manera más adecuada mi investigación.

Al Dr. Jesús Gabriel Silva Escobedo y a la M. en C. Margarita González Ruiz por sus enseñanzas y asesorías.

A los miembros del jurado: Dra. Patricia Guadarrama Acosta, Dr. Andrés Eliú Castell Rodríguez y al Dr. Modesto Javier Cruz Gómez, por su tiempo invertido para la revisión de este proyecto.

A CONACYT por la beca otorgada durante la maestría.

A los técnicos del IIM, por su aportación sumamente valiosa en el análisis de las muestras y entrega oportuna de resultados:

Al Dr. Omar Novelo Peralta, por las sesiones de microscopía electrónica de barrido.

Al M. en C. Miguel Ángel Canseco Martínez por los análisis ATR-FTIR.

A la I. Q. Karla E. Reyes Morales por la obtención de termogramas.

A la M. en C. Adriana Tejeda Cruz por la obtención de los difractogramas de XRD.

Al mayor médico Cirujano Juan Carlos Duran Quiñonez de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad, por su colaboración para la obtención de las fotomicrografías por el microscopio multifotónico.

Y a cada uno de mis compañeros de laboratorio, por sus sugerencias, enseñanzas y apoyo incondicional.



DEDICATORIA

A mi familia, que siempre y a pesar de todo ha sido mi sostén, mi apoyo económico y moral. A mi querida madre, que es mi ídolo y ejemplo a seguir, por ella he llegado hasta donde estoy. A mi padre porque se preocupa por mi bienestar, mi hermana por sus consejos, mi hermano un chico difícil pero que logra sacarme una sonrisa con lo que suele decir y al nuevo y pequeño miembro de la familia mi sobrino, que ha traído consigo una energía positiva a mi hogar.



Índice

1	Resumen	7
2	Introducción	8
3	Marco Teórico.....	9
3.1	Electrohilado.....	9
3.1.2	“Pore Casting”	11
3.1.3	Extracción de un polímero	11
3.1.4	Uso de un porógeno.	12
3.2	Poli (ácido láctico)	13
3.3	Gelatina.....	14
3.4	Enfermedad Renal Crónica.....	16
3.4.1	Etiología y Fisiopatología.....	16
3.4.2	Diagnóstico.....	16
3.4.3	Epidemiología.....	17
3.4.4	Tratamiento	18
3.5	Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa.	19
3.6	Terapia celular.....	19
3.7	Células troncales	19
3.7.1	Clasificación de las células.....	19
3.7.2	Células de origen urinario.....	20
3.8	Caracterización de polímeros y andamios.	21
3.8.1	Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier	21
3.8.2	Análisis termogravimétrico.....	21
3.8.3	Calorimetría diferencial de barrido	22
3.8.4	Microscopía electrónica de barrido.....	22
3.8.5	Ángulo de contacto.....	22
3.8.6	Difracción de rayos X.....	23
3.9	Impresión en 3D.	24
3.10	Modelo simple con dos factores.	24
4	Antecedentes.....	25
5	Justificación.....	27
6	Objetivos	28
6.1	General:.....	28



6.2	Particulares:	28
7	Hipótesis:.....	28
8	Materiales y Métodos.....	29
8.1	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.	29
8.2	Análisis termogravimétrico.....	29
8.3	Calorimetría diferencial de barrido.	29
8.4	Ángulo de contacto.....	30
8.5	Difracción de rayos X.....	30
8.6	Microscopia electrónica de barrido.	30
8.7	Elaboración de los andamios.....	31
8.8	Cultivo celular.....	36
9	Análisis de resultados.....	38
9.1	Determinación de grupos funcionales por espectroscopia ATR-FTIR.	38
9.2	Temperaturas de descomposición por análisis térmico (TGA)	40
9.3	Determinación de las temperaturas de transición vítrea (Tg) y temperatura de fusión por calorimetría diferencial de barrido (DSC)	42
9.4	Determinación de la hidrofobicidad del poli (ácido láctico) y la gelatina por ángulo de contacto.	45
9.5	Cristalinidad por difracción de rayos X.....	46
9.6	Elaboración de los andamios y análisis morfológico por SEM.	47
9.7	Cultivo celular.....	59
10	Conclusiones	62
11	Perspectivas.	62
12	Bibliografía	63
13	Anexos	67
13.1	Medición de espacio entre engranes.	67
13.2	Medición de la velocidad angular.....	67
13.3	Medición de la porosidad del andamio por el método intrusión de un líquido..	68
13.4	Cálculo de porosidad por gravimetría.	72
13.5	Datos y cálculos para la porosidad por el método intrusión de un líquido.	75
13.6	Datos y cálculos para la porosidad por gravimetría.....	77
14	GLOSARIO	79



Índice de Figuras

Figura 1. “Pore Casting” (12)	11
Figura 2. Extracción de un polímero. (13)	12
Figura 3. Uso de un porógeno (14)	12
Figura 4. Ácido láctico, molécula quiral.	13
Figura 5. Análisis termogravimétrico.	21
Figura 6. Variación en los parámetros de electrohilado.	31
Figura 7. Modelo que se utilizó como soporte. (A) Parte plana (B) Fibras que se depositan entre engranes.	33
Figura 8. Metodología del cultivo celular.	36
Figura 9. Desprendimiento de las células.	37
Figura 10. Espectroscopía ATR-FTIR de PLA.	38
Figura 11. Espectroscopía ATR-FTIR de la gelatina.	39
Figura 12. Espectros ATR-FTIR de PLA, Gelatina, PLA 13%/Gelatina 20%	40
Figura 13. Termograma de análisis termogravimétrico de la gelatina.	41
Figura 14. Termogramas de análisis termogravimétrico (TGA), del poli (ácido láctico) en gránulos, poli (ácido láctico) purificado y poli (ácido láctico)/ Gelatina electrohilados.	42
Figura 15. Termograma de DSC, para poli (ácido láctico) en gránulos, poli (ácido láctico) purificado y poli (ácido láctico) y gelatina electrohilados.	43
Figura 16. Termograma de DSC de la gelatina.	44
Figura 17. Termograma de DSC, para poli (ácido láctico) en gránulos, poli (ácido láctico) purificado y poli (ácido láctico) y gelatina electrohilados.	45
Figura 18. Diagrama de PLA en gránulos por análisis DRX.	46
Figura 19. Diagrama de PLA purificado por análisis DRX.	47
Figura 20. Micrografías del PLA a diferentes concentraciones. A) Micrografía del andamio de PLA al 6% m/v. B) Histograma que representa el diámetro de fibras de la micrografía A. C) Micrografía del andamio de PLA al 16% m/v. D) Histograma que representa el diámetro de fibras de la micrografía C.	49
Figura 21. Fibras de PLA, fracturadas a una diferencia de potencial de voltaje de 15 kV.	50
Figura 22. Salida del chorro de la solución polimérica. A) Bajas diferencias de potencial de voltaje. B) Altos diferenciales de potencial. Ref. (8).	50
Figura 23. Colector A) Representa el andamio que se colecta en la parte plana. B) Representa el andamio que se colectan entre los engranes.	51
Figura 24. Distribución F, donde se presenta la región de rechazo.	53
Figura 25. Gráfico de comparación de porosidad por método de intrusión de un líquido y método de gravimetría, con los dos diferentes factores: velocidad angular y distancia entre engranes.	56
Figura 26. A) Micrografía antes de la medición. B) Micrografía después de la medición.	57
Figura 27. Micrografías a diferentes condiciones de electrohilado.	58
Figura 28. Célula en el andamio PLA 13%/ gelatina al 10%.	59
Figura 29. Andamio PLA 13%/ Gelatina al 15%.	60
Figura 30. Células en el andamio PLA 13%/ gelatina 20%.	60
Figura 31. Fotomicrografía de célula madre mesenquimal obtenida de la orina.	61

Índice de tablas

Tabla 1. Parámetros de electrohilado. (2)	9
Tabla 2. Gelatina en Ingeniería de Tejidos.	15
Tabla 3. Condiciones de operación para el análisis termogravimétrico.	29
Tabla 4. Condiciones de operación para calorimetría diferencial de barrido.	30
Tabla 5. Nivel de los factores.	33
Tabla 6. Diseño factorial del experimento.	34
Tabla 7. Valores de muestra para el diseño de dos factores. Ref. (55)	35
Tabla 8. Tabla de ANOVA de dos factores. Ref. (55).	36
Tabla 9. Bandas características de PLA, Gelatina y PLA/Gelatina a diferentes concentraciones	39
Tabla 10. Ángulo de contacto a diferentes concentraciones de gelatina	46
Tabla 11. Diámetro de las fibras a diferentes concentraciones de PLA.	49
Tabla 12. Resultados de porosidad e incertidumbres. Método por intrusión de un líquido.	52
Tabla 13. Valores para el método de intrusión de un líquido.	52
Tabla 14. Tabla ANOVA para el método intrusión de un líquido	53
Tabla 15. Resultados de porosidad e incertidumbres método por gravimetría.	54
Tabla 16. Valores para el método por gravimetría.	54
Tabla 17. Tabla ANOVA para el método por gravimetría.	55



**“ANDAMIOS DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO)/GELATINA ELECTROHILADOS EN
COLECTOR ROTATORIO NO PLANO, PARA EL CRECIMIENTO DE CÉLULAS
MADRE MESENQUIMALES OBTENIDAS DE ORINA.”**



Instituto de
Investigaciones
en Materiales

Tabla 18. Pruebas con sus respectivas condiciones de electrohilado.	56
Tabla 19. Resultados promedios del área entre fibras y diámetro a diferentes condiciones de electrohilado.	57
Tabla 20. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 4.5 cm de distancia.	75
Tabla 21. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.	75
Tabla 22. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 4.5 cm de distancia.	76
Tabla 23. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.	76
Tabla 24. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 4.5 cm de distancia.	77
Tabla 25. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.	77
Tabla 26. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 4.5 cm de distancia.	78
Tabla 27. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.	78



1 Resumen

En este trabajo se estudiaron andamios electrohilados de poli (ácido láctico) PLA y gelatina para sembrar y reproducir células madre mesenquimales obtenidas de orina. El PLA y la gelatina se disolvieron en hexafluoro-2-propanol y la solución se usó para fabricar andamios electrohilados en un equipo al cual se le adaptó un colector rotatorio no plano cilíndrico, refiriéndose con ello a que este posee engranes que permite obtener andamios porosos con fibras orientadas. Estos andamios se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopia infrarroja con transformadas de Fourier en su modalidad de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR), análisis térmico y ángulo de contacto (θ). Su viabilidad biológica se analizó por medio del cultivo celular con células madre mesenquimales obtenidas de orina.

Se analizaron los parámetros críticos implicados en el proceso de electrohilado, como concentración del polímero, diferencia de potencial, distancia de la aguja al colector y la rapidez de flujo. Así se fijaron las mejores condiciones de electrohilado: concentración del PLA en solución 13% m/v, diferencia de potencial de voltaje 10 kV, distancia de aguja a colector 8 cm y rapidez de flujo 0.5 mL/h.

Debido a la estructura del colector no plano, se obtuvieron dos tipos de andamios: el andamio que se depositaban en la parte plana y el andamio que se depositaba entre los engranes. Se decidió medir la porosidad de ambos andamios para elegir el que tuviera una mayor porosidad, puesto que las células madre mesenquimales obtenidas de orina son relativamente grandes, con un tamaño aproximado de 15 μm . Se midió la porosidad del andamio que se depositaba en la parte plana del colector rotatorio por dos métodos: intrusión de un líquido y gravimetría, de igual forma se varió la velocidad angular y la distancia entre engranes para ver si estos factores influían en la porosidad, para ello se utilizó un diseño factorial experimental de (2x2). Cabe destacar que estos métodos no se pudieron utilizar para medir la porosidad del andamio que se depositaba entre los engranes, puesto que eran muy pocas las fibras que se depositaban y era muy difícil de manejar por ello para este andamio se hizo un soporte de PLA mediante una impresora en 3D. Para medir el área entre fibras del andamio que se depositó entre engranes, se utilizaron las fotomicrografías obtenidas por el microscopio electrónico de barrido y el programa ImageJ. Con lo cual se pudo concluir que la distancia entre engranes y la velocidad angular no influían en la porosidad del andamio que se depositaba en la parte superior plana, ya tomando en cuenta las micrografías se observó que hubo una mayor área entre fibras del andamio que se depositaba entre los engranes.

La mezcla con gelatina contribuyó a disminuir la hidrofobicidad de los andamios, lo que permitió sembrar y reproducir células troncales mesenquimales obtenidas de orina. No obstante, las células madre mesenquimales no proliferaron en este andamio, quizá se requiera aún una mayor porosidad del andamio u otro material como lo podría ser poli (ϵ -caprolactona), poli (ácido glicólico) ó poli (etilenglicol) que sea más afín a este tipo de células.



2 Introducción

En ingeniería de tejidos, los andamios son usados como estructuras para soportar las actividades celulares y guiar la formación del tejido en 3D. La compleja estructura y composición del andamio dependerá del tejido que se reemplazará (1). El tamaño de poro, la porosidad y la interconectividad de los poros son características importantes de los andamios en la ingeniería de tejidos que influyen de manera importante en la actividad celular (2). El riñón es uno de los órganos más desafiantes para la ingeniería de tejidos, debido a su arquitectura compleja, múltiples funciones, gran heterogeneidad celular y renovación celular lenta (3).

Un problema frecuente en los andamios es el tamaño del poro pues depende de la célula que se va a cultivar, ya que no promueven la adecuada migración y crecimiento celular. La habilidad de incrementar el tamaño del poro del andamio, mientras se mantiene la morfología de la fibra y la interconectividad entre poros, es una importante área de investigación que ha venido tomando importancia (2).

Actualmente, el electrohilado es una técnica de fabricación frecuente utilizada en ingeniería de tejidos, para producir tanto microfibras como nanofibras. El principio de este proceso es muy simple: una solución polimérica es atraída por un campo eléctrico, que resulta en la formación de un chorro que sufre una ruptura, llevando a la formación de fibras de diámetro variable (4).

Se han desarrollado diferentes variaciones a la técnica de electrohilado y modificaciones a los andamios con objeto de incrementar el tamaño de poro. Las técnicas que se han explorado van desde variaciones simples en los parámetros del electrohilado, como son el voltaje aplicado, la velocidad de flujo del líquido en la aguja de la jeringa, el tipo de colector y la distancia aguja-colector, hasta metodologías complejas que requieren de un equipo más sofisticado (2).

Los andamios con una complejidad interna alta y controlada se han obtenido por medio de técnicas de fabricación en forma sólida, tales como la estereolitografía, sinterizado selectivo por láser, modelado por deposición fundida, impresora en 3D y el bioploter en 3D. Estas técnicas permiten la fabricación de andamios con poros altamente interconectados comparado con técnicas convencionales. Estas técnicas pueden producir complejas geometrías que son diseñadas a través de programas, lo que permite un amplio control de la arquitectura interna (5).

Estas técnicas se han utilizado para producir andamios para cartílago y hueso en ingeniería de tejidos, sin embargo tiene sus limitaciones a nivel micro escala pues estas técnicas son capaces de producir tamaños de poros mínimos de 100 μm (5).

3 Marco Teórico

3.1 Electrohilado

La técnica de electrohilado permite obtener membranas constituidas por nanofibras, las cuales se forman al lanzar por medio de una jeringa un chorro delgado de una solución polimérica hacia una placa metálica o colector. Durante el proceso se aplica una diferencia de potencial entre la aguja y el colector, para producir las fibras, que se depositan al azar sobre la placa formando una malla de dimensiones adecuadas para el crecimiento celular; esta técnica permite crear membranas porosas de diversos tipos de polímeros y con propiedades específicas (6).

3.1.1.1 Modificación de los parámetros de electrohilado.

Las formas más sencillas de incrementar el tamaño de poro en los andamios mediante electrohilado involucran modificaciones al equipo o a los parámetros del proceso durante el electrohilado (2).

Tabla 1. Parámetros de electrohilado. (2)

Parámetros del sistema	Parámetros del proceso
Peso molecular del polímero. Distribución del peso molecular y arquitectura del polímero en la solución. Propiedades de la solución polimérica como la viscosidad, la conductividad y la tensión superficial.	Potencial eléctrico Razón de flujo del polímero a través de la aguja. Distancia entre la punta de la aguja y el colector. Forma del colector. Parámetros ambientales, tales como la humedad, temperatura.

De los parámetros del sistema se hace un enfoque en los siguientes parámetros de la solución:

3.1.1.1.1 Parámetros de la solución

- **Concentración de la solución:** Es uno de los parámetros determinantes del tamaño y la morfología de las fibras. La concentración de polímero en la solución influencia tanto la viscosidad como la tensión superficial de ésta. El diámetro de las fibras tiende a aumentar con la viscosidad (7). A bajas concentraciones se genera una mezcla de fibras y gotas; a altas concentraciones se dificulta pasar la solución a través del capilar (8).
- **Tensión superficial:** La tensión superficial es la cantidad de energía necesaria para estirar o aumentar la superficie de un líquido por unidad de área (9). Doshi y Reneker concluyeron que reduciendo la tensión superficial de una solución de polímero podrían obtenerse fibras sin presencia de cuentas (deformación de la fibra en forma redondeada) (7).
- **Conductividad de la solución:** Soluciones con alta conductividad tendrán mayor capacidad de transportar las cargas de la solución que aquellas con baja conductividad. Se ha encontrado que con el aumento de la conductividad eléctrica de la solución hay una disminución



significativa en el diámetro de las fibras, mientras que cuando la conductividad es baja se observa un alargamiento insuficiente del chorro, lo que impide la producción de fibras uniformes. (7)

3.1.1.1.2 Parámetros del proceso.

- **Flujo de salida:** Un flujo de salida menor podría ser benéfico, ya que el disolvente tendría más tiempo para evaporarse y evitar la formación de defectos en las fibras. Cuando el flujo de salida se incrementa, ocurre un incremento en el diámetro de las fibras y, posiblemente, en el tamaño de los defectos. (7)
- **Distancia entre la punta de la aguja y el plato colector:** Dependiendo de las propiedades de la solución, el efecto de la variación de la distancia puede o no, tener efecto en la morfología de las fibras. Al trabajar con distancias muy grandes, las fibras electrohiladas podrían romperse debido a su propio peso, especialmente si las fibras son de diámetro pequeño. Se requiere una distancia mínima para dar a las fibras el tiempo suficiente para que el disolvente se evapore antes de alcanzar el plato colector. Con distancias muy grandes o demasiado pequeñas se ha observado la aparición de cuentas o fibras húmedas (el disolvente no se alcanza a evaporar en su totalidad) que promueven la obtención de fibras aplanadas o con forma de cintas. (7)
- **Potencial eléctrico:** La morfología de la fibra se relaciona con la diferencia de potencial. A bajos diferenciales de potencial de voltaje, la solución se encuentra en forma de gota al final de la aguja, y al estar sometido bajo un campo eléctrico, se origina un chorro que inicia en forma de cono. Las fibras que se obtienen bajo estas condiciones presentan una morfología cilíndrica con una baja cantidad de cuentas. A altos diferenciales de potencial de voltaje no se nota la formación de una gota o cono al final de la aguja: el chorro de la solución sale directamente de la aguja. Las fibras que se obtienen bajo estas condiciones poseen un notable número de cuentas y defectos. (8)

El tamaño de poro y el diámetro de la fibra están altamente correlacionados; al reducir el diámetro de la fibra decrece el tamaño del poro, lo que dificulta la infiltración o migración de las células (4). De manera contraria, es posible aumentar el tamaño del poro cuando se incrementa el diámetro de la fibra. (2).

Sin embargo, históricamente ha sido aceptado que las nanofibras aceleran e incrementan la adhesión celular y proliferación a diferencia de las microfibras (2).

- **Forma del colector:** Un enfoque diferente para incrementar el tamaño del poro en los andamios, es modificar los parámetros del electrohilado, involucra el cambio en la forma del colector (2). Recientemente, se determinó que la naturaleza del colector influye significativamente en la morfología y características físicas de la fibra. Además, el tipo de

colector determina en gran medida la disposición y densidad de empaquetamiento de las fibras. Existen sistemas con colectores diseñados especialmente para obtener fibras alineadas o hileras de fibras (10).

- **Colector cilíndrico rotatorio:** Este método se utiliza comúnmente con el fin de obtener fibras parcialmente alineadas (11). Además, el diámetro de la fibra se puede adaptar y controlar en función de la velocidad de rotación del cilindro. Si la velocidad de rotación es más baja que la velocidad de electrohilado, se obtienen fibras orientadas al azar en el cilindro. A velocidades altas se crea una fuerza centrífuga en las inmediaciones de la circunferencia del cilindro rotatorio, por lo cual se elongan las fibras antes de que sean colectadas en el cilindro (10).
- **Colector de disco rotatorio:** El colector de disco rotatorio se usa para obtener fibras alineadas uniaxialmente. La ventaja de utilizar un colector de disco rotatorio, en vez de utilizar un colector cilíndrico es que la mayoría de las fibras son depositadas en el borde del disco y las nanofibras son colectadas en un patrón alineado (10).

3.1.2 “Pore Casting”

El método “pore casting” utiliza un programa denominado L-Edit (Tanner EDA software Tools, Monrovia, CA), a través del cual se diseña un patrón rectangular que contiene columnas de círculos de 1 μm de diámetro con 5 μm de espacio de centro a centro. Posteriormente se utiliza la fotolitografía para transferir las características del patrón en una oblea de silicio foto resistente viable para RIE (reactive ion etching). Ya que se elaboró el molde, éste se alimenta con un polímero biodegradable. Una vez que el biopolímero se ha secado se retira el molde y se obtiene el andamio (Ver Fig. 1) (12).

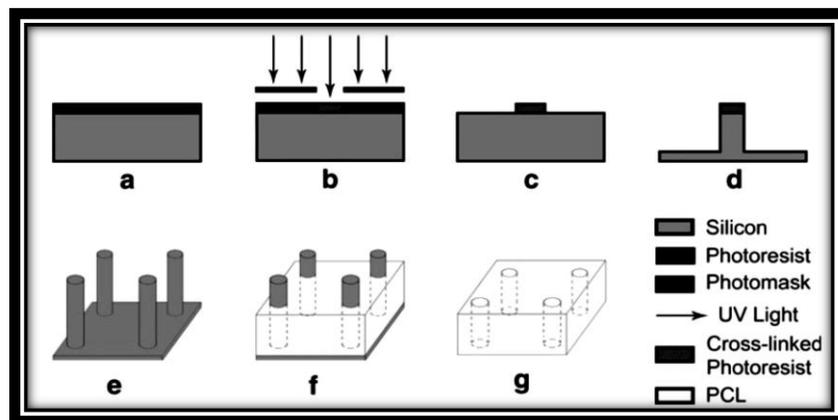


Figura 1. “Pore Casting” (12)

3.1.3 Extracción de un polímero

En esta técnica se electrohilan dos polímeros y, posteriormente, uno es eliminado, al sumergir el andamio en un disolvente en el cual uno de los

polímeros es disuelto y el otro queda intacto, de esta forma quedan los poros en el espacio que ocupaba el polímero ya disuelto.

Como ejemplo, se tiene el poli (óxido de etileno) (PEO) y la poli (caprolactona) (PCL), en el cual fue eliminado el PEO en una solución agua/etanol. Por un lado se varió la razón de flujo del PEO, con el fin de controlar la densidad de las fibras incorporadas y, por otro, la concentración de la PCL para regular el diámetro de las fibras. La distancia entre la aguja y el colector fue de 7 in (13).

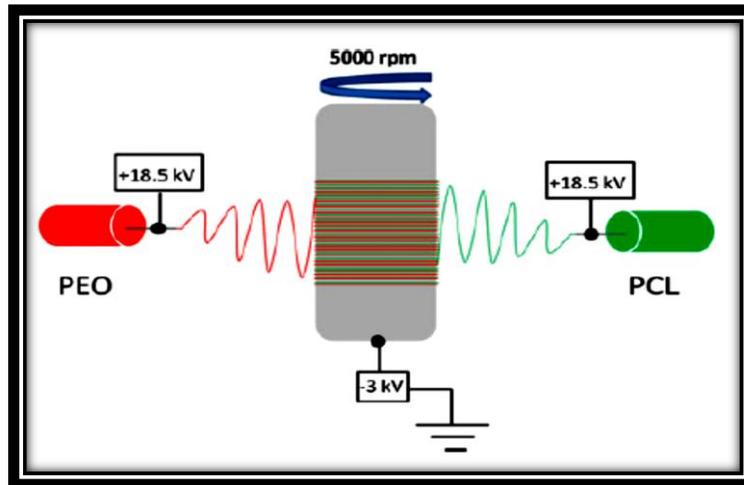


Figura 2. Extracción de un polímero. (13)

3.1.4 Uso de un porógeno.

Para este procedimiento, el porógeno mayormente requerido son cristales de NaCl. Mientras el biopolímero es electrohilado, se incorporan de manera continua los cristales de NaCl y, posteriormente, éstos son disueltos en agua desionizada. El espacio que deja el porógeno permite una mayor porosidad en el andamio (14).

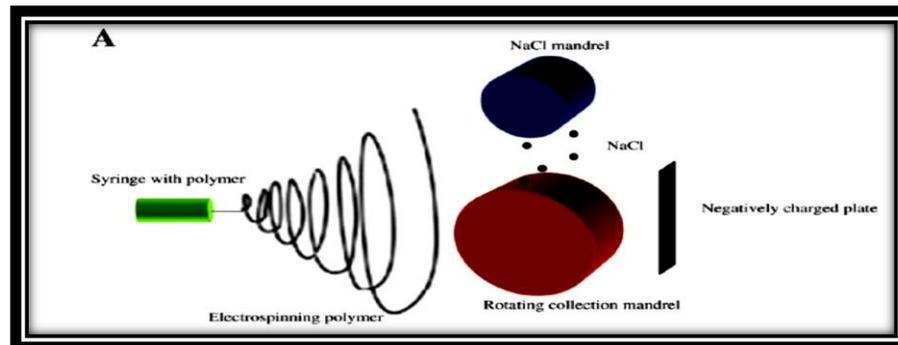


Figura 3. Uso de un porógeno (14)



La degradación del PLA es más lenta si la cristalinidad es elevada, si el contenido del PLLA es alto y si el peso molecular es elevado. En los tejidos vivos, el PLA se despolimeriza totalmente por hidrólisis química. La degradación del polímero comienza por una pérdida de peso molecular (sin pérdida de masa) y se termina por una pérdida de masa, con descomposición del polímero en monómeros y fagocitosis por los macrófagos. (17)

El líder mundial en producción del PLA es NatureWorks LLC, aunque existen otras empresas productoras como Toyobo, Dai Nippon Printing Co., Mitsui Chemicals, Shimadzu, NEC, Toyota (Japan) entre otras. (16)

3.3 Gelatina

La gelatina es una proteína fibrosa que se obtiene por la desnaturalización del colágeno, entre sus diversas aplicaciones se encuentran los alimentos, los cosméticos, la industria farmacéutica y fotográfica. En la industria alimentaria, la gelatina se ha utilizado como emulsificador, como agente espumante, como estabilizador coloidal, en empaques biodegradables y como agente micro-encapsulador. (19)

La composición química de la gelatina es similar al colágeno, el cual está compuesto por tres cadenas α , distribuidas en forma de hélice. Estas cadenas forman estructuras tridimensionales, que proveen una geometría ideal para intercambiar enlaces de hidrogeno. La estructura molecular de la gelatina se compone principalmente de múltiples repeticiones de la secuencia gli-x-y, donde “x” es a menudo prolina e “y” es hidroxiprolina. (19)

Las gelatinas comerciales se producen principalmente por extracción ácida o alcalina de piel y hueso porcino o bovino. Sin embargo, tanto el Judaísmo como el Islam prohíben el consumo de algún producto que proceda del cerdo, mientras que el hindú no consume productos provenientes de la vaca; como alternativa se tiene la gelatina que proviene del pescado, posible de obtener de los desechos de la industria pesquera. (19)

Generalmente, el colágeno presente en la piel de pescado muestra una amplia variedad de aminoácidos presentes en los colágenos de mamíferos. En la piel de pescado. la hidroxiprolina y la prolina están presentes en menor cantidad que los colágenos de mamíferos, que se compensa por sus altos contenidos de serina y treonina. En general, los colágenos de pescado tienen una menor cantidad de aminoácidos que los colágenos de mamíferos y es por esta razón que la desnaturalización es a bajas temperaturas. La fuente y el tipo de colágeno influirán en las propiedades de la gelatina que se obtenga. (20)

Las gelatinas de pescado tienen bajas concentraciones de aminoácidos (prolina e hidroxiprolina) comparada con las gelatinas de mamíferos, y las gelatinas de pescados de agua templada tienen mayor cantidad de aminoácidos que las gelatinas provenientes de pescados de agua fría. Las gelatinas de mamíferos contienen aproximadamente 30% de prolina e hidroxiprolina, las gelatinas de pescados de agua templada entre 22-25% y las gelatinas de pescados de agua fría

17% (20). En ingeniería de tejidos, la gelatina se puede electrohilar y sus propiedades como buena biocompatibilidad, inmunogenicidad (es la capacidad de provocar una respuesta inmunitaria, es decir, la capacidad de generar la producción de anticuerpos específicos o células T o ambas cosas), el fomento a la proliferación y adhesión celular, y bajo costo hacen que sea ampliamente usada (Tabla 2)

Tabla 2. Gelatina en Ingeniería de Tejidos.

Material	Técnica para obtener el andamio	Condiciones del proceso	Referencia
PLLA y Gelatina en TFE	Electrohilado	10 wt%, Diámetro de la aguja 0.37 mm, razón de flujo 0.4 mL/hr, diferencia de potencial de voltaje 12 kV, colector estacionario, distancia 20 cm.	(21)
Quitosano, nanopartículas de Fe ₃ O ₄ , ácido acético, gelatina	Coprecipitación y electrohilado	Diámetro de la aguja 0.6 mm, colector estacionario, razón de flujo 0.8 mL/h, Diferencia de potencial de voltaje 15kV, distancia entre la aguja y el colector 15 cm, humedad relativa entre 30-40%, temperatura de 25 °C.	(22)
PLGA, HFP, gelatina, nanopartículas de sílice	Electrohilado	17% m/v, razón de flujo de 0.5 mL/h, diferencia de potencial de voltaje 14kV, distancia entre la aguja y el colector 13 cm, colector rotatorio a 2000 rpm.	(23)
PLGA, HFIP, gelatina, nanopartículas de sílice	Electrohilado	17% m/v, razón de flujo de 0.5 mL/h, diferencia de potencial de voltaje 14kV, distancia entre la aguja y el colector 13 cm, colector estacionario	(24)
PLLA, gelatina y TFE	Electrohilado	15% m/v, 0.02 mL/h, colector rotatorio, diferencia de potencial de voltaje 1.2 kV.	(25)
PLLA, gelatina, tert-butanol, etanol, glutaraldehído, HFIP	Electrohilado, enfriamiento	Razón de flujo 5 mL/hr, 15kV, colector estacionario, distancia entre la aguja y el colector de 15 cm.	(26)
PLLA, gelatina, cloroformo, DMF, ácido acético	Electrohilado	Diferentes concentraciones, diámetro de la aguja 0.5 mm, colector rotatorio, diferencia de potencial de voltaje 0-30 kV	(27)



3.4 Enfermedad Renal Crónica

La enfermedad Renal Crónica (ERC) se define como una disminución de la función renal, determinada por un filtrado glomerular (FG) patológico, expresado por un aclaramiento de creatinina estimado menor de $60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, o la presencia de daño renal, o ambos, de forma persistente durante 3 meses o más. (28)

La ERC es clasificada por estadios:

- Estadio I: función renal normal: igual o mayor a $90 \text{ ml/min/1.73 m}^2$
- Estadio II: leve disminución del FG: $60\text{-}89 \text{ ml/min/1.73 m}^2$
- Estadio III: moderada disminución del FG: $30\text{-}59 \text{ ml/min/1.73 m}^2$
- Estadio IV: grave disminución de la función renal: $15\text{-}29 \text{ ml/min/1.73 m}^2$
- Estadio V: insuficiencia renal: FG menor de $15 \text{ ml/min/1.73 m}^2$

3.4.1 Etiología y Fisiopatología

Las causas de ERC pueden ser enfermedades vasculares, enfermedades glomerulares, túbulos intersticiales y uropatías obstructivas. Actualmente en nuestro país la etiología más frecuente es la diabetes mellitus, que es la responsable del 50% de los casos de enfermedad renal, seguida por la hipertensión arterial y las glomerulonefritis. La enfermedad renal poliquística es la principal enfermedad congénita que causa ERC. (29)

Las enfermedades cardiovasculares son la causa principal de morbimortalidad en los pacientes con ERC, dado que ocasiona 30 veces más riesgo de morir que el de la población general. Este riesgo puede ser atribuible a una correlación entre la uremia y la aterosclerosis acelerada. En pacientes con ERC es frecuente encontrar factores de riesgo cardiovasculares tradicionales, como la hipertensión arterial, la dislipidemia, edad avanzada, la diabetes mellitus y el tabaquismo; así como manifestaciones asociadas a la uremia como homocisteína, anemia, hipervolemia, inflamación, hipercoagulabilidad y estrés oxidativo, que por sí mismas aumentan el riesgo cardiovascular. (29)

3.4.2 Diagnóstico

El daño renal se diagnostica habitualmente mediante marcadores por una biopsia renal por lo que el diagnóstico de ERC, ya se establezca por un FG disminuido o por marcadores de daño renal, puede realizarse sin conocimiento de la causa. El principal marcador de daño renal es una elevada excreción urinaria de albúmina o proteínas. (30)

En las etapas iniciales de la ERC, las manifestaciones clínicas son mínimas y el diagnóstico puede ser sugerido por la presencia de manifestaciones inespecíficas por parte del paciente, tales como fatiga, anorexia, pérdida de peso, picazón, náuseas, entre otras. Posteriormente, con el avance y la progresión de la enfermedad y la presencia del daño



renal marcado, los afectados comienzan con nicturia, orinas espumosas, poliuria u oliguria, edemas, hipertensión arterial, debilidad, vómito, insomnio, calambres, palidez cutánea, xerosis, miopatía, dismenorrea y/o amenorrea, atrofia testicular, impotencia, insuficiencia cognitiva o de atención, confusión, somnolencia, obnubilación y coma. (28)

El diagnóstico precoz de la ERC en estadios 1 y 2 resulta fundamental para la posible prevención de la pérdida de función renal y de las complicaciones cardiovasculares. El diagnóstico precoz se basa en la realización de las pruebas complementarias básicas para poder establecer el diagnóstico y el estadio de la ERC independientemente de la causa. Las exploraciones complementarias básicas son tres: 1) determinación de la creatinina sérica y la correspondiente estimación del FG o del aclaramiento de creatinina mediante una fórmula, 2) determinación del índice albúmina/creatinina en una muestra aislada de orina, y 3) análisis del sedimento urinario mediante una tira reactiva o la técnica clásica de microscopía óptica. (30)

El valor del FG varía en relación con la edad, sexo y masa corporal del individuo, se sitúa entre 90-140 ml/min/1.76 m² en personas adultas jóvenes sanas. Para medir el FG se ha utilizado la depuración renal de diversas sustancias exógenas (la depuración de inulina es el “gold-estándar”) pero no resultan factibles en la práctica diaria. Por este motivo, habitualmente se calcula el FG a partir de la depuración de sustancias endógenas, y el aclaramiento de creatinina corregido por la superficie corporal ha sido hasta no hace mucho la forma más utilizada. Actualmente, distintas guías recomiendan la estimación del FG mediante ecuaciones obtenidas a partir de la medida de la concentración de creatinina sérica, la edad, el sexo y la raza. (31)

3.4.3 Epidemiología

La descripción clásica de la epidemiología de la ERC se ha restringido a la información sobre la IRCT en tratamiento renal sustitutivo procedente de los registros de diálisis y trasplante. Sucesivos informes del United States Renal Data System (USRDS) han documentado un aumento de la incidencia y prevalencia de IRCT en Estados Unidos en las últimas dos décadas. La incidencia actual se sitúa en los varones en 404 casos por millón de población y en las mujeres en 280 casos por millón de población. Se estima que la prevalencia de IRCT en tratamiento sustitutivo puede duplicarse en la década presente. En Europa, donde la incidencia de IRCT es claramente inferior a la de Estados Unidos, se ha detectado un incremento anual cercano al 5% de pacientes en diálisis o con un trasplante renal. En nuestro país, la incidencia de IRC en tratamiento sustitutivo se sitúa en 126 casos por millón de población, observándose también la especial repercusión de la edad avanzada, la HTA, la enfermedad vascular y la diabetes. (30)



3.4.4 Tratamiento

3.4.4.1 Trasplante Renal

El trasplante renal consiste en colocar el riñón de otra persona en el cuerpo de un paciente mediante cirugía. No todos los pacientes con Enfermedad Renal Crónica (ERC) son candidatos al trasplante renal por lo que su evaluación adecuada minimiza la morbilidad y mortalidad, al igual que mejora la calidad de vida. (29)

El trasplante de riñón es la mejor opción terapéutica para la enfermedad renal crónica, pero en México se practica escasamente: sólo se efectúan 1500 al año (80% de donador vivo), menos de 20 trasplantes anuales por millón de habitante. Por su parte, la media mundial está por encima de 30. (32)

3.4.4.2 Hemodiálisis

La hemodiálisis consiste en utilizar un circuito extracorpóreo para eliminar sustancias tóxicas y exceso de líquido. Los tres componentes principales de la diálisis son: el dializador, el sistema de transporte y la composición del líquido de diálisis. La sangre se pone en contacto con el líquido de diálisis a través de una membrana semipermeable. El movimiento de sustancias y agua ocurre por procesos de difusión, convección y ultrafiltración. (29)

La difusión es el principal mecanismo por el cual se eliminan moléculas y depende de la diferencia entre la concentración plasmática y del líquido de diálisis, el área de superficie de la membrana semipermeable y el coeficiente de difusión de la membrana. La convección permite la eliminación de solutos siguiendo el flujo del líquido. La ultrafiltración se refiere a la eliminación de agua libre debido a la aplicación de una presión hidrostática negativa, que puede ser manipulada dependiendo del exceso de volumen que se desea eliminar.

3.4.4.3 Diálisis peritoneal

El sistema de diálisis peritoneal consta de una bolsa que contiene el líquido de diálisis, conectada a un catéter a través del cual se introduce el líquido a la cavidad abdominal. Dentro del abdomen se lleva a cabo la diálisis en la membrana peritoneal y posteriormente el líquido con los desechos drena a una bolsa de salida. (29)

La diálisis peritoneal en los pacientes con IRC es un proceso crónico, por lo que se utiliza un catéter flexible de silicón que se coloca en un túnel subcutáneo en la pared abdominal. El catéter



estimula el crecimiento de células a su alrededor que forman una barrera contra la infección. (29)

Recientemente se ha desarrollado una rama de investigación para el tratamiento de la ERC a través del empleo de células madre mediante ingeniería de tejidos y terapia celular.

3.5 Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa.

El término "ingeniería de tejidos", como se reconoce hoy, fue presentado por primera vez en una reunión del panel de la Fundación Nacional de Ciencia en 1987, lo que llevó a la primera reunión de ingeniería de tejidos a principios de 1988 (33). La verdadera emergencia de la ingeniería tisular como campo médico comenzó a principios de los noventa cuando la ingeniería de tejidos se definió como un campo interdisciplinario que aplica los principios de ingeniería y ciencias de la vida hacia el desarrollo de sustitutos biológicos que restauran, mantienen o mejoran la función de los tejidos (33).

La ingeniería tisular incluye dos estrategias principales: (1) trasplante de un tejido cultivado *in vitro*, que consiste en una matriz artificial con células y factores de crecimiento; y (2) regeneración *in situ* de tejido, mediante una combinación de una matriz artificial y factores de crecimiento como plantilla de guía, para inducir la regeneración de células huésped del tejido *in vivo* (33).

3.6 Terapia celular

La terapia celular implica el suministro de células mediante inyección sistémica en el torrente sanguíneo o mediante el trasplante directo en un tejido local. El requisito principal para esta estrategia es sembrar las células y procurar que crezcan en grandes cantidades para trasplante [*in vivo*] (33).

Los principales desafíos para el trasplante de células son: crecimiento de un gran número de células sin contaminación bacteriana; preservación del fenotipo celular; y prevenir acumulación de mutaciones genéticas durante la expansión del cultivo (33).

3.7 Células troncales

Una célula troncal se define como una célula que tiene la capacidad de dividirse (autoreplicarse) por períodos indefinidos durante toda la vida de un individuo y que, bajo las condiciones apropiadas o señales correctas del microambiente, puede dar origen (diferenciarse) a diferentes linajes con características y funciones especializadas como miocitos, neuronas o hepatocitos (34).

3.7.1 Clasificación de las células.

Por su potencial de diferenciarse en otro tipo de células se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Totipotentes: Son capaces de producir los tres tipos de capas germinales, la placenta (trofoblasto) y las primordiales células germinales (35). Es decir, poseen la capacidad de generación de un organismo adulto completo (36).
- Pluripotentes: Son capaces únicamente de producir las tres capas germinales (35). Están presentes en estadios tempranos del desarrollo embrionario, con alta capacidad de autorrenovación y de generar varios



linajes celulares o tejidos diferentes, aunque nunca un organismo completo, a no ser que con su núcleo y el citoplasma de un óvulo enucleado se constituya un cigoto totipotente.

- Multipotentes: Son capaces de producir varios tipos de células de una sola capa germinal pero no los trofoblastos (35). Sólo originarán células de tejidos análogos (36).
- Unipotentes: Son capaces de producir únicamente un tipo de tejido específico (35).

Las células troncales también se pueden clasificar según su origen:

- Células troncales embrionarias: Célula indiferenciada procedente de la MCI (embrioblasto) del blastocisto que tiene el potencial de diferenciarse en una amplia variedad de tipos celulares especializados. En el caso de humanos, podemos decir que estas células derivan de huevos que han sido fecundados *in vitro*, en clínicas de FIV (Fecundación [*in vitro*]), y que han sido donados para la investigación (36).
- Células troncales adultas: Célula madre del tejido adulto. Célula indiferenciada encontrada en diferentes tejidos que puede regenerarse a sí misma y diferenciarse hacia distintos tipos celulares, normalmente del tejido del cual procede (36). De este tipo de células se derivan las células madre hematopoyéticas las cuales proceden de la médula ósea y es capaz de regenerar cualquier célula sanguínea (36).
- Células troncales perinatales: Se obtienen en el rango temporal “alrededor de la fecha de nacimiento”, lo que abarca desde las 20 semanas de embarazo a los 28 días del neonato. Son células multipotentes y han sido identificadas en el corion, la placenta, la zona perivascular y tejido conectivo del cordón umbilical, el amnios y en líquido amniótico.

3.7.2 Células de origen urinario.

Estas células se han extraído de la orina de adultos con la habilidad de diferenciarse en osteocitos, condrocitos, adipocitos y células endoteliales. Se han estudiado como una alternativa para terapia celular e ingeniería de tejidos para aplicaciones en urología durante el tratamiento de incontinencia urinaria de esfuerzo, reflujo vesicoureteral y en la ingeniería de tejidos de la uretra y la vejiga (37). Estas células se desprenden del tracto urinario superior. Las ventajas de este tipo de células son (38):

- Se pueden obtener independientemente de la edad de la persona, género o salud (excepto en aquellas infecciones del tracto urinario y anuria).
- El proceso de obtención es simple, seguro, de bajo costo y no invasivo.
- Las células son capaces de generar más células pero no teratoma o tumores.

3.8 Caracterización de polímeros y andamios.

3.8.1 Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier

En esta técnica se varía la frecuencia de radiación incidente y se obtiene la radiación que se absorbe o transmite de la muestra. Es un proceso básico: los fotones de radiación infrarroja son absorbidos por los enlaces de una molécula, por lo que pasan niveles vibracionales superiores. (39) La energía vibracional es cuantizada y las transiciones entre los niveles de energía vibracional corresponden a la región infrarroja del espectro. Por esta razón, la espectroscopia vibracional se denomina espectroscopia infrarroja (40). Muchos agrupamientos funcionales de las moléculas orgánicas muestran vibraciones características, a los que les corresponden bandas de absorción en regiones definidas del espectro infrarrojo. Estas vibraciones moleculares están circunscritas, en gran parte, al grupo funcional y no abarcan al resto de la molécula. De esta forma se pueden identificar estos grupos funcionales por su banda de absorción. Este hecho, unido a la sencillez de la técnica de registro, hace de la espectroscopia IR el método más sencillo, rápido y fiable para asignar una sustancia a una clase de compuestos en particular. Por regla general se puede decidir a primera vista si se trata de un alcohol, una amina o cetona, un compuesto alifático o uno aromático (41).

3.8.2 Análisis termogravimétrico

En el análisis termogravimétrico se mide el cambio de masa de la sustancia como función de la temperatura o el tiempo. Los resultados aparecen como se presentan en la Fig. 5. La muestra se calienta a temperatura y masa constante, M_i , hasta que el material empieza a descomponerse a cierta temperatura T_i . Bajo estas condiciones de calentamiento dinámico, la descomposición usualmente toma lugar en un rango de temperaturas, T_i a T_f , y un segundo rango de masa constante se observa por debajo de T_f , que corresponde a la masa residual M_f . Las masas M_i y M_f y la diferencia ΔM son propiedades fundamentales de la muestra y se utilizan para cálculos cuantitativos en los cambios de composición. Por otro lado, las temperaturas T_i y T_f dependen de la razón de calentamiento, la naturaleza del sólido y la atmósfera a la que está sometida la muestra (39).

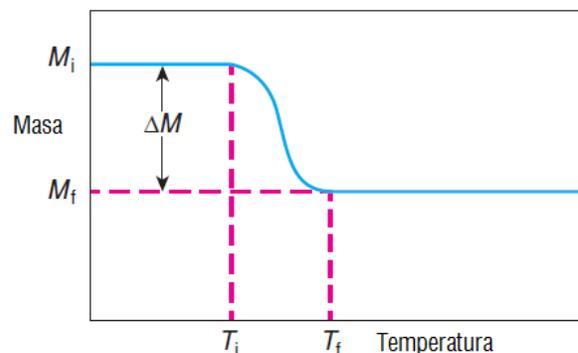


Figura 5. Análisis termogravimétrico.



3.8.3 Calorimetría diferencial de barrido

En esta técnica, a la muestra se le aplica un flujo de calor a razón constante y se detectan transiciones endotérmicas y exotérmicas, así como la energía asociada con las transiciones térmicas, como lo son fusión, cristalización, transición vítrea y reacciones de descomposición. Existen numerosos beneficios asociados con el método; la cantidad de muestra es pequeña, el amplio rango de temperaturas (típicamente -120 a 600 °C), la simplicidad y la rapidez de medida (42).

El procedimiento involucra colocar la muestra (usualmente en cantidades de 5-10 mg) en un platillo junto a otro platillo como referencia (usualmente vacío) en un horno y se procede a calentar o enfriar a una razón controlada, usualmente de 5 a 10 °C/min. Cuando la muestra se encuentra sometida a una transición térmica tal como fusión o cristalización, se mide la temperatura y energía asociada a tal evento se evalúa (42).

3.8.4 Microscopía electrónica de barrido.

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es una innovación. Es una herramienta de investigación extremadamente útil; se utiliza para medir las características microscópicas, la clasificación de las fracturas, los estudios de microestructura, las evaluaciones de los recubrimiento de poco espesor, el examen de la contaminación de la superficie y el análisis de fallas en los materiales. En contraposición a la microscopía óptica, en la cual la superficie es expuesta a la luz visible incidente, el microscopio electrónico de barrido dirige un haz de electrones enfocado a un punto de la superficie de una muestra a analizar y recoge y muestra las señales electrónicas emitidas por la muestra (43).

En esta técnica, suele usarse una punta muy afilada, fabricada con metales como tungsteno, níquel, platino-iridio u oro, y, recientemente, con nanotubos de carbono, la cual se usa para sondear la superficie de una muestra. A una distancia tan pequeña, las nubes de electrones de los átomos que se encuentran en la punta de la sonda interactúan con las nubes de electrones de los átomos de la superficie de la muestra. Si en este punto se aplica una pequeña diferencia de potencial de voltaje a través de la punta y la superficie, los electrones harán que la brecha se transforme en un “túnel” y, por lo tanto, producirán una pequeña corriente que puede detectarse y registrarse (44).

3.8.5 Ángulo de contacto

De forma general, se define el ángulo de contacto como el ángulo que forma la superficie de un líquido al entrar en contacto con una superficie sólida. El valor del ángulo de contacto depende principalmente de la relación existente entre las fuerzas adhesivas del líquido y del sólido y las fuerzas cohesivas del propio líquido. Cuando una fase líquida y una fase sólida entran en contacto, forman una interface común. La mojabilidad de un determinado sólido por un líquido viene determinada por el ángulo de contacto θ . El perfil que adopta la gota es el resultado del balance entre las fuerzas de la superficie y de la interfase, que tienden a minimizar la energía superficial libre del sistema (45).



Por convenio, cuando $\theta < 90^\circ$ se dice que el líquido moja al sólido o que el sistema moja. El sistema no moja cuando $\theta > 90^\circ$; es decir, el líquido no moja al sólido. Un caso extremo ocurre cuando θ se aproxima a cero; entonces el líquido se expande sobre el sólido y se dice que el mojado es perfecto (45).

El método más común y conveniente para medir el ángulo de contacto es el método de la gota fija. Este método involucra colocar una gota del líquido, aproximadamente $5 \mu\text{L}$, en la superficie sólida y se mide el ángulo entre la base de la gota y la tangente de la frontera de la gota mediante la óptica. Por lo tanto, este método se llama ángulo de contacto estático, el cual es ideal para sólidos que tienen diferentes propiedades en diferentes superficies y se puede medir el promedio de θ en función del tiempo y la temperatura (46). En el método de ángulo de contacto dinámico, el volumen de la gota se va incrementando en pasos mientras θ se va midiendo hasta que la meseta llamada “ángulo de contacto en avance” (θ_A) se alcanza. De forma similar, el “ángulo de contacto en retroceso” (θ_B) se determina inmediatamente por la medición de θ equivalente al volumen del líquido retirado de la gota. La histéresis del ángulo de contacto es la diferencia de $\theta_A - \theta_B$, donde el ángulo de contacto de avance es significativamente más grande que el de retroceso. Debido al ángulo de contacto de histéresis, una gota de líquido puede permanecer sujeta en un plano inclinado, a pesar de la gravedad (46).

3.8.6 Difracción de rayos X.

La difracción de rayos X (DRX) es una valiosa herramienta en la caracterización de los polímeros. Esta técnica se utiliza continuamente en la industria para evaluar el grado de cristalinidad y la orientación preferencial, así como la determinación de la estructura del cristal y polimorfismo. También la difracción de rayos X se ha utilizado para ver los cambios estructurales debido a la temperatura, el estudio de la cinética de la cristalización y para caracterizar los defectos en los polímeros (47).

La difracción de rayos x sobre un sólido cristalino consiste en hacer incidir un haz de rayos X y, puesto que algunas de las longitudes de onda de los rayos X son aproximadamente iguales a la distancia interplanar en sólidos cristalinos, se producen picos de difracción de intensidades variables asociados con los átomos del cristal, debido al arreglo periódico de los átomos en el cristal y su simetría. Este proceso viene a aumentar la intensidad de la radiación dispersada en ciertas direcciones debido a la interferencia constructiva que se controla por la periodicidad, simetría y la interferencia destructiva en todas las otras direcciones. La medición de las direcciones de los haces constructivos permiten determinar las propiedades fundamentales del estado cristalino, la magnitud de la celda unitaria del cristal y su simetría.

En forma general, los polímeros se pueden clasificar en amorfos y semicristalinos. Los polímeros amorfos incluyen polímeros vítreos con cadenas estéricamente impedidas como el policarbonato o polímeros entrecruzados como los termoestables (epóxidos) y elastómeros (caucho). Los polímeros semicristalinos incluyen los termoplásticos (polietileno), elastómeros termoplásticos (acetato de



etileno y vinilo) que tienen enmarañamientos físicos y no enlaces y polímeros líquidos cristalinos (poliamidas aromáticas) (47).

3.9 Impresión en 3D.

En recientes décadas, muchos investigadores se han enfocado en la creación de un andamio ideal para usarse en la regeneración de tejidos. El principal obstáculo de la ingeniería de tejidos es el diseño de andamios porosos en 3D que pueden simular la estructura y las funciones biológicas de la matriz extracelular, para proveer soporte mecánico y regular las actividades celulares fisiológicas (48).

La impresión 3D es un método de fabricación utilizado por diseñadores, científicos, ingenieros, estudiantes, debido a las grandes ventajas que posee con respecto a otras técnicas de manufactura, en la actualidad se utiliza en todas las áreas del conocimiento para el desarrollo de prototipos, partes y piezas. Con el paso de los años, se ha preferido esta técnica de fabricación debido a que se logran obtener piezas terminadas o casi terminadas, por lo que se reducen considerablemente los tiempos de fabricación de piezas y/o partes, o simplemente se eliminan los postprocesos que se utilizan para obtener una pieza final. Además de esta cualidad, posee grandes ventajas como la variedad de materiales que se utilizan y la complejidad de las piezas que se pueden fabricar (49).

3.10 Modelo simple con dos factores.

La metodología de diseño de experimentos estudia cómo realizar comparaciones lo más homogéneas posibles, para aumentar, en consecuencia, la probabilidad de detectar cambios o identificar variables influyentes (50).

El objetivo de un experimento es estudiar el efecto sobre una variable de interés, que llamamos variable respuesta: tienen un conjunto de otras variables que llamaremos variables experimentales, factores o tratamientos (50).

El objetivo de un diseño factorial es estudiar el efecto de varios factores sobre una o varias respuestas, cuando se tiene el mismo interés sobre todos los factores. Por ejemplo, uno de los objetivos particulares más importante que en ocasiones tiene un diseño factorial es determinar una combinación de niveles de los factores en la que el desempeño del proceso sea mejor (51).

Los factores pueden ser de tipo cualitativo (máquinas, tipos de material, operador, la presencia o ausencia de una operación previa, etc.). Para estudiar la manera en que influye cada factor sobre la variable respuesta es necesario elegir al menos dos niveles de prueba para cada uno de ellos. Con el diseño factorial completo se corren aleatoriamente todas las posibles combinaciones que pueden formarse con los niveles de los factores a investigar (51).

Así, la matriz de diseño o arreglo factorial es el conjunto de puntos experimentales o tratamientos que pueden formarse considerando todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores. Por ejemplo, con $k=2$ factores, ambos con dos niveles, se forma el diseño factorial $2 \times 2 = 2^2$, que consiste en cuatro combinaciones o puntos experimentales. Observe que en el nombre del diseño factorial va implícito el número de tratamientos que lo componen. Para obtener el



número de corridas experimentales, se multiplica el número de tratamientos por el número de réplicas, donde una de éstas se lleva a cabo cada vez que se corre el arreglo completo (51).

4 Antecedentes

En la ingeniería de tejidos el uso de andamios de PLA/Gelatina se ha extendido ampliamente entre estos estudios se encuentra el trabajo de Hae-Won et. al., en el 2007, en el cual elabora andamios de PLA/Gelatina con un colector rotatorio, varía las concentraciones de gelatina y utiliza como técnica el electrohilado y para el sembrado celular utilizan células de preosteoblastos. También se hicieron pruebas de ángulo de contacto y obtuvieron como resultado que la gelatina disminuye el carácter hidrófobo del andamio. Sin embargo una alta cantidad de gelatina cambia las propiedades de la solución (tensión de superficie, viscosidad, etc), lo cual no es adecuado para preservar la estructura de la fibra. En cambio sus resultados con respecto al crecimiento celular indicaron una mayor proliferación en el andamio PLA/Gelatina en comparación al andamio que únicamente tenía PLA.

En el 2010 Xiaoping Yang et. al., presenta su trabajo, en el cual coelectrohila PLA/Gelatina y utiliza, diversas técnicas para caracterizar las fibras como lo es ángulo de contacto, microscopía electrónica de barrido (SEM) y la microscopía electrónica de transmisión (TEM). También tuvieron por objeto investigar la separación de la microfase entre PLA y gelatina en las fibras. Como resultados, se da a conocer que la concentración de gelatina disminuye el carácter hidrofóbico del andamio y establecieron como mejor opción la composición del andamio de 50% de PLA y 50% de gelatina.

Por otra lado, se encuentra A. Yazdanpanah et. al., que en el 2015 utiliza andamios de PLA/ Gelatina en forma tubular con el fin de ser usados en la ingeniería de tejidos vascular; se utiliza como técnica el electrohilado: el diseño resultó en un incremento en las propiedades mecánicas que sugiere su potencial aplicación en la ingeniería vascular; específicamente en vasos reforzados. Se varió la concentración de gelatina y PLA, con lo que demostraron que, conforme aumentó la relación de PLA el tamaño de la fibra aumentó, también se encontró que la mojabilidad y la nanotextura del andamio afecta las propiedades de degradación. En este trabajo no se realizó cultivo celular.

Como cabe notar, en los artículos de los que se hizo mención, no se ha realizado un sembrado celular en andamios PLA/Gelatina con células madre mesenquimales obtenidas de orina, las cuales han sido objeto de estudio en los últimos años; como lo menciona Yuanyuan Zhang et. al., en el 2008, que buscó determinar que células presentes en la orina poseen características de células normales de la vejiga y su posible potencialidad en procedimientos de reconstrucción urológica. En este trabajo se colectaron muestras de orina tanto de individuos sanos como de pacientes con reflujo vesicoureteral. Las células se aislaron, se expandieron y se probaron como progenitor con marcadores específicos para diferenciación de células. Los métodos que se utilizaron fueron citometría de flujo, inmunofluorescencia e inmunotransferencia de Western. El autor indica que 2 de 7 células por 100 ml de orina fueron progenitores multipotentes, que pudieron



expandirse extensivamente en el cultivo y estas células progenitoras individuales tuvieron la habilidad de diferenciarse en células uroteliales, de músculo liso y endoteliales, dando como resultado que estas células podrían servir como una alternativa para la ingeniería de tejidos en el tracto urinario y en la reconstrucción.

En el 2013 Guihua Liu et. al., dieron a conocer la necesidad de buscar otra forma de obtención de células madre para la ingeniería de tejidos de la vejiga y la uretra, debido a que estas células se obtienen generalmente de una biopsia en estos órganos, lo que conlleva a ciertas complicaciones, como lo son: sangrado local del tejido, infección e incomodidad del paciente. Ellos demostraron que es posible aislar y hacer crecer células de la orina; posteriormente las diferenciaron en células uroteliales y musculares lisas, para su posterior sembrado en andamios de celulosa bacteriana y submucosa intestinal pequeña. Después se hizo un cultivo [*in vivo*], que mostró el crecimiento de las células y la formación de multicapas laminares uroteliales.

En 2014 Yinxin Fu et. al., se plantearon como objetivo evaluar el uso de andamios de policaprolactona/gelatina con células derivadas de la orina, para la cicatrización de heridas. Los andamios se hicieron por la técnica de electrohilado y presentaron propiedades mecánicas similares a las de la piel; y además mostraron buena biocompatibilidad. El uso de células provenientes de la orina en andamios de policaprolactona/gelatina funcionaron de manera adecuada en la cicatrización de herida de ratas.

En 2015, Ting Long et. al. presentaron una revisión de la obtención de células provenientes de la orina. Ciertamente, las células troncales pueden reparar con mayor eficiencia el tejido del cual provienen; por lo cual, las células troncales que provienen de la orina representan un óptimo recurso para la reparación del sistema genitourinario. En crecimiento [*in vitro*], estas células pueden diferenciarse en tipos de células endodermales (podocitos y células uroteliales); mesodermales (células endoteliales, células de músculo liso, miocitos esqueléticos, osteocitos, condrocitos y adipocitos); y exodermales (neurocitos). Después de la implantación [*in vivo*] pueden formar urotelio funcional, podocitos, endotelio, músculo esquelético y liso, excepto hueso, cartílago y tejido adiposo. En la presente revisión, también se destacó que las células provenientes de la orina exhiben alta capacidad de proliferación y efecto paracrino e inmunomodulador.



5 Justificación.

Existen diversas técnicas para la obtención de andamios y entre ellas está el electrohilado en el cual están implicadas diversas variables que se pueden ir modificando con el fin de obtener el andamio esperado. Uno de los mayores inconvenientes que se han presentado es que se obtienen tamaños de poros pequeños lo cual no ha permitido una adecuada infiltración celular. Es por ello la pretensión de modificar los parámetros de electrohilado y con mayor énfasis la forma del colector en este caso tipo engranes, para obtener andamios con mayor porosidad debido a que las células madre mesenquimales provenientes de la orina son relativamente grandes, con un tamaño aproximado de 15 μm . Debido a la estructura del colector, se obtuvieron dos tipos de andamios: uno que se depositaba en la parte plana y otro entre los engranes, se procedió a medir la porosidad para elegir el de mayor tamaño.

También se tomaron en cuenta dos factores que pudiesen afectar la porosidad, como lo es la velocidad angular y la distancia entre engranes, por lo cual se hizo necesario realizar un diseño factorial experimental de (2x2) y ver si realmente existía alguna influencia; para medir la porosidad se utilizaron 2 métodos: intrusión de un líquido y gravimetría. Sin embargo, estos dos métodos no sirvieron para medir la porosidad del andamio que se depositaba entre los engranes, así que sólo se midió el área que existía entre las fibras por ImageJ.

Como material se utilizó el poli (ácido láctico) debido a sus buenas propiedades mecánicas, biodegradables y biocompatibles, aunque cabe mencionar que debido a sus características hidrofóbicas se hizo necesario utilizar gelatina para aumentar su carácter hidrofílico, además de que la gelatina proviene de la colágena y esta proteína se encuentra en la matriz extracelular y posee una secuencia específica de aminoácidos que tiene el tripéptido arginina-glicina-ácido aspártico (RGD) que es la clave en la adhesión entre la célula y la matriz.

A pesar de que la técnica de electrohilado posee algunas ventajas, también presenta ciertas desventajas. Una de ellas es que el andamio que se obtiene es muy difícil de maniobrar a la hora de realizar el cultivo celular: se dobla fácilmente y, a pesar de la adición de gelatina que hace que el andamio posea un carácter hidrofóbico, el andamio no se sumerge del todo en el medio de cultivo, lo que igual provoca que las células no se adhieran del todo.

Es por ello que se elaboró un sostén donde se mantuvo el andamio electrohilado que se depositaba entre los engranes para su fácil manejo. El soporte se realizó en un impresora en 3D y como material también se utilizó poli (ácido láctico).



6 Objetivos

6.1 General:

Elaborar andamios por electrohilado a partir de poli (ácido láctico) (PLA) y gelatina mediante el uso de un colector rotatorio no plano con un soporte elaborado por la técnica de impresión en 3D, el cual permita el óptimo ambiente para la proliferación de células madre mesenquimales obtenidas de orina.

6.2 Particulares:

- Obtener andamios de poli (ácido láctico) y gelatina que posean una distancia entre fibras de entre 5 y 20 μm^2 , mediante un colector rotatorio con superficie no plana.
- Determinar el diámetro, porosidad y la calidad de las fibras por microscopía electrónica de barrido; en función de las condiciones de electrohilado.
- Medir la afinidad al agua y su dependencia de la cantidad de la gelatina de los andamios electrohilados, esto con el fin de que el andamio sea manejable y soporte las actividades celulares.
- Evaluar viabilidad, proliferación y adhesión de las células en función de las condiciones de electrohilado y la concentración de la gelatina.

7 Hipótesis:

El uso de un colector rotatorio no plano en el electrohilado permitirá la obtención de andamios con una mayor porosidad, al variar la rapidez de giro del colector y los parámetros de electrohilado, el cual permitirá el óptimo ambiente para la proliferación de células madre mesenquimales obtenidas de orina.



8 Materiales y Métodos

Para la fabricación y la caracterización de las microfibras se adquirieron los siguientes materiales: poli (ácido láctico) con M_w 230,000 adquirido de NatureWorks, gelatina (gelatin from cold water fish skin) adquirido de Sigma-Aldrich Co., 1, 1, 1, 3, 3, 3-Hexafluoro-2-propanol de Sigma-Aldrich Co. Para la purificación del poli (ácido láctico) se utilizó cloroformo de Alfa Aesar A Johnson Matthey Company y Metanol de J. T. Baker. Para el método de intrusión de un líquido se utilizó Alcohol Etilico desnaturalizado J. T. Baker.

8.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.

Las muestras se analizaron en el equipo Thermo Scientific, Nicolet 6700, de los andamios se recortaron secciones de 1 cm^2 , se colocaron en el portamuestras y después se ajustaron por medio de un tornillo. El análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada ATR-FTIR se realizó para determinar los grupos funcionales de los materiales usados para elaborar el andamio electrohilado; se pudo identificar el poli (ácido láctico) y la gelatina.

8.2 Análisis termogravimétrico.

La técnica de análisis termogravimétrico se realizó con el fin de medir la respuesta del material al someterlo a un calentamiento; el objetivo es establecer una conexión entre la temperatura y las propiedades físicas, específicas del material. Para este análisis, la muestra a estudiar se coloca en el porta-muestras, el cual está montado sobre (o suspendido) el brazo de pesaje de la microbalanza. El equipo que se utilizó fue el TA Instruments SDT Q600 Module DSC-TGA Standard y los termogramas que se obtienen se analizaron mediante el software TA Universal Analysis. A continuación se presenta las condiciones de operación:

Tabla 3. Condiciones de operación para el análisis termogravimétrico.

Muestra	Intervalo de temperaturas	Velocidad de Calentamiento	Masa	Gas de purga
Gelatina.	35 °C- 500 °C	10 °C/ min	4.6600 mg	Nitrógeno
Poli (ácido láctico) y gelatina electrohilados.	35 °C- 500 °C	10 °C/ min	1.1700 mg	Nitrógeno
Poli (ácido láctico) después de purificar.	35 °C- 500 °C	10 °C/ min	3.4500 mg	Nitrógeno
Poli (ácido láctico) en pellets.	35 °C- 500 °C	10 °C/ min	10.1100 mg	Nitrógeno

8.3 Calorimetría diferencial de barrido.

La calorimetría diferencial de barrido permitió obtener de manera sencilla la determinación de la temperatura de transición vítrea, la temperatura de fusión y la cristalinidad del polímero. Para esta técnica, en uno de los recipientes del porta-muestras se deposita el espécimen y en el otro recipiente un material de referencia inerte para después colocarse en el centro del horno. El equipo que se utilizó fue TA Instruments DSC Q100 y para el análisis de los resultados se manejó el programa TA Universal Analysis.



Tabla 4. Condiciones de operación para calorimetría diferencial de barrido.

Muestra	Intervalo de temperaturas	Velocidad de Calentamiento	Masa	Gas de purga
Gelatina.	25 °C- 300 °C	10 °C/ min	9.5030 mg	Nitrógeno
Poli (ácido láctico) y gelatina electrohilados.	20 °C- 300 °C	5 °C/ min	1.8080 mg	Nitrógeno
Poli (ácido láctico) después de purificar.	25 °C- 300 °C	10 °C/ min	2.9470 mg	Nitrógeno
Poli (ácido láctico) en gránulos.	25 °C- 300 °C	10 °C/ min	36.6020 mg	Nitrógeno

8.4 Ángulo de contacto.

El ángulo de contacto se utilizó con el objeto de conocer el carácter hidrofóbico o hidrofílico de los andamios fabricados. Del andamio se recortaron tres secciones de 1 cm² como muestras analizar. Se utilizó un goniómetro Ramehart, inc. Modelo 100-07-00, adaptado con un sistema óptico para observar la interacción de la gota de agua con la superficie del andamio, el análisis de imágenes se realizó mediante el programa ImageJ para determinar el ángulo de contacto.

8.5 Difracción de rayos X.

Esta herramienta de difracción de rayos X se utilizó con el fin de obtener el grado de cristalinidad antes y después de la purificación. Se analizó en un equipo XRD (Siemens D-500, Cu K_α radiación; $\lambda=1.5406 \text{ \AA}$). Las muestras se disolvieron en cloroformo y se hicieron membranas en forma circular de 2 cm de radio, se pusieron a secar a temperatura ambiente durante 3 días.

8.6 Microscopía electrónica de barrido.

La microscopía electrónica de barrido permitió conocer la morfología, la distribución del diámetro de fibras y una aproximación de la superficie porosa. Para este análisis, se preparó un andamio de 4x3 mm, sobre un portamuestras de acero inoxidable. Posteriormente se recubrió la muestra con oro mediante un equipo JEOL JPC-1100 y se observó en el microscopio JEOL Field Emission JSM-7600F. La medición del diámetro de fibras se realizó con el programa ImageJ.

8.7 Elaboración de los andamios.

Se variaron ciertos parámetros que están implicados en el equipo de electrohilado, los cuales se presentan en el siguiente esquema:

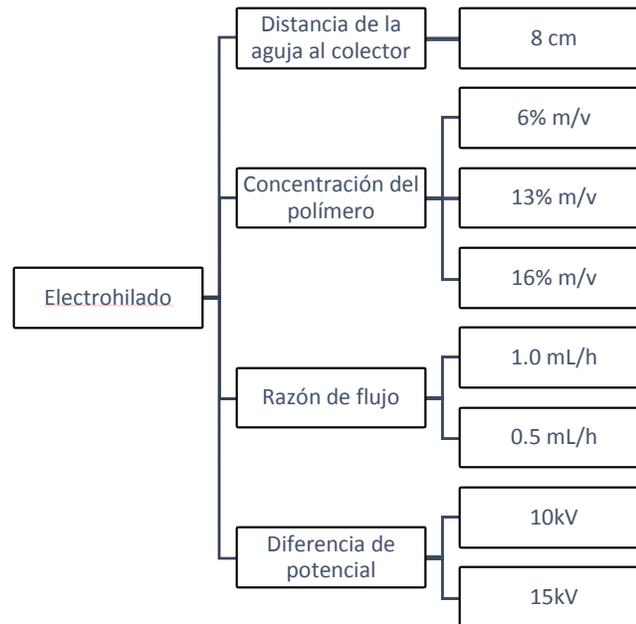


Figura 6. Variación en los parámetros de electrohilado.

Por otro lado, con el objetivo de determinar si existe una influencia de la velocidad de rotación o la distancia entre engranes en el espacio vacío del andamio, se procedió a realizar un diseño de experimentos factorial de dos niveles. Para este diseño de experimentos se utilizó como resultado la porosidad que hay en el andamio, para medirlo se utilizaron dos métodos, líquido de intrusión y por gravimetría, los cuales se explican a continuación:

Método por intrusión de un líquido (52).

- Se cortaron andamios de (2x2) cm
- Se midió el espesor
- Se pesaron los andamios
- Se sumergió cada pieza de andamio en 2 mL de alcohol etílico desnaturalizado y se colocó en un sonicador BRANSON 2510 durante dos horas
- Se sacaron los andamios y se quitó el exceso de alcohol etílico con un papel filtro.
- Se volvieron a pesar los andamios.

La porosidad ε entre los andamios se calculó de la siguiente manera:

$$\varepsilon = \frac{\text{Volumen del alcohol introducido}}{\text{Volumen del alcohol introducido} + \text{Volumen total del andamio}} \quad (1)$$

$$\rho_{\text{alcohol}} = \frac{m_{\text{alcohol}}}{v_{\text{alcohol}}} \quad (2)$$

$$\rho_{\text{andamio}} = \frac{m_{\text{andamio}}}{v_{\text{andamio}}} \quad (3)$$

$$\rho_{\text{andamio}} = \rho_{\text{PLA}} * f_{\text{PLA}} + \rho_{\text{gelatina}} * f_{\text{gelatina}} \quad (4)$$

Los volúmenes se pueden calcular despejando de las ecuaciones (2) y (3), la densidad del PLA se obtuvo del libro de Jie Ren (53) y de la gelatina se obtuvo del Gelatin Handbook (54). La masa del alcohol se obtuvo de una diferencia de masas. En el caso del andamio, se pesó húmedo con el líquido de intrusión (alcohol etílico) menos la masa del andamio seco. La masa del andamio se obtuvo pesando el andamio seco. La densidad del andamio involucra los componentes que se utilizaron para realizar el andamio. Este caso fue del PLA y la gelatina. La solución se realizó en una proporción 3:1 de PLA/Gelatina; donde f_{PLA} se refiere a la fracción de PLA en la solución (2/3) y f_{gelatina} se refiere a la fracción de la gelatina en la solución (1/3).

Método por gravimetría.

- Se pesaron los andamios de (2x2) cm
- Se midió el espesor con un micrómetro digital Mitutoyo No. 293-721-30.
- Se pesó el andamio

La porosidad ε entre los andamios se calculó de la siguiente manera:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{\text{andamio}}}{\rho_{\text{material}}} \quad (5)$$

$$\rho_{\text{andamio}} = \frac{m_{\text{andamio}}}{v_{\text{andamio}}} \quad (6)$$

$$\rho_{\text{material}} = \rho_{\text{PLA}} * f_{\text{PLA}} + \rho_{\text{gelatina}} * f_{\text{gelatina}} \quad (7)$$

En este caso, la densidad del andamio se calculó pesando el andamio seco y se obtuvo su masa, el volumen del andamio se calculó multiplicando las mediciones del área del andamio de (2x2) cm con su respectivo espesor. Para la densidad del material implican los componentes que se utilizaron, que como ya se había mencionado, son de PLA y la gelatina.

Modelo simple con dos factores

La metodología de diseño de experimentos estudia cómo realizar comparaciones lo más homogéneas posibles, para aumentar, en consecuencia, la probabilidad de detectar cambios o identificar variables influyentes (50).

El modelo simple con dos factores se utiliza cuando queremos investigar el efecto de dos atributos independientes sobre una variable respuesta. Por ejemplo, se quiere investigar si la velocidad de rotación o la distancia entre los engranes influyen en la porosidad del andamio (Fig. 7).

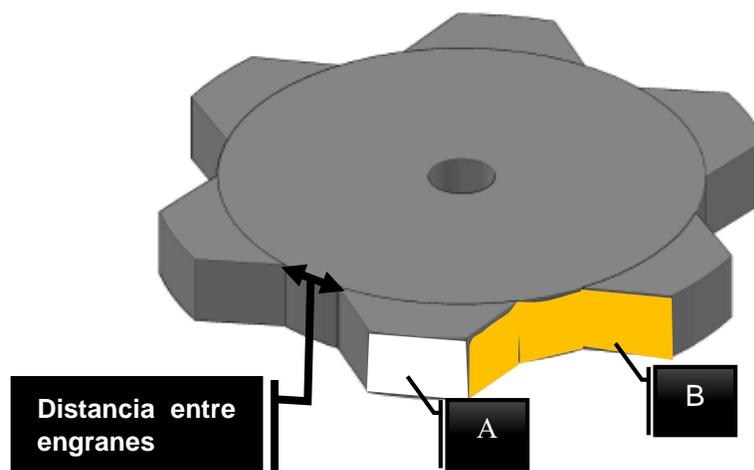


Figura 7. Modelo que se utilizó como soporte. (A) Parte plana (B) Fibras que se depositan entre engranes.

El experimento factorial que se presenta en esta investigación es factorial con 2 factores y 2 niveles. Se realizaron 3 réplicas, dando un total de 12 corridas. La variable respuesta es la porosidad del andamio.

Los factores en este experimento son la velocidad angular y la distancia entre los engranes. Los niveles para cada factor son:

Tabla 5. Nivel de los factores

Factores	Niveles	
Velocidad angular $\omega = [\bar{\omega} \pm 0.01 \text{ rad/s}]^*$	7.33	3.14
Distancia entre los engranajes $L = [\bar{L} \pm 0.05 \text{ cm}]^\dagger$	1.5	4.5

* Anexo 12.1

† Anexo 12.2

Tabla 6. Diseño factorial del experimento.

Orden	Aleatorización	Velocidad angular $\omega = [\bar{\omega} \pm 0.01 \text{ rad/s}]$	Distancia entre engranes $L = [\bar{L} \pm 0.05 \text{ cm}]$
2	1	7.33	1.5
11	2	3.14	4.5
4	3	7.33	4.5
3	4	3.14	4.5
1	5	3.14	1.5
12	6	7.33	4.5
10	7	7.33	1.5
7	8	3.14	4.5
6	9	7.33	1.5
8	10	7.33	4.5
5	11	3.14	1.5
9	12	3.14	1.5

También se hizo uso del el análisis de varianza (ANOVA), la cual se puede definir como una técnica mediante la cual la variación total presente en un conjunto de datos se divide en varias componentes, cada una de las cuales tiene asociada una fuente de variación específica, de manera que en el análisis sea posible conocer la magnitud de las contribuciones de cada fuente de variación a la variación total (55).

Este experimento se realizará con el objeto de estudiar simultáneamente los efectos en la porosidad al variar la distancia entre engranes y la velocidad angular. Se investigará todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores. Entonces, si hay I niveles del factor A y J niveles del factor B, cada réplica contiene todas las IJ combinaciones del tratamiento.

En este análisis existirán tres hipótesis a contrastar; es decir, se busca la significación de ambas variables y la posible interacción entre ellas:

- i. H_0 : No hay efecto de la velocidad angular en la porosidad del andamio.
 H_a : Hay efecto de la velocidad angular en la porosidad del andamio.
- ii. H_0 : No hay efecto de la distancia entre engranes en la porosidad del andamio.
 H_a : Hay efecto de la distancia entre engranes en la porosidad del andamio.
- iii. H_0 : No hay efecto interacción velocidad angular-distancia entre engranes en la porosidad del andamio.
 H_a : Hay efecto de la interacción velocidad angular-distancia entre engranes en la porosidad del andamio.

Probar una hipótesis consiste en investigar si lo afirmado por la hipótesis nula es verdad o no. La estrategia de prueba parte del supuesto de que H_0 es verdadera, y si los resultados de la investigación contradicen en forma suficiente dicho supuesto, entonces se rechaza H_0 y se acepta la hipótesis alternativa. En caso de que los resultados de la investigación no demuestren claramente la falsedad de H_0 , ésta no se rechaza. Es decir, la hipótesis nula es verdadera mientras no se demuestre lo contrario (51).



Una vez planteada la hipótesis, se toma una muestra aleatoria de la población de estudio o se obtienen datos mediante un experimento planeado de acuerdo con la hipótesis. El estadístico de prueba es un número calculado a partir de los datos y la hipótesis nula, cuya magnitud permite discernir si se rechaza o no la hipótesis nula H_0 . Al conjunto de posibles valores del estadístico de prueba que llevan a rechazar H_0 , se le llama región o intervalo de confianza para la prueba y a los posibles valores donde no se rechaza H_0 se le llama región o intervalo de aceptación (51).

El estadístico de prueba, construido bajo el supuesto de que H_0 es verdad, es una variable aleatoria con distribución conocida. Si efectivamente H_0 es verdad, el valor del estadístico de prueba debería caer dentro del rango de valores más probables de su distribución asociada, el cual se conoce como *región de aceptación*. Si cae en una de las colas de su distribución asociada, fuera del rango de valores más probables (en la *región de rechazo*), es evidencia en contra de que este valor pertenece a dicha distribución (51).

Los datos experimentales en el diseño de dos factores completamente al azar en general se ordenan en una tabla como la que se muestra a continuación:

Tabla 7. Valores de muestra para el diseño de dos factores. Ref. (55)

FACTOR A (FILAS)	FACTOR B (COLUMNAS)					Tamaño de filas $m=J \cdot K$	Sumas $Y_{i\bullet}$	Medias $\bar{Y}_{i\bullet}$
	B_1	B_2	B_3	...	B_J			
A_1	Y_{111} Y_{112} • • Y_{11k}	Y_{121} Y_{122} • • Y_{12k}	Y_{131} Y_{132} • • Y_{13k}	...	Y_{1J1} Y_{1J2} • • Y_{1Jk}	m	$Y_{1\bullet}$	$\bar{Y}_{1\bullet}$
A_2	Y_{211} Y_{212} • • Y_{21k}	Y_{221} Y_{222} • • Y_{22k}	Y_{231} Y_{232} • • Y_{23k}	...	Y_{2J1} Y_{2J2} • • Y_{2Jk}	m	$Y_{2\bullet}$	$\bar{Y}_{2\bullet}$
A_3	Y_{311} Y_{312} • • Y_{31k}	Y_{321} Y_{322} • • Y_{32k}	Y_{331} Y_{332} • • Y_{33k}	...	Y_{3J1} Y_{3J2} • • Y_{3Jk}	m	$Y_{3\bullet}$	$\bar{Y}_{3\bullet}$
• • •	• • •	• • •	• • •	• • •	• • •			
A_i	Y_{i11} Y_{i12} • • Y_{i1k}	Y_{i21} Y_{i22} • • Y_{i2k}	Y_{i31} Y_{i32} • • Y_{i3k}	...	Y_{iJ1} Y_{iJ2} • • Y_{iJk}	m	$Y_{i\bullet}$	$\bar{Y}_{i\bullet}$
Tamaño de muestra	$n=I \cdot K$	n	n	...	n	$N=I \cdot J \cdot K = n \cdot J = m \cdot I$		
Sumas	$Y_{\bullet 1}$	$Y_{\bullet 2}$	$Y_{\bullet 3}$...	$Y_{\bullet J}$	$Y_{\bullet \bullet}$		
Medias	$\bar{Y}_{\bullet 1}$	$\bar{Y}_{\bullet 2}$	$\bar{Y}_{\bullet 3}$...	$\bar{Y}_{\bullet J}$	$\bar{Y}_{\bullet \bullet}$		

Donde:

i = índice de fila.

j = índice de columna.

k = índice de celda o tratamiento.

J = número de columnas.

I = número de filas.

K = número de observaciones por celda.

$m = KJ$ = número de observaciones por fila.

$n = KI$ = número de observaciones por columna.

$N = m * I = n * J = I * J * K$
= número total de observaciones.

$$Y_{ij\bullet} = \sum_{k=1}^K Y_{ijk} = \text{suma de la celda } ij.$$

$$Y_{i\bullet\bullet} = \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K Y_{ijk} = \text{suma de observaciones por fila.}$$

$$Y_{\bullet j\bullet} = \sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^K Y_{ijk} = \text{suma de observaciones por columna.}$$

$$Y_{\bullet\bullet\bullet} = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K Y_{ijk} = \text{suma de todas las observaciones.}$$

La siguiente tabla resume las fórmulas para el análisis de varianza de dos factores:

Tabla 8. Tabla de ANOVA de dos factores. Ref. (55)

Fuente	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Factores fijos
Factor Fila	$I - 1$	$SC_{filas(A)} = \sum_{i=1}^I \frac{Y_{i\bullet\bullet}^2}{m} - \frac{Y_{\bullet\bullet\bullet}^2}{N}$	$CM_{filas} = \frac{SC_{filas}}{gl_{filas}}$	$F_{filas} = \frac{CM_{filas}}{CM_{error}}$
Factor Columna	$J - 1$	$SC_{col(B)} = \sum_{j=1}^J \frac{Y_{\bullet j\bullet}^2}{n} - \frac{Y_{\bullet\bullet\bullet}^2}{N}$	$CM_{col} = \frac{SC_{col}}{gl_{col}}$	$F_{col} = \frac{CM_{col}}{CM_{error}}$
Interacción	$(I - 1)(J - 1)$	$SC_{int} = SC_{subt} - SC_{filas} - SC_{col}$	$CM_{filas} = \frac{SC_{int}}{gl_{int}}$	$F_{int} = \frac{CM_{int}}{CM_{error}}$
Subtotal	$IJ - 1$	$SC_{col(B)} = \sum_{j=1}^J \sum_{i=1}^I \frac{Y_{ij\bullet}^2}{K} - \frac{Y_{\bullet\bullet\bullet}^2}{N}$	-	
Error	$N - IJ$	$SC_{error} = SC_{total} - SC_{subt}$	$CM_{error} = \frac{SC_{error}}{gl_{error}}$	
Total	$N - 1$	$SC_{col(B)} = \sum_{j=1}^J \sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^K Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{\bullet\bullet\bullet}^2}{N}$	-	

Se entiende por factores fijos aquellos cuyos niveles se seleccionan a propósito; es decir, los que el investigador selecciona por una razón especial (55). Se utilizará $\alpha = 0.05$ que significa que por cada 100 veces independientes que se aplica el procedimiento y se rechaza H_0 , se espera que, en un promedio de 95 veces, tal decisión sea la correcta. El estadístico será $F_{(1-\alpha, gl \text{ de trat}, gl \text{ error})}$ y su valor se obtiene de tablas.

8.8 Cultivo celular

La metodología que se llevó a cabo para el cultivo celular se presenta en la Fig. 8, se utilizó medio de queratinocitos libre de suero y medio de células progenitoras en una razón 1:1.

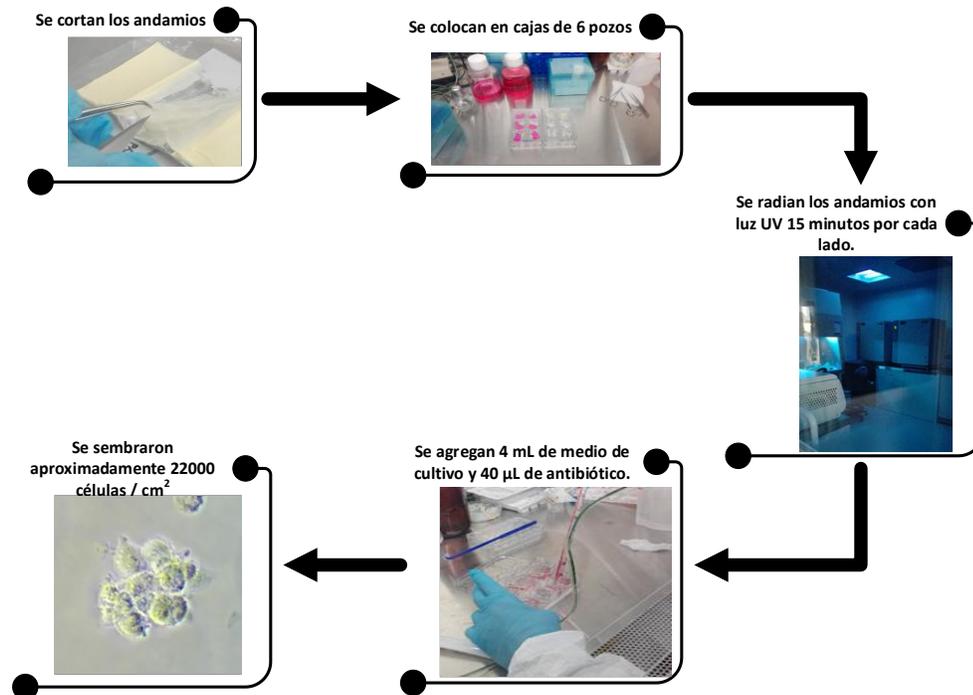


Figura 8. Metodología del cultivo celular.

El medio de queratinocitos libre de suero fue suplementado con 5 ng/ mL de factor de crecimiento epidermal, 50 ng/mL de extracto de bovino pituitario, 30 ng/mL de toxina de cólera, 100 U/mL de penicilina y 1 mg/mL de estreptomina. El medio de células progenitoras contiene $\frac{3}{4}$ de medio de cultivo Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), $\frac{1}{4}$ de Hamm's F12, 10% de suero fetal de bovino. 0.4 µg/mL de transferrina plus 2×10^{-9} M 3, 39 5-triiodo-L-tiroirina, 10 ng/mL de factor de crecimiento epidermal y 1% de penicilina – estreptomina.

Las células provenientes de la orina, se mantenían en cajas de petri a 37 °C y para su cultivo celular tuvieron que ser despegadas como se ilustra en la Fig. 9.

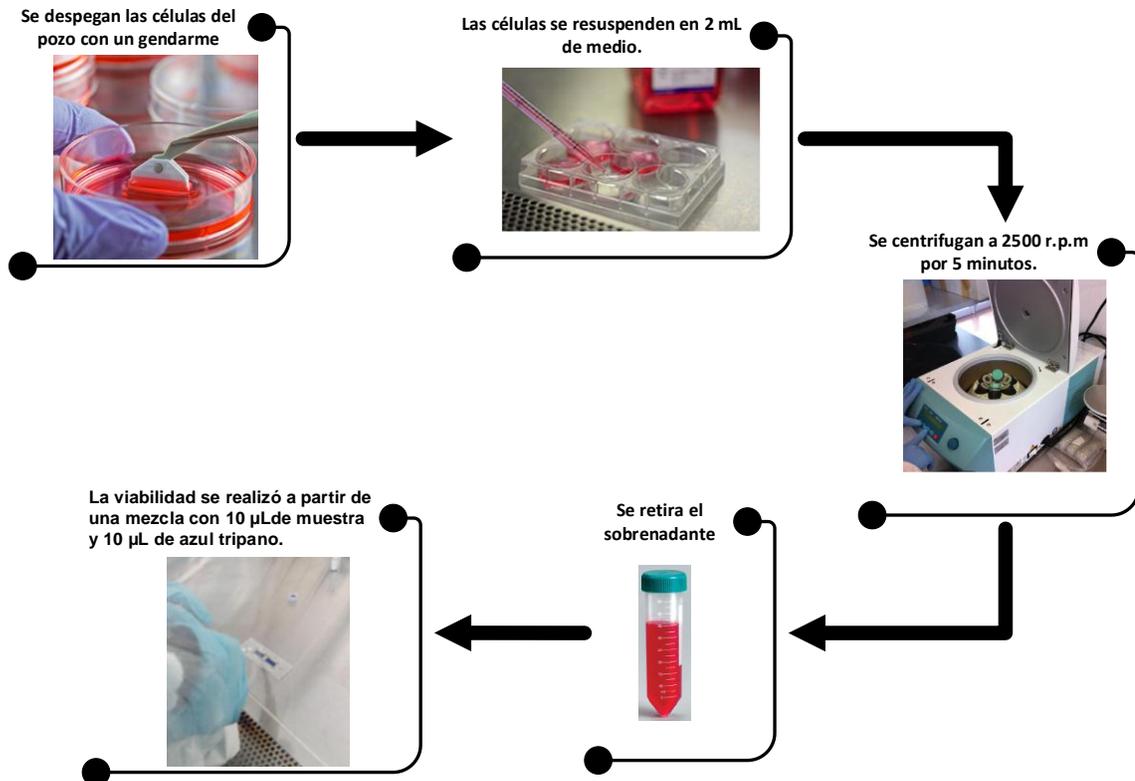


Figura 9. Desprendimiento de las células.



9 Análisis de resultados

9.1 Determinación de grupos funcionales por espectroscopia ATR-FTIR.

El FTIR del espectro de las fibras electrohiladas se muestran en la figura 10. El andamio de PLA presenta una vibración a 1753 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo(-C=O). Las bandas a 2995 cm^{-1} y 2943 cm^{-1} se asignaron al grupo funcional -C-H asimétrico y vibraciones de tensión simétricas del CH_3 . Las vibraciones de tensión de las unidades éster -C-O- fueron observados a 1180, 1129 y 1082 cm^{-1} (56).

Figura 10. Espectroscopía ATR-FTIR de PLA.

Posteriormente se analizó únicamente la gelatina en polvo, la banda de la amida-A posee una vibración característica entre 3500 y 3000 cm^{-1} ; aparecen debido al enlace N-H. Los picos que se observan a 1532 cm^{-1} y 1635 cm^{-1} son característicos de los grupos amida tipo I y II, como lo menciona S. G. Silva et. al., en su artículo *Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia* (57). (Fig. 11)



Figura 11. Espectroscopía ATR-FTIR de la gelatina.

Tabla 9. Bandas características de PLA, Gelatina y PLA/Gelatina a diferentes concentraciones

Vibración	Bandas (cm^{-1}) PLA	Bandas (cm^{-1}) Gelatina	Bandas (cm^{-1}) PLA13%/GEL 10% [‡]	Bandas (cm^{-1}) PLA 13%/ GEL 20%
R3-CH tensión	2995	---	2995	2995
CH3 tensión asimétrica	2943	---	2943	2943
C=O tensión	1753	----	1753	1753
C-O y C-C tensión	1180, 1129 y 1082	---	1180, 1129 y 1082	1180, 1129 y 1082
N-H tensión	----	3500-3000	----	3500-3000
C-N tensión	----	1633 y 1525	1633 y 1525	1633 y 1525

Por último, los andamios electrohilados con PLA/Gelatina en una relación 13/20 % m/v, se muestran en la figura 12 donde es notable la intensidad de los picos a las longitudes de onda 1532 cm^{-1} y 1635 cm^{-1} debidos a los grupos amida tipo I y II de la gelatina y también se presenta una mayor intensidad a una longitud de onda de 1753 cm^{-1} que corresponde al carbonil (-C=O) del poliéster, en este caso PLA. Las

[‡] PLA13%/GEL 10% indica que es una mezcla en una proporción 3:1 de la solución de PLA al 13% m/v y la solución de gelatina al 10% m/v.

bandas características de las muestras de PLA, gelatina y PLA/gelatina se encuentran en la tabla 9.

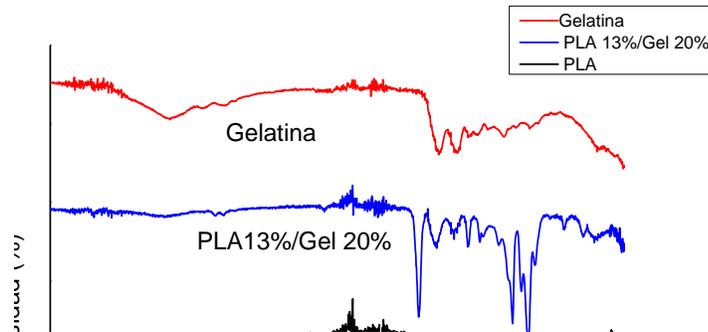


Figura 12. Espectros ATR-FTIR de PLA, Gelatina, PLA 13%/Gelatina 20%

9.2 Temperaturas de descomposición por análisis térmico (TGA)

El análisis termogravimétrico se realizó con el fin de caracterizar la descomposición y la estabilidad térmica de la gelatina, el poli (ácido láctico) antes y después de purificar, así como una muestra del poli (ácido láctico) y gelatina electrohilados. Las condiciones de operación fueron de 25 °C a 300 °C a excepción de la muestra electrohilada que fue de 20 °C a 300 °C.

El comportamiento de la gelatina en el termograma (Fig.13) presenta dos etapas de pérdida de masa: la primera tuvo lugar entre los 65 °C y los 135 °C, con una pérdida de masa de 9.282% y se relacionó con el agua adsorbida (58). La gelatina contiene tres tipos de agua: agua libre, agua enlazada con macromoléculas de la gelatina en una conformación helicoidal y expuesta al disolvente libre y, por último, agua estructural que consiste de moléculas que son enlazadas con las cadenas de gelatina y estabilizan la triple hélice o agregados de la triple hélice (59). Ciertamente los tres tipos de agua aparentemente se pueden preservar inclusive en la gelatina ya seca, el agua libre aparentemente se mantiene como grupos de agua en los poros del material polimérico (59).

A temperaturas menores a 200 °C el agua libre y el agua enlazada son liberadas de la gelatina, mientras que para remover el agua estructural ocurre a altas temperaturas y es asociado con el proceso de degradación térmica del polímero (59). La segunda pérdida de masa que corresponde al 57.89% del total se encuentra entre 266 °C - 343°C y esta transición fue asociada con la degradación térmica de la proteína (58) (59).

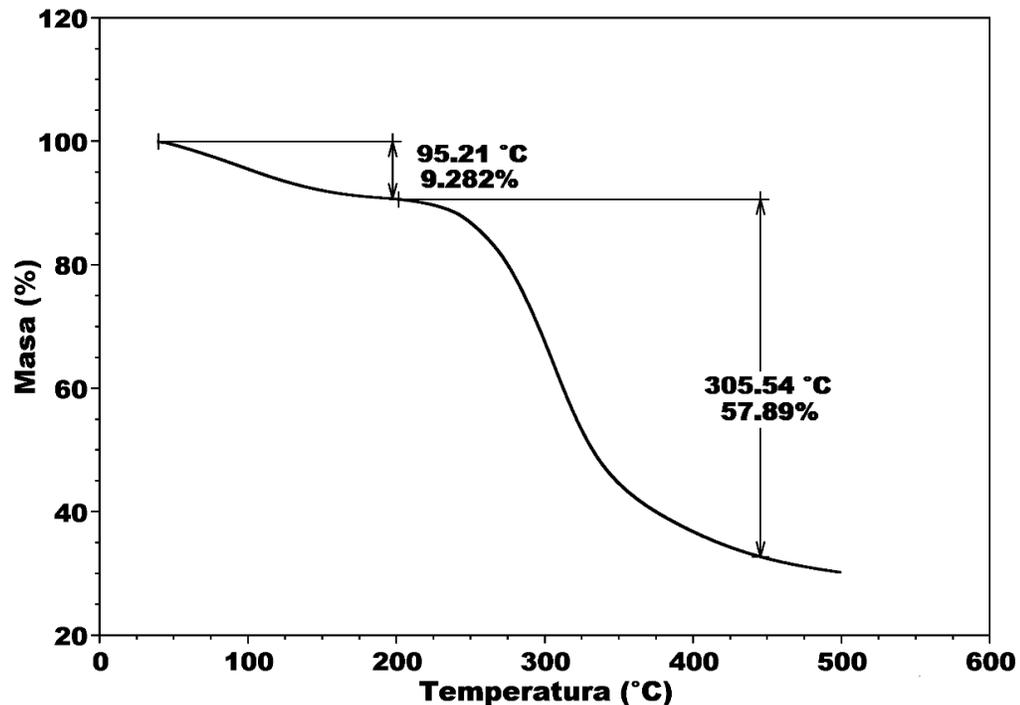


Figura 13. Termograma de análisis termogravimétrico de la gelatina.

Muchos estudios de la estabilidad térmica del poli (ácido láctico) ya se han reportado, entre los cuales se encuentran los artículos de Fan, Yujiang et. al., y Kopinke, F. D. et. al. Entre los diversos factores que influyen en el comportamiento térmico del poli (ácido láctico) se encuentran el peso molecular y su distribución, los oligómeros, residuos y monómeros hidrolizados, entre otros compuestos posiblemente presentes (60). McNeill y Leipener investigaron la degradación del poli (ácido láctico) bajo condiciones controladas de calentamiento isotérmico; reportaron que los principales productos en la pirólisis fueron oligómeros cíclicos, incluyendo lactidas. Ellos también determinaron la producción de productos de bajo punto de fusión, tal como dióxido de carbono, acetaldehídos, cetona y monóxido de carbono (60) (61). En el presente trabajo únicamente se determinaron las temperaturas a las cuales se dio la pérdida de peso de la muestra de poli (ácido láctico) en granulos, el purificado y el electrohilado con gelatina; como se puede ver en la Fig. 14, en la muestra del poli (ácido láctico) en gránulos, la pérdida de masa empezó alrededor de los 337 °C y terminó alrededor de los 370 °C. La muestra de poli (ácido láctico) purificado no cambio mucho, con respecto a la presentación en gránulos, en este espécimen su pérdida de masa empezó alrededor de los 333 °C y terminó a los 362 °C. La curva del poli (ácido láctico) con gelatina electrohilados presenta dos pérdidas de masa, esto debido a la presencia de gelatina, de hecho, la primer pérdida de masa se encuentra en 68 °C, que es muy cercana a la pérdida de masa de la gelatina sola la cual es de 65 °C (Fig.13); la segunda pérdida de masa empieza a los 292 °C y termina a los 335 °C.

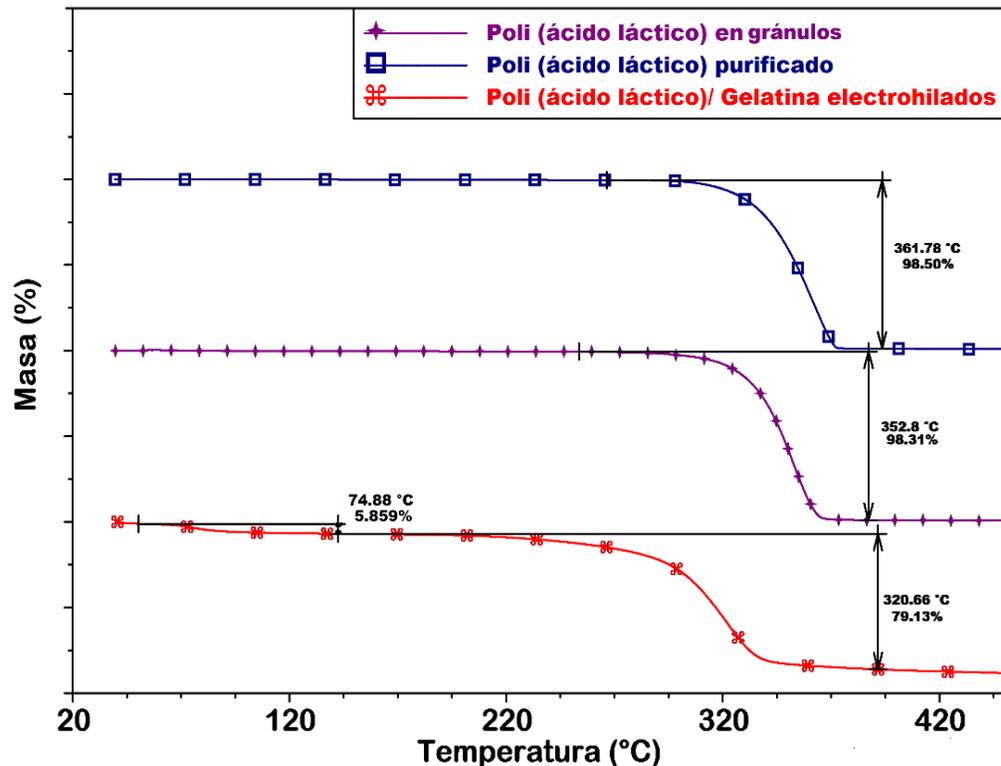


Figura 14. Termogramas de análisis termogravimetrico (TGA), del poli (ácido láctico) en gránulos, poli (ácido láctico) purificado y poli (ácido láctico)/ Gelatina electrohilados.

9.3 Determinación de las temperaturas de transición vítrea (Tg) y temperatura de fusión por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Para el poli (ácido láctico) semicristalino, tanto la temperatura de transición vítrea como la temperatura de fusión son parámetros muy importantes para predecir las propiedades del PLA. La temperatura de transición vítrea también se determina por la proporción de diferentes lactidos y las temperaturas de fusión aumentan con el incremento del peso molecular. El rango típico de la temperatura de transición vítrea del PLA es de 50 °C a 80 °C, mientras los rangos de temperatura de fusión están entre 130 °C y 180 °C (53).

Como se puede observar en la figura 15, la curva azul corresponde al PLA en gránulos con una $T_m=155.84$ °C y una entalpía de fusión de 35.14 J/g. Posteriormente se encuentra el PLA ya purificado a una $T_m=155.14$ °C con una entalpía de 34.76 J/g y por último el PLA/Gelatina ya electrohilados, como se puede notar, presenta una entalpía de fusión muy baja de 2.093 J/g, esto es atribuible al hecho de que se pasó por un proceso de electrohilado, el tiempo que tarda el chorro del polímero en depositarse en el colector es del orden de 0.1 s, la rapidez de este intervalo tiene una fuerte consecuencia en la cristalinidad de las fibras, donde las moléculas no tienen el suficiente tiempo para alinearse por sí mismas. Lo que resulta en un corto tiempo de cristalización y los cristales que se forman son muy pequeños y contienen defectos, que hace que decrezca la cristalinidad en su totalidad, subsecuentemente éstas fibras muestran baja entalpía de fusión (62).

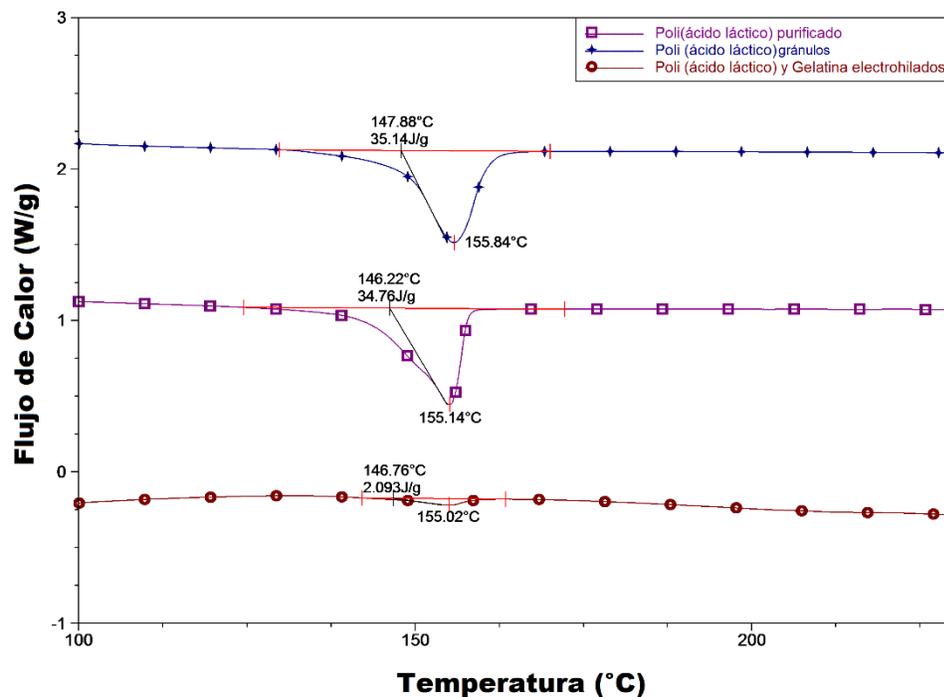


Figura 15. Termograma de DSC, para poli (ácido láctico) en gránulos, poli (ácido láctico) purificado y poli (ácido láctico) y gelatina electrohilados.

Por otro lado, se sabe que las proteínas tienen componentes como los grupos hidroxilo y los grupos amida que forman enlaces intermoleculares con la presencia de agua, que afecta fuertemente las características de la temperatura de transición vítrea (T_g). El movimiento de la cadena principal se restringe debido a estas interacciones intermoleculares y la temperatura de transición vítrea es más alta que el polímero cuando se encuentra seco. En ciertos tipos de proteínas y polisacáridos, la temperatura de transición vítrea y el punto de fusión se observa hasta la descomposición (63).

La gelatina es una proteína que consiste de tres cadenas polipeptídicas, distribuidas en forma de hélice. La estructura de la triple hélice se estabiliza por la formación de la cadena intermedia de los enlaces de hidrógeno entre los grupos C=O y N-H (64).

En la figura 16 se observa el termograma de la gelatina pura donde fluctúa un largo pico endotérmico en un rango de temperatura de 46 °C-150°C. Esto se asocia más con la evaporación del agua que se adsorbe y los enlaces intemoleculares de la proteína y se relaciona con la pérdida de masa que comienza aproximadamente a los 65 y termina como a los 130 °C como ya se mencionó anteriormente (Fig.13) (66). Está pérdida de masa hizo que los datos de DSC fueran imperceptibles a las transiciones de fase que ocurrieran por encima de 70 °C, con lo cual, solo aparece un largo y ancho pico endotérmico. La T_g y la T_m de la gelatina están entre 77-80 °C y 102-104 °C, respectivamente (66).

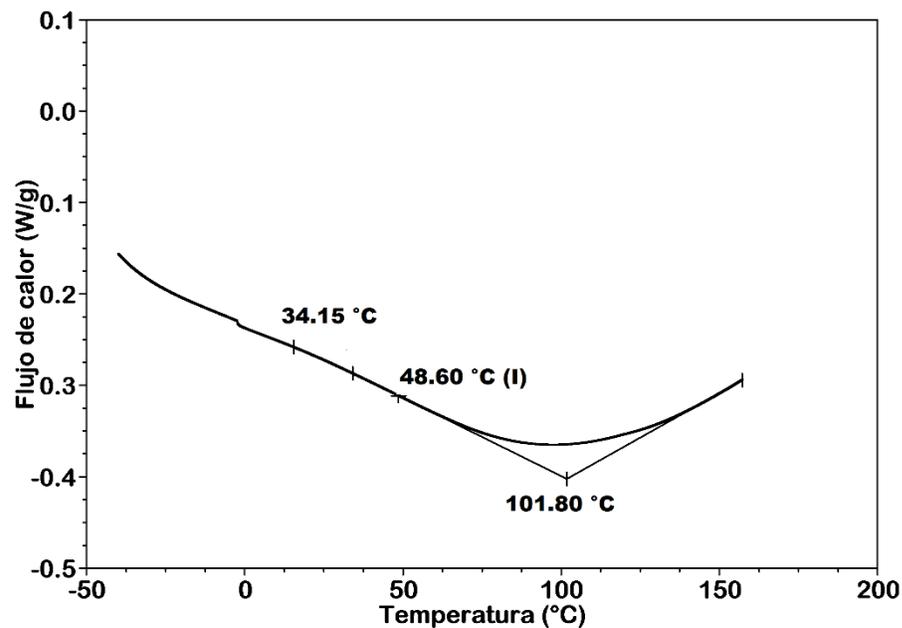


Figura 16. Termograma de DSC de la gelatina.

Entre las diversas propiedades físicas del PLA también se encuentra la temperatura de transición vítrea; se analizó el PLA en gránulos, purificado y PLA con gelatina electrohilados. El rango de temperatura de transición vítrea se encuentra entre los 54 °C y 63 °C (Fig. 17). La muestra que presenta una menor temperatura de transición vítrea es la muestra de PLA purificado que es de 54.93 °C, puesto que al pasar por un proceso de precipitación, la conformación de las esferulitas rodeadas con capas porosas aumenta el volumen libre de todo el polímero y disminuye la temperatura de transición vítrea (67). El PLA en gránulos y el PLA con gelatina electrohilados, tienen una T_g de 58 °C y 62 °C respectivamente, los cuales no difieren mucho uno del otro y se encuentran dentro de lo estipulado en la literatura.

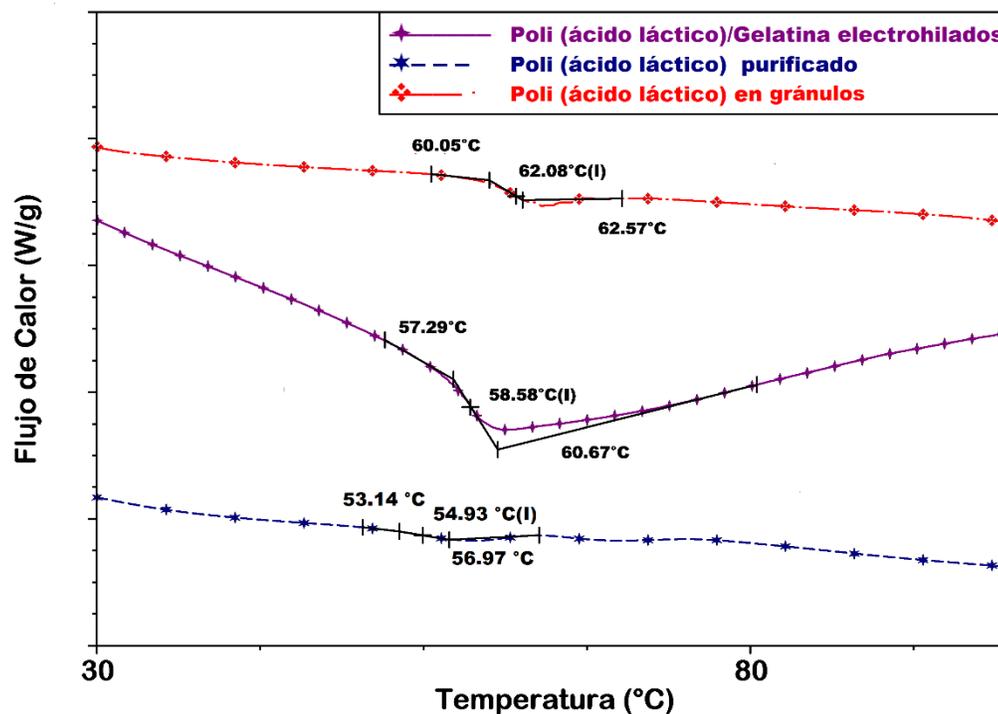


Figura 17. Termograma de DSC, para poli (ácido láctico) en gránulos, poli (ácido láctico) purificado y poli (ácido láctico) y gelatina electrohilados.

9.4 Determinación de la hidrofobicidad del poli (ácido láctico) y la gelatina por ángulo de contacto.

De forma general, se define el ángulo de contacto en avance como el ángulo que forma la superficie de un líquido al entrar en contacto con una superficie sólida. El valor del ángulo de contacto depende principalmente de la relación existente entre las fuerzas adhesivas del líquido y del sólido y las fuerzas cohesivas del propio líquido. En el PLA la deficiencia de grupos hidrofílicos en su superficie disminuye la afinidad celular, así como la ausencia de grupos funcionales necesarios para enlazarse químicamente con moléculas bioactivas (53). Es por ello que la adición de gelatina, que es una proteína, contribuirá a la disminución de la hidrofobicidad

en el andamio y, por ende, un crecimiento en la proliferación de las células (Tabla 10). De cada andamio se recortaron 3 secciones de 1 cm², por cada sección se midió el ángulo de contacto en cinco puntos, uno por cada esquina y uno en el centro. Se muestra claramente la disminución del ángulo de contacto conforme aumenta la cantidad de gelatina, los valores altos de desviación estándar se puede atribuir a que las fibras son orientadas aleatoriamente dando lugar a la heterogeneidad de la superficie.

Tabla 10. Ángulo de contacto a diferentes concentraciones de gelatina

Concentración	Promedio de θ	Desviación estándar
PLA 13%/ sin gelatina	132.1	1.648
PLA 13%/ 10% gelatina	124.8	2.096
PLA 13%/ 15% gelatina	111.4	5.636
PLA 13%/ 20% gelatina	33.8	3.559

9.5 Cristalinidad por difracción de rayos X.

La difracción por rayos X se ha utilizado desde 1940 para determinar la fracción de fase cristalina en polímeros semicristalinos. En la práctica, de acuerdo al método usado por Krimm y Tobolsky (1951), la cristalinidad se determina dividiendo el área de los picos cristalinos (A_c) sobre el área total de la intensidad dispersada que se encuentran sobre el límite del rango de 2θ en el cual el total dispersado es más intenso, donde ($A_c + A_a$) es la intensidad total dispersada y A_a es el área bajo los picos amorfos. Este tipo de cristalinidad es a menudo llamado índice cristalino (CI) y es expresado como un porcentaje (47).

$$CI = A_c 100 / (A_c + A_a)$$

Se tiene el diagrama del PLA en gránulos y se sugiere que posee una estructura cristalina ortorrómbica (de acuerdo a el PDF-2-2006 número de tarjeta 00-054-1917,

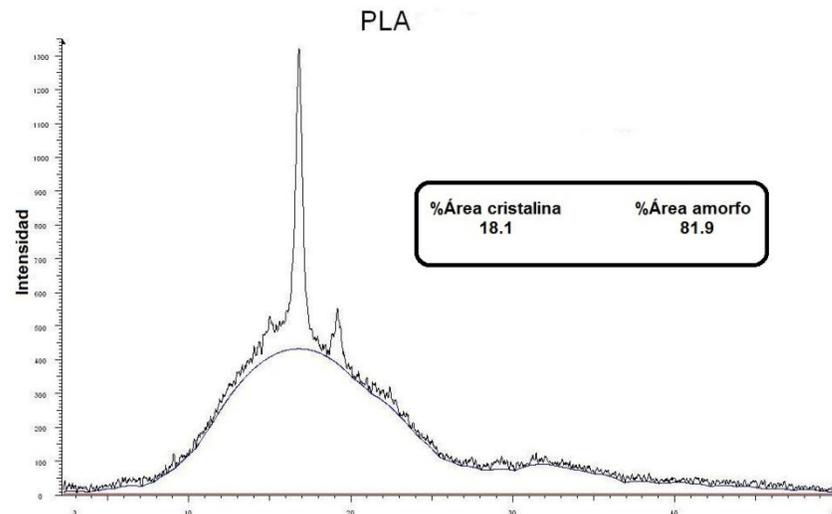


Figura 18. Diagrama de PLA en gránulos por análisis DRX.

Diffract Plus 2005), con los siguientes parámetros de celda: $a=10.61 \text{ \AA}$, $b=6.05 \text{ \AA}$ y $c=28.8 \text{ \AA}$ (68).

El PLA que se utilizó es grado técnico, por lo cual, fue necesario que pasara por un proceso de purificación. Se realizó un proceso de precipitación donde se hace una solución al 20% m/v de PLA en cloroformo y ésta se precipita en metanol. Los diagramas de difracción de rayos X (Fig.18 y 19) sugiere que, a nivel molecular la organización del PLA posee una fuerte dependencia de las condiciones del proceso, puesto que la cristalinidad del PLA aumento de un 18.1% a un 36.0% (Fig. 19). El PLA, al pasar por el proceso de precipitación presenta esferulitas rodeadas con

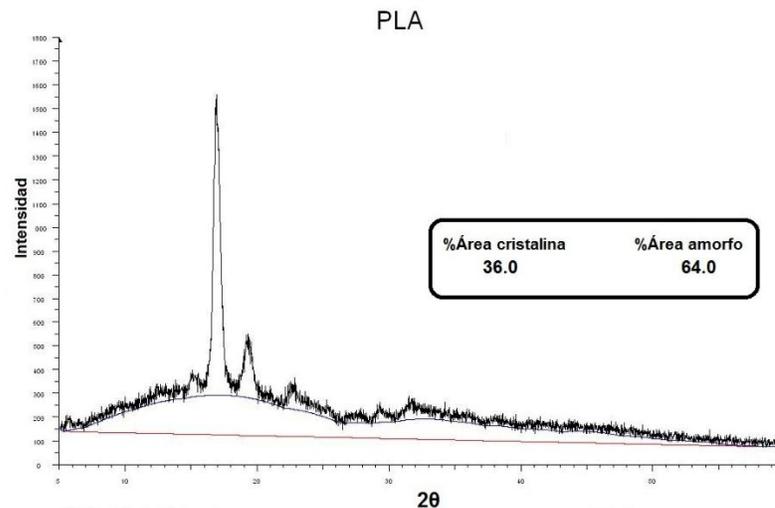


Figura 19. Diagrama de PLA purificado por análisis DRX.

capas porosas y se atribuye a una cascada de transiciones de fase. Primero una separación de las moléculas de PLA de la mezcla sólido-líquido, induce a la formación de esferulitas. Y la cristalización, ocurre primero en la fase rica del polímero que se concentra mediante la separación de éste componente de la mezcla líquido-líquido (69).

9.6 Elaboración de los andamios y análisis morfológico por SEM.

La distancia entre la aguja y el colector se tomó constante puesto que según Lina Marcela Duque Sánchez, et. al., en su artículo “Electrospinning: La era de las nanofibras” dependiendo de las propiedades de la solución el efecto de la variación de la distancia puede, o no, tener efecto en la morfología de las fibras. También indica que una mínima distancia es requerida para dar a las fibras el tiempo suficiente para que el disolvente se evapore antes de alcanzar el plato colector. En este caso se variaron las concentraciones de PLA, se tomó únicamente una distancia de 8 cm.

En el caso de la concentración del PLA, se tomó un mínimo de 6% de m/v, un intermedio de 13% m/v y un máximo de 16% m/v. La morfología de la solución al 6% de m/v no fue muy favorable (Fig. 20), puesto que resultó en la aparición de cuentas. En cambio, con una concentración del 16% de PLA, la solución resultaba ser tan viscosa que era complicado que la solución pasara a través del capilar.



También se puede observar que a medida que aumenta la concentración de la solución polimérica, aumenta el diámetro de la fibra (Tabla 11)[§]. El histograma de la figura 20B no muestra una distribución normal estándar y menos la figura 20D, tienden a ser sesgadas hacia el lado derecho, donde existen más fibras con menor diámetro y una que otra con valores muy alejados de la media, con lo cual, se puede decir que el método de electrohilado no permite una uniformidad en el diámetro de las fibras. La solución en la que no hubo apariciones de cuentas y no resultaba ser tan viscosa fue la del 13%. Como comenta Z. Liu et. al. la influencia de la viscosidad en el espesor del chorro del electrohilado tiene una fuerte dependencia en la viscosidad de la solución polimérica, y la viscosidad incrementa con el incremento de la concentración del polímero, debido al alto número de las cadenas poliméricas enmarañadas (70). Por lo tanto, una alta viscosidad de la solución permite un espesor más alto del chorro, debido a que es más difícil de estirar. Como resultado, la dirección del chorro genera un segmento largo recto y se elongó hasta que fue lo suficientemente delgada antes de que el chorro impactara en el colector (70).

R. Casasola et. al., indica que el cambio en la morfología de las fibras al incrementar la concentración de la solución polimérica se puede atribuir a la contibución entre la tensión de superficie y la viscosidad. Un incremento en la concentración del polímero resulta en un aumento en el enmarañamiento de las cadenas y un incremento en la viscosidad de la solución polimérica, por tanto, un incremento en la fuerza viscoelástica que contrarresta la fuerza de estiramiento coulombico y que resulta en pocos cuentas en las nanofibras (71).

[§] Los diámetros se midieron con ayuda del programa ImageJ, los histogramas se realizaron en el programa GraphPad Prism 6.

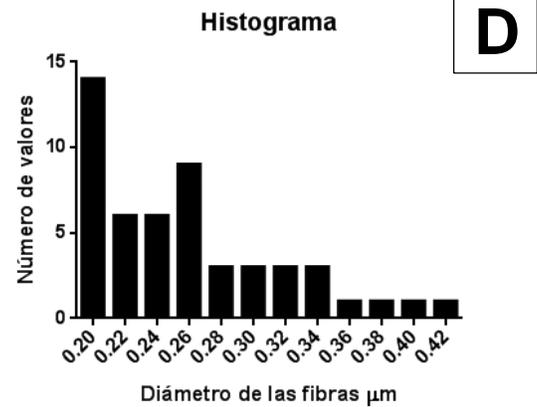
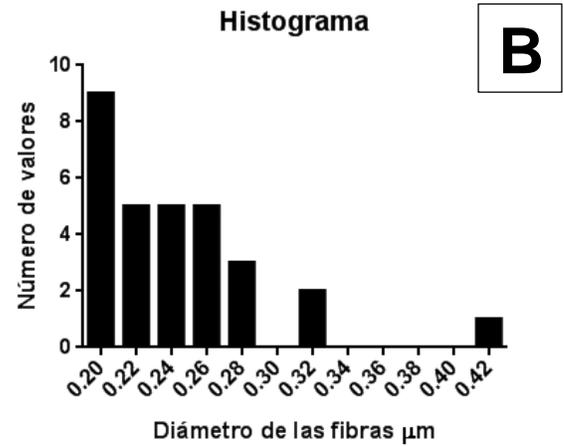
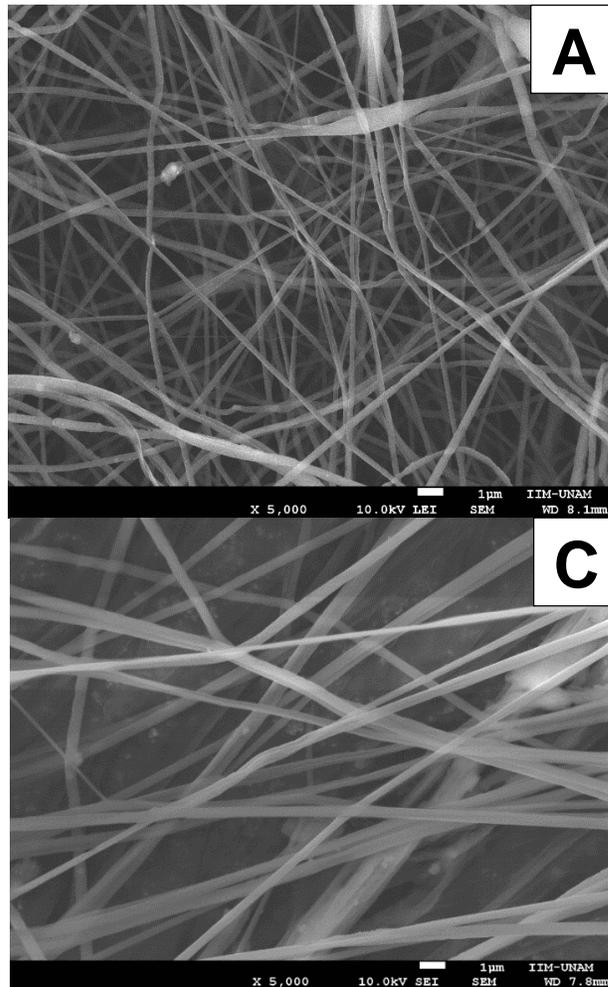


Figura 20. Micrografías del PLA a diferentes concentraciones. A) Micrografía del andamio de PLA al 6% m/v. B) Histograma que representa el diámetro de fibras de la micrografía A. C) Micrografía del andamio de PLA al 16% m/v. D) Histograma que representa el diámetro de fibras de la micrografía C.

Tabla 11. Diámetro de las fibras a diferentes concentraciones de PLA.

Diámetro de las fibras	
Concentración de PLA (% m/v)	Promedio µm
6	$\phi = (0.1989 \pm 0.0559)$
16	$\phi = (0.2160 \pm 0.0675)$

Con respecto a la razón de flujo, se pudo notar que a un 1 mL/h es muy alto, de tal forma que la fibra no alcanzaba a elongarse y esta comenzaba a gotear, por lo cual, se desperdiciaba mucho polímero. A una razón de flujo de 0.5 mL/h, la solución no goteaba y no se desperdiciaba polímero. A un diferencial de potencial de voltaje de 15 kV la fibra se distorsionaba demasiado y se fracturaba (Fig. 21). Por eso se estableció un diferencial de potencial de voltaje de 10 kV donde las fibras no se distorsionaban ni se fracturaban.

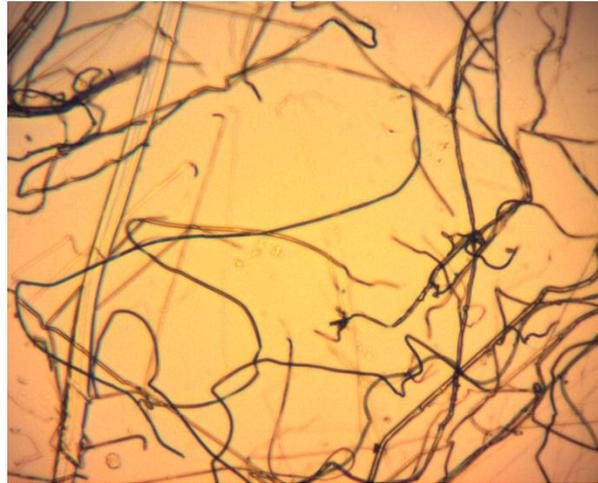


Figura 21. Fibras de PLA, fracturadas a una diferencia de potencial de voltaje de 15 kV

J. M. Deitzel et al. explica que a bajas diferencias de potencial, una gota de la solución permanece suspendida al final de la aguja de la jeringa y del chorro de la fibra se origina un cono al final de la gota (Fig. 22 A). El cono tiene un ángulo oblicuo de aproximadamente 50° , de acuerdo a la predicción teórica de Taylor, que fue de 49.3° , para un fluido viscoso en un campo eléctrico. Las nanofibras que se producen bajo estas condiciones tienen una morfología cilíndrica con pocos cuantos y defectos presentes. Conforme la diferencia de potencial aumenta, el chorro de la solución inicia directamente desde la punta sin gotas o cono externamente visibles. A altas diferencias de potencial, el chorro se dispara alrededor del borde de la punta de la jeringa, que indica que el chorro se origina en la superficie interior de la aguja, donde el borde de la superficie del líquido se encuentra con las paredes de la aguja (Fig. 22 B). Las fibras que se producen bajo estas condiciones tienen una gran cantidad de cuantos y de defectos (8).

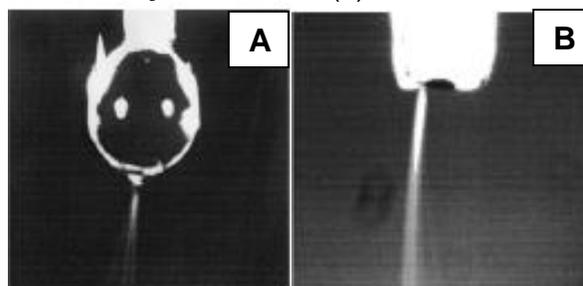


Figura 22. Salida del chorro de la solución polimérica. A) Bajas diferencias de potencial de voltaje. B) Altos diferenciales de potencial. Ref. (8).

Una vez que se estableció una razón de flujo de 0.5 mL/h, una distancia de 8 cm, concentración de PLA al 13% m/v y un diferencial de potencial de voltaje de 10 kV, se realizó un modelo simple de dos factores para ver si la velocidad de rotación y la distancia entre los engranes influían en la distancia entre las fibras o espacio vacío entre las fibras.

Los métodos que se utilizaron para medir la porosidad del andamio fue por gravimetría y por líquido de intrusión, los cuales se aplicaron a los dos tipos de estructuras obtenidas en el soporte, como se muestra en la figura 7: una parte que se encontraba en la parte plana y la otra que se encontraba entre los engranes (Ver Fig.7).

Desafortunadamente, el andamio que se depositó entre los engranes era muy delgado y difícil de manejar (Fig. 23), por lo cual no fue posible medir la porosidad del andamio por los métodos intrusión de un líquido y por gravimetría. Esto se puede atribuir a que el espacio entre los engranes cambia la forma del campo electrostático. Li y compañeros desarrollaron un cálculo de las líneas del campo electrostático entre dos colectores

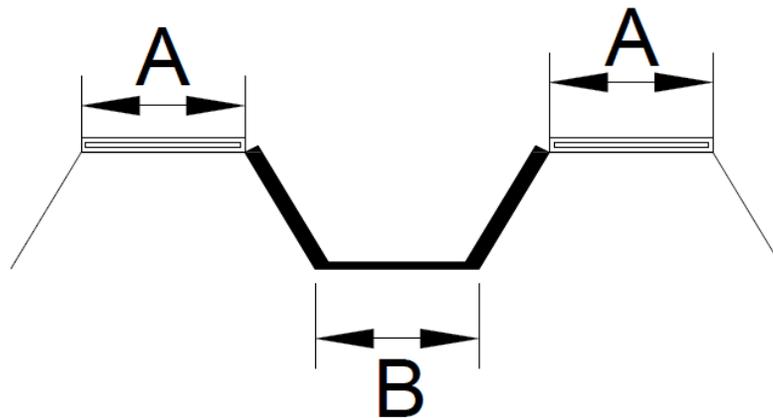


Figura 23. Colector A) Representa el andamio que se colecta en la parte plana. B) Representa el andamio que se colectan entre los engranes.

paralelos separados por una banda no conductora. Ellos mostraron que el campo electrostático fue fuertemente afectado por el tamaño del espacio y se orientó hacia los bordes opuestos del colector, lo que causa un alineamiento y alargamiento de las fibras (72). Para medir la porosidad de este andamio se utilizó Image J. A continuación se presentan los resultados que se obtuvieron para la porosidad entre los andamios de la parte plana.

En la tabla 12 se representan los valores promedios de la porosidad por el método de intrusión de un líquido con su respectiva incertidumbre por cada tratamiento. En las columnas se tiene el factor “Velocidad angular” con sus dos niveles y en las filas se representa el factor “Distancia entre engranes” con sus dos respectivos niveles; por ejemplo se tiene el tratamiento que consiste de una velocidad angular de 3.14 rad/s con una distancia entre engranes de 1.5 cm y, como se puede observar, se tiene un valor de porosidad de 0.8304 ± 0.0027 , de esta manera se puede afirmar que se tiene un total de cuatro tratamientos. En la parte de la metodología se mencionó que cada tratamiento se



realizó tres veces y por cada replica se midió la porosidad de tres andamios, con lo cual se tiene un total de nueve mediciones por tratamiento.

Tabla 12. Resultados de porosidad e incertidumbres. Método por intrusión de un líquido. **

Velocidad Angular		
Distancia entre engranes	(3.14 ± 0.01 rad/s)	(7.33 ± 0.01 rad/s)
1.5 ± 0.05 cm	0.8304 ± 0.0027	0.8585 ± 0.0033
4.5 ± 0.05 cm	0.8783 ± 0.0021	0.8596 ± 0.0022

Tomando en cuenta el modelo de la tabla 7 que se presentan en la parte de la metodología, a continuación se muestran los valores para el diseño de dos factores del método intrusión de un líquido Tabla 13:

Tabla 13. Valores para el método de intrusión de un líquido.

Distancia entre engranes	Velocidad Angular						Tamaño de filas	Sumas	Medias
	(3.14±0.01 rad/s)			(7.33±0.01 rad/s)			m	$Y_{i\blacksquare}$	$\overline{Y_{i\blacksquare}}$
1.5±0.05 cm	0.839	0.810	0.836	0.855	0.734	0.876	18.000	15.207	0.845
	0.885	0.832	0.823	0.837	0.761	0.866			
	0.891	0.920	0.893	0.880	0.855	0.814			
	K=9			K=9					
	Y ₁₁ =7.730			Y ₁₂ =7.477					
4.5±0.05 cm	0.885	0.875	0.767	0.881	0.863	0.842	18.000	15.646	0.869
	0.867	0.870	0.777	0.883	0.874	0.851			
	0.920	0.908	0.870	0.912	0.905	0.895			
	K=9			K=9					
	Y ₂₁ =7.739			Y ₂₂ =7.907					
Tamaño de muestra o de columna n	18.000			18.000			N=36		
Sumas $Y_{\blacksquare j}$	15.469			15.384			$Y_{\blacksquare\blacksquare} = 30.853$		
Medias $\overline{Y_{\blacksquare j}}$	0.859			0.855			$\overline{Y_{\blacksquare\blacksquare}}=0.857$		

** Anexo 12.3 y 12.5

De los datos anteriores se realizó el correspondiente análisis, del cual se obtuvo la siguiente tabla 14 ANOVA para el método intrusión de un líquido, siguiendo el modelo de la tabla 8 en el apartado de metodología.

Tabla 14. Tabla ANOVA para el método intrusión de un líquido

Factores	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcal
Velocidad de rotación	2-1=1	0.005362	0.005362	2.833
Distancia entre engranes	2-1=1	0.000198	0.000198	0.104
Interacción	(1)(1)=1	0.004911	0.004911	2.595
Subtotal	4-1=3	0.010471		
Error	36-4=32	0.060572	0.001893	
Total	36-1=35	0.071043		

Continuando con este método de intrusión de un líquido y ya teniendo los resultados se tiene:

- I. No se rechaza la hipótesis nula H_0 , debido a que el valor de $F_{cal} = 2.833 < F_{0.95,1,32} = 4.151$, lo cual implica que no hay diferencia significativa al variar la velocidad de rotación. Es decir, mi valor estadístico calculado cae dentro del rango de valores más probables de su distribución asociada (Fig. 24).

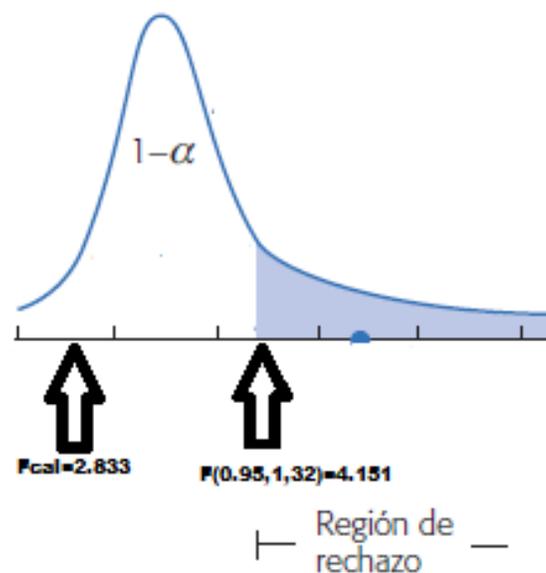


Figura 24. Distribución F, donde se presenta la región de rechazo.

- II. No se rechaza la hipótesis nula ii., debido a que el valor de $F_{cal} = 0.104 < F_{0.95,1,32}=4.151$, lo cual implica que no hay diferencia significativa al variar la distancia entre engranes. Es decir, mi valor estadístico calculado cae dentro del rango de valores más probables de su distribución asociada.
- III. No se rechaza la hipótesis nula iii., debido a que el valor de $F_{cal} = 2.595 < F_{0.95,1,32}=4.151$, lo cual implica que no hay diferencia significativa al variar interacción velocidad angular-distancia entre engranes en la porosidad del andamio. Es decir, mi valor estadístico calculado cae dentro del rango de valores más probables de su distribución asociada.

Así mismo, los resultados de la porosidad de los cuatro respectivos tratamientos se muestran en la tabla 15 por el método de gravimetría. Cabe mencionar que los andamios que se utilizaron para medir la porosidad por el método intrusión de un líquido fueron los mismos que se utilizaron para el método de gravimetría.

Tabla 15. Resultados de porosidad e incertidumbres método por gravimetría.††

Distancia entre engranes	Velocidad Angular	
	$(3.14 \pm 0.01 \text{ rad/s})$	$(7.33 \pm 0.01 \text{ rad/s})$
$1.5 \pm 0.05 \text{ cm}$	0.7916 ± 0.0057	0.8197 ± 0.0055
$4.5 \pm 0.05 \text{ cm}$	0.8104 ± 0.0053	0.8039 ± 0.0054

A continuación se presentan los valores de muestra del método por gravimetría en la Tabla 16:

Tabla 16. Valores para el método por gravimetría.

Distancia entre engranes	Velocidad Angular						Tamaño de filas	Sumas	Medias
	$(3.14 \pm 0.01 \text{ rad/s})$			$(7.33 \pm 0.01 \text{ rad/s})$					
$1.5 \pm 0.05 \text{ cm}$	0.809	0.822	0.803	0.854	0.834	0.741	18.000	14.502	0.806
	0.856	0.831	0.750	0.818	0.823	0.802			
	0.858	0.814	0.834	0.741	0.761	0.751			
	K=9			K=9					
	$Y_{11}=7.378$			$Y_{12}=7.125$					
$4.5 \pm 0.05 \text{ cm}$	0.856	0.851	0.840	0.790	0.869	0.829	18.000	15.529	0.807
	0.813	0.744	0.793	0.866	0.822	0.786			
	0.779	0.839	0.720	0.781	0.781	0.770			
	K=9			K=9					
	$Y_{21}=7.235$			$Y_{22}=7.294$					

†† Anexo 12.4 y 12.6



Tamaño de muestra o de columna n	18.000	18.000	N=36
Sumas $Y_{\cdot j}$	14.613	14.419	$Y_{\cdot\cdot} = 29.031$
Medias $\overline{Y_{\cdot j}}$	0.812	0.801	$\overline{Y_{\cdot\cdot}}=0.806$

Para el método por gravimetría se obtuvo la siguiente tabla ANOVA:

Tabla 17. Tabla ANOVA para el método por gravimetría.

Factores	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcal
Velocidad de rotación	2-1=1	0.000020	0.000020	0.012
Distancia entre engranes	2-1=1	0.001048	0.001048	0.621
Interacción	(1)(1)=1	0.002705	0.002705	1.604
Subtotal	4-1=3	0.003772		
Error	36-4=32	0.053957	0.001686	
Total	36-1=35	0.057729		

Una vez obtenidos los resultados por el método de gravimetría, las hipótesis quedarían así:

- I. No se rechaza la hipótesis nula i., debido a que el valor de $F_{cal} = 0.012 < F_{0.95,1,32}=4.151$, lo cual implica que no hay diferencia significativa al variar la velocidad de rotación. Es decir, mi valor estadístico calculado cae dentro del rango de valores más probables de su distribución asociada.
- II. No se rechaza la hipótesis nula ii., debido a que el valor de $F_{cal} = 0.621 < F_{0.95,1,32}=4.151$, lo cual implica que no hay diferencia significativa al variar la distancia entre engranes. Es decir, mi valor estadístico calculado cae dentro del rango de valores más probables de su distribución asociada.
- III. No se rechaza la hipótesis nula iii., debido a que el valor de $F_{cal} = 1.604 < F_{0.95,1,32}=4.151$, lo cual implica que no hay diferencia significativa al variar la interacción velocidad angular-distancia entre engranes en la porosidad del andamio. Es decir, mi valor estadístico calculado cae dentro del rango de valores más probables de su distribución asociada.

En ambos métodos para medir la porosidad no hubo una repercusión de los factores, aunque ciertamente estos métodos proporcionaron una aproximación de la porosidad de los andamios, quizá el hecho de que este trabajando con porosidad a nivel micrométrico no permita ver una diferencia significativa. Sin embargo, se puede notar

que dieron porosidades menores en el método por gravimetría que por el líquido de intrusión (Fig. 25). Es probable que se deba al hecho de que en el método por intrusión de un líquido, el haber utilizado etanol, que es un líquido de baja tensión superficial, (22.3 din/cm) le permitiera introducirse hasta los huecos más diminutos del andamio, dando con ello porosidades más altas.

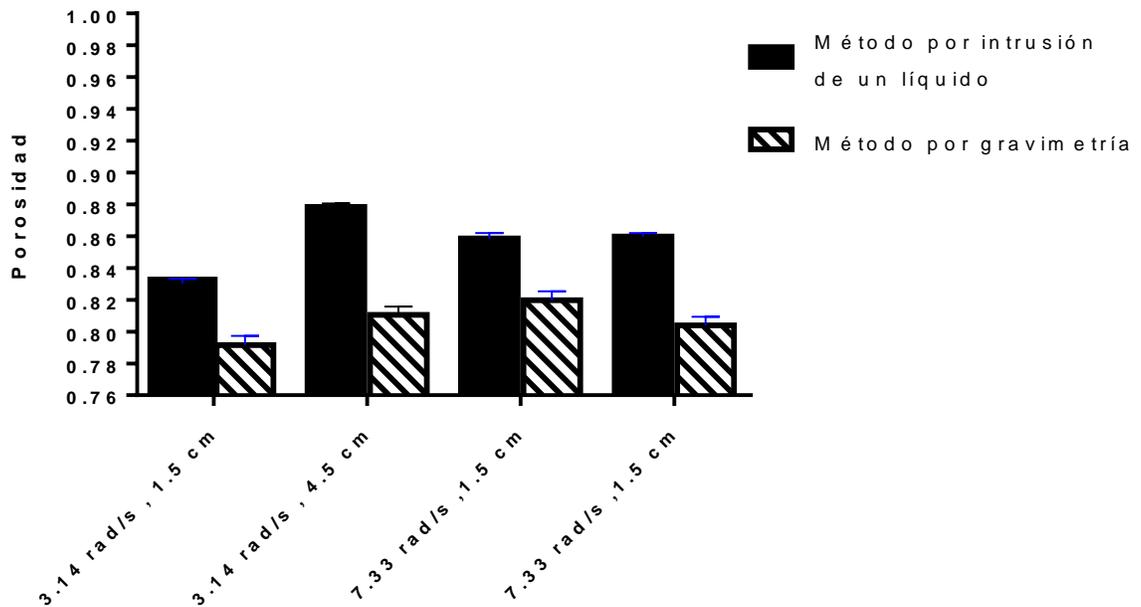


Figura 25. Gráfico de comparación de porosidad por método de intrusión de un líquido y método de gravimetría, con los dos diferentes factores: velocidad angular y distancia entre engranes.

Tomando en cuenta que los factores en los métodos anteriores no tuvieron repercusión en la porosidad se midió el área entre fibras con ayuda de las micrografías y el programa ImageJ. Con ayuda de imageJ si se pudo medir el área entre fibras del andamio que se depositó entre los engranes. En la tabla 18 se especifica a qué velocidad angular y distancia entre engranes se llevó a cabo cada prueba. Por ejemplo: la prueba 1 indica que el andamio se obtuvo a una velocidad angular de 7.33 rad/s y un espacio entre engranes de 1.5 cm y así sucesivamente.

Tabla 18. Pruebas con sus respectivas condiciones de electrohilado.

Condiciones de electrohilado		
Prueba	Velocidad angular $\omega = [\bar{\omega} \pm 0.01 \text{ rad/s}]$	Distancia entre engranes $L = [\bar{L} \pm 0.05 \text{ cm}]$
1	7.33	1.5
2	3.14	4.5
3	7.33	4.5
4	3.14	1.5

Pero por cada prueba se tienen dos andamios uno: que se deposita en la parte plana (A) y la otra que se deposita entre los engranes (B) (Fig. 7). Por consiguiente, en la siguiente tabla 19 se muestran los valores promedio de la medición del área entre fibras y su diámetro; por ejemplo la prueba 1A indica que se tiene un andamio de la parte plana a una velocidad de 7.33 rad/s y un espacio entre engranes de 1.5 cm, la prueba 1B se refiere al andamio que se deposita entre engranes a una velocidad de 7.33 rad/s y un espacio entre engranes de 1.5 cm. Lo mismo se entiende para la prueba 2A y 2B – 3A y 3B – 4A y 4B.

Tabla 19. Resultados promedios del área entre fibras y diámetro a diferentes condiciones de electrohilado.

	Área entre fibras en el andamio (μm^2)		Diámetro de las fibras (μm)	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
1A	2.7305	3.2579	0.5289	0.1612
1B	2.4940	3.4484	0.5660	0.1196
2A	1.6439	1.8696	0.5158	0.0975
2B	2.0624	2.1721	0.5968	0.1317
3A	2.2456	3.0055	0.6713	0.1578
3B	3.9335	3.7167	0.8018	0.2605
4A	1.4438	2.5788	0.6085	0.1314
4B	5.3501	8.0234	0.7623	0.2560

Por cada prueba se obtuvieron 3 micrografías; se midió el área entre fibras y el diámetro. Se trató de buscar el plano principal de cada micrografía y no se tomaron en cuenta las áreas entre fibras que se encontraban en el fondo, como se puede observar en la figura 26^a, en la cual se presenta la micrografía en un inicio en blanco y negro comparando con la micrografía 26B en donde se presenta el área entre fibras de color azul. Cabe destacar que esto se realizó para cada prueba.

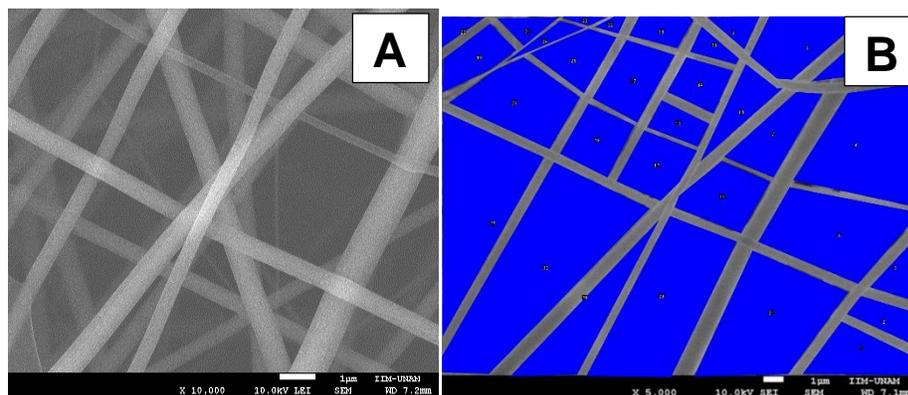


Figura 26. A) Micrografía antes de la medición. B) Micrografía después de la medición.

En la figura 27 se muestran las micrografías a 10000 aumentos por cada prueba, a simple vista se puede ver que la parte B que es lo que se deposita entre engranes posee un área entre fibras más grande y de echo hasta hay una menor densidad de éstas e inclusive el diámetro de la fibra se ve más grande.

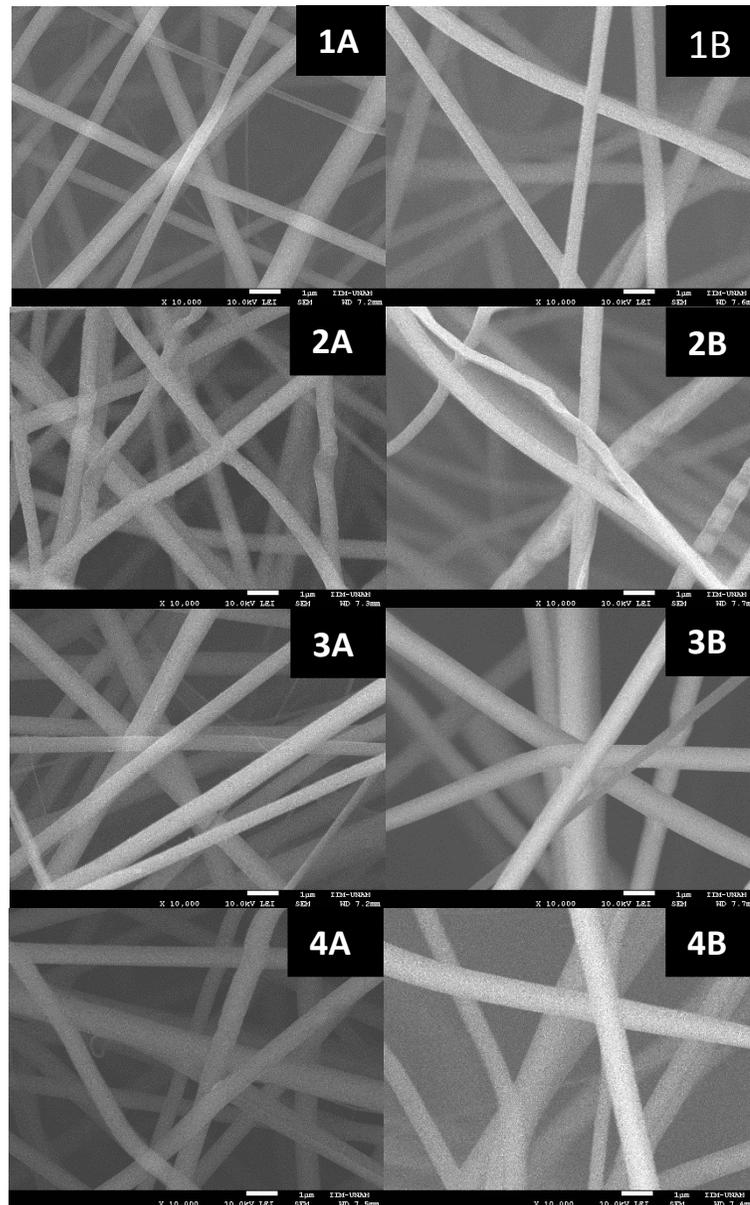


Figura 27. Micrografías a diferentes condiciones de electrohilado.

Si se tiene en cuenta las micrografías de la figura 27 y la tabla 19, los promedios del área entre fibras sí son más grandes a excepción de la prueba 1 que, remitiéndose a la tabla 18, nos indica que fue una velocidad angular de 7.33 rad/s y una distancia de 1.5 cm; esto

puede ser debido a que al estar muy cerca los engranes, las fibras se depositaron entre los bordes de los engranes y, por lo tanto, este andamio es muy parecido a que si se encontrara en la parte plana del andamio. Y, ciertamente, sí se presentan mayores diámetros de las fibras del andamio que se deposita entre engranes. Esto se debe al hecho de que el campo eléctrico entre engranes es menor y, por consiguiente, hay un menor alargamiento de las fibras y éstas tienden a ser más gruesas.

A tomar en cuenta los valores de la tabla 19 se optó por hacer los andamios para las pruebas de cultivo celular con las condiciones de la prueba 3B, puesto que es el segundo promedio más alto de área entre fibras y tiene una distancia entre engranes de 4.5 cm, por lo cual es factible que las fibras se depositen entre los engranes y no de borde a borde de los engranes. Ya se había comentado que son pocas las fibras que se depositan entre los engranes y el andamio es difícil de manejar. Para solucionar este aspecto, se colocó un soporte hecho con PLA en una impresora en 3D y sobre este se electrohiló el andamio, por lo que, el hecho de que la distancia entre engranes fuera de 4.5 cm favoreció a que se pudiera colocar el soporte entre los engranes.

9.7 Cultivo celular.

Con el fin de ver si al aumentar la concentración de gelatina favorecía la proliferación de las células, éstas se sembraron en cajas de seis pozos. Es decir, cada caja contenía 6 andamios de PLA al 13% m/v a diferentes concentraciones de gelatina en una relación 3:1, una correspondía al PLA13%/Gel 10%, la tercera caja PLA13%/Gel 15% y por último en la cuarta caja se depositaron los andamios de PLA13%/Gel 20%.

Al cuarto día que se realizó el sembrado celular se procedió a la observación de cada caja a través de un microscopio invertido; se tomaron 7 campos al azar de cada caja y se contaron la cantidad de células, del cual se obtuvieron los siguientes resultados.

PLA 13%/ Gelatina al 10%. 40X								
Campo	1	2	3	4	5	6	7	Promedio
Número de células	1	2	2	3	1	2	3	2.00



Figura 28. Célula en el andamio PLA 13%/ gelatina al 10%

PLA 13%/ Gelatina al 15%. 40X								
Campo	1	2	3	4	5	6	7	Promedio
Número de células	11	4	0	5	8	2	7	5.29

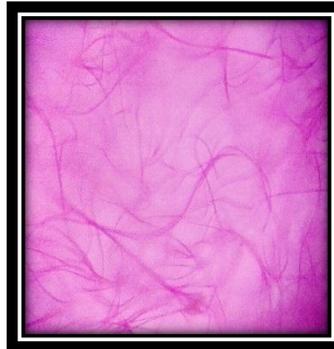


Figura 29. Andamio PLA 13%/ Gelatina al 15%

PLA 13%/ Gelatina al 20%. 40X								
Campo	1	2	3	4	5	6	7	Promedio
Número de células	15	13	5	16	16	19	10	13.43

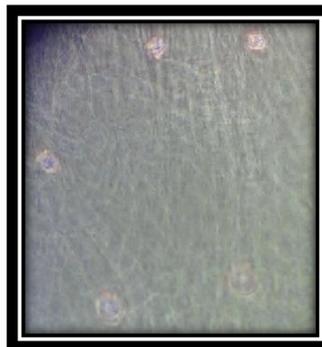


Figura 30. Células en el andamio PLA 13%/ gelatina 20%.

A pesar de haber sembrado una cantidad considerable de células, aproximadamente $22000/\text{cm}^2$, el conteo que se realizó por campo sugiere una enorme cantidad de células muertas y aunque conforme aumento la cantidad de gelatina se observaron más células, esto no ayuda en el hecho de que las células proliferen.

Se procedió a observar un andamio con una concentración del 20% de gelatina a través de un microscopio de escaneo láser de fotones múltiples marca OLYMPUS y únicamente se logró captar una célula. Como se puede observar en la figura 28, a pesar de que la célula es más grande que el área que hay entre fibras, ésta sí logró compenetrar entre las fibras.

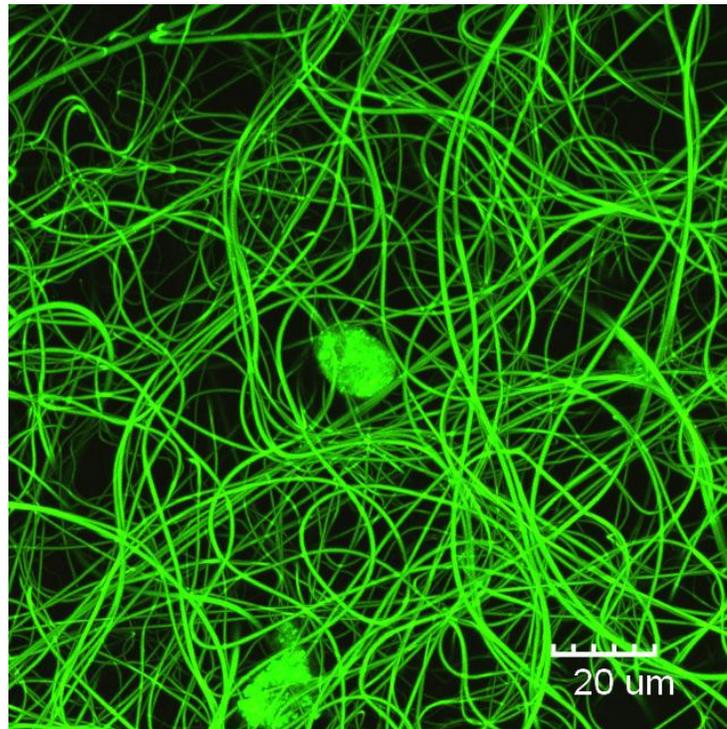


Figura 31. Fotomicrografía de célula madre mesenquimal obtenida de la orina.



10 Conclusiones

Se elaboraron, caracterizaron y evaluaron andamios electrohilados de PLA y gelatina mediante el uso de un colector rotario no plano con un soporte elaborado por la técnica de impresión en 3D de PLA, para células troncales mesenquimales provenientes de la orina.

El uso de un colector rotario no plano permitió obtener dos tipos de estructuras: una que se depositó en la parte superior, y otra que se colectó entre los engranes. La parte que se colectó entre los engranes tiene pocas fibras y una mayor área entre ellas, el soporte por impresión en 3D ayudo a mantener su forma al introducirlas en el medio de cultivo. Los andamios que se encontraban en la parte superior presentaron una menor distancia entre las fibras.

El colector rotatorio con superficie no plana permitió obtener áreas entre fibras de entre 3 y 5 μm^2 y diámetros de fibras entre 0.5 y 0.7 μm . El variar parámetros tales como la velocidad angular y distancia entre engranes, no afectó en la porosidad del andamio al ser éste medido por dos métodos: intrusión de un líquido y gravimetría. La concentración de PLA, el diferencial de potencial aplicado y la razón de flujo afectaron notablemente la morfología de las fibras, con lo cual se concluyó que las mejores parámetros son: 13% m/v de PLA, diferencial de potencial aplicado de 10 kV y 0.5 mL/h.

Se caracterizaron los andamios por análisis térmico con lo cual se obtuvieron unas T_g de entre 48 y 63 $^{\circ}\text{C}$ y T_m de 155 $^{\circ}\text{C}$ en concordancia con la literatura. En el análisis ATR-FTIR se obtuvieron los picos en las longitudes de onda esperadas tanto para el PLA como para la gelatina. Por medio de ángulo de contacto se pudo comprobar el cambio de carácter hidrofóbico del andamio que únicamente contenía PLA a carácter hidrofílico el andamio que ya poseía concentración del 10, 15 y 20% en m/v de gelatina.

Hubo más células por campo en el andamio que poseía una mayor concentración de gelatina; esto es al 20%, lo que confirma que la secuencia específica de aminoácidos que posee la gelatina es clave en la adhesión entre la célula y el andamio.

11 Perspectivas.

Para aumentar la proliferación celular quizá se requiera una distancia entre fibras aún mayor o buscar otro material que sea más afin a este tipo de células, como lo podría ser poli (ϵ -caprolactona), poli (ácido glicólico) ó poli (etilenglicol).



12 Bibliografía

1. *Fabrication and in vitro and in vivo cell infiltration study of a bilayered cryogenic electrospun poly(D,L-lactide) scaffold.* Fatt Leong , Meng , y otros. 2010, Journal of Biomedical Materials Research , págs. 1141-1149.
2. *Increasing the Pore Size of electrospun scaffolds .* Rnjak-Kovacina, Jelena y S. Weiss, Anthony. 2011, Tissue Engineering, págs. 365-371.
3. *Factores de crecimiento y regeneración renal.* Flaquer, M., Romagnani, P. y Cruzado, J. M. . 2010, Nefrología, págs. 385-393.
4. *Increasing electrospun scaffold pore size with tailored collectors for improved cell penetration.* Vaquette, Cedryck y Cooper-White, Justin John. 2011, Acta Biomaterialia , págs. 2544-2557.
5. *Hierarchical polymeric scaffolds support the growth of MC3T3-E1 cells.* Akbarzadeh, Rosa, y otros. 2015, TISSUE ENGINEERING CONSTRUCTS AND CELL SUBSTRATES, pág. 26:116.
6. Alcántara Barrera, Selene, Vera Graziano, Ricardo y Maciel Cerda, Alfredo. *Efecto del disolvente en la morfología de membranas de poli (ϵ -caprolactona) obtenidas por electrohilado.* México : s.n., 2013.
7. *Electrospinning: La era de las nanofibras .* Duque Sánchez , Lina Marcela , Rodriguez , Leonardo y López , Marcos . 2013, Revista Iberoamericana de Polímeros , págs. 10-27.
8. *The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles.* Deitzel, J. M., y otros. 2001, POLYMER, págs. 261-272.
9. Chang , Raymond . *Química.* México : McGrawHill, 2010.
10. *Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology structures and tensile properties. .* Baji , Avinash, y otros. 2010, Composites Science and Technology , págs. 703-718.
11. *Simulation of electrospun nanofibre deposition on stationary and moving substrates .* Liu, Lihua y Dzenis, Yuris. 2011, Micro & Nano Letters, págs. 408-411.
12. *A novel porous scaffold fabrication technique for epithelial and endothelial tissue engineering.* J. McHugh, Kevin , L. Tao, Sarah y Saint-Geniez, Magali. 2013, Mater Med, págs. 1659-1670.
13. *Electrospun polycaprolactone scaffolds with tailored porosity using two approaches for enhanced cellular infiltration .* E. Zander , Nicole , y otros. 2013, Mater Med, págs. 179-187.
14. *Utilizing NaCl to increase the porosity of electrospun materials .* Wright, L. D. , Andric, T. y Freeman , J. W. . 2011, Materials Science and Engineering C , págs. 30-36.
15. G. Kumbar, Sangamesh, T. Laurencin, Cato y Deng, Meng. *Natural and synthetic biomedical polymers.* Amsterdam : Elsevier, 2014.
16. *Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies.* Jamshidian, Majid, y otros. 2010, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety , págs. 552-571.
17. *Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones .* Serna C. , Liliana , Rodríguez de S. , Aída y Albán A. , Fred. 2003, Ingeniería y Competitividad , págs. 16-26.
18. William, Andrew. *Handbook of biopolymers and biodegradable plastics: properties, processing and applications.* London : Elsevier, 2013.
19. *Characteristics and chemical composition of skins froma cobia (Rachycentron canadum).* S. G. Silva, Roberto, F. Bandeira , Sidney y A. A. Pinto, Luiz . 2014, LWT - Food Science and Technology, págs. 580-585.
20. *Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins.* Karim, A. A. y Bhat, Rajeev. 2009, Food Hydrocolloids , págs. 563-576.



21. *Structure and wettability relationship of coelectrospun poly (L-lactic acid)/gelatin composite fibrous mats.* Yang, Xiaoping, y otros. 2010, *Polymers advanced technologies*, págs. 2222-2230.
22. *Tailoring mechanical and antibacterial properties of chitosan/gelatin nanofiber membranes with Fe₃O₄ nanoparticles for potential wound dressing application.* Cai, Ning, y otros. 2016, *Applied Surface Science*, págs. 492-500.
23. *Electrospun aligned PLGA and PLGA/gelatin nanofibers embedded with silica nanoparticles for tissue engineering.* Mehrasa, Mohammad, y otros. 2015, *International Journal of Biological Macromolecules*, págs. 687-695.
24. *Incorporation of mesoporous silica nanoparticles into random electrospun PLGA and PLGA/gelatin nanofibrous scaffolds enhances mechanical and cell proliferation properties.* Mehrasa, Mohammad, y otros. 2016, *Materials Science and Engineering C*, págs. 25-32.
25. *Nanofibrous matrices of poly(lactic acid) and gelatin polymeric blends for the improvement of cellular responses.* Kim, Hae-Won, Yu, Hye-Sun y Lee, Hae-Hyoung. 2007, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, págs. 25-32.
26. *Superelastic, superabsorbent and 3D nanofiber-assembled scaffold for tissue engineering.* Chen, Weiming, y otros. 2016, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, págs. 165-172.
27. *Fabrication and characterization of electrospun poly-L-lactide/gelatin graded tubular scaffolds: Toward a new design for performance enhancement in vascular tissue engineering.* Yazdanpanah, A., y otros. 2015, *Progress in Natural Science Materials International*, págs. 1-9.
28. *Estudios de laboratorio clínico para la detección de la enfermedad renal crónica en grupos poblacionales de riesgo.* Martínez Pérez, Denia, y otros. 2016, *MEDISAN*, págs. 50-59.
29. Venado Estrada, Aida, y otros. *Insuficiencia Renal Crónica.* México: Unidad de Proyectos Especiales UNAM, 2009.
30. *Definición y clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica. Prevalencia. Claves para el diagnóstico precoz. Factores de riesgo de enfermedad renal crónica.* Cabrera, S. Soriano. 2004, *NEFROLOGÍA*, págs. 27-34.
31. *Enfermedad Renal Crónica: prevenirla, mejor que tratarla.* Bencomo Rodríguez, Osniel. 2015, *Revista Cubana de Medicina General Integral*, págs. 353-362.
32. *Insuficiencia renal crónica: enfermedad emergente, catastrófica y por ello prioritaria.* Treviño - Becerra, Alejandro. 2004, *Cirujía y Cirujanos*, págs. 3-4.
33. D. Ratner, Buddy, y otros. *Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine.* Canadá: Elsevier, 2013.
34. *Células madre: Conceptos generales y perspectivas de investigación.* Rodríguez-Pardo, Viviana Marcela. Bogotá: Universitas Scientiarum, 2005.
35. M. Wobus, Anna y Boheler, Kenneth. *Stem Cells.* Alemania: Springer, 2008.
36. López, Guerrero José Antonio. *Células Madre: la madre de todas las células.* Madrid: Hélice, 2004.
37. *Human urine-derived stem cells in combination with polycaprolactone/gelatin nanofibrous membranes enhance wound healing by promoting angiogenesis.* Fu, Yinxin, y otros. s.l.: BioMedCentral, 2014.
38. *Urine-derived stem cells: A novel and versatile progenitor source for cell-based therapy and regenerative medicine.* Zhang, Deying, y otros. s.l.: Genes Dis, 2014.
39. R. West, Anthony. *Solid state chemistry and its applications.* New Delhi, India: WILEY, 2014.



40. Andrew, Burrows, y otros. *Chemistry. Introducing inorganic, organic and physical chemistry* . China : Oxford, 2016.
41. Hesse, Manfred, Meier, Herbert y Zeeh, Bernd. *Métodos espectroscópicos en química orgánica*. España : Síntesis, 2005.
42. Q. M. Craig, Duncan y Reading , Mike . *Thermal analysis of pharmaceuticals* . USA : CRC Press , 2007.
43. William F. , Smith y Hashemi, Javad. *Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales* . México : McGraw-Hill, 2006.
44. Callister D., William Jr. y G. Rethwisch, David. *Ciencia e ingeniería de materiales* . España : Reverté, 2016.
45. *Wettability of solids by molten metals and alloys*. L. , Savov. s.l. : METALL, 1997, Vol. 51, págs. 475-485.
46. Sampath Kumar, T. S. . *Characterization of Biomaterials* . s.l. : ELSEVIER, 2013.
47. H. Chung, Frank y K. Smith , Deane. *Industrial Applications of X-Ray Diffraction* . USA : Marcel Dekker, Inc. , 2000.
48. *Superelastic, superabsorbent and 3D nanofiber-assembled scaffold for tissue engineering* . Chen , Weiming, y otros. China : Elsevier, 2016, Vol. 142.
49. *Influencia del porcentaje de relleno en la resistencia mecánica en impresión 3D, por medio del método de Modelado por Deposición Fundida (FDM)*. L. Alvarez C., Kenny, F. Lagos C., Rodrigo y Aizpun, Miguel . Chile : Ingeniare, 2016, Vol. 24.
50. Peña , Daniel . *Regresión y diseño de experimentos* . España : Alianza, 2002.
51. Gutiérrez Pulido, Humberto y De la Vara Salazar, Román . *Análisis y diseño de experimentos*. México : McGraw-Hill, 2008.
52. *Electrospun Poly (E-caprolactone) Microfiber and Multilayer Nanofiber/Microfiber Scaffolds: Characterization of Scaffolds and Measurement of Cellular Infiltration* . P. Pham, Quynh, Sharma Upma y G. Mikos, Antonios. Texas : Biomacromolecules, 2006, Vol. 7.
53. Ren , Jie. *Biodegradable Poly (Lactic Acid) Synthesis, Modification, Processing and Applications* . Shanghai, China : Springer, 2010.
54. *Gelatin Manufacturers Institute of America*. GMIA, Members of the. s.l. : GMIA, 2012.
55. Santos, Marques Dos María José. *Probabilidad y Estadística para ciencias químico-biológicas* . México : Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, 2004.
56. *Stem cell differentiation on electrospun nanofibrous substrates for vascular tissue engineering*. Jia, Lin, y otros. 2013, Materials Science and Engineering C, págs. 4640-4650.
57. *Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia* . S. G. Silva, Roberto, F. Bandeira, Sidney y A. A. Pinto, Luiz. 2014, LWT- Food Science and Technology, págs. 580-585.
58. *Preparation, thermal properties and characteristics of gelatin molding compound resin* . Chuaynukul, Kajornsak, Prodran, Thummanoon y Benjakul, Sootawat. India : RJCES, 2014, Vol. 2.
59. *Thermogravimetric study of water affinity of gelatin materials*. Kuzema, P. O., y otros. Ukraine : Springer, 2014, Vol. 122, págs. 1231-1237.
60. *Thermal degradation behaviour of poly(lactic acid) stereocomplex*. Fan, Yujiang, y otros. s.l. : ELSEVIER, 2004, Vol. 86, págs. 197-208.
61. *Thermal decomposition of biodegradable polyesters-II. Poly (lactic acid)*. Kopinke, F. D., y otros. Irlanda del Norte : Elsevier, 1996, Vol. 43, págs. 329-342.



-
62. Afshari, Mehdi. *Electrospun Nanofibers*. AMSTERDAM : ELSEVIER, 2017.
63. Hatakeyama, T. y Quinn, F. X. . *Thermal Analysis*. England : John Wiley & Sons Ltd., 1994.
64. *Thermal Properties Measurements of Renatured Gelatin Using Conventional and Temperature Modulated Differential Scanning Calorimetry*. Dai, Chi-An, Chen, Yi-Fan y Liu, Ming-Wei. Taiwan : Journal of Applied Polymer Science, 2005, Vol. 99, págs. 1795-1801.
65. *Preparation, thermal properties and characteristics of gelatin molding compound resin*. Chuaynukul, Kajornsak, Prodpran, Thummanoon y Benjakul, Soottawat. India : RJCES, 2014, Vol. 2, págs. 1-9.
66. *Thermal transitions of gelatin evaluated using DSC sample pans of various seal integrities*. Mukherjee, Indraneil y Rosolen , Mary Ann. 3, Budapest, Hungary : Springer, 2013, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 114, págs. 1161-1166.
67. *Phase transitions during membrane formation of polylactides. I. A morphological study of membranes obtained from system polylactide-chloroform-methanol*. Van de Witte, P., y otros. Netherlands : ELSEVIER, 1995, Vol. 113, págs. 223-236.
68. *Characterisation and modelling of the elastic properties of poly(lactic acid) nanofibre scaffolds*. Yesid Gómez Pachón, Edwin, y otros. New York : Springer, 2013, págs. 8308-8319.
69. *Metastable Liquid-Liquid and Solid-Liquid Phase Boundaries in Polymer-Solvent-Nonsolvent Systems*. Van de Witte, P., y otros. Netherlands : John Wiley & Sons, 1995, págs. 763-770.
70. *Control of structure and morphology of highly aligned PLLA ultrafine fibers via linear-jet electrospinning*. Liu , Zongyuan Liu , y otros. 21, s.l. : ELSEVIER, 2013, Vol. 54, págs. 6045-6051.
71. *Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres: Effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter*. Casasola, R., y otros. s.l. : ELSEVIER, 2014, Vol. 55, págs. 4728-4737.
72. *Increasing electrospun scaffold pore size with tailored collectors for improved cell penetration* . Vaquette, Cedryck y Cooper-White, Justin John . 6, Australia : ELSEVIER, 2011, Vol. 7.
73. *Nature Scaffolds for Renal Differentiation of human Embryonic Stem Cells for Kidney Tissue Engineering*. A. Batchelder, Cynthia , L. Martinez, Michele y F. Tarantal, Alice. 2015, Engineering PLoS ONE, págs. 1-18.
74. *Effect of pressure on poly-L-Lactic Acid morphology*. M. Baker, Christopher, Azagury, Aharon y Mathiowitz, Edith. USA : ELSEVIER, 2016, Vol. 99, págs. 250-262.
75. *Diseño de Experimentos*. Horacio, Napolitano. 354, s.l. : Industria & Química .



13 Anexos

13.1 Medición de espacio entre engranes.

Se realizó una medición directa por lo cual para medir la incertidumbre se tiene:

$$u_c(L) = \sqrt{u_A^2(L) + u_B^2(L)} \quad (1)$$

Donde:

$u_c(L)$ = Incertidumbre combinada

$u_A(L)$ = Incertidumbre Tipo A

$u_B(L)$ = Incertidumbre Tipo B

La incertidumbre Tipo A se calcula con la desviación estándar de las mediciones que se realicen al mismo material; en este caso la distancia que hay entre engranes, como se realizó únicamente una medición las ecuaciones (2), (3) y (4), valen cero.

$$u_A = \frac{S(L)}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

$$S(L) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (4)$$

Por lo cual, la $u_c(L)$ queda de la siguiente manera:

$$u_c(L) = \sqrt{u_B^2(L)} \quad (5)$$

Al hacer las operaciones matemáticas correspondientes queda:

$$u_c(L) = u_B(L) \quad (6)$$

Para la medición, se utilizó una regla que es un instrumento analógico de escala lineal $\Delta L = 1 \text{ mm}$, entonces:

$$u_c(L) = u_B(L) = \frac{\Delta L}{2} = \frac{1 \text{ mm}}{2} = 0.5 \text{ mm} = 0.05 \text{ cm} \quad (7)$$

Por lo tanto:

$$L = [\bar{L} \pm u_c(L)] = (\bar{L} \pm 0.05) \text{ cm} \quad (8)$$

13.2 Medición de la velocidad angular.

Se realizó una medición directa por lo cual para medir la incertidumbre se tiene:

$$u_c(\omega) = \sqrt{u_A^2(\omega) + u_B^2(\omega)} \quad (9)$$

Donde:

$u_c(\omega)$ = Incertidumbre combinada



$U_A(\omega) = \text{Incertidumbre Tipo A}$

$U_B(\omega) = \text{Incertidumbre Tipo B}$

La incertidumbre Tipo A se calcula con la desviación estándar de las mediciones que se realicen, en este caso la velocidad angular, como se realizó únicamente una medición las ecuaciones (10), (11) y (12) valen cero.

$$U_A = \frac{S(L)}{\sqrt{n}} \quad (10)$$

$$S(L) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (11)$$

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (12)$$

Por lo cual, la $U_c(\omega)$ queda de la siguiente manera:

$$U_c(\omega) = \sqrt{U_B^2(\omega)} \quad (13)$$

Al hacer las operaciones matemáticas correspondientes queda:

$$U_c(\omega) = U_B(\omega) \quad (14)$$

Para la medición, se utilizó un cronómetro que es un instrumento digital

$$U_c(\omega) = U_B(\omega) = 0.01 \frac{\text{rad}}{\text{s}} \quad (15)$$

Por lo tanto:

$$\omega = (\bar{\omega} \pm U_c(\omega)) = (\bar{\omega} \pm 0.01) \frac{\text{rad}}{\text{s}} \quad (16)$$

13.3 Medición de la porosidad del andamio por el método intrusión de un líquido.

Para calcular la porosidad del andamio se tiene la siguiente fórmula:

$$\varepsilon = \frac{V_{AI}}{V_{AI} + V_{TA}} \quad (17)$$

El volumen del alcohol introducido (V_{AI}) se calculó de la siguiente manera:

$$V_{AI} = \left(\frac{m_{AI} - m_{AS}}{\rho_{Etanol}} \right) \quad (18)$$

Donde:

m_{AI} = Masa del andamio húmedo con el líquido de intrusión.

m_{AS} = Masa del andamio seco

ρ_{Etanol} = Densidad del etanol.

El volumen total del andamio (V_{TA}) se calculó de la siguiente forma:

$$V_{TA} = \frac{m_{AS}}{\rho_{andamio}} \quad (19)$$



Donde:

$$\rho_{\text{andamio}} = \text{Densidad del andamio}$$

La densidad del andamio que implican los componentes con los cuales se hicieron los andamios, en este caso de PLA/Gel se obtuvo de referencia bibliográficas (53) (54) y como implica una mezcla está se calculó con la ecuación (20), por lo cual, la incertidumbre de la densidad del andamio se tomará como cero.

$$\rho_{\text{andamio}} = \rho_{\text{PLA}} * f_{\text{PLA}} + \rho_{\text{gelatina}} * f_{\text{gelatina}} \quad (20)$$

Las mediciones de las masas fueron una medición directa, entonces:

$$u_c(M) = \sqrt{u_A^2(M) + u_B^2(M)} \quad (21)$$

Donde:

$$u_c(M) = \text{Incertidumbre combinada}$$

$$u_A(M) = \text{Incertidumbre Tipo A}$$

$$u_B(M) = \text{Incertidumbre Tipo B}$$

La incertidumbre Tipo A se calcula con la desviación estándar de las mediciones que se realicen, en este caso las mediciones de las masas tanto cuando el andamio está húmedo que cuando está seco, como se realizó únicamente una medición las ecuaciones (22), (23) y (24) valen cero.

$$u_A = \frac{S(L)}{\sqrt{n}} \quad (22)$$

$$S(L) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (23)$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (24)$$

Por lo cual, la $u_c(M)$ queda de la siguiente manera:

$$u_c(M) = \sqrt{u_B^2(M)} \quad (25)$$

Después de hacer las operaciones matemáticas correspondientes queda:

$$u_c(M) = u_B(M) \quad (26)$$

Para la medición se utilizó una balanza analítica digital:

$$u_c(M) = u_B(M) = 0.0001 \text{ g} \quad (27)$$

Por lo tanto:

$$M = [\bar{M} \pm u_c(M)] = (\bar{M} \pm 0.0001) \text{ g} \quad (28)$$

Al tomar en cuenta la ecuación (18) la incertidumbre de la densidad del alcohol se tomará como 0 puesto que este dato se tomó de la hoja técnica del solvente, entonces la incertidumbre de V_{AI} queda de la siguiente forma:

$$V_{AI} = \overline{V_{AI}} \pm U_c(V_{AI}) \quad (29)$$

Entonces:

$$U_c(V_{AI}) = \sqrt{\left(\frac{\partial V_{AI}}{\partial m_{AI}}\right)_{m_{AS}, \rho_{Etanol}}^2 U_c^2(m_{AI}) + \left(\frac{\partial V_{AI}}{\partial m_{AS}}\right)_{m_{AI}, \rho_{Etanol}}^2 U_c^2(m_{AS}) + \left(\frac{\partial V_{AI}}{\partial \rho_{Etanol}}\right)_{m_{AS}, m_{AI}}^2 U_c^2(\rho_{Etanol})} \quad (30)$$

Donde:

$$\left(\frac{\partial V_{AI}}{\partial m_{AI}}\right)_{m_{AS}, \rho_{Etanol}}^2 U_c^2(m_{AI}) = \left(\frac{\partial \left(\frac{m_{AI} - m_{AS}}{\rho_{Etanol}}\right)}{\partial m_{AI}}\right)_{m_{AS}, \rho_{Etanol}}^2 (0.0001 \text{ g})^2 = \left(\frac{1}{\rho_{Etanol}}\right)^2 (1 \times 10^{-8} \text{ g}^2) = \frac{1 \times 10^{-8} \text{ g}^2}{0.622521 \text{ g}^2/\text{cm}^6} = 1.6064 \times 10^{-8} \text{ cm}^6 \quad (31)$$

$$\left(\frac{\partial V_{AI}}{\partial m_{AS}}\right)_{m_{AI}, \rho_{Etanol}}^2 U_c^2(m_{AS}) = \left(\frac{\partial \left(\frac{m_{AI} - m_{AS}}{\rho_{Etanol}}\right)}{\partial m_{AS}}\right)_{m_{AI}, \rho_{Etanol}}^2 (0.0001 \text{ g})^2 = \left(\frac{1}{\rho_{Etanol}}\right)^2 (1 \times 10^{-8} \text{ g}^2) = \frac{1 \times 10^{-8} \text{ g}^2}{0.622521 \text{ g}^2/\text{cm}^6} = 1.6064 \times 10^{-8} \text{ cm}^6 \quad (32)$$

$$\left(\frac{\partial V_{AI}}{\partial \rho_{Etanol}}\right)_{m_{AS}, m_{AI}}^2 U_c^2(\rho_{Etanol}) = 0 \quad (33)$$

$$U_c(V_{AI}) = \sqrt{1.6064 \times 10^{-8} \text{ cm}^6 + 1.6064 \times 10^{-8} \text{ cm}^6} = 0.00018 \text{ cm}^3 \quad (34)$$

Ahora con la ecuación (19) la incertidumbre de la densidad del andamio se tomará como cero puesto que este dato se obtuvo de la hoja técnica del solvente entonces la incertidumbre de V_{TA} es:

$$V_{TA} = \overline{V_{TA}} \pm U_c(V_{TA}) \quad (35)$$

Por lo tanto:

$$U_c(V_{TA}) = \sqrt{\left(\frac{\partial V_{TA}}{\partial m_{AS}}\right)_{\rho_{andamio}}^2 U_c^2(m_{AS}) + \left(\frac{\partial V_{TA}}{\partial \rho_{andamio}}\right)_{m_{AS}}^2 U_c^2(\rho_{andamio})} \quad (36)$$

Donde:

$$\left(\frac{\partial V_{TA}}{\partial m_{AS}}\right)_{\rho_{andamio}}^2 U_c^2(m_{AS}) = \left(\frac{\partial \left(\frac{m_{AS}}{\rho_{andamio}}\right)}{\partial m_{AS}}\right)_{\rho_{andamio}}^2 (0.0001 \text{ g})^2 = \left(\frac{1}{\rho_{andamio}}\right)^2 (1 \times 10^{-8} \text{ g}^2) = \frac{1 \times 10^{-8} \text{ g}^2}{1.6129 \text{ g}^2/\text{cm}^6} = 6.2000 \times 10^{-9} \text{ cm}^6 \quad (37)$$

$$\left(\frac{\partial V_{TA}}{\partial \rho_{andamio}}\right)_{m_{AS}}^2 U_c^2(\rho_{andamio}) = \left(\frac{\partial \left(\frac{m_{AS}}{\rho_{andamio}}\right)}{\partial \rho_{andamio}}\right)_{m_{AS}}^2 (0)^2 = 0 \quad (38)$$

$$U_c(V_{TA}) = \sqrt{6.2000 \times 10^{-9} \text{ cm}^6} = 7.874 \times 10^{-5} \text{ cm}^3 \quad (39)$$

‡ Dato obtenido de la hoja técnica del proveedor CAS No. 64-17-5

§§§§ Dato obtenido de las Ref. (53) y (54) y de la ecuación 20.



La ecuación (17) indica cómo se calcula la porosidad y la definimos de la siguiente manera:

$$\varepsilon = \frac{V_{AI}}{V_{AI} + V_{TA}} \quad (17)$$

De lo cual expresaremos que:

$$\Delta = V_{AI} + V_{TA} \quad (40)$$

De la ecuación (40) también se obtendrá su incertidumbre combinada entonces:

$$\Delta = \bar{\Delta} \pm u_c(\Delta) \quad (41)$$

Al ser una medida indirecta se tiene:

$$u_c(\Delta) = \sqrt{\left(\frac{\partial \Delta}{\partial V_{AI}}\right)_{V_{TA}}^2 u_c^2(V_{AI}) + \left(\frac{\partial \Delta}{\partial V_{TA}}\right)_{V_{AI}}^2 u_c^2(V_{TA})} \quad (42)$$

Después de sustituir los valores correspondientes y las ecuaciones se tiene:

$$\left(\frac{\partial \Delta}{\partial V_{AI}}\right)_{V_{TA}}^2 u_c^2(V_{AI}) = \left(\frac{\partial(V_{AI} + V_{TA})}{\partial V_{AI}}\right)_{V_{TA}}^2 (0.00018 \text{ cm}^3)^2 = (1)^2 (3.24 \times 10^{-8} \text{ cm}^6) = 3.24 \times 10^{-8} \text{ cm}^6 \quad (43)$$

$$\left(\frac{\partial \Delta}{\partial V_{TA}}\right)_{V_{AI}}^2 u_c^2(V_{TA}) = \left(\frac{\partial(V_{AI} + V_{TA})}{\partial V_{TA}}\right)_{V_{AI}}^2 (7.874 \times 10^{-5} \text{ cm}^3)^2 = (1)^2 (6.20 \times 10^{-9} \text{ cm}^6) = 6.20 \times 10^{-9} \text{ cm}^6 \quad (44)$$

Por lo tanto:

$$u_c(\Delta) = \sqrt{3.24 \times 10^{-8} \text{ cm}^6 + 6.20 \times 10^{-9} \text{ cm}^6} = 1.9647 \times 10^{-4} \text{ cm}^3 \quad (45)$$

Finalmente se calculará la incertidumbre de la porosidad donde al sustituir la ecuación (40) en (17) se tiene:

$$\varepsilon = \frac{V_{AI}}{\Delta} \quad (46)$$

Se tiene:

$$\varepsilon = \bar{\varepsilon} \pm u_c(\varepsilon) \quad (47)$$

Al ser una medida indirecta se tiene:

$$u_c(\varepsilon) = \sqrt{\left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial V_{AI}}\right)_{\Delta}^2 u_c^2(V_{AI}) + \left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial \Delta}\right)_{V_{AI}}^2 u_c^2(\Delta)} \quad (48)$$

$$\left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial V_{AI}}\right)_{\Delta}^2 u_c^2(V_{AI}) = \left(\frac{\partial\left(\frac{V_{AI}}{\Delta}\right)}{\partial V_{AI}}\right)_{\Delta}^2 (0.00018 \text{ cm}^3)^2 = \left(\frac{1}{\Delta}\right)^2 (3.24 \times 10^{-8} \text{ cm}^6) = \frac{3.24 \times 10^{-8} \text{ cm}^6}{\Delta^2} \quad (49)$$

$$\left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial \Delta}\right)_{V_{AI}}^2 u_c^2(\Delta) = \left(\frac{\partial\left(\frac{V_{AI}}{\Delta}\right)}{\partial \Delta}\right)_{V_{AI}}^2 (1.9647 \times 10^{-4} \text{ cm}^3)^2 = \left(-\frac{V_{AI}}{\Delta^2}\right)^2 (3.86 \times 10^{-8} \text{ cm}^6) = \frac{V_{AI}^2 \times 3.86 \times 10^{-8} \text{ cm}^6}{\Delta^4} \quad (50)$$



$$U_c(\varepsilon) = \sqrt{\frac{3.24 \times 10^{-8} \text{ cm}^6}{\Delta^2} + \frac{V_{Al}^2 \times 3.86 \times 10^{-8} \text{ cm}^6}{\Delta^4}} \quad (51)$$

13.4 Cálculo de porosidad por gravimetría.

Para el método por gravimetría se tiene la siguiente fórmula:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{\text{andamio}}}{\rho_{\text{material}}} \quad (52)$$

Donde:

ρ_{andamio} = Densidad del andamio

ρ_{material} = Densidad del material

Para calcular la ρ_{andamio} se ocupa la siguiente fórmula:

$$\rho_{\text{andamio}} = \frac{m_{\text{andamio}}}{v_{\text{andamio}}} \quad (53)$$

Para lo cual se requiere sacar la incertidumbre de una medición directa, en este caso de m_{andamio} el cual ya obtuvimos y es de $U_c(M) = U_B(M) = 0.0001 \text{ g}$. Para obtener la incertidumbre del v_{andamio} , el cual es una medición indirecta se tiene:

$$v_{\text{andamio}} = \overline{v_{\text{andamio}}} \pm U_c(v_{\text{andamio}}) \quad (54)$$

$$v_{\text{andamio}} = L_1 \times L_2 \times E \quad (55)$$

Donde:

L_1 = Lado 1

L_2 = Lado 2

E = Espesor

Las incertidumbres de las mediciones de L_1 y L_2 que son directas; ya se calcularon mediante la ecuación $L = [\bar{L} \pm U_c(L)] = (\bar{L} \pm 0.05) \text{ cm}$ (8) puesto que igual se utilizó un instrumento analógico de escala lineal sin embargo, para el espesor se utilizó un micrómetro digital, así que procederemos a calcular su incertidumbre:

$$U_c(E) = \sqrt{U_A^2(E) + U_B^2(E)} \quad (56)$$

Donde:

$U_c(E)$ = Incertidumbre combinada

$U_A(E)$ = Incertidumbre Tipo A

$U_B(E)$ = Incertidumbre Tipo B

La incertidumbre Tipo A se calcula con la desviación estándar de las mediciones que se realicen al mismo material, en este caso el espesor del andamio, como se realizó únicamente una medición, las ecuaciones (57), (58) y (59) valen cero.

$$u_A = \frac{S(L)}{\sqrt{n}} \quad (57)$$

$$S(E) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (58)$$

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (59)$$

Por lo cual, la $u_c(E)$ queda de la siguiente manera:

$$u_c(E) = \sqrt{u_B^2(E)} \quad (60)$$

Al hacer las operaciones matemáticas correspondientes queda:

$$u_c(E) = u_B(E) \quad (61)$$

Para la medición se utilizó un micrómetro digital que es un instrumento digital de escala lineal $\Delta L = 0.001 \text{ mm}$, entonces:

$$u_c(E) = u_B(E) = \frac{\Delta L}{2} = \frac{0.001 \text{ mm}}{2} = 0.0005 \text{ mm} = 0.00005 \text{ cm} \quad (62)$$

Por lo tanto:

$$E = [\bar{E} \pm u_c(E)] = (\bar{E} \pm 0.00005) \text{ cm} \quad (63)$$

Entonces para calcular la incertidumbre se tiene:

$$u_c(v_{\text{andamio}}) = \sqrt{\left(\frac{\partial v_{\text{andamio}}}{\partial L_1}\right)_{L_2, E}^2 u_c^2(L_1) + \left(\frac{\partial v_{\text{andamio}}}{\partial L_2}\right)_{L_1, E}^2 u_c^2(L_2) + \left(\frac{\partial v_{\text{andamio}}}{\partial E}\right)_{L_1, L_2}^2 u_c^2(E)} \quad (64)$$

Así que:

$$\left(\frac{\partial v_{\text{andamio}}}{\partial L_1}\right)_{L_2, E}^2 u_c^2(L_1) = \left(\frac{\partial(L_1 \chi L_2 \chi E)}{\partial L_1}\right)_{L_2, E}^2 (0.05 \text{ cm})^2 = (L_2 \chi E)^2 (2.5 \times 10^{-3} \text{ cm}^2) \quad (65)$$

$$\left(\frac{\partial v_{\text{andamio}}}{\partial L_2}\right)_{L_1, E}^2 u_c^2(L_2) = \left(\frac{\partial(L_1 \chi L_2 \chi E)}{\partial L_2}\right)_{L_1, E}^2 (0.05 \text{ cm})^2 = (L_1 \chi E)^2 (2.5 \times 10^{-3} \text{ cm}^2) \quad (66)$$

$$\left(\frac{\partial v_{\text{andamio}}}{\partial E}\right)_{L_1, L_2}^2 u_c^2(E) = \left(\frac{\partial(L_1 \chi L_2 \chi E)}{\partial E}\right)_{L_1, L_2}^2 (0.00005 \text{ cm})^2 = (L_1 \chi L_2)^2 (2.5 \times 10^{-9} \text{ cm}^2) \quad (67)$$

Entonces:

$$u_c(v_{\text{andamio}}) = \sqrt{(L_2 \chi E)^2 (2.5 \times 10^{-3} \text{ cm}^2) + (L_1 \chi E)^2 (2.5 \times 10^{-3} \text{ cm}^2) + (L_1 \chi L_2)^2 (2.5 \times 10^{-9} \text{ cm}^2)} \quad (68)$$

Ahora toca calcular la incertidumbre de la ρ_{andamio} que es una medida indirecta, por lo cual:

$$\rho_{\text{andamio}} = \overline{\rho_{\text{andamio}}} \pm u_c(\rho_{\text{andamio}}) \quad (69)$$

Así que:

$$u_c(\rho_{andamio}) = \sqrt{\left(\frac{\partial \rho_{andamio}}{\partial v_{andamio}}\right)_{m_{andamio}}^2 u_c^2(v_{andamio}) + \left(\frac{\partial \rho_{andamio}}{\partial m_{andamio}}\right)_{v_{andamio}}^2 u_c^2(m_{andamio})} \quad (70)$$

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial \rho_{andamio}}{\partial v_{andamio}}\right)_{m_{andamio}}^2 u_c^2(v_{andamio}) = \\ \left(\frac{\left(\frac{m_{andamio}}{v_{andamio}}\right)}{\frac{\partial v_{andamio}}{\partial v_{andamio}}}\right)_{m_{andamio}}^2 \left(\sqrt{(L_2 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x L_2)^2 (2.5x10^{-9} cm^2)}\right)^2 = \\ \frac{m_{andamio}^2}{v_{andamio}^4} x (L_2 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x L_2)^2 (2.5x10^{-9} cm^2) \quad (71) \end{aligned}$$

$$\left(\frac{\partial \rho_{andamio}}{\partial m_{andamio}}\right)_{v_{andamio}}^2 u_c^2(m_{andamio}) = \left(\frac{\left(\frac{m_{andamio}}{v_{andamio}}\right)}{\frac{\partial m_{andamio}}{\partial m_{andamio}}}\right)_{v_{andamio}}^2 (0.0001g)^2 = \frac{1x10^{-8} g^2}{v_{andamio}^2} \quad (72)$$

$$u_c(\rho_{andamio}) = \sqrt{\left[\frac{m_{andamio}^2}{v_{andamio}^4} x (L_2 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x L_2)^2 (2.5x10^{-9} cm^2)\right] + \frac{1x10^{-8} g^2}{v_{andamio}^2}} \quad (73)$$

Finalmente se calculará la incertidumbre de la porosidad del segundo método por gravimetría se tomará en cuenta que la incertidumbre del material es cero, puesto que este dato se obtiene de referencias (53) y (54) y de la ecuación 20 debido a que se utilizaron dos componentes PLA y gelatina, así que:

$$\varepsilon = \bar{\varepsilon} \pm u_c(\varepsilon) \quad (69)$$

Se tiene:

$$u_c(\varepsilon) = \sqrt{\left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial \rho_{andamio}}\right)_{\rho_{material}}^2 u_c^2(\rho_{andamio}) + \left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial \rho_{material}}\right)_{\rho_{andamio}}^2 u_c^2(\rho_{material})} \quad (70)$$

Donde:

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial \rho_{andamio}}\right)_{\rho_{material}}^2 u_c^2(\rho_{andamio}) = \left(\frac{\partial \left(1 - \frac{\rho_{andamio}}{\rho_{material}}\right)}{\partial \rho_{andamio}}\right)_{\rho_{material}}^2 x u_c^2(\rho_{andamio}) = \\ \frac{1}{\rho_{material}^2} x u_c^2(\rho_{andamio}) \quad (71) \end{aligned}$$

$$\left(\frac{\partial \varepsilon}{\partial \rho_{material}}\right)_{\rho_{andamio}}^2 u_c^2(\rho_{material}) = 0 \quad (72)$$

Entonces:

$$u_c(\varepsilon) = \frac{1}{\rho_{material}} x \sqrt{\left[\frac{m_{andamio}^2}{v_{andamio}^4} x (L_2 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x E)^2 (2.5x10^{-3} cm^2) + (L_1 x L_2)^2 (2.5x10^{-9} cm^2)\right] + \frac{1x10^{-8} g^2}{v_{andamio}^2}} \quad (73)$$



13.5 Datos y cálculos para la porosidad por el método intrusión de un líquido.

Tabla 20. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 4.5 cm de distancia.

Muestra	Peso inicial (mg)	Peso inicial (g)	Peso final (mg)	Peso final (g)	Peso del alcohol (g)	Volumen del alcohol introducido (cm ³)	Volumen total (cm ³)	Porosidad
2A	6.9	0.0069	38.5	0.0385	0.0316	0.040	0.0455	0.880
2B	7.9	0.0079	45.1	0.0451	0.0372	0.047	0.0534	0.883
2C	7.3	0.0073	54.5	0.0545	0.0472	0.060	0.0656	0.912
4A	4.5	0.0045	22.1	0.0221	0.0176	0.022	0.0259	0.863
4B	8.5	0.0085	45.2	0.0452	0.0367	0.047	0.0532	0.874
4C	7.0	0.0070	48.5	0.0485	0.0415	0.053	0.0581	0.905
8A	7.8	0.0078	33.7	0.0337	0.0259	0.033	0.0390	0.842
8B	10.2	0.0102	46.5	0.0465	0.0363	0.046	0.0541	0.851
8C	9.4	0.0094	59.0	0.0590	0.0496	0.063	0.0703	0.894
Promedio						0.046	0.0517	0.8783

Δ promedio	0.0972
ϵ	0.00208

Tabla 21. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.

Muestra	Peso inicial (mg)	Peso inicial (g)	Peso final (mg)	Peso final (g)	Peso del alcohol (g)	Volumen del alcohol introducido (cm ³)	Volumen total (cm ³)	Porosidad
5A	7.6	0.0076	35.4	0.0354	0.0278	0.035	0.0412	0.854
5B	7.2	0.0072	30.1	0.0301	0.0229	0.029	0.0347	0.836
5C	9.6	0.0096	53.2	0.0532	0.0436	0.055	0.0628	0.879
11A	7.4	0.0074	20.1	0.0201	0.0127	0.016	0.0219	0.734
11B	8.0	0.0080	23.8	0.0238	0.0158	0.020	0.0263	0.760
11C	8.3	0.0083	38.6	0.0386	0.0303	0.038	0.0450	0.854
12A	9.6	0.0096	51.9	0.0519	0.0423	0.054	0.0612	0.876
12B	5.5	0.0055	27.6	0.0276	0.0221	0.028	0.0324	0.866
12C	8.2	0.0082	30.5	0.0305	0.0223	0.028	0.0347	0.814
Promedio						0.034	0.0400	0.8304

Δ	0.0738
ϵ	0.00273



Tabla 22. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 4.5 cm de distancia.

Muestra	Peso inicial (mg)	Peso inicial (g)	Peso final (mg)	Peso final (g)	Peso del alcohol (g)	Volumen del alcohol introducido (cm ³)	Volumen total (cm ³)	Porosidad
3A	7.2	0.0072	41.6	0.0416	0.0344	0.044	0.0493	0.885
3B	5.5	0.0055	27.8	0.0278	0.0223	0.028	0.0326	0.867
3C	9.6	0.0096	77.9	0.0779	0.0683	0.087	0.0941	0.919
6A	8.9	0.0089	47.7	0.0477	0.0388	0.049	0.0562	0.875
6B	10.0	0.0100	51.6	0.0516	0.0416	0.053	0.0606	0.870
6C	4.0	0.0040	28.6	0.0286	0.0246	0.031	0.0343	0.908
10A	7.6	0.0076	23.1	0.0231	0.0155	0.020	0.0256	0.766
10B	8.6	0.0086	27.2	0.0272	0.0186	0.024	0.0304	0.776
10C	10.1	0.0101	52.2	0.0522	0.0421	0.053	0.0613	0.870
Promedio						0.043	0.0494	0.8596

Δ	0.0925
ϵ	0.00218

Tabla 23. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.

Muestra	Peso inicial (mg)	Peso inicial (g)	Peso final (mg)	Peso final (g)	Peso del alcohol (g)	Volumen del alcohol introducido (cm ³)	Volumen total (cm ³)	Porosidad
1A	6.1	0.0061	25.9	0.0259	0.0198	0.025	0.0299	0.839
1B	4.0	0.0040	23.1	0.0231	0.0191	0.024	0.0274	0.885
1C	5.9	0.0059	36.0	0.0360	0.0301	0.038	0.0428	0.891
7A	4.5	0.0045	16.4	0.0164	0.0119	0.015	0.0186	0.809
7B	5.4	0.0054	22.0	0.0220	0.0166	0.021	0.0253	0.832
7C	5.9	0.0059	48.3	0.0483	0.0424	0.054	0.0584	0.920
9A	6.5	0.0065	27.1	0.0271	0.0206	0.026	0.0312	0.836
9B	6.7	0.0067	26.0	0.0260	0.0193	0.024	0.0298	0.822
9C	4.7	0.0047	29.1	0.0291	0.0244	0.031	0.0346	0.893
Promedio						0.029	0.0331	0.8585

Δ	0.0619
ϵ	0.00326



13.6 Datos y cálculos para la porosidad por gravimetría.

Tabla 24. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 4.5 cm de distancia

Muestra	L ₁ (cm)	L ₂ (cm)	Área (cm ²)	Espesor (mm)	Espesor (cm)	Volumen (cm ³)	Masa del andamio (mg)	Masa del andamio (g)	Densidad del andamio (g/cm ³)	Porosidad
2A	2	2	4	0.065	0.0065	0.026	6.9	0.0069	0.265	0.790
2B	2	2	4	0.116	0.0116	0.046	7.9	0.0079	0.170	0.866
2C	2	2	4	0.066	0.0066	0.026	7.3	0.0073	0.277	0.781
4A	2	2	4	0.068	0.0068	0.027	4.5	0.0045	0.165	0.869
4B	2	2	4	0.094	0.0094	0.038	8.5	0.0085	0.226	0.822
4C	2	2	4	0.063	0.0063	0.025	7.0	0.0070	0.277	0.781
8A	2	2	4	0.090	0.0090	0.036	7.8	0.0078	0.217	0.829
8B	2	2	4	0.094	0.0094	0.038	10.2	0.0102	0.271	0.786
8C	2	2	4	0.081	0.0081	0.032	9.4	0.0094	0.292	0.770
Promedio	2.000	2.000	4.0000	0.0818	0.0082	0.0327	7.7222	0.0077	0.2401	0.8104

ε	0.0053
---	--------

Tabla 25. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 3.14 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.

Muestra	L ₁ (cm)	L ₂ (cm)	Área (cm ²)	Espesor (mm)	Espesor (cm)	Volumen (cm ³)	Masa del andamio (mg)	Masa del andamio (g)	Densidad del andamio (g/cm ³)	Porosidad
5A	2	2	4	0.103	0.0103	0.041	7.6	0.0076	0.184	0.854
5B	2	2	4	0.078	0.0078	0.031	7.2	0.0072	0.231	0.818
5C	2	2	4	0.073	0.0073	0.029	9.6	0.0096	0.328	0.741
11A	2	2	4	0.088	0.0088	0.035	7.4	0.0074	0.210	0.834
11B	2	2	4	0.089	0.0089	0.036	8.0	0.0080	0.225	0.823
11C	2	2	4	0.068	0.0068	0.027	8.3	0.0083	0.303	0.761
12A	2	2	4	0.073	0.0073	0.029	9.6	0.0096	0.328	0.741
12B	2	2	4	0.055	0.0055	0.022	5.5	0.0055	0.251	0.802
12C	2	2	4	0.065	0.0065	0.026	8.2	0.0082	0.315	0.751
Promedio	2.000	2.000	4.0000	0.0770	0.0077	0.0308	7.9333	0.0079	0.2640	0.7916

ε	0.0057
---	--------



Tabla 26. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 4.5 cm de distancia

Muestra	L ₁ (cm)	L ₂ (cm)	Área (cm ²)	Espesor (mm)	Espesor (cm)	Volumen (cm ³)	Masa del andamio (mg)	Masa del andamio (g)	Densidad del andamio (g/cm ³)	Porosidad
3A	2	2	4	0.099	0.0099	0.040	7.2	0.0072	0.182	0.856
3B	2	2	4	0.058	0.0058	0.023	5.5	0.0055	0.237	0.813
3C	2	2	4	0.086	0.0086	0.034	9.6	0.0096	0.280	0.779
6A	2	2	4	0.118	0.0118	0.047	8.9	0.0089	0.189	0.851
6B	2	2	4	0.077	0.0077	0.031	10.0	0.0100	0.325	0.744
6C	2	2	4	0.049	0.0049	0.020	4.0	0.0040	0.204	0.839
10A	2	2	4	0.094	0.0094	0.038	7.6	0.0076	0.202	0.840
10B	2	2	4	0.082	0.0082	0.033	8.6	0.0086	0.262	0.793
10C	2	2	4	0.071	0.0071	0.028	10.1	0.0101	0.355	0.720
Promedio	2.0000	2.0000	4.0000	0.0815	0.0082	0.0326	7.9444	0.0079	0.2484	0.8039

ε	0.0054
---	--------

Tabla 27. Datos para obtener porosidad e incertidumbres a 7.33 (rad/s) y 1.5 cm de distancia.

Muestra	L ₁ (cm)	L ₂ (cm)	Área (cm ²)	Espesor (mm)	Espesor (cm)	Volumen (cm ³)	Masa del andamio (mg)	Masa del andamio (g)	Densidad del andamio (g/cm ³)	Porosidad
1A	2	2	4	0.063	0.0063	0.025	6.1	0.0061	0.242	0.809
1B	2	2	4	0.055	0.0055	0.022	4.0	0.0040	0.182	0.856
1C	2	2	4	0.082	0.0082	0.033	5.9	0.0059	0.180	0.858
7A	2	2	4	0.050	0.0050	0.020	4.5	0.0045	0.225	0.822
7B	2	2	4	0.063	0.0063	0.025	5.4	0.0054	0.214	0.831
7C	2	2	4	0.063	0.0063	0.025	5.9	0.0059	0.236	0.814
9A	2	2	4	0.065	0.0065	0.026	6.5	0.0065	0.250	0.803
9B	2	2	4	0.053	0.0053	0.021	6.7	0.0067	0.316	0.750
9C	2	2	4	0.056	0.0056	0.022	4.7	0.0047	0.210	0.834
Promedio	2.0000	2.0000	4.0000	0.0610	0.0061	0.0244	5.5222	0.0055	0.2283	0.8197

ε	0.0055
---	--------



14 GLOSARIO

Adipocitos: Es un tipo celular derivado del fibroblasto cuya principal función es almacenar lípidos, en concreto triglicéridos y colesterol esterificado, como reserva energética.

Albúmina: Proteína animal y vegetal, rica en azufre y soluble en agua, que constituye el componente principal de la clara del huevo y se encuentra también en el plasma sanguíneo y linfático, en la leche y en las semillas de ciertas plantas.

Amenorrea: Ausencia de la menstruación

Aterosclerosis acelerada: Se caracteriza por el depósito de sustancias grasas en el interior de las arterias.

Atrofia testicular: Impide el crecimiento normal de los testículos.

Blastocisto: Es un embrión de 5/6 días de desarrollo que presenta una estructura celular compleja formada por aproximadamente 200 células. La fase de blastocisto es el estadio de desarrollo previo a la implantación del embrión en el útero materno.

Capas germinales: También llamado capa embrional, hoja embrionaria u hoja blastodérmica es un conjunto de células formadas durante el desarrollo embrionario animal a partir de las cuales se originarán los tejidos y órganos del adulto.

Células endoteliales: Son células aplanadas conectadas entre si por complejos de unión y su principal misión es hacer intermediarios entre la sangre o la linfa y el líquido intersticial y contribuir a las propiedades físicas de la sangre, tanto en situaciones normales como patológicas.

Células germinales: Estas células provienen de las células madre. Son las responsables de la formación de las células reproductoras o gametos, los espermatozoides en los hombres y los ovocitos en las mujeres. Las células germinales contienen toda la información genética de un individuo y la transmiten al embrión.

Cigoto: Huevo recién fecundado. Embrión en estadio de una célula.

Citoplasma: Consiste en una estructura celular cuya apariencia es viscosa. Se encuentra localizada dentro de la membrana plasmática pero fuera del núcleo de la célula. Hasta el 85% del citoplasma está conformado por agua, proteínas, lípidos, carbohidratos, ARN, sales, minerales y otros productos del metabolismo.

Condrocitos: Son el tipo celular que dará lugar a los cartílagos de los animales y son la parte celular del mismo tejido.

Creatinina sérica: Análisis de sangre de laboratorio para medir la cantidad de creatinina en el suero.

Creatinina: Una proteína formada principalmente por el catabolismo muscular.

Desarrollo embrionario: Es el periodo que se produce entre la fecundación y el parto.

Dislipidemias: Son alteraciones que se manifiestan en concentraciones anormales de algunas grasas en la sangre, principalmente colesterol y triglicéridos.

Dismenorrea: Menstruación difícil y dolorosa



Edema: Presencia de un exceso de líquido en algún órgano o tejido del cuerpo que, en ocasiones, puede ofrecer el aspecto de una hinchazón blanda.

Enfermedad vascular: Está fundamentalmente causada por la arterioesclerosis, que se produce por un aumento del grosor de la capa interna de las arterias (denominada capa íntima).

Enfermedades glomerulares: Son un grupo heterogéneo de enfermedades que afectan solo o principalmente a los glomerulos renales y ocasionan trastornos funcionales y estructurales.

Enucleado: Acción de eliminar el núcleo de una célula.

Estrés oxidativo: Ocurre cuando hay un desequilibrio en nuestras células debido a un aumento en los radicales libres y/o una disminución en los antioxidantes.

Filtrado glomerular: Proceso efectuado en el riñón que permite una depuración de la sangre a media que ésta fluye a través de los capilares glomerulares; el agua y las sustancias contenidas en la sangre se filtran y se dirigen hacia la cápsula de Bowman. Los únicos elementos que no son filtrados son las células sanguíneas y la mayor parte de las proteínas. El líquido filtrado originará la orina mediante sucesivos mecanismos de reabsorción y secreción.

Glomerulonefritis: Es un problema que afecta las diminutas unidades renales encargadas del proceso de filtrado, conocidas como glomerulos.

Hepatocitos: Los hepatocitos son las células del hígado y forman aproximadamente el 8% de este órgano. Se disponen formando láminas de una célula de espesor que se unen unas con otras a modo de esponja.

Hipercoagulabilidad: Aumento de la velocidad de coagulación de la sangre.

Hipervolemia: Trastorno hidroelectrolítico que consiste en un aumento anormal del volumen del líquido extracelular y de plasma en el cuerpo.

Homocisteína: Es un aminoácido azufrado que desempeña un papel importante en la transferencia de grupos metilos en el metabolismo celular y es sintetizado como producto intermedio del metabolismo de la metionina por acción de la enzima metionina adenosil transferasa (MAT)

Incontinencia urinaria de esfuerzo: Es una pérdida involuntaria de orina que ocurre durante una actividad física como toser, estornudar, reír o realizar ejercicio.

Las arterias son vasos sanguíneos que aportan sangre, oxígeno y sustancias nutritivas al organismo, desde el corazón. La arteriosclerosis es un trastorno que origina un endurecimiento y estrechamiento de las arterias, de manera que el aporte de sangre es insuficiente para satisfacer las necesidades del tejido en cuestión.

Las partes del cuerpo más afectadas por esta enfermedad sufren las consecuencias de un riesgo insuficiente, es decir, un empeoramiento de su función, la lesión del tejido, o la muerte del mismo.

MCI: Masa Celular Interna del blastocisto de la cual evolucionará el embrión y de donde se obtienen las células embrionarias. También se denomina embrioblasto.

Miocitos: El miocito o fibra muscular es el nombre que reciben las células que forman los músculos de los animales.

Miopatía: Enfermedad muscular



Morbimortalidad: Muerte causada por enfermedades.

Nicturia: Es la necesidad de levantarse varias veces por la noche para orinar y puede tener muchas causas.

Obnubilación: Estado de la persona que sufre de una pérdida pasajera del entendimiento y de la capacidad de razonar o de darse cuenta con claridad de las cosas.

Osteocitos: Es una célula ósea, parte del tejido óseo, es decir intrínseca de los huesos, que justamente está alojada en la matriz, en la parte más importante de un hueso.

Polimerasa: Es una enzima capaz de transcribir o replicar ácidos nucleicos.

Poliquistica: Es un desorden hereditario en el cual un grupo de quistes son principalmente desarrollados dentro del riñón

Poliuria: Excreción muy abundante de orina

Telomerasa: Es una enzima formada por un complejo proteína-ácido ribonucleico con actividad polimerasa que está presente en células de la línea germinal, en tejidos fetales y en ciertas células madre poco diferenciada, que replica el DNA en los extremos de los cromosomas eucarióticos y permite el alargamiento de los télomeros

Terapia celular: Describe el proceso de introducir nuevas células en un tejido para poder tratar una enfermedad.

Trofoblasto (del griego threphein: alimentar) es un grupo de células que forman la capa externa del blastocisto, que provee nutrientes al embrión y se desarrolla como parte importante de la placenta puesto que a al tercer mes de la gestación este recibirá el nombre de placenta.

Uremia: Síndrome clínico debido a una acumulación en la sangre de sustancias nitrogenadas que normalmente se eliminan por la orina y que se produce a causa de una insuficiencia renal.

Uropatía obstructiva: Es la enfermedad renal generada por la alteración en el flujo de la orina debida a cambios anatómicos y/o funcionales del tracto urinario que impiden el flujo normal de la misma.

Xerosis: Trastorno de la epidermis que se padece cuando la piel tiene un déficit de humedad o grasa.