

# **DESARROLLO DE ANDAMIOS BIODEGRADABLES MEDIANTE BIOIMPRESIÓN 3D**

**Rubio-Valle, José Fernando<sup>\*</sup>; Perez-Puyana, Víctor Manuel; Jiménez-Rosado, Mercedes; Romero, Alberto.**

*Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Sevilla, Sevilla.*

E-mail de correspondencia: [jrvalle@us.es](mailto:jrvalle@us.es)

## **Resumen**

A lo largo de la historia, se han desarrollado diferentes técnicas para la elaboración de andamios para Ingeniería Tisular. No obstante, en estudios recientes se ha realzado el uso de la bioimpresión 3D para esta aplicación debido a su facilidad para definir la estructura del material garantizando su reproducibilidad. Por tanto, en el presente trabajo se ha desarrollado un dispositivo, consistente en tres partes, para la inclusión de andamios de colágeno en biorreactores. Este dispositivo se compone de un soporte de policaprolactona (PCL) sobre la que se deposita una matriz de gelatina (GE) y finalmente, en la parte superior, un andamio de colágeno (C). De esta forma, se evaluaron las propiedades mecánicas y morfológicas de cada una de las partes. Los resultados obtenidos han demostrado el gran potencial de esta técnica para el desarrollo de andamios para Ingeniería Tisular, siendo un gran avance para su aplicación

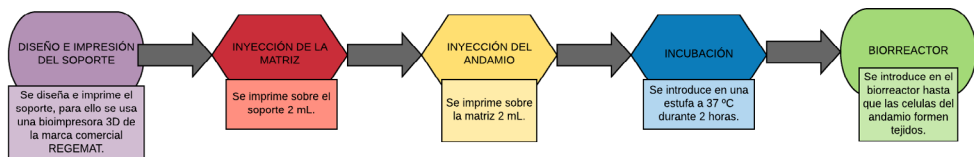
## **1. Introducción**

La Ingeniería Tisular o Ingeniería de Tejidos (IT) surgió a finales de los años 80 con los estudios pioneros de Yannas y Vacanti y, sobre todo Vacanti, quien concibió la idea de dotar a las células de un soporte para que pudieran crecer y, en último término, formar un tejido (Skalak y Fox, 1988). La Ingeniería Tisular se define como la ciencia del diseño y fabricación de nuevos tejidos para el restablecimiento funcional de órganos alterados y la sustitución de estructuras dañadas por traumatismo y enfermedades (Reddi, 2004). De forma general, la Ingeniería Tisular es un campo multidisciplinar que precisa fundamentalmente de tecnología de células cultivadas, ingeniería de materiales para el desarrollo de estructuras 3D (andamios) que pueden imitar la estructura de un órgano y factores de crecimiento, que permiten el control preciso y continuo de las condiciones de crecimiento celular.

En el presente trabajo se van a desarrollar de andamios basados en colágeno con adecuadas propiedades mecánicas y morfológicas utilizando la técnica de bioimpresión 3D (Collins y Birkinshaw, 2013). Para ello, se plantea un dispositivo formado por un soporte de policaprolactona (PCL) sobre la que se deposita una matriz de gelatina (GE) y finalmente, en la parte superior, un andamio de base colágeno (C). Se evaluarán la relación entre las composiciones y concentraciones de materia prima con las propiedades mecánicas, mediante barridos de deformación, de frecuencia a la temperatura de fabricación (22°C) y a la temperatura de aplicación (37°C), así como, las propiedades morfológicas o microestructurales mediante microscopía electrónica de barrido (Crio-SEM).

## 2. Materiales y métodos

La Figura 1 muestra el esquema de las etapas de fabricación del dispositivo el cual se realizó con una con una bioimpresora 3D (REGEMAT 3D S.L, España). En él se detallan las etapas de fabricación, de incubación la cual tiene la finalidad de eliminar la matriz mediante un tratamiento térmico y por último, la implantación en un biorreactor para favorecer el crecimiento celular mediante la aplicación de ciclos de tracción a una frecuencia de 4,7 Hz y a una temperatura de 37 °C. Cabe señalar que se opera en continuo, es decir que partimos del diseño del soporte preestablecido, de la matriz y del andamio previamente fabricados y colocados en sus respectivas jeringas, también hay que resaltar, que las condiciones de temperatura y humedad se controlan durante todo el proceso ya que este se realiza en un quirófano.



**Figura 1.** Esquema de las etapas de fabricación del dispositivo.

**Fuente:** elaboración propia.

Los andamios se realizaron de base colágeno (C) tipo I obtenido de la cola del fibroblasto L-929 (cola de ratón) y con un contenido de proteínas superior al 98%, suministrado por HENAN BOOM GELATIN CO. Se realizaron tres sistemas diferentes cada uno de ellos con distintas relaciones de colágeno y aditivos, tal y como se describe en la Tabla 1.

### Caracterización del andamio

En primer lugar, se realizó la caracterización mecánica de los andamios mediante un analizador dinámico-mecánico (DMA), modelo RSA3 (TA Instruments, USA) en modo de compresión, con un sensor de superficie circular (plato-plato) de 8 mm de diámetro. Se realizaron, en primer lugar, barridos de deformación entre 0,002 y 2% a una frecuencia constante de 1 Hz para determinar el intervalo viscoelástico lineal. A continuación, se llevaron a cabo barridos de frecuencia desde 0,02 a 2 Hz y a una deformación dentro del intervalo viscoelástico lineal antes estudiado. Ambos ensayos se realizaron a la temperatura de fabricación (22°C) y de aplicación (37°C).

Por ultimo, se observó las propiedades morfológicas (microestructura) mediante microscopía electrónica de barrido más concretamente Crio-SEM. Para este propósito, se utilizó el equipo Zeiss EVO (EE.UU.), con un detector de electrones secundario con un voltaje de aceleración de 10 kV.

### 3. Resultados y discusión

En la Tabla 1 tenemos los resultados que se obtuvieron al realizar los barridos de deformación y frecuencia. Primero nos centraremos en las propiedades obtenidas a la temperatura fabricación (22°C), se observa que el andamio que posee una mayor viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) es el C-a' (a mayor viscosidad compleja, mayor dificultad para ser inyectado por la bioimpresora 3D). Si nos centramos ahora en los módulos elásticos a 5 Hz ( $E'_5$ ) se observa que el sistema C-MG es el que presenta módulos mayores y además también es el que presenta mayores valores de deformación crítica ( $\gamma_c$ ).

**Tabla 1.** Propiedades mecánicas de los diferentes sistemas elaborados.

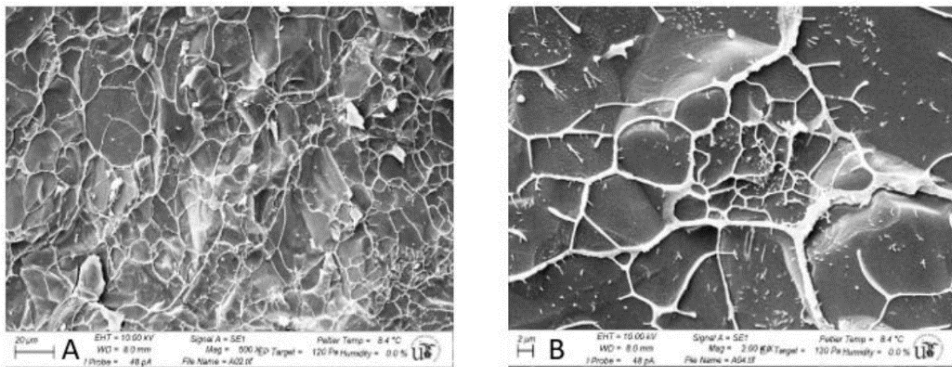
*Nota: Letras diferentes corresponden a valores significativamente diferentes.*

Tª (°C)	Composición	Sistemas	$\gamma_c$ (%)	$E'_5$ (MPa)	$\eta^*_5$ (Pa·s)
22°C	Colágeno	C	0,184 <sup>a</sup>	0,035 <sup>a</sup>	1103 <sup>aa</sup>
	Colágeno + Matrigel	C-MG	0,336 <sup>b</sup>	0,118 <sup>b</sup>	2428 <sup>bb</sup>
	Colágeno + Matrigel + Fibrina + Albumina de suero bovino	C-a'	0,243 <sup>c</sup>	0,091 <sup>c</sup>	3031 <sup>aa</sup>
37°C	Colágeno	C	0,201 <sup>d</sup>	0,027 <sup>a</sup>	-
	Colágeno + Matrigel	C-MG	0,351 <sup>e</sup>	0,085 <sup>c</sup>	-
	Colágeno + Matrigel + Fibrina + Albumina de suero bovino	C-a'	0,311 <sup>f</sup>	0,054 <sup>d</sup>	-

**Fuente:** elaboración propia.

A continuación, se aprecia que los sistemas medidos a la temperatura de aplicación (37°C), presentan un patrón similar en cuanto a las propiedades mecánicas de los sistemas medidos anteriormente, se produce un ligero descenso de los módulos elásticos pero un aumento de la deformación crítica. Todo esto conduce a pensar que la muestra C-MG será nuestro sistema de referencia debido a que es el que posee mayores módulos elásticos, mayores deformaciones críticas y aunque este no posea la menor viscosidad compleja esto no es un factor limitante, debido a la geometría y al caudal de la jeringa de la bioimpresora 3D.

En la Figura 2 se puede observar la microestructura que presenta el sistema de referencia (C-MG) que constituye macroscópicamente un hidrogel. Esta red tridimensional correspondiente a un hidrogel está formada por fibras de colágeno y matrigel constituyen una estructura organizada donde los poros en las dos imágenes están distribuidos heterogéneamente por todo el andamio; observándose una buena interconectividad entre dichos poros.



**Figura 2.** Imágenes de Crio-SEM para el andamio de referencia de gelatina (C-MG). La foto A hace referencia a una magnificación de 500x y la B a una magnificación de 2000x.

**Fuente:** Servicio de microscopía electrónica del CITIUS.

#### 4. Conclusiones

Se concluye que es posible desarrollar se han construido andamios basados en colágeno (hidrogeles) con diferentes aditivos, encontrando que los sistemas formados por colágeno y matrigel son los que presentan mejores propiedades mecánicas y microestructurales para permitir el alojamiento y crecimiento celular durante la incubación y posterior tratamiento en el biorreactor

## Agradecimientos

Este trabajo forma parte de un proyecto financiado por MICINN (RTI2018-097100-B-C21). Los autores también agradecen las becas predoctorales de Víctor M. Pérez Puyana (VPPI-US) y de Mercedes Jimenez-Rosado (FPU17/01718).

## Referencias bibliográficas

- Collins, M. N., y Birkinshaw, C.** (2013). Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering- A review. *Carbohydrate polymers*, 92(2), 1262-1279. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.028>
- Reddi, A. H.** (2004). Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: inductive signals, stem cells, and biomimetic biomaterials. *Tissue Engineering*, 6(4). <https://doi.org/10.1089/107632700418074>
- Skalak, R., y Fox, C. F. (eds.)**. (1988). *Tissue engineering: proceedings of a workshop held at Granlibakken, Lake Tahoe, California, February 26-29*. Liss. <https://trove.nla.gov.au/version/22276157>