

Tabla de contenido

1.	Introducción	1
1.1.	Antecedentes generales.....	1
1.1.1.	Impresión 3D	1
1.1.2.	Scaffolds	4
1.1.3.	Materiales Auxéticos	6
1.2.	Motivación	7
2.	Objetivos	8
2.1.	Objetivo general:.....	8
2.2.	Objetivos específicos:.....	8
3.	Alcances.....	8
4.	Antecedentes específicos.....	8
4.1.	Estereolitografía.....	8
4.2.	Metamateriales auxéticos	9
4.2.1.	Estructuras reentrantes:	10
4.2.2.	Estructuras Quirales:	12
4.2.3.	Estructuras semi-rígidas rotatorias:	12
4.3.	Estimulación mecánica de células.....	13
4.4.	Aplicaciones en medicina de los materiales auxéticos	16
4.4.1.	Biomateriales auxéticos	16
4.4.2.	Parque cardíaco:	17
4.4.3.	Stent arterial o para vasos sanguíneos:	19
4.4.4.	Vendaje inteligente	20
4.4.5.	Scaffolds auxéticos y estudios de proliferación y diferenciación celular	21
5.	Metodología	30
5.1.	Diseño e impresión de scaffolds	30
5.1.1.	Fusion 360	30
5.1.2.	Software PreForm	32
5.1.3.	FormLab Form 2 y Resinas	34
5.2.	Coeficiente de Poisson de las estructuras.....	37
5.3.	Proliferación celular	38
5.3.1.	Esterilización:	38
5.3.2.	Adhesión:.....	38

5.3.3. Cultivo:	40
6. Resultados y discusiones	40
6.1. Elección de las estructuras e impresión	40
6.1.1 Impresiones preliminares a escala de centímetros.....	46
6.1.2 Impresiones a escala de milímetros.....	49
6.2. Medición del Coeficiente de Poisson	51
6.3. Proliferación Celular	58
6.3.1. Esterilización:	58
6.3.2. Adhesión:.....	59
7. Conclusiones.....	61
Bibliografía	62
Anexos.....	65
Anexo A	65
Anexo B	65

Índice de Figuras

Figura 1.1: Representación esquemática de una configuración FDM típica ^[1]	1
Figura 1.2: Representación esquemática de una configuración 3DP típica ^[1]	2
Figura 1.3: Representación esquemática de una configuración SLA típica ^[1]	2
Figura 1.4: Representación esquemática de una configuración SLS típica ^[1]	3
Figura 1.5: Representación esquemática de una configuración de trazado 3D típica ^[1]	3
Figura 1.6: Comportamiento al aplicar una carga de tensión y compresión en: (a) material no auxético (b) material auxético ^[5]	6
Figura 4.1: Esquema impresora SLA ^[10]	9
Figura 4.2: Ilustración del comportamiento auxético en una estructura de panal reentrante. Donde θ es el ángulo reentrante, h/l es el coeficiente de largo de la costilla y w es el espesor de las costillas ^[5]	10
Figura 4.3: (a) Celda unitaria de RH donde, h y l son los largos de las paredes horizontales e inclinadas, θ es el ángulo entre la pared horizontal y la inclinada, y t es el grosor de la pared de la celda; (b) Celda unitaria de ARH donde t^* es el grosor de la pared de la celda aumentada; (c) Celda unitaria de DAH donde l_1 y l_2 son los largos de las dos paredes inclinadas, ϕ_1 y ϕ_2 son los ángulos entre las dos paredes inclinadas y t es el grosor de las paredes inclinadas; (f) Celda unitaria de ADAH donde t^* es el grosor de la pared de la celda aumentada ^[13]	11
Figura 4.4: Ilustración del comportamiento auxético en una unidad hexaquiral ^[5]	12
Figura 4.5: Celda unitaria del modelo de cuadrados rotatorios ^[5]	12

Figura 4.6: Ilustración esquemática de la "naturaleza mecánica" de los mecanismos de mecanotransducción celular. Notar que las flechas dobles indican tensiones intracelulares sobre el citoesqueleto. En la imagen MF: Fuerzas mecánicas; FR: Receptores de fuerza como integrinas y proteínas G; M: Proteína extracelular; R: Receptor de factores solubles ^[12]	14
Figura 4.7: Representación esquemática de los actores clave de la mecanosensibilidad que participan en la interacción célula-MEC en el sitio de adhesión focal (FA), donde ACTN: actinina; FAK: quinasa de adhesión focal; IT: integrinas; PAX: paxilina; TLN: talina; VASP: fosfoproteína estimulada por vasodilatadores; VCL: vinculina; ZYX: zyxina. Los cambios extracelulares en rigidez, tensión u otros estímulos mecánicos son percibidos por grupos de integrinas cuyos cambios morfológicos o de distribución reclutan FAK. La barra de talina, la vinculina, la paxilina y la proteína adaptadora p130 ^{Cas} se acoplan entre sí y transfieren las señales mecánicas de las integrinas al componente actina del citoesqueleto. Cerca del centro de la adhesión focal, el complejo VASP, la zyxina y actininas regulan directamente el ensamblaje y la dinámica de la actina ^[11]	15
Figura 4.8: El núcleo de una célula madre embrionaria en el estado de transición (T-ESC) se expande cuando se tracciona ^[19]	17
Figura 4.9: A)Esquema de las dimensiones de un corbatín; B) Ilustración esquemática del alineamiento de un parche cardíaco auxético (Auxetic Cardiac Patch: AuxCP) en el corazón ^[21]	18
Figura 4.10: Dilatador que emplea una vaina terminal auxética ^[22]	19
Figura 4.11: Izquierda: Fotografía que muestra una muestra completa del Stent coronario auxético; Derecha: vista en primer plano de una celda unitaria del Stent ^[23]	20
Figura 4.12: Principio de funcionamiento de un vendaje inteligente ^[24]	21
Figura 4.13: Fabricación y caracterización de andamios de poliuretano auxético. Arriba: esquemas del proceso de conversión auxética por pandeo parcial de las costillas de la celda usando compresión isotrópica (triaxial); Abajo: Micrografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) del andamio regular (izquierda) y el andamio auxético (derecha). Barra de escala:500[μm] ^[14]	21
Figura 4.14: Imágenes fotográficas de las muestras auxéticas y sus controles, donde PCL: Muestra de nanofibra fina electrohilada de Policaprolactona con espesor 40 μm ; PCLA: Muestra auxética de nanofibra fina electrohilada de Policaprolactona con espesor 40 μm ; PCLT: Muestra de nanofibra gruesa electrohilada de Policaprolactona con espesor 180 μm y PCLTA: Muestra auxética de nanofibra gruesa electrohilada de Policaprolactona con espesor 180 μm ^[15]	22
Figura 4.15: Esquema del andamio 3D ^[4]	23
Figura 4.16: Imagen SEM de andamios híbridos de una sola capa. En el lado izquierdo zona NPR y en el lado derecho zona PPR ^[16]	23
Figura 4.17: Gráfico del coeficiente de Poisson de las regiones PPR y NPR en un scaffold de una sola capa en función del desplazamiento ^[16]	24
Figura 4.18: Imágenes de microscopía de fluorescencia de células madre mesenquimales humanas en la región (A, D) de proporción de Poisson positiva (PPR) y en la región de proporción de Poisson negativa (NPR) (B, C, E). (C) Células que crecen en huecos de	

andamios y a lo largo de puntales de andamios en la región NPR. (D) Células que crecen a lo largo de los puntales del andamio (recuadro: SEM de los puntales del andamio) en la región de PPR. (E) Células sembradas en la región NPR (recuadro: SEM de puntales de andamio). Las barras de escala representan (A, B) 250 μm y (C, D, E) 125 μm . Verde: filamentos de actina; azul: núcleos; rosa: puntales de andamio ^[16]	25
Figura 4.19: Imágenes de microscopía electrónica de barrido de scaffolds bruto (a la izquierda) y scaffolds auxéticos (a la derecha) ^[26]	25
Figura 4.20: Diseño geométrico de las celdas unitarias. A la derecha la estructura de costilla intacta, con comportamiento PPR, y a la derecha la estructura de costilla cortada con comportamiento NPR. Las paredes de las celdas unitarias (denominadas nervaduras) tienen aproximadamente 40 micrómetros de ancho y 100 micrómetros de profundidad ^[29]	27
Figura 4.21: Imágenes ópticas ensayo de tracción de parches tubulares PPR izquierda y NPR derecha ^[29]	27
Figura 4.22: Imágenes microscópicas de filamentos de actina teñidos más núcleos en las construcciones al día siete. A la izquierda la estructura NPR y a la derecha PPR ^[29]	28
Figura 4.23: Cultivo en andamios auxéticos de tamaño de poro pequeño. Vista general de los tres andamios donde se pueden observar grandes deformidades debido a las fuerzas mecánicas aplicadas por los fibroblastos ^[30]	29
Figura 4.24: Cultivo en scaffold auxético de poro 40 [μm]. A la izquierda vistas generales inclinadas del andamio. Las células pudieron penetrar dentro de los poros de la estructura, que constaba de dos capas y fue capaz de resistir las fuerzas. A la derecha imagen ampliada de varias celdas unitarias en la superficie del scaffold. La geometría hexagonal reentrante puede doblarse hacia adentro debido a las fuerzas mecánicas aplicadas por las células (en amarillo) ^[30]	30
Figura 5.1: Dibujo realizado en Fusion 360.	31
Figura 5.2: Extrusión de una figura.	32
Figura 5.3: Guardar diseño en STL.	32
Figura 5.4: Configuración inicial del software PreForm.	33
Figura 5.5: Selección de una base en PreForm.	33
Figura 5.6: Estructura con soportes generados automáticamente por el software.	34
Figura 5.7: Imagen de una impresión en Form 2 ^[10]	35
Figura 5.8: Escala de grises de la resina estándar ^[10]	35
Figura 5.9: Objeto fabricado con resina flexible ^[10]	35
Figura 5.10: Impresión realizada en resina dental ^[10]	36
Figura 5.11: Objeto fabricado con resina elástica ^[10]	36
Figura 5.12: Puños de tracción estáticos de uso general con acción lateral del tornillo ^[9] . ..	37
Figura 5.13: Estructura triangular. Izquierda: En reposo; Medio: Deformación de 12%; Derecha: Deformación de 24%.....	38
Figura 5.14: Izquierda: Ejemplo del llenado de una placa Neubauer; Derecha: Conteo en un cuadrante de la placa Neubauer63 ^[17]	39
Figura 5.15: Placa 24 well ^[18]	40
Figura 5.16: Placa p100 ^[18]	40
Figura 6.1: Estructura de panal reentrante.....	41

Figura 6.2: Detalles de la geometría de la estructura con $h \approx 0,9$ [mm]; $l \approx 1,2$ [mm]; $\theta = 28,1^\circ$; $w = 0,08$ [mm]. Donde h/l es el coeficiente de largo de la costilla, θ es el ángulo reentrante y w es el espesor de las costillas.....	41
Figura 6.3: Estructura semi-rígida cuadrada.....	42
Figura 6.4: Detalles de la geometría de la estructura con cuadrados de lado $0,8$ [mm] y ángulo de 30°	42
Figura 6.5: Estructura Kagome triangular.....	42
Figura 6.6: Detalles de la geometría de la estructura con triángulos de lado $1,6$ [mm], ondas de radio $0,36$ [mm] y espesor de las costillas de $0,08$ [mm].	43
Figura 6.7: Estructura no auxética hexagonal	43
Figura 6.8: Diseño de la estructura celda por celda.....	44
Figura 6.9: Extrusión de la estructura.....	44
Figura 6.10: Diseño de estructura mediante patrón rectangular. En azul se destaca la estructura inicial de dos celdas utilizadas para generar las demás.	45
Figura 6.11: Estructura con soportes en PreForm. En azul la estructura del scaffold y en amarillo los soportes necesarios para imprimirla.	46
Figura 6.12: Impresiones con resina estándar (a) estructura impresa directamente en la base de impresión (b) prueba de impresión con bordes de la menor resolución posible.....	47
Figura 6.13: Estructuras impresas con orientación (a) horizontal apoyando sólo las esquinas en la plataforma y con un soporte interno en el medio (b) vertical apoyada directamente en la plataforma y sin soportes.	47
Figura 6.14: Estructura impresa en resina flexible.....	47
Figura 6.15: Estructuras impresas en resina elástica (a) Kagome triangular (b) Semi-rígida cuadrada (c) Panal reentrante.	48
Figura 6.16: Estructuras impresas en resina dental sin curar (a) Semi-rígida cuadrada (b) Kagome triangular.....	48
Figura 6.17: Estructuras impresas en resina dental curada (a) Semi-rígida cuadrada (b) Kagome triangular.....	48
Figura 6.18: Impresiones a escala milimétrica en resina elástica.....	49
Figura 6.19: Impresiones a escala milimétrica en resina dental.....	49
Figura 6.20: Pruebas de cantidad de soportes.(a) mínima cantidad de soportes que la impresora admite (b) colocando soportes en cada una de las uniones (c) cantidad intermedia de soportes.	50
Figura 6.21: Impresión en resina dental en la que se observa separación de capas.	50
Figura 6.22: Estructura con soportes para ensayo de tracción.	51
Figura 6.23: Estructura panal reentrante. Izquierda: En reposo; Medio: Deformación de 16% ; Derecha: Deformación de 30%	52
Figura 6.24: Gráfico de deformación v/s coeficiente de Poisson para la estructura panal reentrante.	52
Figura 6.25: Estructura panal reentrante. Izquierda: En reposo; Medio: Deformación de 18% ; Derecha: Deformación de 36%	53
Figura 6.26: Gráfico de deformación v/s coeficiente de Poisson para la estructura panal reentrante.	53

Figura 6.27: Estado inicial de la primera y segunda estructura ensayada.	54
Figura 6.28: Estructura Kagome triangular. Izquierda: En reposo; Medio: Deformación de 16%; Derecha: Deformación de 32%.	54
Figura 6.29: Gráfico de deformación v/s coeficiente de Poisson para la primera estructura Kagome triangular.	55
Figura 6.30: Estructura Kagome triangular. Izquierda: En reposo; Medio: Deformación de 15%; Derecha: Deformación de 31%.	55
Figura 6.31: Gráfico de deformación v/s coeficiente de Poisson para la segunda estructura Kagome triangular.	56
Figura 6.32: Estructura Kagome triangular. Izquierda: En reposo; Medio: Deformación de 12%; Derecha: Deformación de 24%.	56
Figura 6.33: Gráfico de deformación v/s coeficiente de Poisson para la segunda estructura Kagome triangular.	56
Figura 6.34: Gráfico resumen de deformación v/s coeficiente de Poisson para las estructuras estudiadas.	57
Figura 6.35: Estado inicial de las estructuras ensayadas.	58
Figura 6.36: Estructura Kagome sumergida en etanol por 1 [min](a la izquierda) v/s [overnight] (a la derecha).	59
Figura 6.37: Diseño de las piezas lisas utilizadas en estudio de adherencia celular. El cuadrado es de lados de 12 [mm] y el espesor es de 0,5 [mm].	59
Figura 6.38: Diseño de las estructuras Kagome triangular utilizadas en estudio de adherencia celular. Su tamaño es de aproximadamente 14x16 [mm] y su espesor es de 0,5 [mm].	60
Figura 6.39: Células con tinción Hoechst en control sin estructura (a la izquierda) v/s pocillo con estructura (a la derecha).	60
Figura 6.40: A la izquierda células en pocillo de control (sin estructura) v/s a la derecha pocillo con estructura en el cual se observan células muertas a su alrededor.	61
Figura A.1: Diagrama de estructura de panal reentrante.	65

Índice de Tablas

Tabla 1.1: Resumen de las técnicas establecidas de prototipado rápido ^[1]	4
Tabla 5.1: Resumen de propiedades mecánicas de las resinas. Elaboración propia con información disponible en las guías técnicas ^[10]	36
Tabla 6.1: Resumen de resultados del Coeficiente de Poisson en los ensayos de tracción..	57
Tabla B.1: Funciones de la Matriz Extracelular en tejidos nativos y de scaffolds en tejidos de ingeniería ^[3]	65