



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA  
Doctorado en Ciencias de la Ingeniería

# **MUBIO I-E 3D: DESIGN AND MANUFACTURING OF A 3D INJECTION EXTRUSION BIOPRINTER**

TESIS

Que para obtener el grado de:  
Doctor en Ciencias de la Ingeniería

P R E S E N T A:

Mtro. Antonio Adolfo Juárez Hernández

Comité tutorial

Dr. Luis Adrián Zúñiga Avilés

Dra. Mónica de la Luz Corea Téllez

Dr. Rigoberto Martínez Méndez

Toluca, México, 2022

## Resumen

En este proyecto se realizó el diseño y fabricación de una bioimpresora 3D denominada MUBIO-IE 3D, que permite la bioimpresión mediante la combinación de técnicas de inyección y extrusión de biotintas, basada en una estrategia para generar nuevos productos y herramientas metodológicas (Commonality index y Design for Assembly) para aumentar el número de aplicaciones médicas en el área de ingeniería de tejidos.

La bioimpresora 3D ofrece un nuevo enfoque para la aplicación de técnicas de inyección y extrusión, de modo que se puede utilizar para la experimentación, como una herramienta para la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa, lo que permite un mayor espectro de uso de biotintas.

A diferencia de lo presentado en el estado del arte y de la técnica, el presente proyecto centra su contribución en el diseño, modelación y simulación de un módulo dispensador compuesto por un dispositivo de inyección de termoplástico y 2 de extrusión utilizando pensamiento de diseño, diseño colaborativo, diseño para fabricación, así como el estudio y análisis sistemático de artículos científicos, bases de datos especializadas de patentes existentes y diseño de experimentos en conjunto con la técnica de análisis de elementos comunes para la plataforma del producto, el cual permite controlar los rangos de los parámetros de presión, diámetro de la boquilla y altura de la base a la boquilla de acuerdo a las características particulares de un nuevo hidrogel incrementando la viabilidad celular de los andamios y para materiales experimentales de bioimpresión.

## Abstract

In this project, the design and manufacture of a 3D bioprinter called MUBIO-IE 3D was carried out, which allows bioprinting through the combination of bioink injection and extrusion techniques, based on a strategy to generate new products and methodological tools (Commonality index and Design for Assembly) to increase the number of medical applications in the area of tissue engineering.

The 3D bioprinter offers a new approach to the application of injection and extrusion techniques, so that it can be used for experimentation, as a tool for tissue engineering and regenerative medicine, allowing a broader spectrum of use of bioinks.

Unlike what is presented in the state of the art and the technique, this project focuses its contribution on the design, modeling and simulation of a dispensing module composed of a thermoplastic injection device and 2 extrusion devices using design thinking, design collaboration, design for manufacturing, as well as the systematic study and analysis of scientific articles, specialized databases of existing patents and design of experiments in conjunction with the technique of analysis of common elements for the product platform, which allows control of the ranges of the parameters of pressure, nozzle diameter and height from the base to the nozzle according to the particular characteristics of a new hydrogel increasing the cellular capacity of the scaffolds and for experimental bioprinting materials.

## Tabla de contenido

Agradecimientos.....	iii
Resumen.....	iv
Abstract.....	v
Tabla de contenido.....	vi
Lista de figuras.....	ix
Lista de tablas.....	xi
Capítulo 1.....	1
Introducción.....	1
1.1 Definición del Proyecto.....	2
1.2 Justificación.....	3
1.3 Objetivo.....	3
1.3.1 Objetivos Específicos.....	4
1.4 Hipótesis.....	5
1.5 Alcances.....	6
1.6 Estructura de la tesis.....	6
Capítulo 2.....	7
Marco teórico.....	7
2.1. Manufactura aditiva.....	7
2.1.1 Modelado por deposición fundida.....	7
2.1.2 Estereolitografía.....	8
2.1.3 Sinterizado láser selectivo (SLS).....	9
2.2 Ingeniería de tejidos.....	9
2.3 Bioimpresión.....	11
2.3.1 Bioimpresión por inyección.....	13
2.3.2 Bioimpresión por extrusión.....	14

2.3.3 Bioimpresión láser.....	15
2.4 Material de bioimpresión .....	16
2.4.1 Biomateriales considerados .....	18
2.5 Conclusiones del capítulo.....	19
Capítulo 3.....	20
3.1 Estado del Arte.....	20
3.2 Resultado de publicaciones científicas.....	23
3.3 Patentes de equipos de bioimpresión .....	33
Capítulo 4.....	46
4.1 Diseño de la MUBIO I-E 3D.....	46
4.2 Diseño para el ensamble.....	46
4.3 Voz del cliente .....	48
4.4 Quality Function Deployment (QFD) .....	49
4.5 Parámetros de funcionamiento.....	50
4.6 Identificación de subsistemas.....	51
4.7 Diseño CAD de la MUBIO I-E 3D.....	53
4.8 Proceso de selección de componentes.....	57
4.8.1 Tarjeta de control .....	58
4.8.2. Extrusor termoplástico.....	59
4.9 Programa de interfaz.....	60
4.10 Proceso de fabricación de la MUBIO I-E 3D .....	61
4.11 Experimentación.....	63
Capítulo 5.....	68
Resultados .....	68
5.1 Resultado de parámetros de funcionamiento.....	68
5.2. Resultado de especificaciones de diseño MUBIO.....	69

5.3 Resultado de especificaciones normativas.....	69
5.4 Resultado del diseño CAD .....	70
5.5 Resultados de fabricación y ensamble.....	71
5.6 Resultados de hidrogel.....	71
5.7 Resultados de Modos de funcionamiento.....	72
5.8 Resultados de competitividad.....	74
Capítulo 6 .....	77
6.1 Conclusiones.....	77
6.2 Trabajos Futuros .....	79
Referencias .....	80
Anexos .....	89
Anexo A. Plano explosionado de la base .....	90
Anexo B. Plano de ensamble de la base.....	130
Anexo C. Plano explosionado de la placa base .....	132
Anexo D. Plano de ensamble de la placa base .....	134
Anexo E. Plano explosionado del soporte principal.....	136
Anexo F. Plano de ensamble del soporte principal .....	138
Anexo G. Plano de explosionado del sistema de impresión.....	140
Anexo H. Plano de ensamble del sistema de impresión .....	142
Anexo I. Plano de explosionado de sistemas de la MUBIO .....	144
Anexo J. Plano de ensamble de sistemas.....	146

## Lista de figuras

Figura 1. Secuencia de pasos involucrados en un proceso de impresión 3D. (A) Modelo asistido por computadora (CAD); (B) Archivo de modelo de estereolitografía (STL); (C) Software de impresión o mallado 3D; (D) Objeto impreso 3D [4].	7
Figura 2. Proceso esquemático de deposición fundida [6].	8
Figura 3. Proceso esquemático de estereolitografía [8].	8
Figura 4. Proceso esquemático de SLS [10].	9
Figura 5. Factores involucrados en la ingeniería de tejidos [13].	10
Figura 6. Factores involucrados en la ingeniería de tejidos [15].	10
Figura 7. Proceso de bioimpresión [24].	12
Figura 8. Proceso de bioimpresión por inyección [32].	13
Figura 9. Esquema de bioimpresoras por extrusión [40].	15
Figura 10. Proceso de bioimpresión por láser [55].	16
Figura 11. Biotintas que se pueden aplicar en la MUBIO [61].	17
Figura 12. Propiedades deseables de la biotinta [63].	18
Figura 13. Palabras clave.	20
Figura 14. Producción científica anual.	21
Figura 15. Principales autores de Bioimpresión.	22
Figura 16. Países que realizan investigación.	22
Figura 17. Relación entre palabras clave, países y autores.	23
Figura 18. Instituciones principales.	23
Figura 19. Esquema representativo de la unidad de extrusión múltiple [65].	24
Figura 20. Esquema representativo del sistema de impresión híbrido [66].	25
Figura 21. Sistema de bioimpresión multicanal [68].	26
Figura 22. Sistema de bioimpresión MAPB [69].	28
Figura 23. Boquilla coaxial [69].	28
Figura 24. Bioimpresora ITOP [70].	29
Figura 25. Bioimpresora MtoBS [71].	30
Figura 26. Clasificación de patentes.	44
Figura 27. QFD MUBIO I-E 3D.	49
Figura 28. Parámetros del sistema.	50
Figura 29. Parámetro velocidad.	50

Figura 30. Diagrama de los sistemas de la MUBIO.....	51
Figura 31. Concepto de funcionalidad del módulo dispensador. ....	53
Figura 32. Primer concepto CAD módulo dispensador. ....	54
Figura 33. Modelado del acoplamiento del módulo dispensador.....	54
Figura 34. Segundo concepto del acoplamiento del módulo dispensador. ....	55
Figura 35. Tercer concepto del acoplamiento del módulo dispensador. ....	55
Figura 36. MUBIO con componentes. ....	56
Figura 37. Concepto final MUBIO.....	56
Figura 38. Tarjeta Rumba.....	58
Figura 39. Diagrama de conexión. ....	59
Figura 40. Cabezal de extrusión termoplástico. ....	60
Figura 41. Proceso de fabricación de la MUBIO. ....	61
Figura 42. MUBIO ensamble total. ....	62
Figura 43. Caja de control. ....	62
Figura 44. Carga de archivo. ....	64
Figura 45. Prueba de cabezales.....	64
Figura 46. Nariz obtenida. ....	65
Figura 47. Conformación de las capas de nariz. ....	65
Figura 48. Malla entrecruzada 3 capas.. ....	66
Figura 49. MUBIO ensamble total. ....	66
Figura 50. Impresión en 2 materiales. ....	67
Figura 51. Modelos conceptuales MUBIO. ....	71
Figura 52. Funcionamiento de 1 cabezal (Hidrogel).....	72
Figura 53. Funcionamiento de 1 cabezal (Extrusor de Termoplástico). ....	72
Figura 54. Funcionamiento de 2 cabezales (Hidrogel-células).....	73
Figura 55. Funcionamiento de 2 cabezales (Termoplástico-Hidrogel). ....	73
Figura 56. Funcionamiento de 3 cabezal (Termoplástico-Hidrogel-Células) .....	74



## Lista de tablas

Tabla 1. Consideraciones en bioimpresión. ....	12
Tabla 2. Parámetros de operación de bioimpresión [56]. ....	16
Tabla 3. Artículos considerados para el diseño de la MUBIO I-E 3D. ....	31
Tabla 4. Base de datos y palabras clave.....	33
Tabla 5. Ventajas y desventajas patentes seleccionadas. ....	35
Tabla 6. Patentes seleccionadas.....	44
Tabla 7. Voz del cliente para el diseño de la MUBIO I-E 3D. ....	48
Tabla 8. Elementos de bioimpresora.....	51
Tabla 9. Listado de componentes MUBIO I-E 3D.....	57
Tabla 10. Especificaciones tarjeta Rumba. ....	58
Tabla 12. Especificaciones técnicas silicón.....	63
Tabla 13. Identificación del valor objetivo de la MUBIO I-E 3D. ....	68
Tabla 14. Especificaciones técnicas de MUBIO I-E 3D.....	69
Tabla 15. Especificaciones normativas para del sistema MUBIO I-E 3D. ....	70
Tabla 16. Comparativa de equipos comerciales vs MUBIO I-E 3D. ....	75
Tabla 17. Requerimientos de diseño vs características de la MUBIO I-E 3D.....	76

## Capítulo 1

### Introducción

La epidemiología de las quemaduras en el país los señala como siniestros con índice del 90%, que se producen como resultado de una acción desempeñando tareas de riesgo originadas por la ausencia de difusión de información preventiva hacia la población [1].

Se considera que este tipo de accidentes y lesiones en base a datos estadísticos recopilados de la Secretaría de Salud del país, se pueden atender desde la información y acciones preventivas y de esta manera reducir principalmente los decesos y consecuentemente los gastos que estos implican en la atención médica.

Las estadísticas en el país indican que las quemaduras tienen la decimotercera posición de fallecimientos con 2 mil 775 decesos al año.

El instituto para la medicina regenerativa de Wake Forest ha realizado estudios que muestran que empleando la tecnología de la bioimpresión permite la recapitulación de la epidermis, la dermis y la hipodermis de una manera anatómicamente relevante. Reciente se mostró que la piel bioimpresa proporciona un cierre permanente de heridas, con restauración de la barrera cutánea y resultados funcionales y cosméticos.<sup>2</sup> En esta tecnología, la piel se bioimprime in vitro y madura antes de la implantación. La piel bioimpresa aceleró el cierre de heridas de espesor completo al promover la formación de una barrera epidérmica sin aumentar la contracción. El próximo paso con esta tecnología es escalar a tamaños clínicamente relevantes en un modelo preclínico de cicatrización de heridas.

De acuerdo con anterior el uso de la bioimpresión de la piel para el tratamiento de quemaduras y otras heridas graves podría acelerar significativamente el cierre y la cicatrización de heridas, reducir el riesgo de infección, minimizar las cicatrices y mejorar los resultados estéticos.

## 1.1 Definición del Proyecto

Actualmente, las bioimpresoras funcionan a partir de técnicas específicas que limitan sus aplicaciones de acuerdo con el uso del material polimérico de bioimpresión (MPBI) que se pretenda emplear, por ejemplo, en el caso de la técnica por inyección que emplea aproximadamente 8 tipos de materiales, requiere de un MPBI de bajas viscosidades (3-12 mPa·s) y baja conductividad térmica para evitar la obstrucción de la boquilla y el daño de las células por el calor generado en ésta. La bioimpresión por extrusión puede emplear aproximadamente 11 tipos de MPBI con viscosidades más altas (30 -  $6 \times 10^7$  mPa·s), sin embargo, otras propiedades como el adelgazamiento por cizalladura incrementan el potencial de daño mecánico a las células [105].

Por lo anterior, el espectro de MPBI empleados se encuentra dividido de acuerdo al tipo de bioimpresoras; por lo que se cuenta con una lista de MPBI para de la técnica de inyección y otra lista de MPBI para la técnica de extrusión, los cuales tienen parámetros de operación identificados por cada técnica y por lo tanto, la construcción de andamios celulares se realiza de manera restringida y específica de acuerdo con el tipo de material polimérico empleado. Por esta razón, es necesario ampliar la cantidad de MPBI a utilizar en una bioimpresora mediante el diseño de un sistema dispensador de bioimpresión combinada que permitiría emplear hasta 16 tipos de materiales. Cabe aclarar que la sistematización del funcionamiento de bioimpresión combinada no es una tarea trivial, toda vez que la complejidad del diseño radica en la falta de información de los fabricantes, los biomateriales que se emplean, así como en los costos de la bioimpresora, por lo que el diseño de un sistema de bioimpresión debe llevarse a cabo junto con aquellos que suministran el material polimérico de MPBI para la experimentación de la bioimpresora.

¿Cómo se puede manejar un amplio rango de parámetros de operación con el fin de fabricar andamios celulares con diferentes materiales poliméricos?

Este trabajo tiene como objetivo el diseño y fabricación de una bioimpresora 3D que logre el empleo de hidrogeles, biotintas y termoplásticos.

## 1.2 Justificación

Generalmente la forma de atender la necesidad de pacientes a que han sufrido de quemaduras consiste en que la piel sana generalmente de otra parte del cuerpo se extrae y se trasplanta sobre la quemadura. Siendo este proceso doloroso y que puede dejar cicatrices importantes, por lo tanto, la obtención de tejido por medio de bioimpresión para ser empleado en este tipo de pacientes resulta una alternativa para el injerto de piel que se usa para tratar a personas con quemaduras graves reduciendo el riesgo de que la herida por quemadura se infecte.

Con el desarrollo de este equipo de bioimpresión se contará con una herramienta que puede ser empleada para la aplicación de una mayor cantidad de MPBI a fin de que permita experimentar con el desarrollo de biotintas que se emplean en medicina regenerativa y contribuir en la generación de tejido que puedan coadyuvar con la problemática presentada.

En el diseño modular del sistema dispensador de biotintas planteado en este trabajo contribuye también con la experimentación de biotintas las cuales son una parte importante para la construcción de tejido.

Para este trabajo se contó con información preliminar respecto a las características y componentes para el diseño y construcción del módulo dispensador, además, se efectuó una selección de los componentes que se pueden adquirir fácilmente en el mercado, así como de las especificaciones más adecuadas para lograr el funcionamiento del equipo.

Siendo el propósito de la MUBIO I-E 3D, el contar con un equipo que permita coadyuvar con la obtención de tejido obtenido por medio de la bioimpresión, que pueda ser empleado en pacientes con quemaduras graves.

## 1.3 Objetivo

Diseñar y fabricar una bioimpresora 3D que cuente con un módulo dispensador el cual permita emplear las técnicas combinadas de extrusión-inyección para una bioimpresora 3D con el fin de utilizarse con tres diferentes tipos de materiales poliméricos (hidrogel de quitosano-glutaraldehído, poliácido láctico comercial, biotinta).

### 1.3.1 Objetivos Específicos

- Determinar propiedades reológicas (viscosidad, módulo elástico y módulo viscoso) y fisicoquímicas (temperatura de transición vítrea y de descomposición) de los materiales poliméricos.
- Determinar los parámetros de operación del módulo dispensador de extrusión-inyección (presión, temperatura, velocidad de impresión y tiempo de impresión) con base en las propiedades reológicas y fisicoquímicas de los materiales poliméricos.
- Modelar el sistema dispensador extrusión-inyección con diferentes parámetros de diseño (diámetro de boquilla, viscosidad del material polimérico, altura de la boquilla a la base, trayectoria de la impresión).
- Simular por dinámica de fluidos computacionales (por sus siglas en inglés CFD) el sistema dispensador de extrusión-inyección de una bioimpresora 3D tomando en cuenta los parámetros de operación y de diseño.
- Fabricar el sistema dispensador de extrusión-inyección para una bioimpresora 3D.
- Validar el funcionamiento del sistema de extrusión-inyección con la bioimpresión en 3D de tres diferentes andamios celulares con materiales poliméricos (hidrogel de quitosano-glutaraldehído, poliácido láctico comercial, biotinta).
- Determinar la viabilidad celular de los andamios impresos en 3D de los materiales poliméricos utilizados.

Para alcanzar este objetivo, la metodología consistió en lo siguiente:

- A. Por medio de la información del estado del arte y de la técnica encontrar los datos reportados en la literatura científica, y de patentes para observar la configuración de equipos de bioimpresión a fin de tener un panorama general de lo que se ha desarrollado actualmente.
- B. Definir los materiales poliméricos que utiliza el sistema dispensador y realizar la búsqueda bibliográfica de los materiales y condiciones de operación que puede manejar el sistema de extrusión y de inyección por separado.

- C. Aplicar de la literatura, el diseño para el ensamble respecto al índice de comunalidad para que la MUBIO I-E 3D contará con la menor cantidad de componentes.
- D. Considerar los requisitos de los usuarios expertos con que se tuvo contacto durante la realización de este proyecto con el personal que cuenta con equipos de bioimpresión como fue la Escuela Medico Militar (EMM) y el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR).
- E. Realizar una búsqueda de la normatividad que aplica para los equipos grado médico o de aplicación en medicina a fin de que se pueda escalar el equipo de bioimpresión a un TRL 8 (Certificación de pruebas específicas)
- F. Diseñar por medio de la computadora (CAD) para comprobar la interacción de los componentes y observar trayectorias de movimientos a fin de que no interfirieran sus elementos entre sí, así como observar las dimensiones y los espacios que ocupan cada uno de los elementos que integran el equipo de bioimpresión.
- G. Elaborar el proceso de fabricación de los componentes que no son comerciales y el ensamble de forma que se muestre la secuencia de armado para tener un armado rápido de los componentes que integran el equipo de bioimpresión.
- H. Realizar la experimentación de los cabezales, una vez que fue ensamblado el cabezal uno y dos de hidrogel y se comprobó la programación, posteriormente se colocó el cabezal de aplicación de material termoplástico. Después de esto se realizaron impresiones empleando como material que simula las condiciones del hidrogel el silicón en los contenedores de las jeringas las cuales consistieron en una nariz y en el caso del termoplástico se empleó material PLA grado medico realizándose la impresión de una nariz y una oreja.

## 1.4 Hipótesis

Un sistema dispensador con funcionamiento extrusión-inyección en una bioimpresora 3D, diseñado con un *communality index* mayor a 1.5 y un *Dfa index* mayor a 60%, permitirá manejar un rango de parámetros de operación y versatilidad en la fabricación de andamios celulares con diferentes materiales poliméricos, incrementando el número de materiales a imprimir en 30 %.

## 1.5 Alcances

- Fabricación de un modelo físico-experimental.
- Registro de propiedad intelectual del modelo físico-experimental fabricado.
- Informe que contiene vigilancia tecnológica, así como la perspectiva de la tecnología de bioimpresión.

## 1.6 Estructura de la tesis

La tesis consta de 6 capítulos, conteniendo lo siguiente: En el primer capítulo se encuentran la introducción, definición del proyecto, justificación, objetivos y alcances. En el segundo capítulo se muestran los conceptos involucrados en el área de la bioimpresión y se da una clasificación de los tipos de tecnologías existentes con base al proceso que utilizan. En el tercer capítulo se presentan los artículos científicos, así como las patentes relacionadas con equipos de bioimpresión indicando sus características. En el cuarto capítulo se describe el diseño, fabricación, proceso de ensamble y experimentación de la MUBIO I-E 3D. En el quinto capítulo se exponen los resultados obtenidos de este proyecto. En el sexto capítulo se presentan las conclusiones y trabajos futuros.



## Capítulo 2

### Marco teórico

#### 2.1. Manufactura aditiva

De acuerdo con Sociedad Americana de Pruebas y Materiales ASTM F2792-10, la manufactura aditiva (por sus siglas en inglés AM) es “el proceso de unión de materiales para hacer objetos a partir de modelos 3D, generalmente capa por capa, al contrario de las metodologías de fabricación sustractiva”, como el mecanizado tradicional [1]. Hoy en día, la fabricación aditiva es el término más común en el mercado de la industria, mientras que la impresión 3D se usa más en el mercado de consumo.

La impresión 3D es un proceso de construcción de objetos en tercera dimensión a partir de un archivo digital. En éste, un objeto digital se diseña utilizando un software de asistido por computadora (CAD). SolidWorks, AutoCAD y ZBrush son algunos ejemplos utilizados comercialmente en la industria, mientras que Blender, FreeCAD, Meshmixer y SketchUp son ejemplos de software libre [2]. Estas imágenes en 3D se guardan en un formato de archivo legible como la estereolitografía (.STL) [3]. En la fabricación aditiva, el material se coloca capa por capa, hasta que se forma el objeto. Aunque el término impresión 3D se usa como sinónimo de manufactura aditiva, hay varios procesos de fabricación involucrados en esta tecnología. La secuencia del proceso de impresión se observa en la Figura 1.

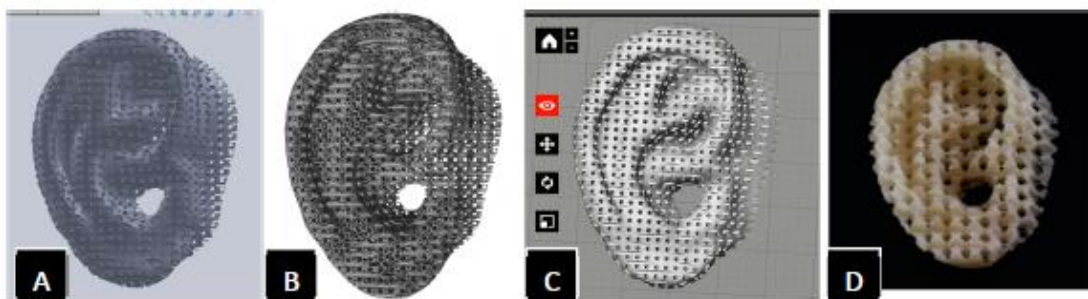


Figura 1. Secuencia de pasos involucrados en un proceso de impresión 3D. (A) Modelo asistido por computadora (CAD); (B) Archivo de modelo de estereolitografía (STL); (C) Software de impresión o mallado 3D; (D) Objeto impreso 3D [4].

##### 2.1.1 Modelado por deposición fundida.

En esta técnica el material de fabricación se incrementa la temperatura hasta alcanzar el punto de fusión y se extruye por medio de una boquilla que cuenta con un diámetro específico para obtener un filamento de material, este filamento se



desplaza en un plano horizontal creando una capa del elemento que se pretende fabricar, cuando se completa una capa se enfría y endurece, la base se baja para crear una nueva capa sobre la anterior [5], como se muestra en la Figura 2.

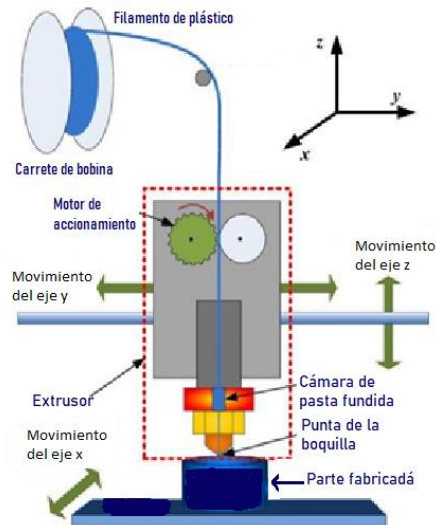


Figura 2. Proceso esquemático de deposición fundida [6].

### 2.1.2 Estereolitografía

También llamado foto solidificación. Consiste en hacer que un material fotopolimérico se solidifique por medio de un haz de luz. En un contenedor con el material fotosensible, el haz de luz se desplaza a través de las capas del material solidificándolo, luego la pieza se sumerge en el fondo correspondiente a una capa que deja el material líquido en la superficie para que el haz de luz solidifique una nueva capa [7], como se muestra en la Figura 3.

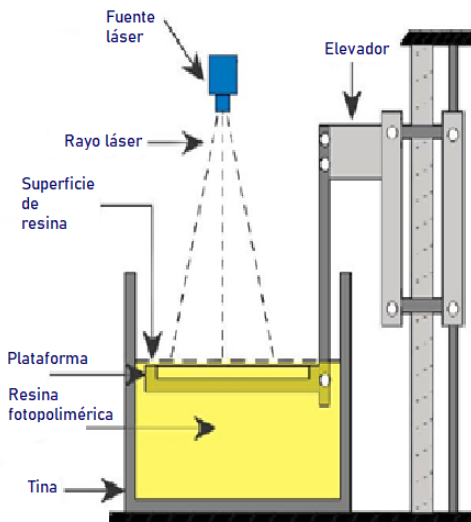


Figura 3. Proceso esquemático de estereolitografía [8].

### 2.1.3 Sinterizado láser selectivo (SLS)

Este proceso consiste en el depósito una capa de polvo de décimas de milímetro en un contenedor donde la temperatura ronda el punto de fusión de este polvo, luego un láser de CO<sub>2</sub> lo sinteriza en las partes indicadas solidificándose y uniéndose para crear una capa de la pieza. Esta secuencia se repite hasta que se logra la formación del objeto [9]. El proceso descrito anteriormente se muestra en la Figura 4.

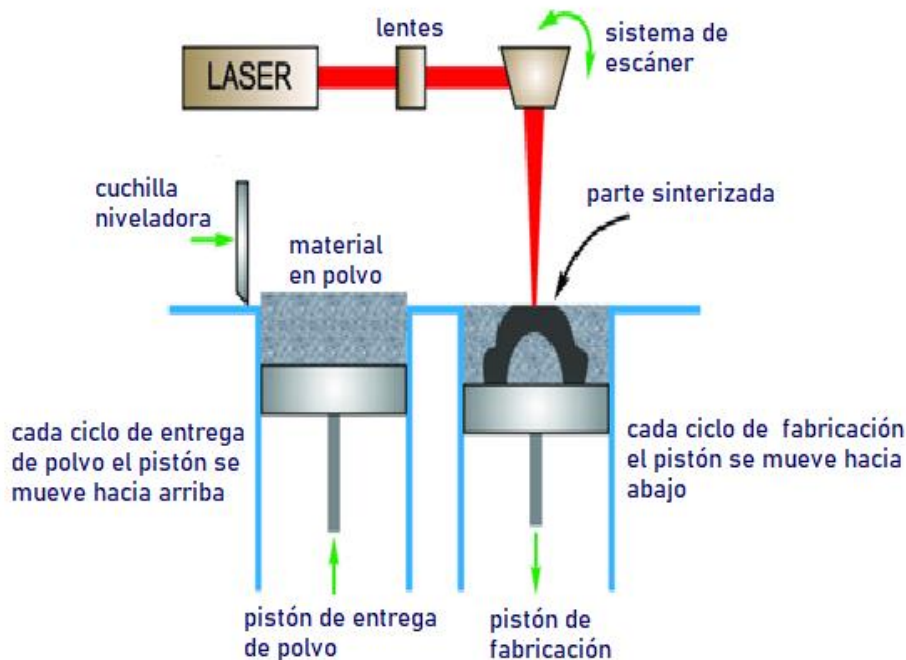


Figura 4. Proceso esquemático de SLS [10].

## 2.2 Ingeniería de tejidos

La palabra ingeniería de tejidos fue mostrada a la comunidad científica por Langer y Vacanti en 1993 y fue definida 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” [11]. La ingeniería de tejidos se indica como la generación de estructuras vivas a través de andamios celulares, algunos ejemplos de este tipo de materiales biocompatibles son el ácido poliláctico, ácido poliglicólico, hidrogeles y materiales como la hidroxiapatita [12]. Esto significa que se deben combinar materiales y componentes celulares para usarlos en tratamientos específicos que garanticen el éxito terapéutico como se indica en la Figura 5 en donde se muestra la combinación de andamios y células y su posterior cultivo con factores de crecimiento.

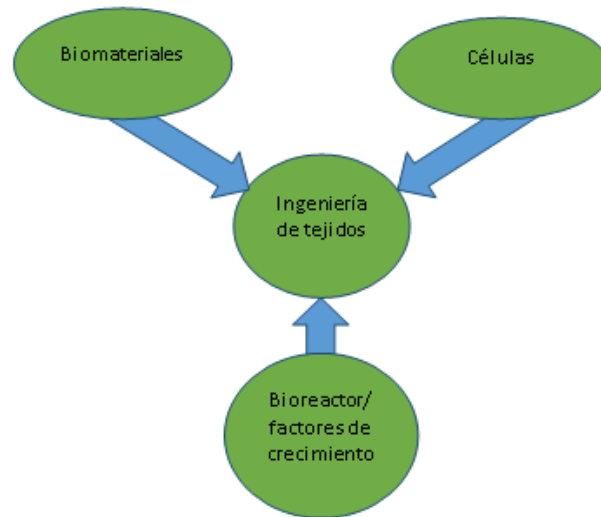


Figura 5. Factores involucrados en la ingeniería de tejidos [13].

Los andamios se crean en condiciones de extrema sanitización con diferentes geometrías, propiedades químicas y materiales, a los cuales se les adicionan células vivas, así como factores de crecimiento, posteriormente las células implantadas en el andamio se reproducen y crecen con la forma deseada. Cuando las células maduraron en ese ambiente, el andamio es trasplantado en la parte de cuerpo en donde es necesaria la regeneración del tejido. Los experimentos realizados por Elliot y colaboradores que fabricaron un andamio en forma de tráquea y lo implantaron en un niño de 2 años son ejemplo de esta técnica [14]. La Figura 6 muestra andamios celulares creados por la técnica de electrohilado.

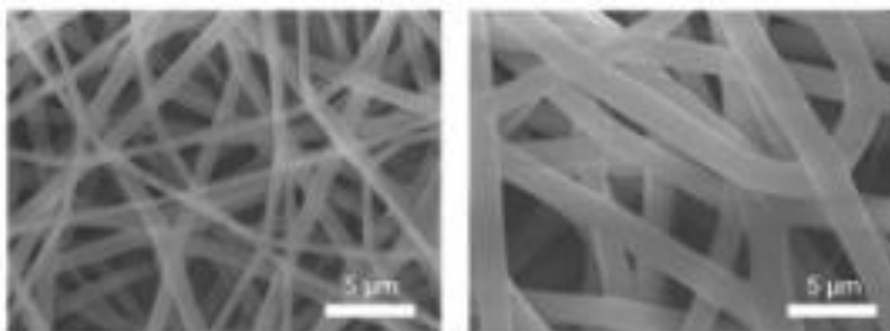


Figura 6. Factores involucrados en la ingeniería de tejidos [15].

## 2.3 Bioimpresión

Se tiene registrado que Boland y colaboradores iniciaron con la bioimpresión alrededor del 2003, en donde imprimieron células vivas empleando una impresora de inyección de tinta comercial, comprobando que las células sobrevivieron el proceso de impresión [16,17].

La combinación de la ingeniería de tejidos y la manufactura aditiva da como resultado la bioimpresión, en donde mediante la impresión directa de células vivas o fluidos biocompatibles se busca obtener tejidos vivos [18]. Mostrando así que el concepto de la biofabricación tiene una gran prospectiva, ya que permite colocar diversos tipos de células en lugares específicos del espacio de manera muy precisa [19,20].

Emplear impresoras 3D, permite que el mecanismo de posicionamiento tenga repetitividad para todos los casos, que generalmente es un robot cartesiano, en donde los ejes se mueven de forma precisa realizando movimientos configurados por medio de instrucciones llamadas código G [21]. Los movimientos controlados permiten posicionar un cabezal de deposición de células vivas colocadas en materiales biodegradables que ayudan a su vez a los andamios estructurales. Son estas funciones las que le proporciona a las impresoras 3D, la particularidad de bioimpresión.

La bioimpresión, puede ser definida como “la generación automatizada de productos biológicamente funcionales con organización estructural a partir de células vivas, moléculas bioactivas, biomateriales, agregados celulares tales como microtejidos o construcciones híbridas de material celular, a través de bioimpresión o bioensamblaje y procesos posteriores de maduración de tejidos” [22].

El proceso típico de bioimpresión comprende tres pasos: preproceso, proceso y postproceso [23]. En la Figura 7 se indica gráficamente la secuencia de las tres etapas.

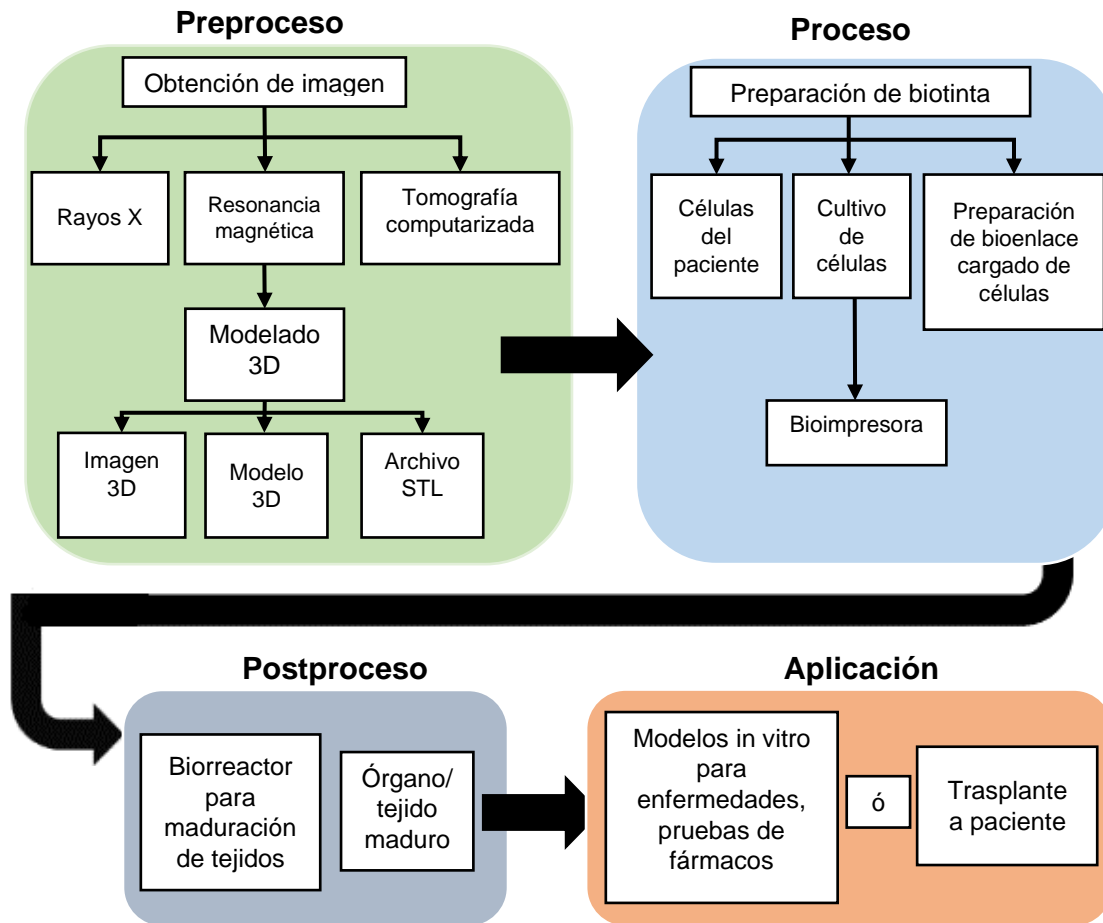


Figura 7. Proceso de bioimpresión [24].

En la Tabla 1 se muestran las consideraciones en cada etapa de la bioimpresión.

Tabla 1. Consideraciones en bioimpresión.

Etapa de fabricación	Consideraciones de bioimpresión
Preproceso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recolección de muestras de tejido (para una fuente de células autólogas)</li> <li>• Trabajar con líneas de células madre.</li> <li>• Desarrollar procesos para la biomimetización (para permitir el crecimiento celular) [24].</li> </ul>

Etapa de fabricación	Consideraciones de bioimpresión
Proceso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un componente importante de la bioimpresión son las biotintas [24,25,26]: básicamente son un fluido que contiene nutrientes y/o componentes de la matriz y/o células. [27].</li> <li>• Ciertos métodos pueden impedir el crecimiento celular y deben considerarse al seleccionar un método de bioimpresión [24,25].</li> <li>• La velocidad de impresión también es importante porque las células no pueden sobrevivir fuera de una incubadora por mucho tiempo [25].</li> <li>• El material celular necesita interactuar e imprimirse a alta resolución para facilitar la bioimpresión [24].</li> </ul>
Postproceso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Esto se centra en el crecimiento continuo y el desarrollo de las células. [24].</li> <li>• La mayoría de las estructuras se cargan en una incubadora y se proporcionan condiciones biológicas apropiadas para crecer en tejido maduro [25].</li> </ul>

### 2.3.1 Bioimpresión por inyección

La técnica de bioimpresión por inyección es una técnica idéntica a la de las impresoras de inyección de tinta en 2D sin contacto, donde se colocan gotas pequeñas de biotinta sobre un sustrato [28-30].

Esta técnica también es conocida como goteo bajo demanda y se clasifica en cuatro grupos de acuerdo con el mecanismo de generación de gotas: de inyección de tinta (térmica, piezoeléctrica o electrostática), la eyección de gotas acústicas, electrohidrodinámica y microválvulas [31]. En la Figura 8 se muestra el esquema del proceso de bioimpresión por inyección.

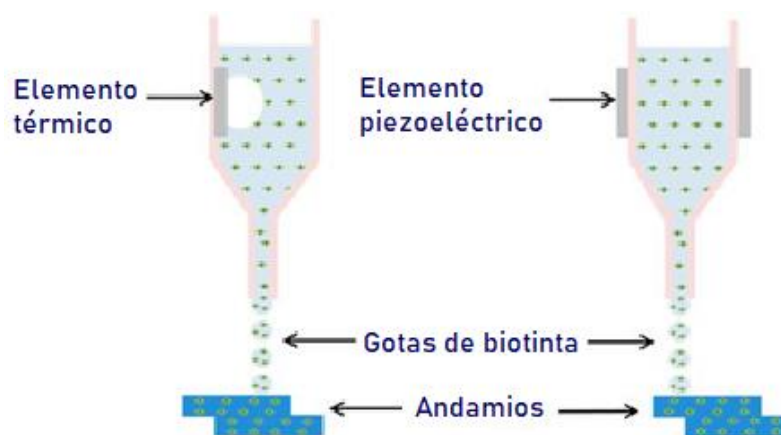


Figura 8. Proceso de bioimpresión por inyección [32].

Las gotas depositadas de monómero se pueden polimerizar mediante mecanismos de reticulación, como el uso de agentes pH y radiación UV, para formar objetos 3D. La viabilidad celular mínima en inyección de bioimpresión es generalmente mayor al 70% [33].

Una de las ventajas de este tipo de bioimpresión es el menor costo ya que tienen una configuración similar con impresoras existentes comercialmente [34,35].

### 2.3.2 Bioimpresión por extrusión

La técnica de bioimpresión por extrusión es la más común [24,36] y es mecánicamente muy similar a la impresión 3D de modelado por deposición fundida convencional. Los biomateriales se cargan en cartuchos y posteriormente se extruyen utilizando presión neumática o fuerzas mecánicas, a través de una boquilla en una ubicación predefinida en una plataforma o plataforma de fabricación [37].

Generalmente, los cartuchos se montan en una plataforma xyz, y la temperatura y/o presión (velocidad del pistón y velocidad de rotación en el caso de pistón y tornillo) son controladas por una computadora [37].

En esta técnica de bioimpresión, tanto el hidrogel como las células generalmente se colocan en contenedores (jeringas) de plástico [38], pero se ha demostrado que los sistemas de válvulas que requieren una frecuencia de pulso proporcionan una mayor precisión [39].

Se han establecido cuatro diferentes clases de bioimpresión por extrusión [40]: directa [41,42,43], en baño de coagulación [44,45], en baño de soporte [46,47] y coaxial [48,49,50]. En la Figura 9 se muestran las bioimpresoras por extrusión.



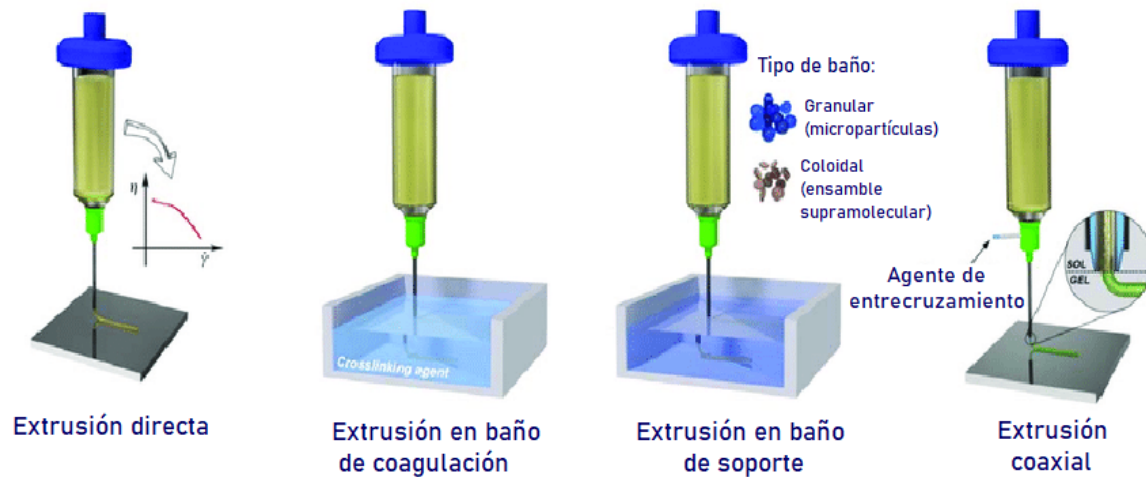


Figura 9. Esquema de bioimpresoras por extrusión [40].

Uno de los desafíos de la bioimpresión por extrusión es la de reducir el daño a la estructura de las células, la cual se ocasiona por la fuerza mecánica producida durante el proceso de extrusión [51].

### 2.3.3 Bioimpresión láser

En el caso de la técnica de bioimpresión láser se puede comentar que basa su funcionamiento en la transferencia directa de material empleando un rayo láser; desarrollada en sus inicios para transferencia de metales con resolución de micrómetro [52]. Debido a esa resolución es que esta técnica se emplea para imprimir material inorgánico y orgánico [53].

La técnica consiste en un sistema asistido por láser principalmente, que consta de un pulso de rayo láser por medio de un equipo que permite el enfoque, una cinta que cuenta con un portador cedente de material, usualmente de vidrio que tiene una película absorbente de energía láser y una película de células o hidrogel y una base receptora contra la cinta usando pulsos láser direccionados sobre la capa absorbente de la cinta que produce burbujas de alta presión produciendo el efecto de empuje del material que contiene las células hacia la base del receptor [54]. La Figura 10 muestra el proceso de bioimpresión por láser.



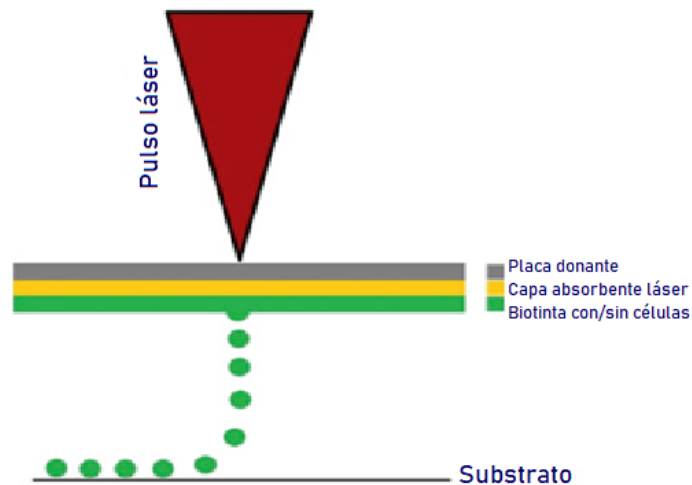


Figura 10. Proceso de bioimpresión por láser [55].

Los parámetros de operación de las diferentes técnicas de bioimpresión por inyección, extrusión y láser se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de operación de bioimpresión [56].

Parámetros	Inyección	Extrusión	Laser
Viabilidad celular (%)	>85	40-90	>95
Viscosidad (mPa/s)	3.5 – 12	30 a 500	1-300
Resolución	Media (~100 $\mu\text{m}$ )	Baja (~200-1000 $\mu\text{m}$ )	Alta (20-100 $\mu\text{m}$ )
Velocidad	rápida	lenta	media
Costo	bajo	medio	alto
Construcción de estructura vertical	deficiente	bueno	media

## 2.4 Material de bioimpresión

El material de impresión utilizado en las técnicas de bioimpresión, es conocido como biotintas [57], que se define como “una formulación de células para el procesamiento, mediante una tecnología de biofabricación automatizada que también puede contener componentes biológicamente activos y biomateriales” [58], y consisten en una solución de prepolímero de hidrogel y células [59]. De acuerdo con el tipo de aplicación, las biotintas se pueden dividir en dos tipos: de soporte y funcionales [60].

Una biotinta de soporte es el hidrogel, que se utiliza para encapsular diversos productos biológicos (células, factores de crecimiento o fármacos). Típicamente, los hidrogeles son redes hidratadas de polímeros reticulados naturales (alginato) o sintéticos (polietilenglicol) que pueden absorber mucha agua mientras retienen una estructura porosa 3D y simulan el entorno celular natural. La biotinta funcional (ADN) se usa principalmente para estudiar el suministro intracelular, el diagnóstico de genes y el comportamiento celular [61], así como se observa en la figura 12.

En la Figura 11 se puede observar un esquema de algunos de los materiales que se pueden emplear en la bioimpresión con la MUBIO I-E 3D, los recuadros en color naranja corresponden a los materiales que puede imprimir el equipo diseñado.

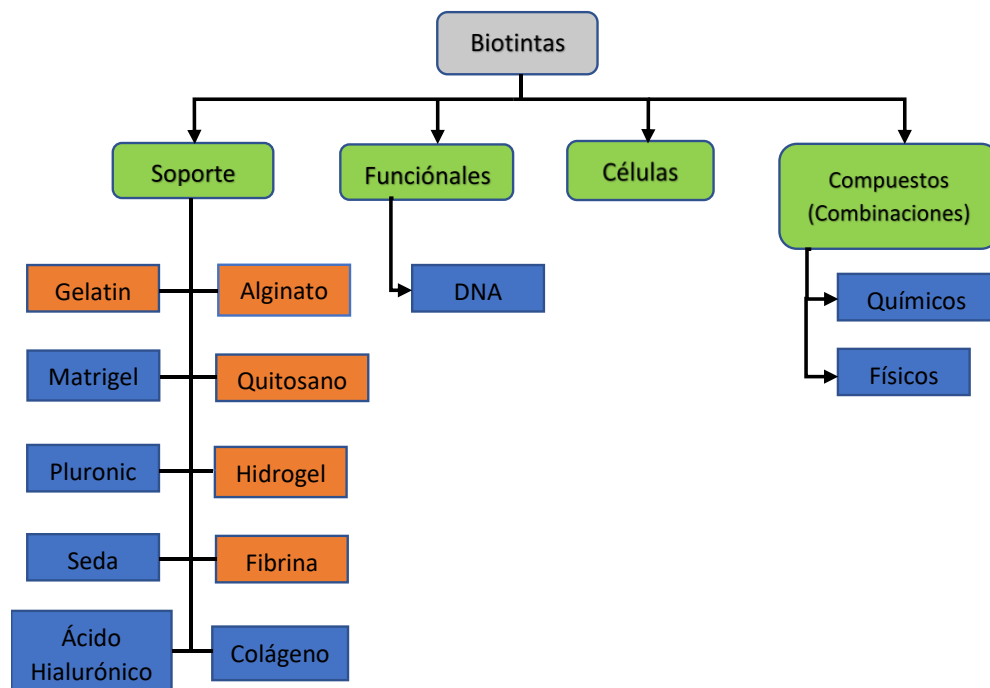


Figura 11. Biotintas que se pueden aplicar en la MUBIO [61].

Generalmente las biotintas deben contar con ciertos requisitos: (1) ser imprimibles, (2) ser biocompatibles, (3) tener propiedades mecánicas apropiadas, (4) tener una buena cinética de degradación, (5) formar subproductos de degradación seguros y (6) exhibir biomimética tisular. La medida en que se cumplan con cada uno de estos requisitos varía ligeramente de acuerdo con el método de impresión que se esté utilizando y la aplicación final proyectada del dispositivo [62].

En la Figura 12 se puede observar algunas consideraciones en la elección de la biotinta a emplear en la bioimpresión.

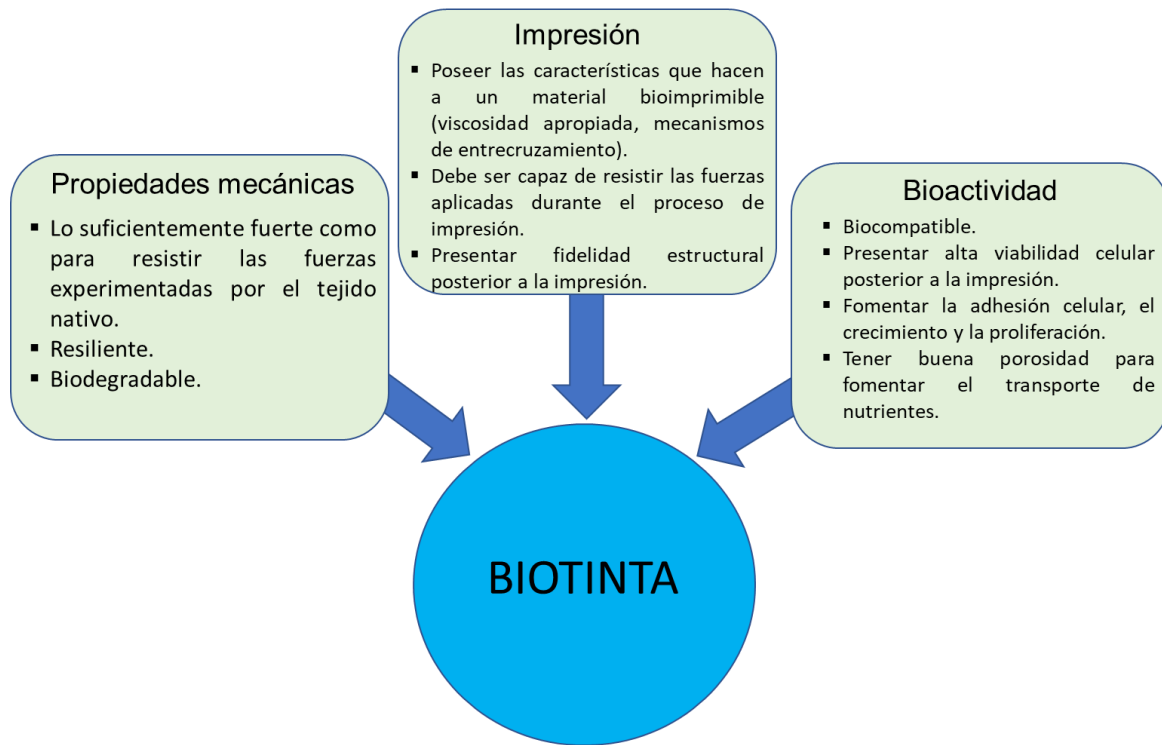


Figura 12. Propiedades deseables de la biotinta [63].

#### 2.4.1 Biomateriales considerados

Con base a lo visto en las secciones anteriores, las biotintas y materiales que se que pueden ser empleados son los siguientes: Alginato, Polietilenglicol (PEG), Colageno tipo 1, Colageno, Trombina, Etlenglicol, PEG-GelMA, Fibrinogen, Quitosano, Gelatin (GelMA), Acido Hialuronico (HA), Agarosa, Pluronic F-127, Matrigel, Metilcelulosa (MC), Fibrin (Trombina+Fibrinogen), todos estos seleccionados por la viscosidad del material. PLA grado médico y ABS grado médico por la temperatura de fusión con la que pueden ser aplicados con el cabezal de termoplástico.

## 2.5 Conclusiones del capítulo.

En este capítulo del marco teórico se pudo observar las características de las técnicas de bioimpresión, de biotintas y materiales que deben ser consideradas en el diseño y fabricación de la MUBIO I-E 3D, partiendo de los parámetros reportados para las técnicas de inyección donde la viabilidad celular es mayor al 85%, viscosidad de 3.5 a 12 mPa/s y resolución media, es decir aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  y en el caso de la técnica de extrusión viabilidad celular de 40-90%, viscosidad de 30-500 mPa/s y resolución aproximada de 200-1000  $\mu\text{m}$ .

## Capítulo 3

### 3.1 Estado del Arte

Para obtener la información del estado del arte y de la técnica consistió en una primera búsqueda de artículos científicos y posteriormente una búsqueda de patentes relacionada con la bioimpresión.

La búsqueda de los artículos científicos para el estado del arte requirió el empleo del software R con el paquete biblioshiny, como una herramienta bibliométrica [64].

Los datos que se ingresaron al software consistieron principalmente de la base de datos Web of Science, utilizando las palabras palabras “bioprinter” y “bioprinting”, eligiéndose información a partir del año 2004 que es cuando se reportan los inicios de la bioimpresión, hasta el 2020 como búsqueda inicial que posteriormente los datos obtenidos se depuraron y se describen adelante.

Esta búsqueda permitió obtener los siguientes datos: palabras más empleadas en las publicaciones científicas relacionadas con los equipos de bioimpresión, producción científica anual, principales autores, los países con mayor cantidad de publicaciones, así como las universidades que han publicado al respecto.

En la Figura 13 se observa las palabras clave restringidas a 40, obtenidas con la herramienta bibliométrica del paquete biblioshiny.

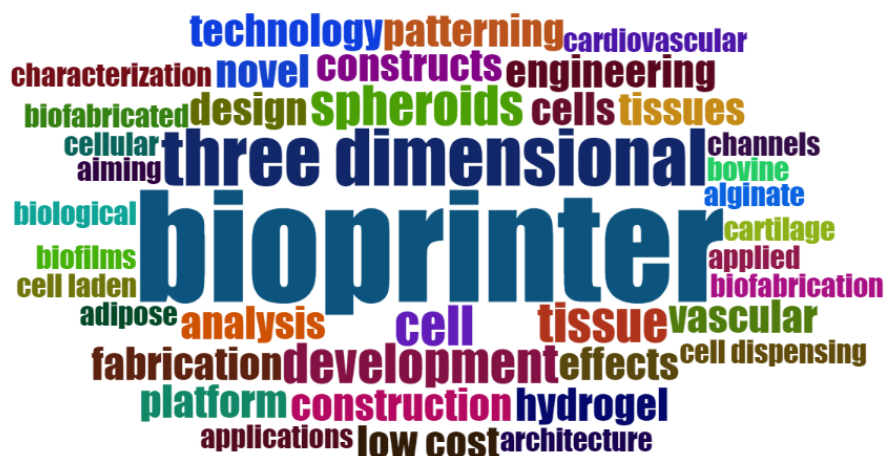
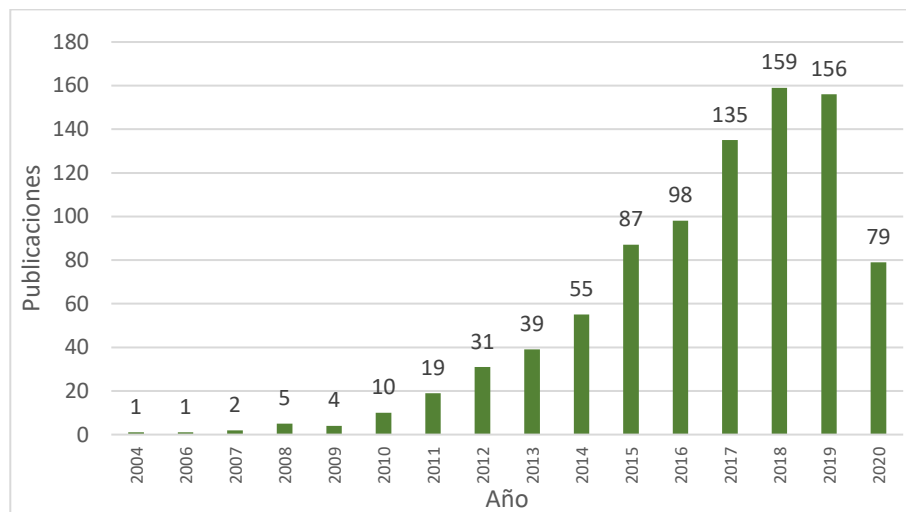


Figura 13. Palabras clave.

En la Figura 14 se observa el crecimiento significativo a partir del año 2015 de la producción científica respecto al tema de la bioimpresión. El incremento en cantidad de artículos científicos en comparación al año 2000 en adelante, nos indica que la bioimpresión como herramienta para la ingeniería de tejidos está teniendo un mayor avance y relevancia, motivo por el que influye directamente en el desarrollo tecnológico y en la producción científica: particularmente en los últimos años; donde se observa que un 94% de publicaciones están en el periodo de la última década.



*Figura 14. Producción científica anual.*

Los 20 autores con mayor cantidad de publicaciones de artículos científicos en el campo de área de la bioimpresión, siendo Ozbolat, Huangy, Nakamura y Mironov los que han destacado en la producción científica de la bioimpresión, se observan a continuación en la Figura 15.

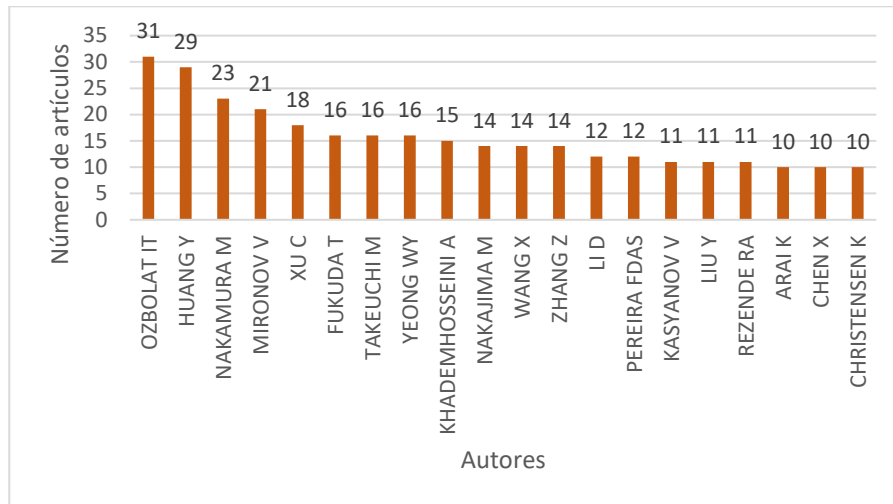


Figura 15. Principales autores de Bioimpresión.

Los Estados Unidos, China y Japón son los 3 principales países que realizan investigación en el campo de la bioimpresión y que cuentan con la mayor cantidad de artículos publicados respecto a este tema y se observan en la Figura 16.

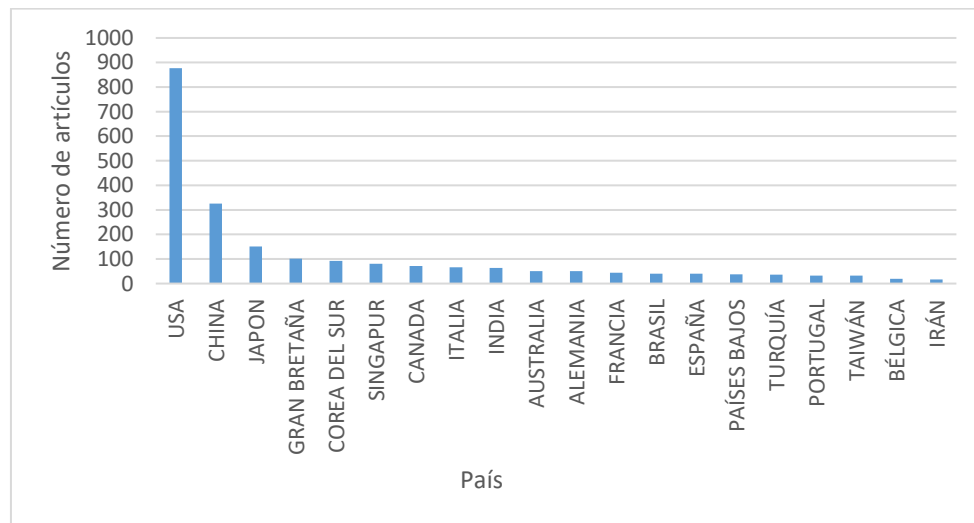


Figura 16. Países que realizan investigación.

En la Figura 17 se pudo observar la relación entre las palabras clave del campo de la bioimpresión, las cuales son: ingeniería de tejidos, bioimpresión, humano, impresión y tejido, los países más relevantes que realizan investigación en esta área como son: Estados Unidos, China, Corea y Japón, así como los investigadores que publican al respecto, apareciendo Ozbolat como el investigador más destacado.

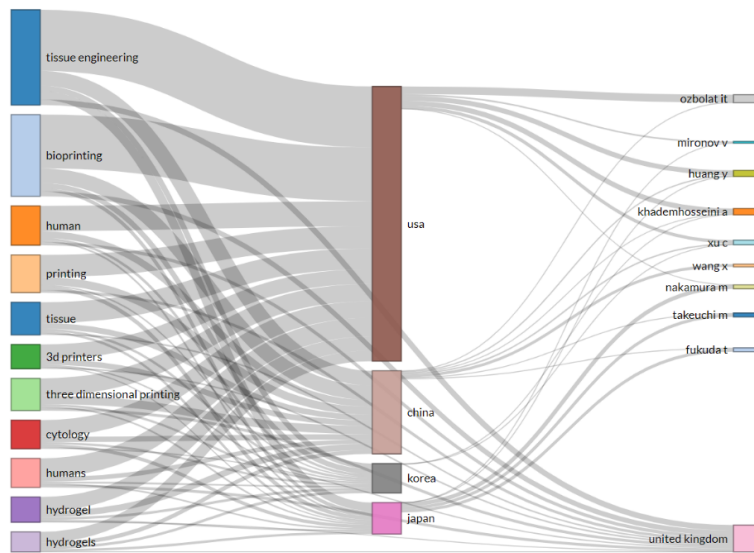


Figura 17. Relación entre palabras clave, países y autores.

Las 10 instituciones más relevantes en investigación en el campo de la bioimpresión en donde se puede realizar una preparación de excelencia respecto al tema de la bioimpresión se encuentran en los países de Canadá, Estados Unidos, Letonia y Singapur, como se puede observar en la Figura 18.

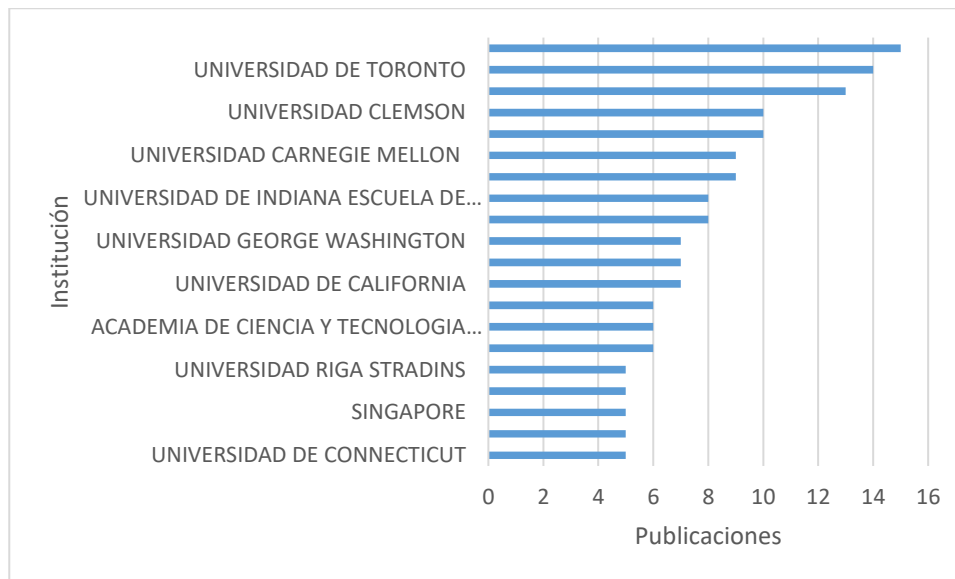


Figura 18. Instituciones principales.

### 3.2 Resultado de publicaciones científicas



Los procesos de bioimpresión se han estudiado ampliamente por la cantidad de aplicaciones en las áreas médicas como regeneración de tejidos y órganos. Por ejemplo, Fengyuan Liu y colaboradores en el 2017 [65] reportaron el diseño y fabricación de un sistema híbrido de bioimpresión denominado sistema de bioextrusión asistida por plasma (por sus siglas en inglés PABS) que permite procesar diferentes tipos de polímeros como hidrogeles, utilizando desde polímeros duros hasta polímeros compuestos, que se emplean en ingeniería de tejidos o aplicaciones de huesos.

El sistema de extrusión y el de plasma fueron montados en paralelo, en el plano  $XY$ , y para el caso de la base su desplazamiento se realiza en el eje  $Z$ . En la Figura 19 se muestra el esquema de los extrusores asistidos de presión y el extrusor asistido por husillo.

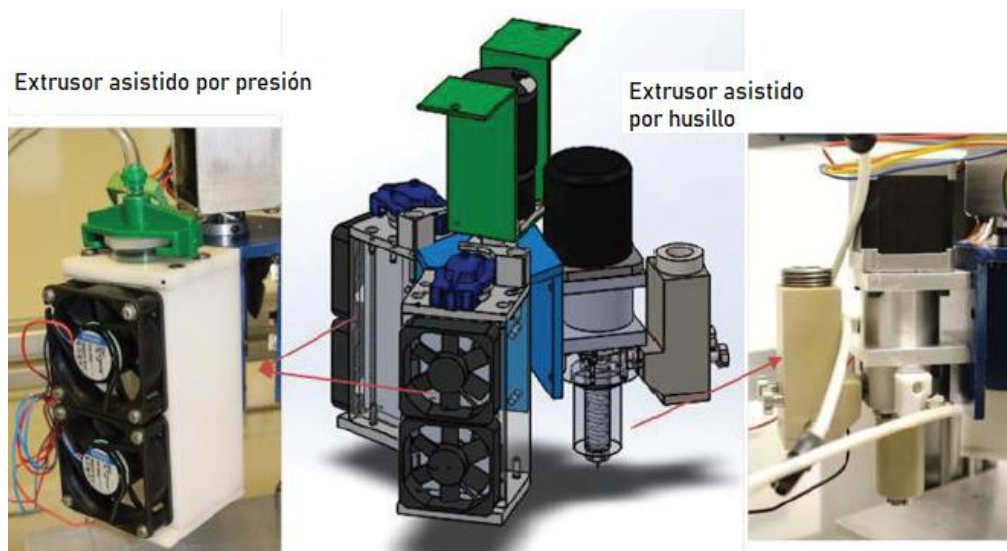


Figura 19. Esquema representativo de la unidad de extrusión múltiple [65].

Se imprimieron andamios de policaprolactona y policaprolactona/nanotubos de carbón con diferentes tamaños de poro y una gama de parámetros de procesamiento en términos de velocidad de deposición y velocidad de rotación del tornillo.

Los resultados mostraron que un incremento en la velocidad de deposición permite una disminución en el diámetro del filamento, mientras que un incremento en la velocidad de giro rotacional permite un incremento en el diámetro y disminución en el espaciado de los filamentos. Ellos concluyeron que estos parámetros tenían una influencia directa en la conformación y propiedades mecánicas del andamio impreso.

En la investigación de Tao Xu y colaboradores en el 2013 [66], se describe la construcción de un sistema híbrido de bioimpresión por inyección de biotinta-electrohilado que se empleó para fabricar tejidos viables para cartílago.

El electrohilado de fibras de policaprolactona se alteró con la bioimpresión por inyección para controlar con precisión la deposición de células de condrocitos elásticos de conejo suspendidos en un hidrogel de fibrina-colágeno en patrones complejos dentro de las capas, para construir un tejido conteniendo en total cinco capas de 1 mm de espesor, con componentes estándar para producir construcciones de cartílago con mejores propiedades biológicas y mecánicas en comparación con la técnica de inyección de los geles de alginato o fibrina-colágeno impresos solos.

La representación esquemática del sistema de impresión con el cabezal de inyección de tinta y el cabezal de electrohilado se observa en la Figura 20.

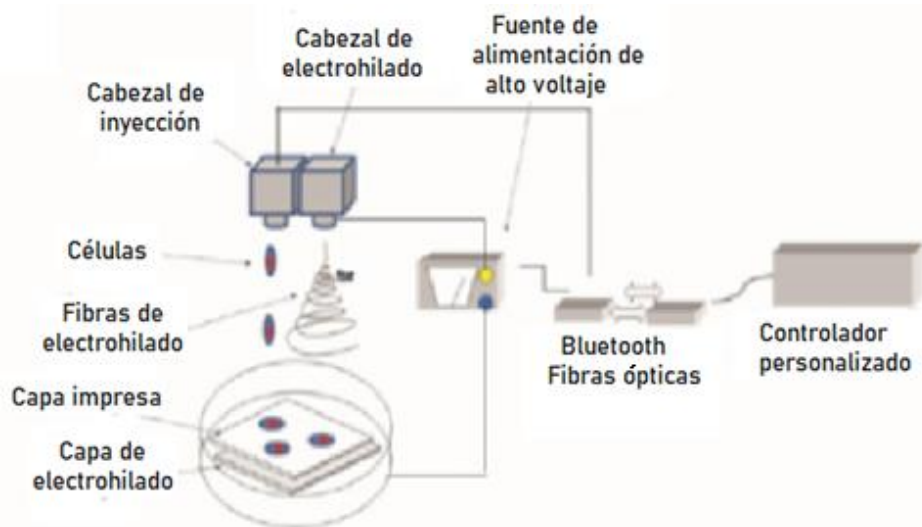


Figura 20. Esquema representativo del sistema de impresión híbrido [66].

Además, el sistema híbrido mantuvo la esterilidad del campo de impresión al eliminar las transferencias entre máquinas. Combinando los aparatos de electrohilado e inyección de biotinta crearon un sistema con mayores capacidades que los dos aparatos solos. Los resultados mostraron que esta técnica podría simplificar la producción de tejidos complejos.

Por otra parte, Pei Zhuang y colaboradores en 2019 [67] utilizaron un hidrogel comercial gelatín metacrililoilo y goma gellan (por sus siglas en inglés GelMA-GG). Combinaron la técnica de bioimpresión por extrusión de una bioimpresora comercial (Regenhu), con un sistema de fotocurado ultravioleta (UV) para acelerar la reacción de entrecruzamiento en el hidrogel, capa por capa.

Para la impresión y resolución de la biotinta se empleó una aguja 27G (210  $\mu\text{m}$  de diámetro interno), las construcciones tubulares de 3D se imprimieron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . El método de bioimpresión utilizó una fuente UV (longitud de onda de 365 nm,  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ).

Los resultados demostraron que para la capa 1 y construcciones de 3 capas, se registró una viabilidad celular por arriba del 95%. En el caso de más de 5 capas, la viabilidad celular mostró estar por arriba del 85%. Se descubrió que un rango adecuado de viscosidad de biotinta inferior a 0.124 Pa·s a  $37^\circ\text{C}$  es adecuado para la encapsulación celular y para lograr una biotinta homogénea cargada de células. Se recomienda una viscosidad del material de 0.2-1.0 Pa·s a una temperatura de impresión de  $25^\circ\text{C}$  para imprimir construcciones complejas cargadas de células 3D con alta relación de aspecto utilizando la estrategia de bioimpresión capa por capa asistida por UV. Este método puede adaptarse para los materiales fotopolimerizables con aplicaciones en tejido blandos.

Jaehoo Le y colaboradores en 2017 [68] un sistema de bioimpresión multicanal 3D de escritorio con hardware y software de código abierto, el cual consta de 2 extrusores neumáticos, 1 extrusor de pistón, 1 extrusor de termoplásticos y 1 microválvula de aguja. Este sistema se diseñó para imprimir hidrogeles con diferentes viscosidades, polímeros termoplásticos biodegradables y cerámica.

El sistema empleó un mecanismo giratorio para la impresión multicanal y de arquitectura abierta, como se observa en la Figura 21. Otra consideración fue el tamaño del sistema para que se pueda utilizar en un banco limpio de tamaño pequeño de dimensiones 920 mmx600mmx600 mm (largo, ancho, alto).

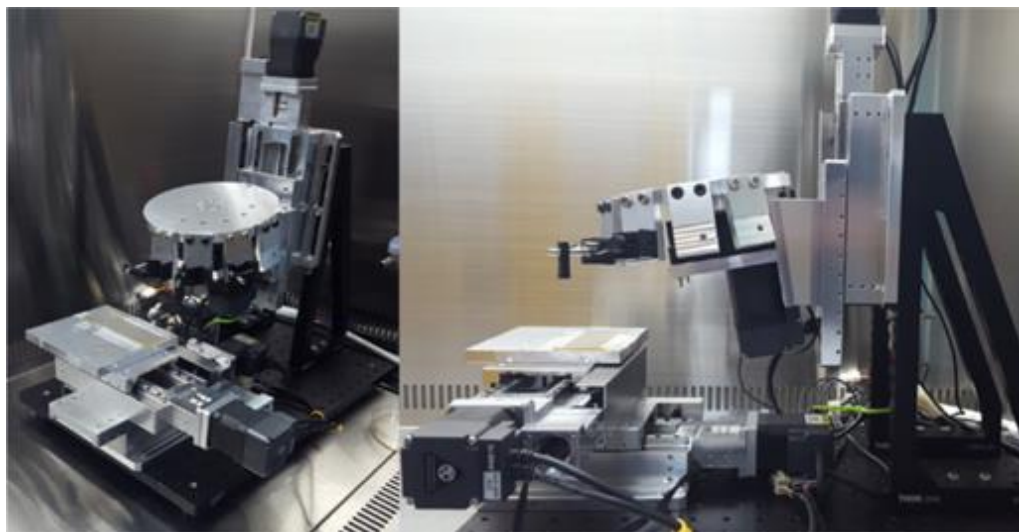


Figura 21. Sistema de bioimpresión multicanal [68].

Ellos encontraron que la condición óptima para el ancho de línea de impresión fue de 200  $\mu\text{m}$  a una presión de 220 kPa, una velocidad de alimentación de 200 mm/min y una altura de capa en el eje z de 195.5  $\mu\text{m}$  con una sola línea de prueba. Posteriormente fabricaron un cilindro de doble pared indicando un diámetro externo de 10 mm, posteriormente un diámetro interno de 6 mm y una altura de 9 mm.

Los diámetros de los cilindros interno y externo fueron de 9 mm y 10 mm, respectivamente. El hidrogel hialurónico que contiene fibroblastos humanos se llenó entre las paredes exterior e interior en las siguientes condiciones: presión aplicada 200 kPa, velocidad de alimentación 300 mm/min y diámetro de la boquilla 250  $\mu\text{m}$ . Los resultados mostraron que este andamio híbrido de ácido poliláctico coliglicólico (por sus siglas en inglés PLGA) e hidrogel es la fabricación preliminar de la investigación de los vasos sanguíneos óseos.

Ozbolat Ibrahim y colaboradores en 2014 [69] reportaron el desarrollo de la bioimpresora de múltiples brazos (por sus siglas en inglés MABP) que consiste en dos boquillas montadas en brazos independientes, la cual permitió que la estructura del filamento se deposite continuamente, minimizando las variaciones de filamento debido al arranque y parada de la unidad dispensadora. El hidrogel empleado se obtuvo del entrecruzamiento de solución de alginato y cloruro de calcio, combinando células progenitoras de cartílago (por sus siglas en inglés CPCs).

Se utilizaron actuadores lineales capaces de desplazarse 200 mm en el eje x, 300 mm en el eje y, y 100 mm en el eje z para traducir el movimiento de rotación del paso a paso en movimiento lineal, como se observa en la Figura 22. Estos componentes permiten que la máquina alcance una velocidad lineal máxima teórica de 30 mm/s con una resolución de 0.016 mm.

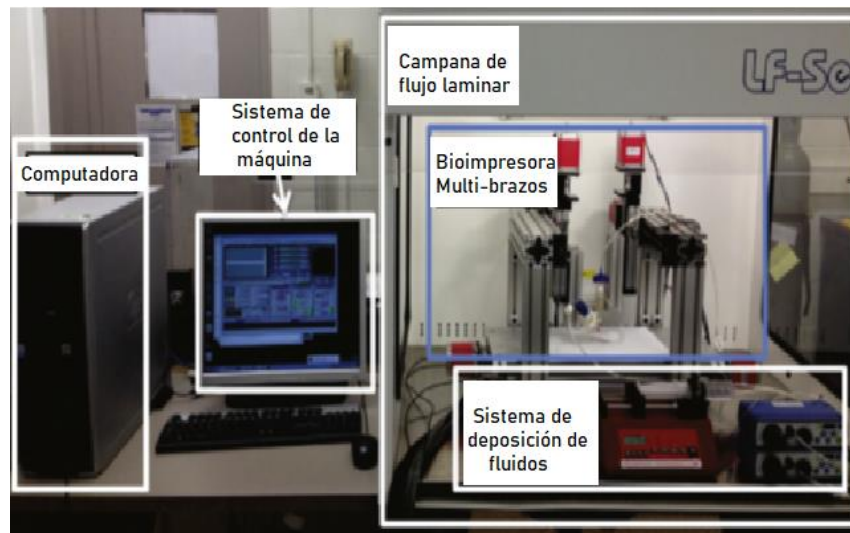


Figura 22. Sistema de bioimpresión MAPB [69].

En este sistema se diseñó para imprimir simultáneamente una estructura de filamento y depositar esferoides celulares entre los filamentos para crear una estructura híbrida para soportar los esferoides celulares en tres dimensiones (3D). También se desarrolló un método para dispensar la solución de reticulación como se observa en la Figura 23, utilizando una boquilla coaxial.

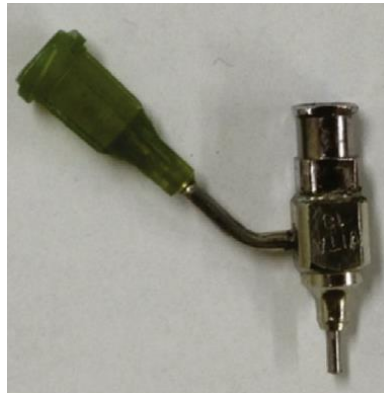


Figura 23. Boquilla coaxial [69].

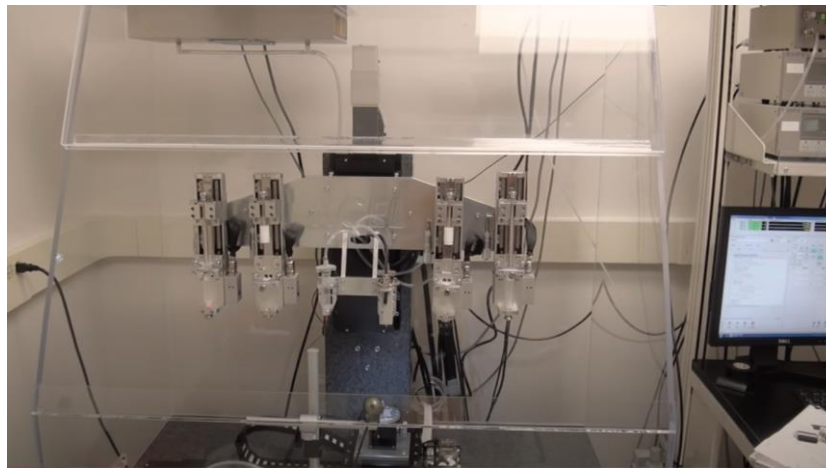
Durante las pruebas de dispensación de hidrogel el ancho del filamento se midió a diferentes presiones, en un intervalo de 35 a 50 kPA, obteniendo valores de  $406 \pm 18 \mu\text{m}$  hasta  $630 \pm 32 \mu\text{m}$ . Los resultados mostraron una relación lineal entre la presión de dispensación y el ancho del filamento.



Hyun-Wook Kang y colaboradores en 2016 [70], describen una impresora integrada tejido-órgano (por sus siglas en inglés ITOP) que permite obtener constructos de tejido a escala humana. La ITOP se compone de un controlador XYZ, un módulo dispensador y una cámara cerrada.

El sistema de 3 ejes tiene las dimensiones de 200mm x 200mm x 100mm de recorrido para controlar las rutas proporcionadas en la bioimpresión, con una resolución de 250 nm para los ejes xy y 500 nm en el eje z.

El módulo de dispensación estaba constituido por un controlador de presión neumática de precisión, calentador de jeringa, jeringa y boquilla como se observa en la Figura 24. La configuración de cámara cerrada se construyó de acrílico equipándolo con un controlador de temperatura y un humidificador.



*Figura 24. Bioimpresora ITOP [70].*

Para la validación del sistema se utilizaron tres componentes para producir los constructos: hidrogel compuesto como material portador, policaprolactona (de las siglas en inglés PCL) como material de apoyo y Pluronic F-127 como material de sacrificio. El hidrogel compuesto como material portador celular fue una mezcla de gelatina, fibrinógeno, ácido hialurónico (de las siglas en inglés HA) y glicerol.

En donde el tipo de células empleadas fueron células madre derivadas de líquido amniótico humano (de las siglas en inglés hAFSCs).

Con el sistema ITOP, estructuras bioimpresas de hueso, oído y músculo implantadas *in vitro* e *in vivo* mostraron evidencia de vascularización sin necrosis, y las construcciones musculares mostraron la presencia de uniones neuromusculares. Concluyendo que la ITOP puede generar formas 3D con células y biomateriales, con el potencial de formar tejido vascularizado.

Jim Hyung Shim y colaboradores en 2012 [71] desarrollaron un sistema de construcción de tejidos/órganos de múltiples cabezales (de las siglas en inglés MtoBS) que posee seis cabezales dispensadores para emplear biomateriales, como se muestra en la Figura 25, incluidos materiales termodegradables, biodegradables e hidrogel.

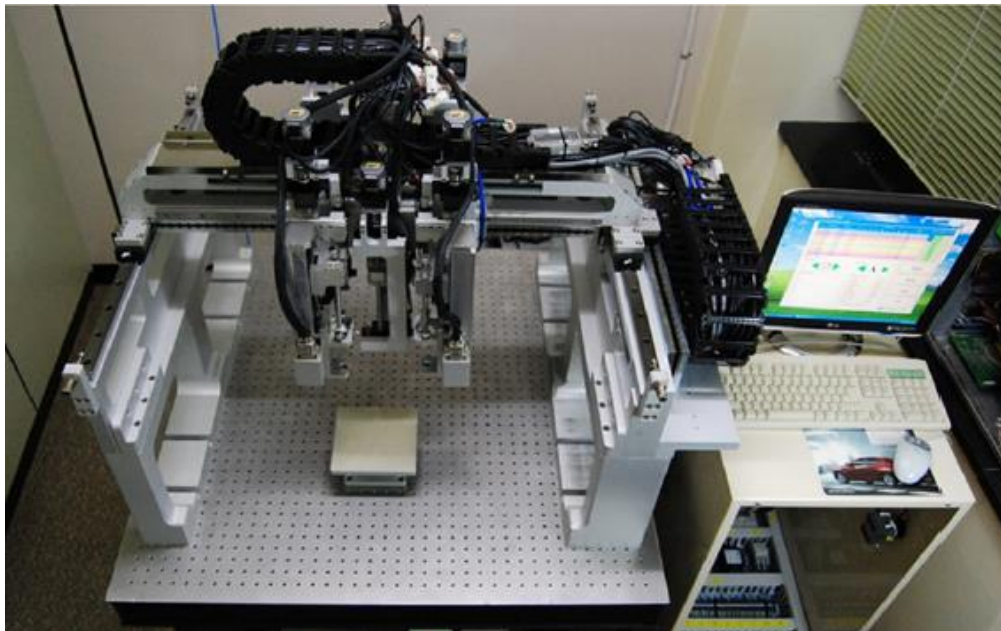


Figura 25. Bioimpresora MtoBS [71].

En la MtoBS el movimiento del eje z de cada uno de los dispensadores fue controlable individualmente. De los seis cabezales, dos estaban conectados a un sistema de calefacción, la temperatura y presión aplicadas fueron ajustables hasta  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $400\text{ kPa}$ , respectivamente. Los cuatro cabezales restantes se usaron para dispensar hidrogel. El volumen de hidrogel extruido fue controlable con precisión de  $1\text{ }\mu\text{L}$  usando un dispensador de baja dosis basado en el sistema de émbolo.

Se empleó un motor lineal, un codificador y una guía lineales para controlar el movimiento de los ejes XYZ, que podían funcionar a una velocidad máxima de  $500\text{ mm s}^{-1}$  y aceleración máxima de  $0.5\text{ G}$  (gravedad), proporcionando una

precisión de  $\leq \pm 5.0 \mu\text{m}$  y una repetibilidad de  $\leq \pm 1.0 \mu\text{m}$ . El espacio de trabajo permitió la producción de tejidos u órganos de  $270 \text{ mm} \times 150 \text{ mm} \times 130 \text{ mm}$ .

La capacidad de MtoBS para producir tejidos u órganos fue evaluado mediante una prueba de impresión de PCL de una sola línea, seguido de la dispensación de hidrogel en los poros entre las líneas de biomateriales sintéticas. La temperatura de la jeringa se fijó a  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  porque se confirmó que las células impresas no presentaban daños a esa temperatura. Se utilizaron boquillas de  $200$  y  $150 \mu\text{m}$ . Se aplicaron presiones neumáticas de  $400$  y  $300 \text{ kPa}$  para ajustar el ancho de línea. La velocidad de alimentación de los cabezales dispensadores varió de  $50$  a  $300 \text{ mm min}^{-1}$  [71].

Como resultado, lograron anchos de línea que varían de  $275$  a  $50 \mu\text{m}$  cambiando el tamaño de la boquilla, la presión y la velocidad de alimentación. Se reportó que el ancho de línea disminuyó al aumentar la velocidad de alimentación y disminuir la presión. La viabilidad celular de condrocitos y osteoblastos fue  $\geq 95\%$  en cultivo durante 7 siete días.

Concluyendo que la MtoBS permitió dispensar biológicamente biomateriales como PCL e hidrogel de alginato desarrollado para fabricar tejido heterogéneo, esperando que la dispensación de varios biomateriales reforzara la estabilidad mecánica de las estructuras 3D impresas.

A continuación, muestra un resumen en la Tabla 3 de los 7 artículos que se seleccionaron para las consideraciones del diseño de la MUBIO I-E 3D, que se refieren a la fabricación de un equipo de bioimpresión, autor, título del artículo, año, así como una breve descripción de las características de los módulos extrusores que la integran.

*Tabla 3. Artículos considerados para el diseño de la MUBIO I-E 3D.*

Autor	Equipo	Título	Año	Características
Fengyuan Liu	Sistema de biopresión asistida por plasma (PABS)	Design, fabrication and initial evaluation of a novel hybrid system for tissue engineering applications	2019	2 extrusores asistidos por presión 1 extrusor asistido por husillo
Tau Xu	Sistema híbrido de bioimpresión	Hybrid printing of mechanically and biologically improved constructs for cartilage tissue engineering applications	2019	1 cabezal de inyección, 1 cabezal de electrohilado
Pei Zhuang	REGENHU (equipo comercial)	Layer-by-layer ultraviolet assisted extrusion-based (UAE) bioprinting of hydrogel constructs with high aspect ratio for soft tissue engineering applications	2017	3 extrusores asistidos por presión 1 extrusor termoplástico



Jaehoo Lee	Sistema de biopresión multicanal	A desktop multi-material 3D bioprinting system with open-source hardware and software. International journal of precision engineering and manufacturing	2017	2 extrusores asistidos por presión
Ozbolat Ibrahim	Bioimpresora de múltiples brazos (MAPB)	Development of 'Multi-arm Bioprinter' for hybrid biofabrication of tissue engineering constructs	2016	2 extrusores asistidos por presión
Hyun-Wook Kang	Impresora integrada órgano-tejido (ITOP)	A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity	2014	6 extrusores asistidos por presión

Autor	Equipo	Título	Año	Características
Jim Hyung Shim	Sistema de construcción de tejidos/órganos de múltiples cabezales (MtoBS)	Bioprinting of a mechanically enhanced three-dimensional dual cell-laden construct for osteochondral tissue engineering using a multi-head tissue/organ building system	2013	6 extrusores asistidos por presión

### 3.3 Patentes de equipos de bioimpresión

Respecto a la búsqueda de la información relacionada a los equipos de bioimpresión se efectuó una búsqueda en las bases de datos de patentes de Patentscope, Espacenet, Google Patents, USPTO y Lens con las entradas de búsqueda similares a las utilizadas en el caso de los artículos científicos, ver Tabla 4, considerándose un periodo de 16 años a partir del 2004 al 2020.

*Tabla 4. Base de datos y palabras clave.*

Base de datos	Palabras Clave
Patentscope	ALL « bioprinting » ALL « bioprinter » « bioprinter » AND « bioprinting »
Espacenet	
Derwent Innovation	
Google Patents	« bioprinting » AND « bioprinter » ALL « bioprinting » « bioprinter » AND « bioprinting »
USPTO	
Lens	

En lo que respecta a los criterios de inclusión, se consideró lo siguiente: que la patente correspondiera a un tipo de técnica de bioimpresión, que perteneciera a algún elemento o accesorio de un equipo y que empleara biotinta para construcción de tejidos.

En el caso de los criterios de exclusión se limitó a lo siguiente: aquellas patentes que estuvieran relacionadas a equipos de impresión 3d o para aplicación en manufactura aditiva, a sistemas complementarios al equipo de bioimpresión (software, reactor de maduración, etc).

Debido a que se identificaron patentes en más de una base de datos; se tomó la decisión de seleccionar la patente ubicada en la primer plataforma de datos para evitar la duplicidad de datos.

Para realizar la búsqueda se empleó la clasificación de acuerdo con la forma en la que las patentes reciben su clasificación internacional (por sus siglas en inglés IPC); la clasificación particular cómo están consideradas y las implicaciones que deben de considerar, (ver Tabla 5), en virtud de que la categoría cambia de acuerdo con la letra inicial, siendo alguna de las siguientes ocho clases [72]:

- A. Necesidades corrientes de la vida.
- B. Técnicas industriales diversas; transportes.
- C. Química; metalurgia.
- D. Textiles, papel.
- E. Construcciones fijas.
- F. Mecánica; Iluminación; Calefacción; Armamento; Voladura.
- G. Física.
- H. Electricidad.

El orden de clasificación de las patentes se realiza primero de acuerdo con la clase, posteriormente subclase y finalmente el grupo.

Las cinco clasificaciones con mayor número de patentes son:

- B29C 64/20 (B: Técnicas industriales diversas/transportes, 29: Trabajo de plástico/ Trabajo de sustancias en un estado plástico en general, C: Formación o unión de plásticos/formación de material en un estado plástico, no previsto de otra manera/tratamiento posterior de los productos formados, 64/20: aparatos para manufactura aditiva, detalles o accesorios) con un número de patentes equivalente al 20% del total.
- B29C 64/106 (B: Técnicas industriales diversas/transportes, 29: Trabajo de plástico/ Trabajo de sustancias en un estado plástico en general, C: Formación o unión de plásticos/formación de material en un estado plástico, no previsto de otra manera/tratamiento posterior de los productos formados, 64/106: utilizando solo líquidos o materiales viscosos) con el 13% del total de patentes.
- B29C 64/209 (B: Técnicas industriales diversas/transportes, 29: Trabajo de plástico/ Trabajo de sustancias en un estado plástico en general, C: Formación o unión de plásticos/formación de material en un estado plástico, no previsto de otra manera/tratamiento posterior de los productos formados, 64/209: cabezales/boquillas) con el 13% del total de patentes.
- B29C 67/00 (B: Técnicas industriales diversas/transportes, 29: Trabajo de plástico/ Trabajo de sustancias en un estado plástico en general, C: Formación o unión de plásticos/formación de material en un estado plástico, no previsto de

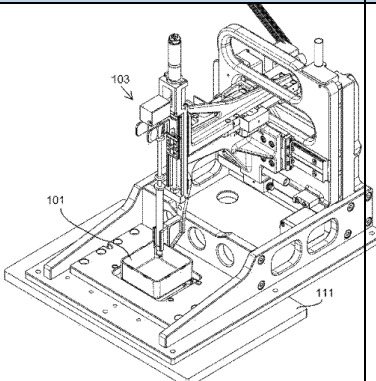
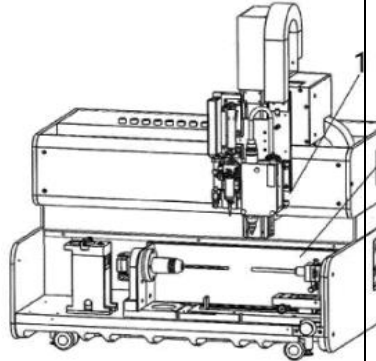
otra manera/tratamiento posterior de los productos formados, 67/00: técnicas de formado no cubiertas en otros grupos) con el 22% del total de patentes.

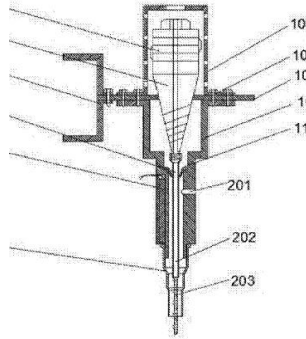
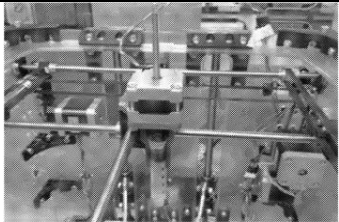
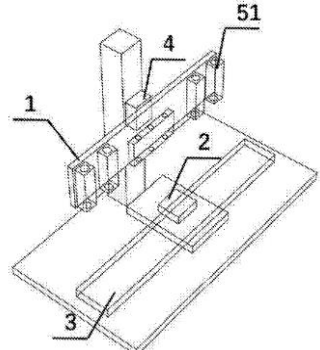
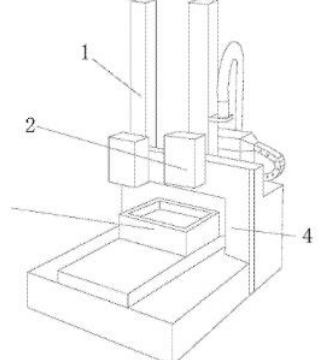
- B33Y 30/00 (B: Técnicas industriales diversas/transportes, 33: Tecnología de manufactura aditiva, Y: Manufactura aditiva/ /aglomeración aditiva o adición de capas, 30/00: aparatos para manufactura aditiva/detalles o accesorios) con el 15% del total de patentes.

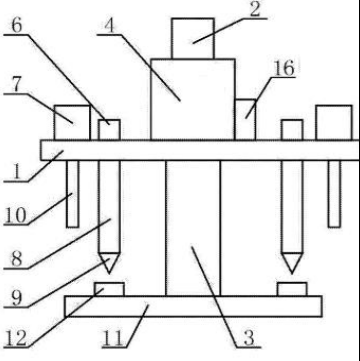
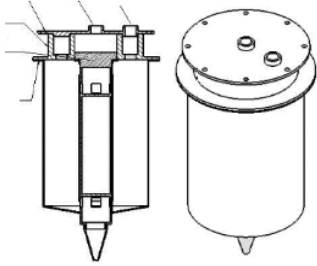
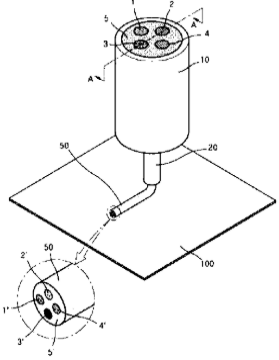
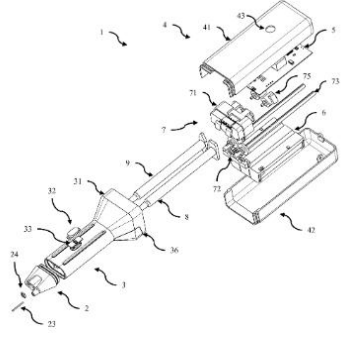
Con la información recabada se realizó una tabla con las patentes y su clasificación internacional (IPC) para su identificación, ver Tabla 5.

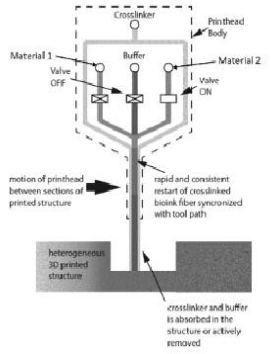
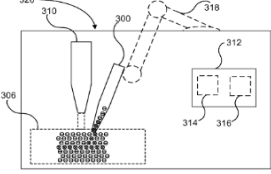
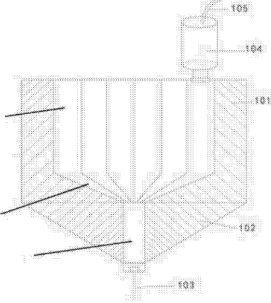
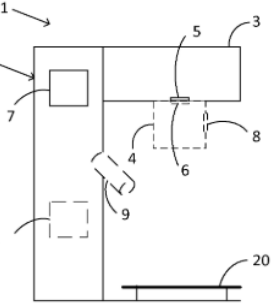
De los resultados que se obtuvieron de las patentes, se seleccionaron 32 que cumplieran con los requisitos de inclusión y exclusión de las cuales se observó lo siguiente tal como se indica en la Tabla 5.

*Tabla 5. Ventajas y desventajas patentes seleccionadas.*

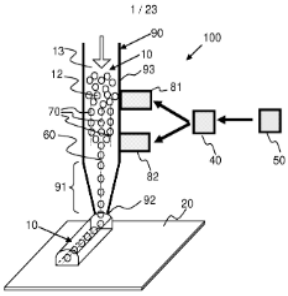
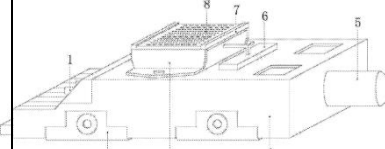
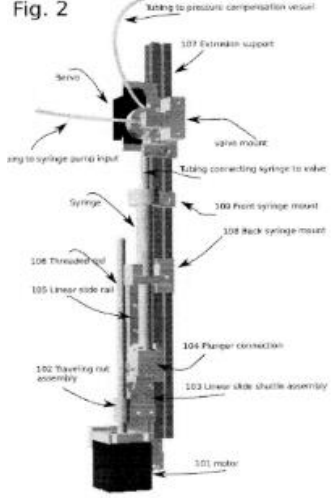
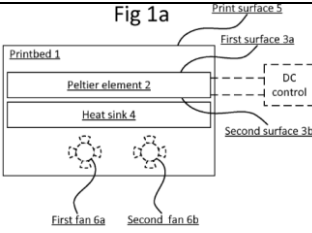
Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
DEKA PRODUCTS US2017369827 A1, (2010) A61F 2/06 [73]		Acciona husillos de bolas para permitir el movimiento lineal de los sistemas de dispensación, y permiten la impresión de un material biológico en un patrón preseleccionado en una placa de Petri.	Solo cuenta con la técnica de bioimpresión por extrusión.
REVOTEK CO LTD EP3513948 A1, (2018) A61F 2/06 [74]		Permite construir andamios de geometría cilíndrica	Solo se pueden construir tejidos de geometría cilíndrica, no se pueden construir tejidos de capas.

Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
UNIV HENAN POLYTECHNIC CN110063815 A, (2018) A61F 2/06 [75]		Refiere a un método de preparación de una boquilla ultrasónica para aplicar una onda longitudinal para preparar un stent vascular.	Solo aplica para construcción de vasos sanguíneos.
CEDARS SINAI MEDICAL CENTER WO2020006096 A1, (2018) A61L 27/00 [76]		Cuenta con un extrusor motorizado que puede extruir y retraer con precisión el embolo y de carga rápida.	Solamente cuenta con la técnica de bioimpresión por extrusión.
SUZHOU NUOPU REGENERATIVE MEDICINE CO LTD CN109760311 A, (2019) B29C 64/20 [77]		Refiere a un sistema de bioimpresión que cuenta con la técnica de extrusión y electrohilado.	No cuenta con la técnica de inyección de biotinta.
LIN ZHAN CN109878080 A, (2019) B29C 64/20 [78]		Bioimpresora que comprende estructuralmente una barra de guía del cabezal de impresión, un cabezal de pulverización de impresión, un módulo de impresión y un cuerpo de máquina.	Solo aplica la técnica de bioimpresión por inyección.

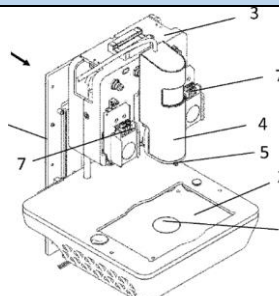
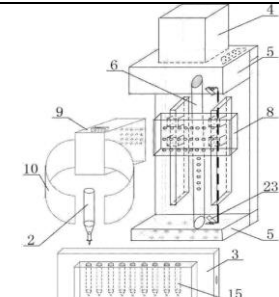
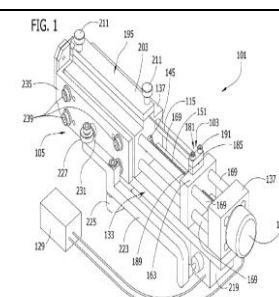
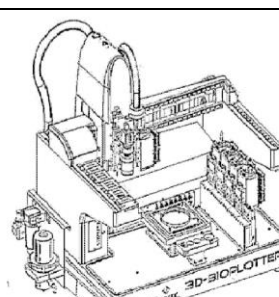
Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
CN110253880 A, (2019) B29C 64/20 [79]		Describe una impresora biológica 3D de trabajo paralelo.	Aplica para técnica de inyección de
UNIV YANGZHOU CN106426909 A B29C 64/106 [80]		Cambio rápido en control neumático adecuado colágeno/nanocelulosa compuesto para andamios de la piel.	Solo cuenta con la técnica de extrusión.
T & R BIOFAB COMPANY LIMITED JP2019516577 A, (2016) B29C 64/106 [81]		Comprende un método de impresión que usa un dispositivo de impresión de múltiples tintas.	Solo aplica a la técnica de bioimpresión por extrusión.
SMR PATENTS SARL WO2018166641A1, (2017) B29C 64/106 [82]		Aparato de impresión 3D de mano para realizar reparaciones quirúrgicas in situ, comprende un recipiente de reactivo curable por UV y un recipiente de reactivo de soporte de celda que se extruye coaxialmente desde una punta	No permite la deposición de las biotintas de forma automática

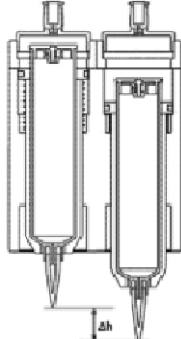
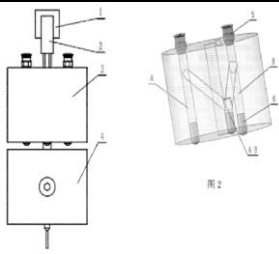
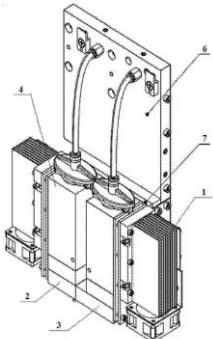
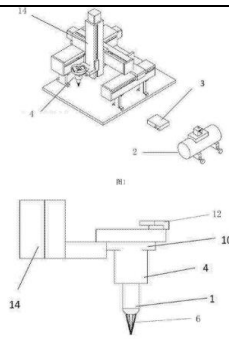
Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
<p>ASPECT BIOSYSTEMS LTD WO2018165761 A1, (2017) B29C 64/106 [83]</p>		<p>Cabezal de impresión para producir la estructura de fibra, comprendiendo un canal dispensador</p>	<p>Solo aplica a la técnica de bioimpresión por extrusión</p>
<p>WO2019197333 A1, 2018 B29C 64/106 [84]</p>		<p>Refiere a un método para disponer material celular en un material de bioenlace, gel o hidrogel utilizado en la bioimpresión</p>	<p>Aplica para técnica de inyección</p>
<p>HKABLE 3D BIOLOGIC PRINTING TECH CHONGQING CO LTD CN108145970 A, (2018) B29C 64/209 [85]</p>		<p>Refiere a una boquilla multi-entrada de una impresora de material biológico 3D</p>	<p>Solo aplica a la técnica de bioimpresión por extrusión.</p>
<p>CELLINK AB SE1750027 A1, (2017) B29C 64/209 [86]</p>		<p>Refiere a un bioimpresora 3D que comprende una unidad de base que tiene un soporte para el montaje de al menos un cabezal de herramienta</p>	<p>Tamaño del área de impresión depende del modelo.</p>

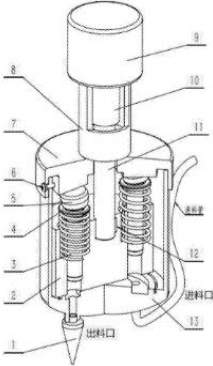
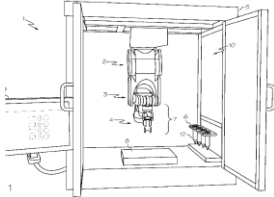
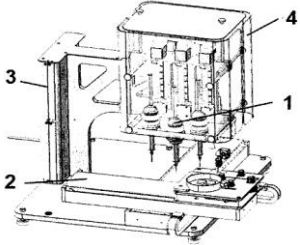
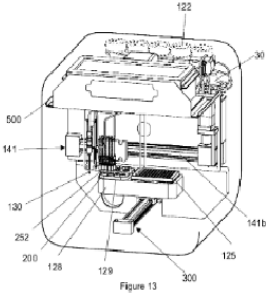


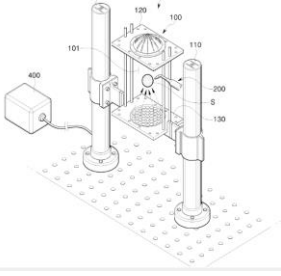
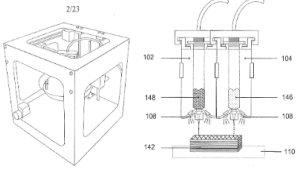
Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
UNIV NANYANG TECH WO2019103693 A1, (2018) B29C 64/209 [87]		Describe un aparato de impresión 3D, utiliza dos transductores acústicos que permiten la manipulación ultrarrápida de las biotintas, permitiendo que la impresión 3D se realice a un alto caudal	Solo aplica a la técnica de bioimpresión por extrusión.
ZHONG LONGJUN CN109968667 A, (2019) B29C 64/209 [88]		Describe una boquilla de calentamiento instantáneo, una placa de tracción, una placa de sujeción de montaje y una placa de posicionamiento del módulo	Solo es un módulo de un equipo de bioimpresión.
ROUSE RICHARD US2019210283 A1, (2017) B29C 64/209 [89]		Describe una bomba de jeringa y una configuración de válvula selectora de 3 vías y microfluidos interrelacionados y también se explican los actuadores lineales compactos accionados por motor paso a paso para mover herramientas en el cabezal.	Solo aplica a la técnica de bioimpresión por extrusión.
CELLINK AB EP3415300 A1, (2017) B29C 64/245 [90]		Refiere a la regulación de la temperatura de una cama de impresión.	Solo es un módulo de un equipo de bioimpresión.



Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
CELLINK AB WO2019145433 A1, (2018) B29C 64/245 [91]		Refiere a una bioimpresora que puede monitorizar un cultivo o construcción celular en la placa base.	Complejidad en el empleo del equipo.
UNIV TAIYUAN TECHNOLOGY CN110142974 A, (2019) B29C 64/393 [92]		Refiere a un dispositivo de control de cabezal de bioimpresora y al control de cambio de material de un cabezal.	Solo es un módulo de un equipo de bioimpresión.
UNIV MISSOURI US2016130551 A1, (2004) B29C 67/00 [93]		Comprende un sistema de extrusión.	Solo puede emplear biotintas para la técnica de extrusión.
UNIV NANTONG CN103057123 A, (2013) B29C 67/00 [94]		Comprende un cabezal de impresión, una caja de biotinta y una plataforma de impresión, se caracteriza porque la plataforma de impresión está provista de un dispositivo de refrigeración.	

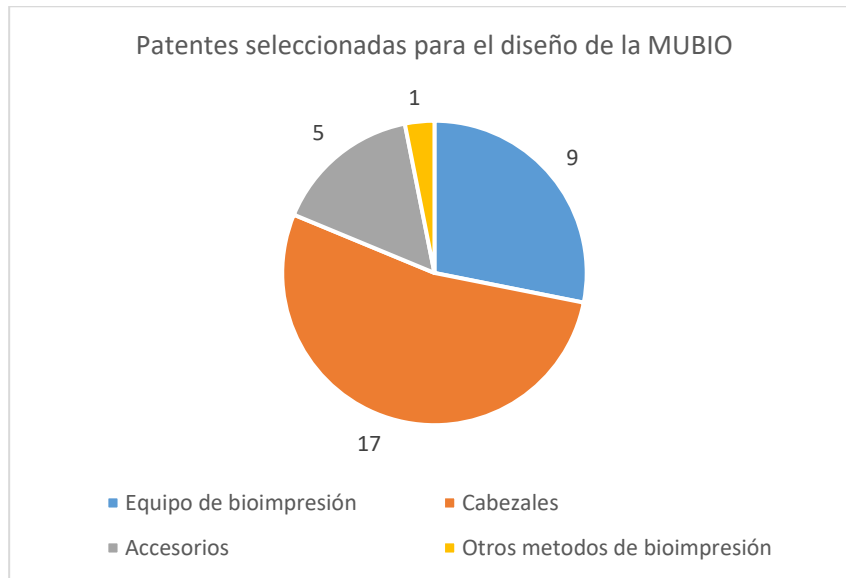
Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
HANGZHOU HANZHUO ELECTROMECHANICAL TECHNOLOGY CN104908321 A, (2015) B29C 67/00 [95]		Describe un método de control de una boquilla neumática de impresión biológica de doble acción con estructuras de cubierta espiral doble interna y externa.	Permite imprimir al menos dos biotintas.
UNIV ZHEJIANG CN104924614 A, (2015) B29C 67/00 [96]		Describe un pulverizador de impresión 3D biológico de conmutación rotativa para impresión de múltiples materiales y un método de impresión biológica 3D de conmutación rotativa.	Permite imprimir al menos dos biotintas.
SICHUAN REVOTEK BIOTECHNOLOGY CO LTD CN105652922 A, (2015) B29C 67/00 [97]		Describe un sistema de control de temperatura de bioimpresora el cual permite incrementar el tiempo de vida de las células en el contenedor.	Corresponde al sistema de control de temperatura.
JIANG QING CN105751510 A, (2016) B29C 67/00 [98]		Comprende una carcasa de barril de pluma y una pluma de impresión extraíble dentro de la carcasa de barril de pluma.	Solo cuenta con la técnica de extrusión para la bioimpresión.

Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
<p>UNIV ZHEJIANG CN105818389 A, (2016) B29C 67/00 [99]</p>		<p>Describe un dispositivo de boquilla de impresión 3D biológico autoaspirante y un método de control del mismo, elimina la necesidad de detenerse para reemplazar el dispositivo de boquilla cuando se aplica a la impresión continua de tejidos.</p>	<p>Solo cuenta con la técnica de extrusión.</p>
<p>ADVANCED SOLUTIONS LIFE SCIENCES EP3055133 A1, (2013) B33Y 30/00 [100]</p>		<p>Comprende un robot de seis ejes que proporciona la capacidad de imprimir en ángulo oblicuo, permite imprimir capas planas no secuenciales.</p>	<p>Solo puede emplear biotintas para la técnica de extrusión.</p>
<p>PRIVATE INSTITUTION LAB FOR BIOTECHNOLOGICAL RES 3D BIOPRINTING SOLUTIONS WO2016036275 A1, (2014) B33Y 30/00 [101]</p>		<p>Cuenta con 3 boquillas dispensadoras tipo Fishman, 2 boquillas tipo Nordson y un módulo de radiación UV en forma paralela a la plataforma.</p>	<p>No cuenta con cabezal extrusor de calentamiento para deposición de materiales como PCL.</p>
<p>INVENTIA LIFE SCIENCE PTY LTD WO2019109127 A1, (2017) B33Y 30/00 [102]</p>	 <p>Figure 13</p>	<p>Equipo de bioimpresión, cuenta con un sistema de carga de muestras en comunicación fluida con uno o más depósitos de retención.</p>	<p>Solo aplica a la técnica de bioimpresión por extrusión</p>

Patente	Imagen	Ventajas	Desventajas
ULSAN NAT INST SCIENCE & TECH UNIS KR102063128 B1, (2018) [103]		bioimpresora equipada con un dispositivo flotante acústico para suministrar biotinta.	Solo puede emplear biotintas de baja viscosidad.
BIOBOTS INC. AU2015236104 A1, (2014) B41F 33/00 [104]		Comprende una bioimpresora que incluye un módulo que emite a una longitud de onda de aproximadamente 405 nm o más.	Configuración establecida por la empresa.

En la Figura 26 se muestran los 4 grupos (Equipos de Bioimpresión, Cabezales, Accesorios y otros métodos de bioimpresión) en los que se dividió las 32 patentes seleccionadas de la búsqueda realizada.

Estos grupos de se seleccionaron debido a que hacen referencia a equipos de bioimpresión como tal y que permitía dar una idea de las consideraciones de los elementos que las conforman, el tipo de tecnología de impresión que se empleaban en los equipos que tenían los cabezales dispensadores, los elementos o accesorios que se pueden colocar al equipo de bioimpresión así como otras tecnologías de bioimpresión que mostraron que dependiendo del método de impresión a emplear son la cantidad de componentes y elementos que la integran y la configuración de sus elementos varían de disposición en el equipo al momento de ensamblarla tomando en cuenta también la consideración de la operación y mantenimiento.



*Figura 26. Clasificación de patentes.*

Después de analizar y clasificar la información encontrada relacionada con las patentes de bioimpresion, se seleccionaron 9 patentes, como se indica en la Tabla 6, que son las que corresponden a equipos o sistemas de bioimpresion y que se tomaron como referencia para el diseño de la MUBIO I-E 3D.

*Tabla 6. Patentes seleccionadas.*

Autor	Título	País	Año	Resultado
Liu H., Yang X	3D Bioprinter with Integration System	China	2019	Equipo bioimpresión
Lin Zhan	Biological Printer With Novel Biological Printer Printing Module	China	2019	Equipo bioimpresión
Duan Q., Jian A	3D Bioprinter Head Control Device and Material Changing Control Method of Head	China	2019	Equipo bioimpresión
He J., Hu X.,	Device for Printing Lumen Tissue Construct, Method for Using the Same and 3D Bioprinter	China	2018	Equipo bioimpresión
Gatenholm E., Martínez H.	3D Bioprinters with Cell Culture Monitoring Means	Suiza	2018	Equipo bioimpresión
Gatenholm E., Sternå E.	3D Bioprinters, a 3D Bioprinting Toolhead and a Method for 3D Bioprinting a Construct	Suiza	2017	Equipo bioimpresión
Gladkaya I. S., Khesuani Y	Device and Methods for Printing Biological Tissues And Organs	Rusia	2014	Equipo bioimpresión
Ding F., Gu X., Li G.	Dimensional Organism Printing System and Method for Preparing Nerve Regeneration Implant Based on Three-Dimensional Organism Printing System	China	2013	Equipo bioimpresión
Anastasiou J. C.	System and Method for Printing Tissue	Estados Unidos	2010	Equipo bioimpresión

Con esta información se pudo tener un panorama general sobre la configuración del equipo de bioimpresión que se diseñó, las características de los módulos que debía integrar y las consideraciones a tener en cuenta para que el diseño propuesto cubriera los requisitos de novedad e invención que permitieron que se pudiera patentar la MUBIO I-E 3D.

## Capítulo 4

### 4.1 Diseño de la MUBIO I-E 3D

En el diseño y fabricación de la bioimpresora, se partió de los requerimientos del usuario, así como de los requerimientos normativos y funcionales. Por lo que en este capítulo se muestra el diseño que se aplicó para el desarrollo del modelo físico de la MUBIO I-E 3D.

La metodología de diseño se basa en la fabricación de una bioimpresora basada en un diseño centrado en el usuario como una solución que reduce las actividades de prueba y error. La metodología de diseño propuesta busca satisfacer las necesidades de los usuarios y proporcionar una solución al requerimiento del empleo de un equipo de bioimpresión que permita el empleo de diversas biotintas e hidrogeles.

### 4.2 Diseño para el ensamble

Con la información recabada se empleó el índice de diseño para el ensamble (por sus siglas en inglés DFA Index) con el método de Lucas, la cual tiene los siguientes principios [105]:

- Número mínimo de componentes.
- Piezas con ubicaciones obvias o características de auto localización.
- Piezas con cierre automático.
- Cantidad mínima de componentes de reorientación o cuerpo completo.
- Diseño de ensamblaje liso para recuperar, manipular e insertar piezas.
- Énfasis en diseños de arriba hacia abajo.
- Piezas estandarizadas.
- Diseño modular.
- Marco o pieza base para componentes.
- Simetría.

El método Lucas DFA fue desarrollado a principios de la década de 1980 por Lucas Corporation en el Reino Unido. Se basa en una escala de puntos que proporciona una medida relativa de la dificultad de ensamblaje [105].

El método se basa en tres análisis separados y secuenciales. Estos se describen mejor como parte del ensamblaje

1. Especificación
2. Diseño
3. Análisis funcional (primer análisis de Lucas)
4. Análisis de alimentación (segundo análisis de Lucas)
5. Análisis de ajuste (tercer análisis de Lucas)
6. Valoración

#### Análisis funcional

En este análisis, los componentes del producto se revisan solo por su función. Los componentes se dividen en dos grupos. Las partes que pertenecen al Grupo A son aquellas que se consideran esenciales para la función del producto; mientras que el Grupo B no son esenciales. Las funciones del grupo B incluyen fijación, localización, por citar algunos.

La eficiencia funcional del diseño se puede calcular como:

$$Ed = \frac{A}{(A + B) \times 100\%}$$

donde  $A$  es la cantidad de elementos esenciales y  $B$  es la cantidad de elementos no esenciales.

La eficiencia del diseño se utiliza para preseleccionar una alternativa de diseño antes de dedicarle más tiempo.

Típicamente, una eficiencia de diseño del 60% está dirigida a los diseños iniciales.

Asimismo, se empleará el índice de comunalidad (por sus siglas en inglés, Commonality Index) propuesto por Martin e Ishii [106], donde varía de 0 a 1:

$$IC = 1 - \frac{u - \max P_j}{\sum_j^n P_j - \max P_j}$$

Dónde:



- $u$  = Número de componentes únicos
- $P_j$  = Número de componentes en el modelo  $j$
- $n$  = Número final de variedades ofrecidas

Un  $IC$  más alto es mejor ya que indica que las diferentes variedades dentro de la familia de productos se están logrando con menos componentes únicos. El  $IC$  se puede interpretar como la relación entre el número de componentes únicos en una familia de productos y el número total de componentes en la familia

Obteniéndose que el  $IC$  es de 68.1%.

### 4.3 Voz del cliente

Con la estancia de investigación realizada en la Escuela Militar de Medicina (EMM) y colaboración en el Instituto Nacional de Rehabilitación se logró tener contacto con personal especialista que tiene experiencia en el empleo de equipos de bioimpresión. Lo cual permitió escuchar las opiniones y consideraciones respecto al equipo con que cuentan, las ventajas y desventajas de estos y también de la experiencia respecto al servicio posventa y el mantenimiento. Todo esto sirvió para plasmarlo en la tabla 7 de requerimientos del cliente (Que) y los requerimientos funcionales

*Tabla 7. Voz del cliente para el diseño de la MUBIO I-E 3D.*

Requerimientos del usuario: Voz del cliente (VOC) / (QUE)	Requerimientos funcionales (COMO)
<b>1.- Usuario</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Diversos tipos de andamios</li> </ul>	MUBIO I-E 3D Empleo de diversos materiales
<ul style="list-style-type: none"> <li>Funcionamiento sencillo</li> </ul>	Sistema con 3 cabezales que cuente con: Presión de operación Resolución de impresión Control de temperatura del cabezal termoplástico Control de temperatura de biomaterial Control de temperatura de la plataforma Diámetro de salida del termoplástico Velocidad de deposición
<b>2.- Estado del arte (mejoras)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tamaño</li> <li>Portabilidad</li> <li>Durabilidad</li> <li>Horas de operación</li> <li>Economía</li> </ul>	Área Volumen de construcción Peso Materiales Rigidez estructural Mantenimiento Precio

## 4.4 Quality Function Deployment (QFD)

Otra herramienta que se empleó fue el despliegue de la función de calidad (Quality Function Deployment QFD), la información al respecto se puede ver a detalle en <http://www.qfdonline.com/> donde el análisis de la QFD se realizó con base en la voz del cliente. Los datos obtenidos de la voz a su vez permitieron que se convirtieran en requerimientos funcionales para el equipo de bioimpresión MUBIO I-E 3D como se observa en la Figura 27 donde se muestra un segmento de la QFD para la MUBIO.

Prioridad	Mejora Requerimientos Funcionales Voz del Cliente	Área de Impresión	● cantidad de dispensadores	▲ Capacidad de volumen de material	▲ Velocidad de recorrido	◇ Precisión de posicionamiento	◇ Diámetro de la boquilla	◇ Presión	
									▽
1	8	Empleo de material termoplástico	▽	●	○	○	○	●	▽
2	4	Rapidez de deposición de materiales	▽	○	●	●	●	●	●
3	5	Precisión del equipo	○	○	○	●	●	●	●
4	4	Control de temperatura de dispensación del material	▽	○	▽	○	●	○	○
5	5	Control de la presión de alimentación del material	○	●	●	●	●	●	●
6	6	Velocidad de impresión	●	○	○	●	●	●	●
7	8	Variedad de geometrías de impresión	○	○	▽	○	○	▽	○
8	9	Empleo de hidrogel	▽	●	●	●	●	●	●
9	3	Área de trabajo	●	○	●	○	○	▽	▽
		Objetivo	227 x 148 x 150 mm	3 dispensadores	Jeringas de 50 CC máximo	100 mm/s	XY: 25 micrómetros	0.5-1.75 mm	0.5-1.75 mm
		Dificultad	3	9	8	4	3	5	2

Figura 27. QFD MUBIO I-E 3D.

## 4.5 Parámetros de funcionamiento

La obtención de los parámetros de funcionamiento se realizó en base la metodología en la que se determinan el rango común de operación del equipo o sistema, el rango del sistema como tal, el rango de diseño que se espera alcanzar, tomando en consideración los requerimientos funcionales para el desempeño del equipo o sistema, en donde en la Figura 28 se puede observar cómo se ejemplifica.

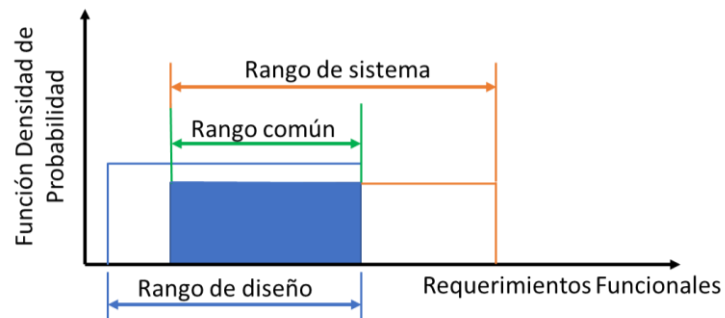


Figura 28. Parámetros del sistema.

Una vez que se aplicó el axioma de información se pudieron obtener las siguientes graficas en donde se muestra el valor objetivo para cada uno de los parámetros considerados para el sistema propuesto como es velocidad, presión de operación, área de construcción, volumen de construcción, resolución de impresión, resolución de posicionamiento "XY", resolución de posicionamiento "Z", control de temperatura del cabezal termoplástico, control de temperatura biomaterial, control de temperatura plataforma, diámetro de salida de material, lámpara UV-A y peso del equipo como se muestra en la Figura 29.

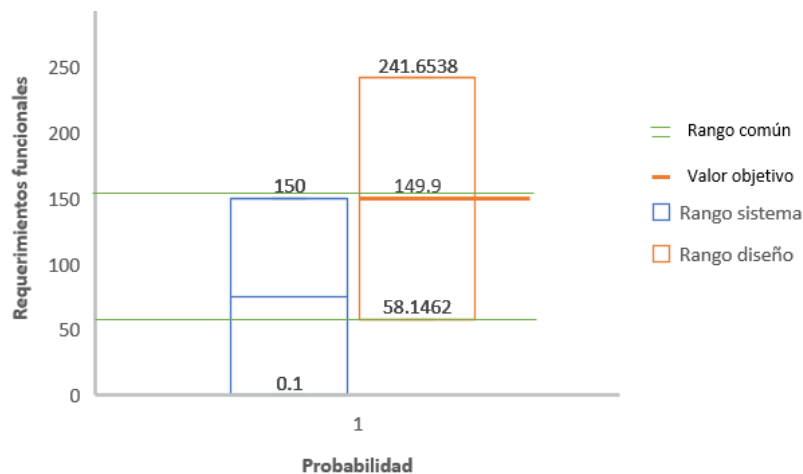


Figura 29. Parámetro velocidad.

## 4.6 Identificación de subsistemas

La identificación de los subsistemas de la bioimpresora se estableció con base en la revisión del estado del arte así como de las patentes encontradas, quedando la MUBIO I-E 3D comprendida por 5 subsistemas que constan de un equipo de suministro de archivo para bioimpresión, interfaz usuario, grupo de control, conjunto de deposición configurable y grupo de elementos estructurales y de posicionamiento como se muestra en la Figura 30.

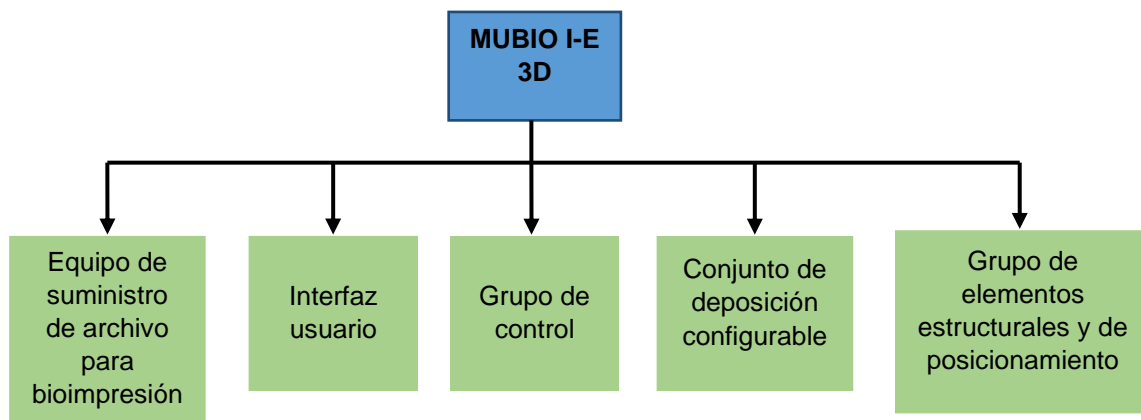


Figura 30. Diagrama de los sistemas de la MUBIO.

Los elementos de los subsistemas de la bioimpresora MUBIO I-E 3D son las que describen a continuación en la Tabla 7.

Tabla 8. Elementos de bioimpresora.

	Subsistema	No.	Descripción
1	Equipo de suministro de archivo para bioimpresión		
2	Interfaz usuario	1	
3	Grupo de control	1	Puerto USB
		2	Caja de control
		3	Interruptor
		4	Motor de plataforma
		5	Motor de elevación izquierdo
		6	Motor de elevación derecho
		7	Motor horizontal izquierdo
		8	Motor horizontal derecho
		9	Motor trasero
		10	Motor delantero
		11	Motor de extrusión
		12	Paro de emergencia

	Subsistema	No.	Descripción
4	Conjunto de deposición configurable	1	Placa frontal
		2	Soporte estructura frontal
		3	Soporte estructura posterior
		4	Base la plataforma de deposición
		5	Plataforma de deposición
		6	Área de trabajo
		7	Acoplamiento banda-hidrogeles
		8	Acoplamiento banda-termoplástico
		9	Jeringa
		10	Embolo
		11	Extrusor
		12	Elemento de sujeción rápida
		13	Placa posterior
		14	Impulsor giratorio
		15	Acoplamiento de embolo
		16	Rueda derecha
		17	Rueda izquierda
		18	Ejes de giro
		19	Broche de sujeción rápida
5	Grupo de elementos estructurales y de posicionamiento	1	Soporte detrás de la cubierta
		2	Elemento de movilización
		3	Elemento de detención
		4	Elemento de plataforma
		5	Elemento frontal
		6	Elemento lateral izquierdo
		7	Elemento lateral derecho
		8	Elemento posterior
		9	Elemento de soporte frontal izquierdo
		10	Elemento de soporte posterior izquierdo
		11	Elemento posterior derecho
		12	Elemento frontal derecho
		13	Elevador frontal izquierdo
		14	Elevador posterior izquierdo
		15	Elevador posterior derecho
		16	Elevador frontal derecho
		17	Banda de plataforma
		18	Polea frontal
		19	Polea posterior
		20	Banda frontal
		21	Polea frontal derecha
		22	Polea frontal izquierda
		23	Banda posterior
		24	Polea posterior izquierda
		25	Polea posterior derecha
		26	Eje de elevación izquierdo
		27	Eje de elevación derecho
		28	Soporte superior izquierdo
		29	Soporte superior derecho

	Subsistema	No.	Descripción
5	Grupo de elementos estructurales y de posicionamiento	30	Elemento vertical izquierdo
		31	Elemento vertical derecho
		32	Soporte de elevación izquierdo
		33	Soporte de elevación derecho
		34	Soporte horizontal izquierdo
		35	Soporte horizontal derecho
		36	Acoplamiento de elevación izquierdo
		37	Acoplamiento de elevación derecho
		38	Soporte inferior izquierdo
		39	Soporte inferior derecho

Con los subsistemas establecidos se procedió a realizar el diseño CAD de la MUBIO.

#### 4.7 Diseño CAD de la MUBIO I-E 3D

Entendiendo el concepto de la función que debe realizar el módulo dispensador observar la Figura 31, en donde se indica la aplicación de una fuerza en el émbolo de la jeringa para extruir el hidrogel o biotinta con una geometría específica, se procede a realizar el bosquejo de las posibles soluciones.

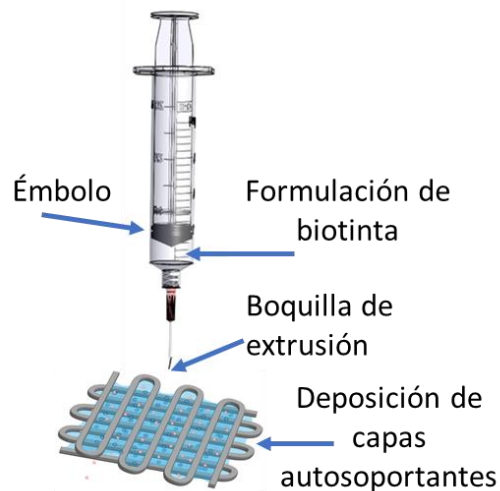


Figura 31. Concepto de funcionalidad del módulo dispensador.

Empleando el programa de diseño SolidWorks se procedió a elaborar el CAD del módulo dispensador de la MUBIO I-E 3D como se observa en la Figura 32.

En este diseño del módulo dispensador de jeringa se elaboró como la primera propuesta de funcionamiento de los cabezales dispensadores de hidrogel, el cual posteriormente se fue refinando.

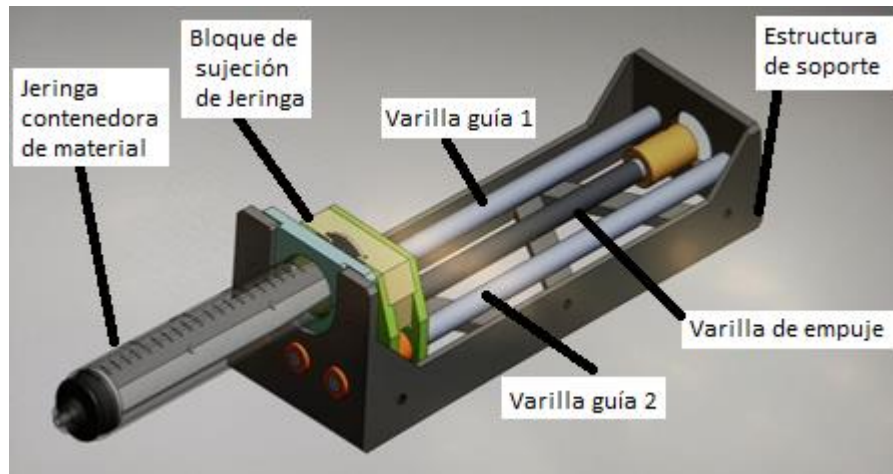


Figura 32. Primer concepto CAD módulo dispensador.

Una vez obtenido el modelado del módulo dispensador de se procedió a realizar el acoplamiento en el que será el banco de pruebas, consistiendo en una cubierta protectora en donde se colocaría el módulo dispensador sobre unas guías de desplazamiento sobre el eje Y, así como espacio en la parte superior de la tapa para colocar los motores de accionamiento del módulo dispensador como se observa en la Figura 33.

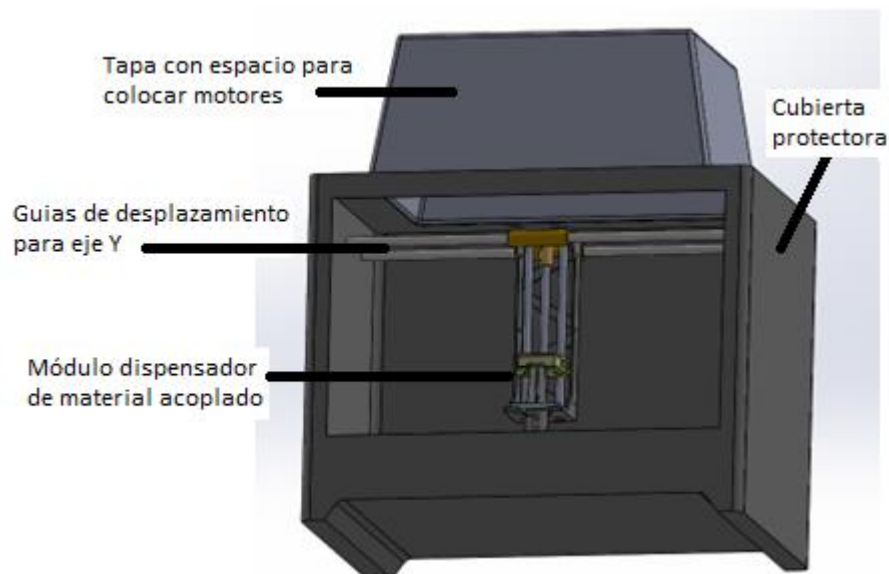


Figura 33. Modelado del acoplamiento del módulo dispensador.



Posteriormente se elaboró un nuevo concepto de acoplamiento del motor con la jeringa, realizando pruebas con cada uno de los 2 módulos dispensadores como se observa en la Figura 34.

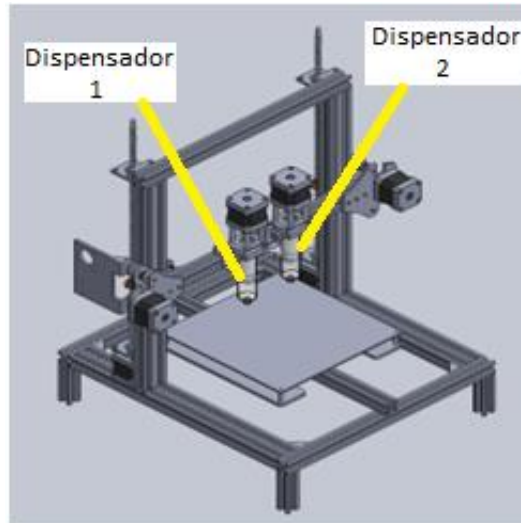


Figura 34. Segundo concepto del acoplamiento del módulo dispensador.

Una vez que se comprobó el funcionamiento de los cabezales de las jeringas, se estableció como se observa en la Figura 35 la ubicación del cabezal para material termoplástico (extrema derecha), esto en virtud de requerirse optimizar el espacio del área de impresión ya establecido y considerando la menor cantidad de componentes.

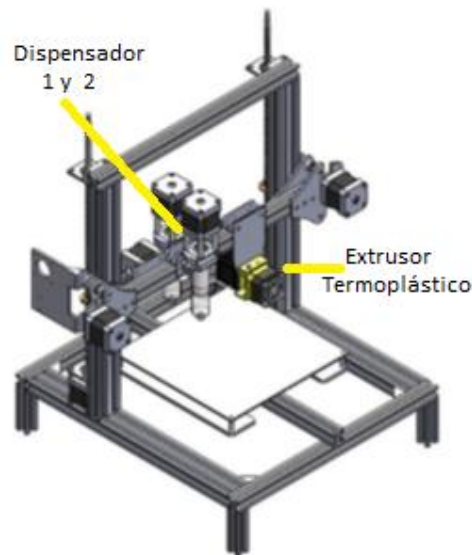


Figura 35. Tercer concepto del acoplamiento del módulo dispensador.



En la Figura 36 se muestra la MUBIO de vista isométrica con todos sus componentes que incluyen el sistema de la base, el sistema de la placa base, el sistema de soporte principal, el sistema de impresión, en la parte posterior rollo de filamento, la pantalla, botón de paro de emergencia, botón de encendido y conexión USB para computadora.

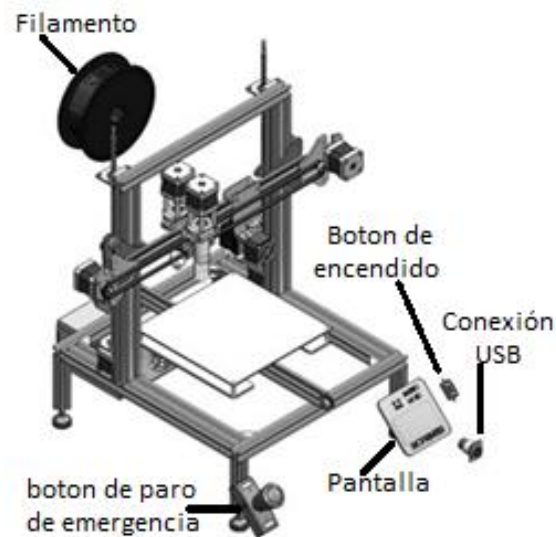


Figura 36. MUBIO con componentes.

En la Figura 37 se observa la configuración del diseño de la MUBIO con carcasa que fue motivo de trámite de patente ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial y se muestran los principales componentes que integran la MUBIO.

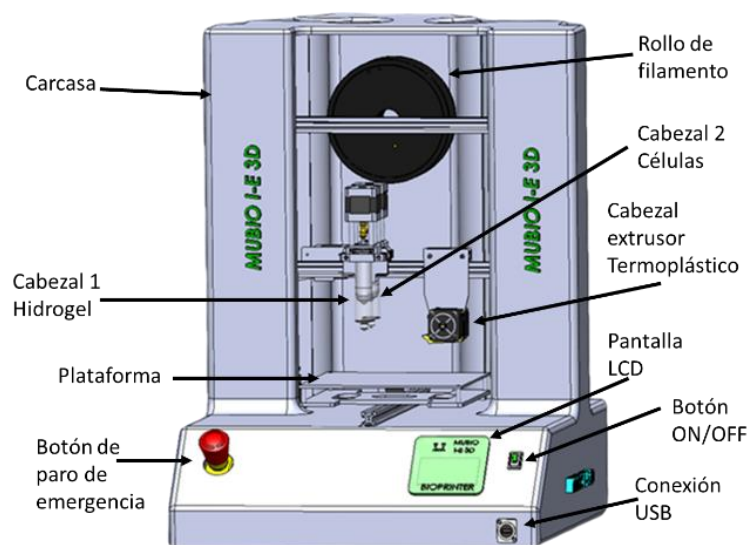


Figura 37. Concepto final MUBIO.

## 4.8 Proceso de selección de componentes

Para dar cumplimiento a las características requeridas para la bioimpresora se realizó la selección de los componentes que integraron la MUBIO I-E 3D de acuerdo a los criterios siguientes: componentes comerciales que cumplieran los requerimientos de funcionamiento, de tiempo de entrega inmediato, así como de accesibilidad económica.

En la tabla 9 se puede ver un listado de los principales materiales empleados y su costo.

*Tabla 9. Listado de componentes MUBIO I-E 3D.*

Descripción	Marca	Cantidad	Precio unitario	Total
Tarjeta de control Reprapdiscount	Rumba	1	\$ 1,150	\$1,150.00
Pantalla LCD 2004a, con controlador Impresora 3d, Ramps 1.4 Lector Sd	Tecneu	1	\$ 574	\$574.00
Extrusor (Kit) Reprap Prusa p/extrusora 1.75mm Impresora 3d	Mk-8	1	\$ 890	\$890.00
Sensor de carrera	HiLetgo	2	\$ 265	\$530.00
Varilla Roscada Acme de 8mm, 40cm de Largo con Tuerca	Threed	2	\$ 277	\$554.00
Banda correa dentada GT2	CNcenter	2	\$ 119	\$238.00
Motor paso a paso Nema 17, 2 A, 45 Ncm, longitud de 40 mm para impresora 3D	Tresd print tech	6	\$ 250	\$500.00
Driver Drv 8825	Tresd print tech	5	\$ 100	\$500.00
Fuente de poder	Steren	1	\$ 2,000	\$2,000.00
Base de soporte motor	LMEX	2	\$ 213	\$426.00
Plataforma base	Generic	1	\$ 706	\$706.00
Placa con ruedas con ranura V	Unit Electronics	2	\$ 215	\$430.00
Perfil Aluminio tramo	Perfil negro	1	\$ 1,200	\$1,200.00
Conexión coaxial p/ jeringa	Segal	1	\$ 1,390	\$1,390.00
Jeringas 50 ml	Nordson	2	\$ 100	\$ 200.00
				\$11,288.00

A continuación se describen 2 de los principales elementos de la bioimpresora (tarjeta de control y extrusor termoplástico).

### 4.8.1 Tarjeta de control

La consideración para la selección del tipo de tarjeta a emplear fue que pudiera permitir el control de los motores de los 3 módulos de impresión, así como de los motores para efectuar el movimiento tanto en el eje “y” como el eje “z” como se observa en la Figura 38, es decir que se seleccionó la tarjeta que contó con la mayor capacidad para control de accionamiento de motores para controlar adecuadamente los desplazamientos de los cabezales dispensadores.



*Figura 38. Tarjeta Rumba.*

Especificaciones de la tarjeta Rumba empleada en la MUBIO I-E 3D se encuentran en la tabla 10.

*Tabla 10. Especificaciones tarjeta Rumba.*

Especificaciones	
Procesador	ATmega 2560
Voltaje de funcionamiento	12-35 V
Tamaño de la tarjeta	135 x 75 mm
Termistores	5
Mosfet para enviar corriente	5

La programación de la tarjeta se realizó empleando el entorno de desarrollo integrado Arduino versión 1.8.14 la cual es una plataforma de hardware libre que sirvió para cargar la información a la tarjeta Rumba del equipo de bioimpresión.

El diagrama de conexión de la tarjeta se observa en la Figura 39.

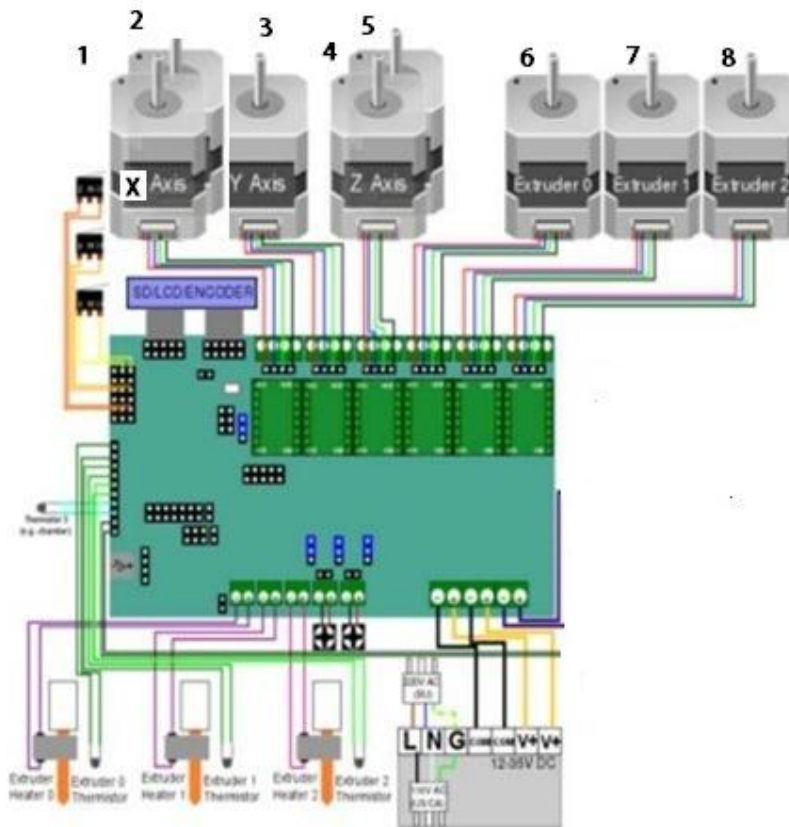


Figura 39. Diagrama de conexión.

El código de programación que se empleó es el correspondiente a Marlin versión 1.8.14, en la dirección: <https://marlinfw.org/meta/download/> un código abierto que se encuentra disponible en la red el cual se empleó para lograr el funcionamiento de los 3 módulos que consisten en 2 dispensadores de hidrogel y 1 dispensador de material termoplástico.

#### 4.8.2. Extrusor termoplástico

Las especificaciones técnicas del extrusor que se observa en la Figura 40, seleccionado para el equipo de bioimpresión es el siguiente como se indica en la tabla 11.



Figura 40. Cabezal de extrusión termoplástico.

Tabla 11. Especificaciones técnicas para módulo de extrusión termoplástico.

Especificaciones técnicas del módulo de extrusión termoplástico	
Boquilla de extrusión	0.3, 0.35, 0.4, 0.5 mm
Material de impresión	PLA, ABS
Velocidad promedio de impresión	40 mm/s
Voltaje	12 V
Peso	14.6 Kg
Dimensiones	54x42x56 cm

## 4.9 Programa de interfaz

Como interfaz con el usuario para establecer los parámetros de operación así como del archivo que se trabajara se seleccionó el programa Repetier es un software de impresora 3D que realiza la función de controlar y observar el estado de la bioimpresora en forma continua y que permite trabajar con archivos con extensión .stl y es de código abierto (Disponible en: <https://www.repetier.com/>).

Las ventajas de utilizar este programa es que facilita la visualización de los desplazamientos de los extrusores y las estructuras soporte que llegue a requerir el archivo 3D empleado. Asimismo detecta problemas que pudiera llegar a presentarse en alguna de las capas del modelo previo al proceso de impresión.

Los archivos que puede trabajar son formatos de tipo .STL, OBJ, 3DS, convirtiéndolos en un formato de salida Gcode.

En la siguiente dirección se puede observar la secuencia para cargar un archivo y poder visualizar el modelo previo a la impresión del objeto o andamio

#### 4.10 Proceso de fabricación de la MUBIO I-E 3D

El proceso de fabricación de la MUBIO I-E 3D consistió de los siguientes pasos: El corte del material de los tramos rectangulares de aluminio que posteriormente sirvió para fabricar el ensamble de la base, el ensamble de la plataforma y ensamble de la estructura de soporte, ya que se tienen armados esos 3 ensambles se procedió al ensamble total de la estructura de la MUBIO, donde posteriormente se efectuó la colocación de los motores, la colocación del cableado, sensores y tarjeta de control, una vez que se tiene armado lo anterior se realizó la programación para poder tener el ensamble final de la MUBIO I-E 3D.

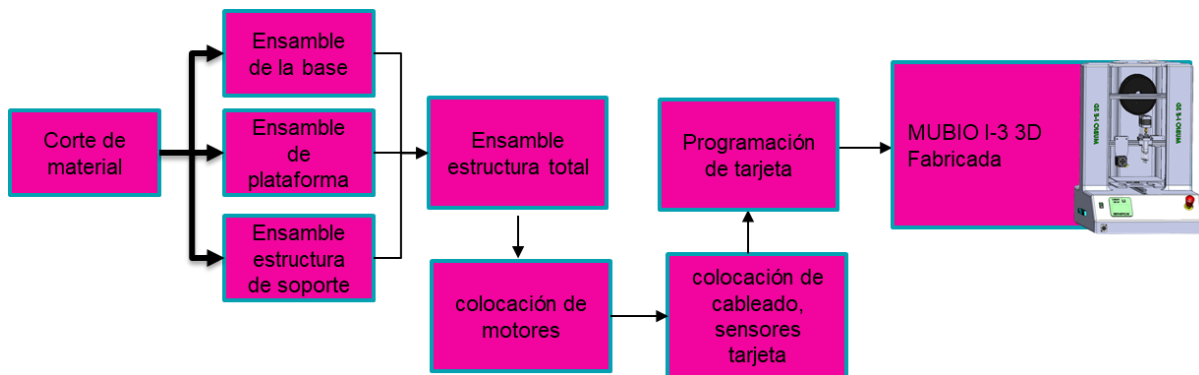


Figura 41. Proceso de fabricación de la MUBIO.

La secuencia de ensamble de la base se indica con mayor detalle en el Anexo A y B, el ensamble de la placa base queda como se observa en el anexo C y D, el ensamble del soporte principal queda como se observa en el Anexo E y F, enseguida se procede con el ensamble del sistema de impresión, como se observa en el Anexo G y H, donde el ensamble explosionado de los sistemas de la MUBIO se observan en el anexo I, y donde el ensamble final de los sistemas queda como se observa en el anexo J.



El ensamble final del conjunto de subsistemas queda como se observa en la Figura 42 y 43.

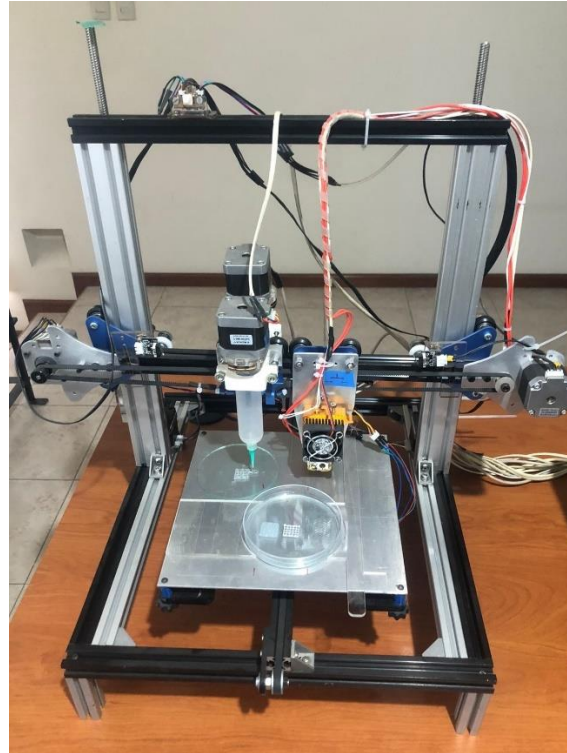


Figura 42. MUBIO ensamble total.

En la figura 43 se observa cómo queda el ensamble de la caja de control, la cual cuenta con una pantalla para visualizar el accionamiento de movimientos manuales del desplazamiento de los cabezales de la MUBIO.



Figura 43. Caja de control.



## 4.11 Experimentación

Con la finalidad de comprobar tanto el funcionamiento de los diferentes componentes, así como el adecuado desplazamiento y seguimiento de las trayectorias de recorrido de la MUBIO se seleccionó un archivo de extensión .STL correspondiente a una nariz con el software Repetier® para que se pudiera comprobar que las instrucciones de movimiento son enviadas adecuadamente para el accionamiento de las jeringas y del cabezal termoplástico.

Debido a los requerimientos administrativos de la Escuela Militar de Medicina y el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) que implicaban un mayor tiempo de autorización del empleo de células, se optó por el material que se seleccionó para comprobar el desempeño de la MUBIO fue con Silicon el cual tiene las siguientes propiedades como se observa en la Tabla 12.

*Tabla 12. Especificaciones técnicas silicón.*

Especificaciones	Valor
Color	Transparente-blanco
Densidad (DIN 53479-9)	0.98 Kg/L
Tiempo de secado	25 minutos
Velocidad de curado	1.5 mm/24 horas
Capacidad de movimiento	20 % (ISO 11600)
Escurrecimiento (DIN EN 27390)	<2 mm.
Temperatura de servicio	-40 °C a + 150 °C.
Resistencia a la tensión (ISO 8339)	0.6 N/mm <sup>2</sup> (6.1 kg/cm <sup>2</sup> )
Resistencia al desgarre (DIN 24 método C)	4 N/mm (4.1 kg/cm)
Dureza de Shore A (ISO 868)	>18
Módulo de elasticidad	~0,36 N/mm <sup>2</sup> al 100 % de elongación (3,7 kg/cm <sup>2</sup> al 100 % de elongación)
Recuperación elástica (DIN EN 26389)	>90 %
Temperatura del soporte	+ 5 °C a + 40 °C
Temperatura ambiente	+ 5 °C a + 40 °C
Extrusión	370 g/min

Visualización en pantalla al cargar archivo en el software Repetier® como se muestra en la Figura 44, en donde se efectuó la selección de parámetros de velocidad y desplazamiento del cabezal de hidrogel.

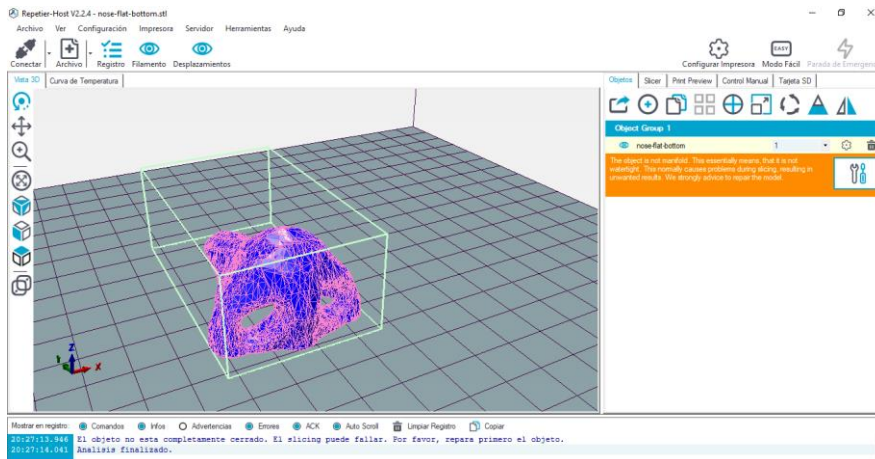


Figura 44. Carga de archivo.

Se realizaron diversos tipos de pruebas de impresión tanto para los cabezales de hidrogel como con el cabezal extrusor de termoplástico utilizando modelos en 3D como la nariz (silicón) y 2D como la malla rectangular (PLA) como se muestra en la Figura 45.

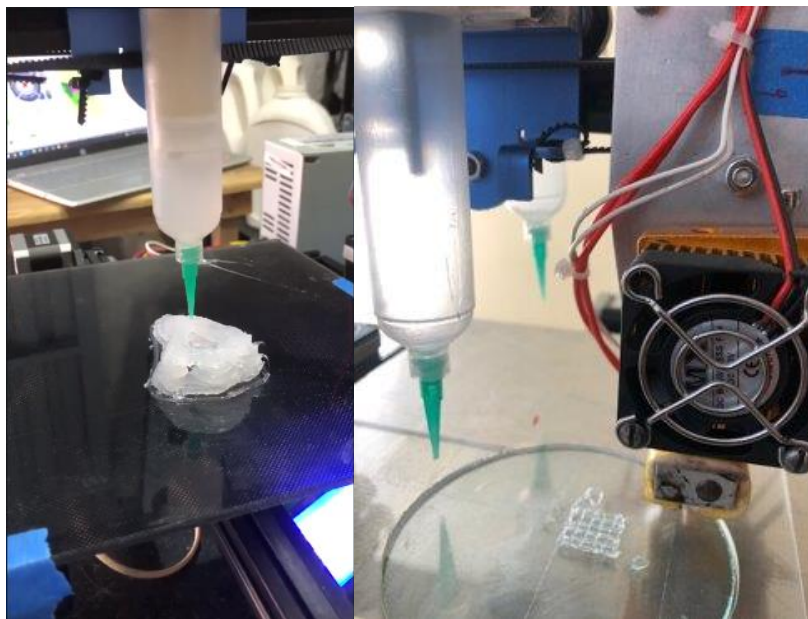
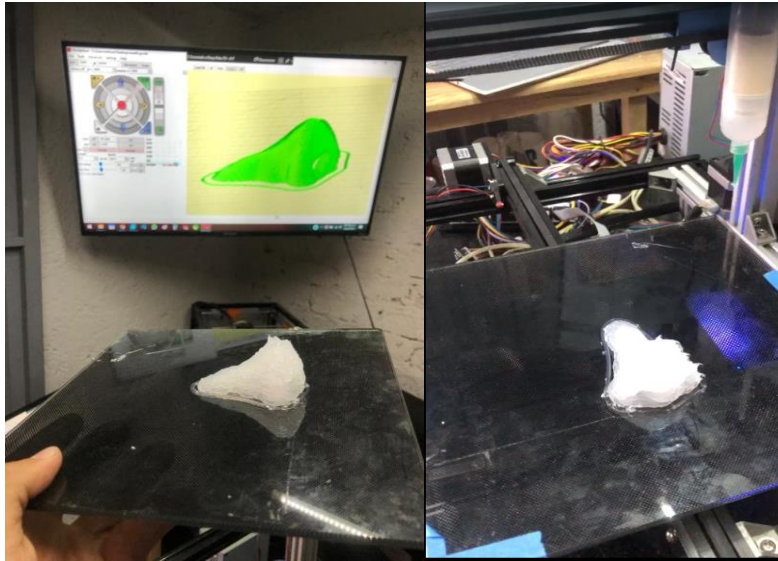


Figura 45. Prueba de cabezales.

En la Figura 46 se muestra la impresión del archivo de una nariz en el que se comprobó que la selección de parámetros de velocidad y desplazamiento en donde después de realizar la corrección de los parámetros correctos se logró la obtención del modelo de la nariz.



*Figura 46. Nariz obtenida.*

En la figura 47 se puede observar la impresión de la nariz con detalle en la que se observan la trayectoria del desplazamiento de los cabezales.



*Figura 47. Conformación de las capas de nariz.*

Otra de las pruebas realizadas para ver el desempeño de la impresión como se observa en la Figura 48, fue el de una malla de 3 capas con forma de cuadrado de 5x5 centímetros para comprobar el funcionamiento de los 2 cabezales trabajando simultáneamente en la que se empleó silicón transparente y silicón blanco.



Figura 48. Malla entrecruzada 3 capas..

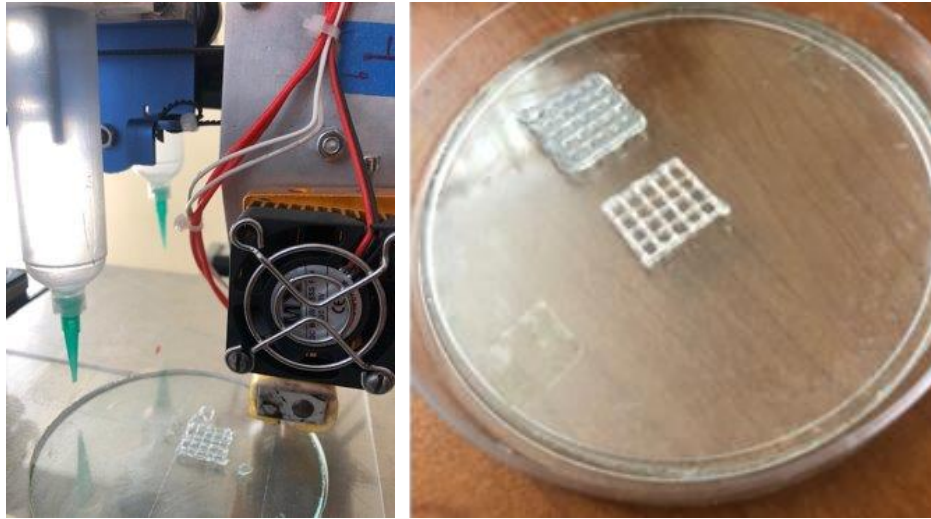
En la Figura 50 se observa la impresión de un modelo en 2D de forma de hexágono de 5 x 5 centímetros realizándose con los cabezales de hidrogel y empleándose silicón como elemento para ejemplificar la presión de la deposición.



Figura 49. MUBIO ensamble total.



En la Figura 51 se observan 2 modelos impresos de malla cuadrada en material de silicón y material PLA, empleando el cabezal 1 para material de hidrogel y empleando el cabezal 3 extrusor de termoplástico.



*Figura 50. Impresión en 2 materiales.*

## Capítulo 5

### Resultados

#### 5.1 Resultado de parámetros de funcionamiento

Como resultado de aplicar el axioma de información se pudieron obtener los valores objetivo para cada uno de los parámetros considerados para el sistema propuesto en la MUBIO como se observa en la Tabla 13.

*Tabla 13. Identificación del valor objetivo de la MUBIO I-E 3D.*

	Parámetro	Límite inferior y Límite Superior	Promedio	Rango de Diseño Inferior	Rango de Diseño Superior	Valor objetivo
1	Velocidad (mm/s)	0.1-150	75.05	58.14	241.65	149.9
2	Presión de operación (psi)	0.7-130	77.40	53.98	204.57	129.2
3	Área de construcción (cm <sup>2</sup> )	104-225	184.6	42.94	199.05	121
4	Volumen de construcción (cm <sup>3</sup> )	1040-3150	2221.6	1044.5	3175.5	2110
5	Resolución de impresión (mm)	0.0001-0.15	0.25	-0.05	0.35	0.14
6	Resolución de posicionamiento eje "X" y "Y"(mm)	0.10-0.15	0.11	-0.004	0.10	0.05
6A	Resolución de posicionamiento Eje "Z" (mm)	0.0025-0.004	0.03	0.04	0.15	0.1
7	Control de temperatura del cabezal termoplástico (°C)	30-250	250	94.43	405.5	250
8	Control de Temperatura de biomaterial (°C)	0.00-130	100	53.18	206.8	130.00
9	Control de temperatura de la plataforma (°C)	-10.00-120	88.6	35.26	184.7	110.00
10	Diámetro de salida del termoplástico (mm)	0.05-0.4	0.18	0.13	0.56	0.35
11	Lampara UV-A (nm)	0.00-365	365.00	106.9	623	365.00
12	Peso (Kg)	20	87.5	51.39	168.6	110

## 5.2. Resultado de especificaciones de diseño MUBIO

Como resultado de la fabricación y experimentación de la MUBIO se obtuvieron las siguientes especificaciones técnicas de diseño como se observa en la Tabla 14.

*Tabla 14. Especificaciones técnicas de MUBIO I-E 3D.*

Parámetros	Valores de trabajo
Dimensiones	40 x 48 x 560 cm
Plataforma de trabajo	20 x 20 x 12 cm
Temperatura de procesamiento de material	0 – 250 °C (Termoplástico)
Presión del aire	N/A
Velocidad de deposición	30-200 mm/s
Lámpara UV-A	365 nm
Cabezales	3 (1 extrusor de polímeros sintéticos, 1 extrusor para hidrogeles, una microválvula de inyección)
Estructura para construcción de andamio	Placa de vidrio, placa Petri
Conectividad	USB
Construcción	Aluminio
Consumo de energía	200 W

## 5.3 Resultado de especificaciones normativas

Como resultado de la búsqueda de especificaciones de funcionamiento de los equipos médicos con los cuales debe sujetarse la MUBIO, se efectuó una búsqueda de la normatividad existente. Encontrándose que existe una clasificación de dispositivos médicos clase 1, clase 2, clase 3 y clase 1A. Respecto a la clase 1 indica principalmente que no se introducen al cuerpo, Clase 2 que, si se introducen al cuerpo y permanecen menos de 30 días, Clase 3 que si se introducen al cuerpo y duran dentro más de 30 días y Clase 1A en donde se encuentran considerados los dispositivos como bajo riesgo.



En el caso de la Norma Oficial Mexicana **004-STPS-1999** menciona las condiciones de seguridad, sistemas de protección y dispositivos con la finalidad de prevención y protección del trabajador que pueda producir la operación y funcionamiento de maquinaria y equipo.

La norma **ISO 13407**, es una norma que se refiere al diseño centrado en el usuario y está enfocado en el desarrollo de un proyecto en donde se consideran 4 puntos principales. Es decir que consiste en una participación directa del usuario para establecer las necesidades y la tarea a ejecutar, la distribución de la función entre el usuario y la tecnología, una iteración de la solución planteada y finalmente un diseño multidisciplinario.

Referente al nivel de madurez tecnológica (por sus siglas en inglés TRL) es un método que tiene su origen en la NASA que se estableció como una herramienta para medir el grado de madurez de tecnología y que se ha implementado posteriormente en las diferentes industrias. Correspondiendo al **TRL 4** la validación del componente y/o los mismos para un entorno de laboratorio.

*Tabla 15. Especificaciones normativas para del sistema MUBIO I-E 3D.*

Especificaciones de diseño	
Dispositivo Medico	Clase 1
Normas aplicadas	NOM: 004-STPS-1999 NOM: ISO 13407
Nivel de madurez tecnológica (Technology Readness Level TRL)	4

## 5.4 Resultado del diseño CAD

Como resultado del diseño CAD se obtuvieron 2 modelos fueron enviados a trámite ante el Instituto Mexicano de la Propiedad (IMPI), donde uno de los modelos del primer concepto (izquierda) fue otorgado el título de propiedad y el segundo modelo conceptual (derecha) del diseño final de la MUBIO se encuentra en trámite, lográndose obtener al realizar una tercera configuración de los elementos que lo integran en donde se pudo colocar 2 cabezales de jeringas a través de las cuales 1 puede ser utilizada para aplicar hidrogel, 1 jeringa puede contener las células y el tercer cabezal puede aplicar material termoplástico. Las vistas de los 2 modelos conceptuales se observan en la siguiente Figura 52.

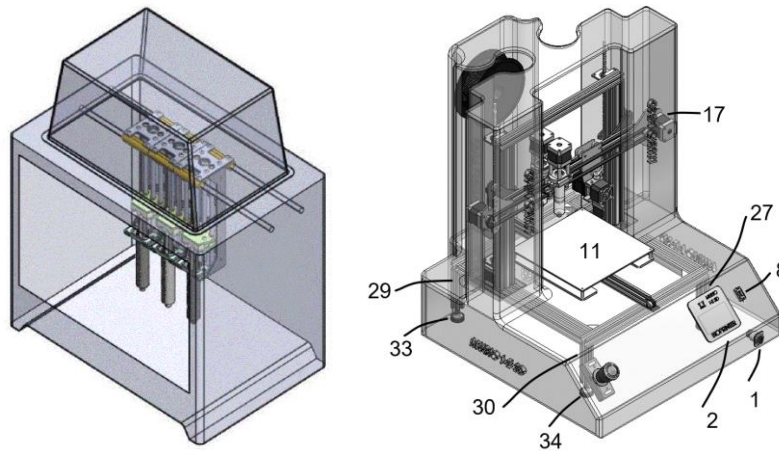


Figura 51. Modelos conceptuales MUBIO.

## 5.5 Resultados de fabricación y ensamble.

Con la fabricación y ensamble de la MUBIO se obtuvieron los planos finales de cada uno de los componentes que la integran, así como como de los planos de ensamble de cada uno de los subsistemas y de igual forma se obtuvo el plano general del explosionado de la totalidad de sus componentes generándose en total 15 hojas de proceso y 77 planos que permite la fabricación y replicación de la MUBIO I-E 3D.

## 5.6 Resultados de hidrogel.

Se logro la obtención de un hidrogel con una fuerza de  $\sim 8$  kgf, realizando la síntesis siguiente:

- 0.1 g Quitosan
- 3 ml ácido acético al 5%
- Se agitó en una parrilla de calentamiento a 60 °C.
- Se le adicionó gota a gota 0.16 ml de solución acuosa de glutaraldehído al .5% durante 20 minutos.

Este hidrogel no fue posible emplearlo debido al tiempo de duración del presente proyecto de investigación, así como de las condiciones que se presentaron en las instituciones durante la pandemia, sin embargo queda como línea de investigación de trabajo futuro.

## 5.7 Resultados de Modos de funcionamiento

El dispositivo de bioimpresión MUBIO I-E 3D se caracteriza por los siguientes tipos de selección de impresión como se describen a continuación:

El primer modo de empleo de configuración de la MUBIO es el que permite accionar un cabezal de hidrogel como se observa en la Figura 52.

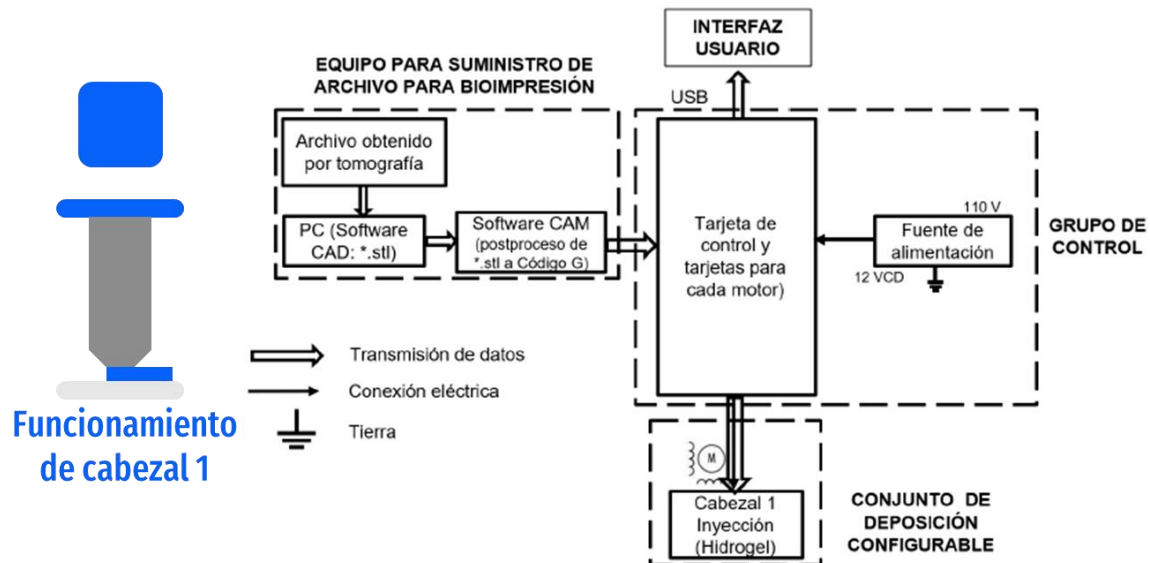


Figura 52. Funcionamiento de 1 cabezal (Hidrogel)

El segundo modo de empleo de configuración de la MUBIO es el que permite accionar un cabezal extrusor de termoplástico como se observa en la Figura 53.

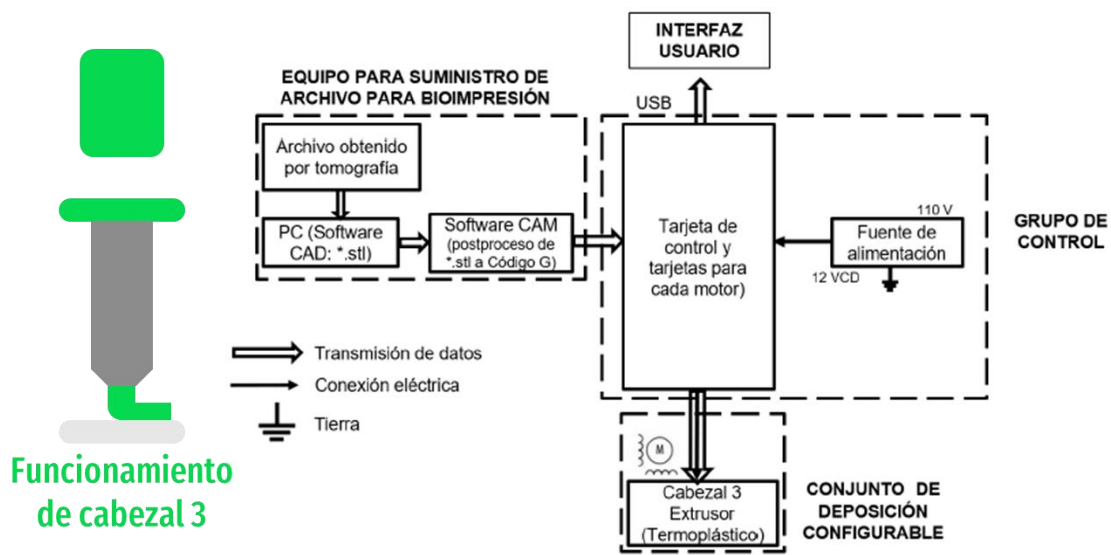


Figura 53. Funcionamiento de 1 cabezal (Extrusor de Termoplástico).

El tercer modo de empleo de configuración de la MUBIO es el que permite accionar dos cabezales (hidrogel-células) como se observa en la Figura 54.

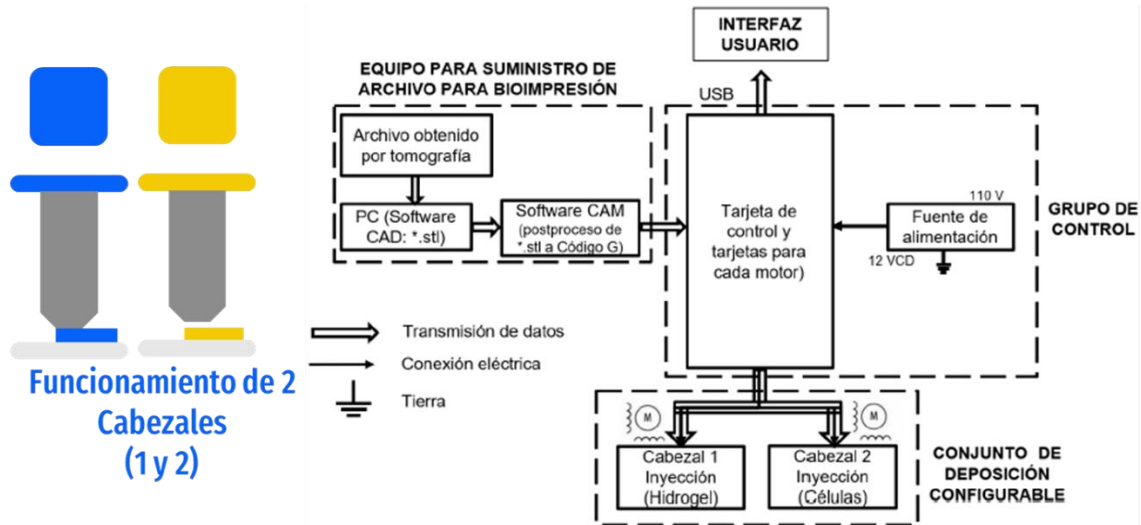


Figura 54. Funcionamiento de 2 cabezales (Hidrogel-células).

El cuarto modo de empleo de configuración de la MUBIO es el que permite que funcionen 2 cabezales, el cabezal extrusor de termoplástico para conformar la estructura y posteriormente el hidrogel como se observa en la Figura 55.

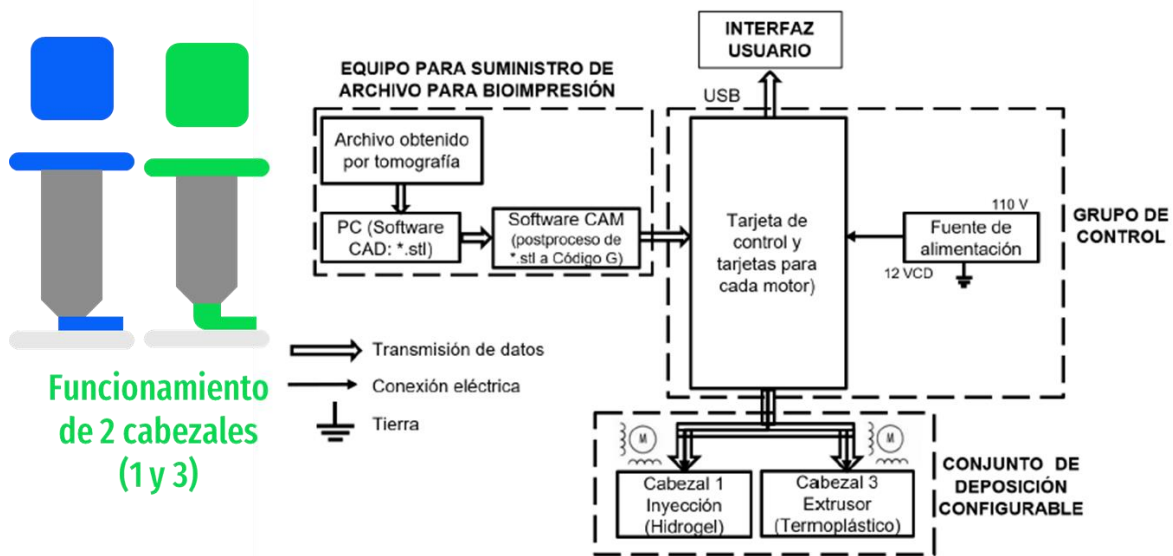


Figura 55. Funcionamiento de 2 cabezales (Termoplástico-Hidrogel).

El quinto modo de empleo de configuración de la MUBIO es el que permiten que funciones los 3 cabezales (Termoplástico-Hidrogel-Celulas) como se observa en la Figura 56.

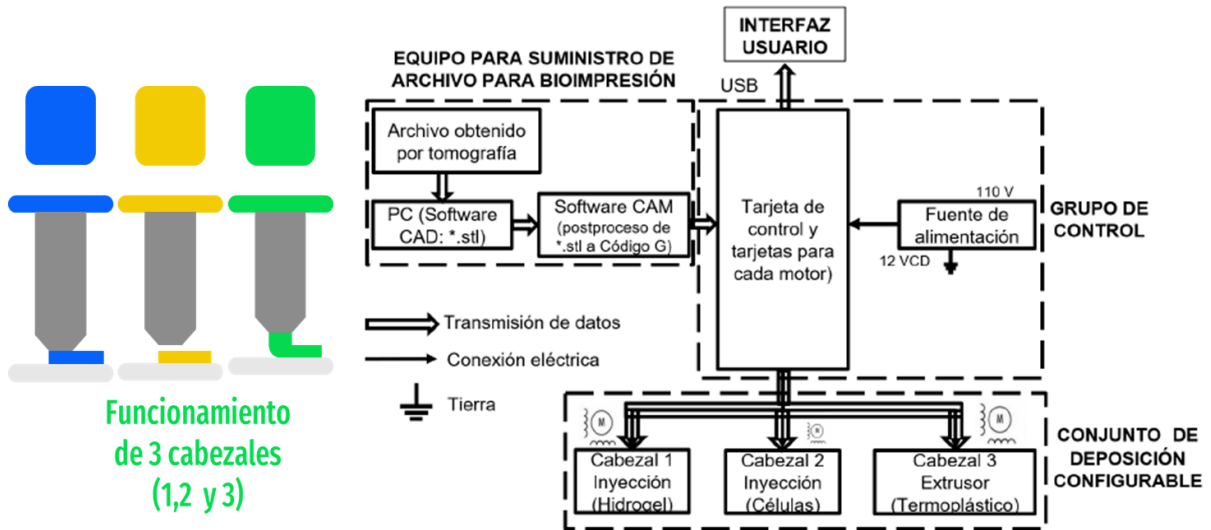


Figura 56. Funcionamiento de 3 cabezal (Termoplástico-Hidrogel-Células)

## 5.8 Resultados de competitividad

Se obtuvieron valores de parámetros de operación satisfactorios de acuerdo con los materiales empleados para la fabricación de la MUBIO, pudiéndose observar que incrementando la tecnología de los componentes se alcanzan valores de desempeño mejores. En relación costo-desempeño el equipo es satisfactorio. En la Tabla 16 se pueden observar los datos de los parámetros que manejan los equipos comerciales de bioimpresión.

Tabla 16. Comparativa de equipos comerciales vs MUBIO I-E 3D.

		Bioimpresoras			
	Parámetro	Envisiontec	Cellink	Regemat	MUBIO I-E 3D
1	Velocidad	0.1–150 mm/s	N/Ad	N/A	30 –200 mm/s
2	Presión de operación	1.45–130 psi	0.72–101.5 psi	N/A	N/A
3	Área de construcción (XY)	15 X 15= 225 cm <sup>2</sup>	12.8 X 7.5= 96 cm <sup>2</sup>	15 X 16= 240 cm <sup>2</sup>	20 X 20= 400 10 x 10=100 cm <sup>2</sup>
4	Volumen de construcción	3150 cm <sup>3</sup>	796.8 cm <sup>3</sup>	2640 cm <sup>3</sup>	1200/4000 cm <sup>3</sup>
5	Resolución	0.001 mm	0.1 mm	0.15 mm	0.1-0.2 mm
6	Resolución de posicionamiento	0.1 mm XYZ	0.1mm XY 0.0025 mm Z	0.15 mm XY 0.004 mm Z	0.011 mm XY 0.0025 mm Z
7	Cabezal termoplástico Temperatura de control	30-250 °C	250 °C	250 °C	220 °C
8	Temperatura de control de la biotinta	0 –70 °C	0 –130°C	20 – 100 °C	N/A
9	Temperatura de control de la plataforma	-10 – 80 °C	4 – 60 °C	0 – 120 °C	N/A
10	Diámetro de salida de material termoplástico	0.1 mm	0.05 – 1.54 mm	0.20 – 0.40 mm	0.4-1.7 mm
11	UV-A Lampara	365 nm	365 nm	365 nm	365 nm
12	Peso	130 kg	20 kg	25 kg	20 kg

En la tabla 16 se puede observar los requerimientos funcionales y de diseño con el valor objetivo obtenido del axioma de información comparado con los valores reales obtenidos de la fabricación de la MUBIO I-E 3D.

Tabla 17. Requerimientos de diseño vs características de la MUBIO I-E 3D

No.	Requerimientos Funcionales	Valor objetivo	MUBIO I-E 3D
1	Velocidad (mm/s)	149.9	30-200
2	Presión de operación (psi)	129.2	N/A
3	Área de construcción (cm <sup>2</sup> )	121	100/400*
4	Volumen de construcción (cm <sup>3</sup> )	2,110	1,200/4,800
5	Resolución de impresión (mm)	0.14	0.1
6	Control de temperatura del cabezal termoplástico (°C)	250	30-250
7	Temperatura de control de la biotinta	130	N/A
8	Temperatura de control de la plataforma	110	N/A
9	Diámetro de salida de material termoplástico	0.35	0.3
10	Peso (kg)	110	20
Requerimientos del usuario			% de cumplimiento
11	Tamaño		100
12	Portabilidad		100
10	Fácil instalación		100
11	Bajo costo		100
12	Fácil mantenimiento		100

**NOTA\*:** Esta área de construcción de 100 cm<sup>2</sup> es considerando los 3 cabezales colocados, es decir un área de 10x10 cm para los cabezales de hidrogel y biotinta. Un área 400 cm<sup>2</sup> quitándose los cabezales de hidrogel y biotintas de acuerdo con la modularidad con que cuenta para el caso de requerirse una mayor área de impresión.

De acuerdo con la tabla presenta, se observa que la MUBIO cumple con 9 de 12 requerimientos. Equivaliendo a un 75% de cumplimiento.



## Capítulo 6

### 6.1 Conclusiones

En este proyecto se propuso el diseño y fabricación de una bioimpresora de inyección extrusión 3D con el fin de utilizarse con tres diferentes tipos de materiales poliméricos (hidrogel de quitosano-glutaraldehído, poliácido láctico comercial y biotinta).

Se logró la determinación de las propiedades reológicas y fisicoquímicas de los materiales poliméricos obtenidos de la revisión del estado del arte y patentes, asimismo se obtuvo un hidrogel B (quitosano-glutaraldehído) el cual requiere para su aplicación una fuerza de aproximadamente 8Kgf, quedando pendiente la realización de pruebas de laboratorio debido a las restricciones de las instituciones derivado de la pandemia durante la realización del proyecto.

Se determinó los parámetros de operación del módulo dispensador de inyección-extrusión indicados en la tabla 13, donde se definieron los valores objetivo con los que debía de cumplir el diseño propuesto, en la tabla 16 se realizó la comparativa de equipos comerciales vs MUBIO I-E 3D y en la tabla 17 se realizó la comparativa de los valores objetivo contra los valores obtenidos reales de la MUBIO I-E 3D resultando un valor del 75% de cumplimiento representando un valor aceptable para el equipo fabricado.

Se obtuvieron 2 modelos para obtener una configuración que permitiera colocar los módulos dispensadores, los cuales fueron enviados a trámite ante el Instituto Mexicano de la Propiedad (IMPI), donde uno de los modelos del primer concepto ya fue otorgado el título de propiedad y el segundo modelo conceptual del diseño final de la MUBIO se encuentra en trámite, el cual permite el empleo de hasta 13 tipos de materiales cumpliendo con los requerimientos de dimensión, soporte estructural, velocidad de desplazamiento que permite la aplicación de una forma controlada de biotintas e hidrogeles para obtener la construcción de un determinado andamio o constructo.

La simulación por dinámica de fluidos computacionales (por sus siglas en inglés CFD) del sistema dispensador de extrusión-inyección de la bioimpresora quedo pendiente de realizarse debido a las restricciones de las instituciones derivado de la pandemia.

Se fabrico el modelo físico de la MUBIO I-E 3D que corresponde a un nivel de maduración tecnológica TRL4, es decir la validación del componente y/o los mismos para un entorno de laboratorio.

Se valido el funcionamiento del sistema de inyección-extrusión de la bioimpresora 3D obteniéndose el modelo de una nariz, una oreja, un hexágono plano, una malla cuadrada de 1x1 cm y una malla entrecruzada de tres capas empleándose como material para la validación de la programación, trayectorias y desplazamientos silicon y PLA.

La determinación de la viabilidad celular de los andamios impresos en 3D de los materiales quedo pendiente de realizarse ya que en este caso se requiere de un tramite administrativo por parte de las instituciones (INR) y el tiempo que se lleva para el crecimiento de la línea celular que se empleara, aunado al factor de las restricciones de las instituciones derivado de la pandemia durante el momento de la materialización del proyecto.

Se verificó que la hipótesis propuesta se cumple con el diseño y fabricación de la MUBIO, se aplicó la metodología para el ensamble y la manufactura (DFAM) con un índice de 68.1%, se realizó el análisis funcional de los componentes, en donde los componentes se dividieron en grupos calculándose la eficiencia funcional de diseño es decir que con la cantidad de componentes con que cuenta la bioimpresora el índice de uniformidad es de 0.93, el cual permite concluir que con este equipo se contribuye a la solución del problema planteado, incrementando la cantidad de materiales a emplear en un 45 %.

Como principales actividades realizadas y productos de esta investigación son los siguientes:

- Se obtuvo un título de propiedad de diseño industrial por el “Modelo industrial de bioimpresora 3D” otorgado por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) MX/f/2021/001251.
- Un trámite de registro de diseño industrial ante el IMPI del modelo la MUBIO I-E 3D, número de trámite pendiente.
- Una solicitud de patente de invención ante el IMPI con el nombre de “Bioimpresora 3d para deposición de termoplásticos, biotintas e hidrogeles y método de fabricación de la bioimpresora”, número de registro pendiente.
- Una estancia de investigación del 14 de septiembre del 2020 al 29 de abril del 2021 en el Laboratorio de Investigación y Bioquímica de Escuela Militar de Medicina perteneciente a la SDN.
- Un convenio de colaboración con el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) en la Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia Celular y Medicina Regenerativa.
- La elaboración de 71 planos de cada una de las piezas y 15 hojas de proceso de fabricación de la MUBIO I-E 3D
- La obtención del modelo físico de la MUBIO I-E 3D a nivel TRL4.

## 6.2 Trabajos Futuros

Como trabajo futuro, se tiene considerado lo siguiente:

Ampliación de sensores de temperatura en la cama o placa base del equipo de bioimpresión.

Cabina hermética con control de CO<sub>2</sub>, la cual permita un ambiente estéril a fin de no requerir empleo de campana de extracción

Estudio de grado de error e impacto del empleo de válvulas neumáticas en la dispensación de biotintas.

Estudio para realizar el escalamiento del TRL4 aun TRL8 (Certificación de la MUBIO I-E 3D)

## Referencias

1. ASTM F2792-12a (2015). "Standard Terminology for Additive Manufacturing Technologies". ASTM International, pp. 1-3
2. <https://all3dp.com/es/1/mejores-programas-diseno-3d-software-modelado-3d-gratis/>
3. Stroud, I., & Xirouchakis, P. C. (2000). STL and extensions. *Advances in Engineering Software*, 31(2), 83–95. [https://doi.org/10.1016/S0965-9978\(99\)00046-0](https://doi.org/10.1016/S0965-9978(99)00046-0)
4. Tappa, K., & Jammalamadaka, U. (2018). Novel biomaterials used in medical 3D printing techniques. *Journal of Functional Biomaterials*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/jfb9010017>
5. Mohamed, O. A., Masood, S. H., & Bhowmik, J. L. (2015). Optimization of fused deposition modeling process parameters: a review of current research and future prospects. *Advances in Manufacturing*, 3(1), 42–53. <https://doi.org/10.1007/s40436-014-0097-7>
6. Jin, Y. A., Li, H., He, Y., & Fu, J. Z. (2015). Quantitative analysis of surface profile in fused deposition modelling. *Additive Manufacturing*, 8, 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2015.10.001>
7. Schmidleithner, C., & Deepak M. Kalaskar (2018). "Stereolithography." *IntechOpen*, 1-22.
8. 3D Printing Processes–Vat Photo polymerisation, [Online]. Available: [https://www.engineersgarage.com/article\\_page/3d-printing-processes-vat-photo-polymerisation-part-3-8/](https://www.engineersgarage.com/article_page/3d-printing-processes-vat-photo-polymerisation-part-3-8/).
9. Sohrabpoor, H., Negi, S., Shaiesteh, H., Ahad, I. U., & Brabazon, D. (2018). Optimizing selective laser sintering process by grey relational analysis and soft computing techniques. *Optik*, 174(June), 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2018.08.040>
10. Krkovic, M., Brojan, M., Bombac, D., & Hermann, D. (2013). Internal Fixation of Radial Head. 25(1), 1–7. <https://doi.org/10.1142/S1016237213500075>
11. R. Langer, J.P. Vacanti (1993). Tissue engineering. *Science*, 260 (1993), pp 920. DOI: 10.1126/science.8493529
12. Yang, S., Leong, K.-F., Du, Z. M. E., & Chua, C.-K. (2001). The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors. *Tissue Engineering*, 7(6), 679–689. [doi.org/10.1089/107632701753337645](https://doi.org/10.1089/107632701753337645)
13. O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88–95. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)

14. Elliott, M. J., De Coppi, P., Spegginorin, S., Roebuck, D., Butler, C. R., Samuel, E., Crowley, C., McLaren, C., Fierens, A., Vondrys, D., Cochrane, L., Jephson, C., Janes, S., Beaumont, N. J., Cogan, T., Bader, A., Seifalian, A. M., Hsuan, J. J., Lowdell, M. W., & Birchall, M. A. (2012). Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: A 2-year follow-up study. *The Lancet*, 380(9846), 994–1000. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60737-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60737-5)
15. Jun, I., Han, H. S., Edwards, J. R., & Jeon, H. (2018). Electrospun fibrous scaffolds for tissue engineering: Viewpoints on architecture and fabrication. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030745>
16. Mironov, V., & Markwald, R. (2003). Organ Printing: Self-assembling cell aggregates as “Bioink.” *Science & Medicine*, 9(2), 69–71. <https://doi.org/10.1002/3527603069.ch4>
17. Pardo, L., Cris Wilson, W., & Boland, T. (2003). Characterization of patterned self-assembled monolayers and protein arrays generated by the ink-jet method. *Langmuir*, 19(5), 1462–1466. <https://doi.org/10.1021/la026171u>
18. Cui, H., Nowicki, M., Fisher, J., & Zhang, L. (2017). 3D bioprinting for organ regeneration *Advanced healthcare materials*, 6(1), 1601118. <https://doi.org/10.1002/adhm.201601118>
19. Müller, M., Becher, J., Schnabelrauch, M., & Zenobi-Wong, M. (2015). Nanostructured Pluronic hydrogels as bioinks for 3D bioprinting. *Biofabrication*, 7(3), 35006. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/7/3/035006>
20. Holmes, B., Bulusu, K., Plesniak, M., & Zhang, L. G. (2016). A synergistic approach to the design, fabrication and evaluation of 3D printed micro and nano featured scaffolds for vascularized bone tissue repair. *Nanotechnology*, 27(6), 64001. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/6/064001>
21. Zeltmann, S. E., Gupta, N., Tsoutsos, N. G., Maniatakos, M., Rajendran, J., & Karri, R. (2016). Manufacturing and Security Challenges in 3D Printing. *Jom*, 68(7), 1872–1881. <https://doi.org/10.1007/s11837-016-1937-7>
22. Groll, J., Boland, T., Blunk, T., Burdick, J. A., Cho, D. W., Dalton, P. D., Derby, B., Forgacs, G., Li, Q., Mironov, V. A., Moroni, L., Nakamura, M., Shu, W., Takeuchi, S., Vozzi, G., Woodfield, T. B. F., Xu, T., Yoo, J. J., & Malda, J. (2016). Biofabrication: Reappraising the definition of an evolving field. *Biofabrication*, 8(1). <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/1/013001>
23. Datta, P., Barui, A., Wu, Y., Ozbolat, V., Moncal, K. K., & Ozbolat, I. T. (2018). Essential steps in bioprinting: From pre- to post-bioprinting. *Biotechnology Advances*, 36(5), 1481–1504. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.06.003>

24. Vijayavenkataraman, S., Yan, W. C., Lu, W. F., Wang, C. H., & Fuh, J. Y. H. (2018). 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 132, 296–332. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.004>
25. Thakur, P. C., Cabrera, D. D., DeCarolis, N., & Boni, A. A. (2018). Innovation and commercialization strategies for three-dimensional-bioprinting technology: A lean business model perspective. *Journal of Commercial Biotechnology*, 24(1), 78–87. <https://doi.org/10.5912/jcb856>
26. Mironov, V., Reis, N., Phil, D., Derby, B. (2006). Bioprinting A Beginning. *Tissue Engineering*, 12(4), 631–634. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.631>
27. Whitford, W. G., & Hoying, J. B. (2016). A bioink by any other name: Terms, concepts and constructions related to 3D bioprinting. *Future Science OA*, 2(3). <https://doi.org/10.4155/fsoa-2016-0044>
28. Abeyewickreme, A., Kwok, A., Mcewan, R., & Jayasinghe, S. N. (2009). Bio-electrospraying embryonic stem cells: interrogating cellular viability and pluripotency. 260–266. <https://doi.org/10.1039/b819889f>
29. Fang, Y., Frampton, J. P., Raghavan, S., Sabahi-Kaviani, R., Luker, G., Deng, C. X., & Takayama, S. (2012). Rapid generation of multiplexed cell cocultures using acoustic droplet ejection followed by aqueous two-phase exclusion patterning. *Tissue Engineering - Part C: Methods*, 18(9), 647–657. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2011.0709>
30. Xu, T., Zhao, W., Zhu, J. M., Albanna, M. Z., Yoo, J. J., & Atala, A. (2013). Complex heterogeneous tissue constructs containing multiple cell types prepared by inkjet printing technology. *Biomaterials*, 34(1), 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.09.035>
31. Hospodiuk, M., Dey, M., Sosnoski, D., & Ozbolat, I. T. (2017). The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. *Biotechnology Advances*, 35(2), 217–239. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.006>
32. Kačarević, Ž. P., Rider, P. M., Alkildani, S., Retnasingh, S., Smeets, R., Jung, O., Ivanišević, Z., & Barbeck, M. (2018). An introduction to 3D bioprinting: Possibilities, challenges and future aspects. *Materials*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/ma11112199>
33. Nishiyama, Y., Nakamura, M., Henmi, C., Yamaguchi, K., Mochizuki, S., Nakagawa, H., & Takiura, K. (2009). Development of a three-dimensional bioprinter: Construction of cell supporting structures using hydrogel and state-of-the-art inkjet technology. *Journal of Biomechanical Engineering*, 131(3), 1–6. <https://doi.org/10.1115/1.3002759>
34. Cui, X., Breitenkamp, K., Finn, M. G., Lotz, M., & D'Lima, D. D. (2012). Direct human cartilage repair using three-dimensional bioprinting technology. *Tissue Engineering - Part A*, 18(11–12), 1304–1312. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0543>



35. Cui, X., Breitenkamp, K., Lotz, M., & D'Lima, D. (2012). Synergistic action of fibroblast growth factor-2 and transforming growth factor-beta1 enhances bioprinted human neocartilage formation. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(9), 2357–2368. <https://doi.org/10.1002/bit.24488>
36. Matai, I., Kaur, G., Seyedsalehi, A., McClinton, A., & Laurencin, C. T. (2020). Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*, 226(September 2019). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119536>
37. Jiang, T., Munguia-Lopez, J. G., Flores-Torres, S., Kort-Mascort, J., & Kinsella, J. M. (2019). Extrusion bioprinting of soft materials: An emerging technique for biological model fabrication. *Applied Physics Reviews*, 6(1). <https://doi.org/10.1063/1.5059393>
38. Gu, Z., Fu, J., Lin, H., & He, Y. (2020). Development of 3D bioprinting: From printing methods to biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.11.003>
39. Murphy, S. V., & Atala, A. (2014). 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology*, 32(8), 773–785. <https://doi.org/10.1038/nbt.2958>
40. Cui, X., Li, J., Hartanto, Y., Durham, M., Tang, J., Zhang, H., Hooper, G., Lim, K., & Woodfield, T. (2020). Advances in Extrusion 3D Bioprinting: A Focus on Multicomponent Hydrogel-Based Bioinks. 1901648, 1–27. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901648>
41. Luo, Y., Lode, A., & Gelinsky, M. (2013). Direct Plotting of Three-Dimensional Hollow Fiber Scaffolds Based on Concentrated Alginate Pastes for Tissue Engineering. 777–783. <https://doi.org/10.1002/adhm.201200303>
42. Hockaday, L., Kang, K., Colangelo, N., Cheung, P., Duan, B., Malone, E., Wu, J., Girardi, L., Bonassar, L., Lipson, H., & others (2012). Rapid 3D printing of anatomically accurate and mechanically heterogeneous aortic valve hydrogel scaffolds. *Biofabrication*, 4(3), 035005. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/4/3/035005>
43. Ouyang, L., Yao, R., Chen, X., Na, J., & Sun, W. (2015). 3D printing of HEK 293FT cell-laden hydrogel into macroporous constructs with high cell viability and normal biological functions. *Biofabrication*, 7(1). <https://doi.org/10.1088/1758-5090/7/1/015010>
44. Khalil, S., & Sun, W. (2009). Bioprinting endothelial cells with alginate for 3D tissue constructs. *Journal of Biomechanical Engineering*, 131(11), 1–8. <https://doi.org/10.1115/1.3128729>
45. Rajaram, A., Schreyer, D., & Chen, D. (2014). Bioplotting Alginate/Hyaluronic Acid Hydrogel Scaffolds with Structural Integrity and Preserved Schwann Cell Viability. *3D Printing and Additive Manufacturing*, 1(4), 194–203. <https://doi.org/10.1089/3dp.2014.0006>



46. Jin, Y., Compaan, A., Bhattacharjee, T., & Huang, Y. (2016). Granular gel support-enabled extrusion of three-dimensional alginate and cellular structures. *Biofabrication*, 8(2), 1–21. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/2/025016>
47. Bhattacharjee, T., Zehnder, S. M., Rowe, K. G., Jain, S., Nixon, R. M., Sawyer, W. G., & Angelini, T. E. (2015). Writing in the granular gel medium. *Science Advances*, 1(8), 4–10. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500655>
48. Colosi, C., Costantini, M., Latini, R., Ciccarelli, S., Stampella, A., Barbetta, A., Massimi, M., Devirgiliis, L., & Dentini, M. (2014). Rapid prototyping of chitosan-coated alginate scaffolds through the use of a 3D fiber deposition technique. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(39), 6779–6791. <https://doi.org/10.1039/C4TB00732H>
49. Colosi, C., Shin, S., Manoharan, V., Massa, S., Costantini, M., Barbetta, A., Dokmeci, M., Dentini, M., & Khademhosseini, A. (2016). Microfluidic bioprinting of heterogeneous 3D tissue constructs using low-viscosity bioink. *Advanced materials*, 28(4), 677–684. <https://doi.org/10.1002/adma.201503310>
50. Liu, W., Zhong, Z., Hu, N., Zhou, Y., Maggio, L., Miri, A. K., Fragasso, A., Jin, X., Khademhosseini, A., & Zhang, Y. S. (2018). Coaxial extrusion bioprinting of 3D microfibrous constructs with cell-favorable gelatin methacryloyl microenvironments. *Biofabrication*, 10(2). <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aa9d44>
51. Chang, R., Nam, J., & Sun, W. (2008). Effects of dispensing pressure and nozzle diameter on cell survival from solid freeform fabrication-based direct cell writing. *Tissue Engineering - Part A*, 14(1), 41–48. <https://doi.org/10.1089/ten.a.2007.0004>
52. Bohandy, J., Kim, B. F., & Adrian, F. J. (1986). Metal deposition from a supported metal film using an excimer laser. *Journal of Applied Physics*, 60(4), 1538-1539. <http://dx.doi.org/10.1063/1.337287>
53. Guillotin, B., Souquet, A., Catros, S., Duocastella, M., Pippenger, B., Bellance, S., & Guillemot, F. (2010). Laser assisted bioprinting of engineered tissue with high cell density and microscale organization. *Biomaterials*, 31(28), 7250-7256. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.05.055
54. Ng, W. L., Chua, C. K., & Shen, Y. F. (2019). Print me an organ! Why we are not there yet. *Progress in Polymer Science*, 101145. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2019.101145>
55. Derakhshanfar, S., Mbeleck, R., Xu, K., Zhang, X., Zhong, W., & Xing, M. (2018). 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioactive materials*, 3(2), 144-156. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.11.008>

56. Donderwinkel, I., Van Hest, J. C., & Cameron, N. R. (2017). Bio-inks for 3D bioprinting: recent advances and future prospects. *Polymer Chemistry*, 8(31), 4451-4471. <https://doi.org/10.1039/C7PY00826K>
57. Mobaraki, M., Ghaffari, M., Yazdanpanah, A., Luo, Y., & Mills, D. K. (2020). Bioinks and Bioprinting: a Focused Review. *Bioprinting*, e00080. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00080>
58. Groll, J., Burdick, J. A., Cho, D. W., Derby, B., Gelinsky, M., Heilshorn, S. C. & Ovsianikov, A. (2018). A definition of bioinks and their distinction from biomaterial inks. *Biofabrication*, 11(1), 013001. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aaec52>
59. Mandrycky, C., Wang, Z., Kim, K., & Kim, D. H. (2016). 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnology advances*, 34(4), 422-434. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.011>
60. Ozbolat, I. T. (2015). Scaffold-based or scaffold-free bioprinting: competing or complementing approaches?. *Journal of Nanotechnology in Engineering and Medicine*, 6(2). DOI: 10.1115/1.4030414
61. Zhou, D., Chen, J., Liu, B., Zhang, X., Li, X., & Xu, T. (2019). Bioinks for jet-based bioprinting. *Bioprinting*, e00060. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2019.e00060>
62. Guvendiren, M., Molde, J., Soares, R. M., & Kohn, J. (2016). Designing biomaterials for 3D printing. *ACS biomaterials science & engineering*, 2(10), 1679-1693. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.6b00121>
63. Parak, A., Pradeep, P., du Toit, L. C., Kumar, P., Choonara, Y. E., & Pillay, V. (2019). Functionalizing bioinks for 3D bioprinting applications. *Drug discovery today*, 24(1), 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.09.012>
64. Aria, M., & Cuccurullo, C. (2017). bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, 11(4), 959-975. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>
65. Liu, F., Hinduja, S., & Bartolo, P. (2017). Design, fabrication and initial evaluation of a novel hybrid system for tissue engineering applications. *Procedia CIRP*, 65, 213-218. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2017.04.030>
66. Xu, T., Binder, K. W., Albanna, M. Z., Dice, D., Zhao, W., Yoo, J. J., & Atala, A. (2012). Hybrid printing of mechanically and biologically improved constructs for cartilage tissue engineering applications. *Biofabrication*, 5(1), 015001. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/5/1/015001>
67. Zhuang, P., Ng, W. L., An, J., Chua, C. K., & Tan, L. P. (2019). Layer-by-layer ultraviolet assisted extrusion-based (UAE) bioprinting of hydrogel constructs with high aspect ratio for soft tissue engineering applications. *PloS one*, 14(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216776>

68. Lee, J., Kim, K. E., Bang, S., Noh, I., & Lee, C. (2017). A desktop multi-material 3D bio-printing system with open-source hardware and software. *International journal of precision engineering and manufacturing*, 18(4), 605-612. <https://doi.org/10.1007/s12541-017-0072-x>
69. Ozbolat, I. T., Chen, H., & Yu, Y. (2014). Development of 'Multi-arm Bioprinter' for hybrid biofabrication of tissue engineering constructs. *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, 30(3), 295-304. <https://doi.org/10.1016/j.rcim.2013.10.005>
70. Kang, H. W., Lee, S. J., Ko, I. K., Kengla, C., Yoo, J. J., & Atala, A. (2016). A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nature biotechnology*, 34(3), 312. doi:10.1038/nbt.3413
71. Shim, J. H., Lee, J. S., Kim, J. Y., & Cho, D. W. (2012). Bioprinting of a mechanically enhanced three-dimensional dual cell-laden construct for osteochondral tissue engineering using a multi-head tissue/organ building system. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 22(8), 085014. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/22/8/085014>
72. Anónimo (2020). "CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL DE PATENTES". 2020, 01 mayo, OMPI, Sitio web: [www.wipo.int/classifications/ipc](http://www.wipo.int/classifications/ipc)
73. Anastasiou J. C., Cannan D. D. B., Langenfeld C. C., Parker J., Tilley M. C., Van Der M., Dirk A. System and Method for Printing Tissue. Estados Unidos; US2017369827A1, 2010.
74. He J., Hu X., Jiang Z., Li Y., Wang D., Zhang L. Device for Printing Lumen Tissue Construct, Method for Using the Same and 3D Bioprinter. China; EP3513948 A1, 2018.
75. Bian P., Du J., Li Y., Shi G., Wang J. Direct Writing Preparation Method for Preparing Artificial Blood Vessel with Spiral Corrugated Inner Wall Through Ultrasonic Spray Head. China; CN110063815 A, 2018.
76. Gross A. R., Sareen D. Compact Mechanical Syringe Extruder For 3D Bioprinting of Cell Laden Gels. Estados Unidos; WO2020006096 A1 2018.
77. Liu H., Yang X. 3D Bioprinter with Integration System. China; CN109760311 A, 2019.
78. Lin Zhan. Biological Printer With Novel Biological Printer Printing Module. China; CN109878080 A, 2019.
79. Sang S., Wang Y., Xue X., Yang Y., Yuan Z., Zhou C., Zhuo K. Parallel Working 3D Biological Printer. China; CN110253880 A, 2019.
80. Jiang Y., Liu D., Xu X., Zhang Q., Zhou J., Zhu X. Quick-Change Type Multi-Station 3D Printing Spray Head Based On Low-Temperature Colloidal Biological Material. China; CN106426909 A, 2016.
81. Ahn G. S., Kang D., Sim J. H., Chin S. W., Yun W. S. Method and Apparatus for Producing Printed Matter Having Cross-Section Pattern. Corea; JP2019516577 A, 2016.

82. Belcher S., Nicholson J., Thorpe D. Handheld 3D Bioprinter. Luxemburgo; WO2018166641A1, 2017.
83. Beyer S., Mohamed T. Systems and Methods for Printing a Fiber Structure. Canada; WO2018165761 A1, 2017.
84. Gatenholm E., Martínez H. A Microfluidic Device for Patterning Cellular Material in a 3D Extracellular Environment. Suiza; WO2019197333 A1, 2018.
85. Xing M., Yang C. Biological Material 3D Printer Multi-Inlet One-Outlet Sprayer. China; CN108145970 A, 2018.
86. Gatenholm E., Sternå E., Martinez H., Svanberg J. 3D Bioprinters, a 3D Bioprinting Toolhead and a Method for 3D Bioprinting a Construct. Suiza; SE1750027 A1, 2017.
87. Sriphutkiat Y., Zhou Y. Apparatus and Method for Three-Dimensional Printing of an Ink. Singapur; WO2019103693 A1, 2017.
88. Zhong Longjun. Novel Nozzle Module for Biological Printer. China; CN109968667 A, 2019.
89. Rouse Richard. Bioprinter Design and Applications. Estados Unidos; US2019210283 A1, 2017.
90. Gatenholm Erik, Martinez H., Sternå Erik, Svanberg Jockum. Printbeds, 3D-Printers, Methods and Computer Programs for Regulation of a Temperature of a Printbed. Suiza; EP3415300 A1, 2017.
91. Gatenholm E., Martínez H. 3D Bioprinters with Cell Culture Monitoring Means. Suiza; WO2019145433 A1, 2018.
92. Duan Q., Jian A., Liu W., Sang S., Sun J., Zhang B., Zhang C., Zhang Y., Zhou C. 3D Bioprinter Head Control Device and Material Changing Control Method of Head. China; CN110142974 A, 2019.
93. Forgacs G., Jakab K., Mironov V., Neagu A. Apparatus for Making Engineered Tissue Using Self-Assembling Cell Aggregates. Estados Unidos; US2016130551 A1, 2004.
94. Ding F., Gu X., Li G., Yang Y. Three-Dimensional Organism Printing System and Method for Preparing Nerve Regeneration Implant Based on Three-Dimensional Organism Printing System. China; CN103057123 A, 2013.
95. Cai J., Chen Y., Hong H., Ma J., Wang S., Zhang B., Zhang G., Zhong Q. Control Method of Pneumatic Double-Acting Biological 3D Printing Nozzle With Internal and External Double Spiral Cover Structures. China; CN104908321 A, 2015.
96. Hong H., Jiang P., Ma J., Wang S., Yang H., Zhang B., Zhang G., Zhong Q. Rotary Switching Biological 3D Printing Sprayer for Multi-Material Printing and Rotary Switching Biological 3D Printing Method. China; CN104924614 A, 2015.

97. Li Y., Wang D., Wen X., Zhang L. Biological Printer Temperature Control System and Biological Printer. China; CN105652922 A, 2015.
98. Jiang Q., Li K., Li L., Li Z., Yang J., Zhu L. Biological 3D Printing Apparatus. China; CN105751510 A, 2016.
99. Gu L., Luo Y., Ma L., Zhang B. Self-Sucking Biological 3D Printing Nozzle Device and Method Thereof. China; CN105818389 A, 2016.
100. Gu L., Luo Y., Ma L., Zhang B. Fast Plug-In Biological 3D Printing Nozzles for Free Combination and Method Thereof. China; CN105835367 A, 2016.
101. Gladkaya I. S., Khesuani Y. D., Mironov V. A., Mitryashkin A. N., Novoselov S. V., Ostrovsky A. Y. Device and Methods for Printing Biological Tissues And Organs. Rusia; WO2016036275 A1, 2014.
102. Allard T., Myers S. J., O'mahony A. P., O'mahony K. J., Ribeiro J. C. C., Vella A. L. Bioprinter for Fabricating 3D Cell Constructs. Australia; WO2019109127 A1, 2017.
103. Moon S. J., Park O. Y. Bioprinter with an Acoustic Levitation Apparatus for Bioink Supply. Corea; KR102063128 B1, 2018.
104. Cabrera D., Hashmi S. K., Solorzano R. D. Methods, Devices, and Systems for The Fabrication of Materials and Tissues Utilizing Electromagnetic Radiation. Estados Unidos; AU2015236104 A1, 2014.
105. Lucas Engineering Systems Ltd. (1993). Design For Manufacture and Assembly Practitioners Manual, Version 10.
106. Martin, M. V., & Ishii, K. (1996). Design for variety: a methodology for understanding the costs of product proliferation. In Proceedings of The 1996 ASME Design Engineering Technical Conferences and Computers in Engineering Conference, California.
107. Blaeser, A., Duarte Campos, D. F., Puster, U., Richtering, W., Stevens, M. M., & Fischer, H. (2016). Controlling shear stress in 3D bioprinting is a key factor to balance printing resolution and stem cell integrity. *Advanced healthcare materials*, 5(3), 326-333. DOI: 10.1002/adhm.201500677