



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**ESTUDIO DE BIOMATERIALES HÍBRIDOS CLASE I DE PLA/BIOVIDRIO POR IMPRESIÓN EN 3D, PARA SU APLICACIÓN EN INGENIERÍA DE TEJIDOS**

**INFORME**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

**DAVID JOSUÉ BARRÓN DÍAZ**

ASESOR

**DR. RICARDO VERA GRAZIANO**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE DE 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

1.- A la Universidad Nacional Autónoma de México por albergar todo el conocimiento que me permitió desarrollarme profesionalmente.

2.- Al Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM porque en sus instalaciones pude encontrar el conocimiento y los medios necesarios para desarrollar mi trabajo de investigación.

3.- A DGAPA-UNAM, PROYECTO PAPIT IN108116, por el apoyo recibido para la realización de este trabajo de investigación.

4.- Al Doctor Ricardo Vera Graziano por su apoyo académico y personal que me permitió iniciar mi proyecto de investigación en su laboratorio.

5.- Al Doctor Alfredo Maciel Cerda por compartirme sus conocimientos y su apoyo dentro y fuera del instituto.

6.- Al Doctor Filiberto Rivera Torres por todo su apoyo, sus enseñanzas y sus consejos que me sirvieron mucho durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

7.- A los sinodales por la revisión de mi trabajo de investigación y sus correctas observaciones y críticas:

- Presidente: Dr Emilio Bucio Carrillo
- Vocal: Dr. Alejandro Cuauhtémoc Ramírez Reivich
- Vocal: Dr. Alberto Caballero Ruiz
- Vocal: Dra. Rosana Pelayo Camacho
- Secretario: Dra. María Josefa Bernad Bernad

8.- A los técnicos del Instituto de Investigaciones en Materiales:

- Dr. Omar Novelo Peralte por su apoyo en las micrografías obtenidas en el Laboratorio Universitario de Microscopía Electrónica, del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM.
- I.Q. Karla Eriseth Reyes Morales responsable del Laboratorio de Análisis Térmico, por su apoyo con los rápidos análisis de las muestras de mi trabajo
- M. en C. Adriana Tejeda Cruz responsable del Laboratorio de Rayos X del IIM-UNAM; así como Técnico Académico titular "A" T.C., y por su apoyo en el análisis de las muestras
- Al Ingeniero Miguel Ángel Canseco, responsable del laboratorio de espectroscopía

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A la mujer que esta a mi lado, creciendo conmigo y soportando mis caídas, siempre con un buen consejo y excelentes palabras. Gracias Jenny.

A mis padres Genaro y Angeles, siempre tenaces y constantes en sus enseñanzas y sus vivencias, mismas que despiertan en mi las ganas para continuar.

A mis hermanos Genaro, Diana, Irving y Zyanya, todos y cada uno de ellos que han y seguirán aportando un pequeño momento en mi vida para siempre ir más allá.

## RESUMEN

La ingeniería de tejidos es un área que involucra diferentes ciencias como la física, biología, química e ingeniería, cuyo último propósito es el desarrollo y la innovación de los mecanismos, productos y tratamientos que existen actualmente en la medicina regenerativa. La combinación de todas estas ciencias, así como del ingenio humano da como resultado diferentes tipos de materiales bioactivos, biomateriales naturales, sintéticos o híbridos de clase I o clase II.

Existen diferentes técnicas utilizadas para la obtención de biomateriales híbridos, como la impresión en 3D (MANUFACTURA ADITIVA) de material fundido, cuya resolución máxima estimada es de 0.4 mm. Esta técnica permite diseñar el tipo de material que se quiere imprimir en función de las condiciones físicas del objeto de estudio, por lo que cada biomaterial obtenido podrá reproducirse y repetirse sin ningún problema. Además, es una técnica cuyas condiciones de operación pueden modificarse en función de las propiedades físicas como la viscosidad, temperatura de fusión, el peso molecular y los precursores del biomaterial.

En este proyecto de investigación se analizaron materiales de poli (ácido láctico) (PLA) impresos en 3D, con diferentes geometrías. Asimismo, se proyectó la posibilidad de recubrirlos con biovidrios mediante una extensión que trabaja materiales con alta viscosidad, de la impresora 3D. Una vez obtenidos los biomateriales, se iban a realizar sus correspondientes caracterizaciones mecánicas, ópticas, espectroscópicas, térmicas. Sin embargo, esto no se logró debido a que el equipo de impresión falló y su mantenimiento se extendió más allá del tiempo establecido para concluir el trabajo de tesis. El propósito era probarlos en soluciones fisiológicas que simulen el microambiente celular de un cultivo con células, así como cultivos con células hematopoyéticas para verificar su funcionalidad como soporte de diferenciación.

# INTRODUCCIÓN

## ORIGEN DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS

Para poder rastrear los orígenes de la ingeniería de tejidos, se debe entender que ha pasado desde los siglos anteriores hasta nuestro presente en el campo de la cirugía y la creación de los métodos donde se hacían prótesis para la sustitución de algún órgano o parte del cuerpo humano. Tradicionalmente, para las cirugías en la medicina regenerativa o en la sustitución de algún órgano del cuerpo humano se utilizaban materiales ajenos al mismo, a base de metales no ferrosos como el aluminio o diferentes aleaciones. La idea de mejorar los materiales utilizados hasta ese entonces surge durante la segunda guerra mundial, donde se comenzaron a utilizar materiales que provenían de fuentes naturales como el colágeno, a partir de una expansión tecnológica donde la premisa era poder generar tejidos sustitutos autólogos con el soporte de polímeros termoplásticos sintéticos como el nilón, Dracon, poliuretano, polipropileno y muchos otros no diseñados para su uso en el cuerpo humano. Sin embargo siendo introducidos para suplir la parafernalia quirúrgica y fueron utilizados por los practicantes del arte de la cirugía para reconstruir zonas dañadas, envejecidas o genéticamente deficientes[1].

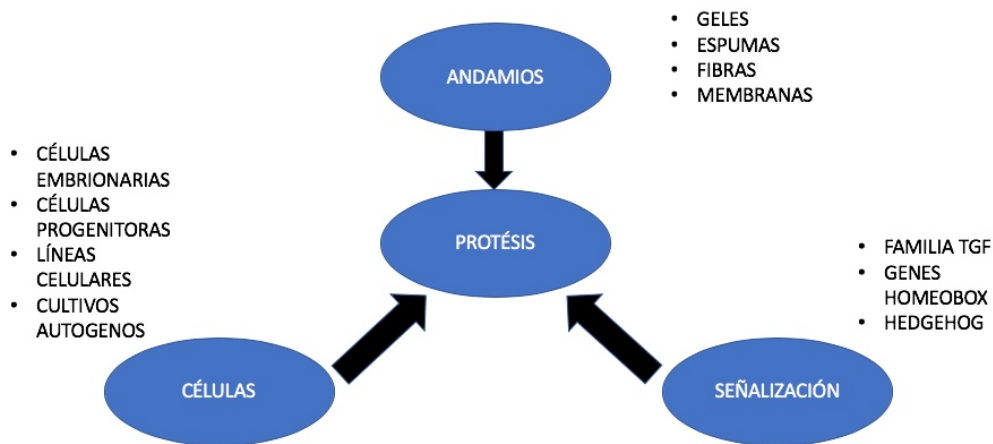


Figura 1. Tríada de la ingeniería de tejidos

La figura 1, corresponde a la tríada de la ingeniería de tejidos cuya base comienza sobre tres componentes biológicos. El principal componente son los andamios cuyas aplicaciones varían en función del sitio donde se utilicen, y son constituidos mayoritariamente por polímeros o biopolímeros. El segundo y tercer componente son las prótesis y las células, cuyos procesos de señalización dentro del material, hacen posible que se desarrolle el tejido como tal.

Como se sabe, los tejidos biológicos están constituidos de células, matriz extracelular (compuesto por un complejo de secreciones celulares inmovilizadas en espacios continuos con células) y sistemas de señalización, que se ponen en juego a través de la activación diferencial de genes o cascadas de genes cuyos productos secretados o transcripcionales son responsables de identificar y diferenciar la formación de tejidos. La incorporación de células en dispositivos de tejido protésico reconstituido a menudo puede proporcionar las señales necesarias para la formación de tejido, sin embargo, existen aun pocos casos donde los resultados sean completamente exitosos[1].

El éxito de la ingeniería de tejidos a través de su implementación y colaboración de diferentes campos de las ciencias exactas ha traído una base en el desarrollo de nuevas tecnologías para la traslación clínica de órganos completos hasta tejidos vascularizados a escalas que se reducen a los nanómetros. La FDA ha aprobado diferentes tipos de materiales que cumplen con las condiciones para los cultivos in vitro de los diferentes tipos de células, como el mantenimiento de la esterilidad, la temperatura, como soporte celular o inclusive biorreactores para llevar a cabo el estudio in vivo de algún tipo de patología. Algunos ejemplos de estos materiales son aquellos que tienen como matriz los polímeros biodegradables y sintéticos, así como nanopartículas de cerámicos[2].

El desarrollo e investigación de nuevos materiales aprovechables en la medicina regenerativa, como alternativas de estudio para diferentes patologías, tratamientos ortopédicos, regeneración de tejidos, y liberación controlada de fármacos, es uno de los temas de mayor interés para todas las áreas involucradas en la investigación de la ingeniería de tejidos.

La medicina regenerativa es un campo interdisciplinario de investigación y aplicación enfocada en la reparación, el reemplazo o la regeneración de células, tejidos u órganos que hayan perdido alguna función derivado de algún proceso congénito, algún defecto genético, un trauma o el simple envejecimiento del individuo. El principal objetivo de la medicina regenerativa son las células humanas, cuyo origen puede venir de etapas embrionarias, de seres humanos en etapas adultas o de cultivos in vitro de algún linaje celular[3].

Una de las áreas con mayor encono e interés en la investigación es la relacionada con los materiales y biomateriales naturales, sintéticos, orgánicos, inorgánicos y ahora en pleno siglo XXI, híbridos. Se conocen como materiales o biomateriales híbridos debido a que presentan al menos dos componentes orgánicos e inorgánicos indistinguibles alrededor de la nano escala. Los híbridos son sintetizados con base en métodos complejos como la síntesis sol-gel, donde se agrega la fase polimérica después del proceso de hidrólisis de precursores como el tetraetil ortosilicato (TEOS), cuya participación es formar la red inorgánica (sílica) que se forma alrededor de las moléculas de polímero. Estos materiales híbridos se pueden clasificar en dos tipos dependiendo de las interacciones entre las cadenas orgánicas e inorgánicas. Los híbridos Clase I presentan arreglos moleculares a base de enlaces de hidrógeno o fuerzas de van Der Waals. Los híbridos Clase II presentan enlaces covalentes entre sus fases y usualmente se obtienen mediante la funcionalización del polímero con agentes de acoplamiento antes de mezclarse con los precursores del proceso sol-gel[4].

## **MANUFACTURA ADITIVA**

La manufactura aditiva (AM por sus siglas en ingles), se conoce comúnmente como impresión en 3D, y puede ser definida como el proceso de unir materiales capa por capa a partir de datos de un diseño computarizado. La “American Society for Testing and Materials (ASTM por su nombre en inglés) ha clasificado a esta técnica en 7 categorías:

- Flujo aglomerante
- Deposición directa de energía
- Extrusión de Material
- Flujo de Material
- Fusión de cama de polvo

- Laminado de capas
- Camara de fotopolimerización

Una de las categorías más utilizadas desde el comienzo de la manufactura aditiva, es la extrusión de material. El proceso consiste en depositar de manera constante el material extruído y fundido para que mediante un choque térmico se solidifique de acuerdo a los patrones en los que se va depositando. Para esta técnica existen 5 categorías de los materiales que se pueden imprimir: (1) pequeños materiales, (2) materiales cerámicos, (3) materiales electrónicos, (4) biomateriales y (5) Materiales compuestos[5].

Una condición importante a destacar de estas técnicas, es acerca de los equipos disponibles para llevar a cabo la obtención de estos materiales. Cada equipo debe contar con el apoyo de la tecnología computarizada, debido a que para poder imprimir cualquier material, debe de existir un diseño previo. En el caso de los equipos de nueva generación, el proceso comienza directamente en los programas de diseño de objetos, donde se colocan las dimensiones, los detalles, las geometrías y se adecua de acuerdo al volumen y área del material a imprimir.

Una vez diseñado el material, se controlan las variables de impresión en otro software o directamente en el equipo de impresión. Las variables con mayor impacto en la impresión en 3D por extrusión de material fundido son:

- ANCHO DE LÍNEA (jeringa o inyector)
- ALTURA DE CAPA
- RECUENTO DE LÍNEAS DE PARED (soporte)
- VELOCIDAD DE IMPRESIÓN (cabezal)
- TIEMPO MÍNIMO DE CAPA
- TEMPERATURA DE LA CAMA
- TIPO DE FILAMENTO (se pueden imprimir diferentes tipos de materiales)
- CONTROL DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES (viento y humedad)

**Ancho de línea (Parámetro de calidad):** Ancho de una única línea. Generalmente el ancho de cada línea se debería corresponder con el ancho de la tobera que es parte de la boquilla de impresión. Sin embargo, reducir este valor ligeramente podría producir mejores impresiones. Afecta a:

- Ancho de línea de pared
- Ancho de línea superior/inferior
- Ancho de línea de relleno
- Ancho de línea de falda/borde
- Ancho de línea de soporte
- Ancho de línea de interfaz de soporte
- Ancho de línea de la torre auxiliar
- Desplazamiento mínimo de retracción
- Ancho de las líneas superiores de la balsa
- Ancho de la línea intermedia de la balsa

Afectado por:

- Diámetro de la tobera



**Altura de capa (Parámetro de Calidad):** Altura de capa en mm. Los valores más altos producen impresiones más rápidas con una menor resolución, los valores más bajos producen impresiones más lentas con una mayor resolución.

Afecta a:

- Capas superiores
- Capas inferiores
- Grosos de la capa de relleno
- Anchura de expansión mínima del forro
- Velocidad normal del ventilador por capa
- Grosor de la capa de relleno de soporte
- Grosor de las capas superiores de la balsa
- Grosor intermedio de la balsa
- Grosor de la torre auxiliar

**Recuento de líneas de pared (Parámetro de Perímetro):** Número de paredes. Al calcularlo por el grosor de las paredes, este valor se redondea a un número entero.

Afecta a:

- Superposición del relleno
- Superposición del forro
- Distancia de pasado de relleno
- Anchura de retirada del forro
- Distancia de expansión del forro

Afectado por:

- “Espiralizar” el contorno exterior
- Ancho de la línea de pared(es) interna(s)
- Grosor de la pared
- Ancho de la línea de la pared exterior

**Velocidad de impresión (Parámetro de velocidad):** Velocidad a la que se realiza la impresión.

Afecta a:

- Velocidad de relleno
- Velocidad de pared
- Velocidad superior/inferior
- Velocidad de soporte
- Velocidad de la torre auxiliar
- Velocidad de desplazamiento
- Velocidad de capa inicial
- Velocidad de impresión de la balsa

**Tiempo mínimo de capa (Parámetro de Refrigeración):** Tiempo mínimo empleado en una capa. Esto fuerza a la impresora a ir más despacio, para emplear al menos el tiempo establecido aquí en una capa. Esto permite que el material impreso se enfríe adecuadamente antes de imprimir la

siguiente capa. Es posible que el tiempo para cada capa sea inferior al tiempo mínimo si se desactiva Levantar el cabezal o si la velocidad mínima se ve modificada de otro modo.

**Temperatura de la cama:** Esta temperatura es indispensable de ajustar y conocer en función del tipo de material que se va a imprimir. Determina las propiedades mecánicas de los materiales impresos. Esta temperatura normalmente se encuentra entre los 50 – 70 °C, debido a que interviene en la disminución de la cinética de enfriamiento del material impreso.

**Tipo de Filamento:** El tipo de filamento dependerá del tipo de impreso que se tenga para la obtención de los materiales. Comúnmente se encuentran en diámetros de 1.75 a 3 mm. Sin embargo, hoy en día el material a imprimir puede ir desde una disolución coloidal, hasta filamentos de diferentes polímeros.

**Control de las condiciones ambientales:** Estas condiciones afectan directamente a la rampa de enfriamiento del material impreso, aumentando o disminuyendo las propiedades mecánicas del mismo. Entre más viento o humedad, la dureza de los materiales será menor con respecto a los materiales en donde se controlen las condiciones antes mencionadas. Asimismo, la resolución por capa y en general de los materiales que se impriman será menos homogénea.

## DISEÑO DE EXPERIMENTOS FRACCIONADOS

El diseño de experimentos es la aplicación del método científico para generar conocimiento acerca de un sistema o proceso, por medio de pruebas planeadas adecuadamente. Se consideran de primera instancia el experimento a realizar, las variables, factores y niveles que tienen efecto en el experimento a realizar a través de un proceso que considera las entradas y las salidas de este[6].

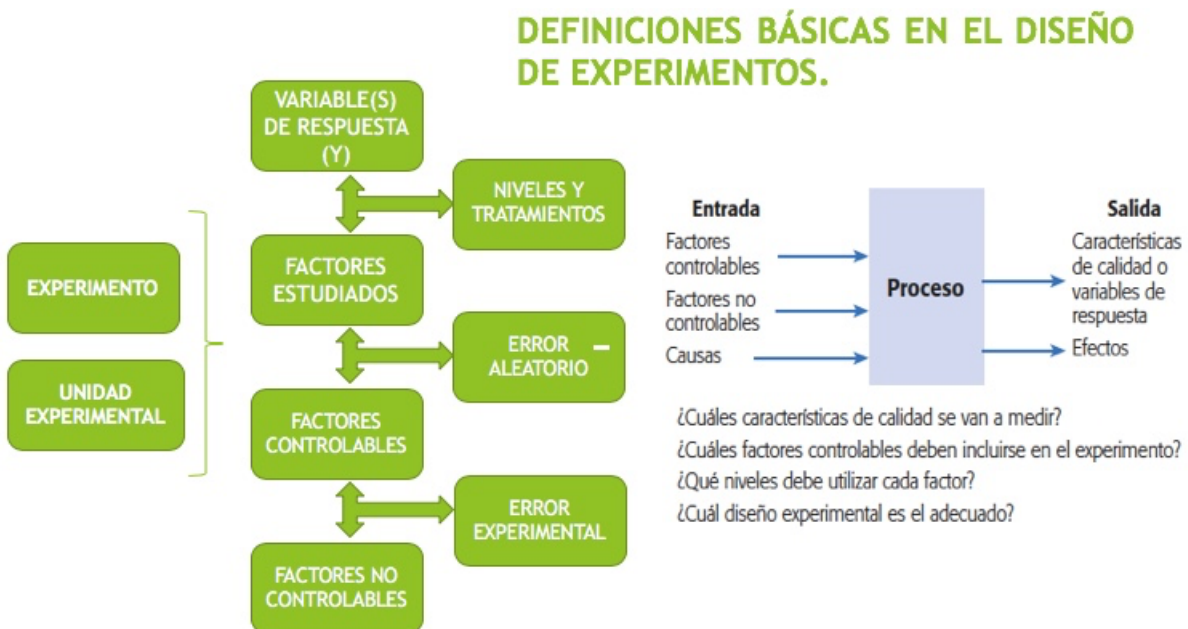


Figura 2. Variables, preguntas a responder, así como algunos conceptos básicos en el diseño de experimentos.

## JUSTIFICACIÓN

Los biomateriales desarrollados para la construcción de tejidos funcionales y complejos, como órganos o inclusive un miembro del cuerpo, aún se mantienen en etapas tempranas de desarrollo, ya que hoy en día es difícil concebir un biomaterial convergente con las propiedades químicas, físicas y mecánicas similares a las de los sitios biológicos de estudio. Por ello es indispensable abordar técnicas de investigación cuyo propósito sea la obtención de dichos materiales, pero de una manera simple, de bajo costo y estandarizada. La manufactura aditiva es una de las técnicas con un uso potencial en la medicina regenerativa para desarrollar una gran variedad de tejidos transplantables (piel, cartilago y hueso), con una resolución establecida, controlada y compleja. Sin embargo, los límites de manufactura de esta técnica, se encuentran en las resoluciones de sus componentes (Boquilla de inyección), y en los parámetros de uso de los equipos que hoy en día se utilizan[7].

Por ello, este trabajo de investigación propone el uso del diseño de experimentos mediante la aplicación de las distribuciones factoriales fraccionadas, que puedan ayudar a reducir la falla en la obtención de los biomateriales debida a los diferentes factores que integran la técnica. Por ejemplo el tipo de polímero, la velocidad de inyección, las condiciones ambientales, el diámetro de las capas que componen a los biomateriales manufacturados, entre otros[8]. Paralelo a la optimización en la obtención de los biomateriales, se pretende estudiar la diferencia entre los andamios de PLA/Biovidrio obtenidos por las técnicas de electrohilado y sol gel, utilizados para el estudio de la biocompatibilidad de células hematopoyéticas[9].

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es uno de los cánceres más comunes en la infancia, sin embargo en años recientes se han mejorado los tratamientos de la misma y con ello la expectativa de vida de los niños. Debido a que el microambiente en la médula ósea es muy importante para la etiología de la leucemia[10], es de vital importancia encontrar un material que pueda interactuar con este microambiente, así como con las células hematopoyéticas para brindarles un soporte que permita estudiarlas *in vitro*.

## HIPÓTESIS

Mediante el uso del Diseño de Experimentos, se podrá optimizar la manufactura de biomateriales híbridos en 3D de PLA/Biovidrio a escalas micrométricas, para su aplicación en el estudio del crecimiento, soporte y diferenciación de células troncales de cordón umbilical y de sangre periférica (células hematopoyéticas); así como para identificar los parámetros de mayor impacto en el proceso y con ello realizar las pruebas correspondientes en la manufactura de los mismos.

El control en las variables de impresión, así como las pruebas con dos tipos de polímeros, debe proporcionar un material con buena resolución, biocompatible, reproducible y repetible para su uso en el estudio de la biocompatibilidad con células hematopoyéticas.

## OBJETIVOS

- Obtener biomateriales híbridos de PLA/Biovidrio mediante la manufactura aditiva.

- Proponer un modelo de diseño de experimentos mediante una distribución fraccionada para la identificación de las variables de proceso que determinan la obtención de biomateriales mediante la propuesta de variables de respuesta en la manufactura aditiva.
- Obtener diferentes biomateriales con geometrías variadas para su comparación entre las mismas en estudios de biocompatibilidad.
- Estudiar la biocompatibilidad de los biomateriales híbridos mediante el cultivo con células de sangre de cordón umbilical y sangre periférica.
- Comparar los resultados de la biocompatibilidad de los biomateriales obtenidos mediante Manufactura aditiva, con respecto a los andamios de biomateriales híbridos obtenidos por las técnicas de electrohilado y sol-gel[9].

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Poli (ácido láctico) (PLA)**

Se utilizaron pellets de Poli (ácido láctico) que se disolvieron en 2,2,2-Trifluoroetanol (Sigma Aldrich, 99+, d 1.373) para obtener concentraciones de 13, 14 y 15 % m/v[11] y probarlas para la impresión 3D de materiales viscosos.

### **Filamento de (PLA)**

Se utilizaron dos tipos de filamentos de PLA, uno con diametro de 1.75 mm y otro con diametro de 3 mm de diferentes colores, debido a la disponibilidad de los recursos de PLA en colores verde, azul, amarillo y blanco. Debido a que en la caracterización por FTIR se identificaron bandas desconocidas y no relacionadas a los correspondientes grupos carbonilo de ester para los filamentos de PLA con colores, se utilizó el filamento de color blanco, cuyas bandas correspondían a las del PLA utilizado con anterioridad[12].

### **Biovidrio (BV)**

Se sintetizó un biovidrio ternario de composición  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ , al 70% de  $\text{SiO}_2$ , 25% de  $\text{CaO}$  y 5% de  $\text{P}_2\text{O}_5$ [13], mediante la técnica sol gel. Como precursores se utilizó el Tetraetilortosilicato (TEOS,  $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{H}_5)_4$ , el Trietilfosfato (TEP,  $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}_4$  Sigma Aldrich®, pureza 98%), y cloruro de calcio di-hidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) reactivo analítico, Sigma Aldrich®, pureza  $\geq 99\%$ ), agua destilada, etanol absoluto ( $\text{EtOH}$ ,  $(\text{C}_2\text{H}_6\text{O})$ ) y ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$ ), 1 M, el cual es obtenido a partir de una dilución de ácido clorhídrico concentrado, aproximadamente de una concentración 12 M y diluido en agua.

### **Equipo de impresión 3D**

#### **Montaje, soporte y accesorios**

El equipo se compró a una empresa dedicada al giro de la impresión 3D, la instalación y el montaje del equipo se realizó de acuerdo al manual contenido en su página de internet. Cabe destacar que se hubo dificultades al alinear los cabezales de impresión con las camas de soporte debido a que ese es un proceso manual, pero finalmente se lograron imprimir diferentes diseños con la estructura que se observa en la imagen 1.

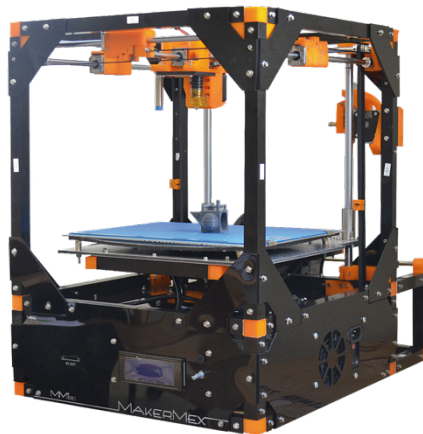


Imagen 1. Impresora 3D de la marca MakerMEX®, MM1, utilizado en el laboratorio L-C-202, Departamento de polímeros, para la obtención de los productos impresos.

Es un equipo de impresión por deposición de material fundido. Contiene hasta dos cabezales de impresión que se pueden conectar para realizar impresiones dobles o sinérgicas en una misma figura.

Para poder llevar a cabo impresiones en este equipo se requieren de dos softwares diferentes, uno se usa en el diseño y el otro para establecer las condiciones de impresión. El primero, Blender®, es un software “open source”. Cabe destacar que existen infinidad de programas que pueden ser compatibles con los equipos de impresión, sin embargo, se utilizó este debido al carácter gratuito y de fácil manipulación.

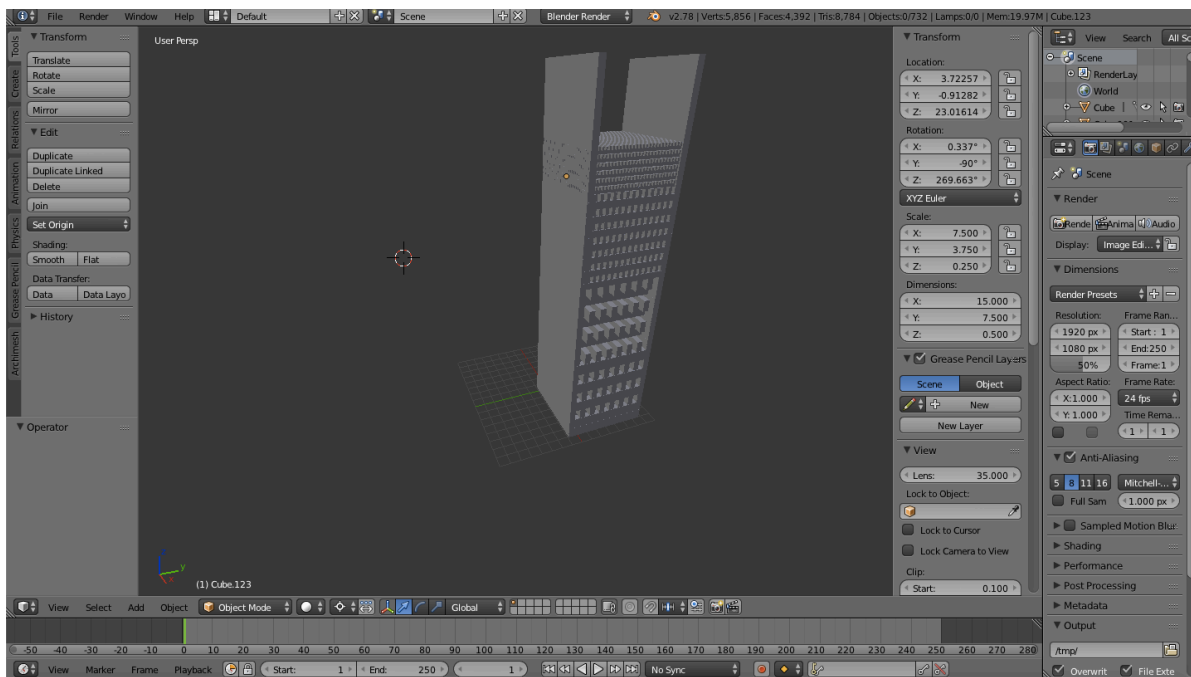


Figura 3. Es la vista del programa Blender® con el diseño de una estructura con diferentes porosidades.

LA figura 3 muestra un ejemplo del diseño de los materiales en el programa Blender®, La imagen es un prisma rectangular construido con diferentes porosidades, comenzando con una porosidad

muy cerrada en la parte baja, una porosidad media a la mitad del diseño y una porosidad más grande con respecto a las anteriores, esto con la finalidad de poder proveer un material cuya estructura pueda permitir el movimiento celular a través del mismo material.

Para poder desarrollar los diferentes diseños en el programa, se tomó un curso en línea que proveía las diferentes funciones necesarias para la creación y manipulación de los diseños. Es importante mencionar que la extensión de los archivos que se crean en este programa es (.stl), que es un formato necesario para exportarse al siguiente software donde se fijan las condiciones de impresión

El otro software que se utilizó para llevar a cabo las impresiones en 3D es el Ultimaker CURA®, el cual también es de licencia libre y considera todos los parámetros de impresión que se propusieron en el diseño de experimentos.

Uno de los puntos importantes a considerar en el diseño de estructuras en este tipo de programas, son los parámetros que se pueden sinergizar entre los dos tipos de softwares a utilizar en la manufactura aditiva. Es indispensable trabajar en las mismas escalas tanto en el programa de diseño, como en el programa donde se definan las variables para manufacturar en 3D. Esto se debe a que en ambos programas la escala es diferente y puede dificultar su manufactura si no hay cuidado con ello.

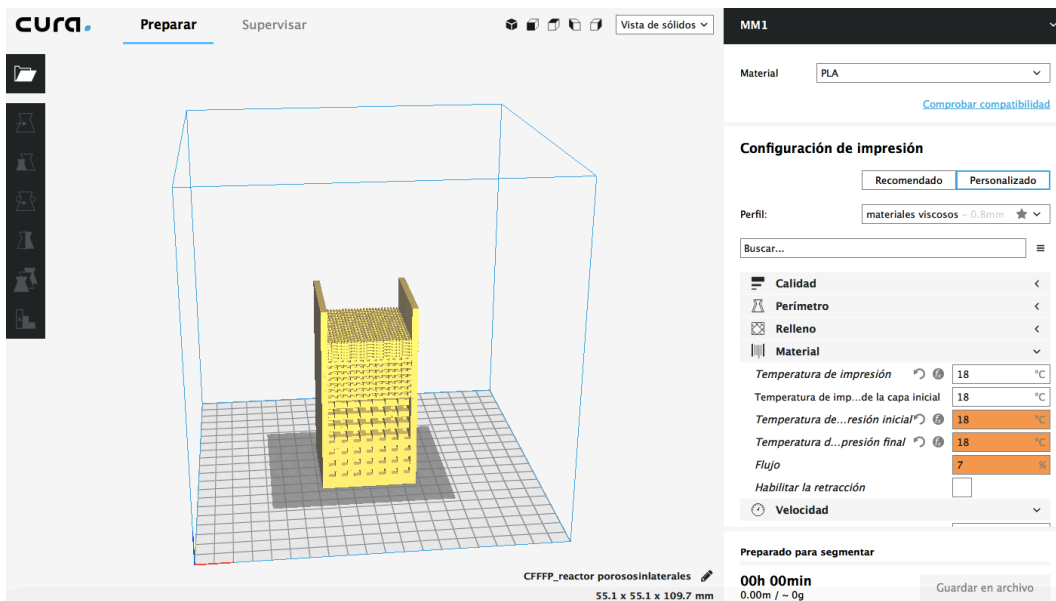


Figura 4. Interfaz del programa Ultimaker Cura con el diseño de una estructura con diferentes porosidades.

En la figura 4 se observa la interfaz del programa Ultimaker Cura. En este programa se consideran todas las probables variables de respuesta del diseño de experimentos propuesto. Es el instrumento que después de fijar las condiciones de impresión, transforma los archivos en una extensión (.gcode), que es el formato universal que se utiliza en la mayoría de los equipos de impresión 3D.

## PROPUESTA DE DISEÑO DE EXPERIMENTO

Para la obtención de los materiales mediante la impresión 3D se propuso determinar las variables de proceso con mayor influencia en los materiales para poder mejorar su resolución en la manufactura de los mismos, con la finalidad de obtener materiales con estructuras que puedan

acercarse a los tamaños micrométricos de algunos tejidos. Para ello, se utilizó un diseño factorial fraccionado para poder determinar cual variable tenía la mayor importancia en el proceso de impresión en 3D para mejorar la resolución. En la siguiente figura se observa la primer propuesta de diseño con la cual se imprimieron los primeros materiales de PLA[14].

## PROPUESTA INICIAL DEL DISEÑO DE EXPERIMENTOS

La siguiente propuesta es extraída del diseño de experimentos para fenomenos cuyos niveles y factores a estudiar se encuentran por encima de un valor numérico de 5. Por eso en la tabla 1 se pretende ejemplificar y mostrar como comienza el proceso del diseño de experimentos considerando variables de respuesta definidas y controlando variables de proceso propuestas.

Tabla 1. Propuesta de diseño para la impresión de materiales de PLA en tamaños micrométricos.

NIVELES	FACTORES				
	A	B	C	D	E
PLA 1.75 2.85	ANCHO DE LÍNEA (RESOLUCIÓN) menor al diámetro de boquilla	ALTURA DE CAPA Valor mínimo	RECUENTO DE LINEAS DE PARED Calcular valores mínimos en función del grosor	VELOCIDAD DE IMPRESIÓN máxima	TIEMPO MÍNIMO DE CAPA mínimo
BV 80% 20%	ANCHO DE LÍNEA (RESOLUCIÓN) mayor al diámetro de boquilla	ALTURA DE CAPA Valor máximo	RECUENTO DE LINEAS DE PARED Calcular valores máximos en función del grosor	VELOCIDAD DE IMPRESIÓN mínima	TIEMPO MÍNIMO DE CAPA máximo

En la tabla 1 se observa los niveles a los cuales se comenzó a imprimir los materiales de PLA con la finalidad de determinar la variable de proceso de mayor influencia en la obtención de materiales con resolución micrométrica. Los factores se determinaron de acuerdo a las variables que intervienen en el proceso de impresión 3D y se definen de la siguiente manera:

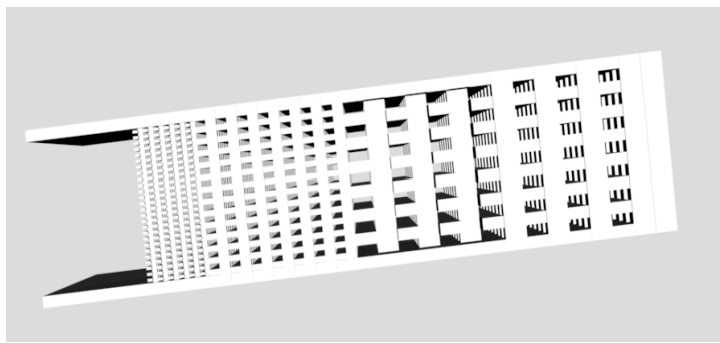
- A= ANCHO DE LÍNEA
- B= ALTURA DE CAPA
- C= RECUENTO DE LÍNEAS DE PARED
- D= VELOCIDAD DE IMPRESIÓN
- E= TIEMPO MÍNIMO DE CAPA

También se proponen dos niveles, uno relacionado con los diámetros del filamento de PLA y otro con un tipo de biocerámico sintetizado para poder incluirlo en el proceso de impresión en 3D mediante un equipo de impresión de materiales con alta viscosidad. Lo anterior se debe a la previa

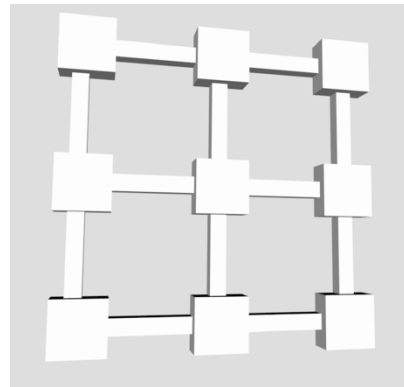
consulta del trabajo de tesis de Licenciatura, donde se demostró que la incorporación de materiales cerámicos en tamaños nanométricos a los materiales biocompatibles como el PLA, aumentan la biocompatibilidad, así como la superficie de contacto con células del sistema inmune[9]. Por ello, una de los objetivos a demostrar es que mediante la impresión en 3D de materiales sólidos como el PLA y materiales con alta viscosidad como son ciertos tipos de biocerámicos, se podrá encontrar un material que puede ser repetible y reproducible para proporcionar materiales que apoyen al estudio de las enfermedades inmunes como la Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA).

## RESULTADOS

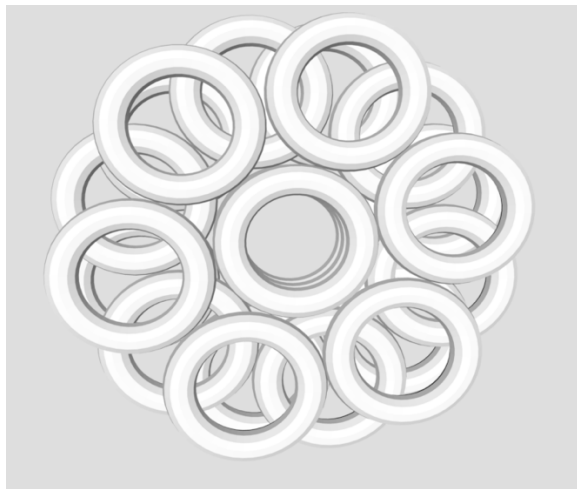
**Materiales impresos mediante la primero propuesta de diseño de experimentos.**



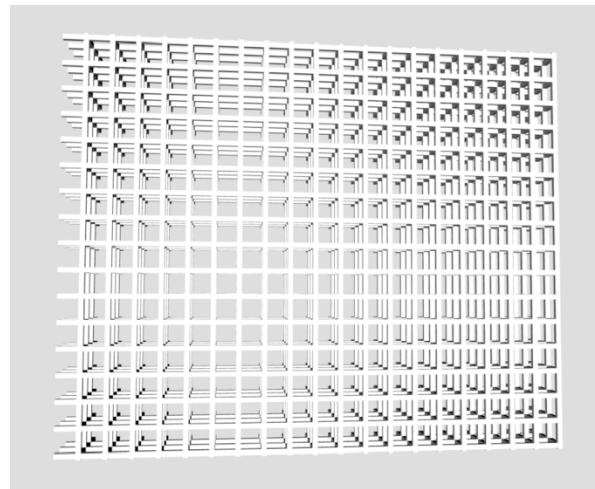
**a) Escala de 4 cm de base a punto alto**



**b) Diseño de 2.5 cm por lado**



**c) Diseño con altura de 1.5 cm y diámetro total de 3cm**



**d) Diseño de 5cm por lado**

Imagen 2. Diseños realizados en el software Blender® con la finalidad de probar la primer propuesta a considerar para obtener las variables de proceso incidentes para la obtención de una resolución por capa mínima de 0.04 mm. La imagen a) es un diseño con porosidades diferentes que van desde 15 milímetros hasta las últimas capas que tiene un espesor en diseño de 0.4 milímetros. Imagen b) Es una red interconectada de 5 milímetros de arista de cada cubo. Imagen c) Diseño de un tubo compuesto por varios círculos cuyas



capas reducen entre espacios el diámetro de poro generado por la superposición de cada uno. Imagen d) Es una red de 5 capas con cuadros interconectado mediante sus aristas de 0.4 mm.

## PROPUESTA MEJORADA DEL DISEÑO DE EXPERIMENTOS

De acuerdo con los resultados de los materiales impresos, se determinaron los siguientes cambios en la propuesta de diseño.

Tabla 2. Propuesta de diseño mejorada, con base en las impresiones de los materiales de acuerdo con la propuesta anterior.

NIVELES	FACTORES						
	A	B	C	D	E	F	G
BAJO	PLA 1.75	ANCHO DE LÍNEA (RESOLUCIÓN) RELLENO	RECUENTO DE LINEAS DE PARED	VELOCIDAD DE IMPRESIÓN	TIEMPO MÍNIMO DE CAPA	CONTENIDO DE BIOVIDRIO	ALTURA DE CAPA
ALTO	PLA 2.85	ANCHO DE LÍNEA (RESOLUCIÓN) RELLENO	RECUENTO DE LINEAS DE PARED	VELOCIDAD DE IMPRESIÓN	TIEMPO MÍNIMO DE CAPA	CONTENIDO DE BIOVIDRIO	ALTURA DE CAPA

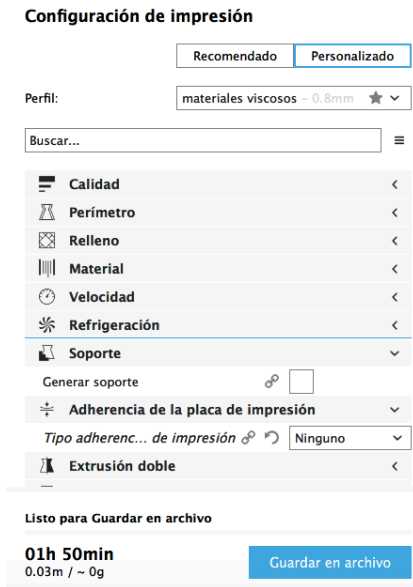
En la tabla 2 se observan cambios en los niveles y factores del diseño, debido a que en las impresiones de los materiales con base en la primer propuesta, no se pudieron observar cambios concretos ni obtener la o las variables de respuesta más importantes para mejorar la resolución de impresión del equipo.

Con la experiencia de los materiales impresos, se dedujeron los siguientes factores del diseño:

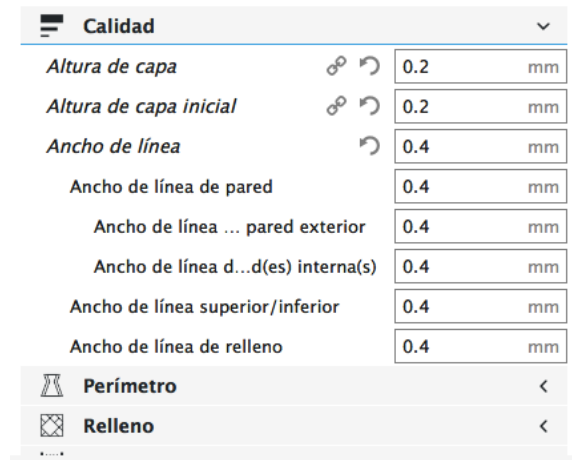
- **A = ANCHO DE FILAMENTO**
- **B = ANCHO DE LINEA**
- **C = RECUENTO DE LINEAS DE PARED**
- **D = VELOCIDAD DE IMPRESIÓN**
- **E = TIEMPO MÍNIMO DE CAPA**
- **F = CONTENIDO DE BIOVIDRIO**
- **G = ALTURA DE CAPA**

Además de definirse los niveles del diseño, debido a que para este tipo de desarrollo en el diseño de experimentos, la naturaleza de cada nivel va de acuerdo con la presencia en mayor o menor cantidad de los factores propuestos.

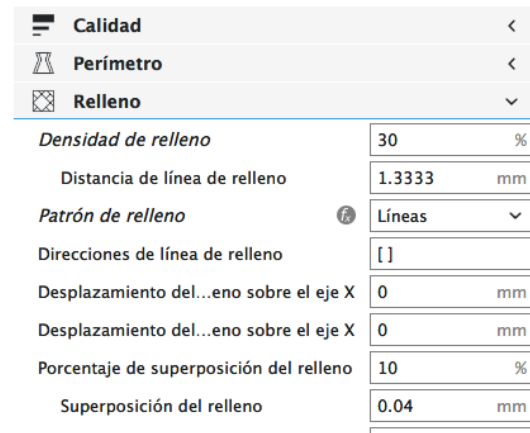
## Condiciones de impresión en el software Cura®



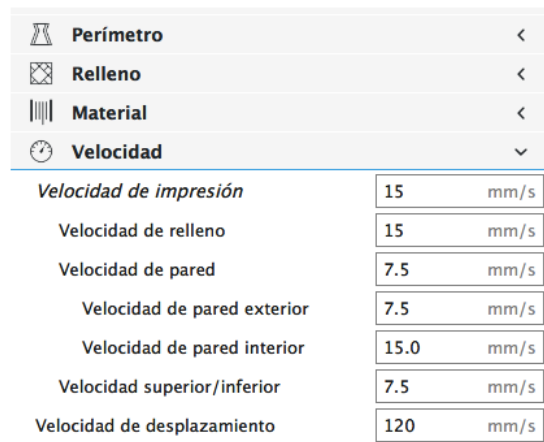
a)



b)



c)



d)

Figura 5. Ejemplos de condiciones de impresión que se pueden utilizar en el “software” CURA®. En el inciso a), Se observan las condiciones generales. En el inciso b), Se observan las condiciones particulares para la variable de calidad. En el inciso c) se observan las condiciones para la variable de relleno y; en el inciso d) Se observan las condiciones para la variable de velocidad.

Cabe destacar que estas condiciones fueron variando conforme se realizaron las pruebas en cada impresión realizada. Sin embargo se evidencia la interfaz que presenta el software para definir los valores de cada parámetro. Es importante mencionar que estos ejemplos de condiciones, también se probaron para imprimir refacciones del mismo equipo de impresión 3D.

## MATERIALES OBTENIDOS DE ACUERDO A LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN

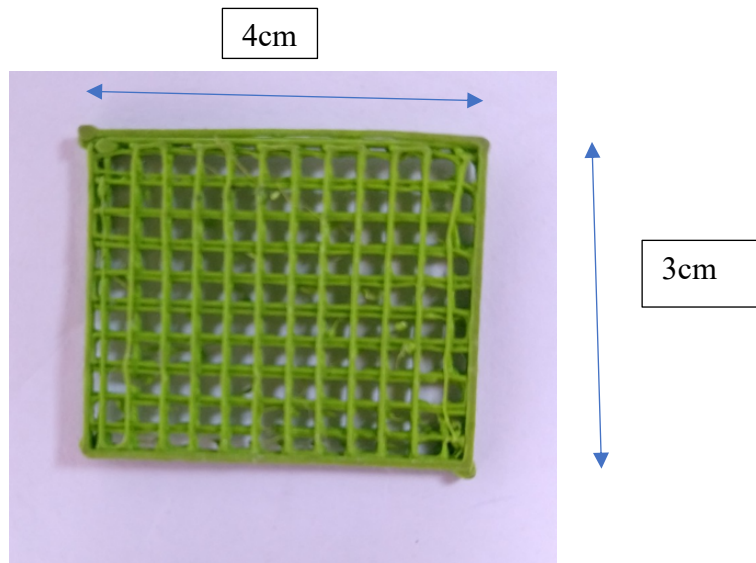


Imagen 3. Impresión de la red de 5 capas de espesor.

En la imagen 3 cuyo diámetro de filamento de impresión fue de 3 cm, se observa que la estructura no tiene buena homogeneidad en los vértices y en los intersticios de cada arista de los cuadros presentes. Esto puede deberse a los parámetros de impresión de velocidad cuyo papel radica en brindar a la impresión las propiedades de dureza y estabilidad en la estructura, mediante un equilibrio entre velocidad de impresión con respecto a la velocidad de enfriamiento del material inyectado. Es decir, que el parámetro se relaciona con la cinética de enfriamiento/aumento de dureza y resolución del material ya que a mayor velocidad de impresión esta relación se ve disminuida y por consecuencia sus propiedades mecánicas también serán menores.

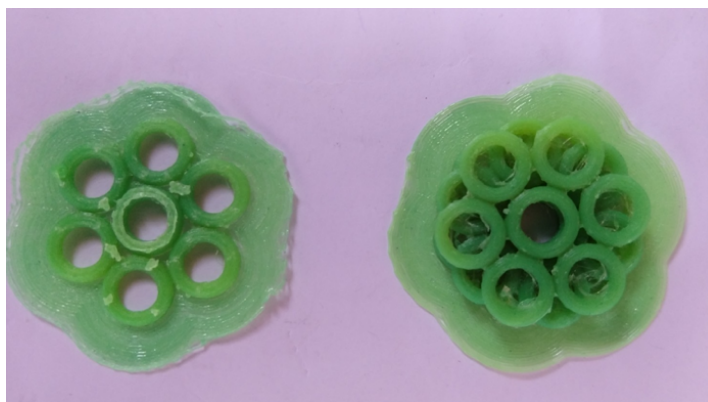


Imagen 4. Impresión del tubo compuesto por varios círculos superpuestos.

En la imagen 4 cuyo diámetro de filamento de impresión fue de 1.75 cm, se observa que la impresión tiene forma definida, sin embargo dentro de los círculos fueron quedando pequeños residuos de filamento que se iba impregnando en la estructura y que provenía del cabezal de inyección. Esto

quizá surgió porque no estaba en equilibrio la velocidad de inyección con la del movimiento del cabezal de inyección.

Debido a los resultados anteriores y en cuanto a los niveles del diseño, en los materiales impresos se observó que con el diámetro de filamento menor se obtenían materiales con mejores resoluciones a nivel de capa como se observa en las imágenes anteriores.

## **CONCLUSIONES PRELIMINARES**

Con base a las variables propuestas se desarrollaron dos diseños de experimentos que consideran los parámetros más importantes de impresión 3D con base en dos “softwares”, estos se observan en las tablas 1 y 2.

Con la primera propuesta de diseño identificada e la tabla 1, se manufacturaron la primer corrida de materiales propuestos. Debido a algunos fallas con el equipo de impresión, así como con los tiempos de entrega de las refacciones necesarias para llevar a cabo la corrida de impresión de la segunda propuesta de diseño, sólo se lograron imprimir algunos materiales propuestos. Con esta situación y considerando los resultados de la primer corrida y los pocos obtenidos de la segunda, se identificaron dos variables de proceso importantes que influyen en la manufactura aditiva. Las variables de proceso más importantes identificadas son:

- **A = ANCHO DE FILAMENTO**
- **D = VELOCIDAD DE IMPRESIÓN**

Mediante la observación de los resultados obtenidos se logró una aproximación de las variables de proceso más importantes en la manufactura aditiva de materiales en 3D con resoluciones que puedan encontrarse en la escala de los milímetros y micrometros. Para la ingeniería de tejidos es indispensable poder controlar los materiales a las escalas micro y nanométricas por lo que es importante contar con las variables que puedan hacer llegar a esos puntos en técnicas como la manufactura aditiva.

Se lograron obtener algunos biomateriales con geometrías diferentes mediante el diseño de los mismos en programas gratuitos, y su correspondiente obtención mediante la manufactura aditiva.

Cabe destacar que aunque no se logró concluir la investigación propuesta inicialmente en el registro de tesis, se lograron obtener bastantes conocimientos sobre la técnica de impresión 3D, así como sus respectivos materiales y softwares necesarios para el desarrollo de los mismos. Es indispensable recalcar la necesidad de proponer y diseñar experimentos con base en los modelos establecidos para optimizar la obtención de materiales con mejores propiedades y sin tantas experimentos.

Debido a que no se pudieron manufacturar los biomateriales híbridos propuestos, no se compararon los resultados de biocompatibilidad obtenidos con los andamios sintetizados por las técnicas de electrohilado y sol-gel. Sin embargo, debido a que contienen el mismo polímero y la misma composición del biovidrio, se espera que presenten al menos la misma efectividad encontrada en los andamios electrohilados.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] M. E. Furth and A. Atala, *Principles of Tissue Engineering*. 2014.
- [2] T. Hoffman, A. Khademhosseini, and R. S. Langer, “Chasing the Paradigm: Clinical Translation of 25 Years of Tissue Engineering,” *Tissue Eng. Part A*, pp. 1–24, 2019.
- [3] S. W. Barr, M. J. Rodger, and S. Kelly, “Developmental Perspective on Regenerative Medicine: An Update,” *Sci. Insights*, vol. 2019, no. 2019, pp. 1–7, 2019.
- [4] J. R. Jones, “Review of bioactive glass: from Hench to hybrids.,” *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 1, pp. 4457–86, 2013.
- [5] J.-Y. Lee, J. An, and C. K. Chua, “Fundamentals and applications of 3D printing for novel materials,” *Appl. Mater. Today*, vol. 7, pp. 120–133, 2017.
- [6] H. Gutierrez Pulido and R. De la Vara Salazar, *Análisis y diseño de experimentos*. 2008.
- [7] C. Mandrycky, Z. Wang, K. Kim, and D. H. Kim, “3D bioprinting for engineering complex tissues,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 34, no. 4, pp. 422–434, 2016.
- [8] C. Balletti, M. Ballarin, and F. Guerra, “3D printing: State of the art and future perspectives,” *J. Cult. Herit.*, vol. 26, pp. 172–182, 2017.
- [9] D. Barrón, “Síntesis y caracterización de materiales híbridos (O/I), obtenidos por las técnicas sol-gel y electrohilado para su aplicación en la ingeniería de tejidos.,” 2016.
- [10] J. M. Mejía-Aranguré and R. J. Q. McNally, “Acute Leukemia in Children,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2015, no. JUNE 2015, pp. 1–2, 2015.
- [11] K. Hamad, M. Kaseem, H. W. Yang, F. Deri, and Y. G. Ko, “Properties and medical applications of polylactic acid: A review,” *Express Polym. Lett.*, vol. 9, no. 5, pp. 435–455, 2015.
- [12] W. Shang *et al.*, “Hybrid 3D printing and electrodeposition approach for controllable 3D alginate hydrogel formation,” *Biofabrication*, vol. 9, no. 2, 2017.
- [13] S. Omar *et al.*, “SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (58S) sol gel glass applied onto surgical grade stainless steel by spray technique: morphological characterization by digital image processing,” *Biomed. Glas.*, vol. 2, no. 1, pp. 10–18, 2016.
- [14] S. Bersini *et al.*, “Human in vitro 3D co-culture model to engineer vascularized bone-mimicking tissues combining computational tools and statistical experimental approach,” *Biomaterials*, vol. 76, pp. 157–172, 2016.