

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA



**DISEÑO Y FABRICACIÓN DE ANDAMIOS BIOMIMÉTICOS 3D
BASADOS EN EL TEJIDO MAMARIO CON DIFERENTES TÉCNICAS
DE MANUFACTURA ADITIVA PARA ANALIZAR EL CRECIMIENTO
CELULAR DEL CULTIVO DE MACRÓFAGOS DE RATÓN RAW 264.7**

Tesis para obtener el título profesional de Ingeniera Biomédica

AUTORA:

Ariana Milagros Figueroa Chávez

ASESORA:

Ana Cristina Midori Sánchez Sifuentes


Lima, 2026

Informe de Similitud

Yo, Ana Cristina Midori Sánchez Sifuentes, docente de la Facultad de Ingeniería Mecatrónica de la Pontificia Universidad Católica del Perú, asesor(a) de la tesis/el trabajo de investigación titulado "Diseño Y Fabricación De Andamios Biomiméticos 3d Basados En El Tejido Mamario Con Diferentes Técnicas De Manufactura Aditiva Para Analizar El Crecimiento Celular Del Cultivo De Macrófagos De Ratón Raw 264.7", del/de la autor(a)/ de los(as) autores(as) Ariana Milagros Figueroa Chávez, dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 13%. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software *Turnitin* el 03/02/2026.
- He revisado con detalle dicho reporte y la Tesis o Trabajo de Suficiencia Profesional, y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las pautas académicas.

Lugar y fecha: Lima 07/02/2026

Apellidos y nombres del asesor / de la asesora: Sánchez Sifuentes, Ana Cristina Midori	
DNI: 47503930	Firma
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4535-5097	



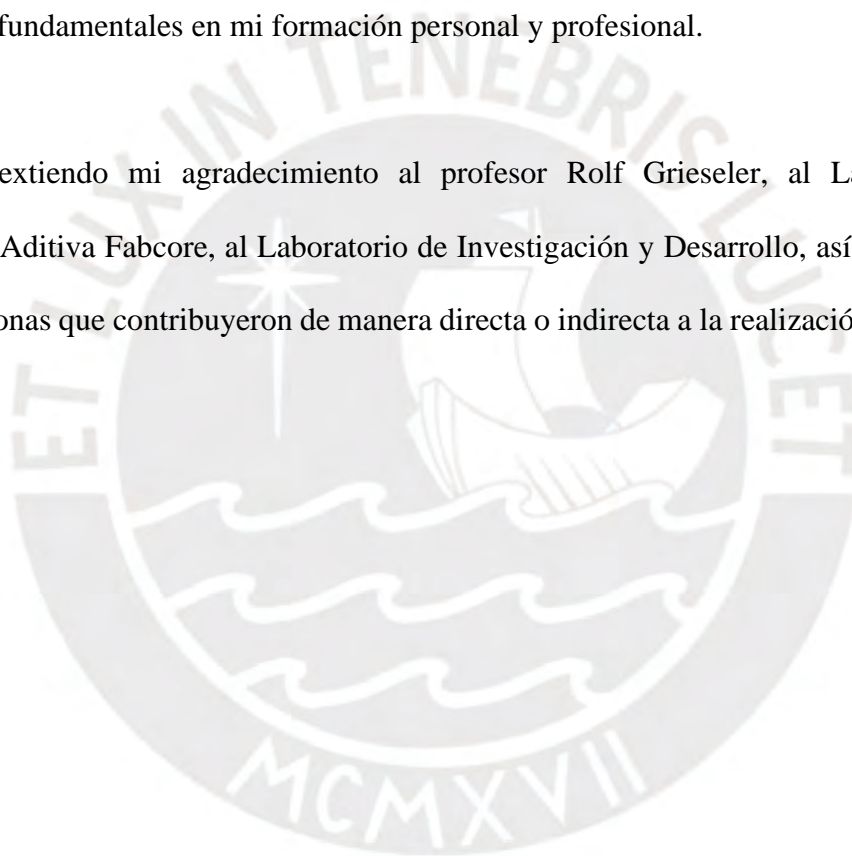
*A mi madre por su apoyo constante, por sus
invaluables enseñanzas y por ser mi
motivación para seguir alcanzando mis sueños.*

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi más sincero agradecimiento a mi asesora de tesis, Midori Sánchez, por su paciencia, el conocimiento compartido, el acompañamiento constante y los valiosos consejos brindados a lo largo del desarrollo de este trabajo.

Agradezco profundamente a mi familia por su apoyo incondicional. En especial, a mi madre, por inculcarme desde siempre los valores del esfuerzo, la responsabilidad y la perseverancia, que han sido fundamentales en mi formación personal y profesional.

Finalmente, extiendo mi agradecimiento al profesor Rolf Grieseler, al Laboratorio de Manufactura Aditiva Fabcore, al Laboratorio de Investigación y Desarrollo, así como a todas aquellas personas que contribuyeron de manera directa o indirecta a la realización del presente proyecto.



RESUMEN

La presente tesis abordó la creación de estructuras tridimensionales para investigar el cáncer de mama, por lo que el objetivo principal fue diseñar andamios 3D biomiméticos que replicarán aspectos clave de la arquitectura y propiedades mecánicas del tejido mamario humano, fabricados mediante técnicas de manufactura aditiva, como SLA y FDM, utilizando materiales como resina y PLA. Estos andamios fueron empleados como modelos iniciales para evaluar la viabilidad de esta estrategia utilizando macrófagos de ratón RAW 264.7 como sistema de prueba para analizar el crecimiento celular y la interacción con el microambiente diseñado.

La metodología incluyó una revisión de la literatura sobre tejido mamario, cáncer de mama, macrófagos de ratón y tecnologías de impresión 3D. Asimismo, se utilizaron softwares como ImageJ para identificar la morfología de un tejido mamario, Autodesk Fusion360 para diseñar los andamios, el software Microplate Manager 6 para realizar la lectura de la placa de 96 pocillos y tecnologías FDM y SLA para la fabricación de los andamios. De acuerdo con los ensayos, los andamios impresos en 3D soportaron el crecimiento celular, destacándose la importancia de la porosidad y el tamaño del poro.

En conclusión, esta tesis demostró el potencial de las tecnologías de impresión 3D en la fabricación de andamios y proporcionó una base para estudios relacionados con el cáncer de mama.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. Tejido mamario	4
1.2. Cáncer de mama	6
1.3. Macrófagos de ratón RAW 264.7	7
1.4. Tipos de andamios.....	7
1.5. Tecnologías y aplicaciones de la impresión 3D.....	9
1.6. Estado del arte	14
CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES Y METODOLOGÍA.....	20
2.1. Flujo metodológico del estudio	20
2.2. Materiales, equipos y software.....	22
2.2.1. Materiales.....	22
2.2.2. Equipos	23
2.2.3. Software	23
2.3. Estándares y normativas experimentales.....	23
2.3.1. Fabricación de andamios tridimensionales	24
2.3.2. Normativas para aplicaciones biomédicas	24
2.3.3. Manejo estéril y cultivo celular	25
2.4. Diseño y fabricación de andamios tridimensionales biomiméticos.....	25
2.4.1. Requerimientos de diseño de los andamios	26
2.4.2. Diseño de estructuras biomiméticas.....	26
2.4.3. Selección de tecnologías y materiales.....	30
2.4.4. Fabricación de los andamios.....	33
2.5. Caracterización morfológica de los andamios.....	34
2.5.1. Inspección visual.....	35
2.5.2. Caracterización morfológica mediante SEM.....	36
2.5.3. Análisis dimensional y selección de diseños	47
2.6. Cultivo celular sobre andamios tridimensionales	48
2.6.1. Preparación de los andamios impresos en 3D.....	49
2.6.2. Cultivo de macrófagos RAW 264.7.....	50
2.6.3. Ensayo de viabilidad celular MTT	53

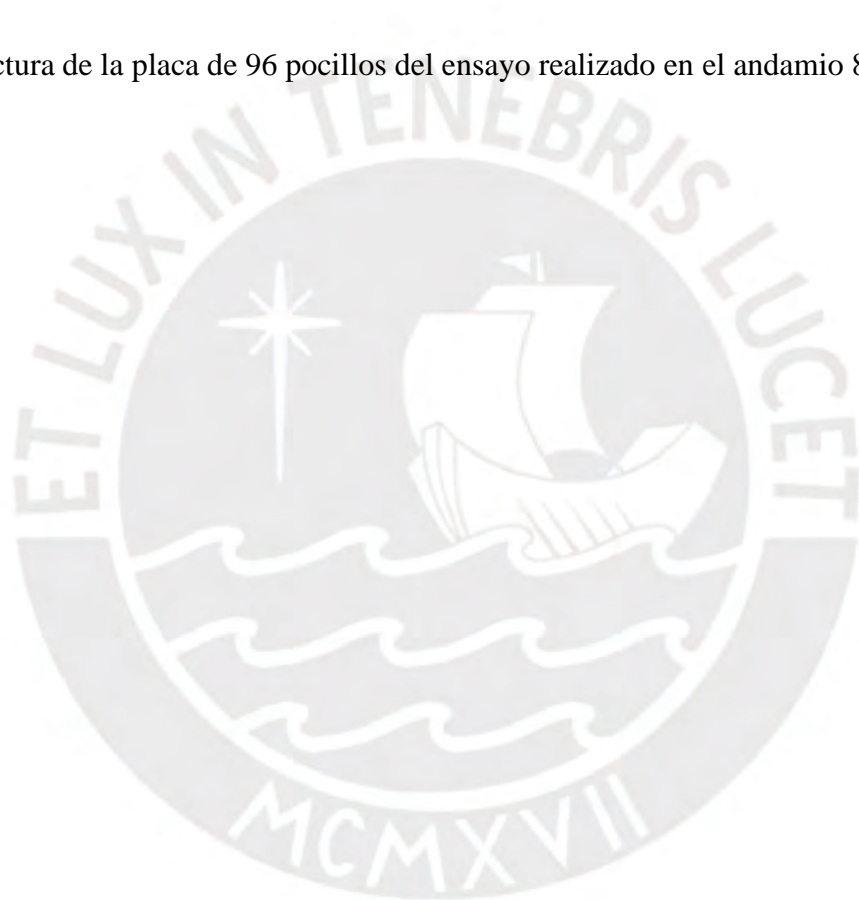
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES	64
BIBLIOGRAFÍA.....	67



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Algunos tipos de andamios, ventajas y desventajas	8
Tabla 2. Biotintas aplicadas en el cáncer de mama	13
Tabla 3. Análisis y comparación de investigaciones previas	19
Tabla 4. Fases que describen el procedimiento de la investigación	21
Tabla 5. Parámetros de diseño	29
Tabla 6. Propiedades del ácido poliláctico (PLA)	31
Tabla 7. Propiedades de la resina BioSplit	32
Tabla 8. Parámetros utilizados en Ultimaker Cura	33
Tabla 9. Parámetros utilizados en Chitubox	34
Tabla 10. Problemas identificados y soluciones	36
Tabla 11. Otros aumentos del diseño 1 impreso en PLA y resina BioSplit.	39
Tabla 12. Otros aumentos del diseño 2 impreso en PLA y resina BioSplit.	40
Tabla 13. Otros aumentos del diseño 3 impreso en PLA y resina BioSplit.	41
Tabla 14. Otros aumentos del diseño 4 impreso en PLA y resina BioSplit.	42
Tabla 15. Otros aumentos del diseño 5 impreso en PLA y resina BioSplit.	43
Tabla 16. Otros aumentos del diseño 6 impreso en PLA y resina BioSplit.	44

Tabla 17. Otros aumentos del diseño 7 impreso en PLA y resina BioSplit.	45
Tabla 18. Otros aumentos del diseño 8 impreso en PLA y resina BioSplit.	46
Tabla 19. Tamaño del poro de diseños seleccionados	48
Tabla 20. Lectura de la placa de 96 pocillos del ensayo realizado en el andamio 3	59
Tabla 21. Lectura de la placa de 96 pocillos del ensayo realizado en el andamio 7	60
Tabla 22. Lectura de la placa de 96 pocillos del ensayo realizado en el andamio 8	61

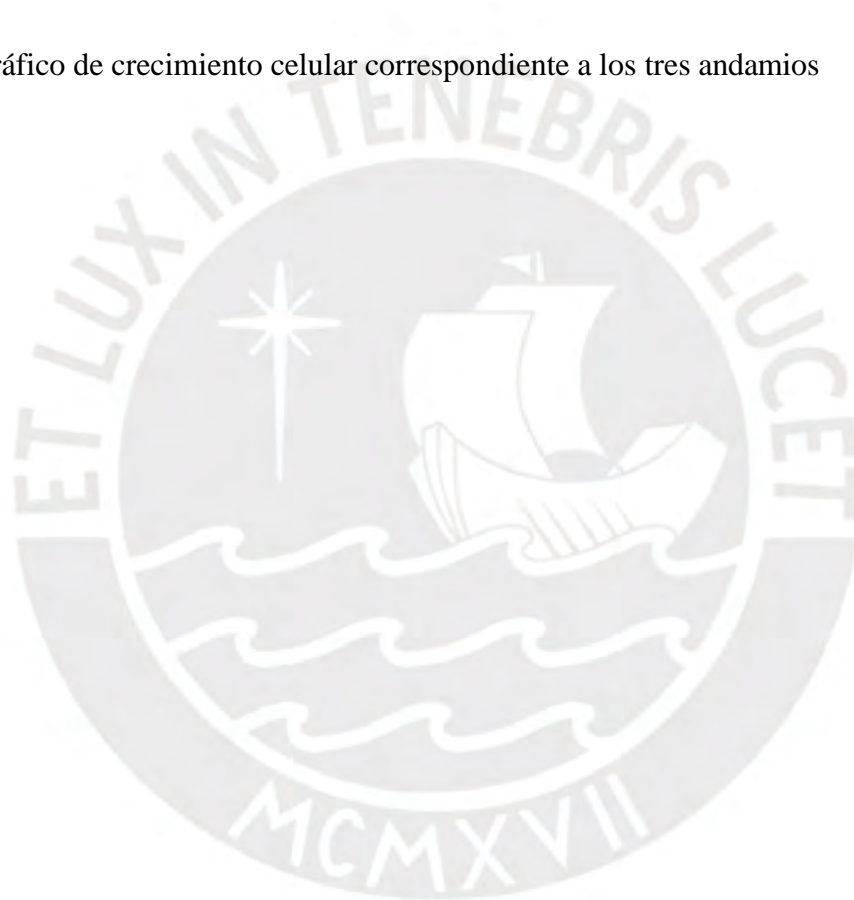


ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Sección transversal de la mama femenina	5
Figura 2. Fotomicrografía de lóbulos mamarios normales	5
Figura 3. Células RAW 264.7	7
Figura 4. Tipos de andamios	9
Figura 5. Caracterización microscópica de andamios de PLA	15
Figura 6. Andamios impresos en 3D con el uso de alginato RGD	16
Figura 7. Andamios con geometrías de poros variadas	16
Figura 8. Estructuras de andamios e imágenes de microscopio electrónico de barrido	17
Figura 9. Flujo metodológico empleado en la investigación	22
Figura 10. Estructura del tejido mamario sano con el uso del software ImageJ.exe	27
Figura 11. Configuración de parámetros del diagrama Voronoi	28
Figura 12. Extrusión del patrón Voronoi	28
Figura 13. Andamios diseñados en Autodesk Fusion 360	30
Figura 14. Andamios impresos en PLA	33
Figura 15. Andamios impresos en resina Biosplit	34
Figura 16. Andamios de 10x10mm	36

Figura 17. Procedimiento realizado para obtener las imágenes SEM	37
Figura 18. Muestras posicionadas en el SEM	38
Figura 19. Diseño 1	39
Figura 20. Diseño 2	40
Figura 21. Diseño 3	41
Figura 22. Diseño 4	42
Figura 23. Diseño 5	43
Figura 24. Diseño 6	44
Figura 25. Diseño 7	45
Figura 26. Diseño 8	46
Figura 27. Imágenes SEM del diseño 3 y zonas en las que se espera crecimiento celular	48
Figura 28. Esterilización de andamios y materiales de trabajo	50
Figura 29. Control de esterilización	50
Figura 30. Inspección de confluencia de células RAW 264.7	52
Figura 31. Incubación de andamios cultivados con células RAW 264.7	52
Figura 32. Imágenes microscópicas de andamios celulares	53
Figura 33. Pasos realizados para cuantificar las células	55
Figura 34. Ensayo MTT del andamio 3	55

Figura 35. Ensayo MTT del andamio 7	56
Figura 36. Ensayo MTT del andamio 8	56
Figura 37. Gráfico de crecimiento celular correspondiente al andamio 3	59
Figura 38. Gráfico de crecimiento celular correspondiente al andamio 7	60
Figura 39. Gráfico de crecimiento celular correspondiente al andamio 8	61
Figura 40. Gráfico de crecimiento celular correspondiente a los tres andamios	62



INTRODUCCIÓN

Las células del cuerpo humano se reproducen y proliferan mediante mecanismos de división celular que garantizan la supervivencia de los organismos; no obstante, cuando este ciclo se altera se produce un crecimiento descontrolado de ciertas células en el cuerpo y estas tienen la capacidad de constituir masas de tejido conocidas como tumores, estos pueden ser de naturaleza cancerosa o no cancerosa (National Cancer Institute [NCI], 2021).

El cáncer engloba múltiples tipos de neoplasias, y constituye una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, con cerca de 10 millones de fallecimientos en el año 2020. Entre los tipos de cáncer más diagnosticados ese año se encontraron el cáncer de mama (2,26 millones de casos) y el cáncer de pulmón (2,21 millones de casos) (World Health Organization [WHO], 2022). Asimismo, el cáncer de mama es el tipo de cáncer más frecuente en mujeres y, en América Latina, ocasiona más de 50 mil muertes anuales; además, en el Perú, en 2020, fue el cáncer más prevalente (World Health Organization [WHO], n.d.).

El desarrollo del cáncer de mama se origina como consecuencia de daños en el ADN, tales como rupturas o modificaciones químicas, así como por mutaciones genéticas, las cuales corresponden a cambios heredables en la secuencia genética. Estas alteraciones afectan los mecanismos normales de regulación celular y favorecen la proliferación descontrolada de las células mamarias (Alkabban et al., 2024). Esta patología se clasifica en cuatro estadios clínicos, los cuales permiten determinar el grado de avance de la enfermedad. El estadio 0 se caracteriza por la presencia de células anormales confinadas al sitio de origen, sin invasión del tejido adyacente. Los estadios I y II corresponden a fases en las que el tumor ha comenzado a extenderse localmente, mientras que el estadio III se asocia a una diseminación más extensa, pudiendo comprometer ganglios linfáticos regionales y tejidos vecinos. Este estadio se

subdivide en diferentes categorías según el tamaño tumoral y el grado de diseminación regional. Finalmente, el estadio IV se presenta cuando el cáncer de mama ha producido metástasis en órganos distantes del cuerpo (National Cancer Institute [NCI], 2022). En el contexto peruano, se ha reportado que aproximadamente el 50 % de los casos de cáncer de mama son diagnosticados en estadios avanzados, específicamente en los estadios III y IV, a pesar de la existencia de programas de tamizaje implementados a nivel nacional (Araujo et al., 2023).

Las opciones de tratamiento para el cáncer de mama consisten en una mastectomía, radiación para tratamiento local, terapia hormonal o quimioterapia y ensayos clínicos (National Breast Cancer Foundation, 2019). Por otro lado, en los últimos años se han estado utilizando animales como parte de investigación de un tratamiento o cura para el cáncer debido a que estos brindan la oportunidad de comprender acerca de las bases genéticas del cáncer, el rol de ciertos genes, las mutaciones genéticas en su origen y progresión (Li et al., 2021). Los roedores son muy utilizados en evaluaciones farmacotológicas; no obstante, el uso de estos animales ha generado inquietudes éticas y técnicas al no permitir recrear de manera precisa la arquitectura y el microambiente celular de los tejidos humanos por completo (Van, 2020).

Según expertos del Instituto Coreano de Maquinaria y Materiales (KIMM) y del Instituto Coreano de Investigación de Biociencia y Biotecnología (KRIBB). La bioimpresión 3D podría representar un enfoque novedoso para el estudio y tratamiento del cáncer (P, 2023). Una de las principales ventajas de la bioimpresión 3D es su capacidad para la fabricación de tejidos específicos, así como el desarrollo de metodologías de impresión que incorporan andamios tridimensionales elaborados a partir de componentes biológicos (Starly & Shirwaiker, 2015). Tradicionalmente, las células se han cultivado en superficies planas (2D),

lo cual influye en su morfología celular y puede alterar la expresión génica y la regulación de proteínas en comparación con las células que se desarrollan en un microambiente fisiológico. En el organismo, las células se encuentran rodeadas por una matriz extracelular tridimensional (3D), compuesta por proteínas y fibras, que desempeña un papel fundamental en la regulación celular. Por esta razón, se han desarrollado sistemas de cultivo celular en 3D, como los andamios, con el objetivo de reproducir de manera más fiel el comportamiento celular **in vivo** y obtener resultados experimentales más representativos (Polonio-Alcalá et al., 2018).

Por ello, el objetivo de este trabajo de investigación es diseñar andamios tridimensionales biomiméticos que reproduzcan aspectos clave de la arquitectura y propiedades mecánicas del tejido mamario humano, mediante su fabricación a través de distintas técnicas de manufactura aditiva. Esto permitirá ajustar y evaluar características físicas, utilizarlos como sustratos para el cultivo de macrófagos de ratón y analizar su potencial en la investigación de tratamientos terapéuticos, contribuyendo al avance en la comprensión del cáncer de mama. Asimismo, esta investigación integra los fundamentos teóricos, el desarrollo experimental y el análisis de los resultados obtenidos en el diseño, fabricación y caracterización de estos andamios mediante manufactura aditiva.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

En este capítulo se exponen conceptos necesarios para comprender el contexto y la relevancia del estudio realizado. Se aborda una descripción del tejido mamario y de los macrófagos de ratón RAW 264.7, lo cual resulta fundamental para entender aspectos de la biología tumoral y del microambiente celular asociado al cáncer. Asimismo, se describen las principales tecnologías de impresión 3D y su aplicación en la fabricación de andamios tridimensionales. Finalmente, se presenta una revisión del estado del arte, destacando los avances recientes y las metodologías actuales en el diseño y fabricación de andamios para modelos de cultivo celular relacionados con el estudio del cáncer.

1.1. Tejido mamario

La mama es un órgano con una estructura heterogénea compuesta por tejido adiposo, glandular y fibroso (Figura 1). Su morfología, estructura y propiedades físicas y mecánicas cambian a lo largo de la vida de la mujer debido a diversos factores como la edad, el estado fisiológico, la menopausia, el ciclo menstrual, el embarazo, la lactancia o la presencia de patologías (Teixeira & Martins, 2023). La mama en la mujer adulta está conformada por un sistema de conductos ramificados que incluyen entre 5 y 10 conductos galactóforos primarios que desembocan en el pezón, de los cuales se originan entre 20 y 40 conductos segmentarios y

entre 10 y 100 conductos subsegmentarios. Estos conductos terminan en unidades glandulares denominadas unidades lobulillares del conducto terminal, las cuales constituyen el sitio de origen de la mayoría de los carcinomas de mama. Los conductos y los acinos lobulillares están revestidos por dos capas celulares: una capa interna de células luminales y una capa externa de células mioepiteliales (Livasy & Calhoun, 2023). En la Figura 2 se muestra una fotomicrografía de lóbulos mamarios en condiciones fisiológicas.



Figura 1. Sección transversal de la mama Femenina (Jesinger, 2014).

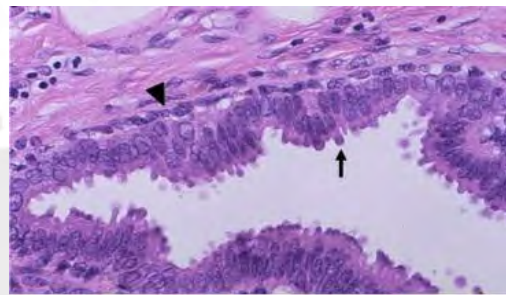


Figura 2. Fotomicrografía de lóbulos mamarios normales (Jesinger, 2014).

El comportamiento mecánico de los tejidos desempeña un papel fundamental en la investigación del tejido mamario. Mediante el uso de elastografía por resonancia magnética se identificó que el tejido glandular presenta una rigidez aproximada de $2,45 \pm 0,2$ kPa, mientras que el tejido adiposo exhibe valores cercanos a $0,43 \pm 0,07$ kPa (Figura 1). Asimismo, diversos estudios han demostrado que los tumores malignos presentan una mayor rigidez que los tumores benignos, siendo hasta siete veces más rígidos que los tejidos mamarios en condiciones fisiológicas

Las curvas tensión-deformación de los tejidos mamarios humanos muestran un comportamiento no lineal de tipo exponencial, donde el tejido adiposo presenta una respuesta más cercana a un comportamiento lineal. En contraste, el tejido tumor maligno exhibe el módulo de Young más alto, lo cual se asocia a una estructura más densa y a una mayor presencia de fibras colágenas, factores directamente relacionados con el incremento de la

rigidez tisular. Asimismo, se ha observado que a mayor grado de invasividad tumoral, mayor es el módulo elástico del tejido (Teixeira & Martins, 2023).

1.2 Cáncer de mama

La mayoría de los cánceres de mama corresponden a adenocarcinomas que se originan en las unidades lobulillares del conducto terminal. La carcinogénesis del cáncer de mama es un proceso multifactorial, en el cual intervienen factores hormonales, genéticos y ambientales (Harbeck et al., 2019). Entre los principales factores que incrementan el riesgo de desarrollar esta patología se incluyen la menarquía temprana, la menopausia tardía, la edad avanzada en el primer parto vivo, los antecedentes familiares de cáncer de mama a edad temprana, la exposición a irradiación terapéutica de la pared torácica, la presencia de enfermedad mamaria proliferativa benigna y las mutaciones genéticas en los genes de susceptibilidad al cáncer de mama y ovario, como BRCA1 y BRCA2 (Alkabban et al., 2024).

La atención a pacientes con cáncer de mama ha experimentado avances significativos en las últimas seis décadas, incorporando el uso de las terapias neoadyuvantes, quimioterapia basada en taxanos, terapias hormonales y terapias dirigidas contra HER2. Actualmente, los esquemas terapéuticos se individualizan, considerando tanto las características del tumor como las comorbilidades y preferencias de los pacientes.

En el ámbito de la oncología médica, en la actualidad es posible evitar el uso de quimioterapia en aproximadamente la mitad de los pacientes con cáncer de mama con receptor hormonal positivos y HER2 negativo, mediante la aplicación de pruebas genómicas de pronóstico. Asimismo, se encuentran en reevaluación la necesidad de administrar terapia endocrina adyuvante durante periodos prolongados, como diez años, lo cual permitiría en el futuro adaptar los tratamientos de forma más personalizada y reducir efectos secundarios innecesarios (Smith-Graziani et al., 2020).

1.3 Macrófagos de ratón RAW 264.7

Las células RAW 264.7 corresponden a una línea de macrófagos derivados de un tumor inducido por el virus de la leucemia murina en ratones de la cepa BALB/c (Figura 3). Estas células presentan una morfología cuboidal o fusiforme y se caracterizan por una baja capacidad de adherencia al sustrato. Es frecuente que formen uniones débiles entre sí, lo que favorece su agrupamiento y la adopción de una morfología más redondeada, especialmente en cultivos con alta densidad celular.

A medida que el cultivo alcanza mayores niveles de confluencia, es esperable que algunas células viables se desprendan y permanezcan en suspensión en el medio de cultivo. Estas células no adheridas mantienen su funcionalidad y pueden ser recuperadas mediante centrifugación suave (American Type Culture Collection [ATCC], 2020).

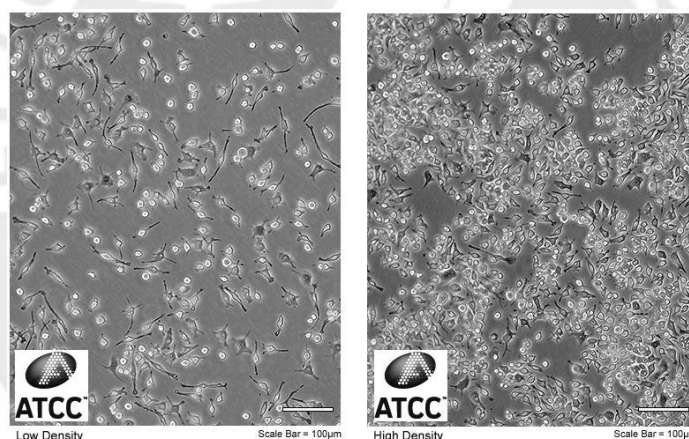


Figura 3. Células RAW 264. (RAW 264.7 - TIB-71 | ATCC, 2020).

1.4 Tipos de andamios

Los andamios tridimensionales, conocidos en la literatura como *scaffolds*, son estructuras porosas ampliamente utilizadas en la ingeniería de tejidos, ya que proporcionan un soporte físico que permite la adhesión, proliferación y crecimiento celular, además de favorecer la formación de matriz extracelular (Papaioannou et al., 2019). Asimismo, los andamios tridimensionales pueden influir en las señales mecánicas y bioquímicas del microambiente celular, facilitando las interacciones célula- célula y célula- matriz extracelular.

Estos sistemas son ampliamente empleados para el cultivo de células en condiciones fisiológicas, así como de células tumorales primarias derivadas de pacientes, y para la evaluación de la respuesta a fármacos, contribuyendo al desarrollo de modelos experimentales orientados hacia terapias personalizadas. Existen diversos tipos de andamios utilizados en la ingeniería de tejidos (Figura 4), cuyas principales ventajas y desventajas se resumen en la Tabla 1 (Unnikrishnan et al., 2021).

Tabla 1

Algunos tipos de andamios, ventajas y desventajas

Tipo	Ventajas	Desventajas
Hidrogeles	Capacidad de reacción análoga a la de un tejido.	Resistencia mecánica mínima
	Generalmente biocompatible Baja inmunogenicidad.	Los geles físicamente reticulados son débiles
Bioimpresos en 3D	Excelente capacidad para recrear de manera precisa microambientes biomiméticos. Distribución homogénea de las células.	Las soluciones de baja concentración pueden ser un factor limitante al incorporar material en una estructura 3D.
Descelularizados	Proporciona un entorno ECM Alta bioactividad Baja inmunogenicidad Promueve las interacciones entre la célula y el material.	La descelularización de los tejidos gruesos puede resultar difícil. El número de sitios de adhesión celular es limitado.
Fibrosos	Se destaca por tener una elevada relación entre la superficie y el volumen, lo que promueve la proliferación, migración, adhesión y diferenciación de las células.	Baja estabilidad estructural Limitado por la siembra de células La morfología del andamio es difícil de regular. Limitado en espesor y tamaño de poro pequeño.
De microesferas	Liberación acumulativa de sustancias bioactivas encapsuladas. Mantenimiento prolongado de células cancerosas en cultivo	Puede resultar en la pérdida de bioactividad de los factores encapsulados. Toxicidad del disolvente residual
	Excelentes propiedades mecánicas	Caro
Incorporados de nanopartículas.	Alta capacidad de penetración Propiedades de superficie ajustables	Agregación de partículas

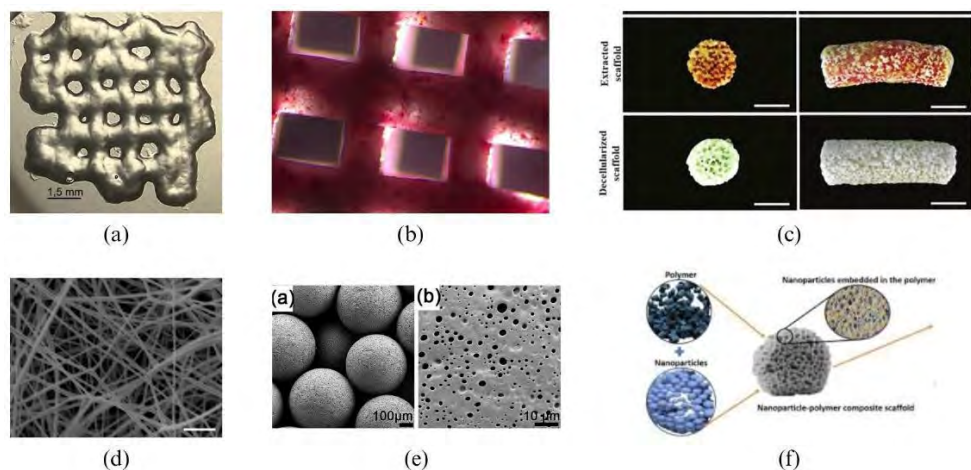


Figura 4. Tipos de andamios. (a) Hidrogeles (Àngels López, 2020), (b) Bioimpresos en 3D (Hospimedia en Español, 2024), (c) Descelularizados (Ventura et al., 2015), (d) Fibrosos (Li & Cooper, 2011), (e) De microsferas (Hou et al., 2017), (f) Incorporados de nanopartículas (Álvarez-Chimal et al., 2024).

1.5 Tecnologías y aplicaciones de la impresión 3D

El desarrollo de modelos tridimensionales del tejido mamario ha contribuido de manera significativa a la comprensión de la progresión del cáncer de mama, y se ha consolidado como una herramienta experimental para la evaluación de respuestas farmacológicas y el estudio de estrategias terapéuticas personalizadas en pacientes con esta patología (Maghdouri-White et al., 2016).

Los sistemas de cultivo tridimensional basados en andamios han demostrado presentar respuestas a fármacos distintas a las observadas en cultivos bidimensionales, incluyendo una mayor resistencia aparente a los tratamientos, lo que los convierte en modelos más representativos para la evaluación de la eficacia de medicamentos. Entre los principales modelos de andamios utilizados para la validación de fármacos en cáncer de mama se encuentran los andamios derivados de pacientes, las matrices tisulares descelularizadas, los andamios fibrosos, los andamios electrohilados a base de policaprolactona, los andamios de fibroína de seda, los andamios basados en hidrogeles impresos en 3D y los andamios de poliestireno estratificados con fibroblastos (Unnikrishnan et al., 2021).

Las técnicas tradicionales de fabricación de andamios constituyeron los primeros enfoques para la obtención de estructuras que imitan tejidos regenerativos. Sin embargo, debido a sus limitaciones en precisión y control geométrico, surgió la necesidad de desarrollar tecnologías de impresión 3D, las cuales permiten fabricación de andamios con mayor complejidad estructural y control espacial de los materiales empleados (Do et al., 2018).

Entre las principales técnicas de bioimpresión tridimensional empleadas se encuentran la bioimpresión basada en extrusión, la bioimpresión por inyección de tinta, la estereolitografía y la bioimpresión asistida por láser (Gillispie et al., 2020).

Bioimpresión basada en extrusión

La bioimpresión basada en extrusión, conocida por sus siglas en inglés como EBB, es una de las técnicas más utilizadas en ingeniería de tejidos. Este tipo de impresoras cuenta con múltiples cabezales que permiten la deposición controlada de distintos biomateriales dentro de una misma estructura. A diferencia de otras técnicas, la EBB puede trabajar con densidades celulares más elevadas y admite una amplia variedad de biomateriales. No obstante, durante el proceso de extrusión, las células son sometidas a esfuerzos mecánicos y presiones al pasar por la boquilla, lo que puede afectar su viabilidad y funcionalidad. Asimismo, esta técnica depende del uso de biotintas, las cuales están compuestas por una combinación de células, biomateriales y moléculas señalizadoras (Gillispie et al., 2020).

Bioimpresión por inyección de tinta

La bioimpresión por inyección de tinta utiliza procesos térmicos, piezoeléctricos o microválvulas para dispensar gotas de soluciones diluidas y conformar estructuras tridimensionales. Esta tecnología permite la fabricación de geometrías complejas; sin embargo, la presencia de células en la biotinta puede alterar la formación y el desplazamiento de las gotas, afectando la calidad de impresión. Además, el uso repetido de tecnología piezoeléctrica

puede ocasionar daños en la membrana celular y provocar lisis celular (Rider, 2018; Li et al., 2016).

Estereolitografía

La estereolitografía, conocida por sus siglas en inglés como SLA, es una tecnología de manufactura aditiva basada en el principio de fotopolimerización en tina. Este método emplea luz ultravioleta para polimerizar una resina líquida capa por capa, solidificando selectivamente las regiones expuestas. A diferencia de la tecnología de modelado por deposición fundida, la estereolitografía no requiere el calentamiento de la plataforma ni de una boquilla de extrusión, y permite obtener estructuras con mayor resolución y precisión dimensional (Atwater, 2018).

En esta tecnología se emplean distintos tipos de resinas, entre las que se incluyen resinas estándar, calcinables, transparentes, flexibles, de alta temperatura y dentales, cada una con propiedades y aplicaciones específicas (Najmon et al., 2019). Dado que la resina constituye el material principal del proceso, la velocidad de impresión está directamente influenciada por la penetración de la luz y la profundidad de curado, factores que determinan la formación de nuevas capas. Estas propiedades pueden ser modificadas mediante el ajuste de la viscosidad de la resina y la incorporación de aditivos fotoabsorbentes y agentes que facilitan el proceso de polimerización.

Las resinas típicamente utilizadas en estereolitografía están compuestas por polímeros como acrilatos y epoxis. Sin embargo, en aplicaciones biomédicas, el uso de acrilatos presenta limitaciones debido a su potencial citotóxico, lo que restringe su empleo en sistemas de cultivo celular y en ingeniería de tejidos (Hervás García et al., 2024).

Polyjet

La tecnología PolyJet emplea fotopolímeros depositados sobre una plataforma y solidificados mediante luz ultravioleta para fabricar piezas con alta resolución y acabado superficial uniforme. Este método permite la producción de geometrías complejas mediante

capas ultradelgadas, alcanzando precisiones del orden de 0,015 mm. Su funcionamiento es similar al de una impresora de inyección de tinta, donde el material se solidifica capa por capa y los soportes son eliminados posteriormente mediante disolventes, obteniéndose estructuras listas para su uso sin requerir posprocesamiento adicional (Muthuram et al., 2022).

Modelado por deposición fundida

El modelado por deposición fundida, conocido por sus siglas en inglés como FDM, fue desarrollado a finales de la década de 1980 por S. Scott Crump con el objetivo de facilitar la creación de prototipos, el modelado y la producción de piezas. Este proceso constituye una de las técnicas de manufactura aditiva más accesibles desde el punto de vista económico. En el proceso FDM, un filamento termoplástico es alimentado a través de una boquilla calentada, donde el material se funde y se deposita de forma controlada sobre la plataforma de impresión. La boquilla se desplaza lateralmente durante la deposición de cada capa, mientras que la plataforma desciende progresivamente conforme se completa cada nivel del modelo impreso (Gillespie, 2017).

Esta tecnología permite obtener resoluciones de capa en el rango de 10–100 μm . Entre los materiales comúnmente utilizados se encuentran el acrilonitrilo butadieno estireno, el ácido poliláctico, el poliuretano termoplástico, el policarbonato, la polieterimida, el nylon y el polietileno tereftalato glicol, siendo el ácido poliláctico el material más empleado debido a su facilidad de procesamiento y amplia disponibilidad comercial (Camarinha-Matos, 2023).

Bioimpresión asistida por láser

La bioimpresión asistida por láser utiliza pulsos láser para transferir biomateriales desde una cinta donadora hacia un sustrato receptor. Este sistema está compuesto por una fuente de láser pulsado, una capa recubierta de biomateriales y un sustrato que favorece la adhesión celular. La irradiación láser provoca la transferencia controlada de gotas que contienen células, hidrogeles, proteínas o materiales cerámicos. Diversos estudios han demostrado la viabilidad

de esta técnica para la impresión de diferentes tipos celulares, incluyendo fibroblastos dérmicos humanos, mioblastos de ratón, células endoteliales, células de cáncer de mama y células madre neurales (Li et al., 2016).

Todas las técnicas de bioimpresión tridimensional emplean biotintas que contienen células vivas y biomateriales diseñados para imitar el entorno de la matriz extracelular, favoreciendo la adhesión, proliferación y diferenciación celular. Los biomateriales utilizados pueden ser de origen natural o sintético, y algunos ejemplos de biotintas empleadas en aplicaciones relacionadas con el cáncer de mama se presentan en la Tabla 2 (Germain et al., 2022).

Tabla 2

Biotintas aplicadas en el cáncer. Fuente: Gungor-Ozkerim et al. (2018), Knowlton et al. (2017) y Ozbolat (2016)

Biotintas derivados de productos naturales			
Tipo de biotinta	Tecnología de Bioimpresión	Ventajas	Desventajas
Polisacárido	Basado en gotas	Bajo costo	Mala adhesión celular
natural (algas pardas)	Basado en filamentos	Buena imprimibilidad Excelente biocompatibilidad	Degradación rápida
Proteína natural (cola de rata o piel y tendón de bovino)	Basado en gotas Basado en filamentos	Excelente biocompatibilidad Alta adhesión celular Enzimáticamente degradable Propiedades mecánicas y estructurales cercanas al tejido nativo	Baja fidelidad de forma
A base de ácido hialurónico	Basado en filamentos	Excelente biocompatibilidad Amplia variedad y alto grado de modificaciones químicas potenciales Interactúa con receptores celulares	Mala resistencia mecánica. Se utiliza principalmente mezclado con otros biomateriales naturales.
Biotintas de origen sintético			
Poliacrilamida	Basado en filamentos Basado en planos Basado en gotas	Amplia gama de elasticidad Protocolo más estandarizado	Adecuado solo para cultivo 2D o necesario acoplarlo con otro material

1.6 Estado del arte

La ingeniería de tejidos ha incorporado de manera creciente el uso de andamios tridimensionales fabricados mediante tecnologías de impresión 3D para estudiar el comportamiento celular en microambientes más representativos que los cultivos bidimensionales. En particular, la literatura muestra que el desempeño de estos modelos depende de manera crítica de la arquitectura del andamio, del material empleado, de la técnica de fabricación y de los métodos de caracterización utilizados para validar la estructura y su interacción con las células. En esta sección se integran estudios representativos con el fin de comparar enfoques, identificar tendencias metodológicas y delimitar el aporte del presente trabajo.

Un primer grupo de investigaciones se centra en evaluar cómo los parámetros de fabricación y la arquitectura del andamio modulan respuestas celulares relevantes en modelos de cáncer de mama. Polonio-Alcalá et al. 2018 analizaron andamios porosos de ácido poliláctico fabricados mediante modelado por deposición fundida, evaluando parámetros como altura de capa, densidad de relleno, patrón de relleno, dirección de relleno y flujo de material. El desempeño biológico se valoró mediante ensayos de proliferación celular empleando células de carcinoma de mama triple negativo MDA-MB-231. Los autores reportaron que configuraciones específicas de impresión se asociaron con mayores tasas de proliferación y con la expansión de subpoblaciones celulares vinculadas a un fenotipo tipo stem, lo que destaca el rol de la arquitectura y del control del proceso de impresión en la generación de microambientes tumorales. Estas diferencias estructurales en los andamios pueden observarse en la caracterización microscópica presentada en la Figura 5, donde se evidencian variaciones en porosidad y morfología asociadas a los parámetros de fabricación.

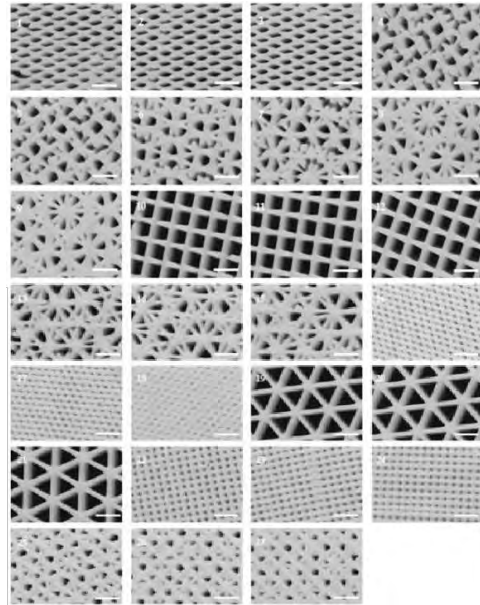


Figura 5. Caracterización microscópica de andamios de PLA (Polonio-Alcalá et al., 2018).

De forma complementaria, otros estudios avanzan hacia modelos tridimensionales que integran componentes del tejido y del microambiente, buscando una representación más cercana a condiciones fisiológicas mediante biomateriales hidratados y matrices funcionalizadas. Silva et al. 2020 desarrollaron un modelo tridimensional in vitro del tejido mamario que integra compartimentos estromales y parenquimatosos, utilizando andamios impresos con hidrogeles de alginato modificados con péptidos. El trabajo resalta la relevancia de variables geométricas como el ancho del filamento y el tamaño de poro, así como la necesidad de caracterización estructural cuantitativa mediante microscopía estereoscópica e ImageJ, además del cálculo de porosidad en múltiples muestras representativas como se observa en la Figura 6. Este enfoque evidencia una tendencia hacia el uso de hidrogeles y matrices biofuncionalizadas para favorecer las interacciones célula-matriz y la organización tisular.

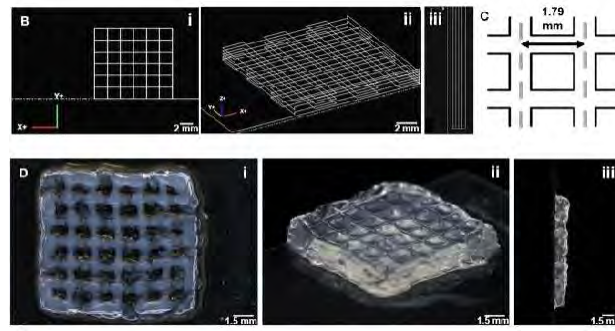


Figura 6. Andamios impresos en 3D con el uso de alginato RGD (Silva et al., 2020).

Desde una perspectiva metodológica más amplia, la literatura ha propuesto enfoques de diseño integrados que conectan la topología del andamio con requerimientos de transporte de nutrientes, desempeño mecánico y objetivos biológicos. Egan 2019 revisó estrategias de diseño, fabricación y evaluación de andamios con énfasis en cómo la porosidad, el tamaño de poro, el área superficial, la permeabilidad y los módulos mecánicos efectivos influyen simultáneamente en la viabilidad celular y el rendimiento del constructo. Esta revisión propone criterios que permiten comparar estructuras tipo espuma y tipo celosía, y plantea que la geometría del poro puede adaptarse para balancear el flujo de nutrientes con la rigidez requerida según la aplicación, como se observa en la Figura 7, donde se presentan distintas configuraciones geométricas de poro utilizadas en el diseño de andamios.

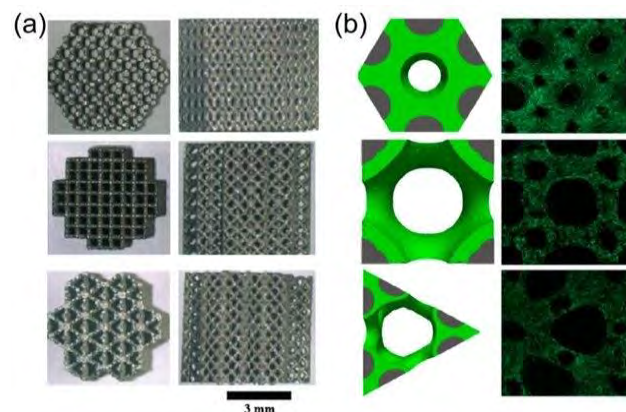


Figura 7. Andamios con geometrías de poros variadas (Egan, 2019).

Adicionalmente, evidencias provenientes de aplicaciones distintas al tejido mamario demuestran que modificaciones específicas de la arquitectura pueden modular procesos celulares funcionales, reforzando el principio de que la geometría no solo cumple un rol estructural, sino también bioestructivo. Ji y Guvendiren (2019) diseñaron andamios cilíndricos impresos en policaprolactona con patrones ondulados y lineales, y evaluaron el efecto de estas arquitecturas sobre la osteogénesis de células madre mesenquimales humanas. El estudio integró caracterización morfológica mediante microscopía electrónica de barrido y tomografía microcomputada, así como ensayos mecánicos de compresión, y reportó mejoras significativas en marcadores osteogénicos para las geometrías onduladas. Aunque el objetivo biológico difiere del presente trabajo, estos resultados evidencian cómo la arquitectura del andamio puede inducir respuestas celulares específicas, respaldadas por una caracterización estructural y mecánica detallada, como se muestra en la Figura 8, donde se ilustran las variaciones geométricas y su relación con la microestructura del andamio.

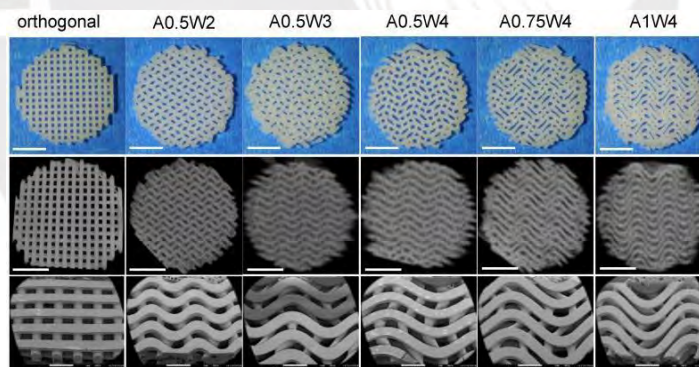


Figura 8. Estructuras de andamios e imágenes de microscopio electrónico de barrido (Ji & Murat Guvendiren, 2019).

Con el fin de sintetizar y comparar los principales enfoques revisados, en la Tabla 3 se presenta una síntesis comparativa de los estudios analizados, considerando el material del andamio, la geometría y dimensiones reportadas, los parámetros de fabricación, las técnicas de caracterización empleadas y el modelo celular utilizado. Esta sistematización permite una lectura transversal de la literatura y pone en evidencia similitudes y diferencias entre estrategias basadas en polímeros termoplásticos impresos por deposición fundida, hidrogeles funcionalizados impresos en 3D y diseños orientados por criterios de transporte y desempeño mecánico.

En conjunto, los estudios revisados demuestran que el material, la técnica de impresión y la arquitectura del andamio influyen de manera directa en la interacción célula-matriz, la proliferación celular y la respuesta a estímulos del microambiente, y que la caracterización estructural y mecánica es indispensable para interpretar los resultados biológicos. Sin embargo, la literatura se concentra con mayor frecuencia en modelos tumorales centrados en células cancerosas o en aplicaciones de diferenciación celular, mientras que existe menor sistematización en la evaluación de andamios impresos en 3D como sustratos para estudiar el comportamiento de células inmunes en un contexto relacionado con cáncer de mama. En este escenario, el presente trabajo se enfoca en el diseño, fabricación y caracterización de andamios tridimensionales mediante distintas tecnologías de manufactura aditiva, evaluando su desempeño como plataformas de cultivo para macrófagos RAW 264.7, con el propósito de contribuir a la generación de modelos experimentales más representativos del microambiente tumoral.

Tabla 3

Análisis y comparación de investigaciones previas

Estado de arte					
	Material de los andamios	Tamaño y forma del andamio	Parámetros de impresión	Análisis y caracterización	Células utilizadas
Polonia-Alcalá (2018)	PLA	Cilindro de 20 mm de diámetro y 2.4 mm de altura	Altura de capa: 0.2 mm Relleno: 70% Flujo de material: 100%	Ensayo de proliferación celular, caracterización microscópica	MDA-MB-231
Silva (2020)	Hidrogel de alginato modificado con péptidos	6 capa cuadradas de 0.2 mm de ancho de filamento y 1.8 mm de tamaño de poro		Estereomicroscopio, software ImageJ, medición de porosidad	Fibroblastos mamarios humanos
Egan (2019)	-	Personalizable según aplicación	Personalizados para transporte de nutrientes y crecimiento biológico	Evaluación de porosidad, tamaño de poros, área superficial, permeabilidad, módulos elásticos y de cizallamiento	Varía según aplicación (células osteogénicas, etc.)
Ji & Murat Guvendiren (2019)	PCL	Cilindros de 5 mm de diámetro y 1 mm de altura	Patrones ondulados y lineales	Microscopio electrónico de barrido, tomografía microcomputada, pruebas de compresión	Células madre mesenquimales humanas

CAPÍTULO 2

CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES Y METODOLOGÍA

En este capítulo se describen los métodos y procedimientos empleados en el diseño, fabricación y evaluación de andamios tridimensionales biomiméticos para el cultivo celular. El enfoque metodológico se centra en la aplicación de técnicas de manufactura aditiva para la obtención de estructuras tridimensionales con arquitecturas controladas, seguidas de su caracterización morfológica y su evaluación para el cultivo de macrófagos de ratón RAW 264.7.

La investigación corresponde a un estudio experimental, orientado a analizar cómo las características geométricas y estructurales de los andamios impresos en 3D influyen en el comportamiento celular. Asimismo, la metodología empleada comprende el diseño asistido por computadora, la fabricación de andamios mediante distintas tecnologías de impresión 3D y materiales poliméricos, así como su evaluación biológica a través de ensayos de cultivo celular.

2.1 Flujo metodológico del estudio

El desarrollo metodológico del estudio se estructuró en fases secuenciales e interdependientes, lo que permitió abordar de manera sistemática el diseño, la fabricación, la caracterización y la evaluación biológica de los andamios tridimensionales. Este enfoque

facilitó la optimización progresiva de las estructuras impresas y la selección de los diseños más adecuados para su aplicación en el cultivo celular.

En la Tabla 4, se presenta un resumen de las fases que conforman el procedimiento metodológico, junto con las actividades principales desarrolladas en cada etapa del estudio. De manera complementaria, la Figura 9 ilustra el flujo metodológico general del estudio.

Tabla 4

Fases que describen el procedimiento de la investigación

Fase	Descripción
Diseño de Andamios 3D	<p>Revisión bibliográfica sobre los requerimientos del diseño de los andamios considerando criterios de biocompatibilidad, porosidad y arquitectura. Uso de los softwares ImageJ y Autodesk Fusion 360 para el diseño de los patrones de biomiméticos.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Diseño de 8 andamios variando el conteo y escala celular.
Fabricación de Andamios	<p>Selección de tecnologías de manufactura aditiva y materiales en función de su accesibilidad, versatilidad y aplicabilidad experimental.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Impresión 3D de ocho diseños en la tecnología SLA con el uso de resina biocompatible. - Impresión 3D de ocho diseños en la tecnología FDM con el uso de PLA. <p>Las fases de diseño y fabricación son iterativas debido a que consiste en desarrollar, probar y evaluar los andamios, permitiendo la optimización temprana de los parámetros de impresión.</p>
Caracterización de los Andamios	<p>Análisis morfológico de dieciséis andamios impresos mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). A partir de las imágenes obtenidas y de la revisión bibliográfica, se seleccionaron cuatro diseños en función del tamaño del poro y la fidelidad geométrica.</p>
Cultivo celular	<p>Aplicación de un protocolo de cultivo celular que incluyó la descongelación, mantenimiento y cultivo de macrófagos de ratón RAW 264.7 sobre los andamios tridimensionales seleccionados.</p>

consumibles propios de los ensayos de cultivo celular, incluyendo soluciones tampón, suplementos del medio, antibióticos y materiales plásticos estériles, necesarios para la manipulación, mantenimiento y evaluación celular en condiciones asépticas.

2.2.2 Equipos

La fabricación de los andamios se realizó utilizando impresoras 3D basadas en tecnologías de modelado por deposición fundida y estereolitografía. La caracterización morfológica de las estructuras impresas se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido, lo que permitió evaluar la arquitectura del andamio, el tamaño de poro y la calidad superficial de las estructuras obtenidas.

Para el desarrollo de los ensayos biológicos se emplearon equipos de laboratorio destinados al manejo de cultivos celulares, incluyendo una cabina de bioseguridad para la manipulación aséptica, una incubadora con control de temperatura y atmósfera, una centrífuga y equipamiento auxiliar necesario para el mantenimiento y procesamiento de las muestras celulares.

2.2.3 Software

El diseño geométrico de los andamios tridimensionales se realizó mediante el software Autodesk Fusion 360, el cual permitió la generación de modelos tridimensionales con parámetros geométricos controlados y reproducibles. El análisis de imágenes y la medición de parámetros estructurales se llevaron a cabo utilizando el software ImageJ, facilitando la evaluación cuantitativa de características morfológicas como tamaño de poro y distribución espacial de las estructuras impresas.

2.3 Estándares y normativas experimentales

Por otro lado, los andamios fabricados mediante la tecnología de estereolitografía se imprimieron utilizando la impresora Crealty Halot One Plus y resina Prizma BioSplit

transparente. El proceso de impresión se llevó a cabo mediante el software Chitubox, en el cual se establecieron los parámetros operativos necesarios para la correcta polimerización de las capas y la reproducción precisa de las geometrías diseñadas.

En la Tabla 9 se presentan los parámetros de impresión empleados para la fabricación de los andamios mediante esta tecnología.

2.3.1 Fabricación de andamios tridimensionales

La evaluación del comportamiento celular sobre los andamios tridimensionales se llevó a cabo tomando como referencia la norma ASTM F2739-19, la cual proporciona directrices para la cuantificación de la viabilidad celular y otros atributos relacionados en andamios biomateriales. Esta norma aborda aspectos asociados a la distribución de células viables y no viables en estructuras porosas, así como posibles interacciones entre el material del andamio y los métodos de evaluación empleados, que pueden influir en la interpretación de los resultados (ASTM International, 2019).

En función de estos criterios, los ensayos de viabilidad celular se seleccionaron y analizaron considerando las características del material y la arquitectura de los andamios tridimensionales evaluados.

2.3.2 Normativas para aplicaciones biomédicas

Para la evaluación de la respuesta celular frente a los materiales utilizados, se consideraron los criterios establecidos en la norma ISO 10993-5, la cual describe ensayos in vitro destinados a la determinación de citotoxicidad en materiales y dispositivos médicos. Esta norma es empleada de manera habitual como referencia para interpretar la interacción entre células y materiales en condiciones controladas (International Organization for Standardization, 2009). En el presente estudio, dichos lineamientos se utilizaron como base metodológica para

la evaluación biológica, sin que ello implique procesos de validación o certificación del material empleado.

2.3.3 Manejo estéril y cultivo celular

Las etapas relacionadas con el cultivo celular se desarrollaron bajo condiciones asépticas, empleando materiales estériles y procedimientos estándar de laboratorio para prevenir la contaminación microbiológica. La línea celular RAW 264.7 fue manipulada de acuerdo con las recomendaciones generales para su mantenimiento y manejo, incluyendo la recuperación de células no adheridas cuando correspondió (American Type Culture Collection, 2020).

El medio de cultivo RPMI 1640 fue preparado y suplementado conforme a prácticas estandarizadas para cultivo celular, manteniendo condiciones de esterilidad durante su preparación, almacenamiento y uso experimental.

2.4 Diseño y fabricación de andamios tridimensionales biomiméticos

En esta sección se describe el proceso de diseño y fabricación de andamios tridimensionales biomiméticos desarrollados para el cultivo de macrófagos de ratón RAW 264.7. El enfoque adoptado consideró el uso de tecnologías de manufactura aditiva para la obtención de estructuras con arquitecturas controladas, orientadas a reproducir características estructurales relevantes del tejido mamario y a favorecer la interacción célula–andamio. El proceso metodológico incluyó la definición de requerimientos de diseño, el desarrollo de modelos tridimensionales asistidos por computadora y la fabricación de los andamios mediante tecnologías de modelado por deposición fundida y estereolitografía.

2.4.1 Requerimientos de diseño de los andamios

El diseño de los andamios tridimensionales se estableció considerando una serie de requerimientos fundamentales, orientados a garantizar su funcionalidad como sustratos para el cultivo celular. Entre los principales criterios considerados se encuentran los siguientes:

- **Biocompatibilidad:** Un andamio destinado a aplicaciones de cultivo celular debe permitir una adecuada adhesión celular y favorecer la migración de las células a través de su estructura, promoviendo así los procesos de proliferación y formación de una nueva matriz extracelular (O'Brien, 2011).
- **Porosidad:** la porosidad desempeña un papel clave en las propiedades de los andamios, ya que un mayor grado de porosidad facilita el suministro de nutrientes y oxígeno, así como la eliminación de productos de desecho metabólico, favoreciendo el crecimiento celular (Yadav et al., 2021). En andamios porosos, el diámetro del poro constituye uno de los parámetros más relevantes, debido a su influencia directa en el comportamiento celular. Diversos estudios reportan que tamaños de poro comprendidos entre 100 y 700 μm (0,1–0,7 mm) resultan adecuados para aplicaciones de cultivo celular (Gaëtan Lutzweiler et al., 2020).
- **Arquitectura del andamio:** La arquitectura estructural del andamio debe presentar una red de poros interconectados, lo que contribuye a mejorar la migración celular y la distribución homogénea de nutrientes dentro de la estructura tridimensional (Murugiah Krishani et al., 2023).

2.4.2 Diseño de estructuras biomiméticas

El diseño de los andamios debe emular las características estructurales del tejido mamario se utilizó el software ImageJ, un programa de procesamiento de imágenes ampliamente empleado en aplicaciones científicas. Mediante esta herramienta se ajustó el contraste de una imagen de tejido mamario sano, lo que permitió resaltar áreas específicas de

interés, como la disposición general de las células, obteniendo así un patrón referencial para el diseño de los andamios tridimensionales (Figura 10).

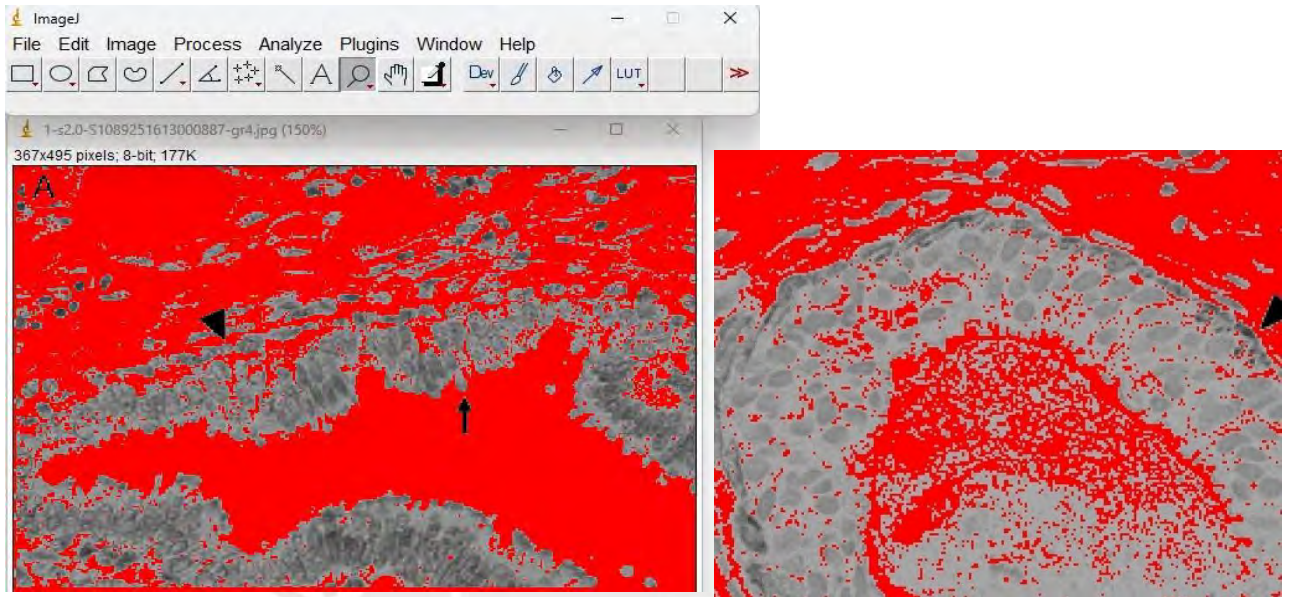


Figura 10. Estructura del tejido mamario sano con el uso del software ImageJ.exe.

A partir del patrón celular referencial obtenido, se procedió al diseño de los andamios tridimensionales utilizando el software Autodesk Fusion 360. Esta plataforma permitió el desarrollo de modelos tridimensionales mediante herramientas de modelado paramétrico, modelado directo y generación de geometrías complejas. Entre las ventajas de este software se encuentra su enfoque basado en la nube, que facilita un proceso de desarrollo integrado y reproducible (M, 2023). Para la generación de estructuras biomiméticas se empleó un complemento de Autodesk Fusion 360 que permite la creación de diagramas de Voronoi. Un diagrama de Voronoi corresponde a una construcción geométrica que divide el plano o el espacio en regiones asociadas a puntos generadores, de tal manera que cada región contiene los puntos más cercanos a su generador que a cualquier otro (Okabe et al., 2020). Con el complemento instalado se realizaron diseños cúbicos con 3cm de arista a los cuales se les generó un diagrama Voronoi y se consideró el estilo de celda tipo curvo y se modificó el conteo de células y la escala celular.

Con el complemento instalado, se diseñaron estructuras cúbicas con una arista de 3 cm, sobre las cuales se aplicó un patrón de Voronoi en tres de sus caras. Para estos diseños se seleccionó un estilo de celda de tipo curvo y se modificaron parámetros como el conteo celular y la escala celular. El conteo celular corresponde al número total de celdas generadas por el diagrama de Voronoi en las caras del cubo, mientras que la escala celular define el tamaño relativo de dichas celdas dentro del patrón geométrico (Figura 11).

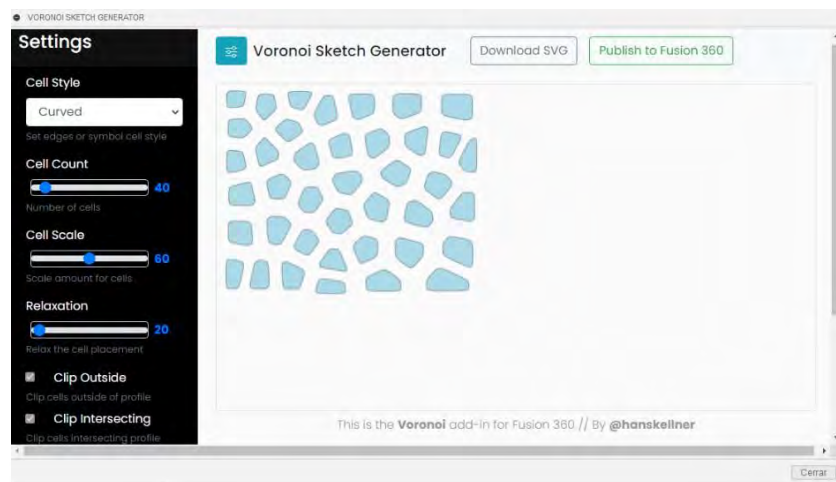


Figura 11. Configuración de parámetros del diagrama Voronoi.

La aplicación del patrón de Voronoi en las tres caras del cubo permitió generar una distribución controlada de poros a lo largo de la estructura (Figura 12). Posteriormente, estos patrones fueron extruidos para obtener estructuras tridimensionales porosas, dando lugar a un total de ocho diseños distintos de andamios tridimensionales (Figura 13).

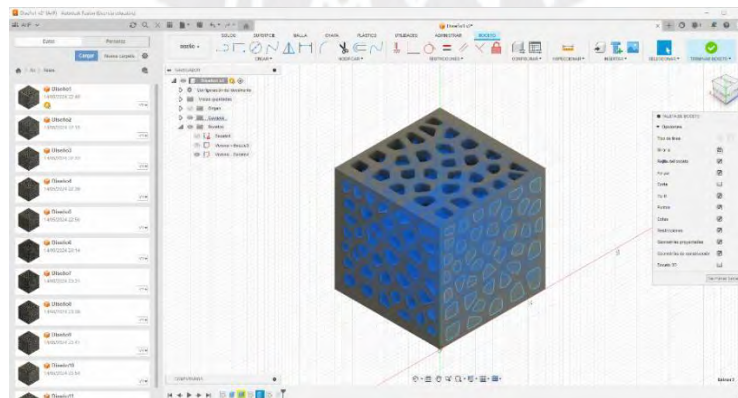
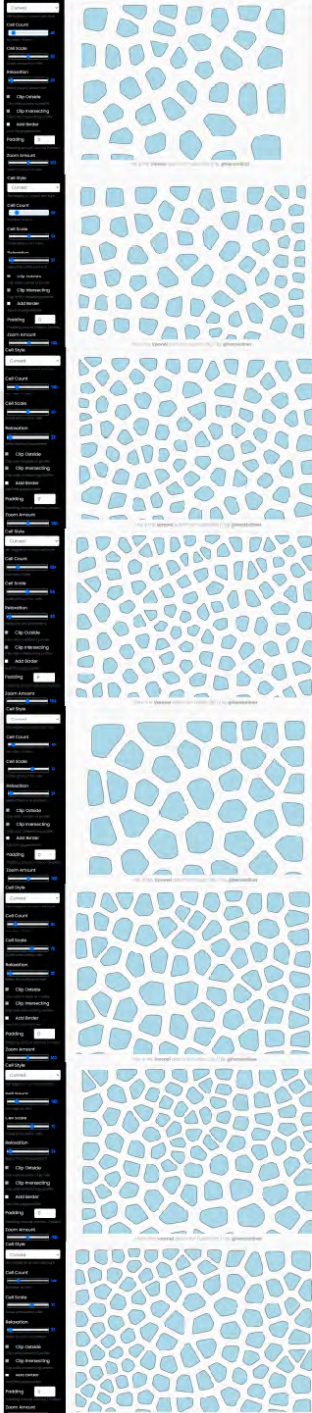


Figura 12. Extrusión del patrón Voronoi.

Tabla 5

Parámetros de diseño

Parámetros de diseño					
Diseños	Estilo de celda	Conteo de células	Escala celular	Relajación	Imagen Referencial
Diseño 1	Curvo	40	60	20	
Diseño 2	Curvo	80	60	20	
Diseño 3	Curvo	100	60	20	
Diseño 4	Curvo	120	60	20	
Diseño 5	Curvo	40	70	20	
Diseño 6	Curvo	80	70	20	
Diseño 7	Curvo	100	70	20	
Diseño 8	Curvo	120	70	20	

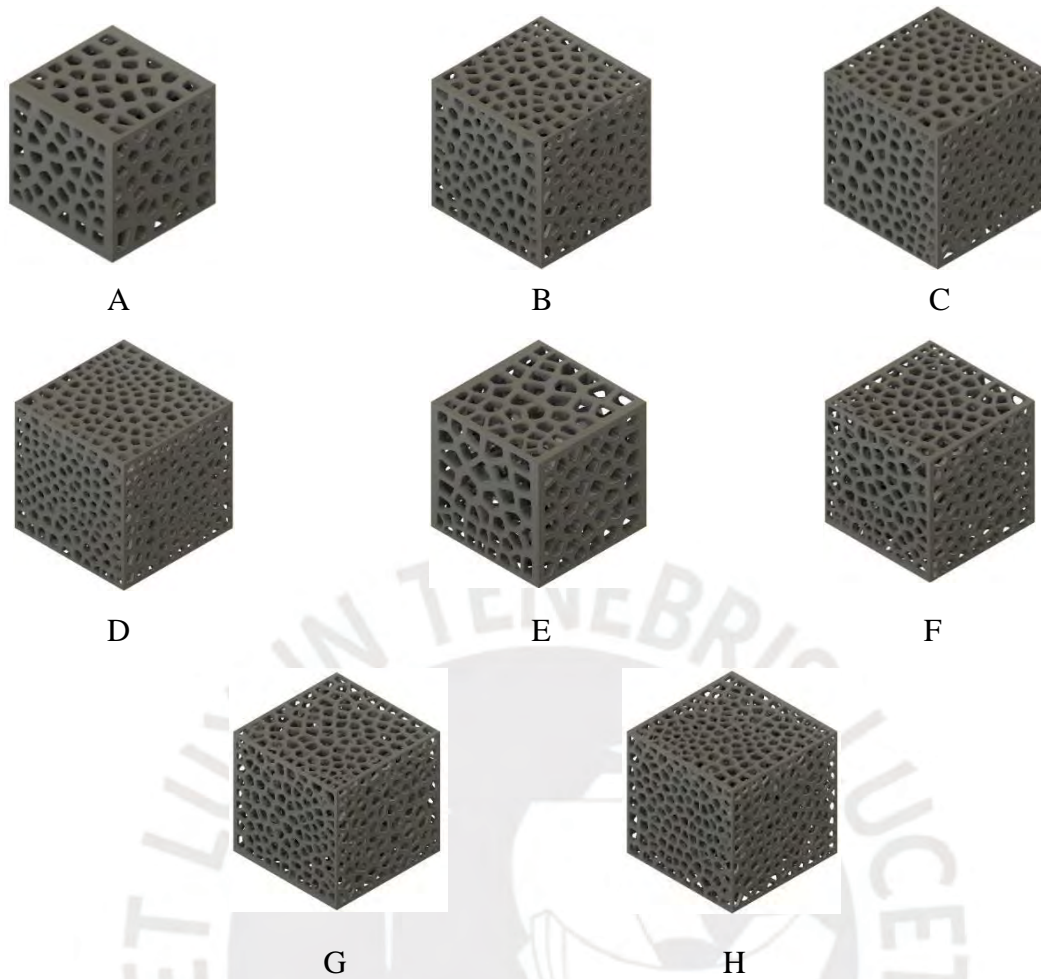


Figura 13. Andamios diseñados en Autodesk Fusion 360. A Diseño 1, B. Diseño 2, C. Diseño 3, D. Diseño 4, E. Diseño 5, F. Diseño 6, G. Diseño 7, H. Diseño 8.

2.4.3 Selección de tecnologías y materiales

La selección de las tecnologías de manufactura aditiva y de los materiales empleados se realizó considerando criterios de accesibilidad, control geométrico, reproducibilidad y compatibilidad con aplicaciones de cultivo celular. En este estudio se emplearon dos tecnologías de impresión 3D ampliamente utilizadas en la fabricación de andamios para ingeniería de tejidos: el modelado por deposición fundida y la estereolitografía.

La tecnología de modelado por deposición fundida, conocida como FDM, se basa en la extrusión de un filamento termoplástico fundido a través de una boquilla calentada, que deposita el material de manera controlada capa por capa. Esta tecnología se caracteriza por su

facilidad de uso, bajo costo operativo y amplia disponibilidad, lo que la convierte en una opción frecuente para la fabricación de estructuras porosas mediante manufactura aditiva.

Uno de los materiales más comúnmente utilizados en la impresión 3D mediante FDM es el ácido poliláctico, PLA, un poliéster biodegradable de origen natural. Este material se obtiene a partir de recursos renovables, como el almidón de maíz o la caña de azúcar, y presenta propiedades mecánicas adecuadas para aplicaciones estructurales a pequeña escala (Atwater, 2018). Diversos estudios han reportado el uso del PLA como biomaterial en aplicaciones médicas y de ingeniería de tejidos, debido a su biocompatibilidad y a su capacidad de degradación en condiciones fisiológicas controladas (Hodzic et al., 2020).

En el contexto del presente estudio, el PLA fue seleccionado como material de impresión para la tecnología FDM debido a su comportamiento favorable durante el proceso de fabricación, su estabilidad dimensional y su potencial para favorecer la adhesión y proliferación celular en estructuras tridimensionales impresas.

Tabla 6

Propiedades del ácido poliláctico (PLA). Fuente: Lalit Ranakoti et al., 2022

Ácido poliláctico	
Módulo de tracción (GPa)	3,2
Límite elástico (MPa)	49
Resistencia a la flexión (MPa)	70
Temperatura de fusión (°C)	140 - 210

La tecnología de estereolitografía, conocida como SLA, se basa en el principio de fotopolimerización para la fabricación de modelos tridimensionales a partir de resinas fotosensibles a la radiación ultravioleta. En este proceso, un rayo láser se enfoca de manera controlada sobre una bandeja que contiene resina líquida, curando selectivamente el material

capa por capa hasta conformar la geometría tridimensional deseada (Preethi Lakkala et al., 2023).

Entre las principales ventajas de la tecnología SLA se encuentran su elevada precisión dimensional y la alta calidad del acabado superficial, lo que permite la fabricación de estructuras con detalles finos y geometrías complejas que son difíciles de obtener mediante otras técnicas de manufactura aditiva (Xue Liang Ma, 2013).

Esta tecnología emplea materiales termoendurecibles reactivos a la luz ultravioleta, comúnmente denominados resinas fotopolimerizables. Existen distintos tipos de resinas, tales como resinas transparentes, lavables con agua, flexibles, resistentes al calor, calcinables y resinas de uso dental, entre otras, las cuales se seleccionan en función de la aplicación específica y de las propiedades requeridas (P, 2023).

En particular, las resinas dentales han sido ampliamente utilizadas en aplicaciones biomédicas debido a su adecuada biocompatibilidad y estabilidad estructural. Diversos estudios reportan que este tipo de resinas presenta una baja incidencia de efectos adversos asociados a reacciones citotóxicas cuando son utilizadas bajo condiciones controladas, lo que las convierte en materiales adecuados para aplicaciones experimentales in vitro (Prakash et al., 2024).

Tabla 7

Propiedades de la resina BioSplit. Fuente: Esun, Castable Resin for dental

	Valor	
Propiedades físicas		
Densidad	1.05 - 1.12	g/cm ³
Viscosidad	100 -150	mPa.s
Dureza	80	D
Propiedades mecánicas		
Resistencia a la tracción	42 - 62	MPa
Alargamiento de rotura	11 - 20	%
Fuerza flexible	49 -58	MPa

2.4.4 Fabricación de los andamios

Los andamios fabricados mediante la tecnología de modelado por deposición fundida se imprimieron utilizando una impresora Artillery Sidewinder X2 y filamento PLA+ de la marca eSUN, en color blanco (Figura 14). Asimismo, el proceso de impresión se realizó empleando el software Ultimaker Cura, en el cual se definieron los parámetros de impresión necesarios para la correcta fabricación de los diseños tridimensionales.

En la Tabla 8 se presentan los parámetros de impresión utilizados, los cuales fueron seleccionados con el fin de garantizar una adecuada definición geométrica de los andamios y una correcta deposición del material durante el proceso de fabricación.

Tabla 8

Parámetros utilizados en Ultimaker Cura

Parámetros	Valor
Altura de capa	0.12 mm
Paredes	3
Relleno	12%
Velocidad	50 mm/s

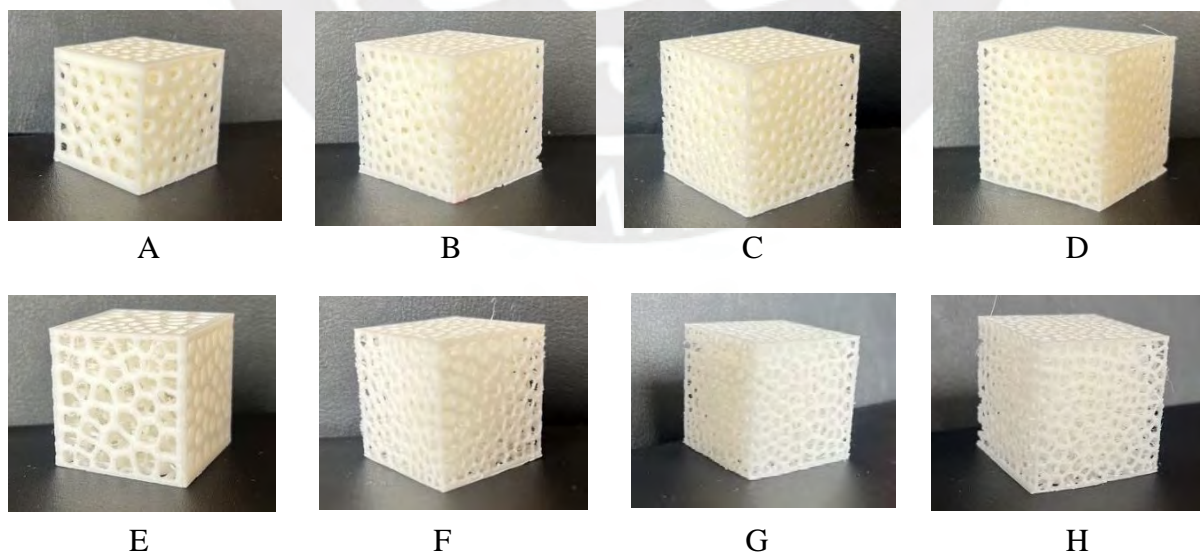


Figura 14. Andamios impresos en PLA. A Diseño 1, B. Diseño 2, C. Diseño 3, D. Diseño 4, E. Diseño 5, F. Diseño 6, G. Diseño 7, H. Diseño 8.

Por otro lado, los andamios impresos con la tecnología SLA fueron fabricados utilizando la impresora Creality Halot One Plus y resina de la marca Prizma Biosplit transparente (Figura 15). Asimismo, en la Tabla 9 se muestran los parámetros utilizados en el software Chitubox para la impresión de los diseños.

Tabla 9

Parámetros utilizados en Chitubox

Parámetros	Valor
Tiempo de exposición	6 s
Tiempo de exposición del fondo	40 s
Velocidad de elevación	60 mm/min
Velocidad de retracción	60 mm/min

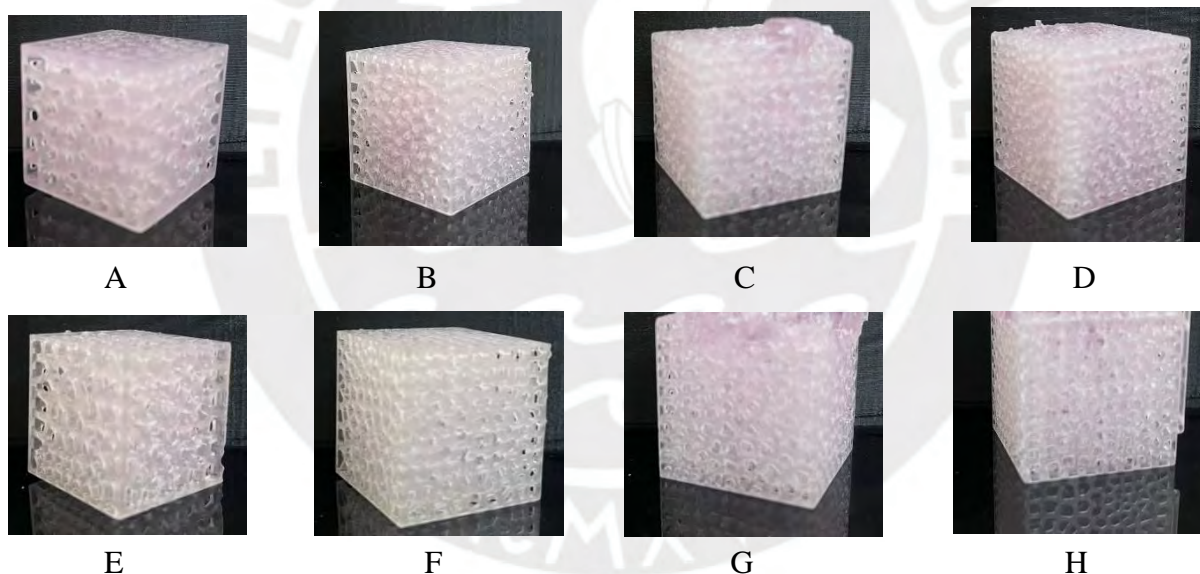


Figura 15. Andamios impresos en Resina Biosplit. A Diseño 1, B. Diseño 2, C. Diseño 3, D. Diseño 4, E. Diseño 5, F. Diseño 6, G. Diseño 7, H. Diseño 8.

2.5 Caracterización morfológica de los andamios

En esta sección se presenta el análisis de la caracterización morfológica de los andamios impresos en 3D mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), técnica que permite evaluar con alta resolución la morfología superficial, la porosidad y la arquitectura interna de las estructuras tridimensionales.

2.5.1 Inspección visual

Posterior a la impresión 3D de los andamios, se realizó una inspección visual preliminar con el objetivo de evaluar la calidad de las piezas fabricadas y optimizar los parámetros de impresión. Durante esta etapa inicial se identificaron diversas irregularidades, entre ellas sobreextrusión, oscilación del eje Z y formación de hilos, las cuales se resumen en la Tabla 10.

La sobreextrusión corresponde al depósito excesivo de material durante la impresión; la oscilación del eje Z se asocia a inestabilidades mecánicas del sistema de desplazamiento vertical de la impresora; mientras que la formación de hilos se produce como consecuencia de una retracción inadecuada del material durante los desplazamientos de la boquilla. Asimismo, se observó que ciertos detalles geométricos, como los poros y las estructuras internas de los andamios, no se reproducían con la precisión esperada.

Con el fin de corregir estas deficiencias, en las impresiones realizadas mediante tecnología FDM se redujo la altura de capa de 0,20 mm a 0,12 mm y se ajustó el flujo de material de 100 % a 95 %, lo que permitió mejorar la definición de los poros y la uniformidad de las superficies. En el caso de las impresiones mediante tecnología SLA, se mantuvo la altura de capa en 0,05 mm, pero se optimizó el tiempo de exposición por capa de 8 s a 6 s, logrando una mayor definición de las estructuras internas.

Como resultado de estos ajustes, se obtuvo una mejora significativa en la uniformidad y calidad de los andamios, con superficies más homogéneas y detalles internos mejor definidos. No obstante, se evidenció que los andamios fabricados presentaban un tamaño considerable, lo cual limitaba su uso en cultivos celulares, dado que no se adaptaban adecuadamente a placas Petri de 60 mm de diámetro. Para superar esta limitación, los andamios fueron seccionados en fragmentos de 10 × 10 mm, adecuados para su posterior evaluación biológica (Figura 16).

Tabla 10

Problemas identificados y soluciones




Problemas identificados			
Problema	Descripción	Solución implementada	Imagen referencial
Sobreextrusión	Se observó una superficie rugosa e irregular.	Se ajustó la temperatura de la boquilla y la velocidad de impresión	
Oscilación en el eje Z	Algunas capas estaban desalineadas	Ajuste de salto en el eje Z	
Formación de hilos	Se formaron hilos delgados entre las zonas impresas	Modificación del flujo de material y resolución de capa	



Figura 16. Andamios de 10x10mm

2.5.2 Caracterización morfológica mediante SEM

La precisión dimensional y la porosidad de los andamios tridimensionales se evaluaron mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), técnica ampliamente utilizada para la caracterización morfológica de biomateriales impresos en 3D (Md Rahatuzzaman et al., 2024). Esta técnica se basa en la interacción de un haz de electrones de baja energía con la

superficie de la muestra, permitiendo obtener imágenes de alta resolución de la microestructura y la morfología superficial (Meisam Omid et al., 2017).

A partir de las micrografías SEM es posible estimar parámetros estructurales relevantes de los andamios, tales como el tamaño y la geometría de los poros, la interconectividad, el espesor de las paredes y el área de sección transversal, aspectos clave para la evaluación de estructuras destinadas al cultivo celular tridimensional (Qiu Li Loh & Choong, 2013).

En el presente estudio se empleó un microscopio electrónico de barrido HORIBA iHR320, seleccionado por su capacidad para el análisis de la topografía superficial y dimensional de materiales poliméricos. Para la adquisición de imágenes (Figura 16), se trabajó con un voltaje de aceleración de 20 kV en modo de bajo vacío (low vacuum – water), condición adecuada para el análisis de muestras no conductoras.

El uso del modo de bajo vacío permitió minimizar la acumulación de carga electrostática en los andamios poliméricos, evitando distorsiones en la imagen y preservando la integridad de las muestras durante la observación. Asimismo, la presencia de vapor de agua contribuyó a la neutralización de la carga superficial, lo que hizo innecesario el uso de recubrimientos conductores adicionales y permitió una observación directa de las estructuras impresas.

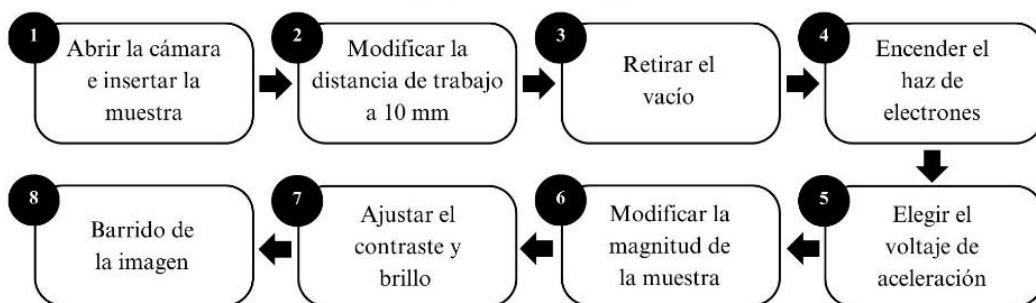


Figura 17. Procedimiento realizado para obtener las imágenes SEM.

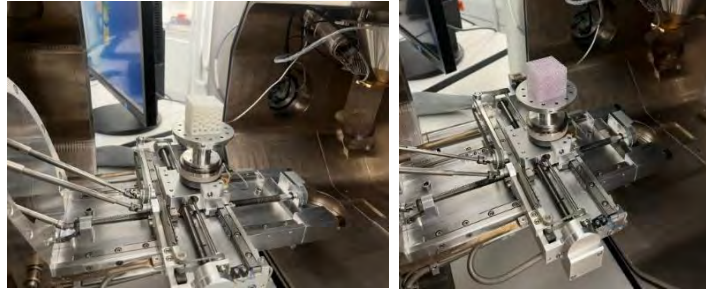


Figura 18. Muestras posicionadas en el SEM.

Luego de la preparación de las muestras, se analizaron ocho diseños de andamios tridimensionales impresos en 3D, fabricados en PLA mediante tecnología FDM y en resina BioSplit mediante tecnología SLA. Cada muestra fue evaluada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando cuatro aumentos distintos (50×, 100×, 250× y 500×), con el objetivo de caracterizar la morfología superficial y estimar el tamaño de los poros.

A continuación, se presentan las observaciones morfológicas y dimensionales obtenidas para cada diseño, comparando los valores medidos experimentalmente mediante SEM con los tamaños de poro definidos en los modelos CAD correspondientes.

- **Diseño 1:** Los poros del andamio impreso en PLA presentaron tamaños comprendidos entre 297,3 μm y 3,052 mm, mientras que en el andamio impreso en resina BioSplit el tamaño del poro fue aproximadamente 3,334 mm. El modelo CAD correspondiente presenta un tamaño de poro aproximado de 3,013 mm.

La tolerancia dimensional calculada respecto al modelo CAD fue de $\pm 1,29\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 10,65\%$ para el andamio impreso en resina BioSplit. Si bien los andamios impresos en PLA mostraron una mayor dispersión en los tamaños de poro medidos, el valor promedio se mantuvo más próximo al tamaño definido en el modelo CAD. En contraste, los andamios impresos en resina presentaron valores de poro más homogéneos, pero con una desviación promedio mayor respecto al modelo de referencia, lo que sugiere una menor fidelidad dimensional global para este diseño.

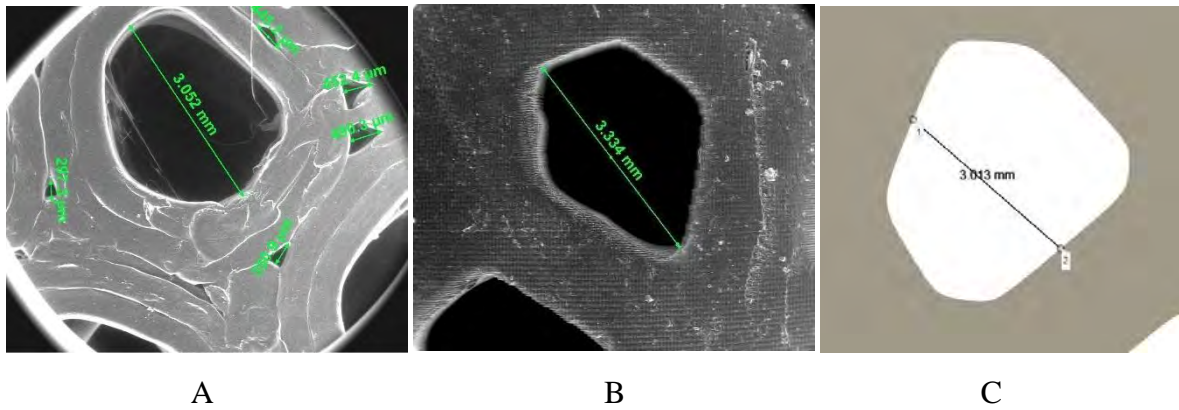
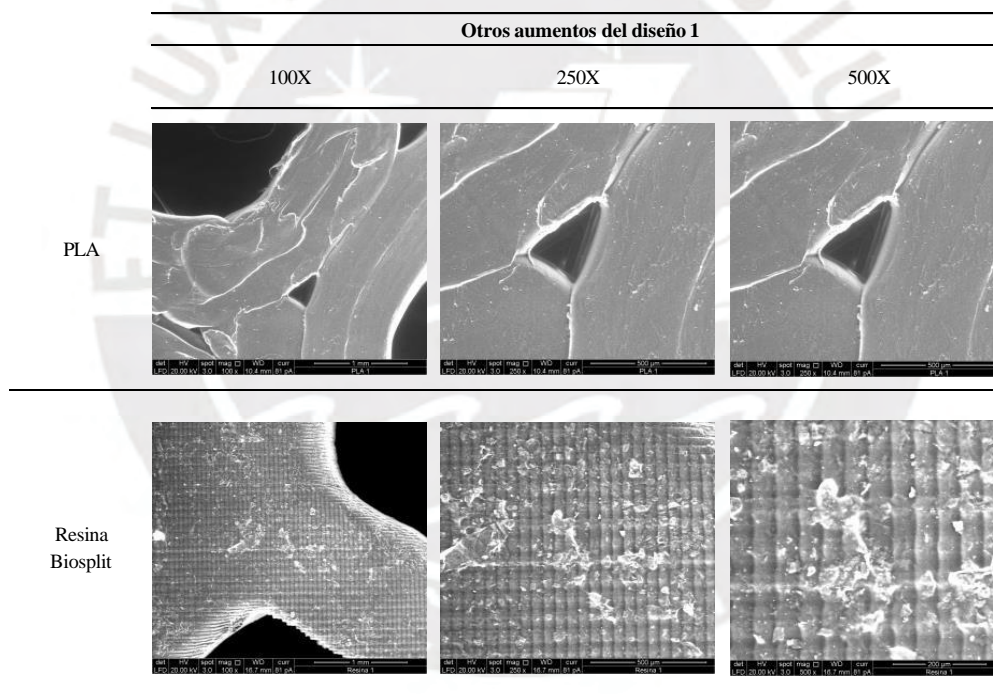


Figura 19. Diseño 1. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 11.

Otros aumentos del diseño 1 impreso en PLA y resina BioSplit.



- **Diseño 2:** En el andamio impreso en PLA, los tamaños de poro medidos oscilaron entre 335,6 μm y 2,154 mm. En el caso del andamio impreso en resina BioSplit, el tamaño del poro fue aproximadamente 2,395 mm, mientras que el modelo CAD presenta un tamaño de poro de 2,181 mm.

La tolerancia dimensional fue de $\pm 1,50\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 9,80\%$ para el andamio impreso en resina. Esto indica una mayor precisión dimensional en la impresión realizada con PLA para este diseño específico.

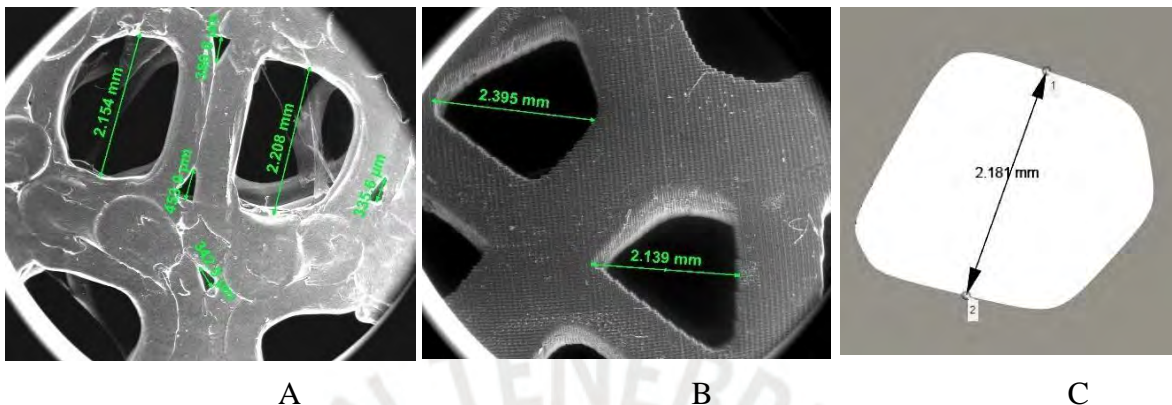
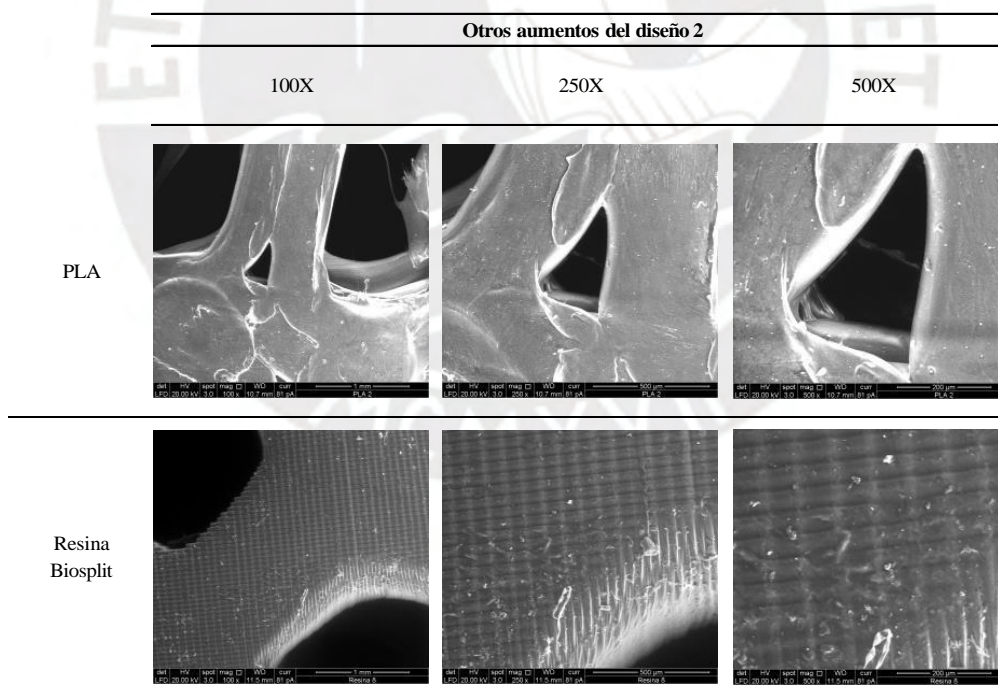


Figura 20. Diseño 2. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 12.

Otros aumentos del diseño 2 impreso en PLA y resina BioSplit.



- **Diseño 3:** Los poros del andamio impreso en PLA presentaron tamaños entre 144,2 μm y 1,893 mm, mientras que el andamio impreso en resina mostró un tamaño de poro aproximado de 2,406 mm. El tamaño de poro definido en el modelo CAD fue de 1,917 mm.

La tolerancia dimensional calculada fue de $\pm 1,27\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 25,53\%$ para el andamio impreso en resina. Esto indica una mayor precisión dimensional en la impresión realizada con PLA para este diseño específico.

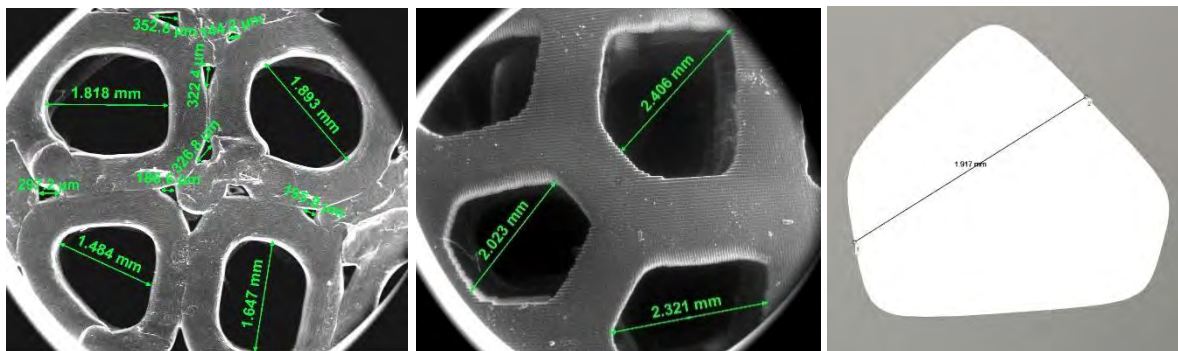
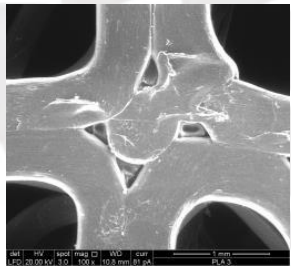
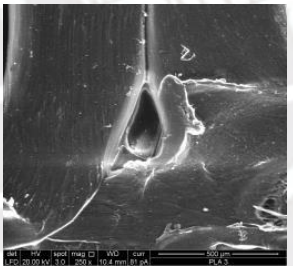
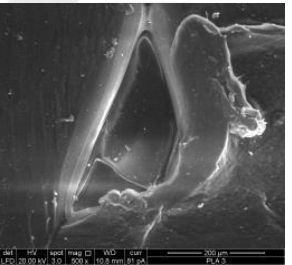
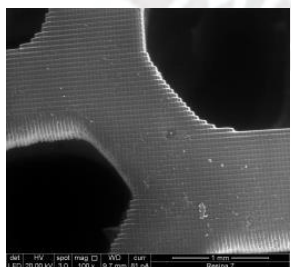
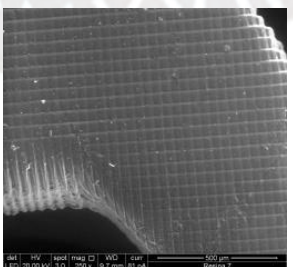
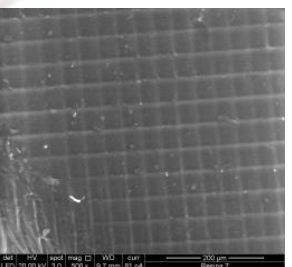


Figura 21. Diseño 3. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 13.

Otros aumentos del diseño 3 impreso en PLA y resina BioSplit.

Otros aumentos del diseño 3			
	100X	250X	500X
PLA			
Resina BioSplit			

- **Diseño 4:** En el andamio impreso en PLA, los tamaños de poro se encontraron en un rango de $221,2\ \mu\text{m}$ a $1,841\ \text{mm}$, mientras que en el andamio impreso en resina BioSplit los tamaños

oscilaron entre 1,703 mm y 2,399 mm. El modelo CAD presenta un tamaño de poro aproximado de 1,634 mm.

Las tolerancias dimensionales fueron de $\pm 12,6\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 46,9\%$ para el andamio impreso en resina. Esto indica una mayor precisión dimensional en la impresión realizada con PLA para este diseño específico.

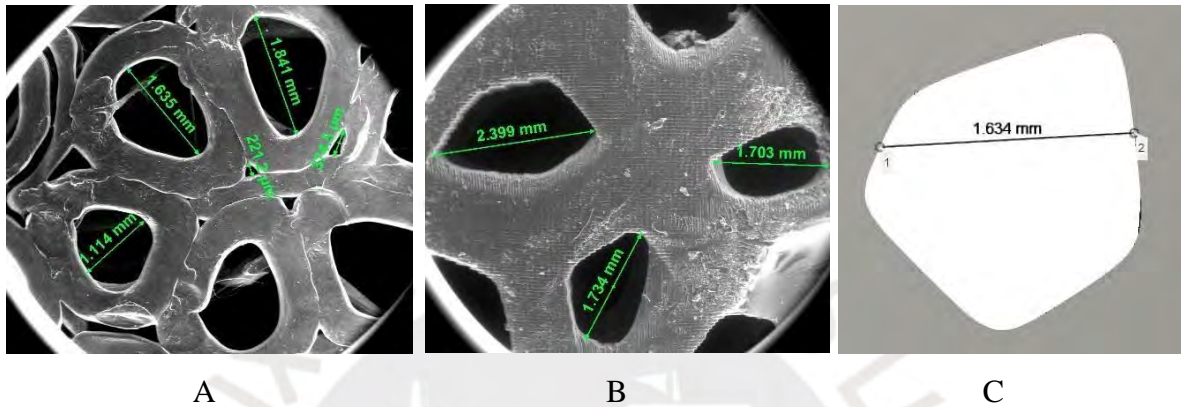
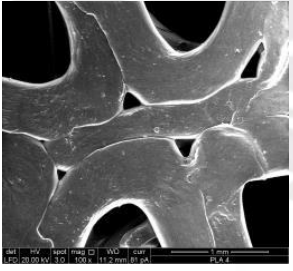
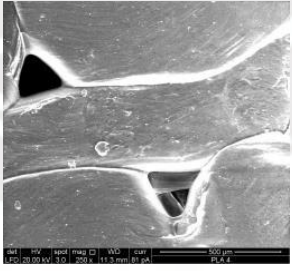
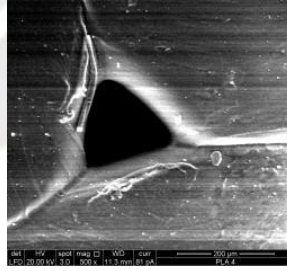
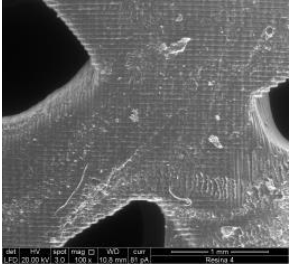
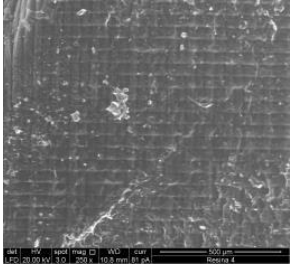
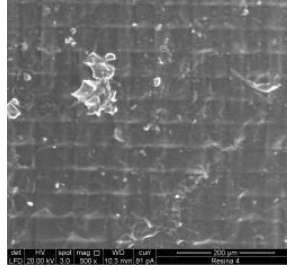


Figura 22. Diseño 4. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 14.

Otros aumentos del diseño 4 impreso en PLA y resina BioSplit.

Otros aumentos del diseño 4			
	100X	250X	500X
PLA			
Resina Biosplit			

- **Diseño 5:** Los poros del andamio impreso en PLA presentaron tamaños entre 260,2 μm y 3,716 mm, mientras que en el andamio impreso en resina el tamaño del poro fue aproximadamente 3,978 mm. El tamaño de poro definido en el modelo CAD fue de 2,757 mm.

La tolerancia dimensional fue de $\pm 34,78\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 44,29\%$ para el andamio impreso en resina. Esto indica una mayor precisión dimensional en la impresión realizada con PLA para este diseño específico.

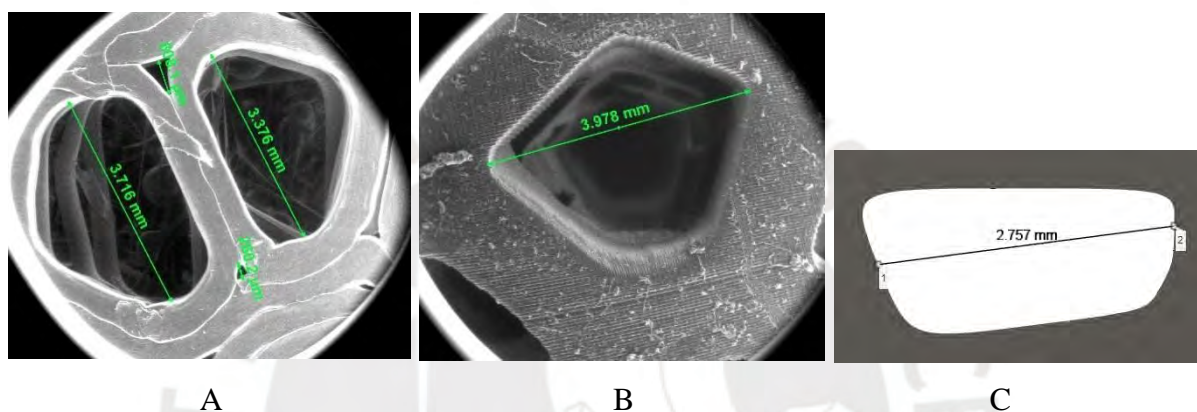
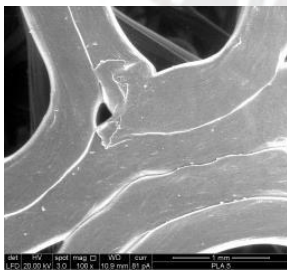
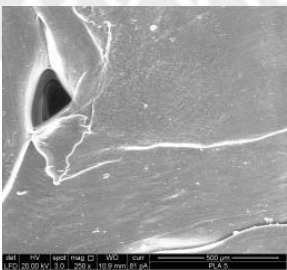
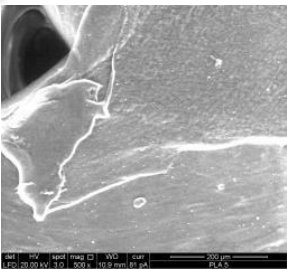
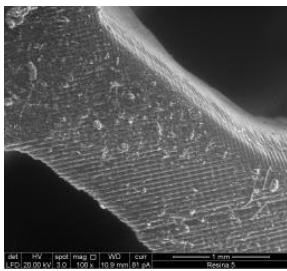
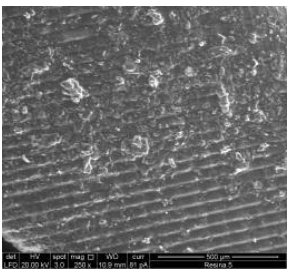
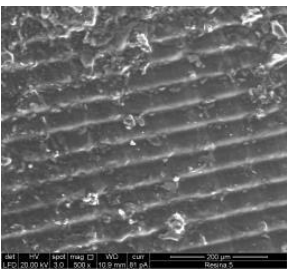


Figura 23. Diseño 5. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 15.

Otros aumentos del diseño 5 impreso en PLA y resina BioSplit.

Otros aumentos del diseño 5			
	100X	250X	500X
PLA			
Resina BioSplit			

- **Diseño 6:** En el andamio impreso en PLA, los tamaños de poro oscilaron entre 286,1 μm y 2,5 mm, mientras que el andamio impreso en resina presentó un tamaño de poro aproximado de 3,202 mm. El modelo CAD correspondiente presenta un tamaño de poro de 2,072 mm. Las tolerancias dimensionales obtenidas fueron de $\pm 20,65\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 54,52\%$ para el andamio impreso en resina. Esto indica una mayor precisión dimensional en la impresión realizada con PLA para este diseño específico.

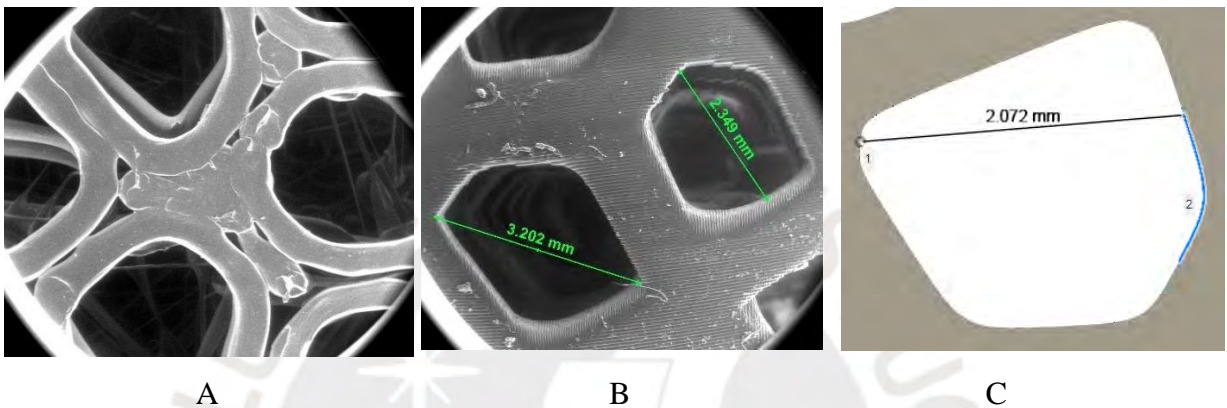


Figura 24. Diseño 6. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 16.

Otros aumentos del diseño 6 impreso en PLA y resina BioSplit.

Otros aumentos del diseño 6			
	100X	250X	500X
PLA			
Resina Biosplit			

- **Diseño 7:** Los poros del andamio impreso en PLA presentaron tamaños comprendidos entre 307,6 μm y 1,963 mm, mientras que el andamio impreso en resina mostró un tamaño de poro aproximado de 1,946 mm. El tamaño de poro del modelo CAD fue de 1,939 mm. La tolerancia dimensional fue de $\pm 1,24\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 0,36\%$ para el andamio impreso en resina. Esto indica una mayor precisión dimensional en la impresión realizada con resina para este diseño específico.

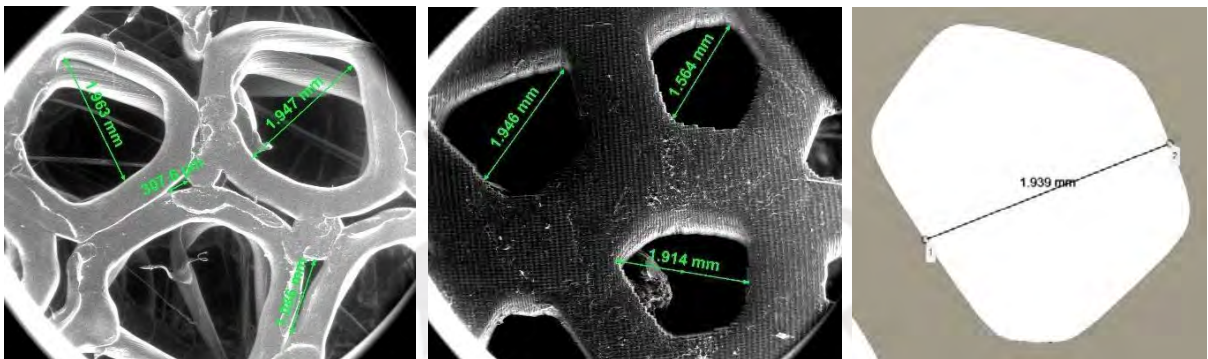
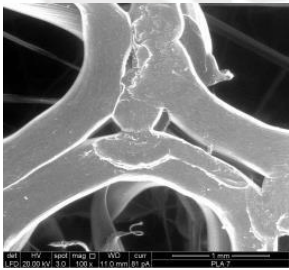
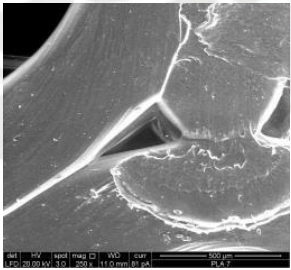
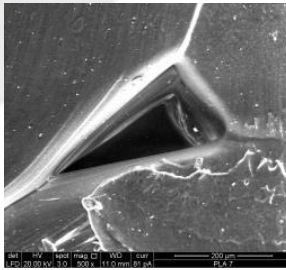
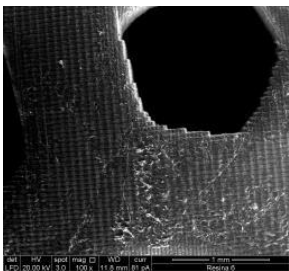
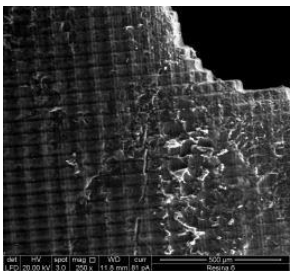
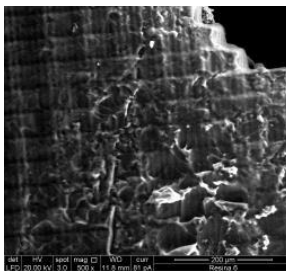


Figura 25. Diseño 7. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 17.

Otros aumentos del diseño 7 impreso en PLA y resina BioSplit.

Otros aumentos del diseño 7			
	100X	250X	500X
PLA			
Resina Biosplit			

- **Diseño 8:** En el andamio impreso en PLA, los tamaños de poro oscilaron entre 174,9 μm y 2,258 mm, mientras que el andamio impreso en resina presentó un tamaño de poro aproximado de 3,009 mm. El tamaño de poro definido en el modelo CAD fue de 2,248 mm. La tolerancia dimensional fue de $\pm 0,45\%$ para el andamio impreso en PLA y de $\pm 33,8\%$ para el andamio impreso en resina. Esto indica una mayor precisión dimensional en la impresión realizada con resina para este diseño específico.

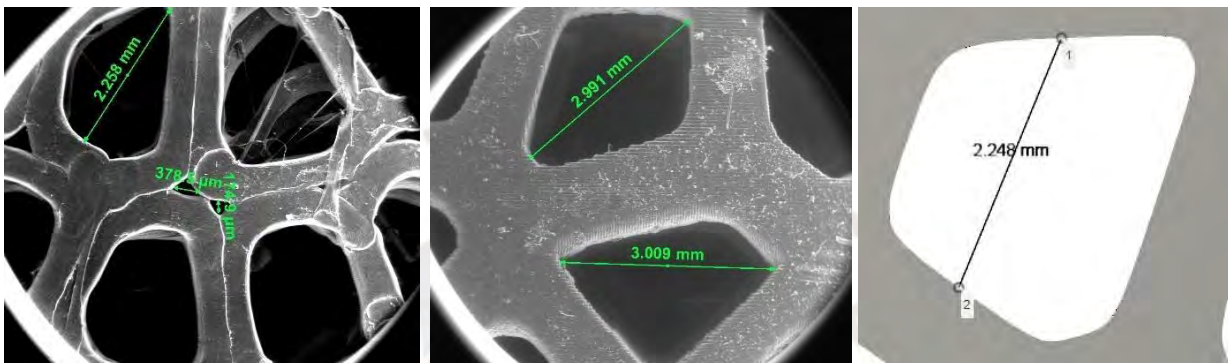
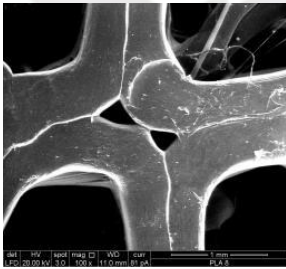
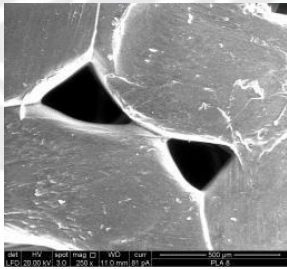
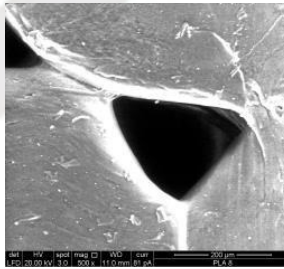
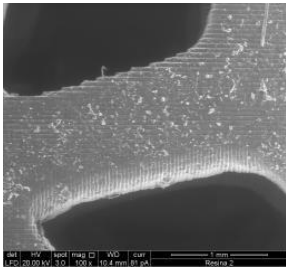
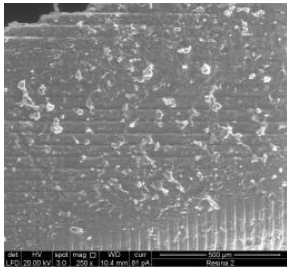
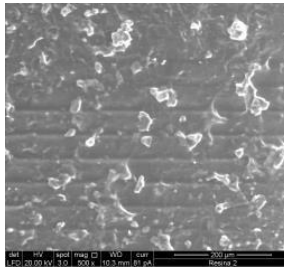


Figura 26. Diseño 8. (A) Caracterización del andamio impreso en PLA, (B) Caracterización del andamio impreso en resina BioSplit, (C) Tamaño del poro del modelo CAD.

Tabla 18.

Otros aumentos del diseño 8 impreso en PLA y resina BioSplit.

Otros aumentos del diseño 8			
	100X	250X	500X
PLA			
Resina Biosplit			

2.5.3 Análisis dimensional y selección de diseños

La microarquitectura de los andamios tridimensionales, definida por parámetros como la porosidad, la geometría del poro y su interconectividad, así como por las microtexturas superficiales, desempeña un rol determinante en la respuesta celular, al influir directamente en procesos como la adhesión, la comunicación intercelular y la proliferación celular (Mata, 2009; Lou, 2019).

Entre estos parámetros, el tamaño del poro constituye un factor crítico en el diseño de andamios para cultivo celular. No obstante, la relación entre el tamaño del poro y el comportamiento celular continúa siendo objeto de debate, ya que poros de dimensiones reducidas pueden limitar la migración celular y afectar la difusión de nutrientes y la eliminación de productos metabólicos, mientras que poros excesivamente grandes pueden reducir la superficie disponible para la adhesión celular (Han, 2021).

Diversos estudios han reportado rangos de tamaño de poro asociados a diferentes respuestas biológicas. Se ha descrito que poros en el rango de 100 nm a 5 μm favorecen principalmente la adhesión celular, mientras que tamaños entre 5 y 250 μm facilitan la infiltración celular, y poros mayores a 250 μm contribuyen a una adecuada vascularización en determinados tipos de tejido (Murphy & O'Brien, 2010; Jackson et al., 2023). Estas variaciones reflejan la dependencia del tamaño óptimo de poro respecto al tipo celular y al objetivo específico del modelo tridimensional.

Con base en el análisis morfológico obtenido mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y en la estimación de las dimensiones de los poros, cuyos valores se resumen en la Tabla 19, se seleccionaron los diseños 3, 7 y 8 para la realización de los ensayos de cultivo celular. Esta selección se fundamentó en que dichos diseños presentaron poros de menor tamaño relativo, adecuados para evaluar la interacción celular en entornos que simulan una matriz extracelular densa, así como menores tolerancias dimensionales respecto al modelo

CAD, lo que evidencia una mayor fidelidad geométrica entre el diseño y las estructuras impresas.

Asimismo, en los andamios seleccionados se espera que el crecimiento celular ocurra tanto en el interior de los poros como sobre la superficie del andamio, dado que la arquitectura porosa proporciona un entorno tridimensional que reproduce características estructurales de la matriz extracelular. Las regiones donde se prevé una mayor interacción célula–andamio se muestran en la Figura 27, a partir de las imágenes SEM del diseño seleccionado.

Tabla 19.

Tamaño del poro de diseños seleccionados

Diseños	Tamaño del poro
Diseño 3	186,6 μm - 1893 μm
Diseño 7	307,6 μm - 1963 μm
Diseño 8	174,9 μm - 2258 μm

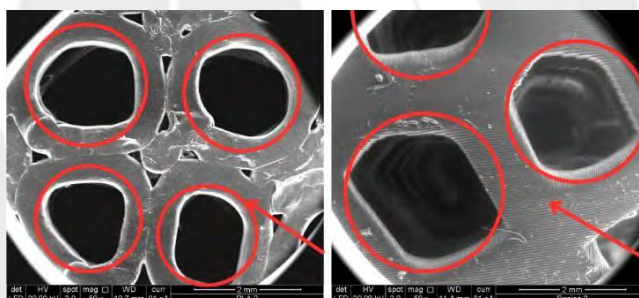


Figura 27. Imágenes SEM del diseño 3 y zonas en las que se espera crecimiento celular.

2.6 Cultivo celular sobre andamios tridimensionales

En esta sección se describen los procedimientos empleados para el cultivo celular de macrófagos de ratón RAW 264.7 en andamios impresos en 3D utilizando ácido poliláctico y resina BioSplit. Asimismo, se detalla los procedimientos de preparación de los andamios, las condiciones de sembrado y evaluación celular, los métodos de evaluación de viabilidad y proliferación. Los resultados obtenidos proporcionan una visión sobre la interacción de las células con diferentes materiales de andamios.

2.6.1 Preparación de los andamios impresos en 3D

La preparación de los andamios impresos en 3D incluyó un proceso de esterilización, con el objetivo de obtener estructuras libres de contaminación por microorganismos, tales como bacterias, levaduras y virus, antes de su uso en ensayos de cultivo celular. La esterilización constituye una etapa crítica en estudios *in vitro*, ya que la presencia de contaminantes microbiológicos puede comprometer la viabilidad celular y la interpretación de los resultados experimentales.

Existen diversas técnicas para la esterilización de andamios poliméricos, entre las cuales se encuentran el uso de etanol y la irradiación ultravioleta (UV). La esterilización mediante etanol presenta ventajas como su bajo costo, rápida aplicación y la ausencia de requerimientos de equipamiento especializado. Se ha reportado que concentraciones de etanol entre 60 % y 80 % son eficaces para inactivar bacterias grampositivas, gramnegativas y acidorresistentes, así como virus lipofílicos; sin embargo, los virus hidrofílicos y las esporas bacterianas presentan mayor resistencia a este método (Dai et al., 2016). Por otro lado, la irradiación UV actúa generando daños en el ADN microbiano, lo que impide su replicación y conduce a la inactivación de ciertos microorganismos (Ronholm, 2016).

En el presente estudio, los andamios fueron sometidos a esterilización mediante inmersión en etanol al 70 %, seguida de irradiación ultravioleta durante 15 minutos, y posteriormente se dejaron secar bajo condiciones estériles (Figura 28).

La efectividad del proceso de esterilización se verificó mediante un ensayo colorimétrico utilizando metil tiazol tetrazolio (MTT). Los resultados evidenciaron que los andamios esterilizados conservaron el color amarillo característico del reactivo, mientras que los andamios no esterilizados mostraron un cambio de coloración a violeta, indicativo de actividad metabólica asociada a contaminación microbiológica (Figura 29).

Adicionalmente, la esterilidad fue confirmada mediante la lectura espectrofotométrica a 495 nm, obteniéndose valores de absorbancia de 0.103, 0.103 y 0.105 en triplicado, los cuales resultaron comparables al control negativo correspondiente al medio de cultivo, cuya absorbancia fue de 0.103. Estos resultados corroboran la ausencia de actividad metabólica no deseada y confirman la eficacia del protocolo de esterilización aplicado.



Figura 28. Esterilización de andamios y materiales de trabajo

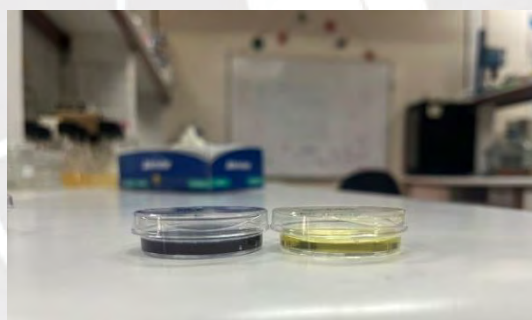


Figura 29. Control de esterilización

2.6.2 Cultivo de macrófagos RAW 264.7

Previo al inicio del protocolo de cultivo celular, se realizó un control de calidad de un frasco de células RAW 264.7 en su segundo pasaje, proporcionadas por el Laboratorio de Química de la Vida (LID 208), Universidad Peruana Cayetano Heredia (Figura 30). Este control permitió evaluar la morfología celular y el grado de confluencia, verificándose que las células alcanzaran un nivel mínimo de 70 % de confluencia, considerado adecuado para

continuar con los procedimientos de subcultivo. Este paso resulta fundamental para asegurar la viabilidad celular y la reproducibilidad de los ensayos posteriores.

El procedimiento de desprendimiento celular se inició retirando el medio de cultivo, seguido de dos lavados con solución tampón fosfato salino (PBS) para eliminar residuos de suero. Posteriormente, se añadió 1 mL de solución de tripsina-EDTA, realizando una incubación a 37 °C durante aproximadamente 30 minutos, con monitoreo constante bajo microscopio invertido hasta confirmar el desprendimiento celular. Una vez observado el desprendimiento, la acción de la tripsina fue neutralizada inmediatamente mediante la adición de medio de cultivo suplementado con suero bovino fetal (SBF al 10 %), glutamina al 1 % y penicilina - estreptomina al 1 %, obteniéndose una suspensión celular homogénea mediante pipeteo suave.

La suspensión celular fue transferida a un tubo estéril de 15 mL y centrifugada a 1500 rpm durante 7 minutos a temperatura ambiente. Tras la centrifugación, el sobrenadante fue descartado y el pellet celular se resuspendió en 1 mL de medio de cultivo fresco, garantizando una distribución uniforme de las células antes del conteo celular.

El conteo celular se realizó mediante la técnica de exclusión con Azul de Tripán, mezclando 20 µL de la suspensión celular con 20 µL de la solución colorante. De esta mezcla se tomaron 10 µL, los cuales fueron cargados en una cámara de Neubauer. Utilizando un microscopio invertido, se procedió al recuento de células viables y no viables en los cuatro cuadrantes principales, y se calculó el promedio correspondiente. La concentración celular se determinó empleando la siguiente expresión:

$$N^{\circ} \text{ células} / \text{ml} = \text{Promedio del recuento} \times 2 \times 10^4 \times \text{ml de resuspensión}$$

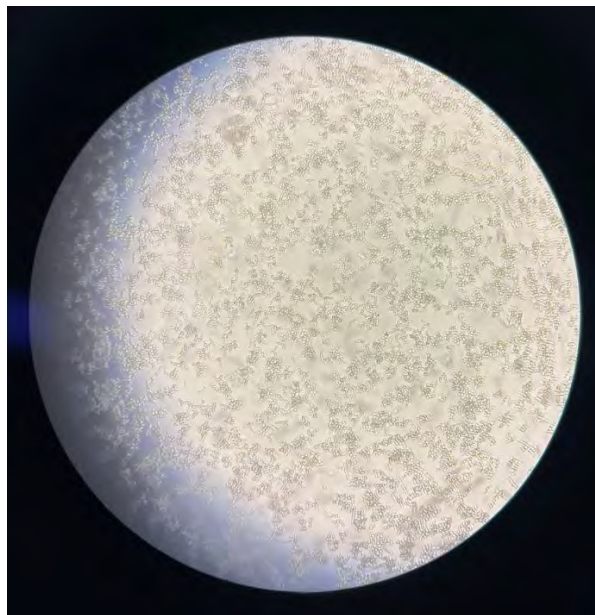


Figura 30. Inspección de confluencia de células RAW 264.7.

A partir del conteo, se preparó una suspensión celular con una densidad de 5×10^4 células/mL, la cual fue añadida cuidadosamente sobre cada uno de los andamios tridimensionales previamente dispuestos en placas de Petri estériles. Los andamios sembrados con células RAW 264.7 fueron incubados bajo condiciones controladas de 37 °C y 5 % de CO₂, con el fin de favorecer la viabilidad y proliferación celular (Figura 31). Al tercer día de cultivo, se realizó un cambio parcial del medio de cultivo, con el propósito de mantener un entorno adecuado y eliminar los productos metabólicos acumulados.

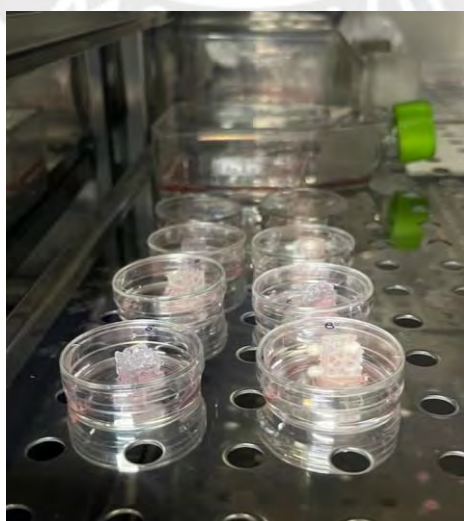


Figura 31. Incubación de andamios cultivados con células RAW 264.7

2.6.3 Ensayo de viabilidad celular MTT

En el quinto día de cultivo se procedió a evaluar la viabilidad celular de las células adheridas a los andamios tridimensionales mediante el ensayo de metil tiazol tetrazolio (MTT). Este ensayo permite cuantificar de manera indirecta la actividad metabólica celular, basada en la capacidad de las mitocondrias funcionales de reducir las sales de tetrazolio a un compuesto insoluble de color púrpura denominado formazán.

Previo a la ejecución del ensayo MTT, se realizó una inspección preliminar de los andamios mediante microscopía invertida (Figura 32), con el objetivo de verificar visualmente la adhesión y distribución celular sobre las superficies de los andamios. Esta observación permitió confirmar la colonización celular previa y asegurar que los resultados del ensayo MTT reflejaran de manera adecuada la viabilidad de las células cultivadas.

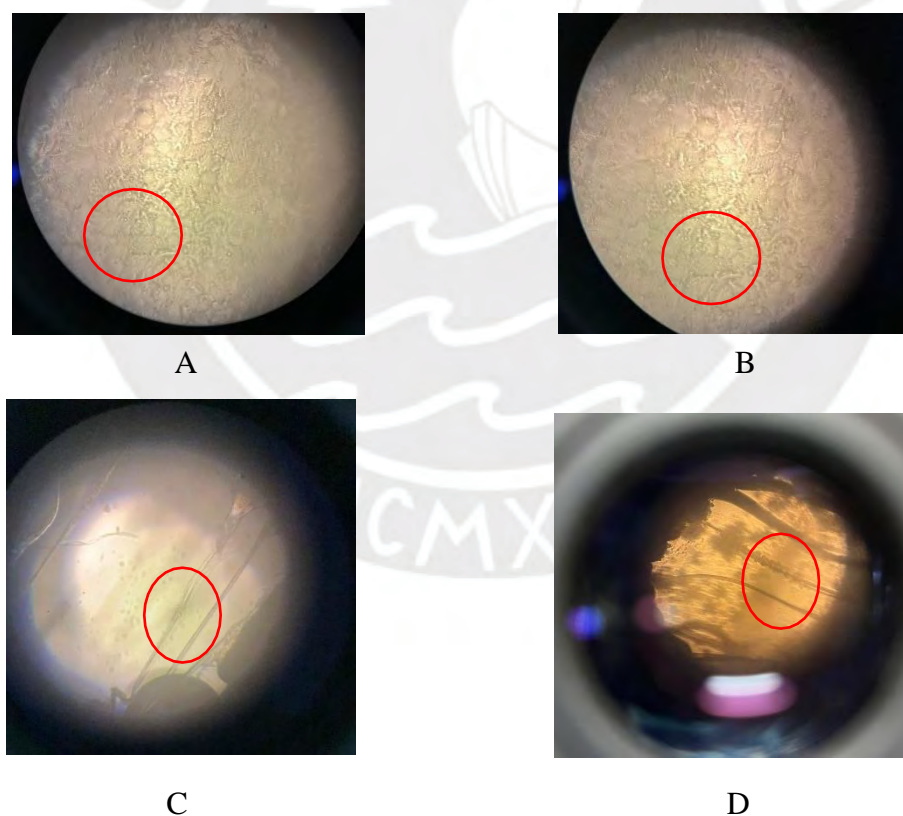


Figura 32. Imágenes microscópicas de andamios celulares antes de la realización del ensayo MTT. Las regiones marcadas con un círculo rojo destacan zonas donde se evidencia la presencia de células adheridas, lo que confirma la colonización celular previa al ensayo de viabilidad. (A) y (B) corresponden a andamios de resina, mientras que (C) y (D) corresponden a andamios de PLA.

Antes de iniciar el ensayo, se prepararon los materiales y condiciones necesarias para garantizar un entorno estéril y controlado. El medio de cultivo fue previamente temperado a 37 °C y se dispuso del material requerido, el cual incluyó una cabina de bioseguridad, placas de 96 pocillos, pipetas serológicas, puntas estériles, parafilm y medio de cultivo suplementado, todos previamente esterilizados para evitar contaminación microbiológica.

El ensayo se inició con el lavado secuencial de los andamios con el fin de recolectar las células desprendidas. Cada andamio fue transferido a una placa Petri estéril nueva y sometido a siete ciclos de lavado, utilizando 1 mL de medio de cultivo por ciclo. En cada lavado, se extrajeron 100 µL del medio que contenía las células desprendidas, los cuales fueron depositados en triplicado en una placa de 96 pocillos. Este procedimiento se repitió de manera sistemática en cada ciclo de lavado, asegurando una recolección homogénea de las células desprendidas.

Posteriormente, se añadió el reactivo MTT a cada pocillo, incorporando 10 µL por pocillo, y las placas fueron incubadas durante 4 horas en condiciones controladas. Durante este período, las células metabólicamente activas redujeron el tetrazolio a cristales de formazán insolubles.

Finalizada la incubación, se procedió a la solubilización de los cristales de formazán mediante la adición de 100 µL de solución de lisis en cada pocillo, seguido de un pipeteo repetido para asegurar la completa disolución del compuesto (Figura 33). En las Figuras 34, 35 y 36 se muestran las placas de 96 pocillos correspondientes a los diseños de andamios 3, 7 y 8, respectivamente, luego de la adición de la solución de lisis. La intensidad de la coloración observada en los pocillos es proporcional a la cantidad de células viables presentes, siendo más intensa en aquellos donde se evidenció una mayor proliferación celular.

Finalmente, las placas fueron analizadas utilizando un lector de microplacas iMark™, registrando la absorbancia en un rango de longitudes de onda entre 400 y 750 nm, lo que

permitió cuantificar de manera indirecta la viabilidad celular asociada a cada diseño y material de andamio evaluado.

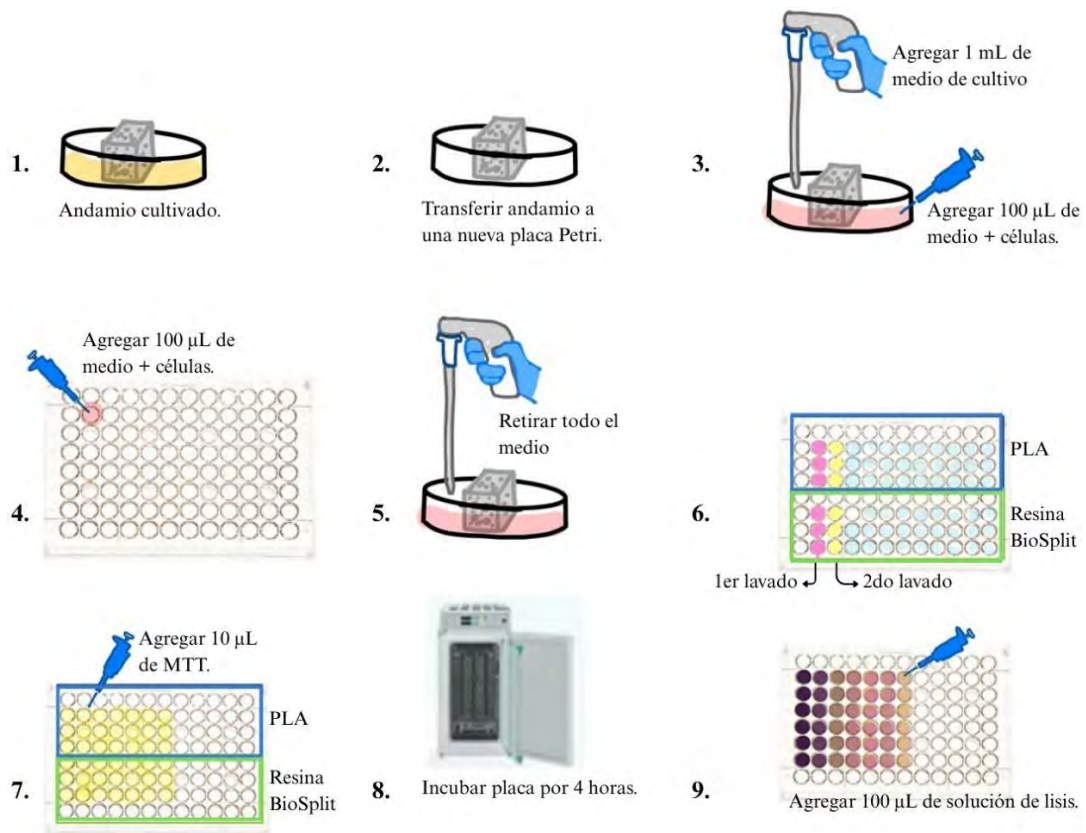


Figura 33. Pasos realizados para cuantificar las células.

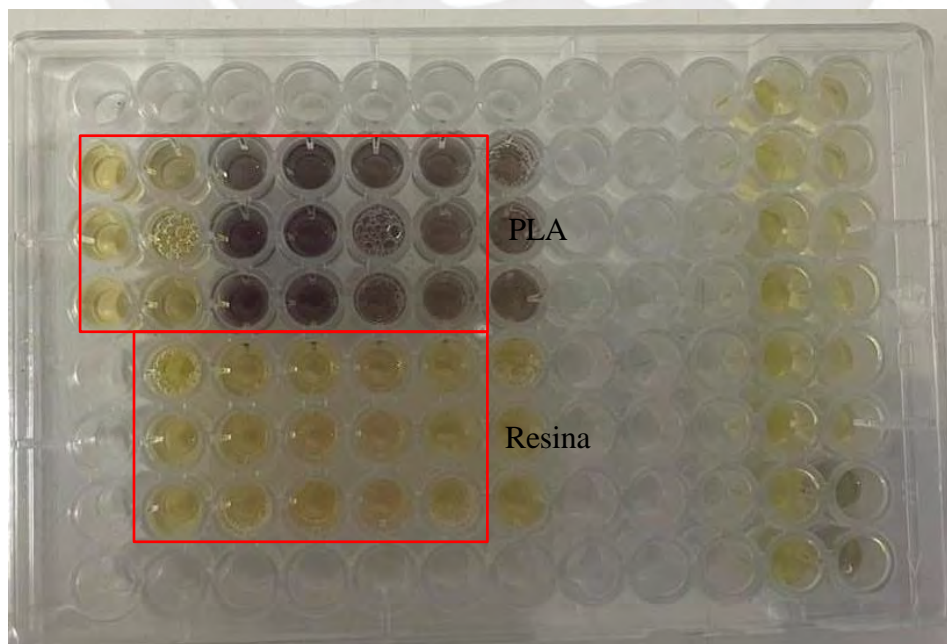


Figura 34. Ensayo MTT del andamio 3

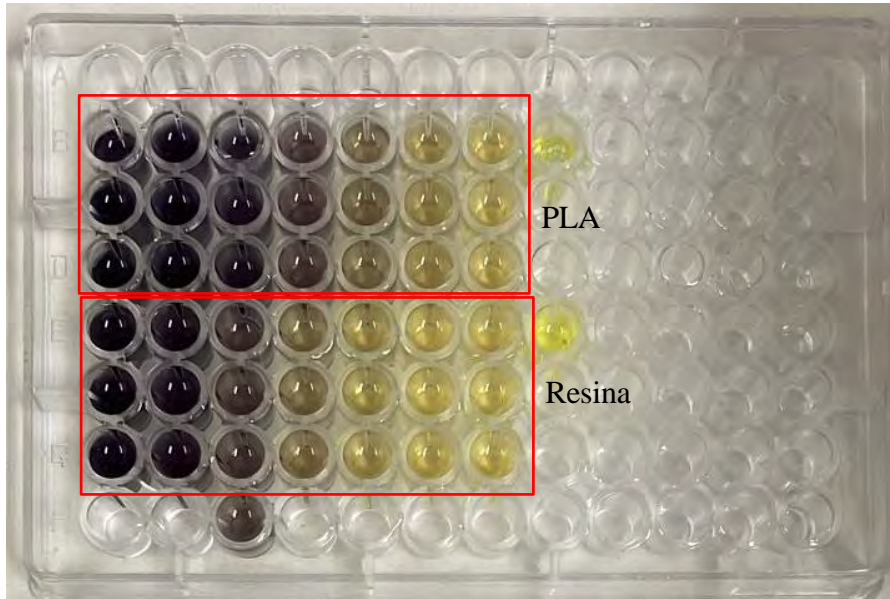


Figura 35. Ensayo MTT del andamio 7

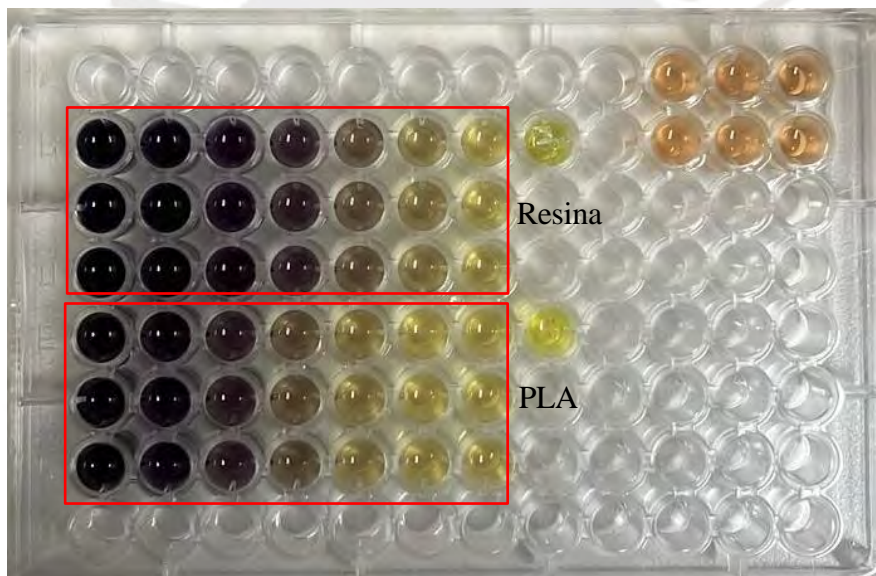


Figura 36. Ensayo MTT del andamio 8

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el cultivo celular de macrófagos de ratón RAW 264.7 sobre andamios impresos en 3D fabricados con ácido poliláctico (PLA) y resina fotopolimerizable biocompatible, con el objetivo de evaluar la viabilidad celular y la actividad metabólica mediante el ensayo MTT. Este ensayo incluyó la medición de absorbancia a 570 nm, lo que permitió cuantificar de manera indirecta la cantidad de células viables adheridas a los andamios y analizar la influencia del material y del diseño estructural en la respuesta celular, considerando que valores mayores de absorbancia reflejan una mayor actividad metabólica celular. Esto se debe a que, en el ensayo MTT, las células metabólicamente activas reducen el compuesto tetrazolio (MTT) a cristales de formazán insolubles, los cuales, tras su solubilización, generan una solución coloreada cuya intensidad es proporcional a la actividad metabólica celular y, por ende, al número de células viables presentes en el sistema. De esta manera, la comparación de los valores de absorbancia entre distintos diseños y materiales permite identificar las condiciones que favorecen una mayor viabilidad celular.

Como se observa en la Figura 36, correspondiente al andamio 3, los valores de absorbancia a 570 nm presentan comportamientos diferenciados según el material de fabricación. En el caso de los andamios fabricados en PLA (líneas verdes), las curvas correspondientes a las filas E, F y G muestran una tendencia relativamente constante a lo largo de los distintos números de lavado, con valores bajos y sin variaciones abruptas, lo que sugiere una respuesta celular estable pero limitada. Por otro lado, los andamios fabricados en resina (líneas azules) presentan mayores valores de absorbancia, destacándose un pico pronunciado en el quinto lavado, particularmente en una de las réplicas, lo cual indica un incremento temporal en la actividad metabólica celular. Posteriormente, los valores tienden a disminuir y estabilizarse hacia los últimos lavados.

Asimismo, las mediciones de absorbancia correspondientes a los andamios 3, 7 y 8, presentadas en las Figuras 37, 38 y 39, evidencian diferencias claras en la respuesta celular en función del material y del diseño del andamio. En la Figura 37, correspondiente al andamio 7, se observa una disminución progresiva de la absorbancia conforme aumenta el número de lavados, tanto en los andamios de PLA como en los de resina, partiendo de valores iniciales elevados, especialmente en PLA, hasta alcanzar valores bajos y similares en las etapas finales. De manera análoga, la Figura 38, correspondiente al andamio 8, muestra una tendencia decreciente; sin embargo, este diseño presenta valores iniciales de absorbancia más altos, particularmente en los andamios fabricados en PLA, los cuales alcanzan los mayores valores entre los diseños evaluados.

En la Figura 39 se presenta una comparación conjunta del crecimiento celular en los andamios 3, 7 y 8. Se observa que el andamio 8 presenta los valores más altos de absorbancia, seguido del andamio 7, mientras que el andamio 3 muestra los valores más bajos. En los tres diseños evaluados, los andamios fabricados en PLA presentaron valores de absorbancia consistentemente mayores en comparación con los de resina. En particular, el diseño 8 alcanzó el valor máximo de absorbancia (2.751), superando a los diseños 3 (1.141) y 7 (2.334), lo que representa incrementos del 141 % y del 17.8 %, respectivamente, ambos en PLA.

El análisis complementario mediante microscopio invertido permitió corroborar visualmente los resultados obtenidos en el ensayo MTT. En los andamios fabricados en PLA se observó una mayor presencia celular distribuida sobre los filamentos impresos, mientras que en los andamios de resina el crecimiento celular se concentró principalmente en las superficies más lisas de la estructura. Estas observaciones sugieren que la microtextura superficial y la microarquitectura porosa características del proceso de impresión FDM generan un entorno más favorable para la adhesión celular y la interacción célula-andamio, en contraste con las superficies más homogéneas asociadas a los andamios impresos mediante tecnología SLA.

Tabla 20

Lectura de la placa de 96 pocillos del ensayo realizado en el andamio 3.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<u>A</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Resina <u>B</u>	-	0,176	0,425	0,559	0,438	0,415	0,345	-	-	-	-	-
<u>C</u>	-	0,725	0,632	0,598	1,141	0,358	0,356	-	-	-	-	-
<u>D</u>	-	0,161	0,630	0,589	0,415	0,358	0,351	-	-	-	-	-
<u>E</u>	-	0,214	0,111	0,108	0,077	0,086	0,093	-	-	-	-	-
PLA <u>F</u>	-	0,150	0,159	0,096	0,083	0,103	0,096	-	-	-	-	-
<u>G</u>	-	0,181	0,149	0,117	0,104	0,135	0,118	-	-	-	-	-
<u>H</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

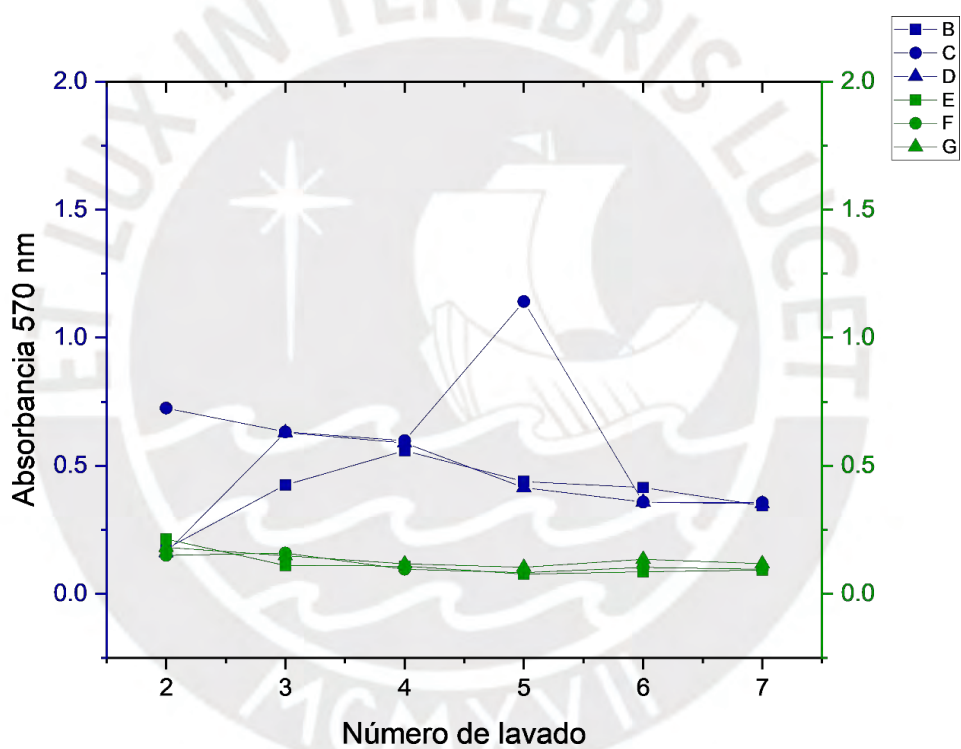


Figura 37. Gráfico de crecimiento celular correspondiente al andamio 3, mostrando los resultados obtenidos con PLA (líneas verdes) y resina (líneas azules)

Tabla 21

Lectura de la placa de 96 pocillos del ensayo realizado en el andamio 7.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<u>A</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PLA	<u>B</u>	2,334	+	1,652	0,795	0,415	0,244	0,163	-	-	-	-
	<u>C</u>	+	+	1,648	0,795	0,462	0,247	0,156	-	-	-	-
	<u>D</u>	+	+	1,643	0,772	0,408	0,261	0,157	-	-	-	-
	<u>E</u>	+	2,193	0,741	0,340	0,216	0,134	0,119	-	-	-	-
Resina	<u>F</u>	+	2,134	0,757	0,378	0,223	0,144	0,118	-	-	-	-
	<u>G</u>	+	2,183	0,787	0,384	0,236	0,156	0,138	-	-	-	-
	<u>H</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

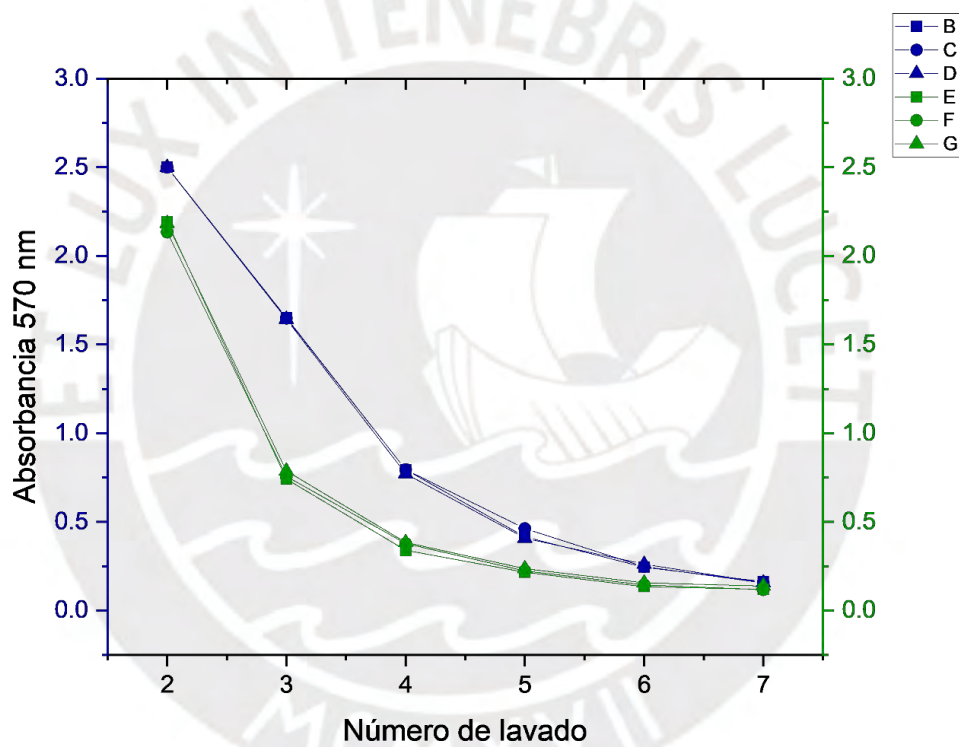


Figura 38. Gráfico de crecimiento celular correspondiente al andamio 7, mostrando los resultados obtenidos con PLA (líneas azules) y resina (líneas verdes)

Tabla 22

Lectura de la placa de 96 pocillos del ensayo realizado en el andamio 8.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<u>A</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Resina <u>B</u>	+	+	2,130	1,038	0,512	0,278	0,163	-	-	-	-	-
<u>C</u>	+	+	2,203	1,036	0,490	0,282	0,158	-	-	-	-	-
<u>D</u>	+	+	2,214	0,956	0,474	0,273	0,153	-	-	-	-	-
<u>E</u>	+	2,702	0,966	0,436	0,223	0,135	0,119	-	-	-	-	-
PLA <u>F</u>	+	2,751	1,015	0,439	0,219	0,148	0,127	-	-	-	-	-
<u>G</u>	+	2,706	1,032	0,488	0,239	0,171	0,149	-	-	-	-	-
<u>H</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

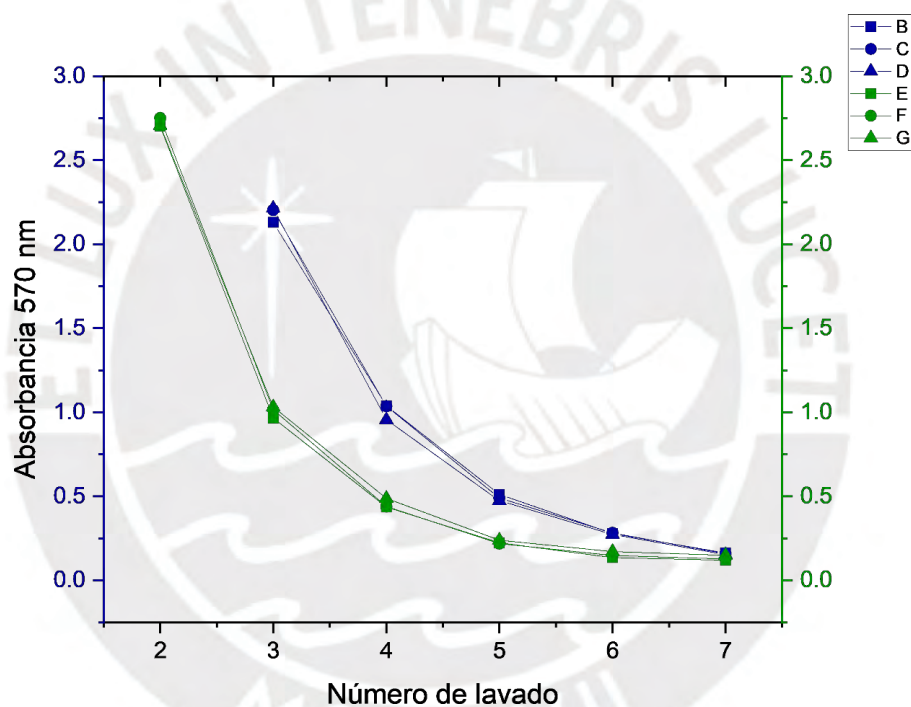


Figura 39. Gráfico de crecimiento celular correspondiente al andamio 8, mostrando los resultados obtenidos con PLA (líneas azules) y resina (líneas verdes)

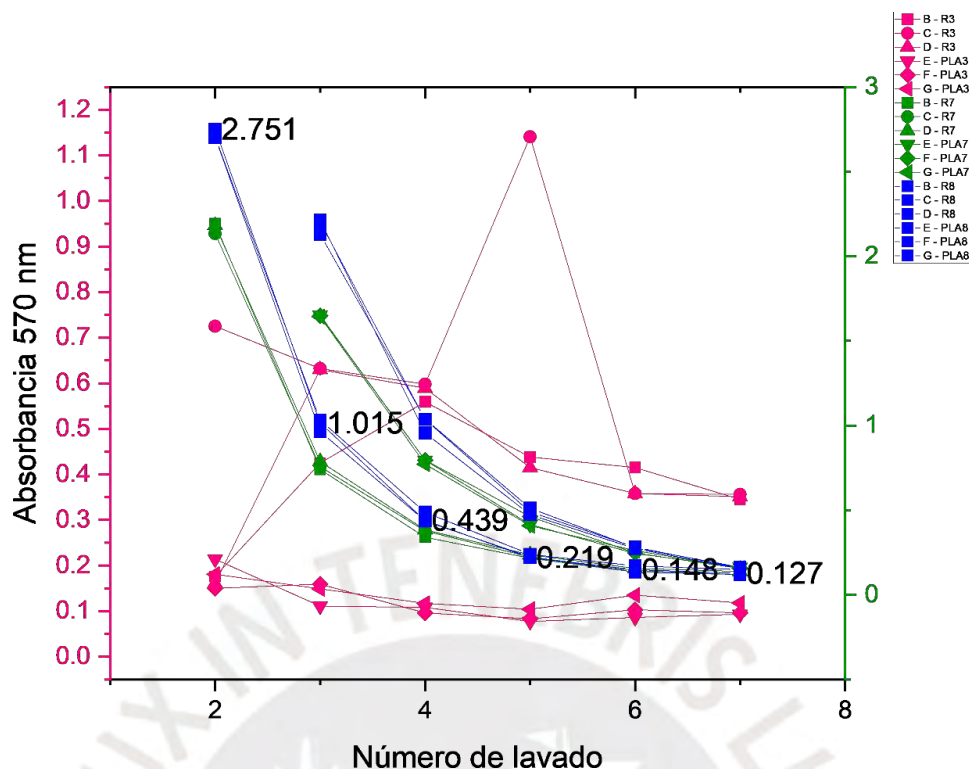


Figura 40. Gráfico de crecimiento celular correspondiente a los tres andamios, mostrando los resultados obtenidos del andamio 3 (líneas rosadas), andamio 7 (líneas verdes) y andamio 8 (líneas celestes).

Por otra parte, el análisis de las tolerancias dimensionales indicó que los diseños 3, 7 y 8 presentaron las menores desviaciones respecto al modelo CAD, con valores de $\pm 1.27\%$, $\pm 1.24\%$ y $\pm 0.45\%$ en PLA, y $\pm 25.53\%$, $\pm 0.36\%$ y $\pm 33.8\%$ en resina, respectivamente. Estos resultados reflejan una mayor fidelidad geométrica de los andamios impresos en PLA, lo cual resulta relevante para reproducir de manera más precisa un microambiente tridimensional controlado. Una menor desviación dimensional contribuye a mantener las características geométricas planificadas del andamio, aspecto clave para favorecer una interacción célula–andamio más representativa de condiciones fisiológicas.

En conjunto, los resultados obtenidos validan la hipótesis planteada en esta investigación, demostrando que los andamios tridimensionales biomiméticos fabricados mediante manufactura aditiva pueden emplearse como modelos para el estudio de la interacción celular en microambientes tridimensionales. Asimismo, los hallazgos establecen

una base sólida para la optimización futura de diseños y materiales, orientada al desarrollo de plataformas tridimensionales más avanzadas para la evaluación de modelos aplicables en el estudio del cáncer de mama.



CONCLUSIONES

- Es posible diseñar y fabricar andamios tridimensionales mediante tecnologías de manufactura aditiva como modelado por deposición fundida (FDM) y estereolitografía (SLA), las cuales se caracterizan por su accesibilidad, bajo costo relativo y amplia adopción en el ámbito de la impresión 3D. Estas características facilitan su implementación en entornos de investigación, dado que son tecnologías ampliamente conocidas y utilizadas. En particular, la tecnología FDM resulta adecuada para la fabricación de prototipos económicos y el uso de materiales biodegradables como el ácido poliláctico (PLA), mientras que la tecnología SLA destaca por su alta precisión geométrica y calidad superficial.
- Se validó la hipótesis de que los andamios tridimensionales biomiméticos fabricados mediante tecnologías FDM y SLA pueden emplearse como plataformas viables para el estudio de la viabilidad y proliferación celular en sistemas tridimensionales. En particular, los andamios fabricados en PLA mostraron un desempeño biológico superior, promoviendo un crecimiento celular de hasta un 141 % en comparación con otros modelos evaluados.
- La mayor actividad metabólica celular se observó en el Diseño 8 fabricado en PLA, el cual alcanzó un valor máximo de absorbancia de 2.751, seguido por los diseños 7 (2.334) y 3 (1.141). Estos resultados evidencian que tanto el diseño geométrico del andamio como las características de la superficie influyen directamente en la adhesión celular y en la expansión de los macrófagos RAW 264.7.
- El análisis de tolerancias dimensionales indicó que los diseños 3, 7 y 8 fabricados en PLA presentaron desviaciones mínimas respecto a los modelos CAD originales (± 1.27 %, ± 1.24 % y ± 0.45 %, respectivamente), lo que permitió una mayor fidelidad

estructural. Esta precisión geométrica contribuye a la reproducción más consistente de microambientes tridimensionales y favorece una interacción célula - andamio más efectiva.

- Durante el proceso de diseño y fabricación se optimizaron parámetros estructurales relevantes, como el tamaño de poro, el cual se mantuvo dentro del rango de 100 a 700 μm , reportado en la literatura como adecuado para el cultivo celular, así como la porosidad total del andamio, estimada en aproximadamente 75 %. Estas configuraciones proporcionan un entorno favorable para la adhesión, difusión de nutrientes y proliferación celular.
- Aunque la tecnología SLA ofrece una mayor precisión dimensional teórica, esta no se tradujo necesariamente en un mejor desempeño biológico. En los ensayos realizados, las superficies más lisas de los andamios fabricados en resina limitaron la adhesión celular, tal como se evidenció en los resultados del ensayo MTT y en las observaciones mediante microscopía invertida.
- Los andamios desarrollados demostraron ser compatibles con la adhesión y proliferación de macrófagos RAW 264.7, una línea celular ampliamente utilizada en estudios de respuesta inmune e inflamatoria. Esto posiciona a los andamios fabricados como plataformas experimentales relevantes para investigaciones futuras en cáncer y medicina regenerativa.
- Se identificaron algunas limitaciones experimentales, como la formación de burbujas durante el pipeteo y la ausencia de un sistema de agitación (vortex) para la homogenización de las muestras durante los ciclos de lavado, factores que podrían haber influido en la variabilidad de los resultados obtenidos.
- Se recomienda ampliar el alcance del estudio mediante la incorporación de líneas celulares cancerosas, como MDA-MB-231, con el fin de evaluar el comportamiento

celular en microambientes tridimensionales más complejos. Asimismo, sería pertinente integrar técnicas avanzadas de caracterización biológica, como el análisis de expresión génica o perfiles moleculares de las células cultivadas.

- En conjunto, este proyecto pone en evidencia el potencial de la impresión 3D aplicada a la investigación biomédica y establece una base sólida para el desarrollo futuro de modelos tridimensionales orientados al estudio del cáncer y al diseño de terapias personalizadas.



BIBLIOGRAFÍA

National Cancer Institute. (2021). *¿Qué es el cáncer?*

<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es#:~:text=El%20c%C3%A1ncer%20es%20una%20enfermedad,a%20otras%20partes%20del%20cuerpo.>

World Health Organization. (2022). Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

Alkabban, F. M., Menon, G., & Ferguson, T. (2024, February 25). *Breast Cancer*. Nih.gov; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482286/>

National Cancer Institute. (2022, October 14). Estadificación del cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/estadificacion>

Araujo, J. M., Gómez, A. C., Winston Zingg-De Jongh, Jhon Ausejo, Iván Córdova, Schwarz, L. J., Bretel, D., Fajardo, W., Saravia-Huarca, L. G., Joshuan Barboza-Meca, Morante, Z., Guillén, J. R., Gómez, H., Cárdenas, N. K., Hernández, L., Melo, W., Villarreal-Garza, C., Caglevic, C., Palacio, C., & Héctor García. (2023). A nationwide pilot study on breast cancer screening in Peru. *Ecancermedicalscience*, 17. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2023.1494>

Team, N. (2019, August 28). *Stage 3 (III) A, B, And C Breast Cancer Overview*. National Breast Cancer Foundation; National Breast Cancer Foundation. <https://www.nationalbreastcancer.org/breast-cancer-stage-3/>

Li, Z., Zheng, W., Wang, H., Cheng, Y., Fang, Y., Wu, F., Sun, G., Sun, G., Chengyu Lv, & Hui, B. (2021). Application of Animal Models in Cancer Research: Recent Progress and Future Prospects. *Cancer Management and Research*, Volume 13, 2455–2475. <https://doi.org/10.2147/cmar.s302565>

- Van, G. A. (2020). Limitations of Animal Studies for Predicting Toxicity in Clinical Trials. *JACC. Basic to Translational Science*, 5(4), 387–397. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.03.010>
- P, M. (2023, July 24). *3D Bioprinting Could Make Cancer Treatment More Effective*. 3Dnatives; 3D Natives. <https://www.3dnatives.com/en/3d-bioprinting-improve-cancer-treatment-240720234/#>
- Binil Starly, & Rohan Shirwaiker. (2015). 3D Bioprinting Techniques. *Elsevier EBooks*, 71–91. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-824552-1.00020-7>
- Polonio-Alcalá, E., Rabionet, M., Guerra, A., Yeste, M., Joaquim Ciurana, & Puig, T. (2018). Screening of Additive Manufactured Scaffolds Designs for Triple Negative Breast Cancer 3D Cell Culture and Stem-Like Expansion. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3148–3148. <https://doi.org/10.3390/ijms19103148>
- Ana Margarida Teixeira, & Martins, P. (2023). A review of bioengineering techniques applied to breast tissue: Mechanical properties, tissue engineering and finite element analysis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1161815>
- Livasy, C. A., & Calhoun, B. C. (2024). *Patología de la mama*. McGraw Hill Medical. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3096§ionid=260741695>
- Jesinger, R. A. (2014). Breast Anatomy for the Interventionalist. *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*, 17(1), 3–9. <https://doi.org/10.1053/j.tvir.2013.12.002>
- Harbeck, N., Frédérique Penault-Llorca, Cortes, J., Gnant, M., Nehmat Houssami, Poortmans, P., Ruddy, K., Tsang, J., & Cardoso, F. (2019). Breast cancer. *Nature Reviews. Disease Primers*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0111-2>

- Smith-Graziani, D., Lei, X., Giordano, S. H., Zhao, H., Karuturi, M., & Chavez-MacGregor, M. (2020). Delayed initiation of adjuvant chemotherapy in older women with breast cancer. *Cancer Medicine*, 9(19), 6961–6971. <https://doi.org/10.1002/cam4.3363>
- RAW 264.7 - TIB-71 | ATCC. (2020). Atcc.org. <https://www.atcc.org/products/tib-71>
- Papaiouannou, T., Manolesou, D., Dimakakos, E., Tsoucalas, G., Vavuranakis, M., & Tousoulis, D. (2019). 3D Bioprinting Methods and Techniques: Applications on Artificial Blood Vessel Fabrication. *3D Bioprinting Methods and Techniques: Applications on Artificial Blood Vessel Fabrication*, 35(3). [https://doi.org/10.6515/ACS.201905_35\(3\).20181115A](https://doi.org/10.6515/ACS.201905_35(3).20181115A)
- Kavitha Unnikrishnan, Lynda Velutheril Thomas, & Ram. (2021). Advancement of Scaffold-Based 3D Cellular Models in Cancer Tissue Engineering: An Update. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.733652>
- Àngels López. (2020, August 31). *Impresión 3D de hidrogeles para el crecimiento de células T utilizadas en la inmunoterapia contra el cáncer - Institute for Bioengineering of Catalonia*. Institute for Bioengineering of Catalonia. <https://ibecbarcelona.eu/es/impresion-3d-de-hidrogeles-para-el-crecimiento-de-celulas-t-utilizadas-en-la-inmunoterapia-contra-el-cancer/>
- Hospimedica en Español. (2024, December 27). *Nuevos andamios impresos en 3D aseguran una mejor curación y regeneración del tejido óseo*. Hospimedica.es; Hospimedica en Español. <https://www.hospimedica.es/tecnicas-quirurgicas/articulos/294803533/nuevos-andamios-impresos-en-3d-aseguran-una-mejor-curacion-y-regeneracion-del-tejido-oseo.html>
- Ventura, R. D., Padalhin, A. R., Min, Y.-K., & Lee, B.-T. (2015). Bone Regeneration Using Hydroxyapatite Sponge Scaffolds with *In Vivo* Deposited Extracellular Matrix. *Tissue Engineering Part A*, 21(21-22), 2649–2661. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2015.0024>

- Li, W.-J., & Cooper, J. A. (2011). Fibrous Scaffolds for Tissue Engineering. *Biomaterials for Tissue Engineering Applications*, 47–73. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0385-2_3
- Hou, J., Zhang, F., Cheng, D., Shi, X., & Cao, X. (2017). Mineralization of a superficially porous microsphere scaffold via plasma modification. *RSC Advances*, 7(6), 3521–3527. <https://doi.org/10.1039/c6ra25256g>
- Álvarez-Chimal, R., Jesús Ángel Arenas-Alatorre, & Álvarez-Pérez, M. A. (2024). Nanoparticle-polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. A review. *European Polymer Journal*, 213, 113093–113093. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2024.113093>
- Yas Maghdouri-White, Bowlin, G. L., Lemmon, C. A., & Didier Dréau. (2016). Bioengineered silk scaffolds in 3D tissue modeling with focus on mammary tissues. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems*, 59, 1168–1180. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.007>
- Do, A.-V., Smith, R., Acri, T., & Salem, A. K. (2018). *3D printing technologies for 3D scaffold engineering*. ResearchGate; unknown. https://www.researchgate.net/publication/322175531_3D_printing_technologies_for_3D_scaffold_engineering
- Gillispie, G., Prim, P., Copus, J., Fisher, J., Mikos, A. G., Yoo, J. J., Atala, A., & Lee, S. J. (2020). Assessment methodologies for extrusion-based bioink printability. *Biofabrication*, 12(2), 022003. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab6f0d>
- Rider, P. (2018). *Bioprinting of tissue engineering scaffolds - Patrick Rider, Željka Perić Kačarević, Said Alkildani, Sujith Retnasingh, Mike Barbeck, 2018*. Journal of Tissue Engineering. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2041731418802090>

- Li, J., Chen, M., Fan, X., & Zhou, H. (2016). Recent advances in bioprinting techniques: approaches, applications and future prospects. *Journal of Translational Medicine*, 14(1).
<https://doi.org/10.1186/s12967-016-1028-0>
- Li, W., Wang, M., Ma, H., Chapa-Villarreal, F. A., Anderson Oliveira Lobo, & Yu Shrike Zhang. (2023). Stereolithography apparatus and digital light processing-based 3D bioprinting for tissue fabrication. *IScience*, 26(2), 106039–106039.
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106039>
- N. Muthuram, P. Sriram Madhav, D. Keerthi Vasan, Manav Eshwar Mohan, & G. Prajeeth. (2022). A review of recent literatures in poly jet printing process. *Materials Today: Proceedings*, 68, 1906–1920. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.08.090>
- Germain, N., Dhayer, M., Salim Dekiouk, & Marchetti, P. (2022). Current Advances in 3D Bioprinting for Cancer Modeling and Personalized Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3432–3432. <https://doi.org/10.3390/ijms23073432>
- Gillespie, L. K. (2017). *Design for Advanced Manufacturing: Technologies and Processes*. McGraw Hill Professional.
https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9781259587450/chapter/chapter13#/ch02_1fig05
- Camarinha-Matos, L. M. (2024). *Collaborative Networks in Digitalization and Society 5.0*. Springer Nature.
<https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9781260461565/toc-chapter/chapter60/section/section4#/ch60fig04>
- Atwater, M. (2018). *Materials and Manufacturing: An Introduction to How they Work and Why it Matters*. McGraw Hill Professional.
<https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9781260122312/toc-chapter/chapter21/section/section5#/c9781260122312ch21lev2sec04>

- Najmon, J. C., Sajjad Raesi, & Tovar, A. (2019). Review of additive manufacturing technologies and applications in the aerospace industry. *Elsevier EBooks*, 7–31. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814062-8.00002-9>
- Hervás García, Adela, Angel, M., Vila, C., Escribano, B., & Fos Galve, Pablo. (2024). Resinas compuestas: Revisión de los materiales e indicaciones clínicas. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal (Internet)*, 11(2), 215–220. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-69462006000200023
- Polonio-Alcalá, E., Rabionet, M., Guerra, A., Yeste, M., Joaquim Ciurana, & Puig, T. (2018). Screening of Additive Manufactured Scaffolds Designs for Triple Negative Breast Cancer 3D Cell Culture and Stem-Like Expansion. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3148–3148. <https://doi.org/10.3390/ijms19103148>
- Silva, Coelho, M., Sílvia Joana Bidarra, Sara Carvalheira Neves, & Cristina Carvalho Barrias. (2020). Reshaping in vitro Models of Breast Tissue: Integration of Stromal and Parenchymal Compartments in 3D Printed Hydrogels. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00494>
- Egan, P. F. (2019). Integrated Design Approaches for 3D Printed Tissue Scaffolds: Review and Outlook. *Materials*, 12(15), 2355–2355. <https://doi.org/10.3390/ma12152355>
- Ji, S., & Murat Guvendiren. (2019). 3D Printed Wavy Scaffolds Enhance Mesenchymal Stem Cell Osteogenesis. *Micromachines*, 11(1), 31–31. <https://doi.org/10.3390/mi11010031>
- Arce, M. (n.d.). *CULTIVO CELULAR*. https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/60485/TFM_MartaPanizoArce.pdf?sequence=5&isAllowed=y
- 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)

- Yadav, P., Gaurav Beniwal, & Kuldeep Kumar Saxena. (2021). A review on pore and porosity in tissue engineering. *Materials Today: Proceedings*, 44, 2623–2628. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.661>
- Gaëtan Lutzweiler, Albana Ndreu Halili, & Nihal Engin Vrana. (2020). The Overview of Porous, Bioactive Scaffolds as Instructive Biomaterials for Tissue Regeneration and Their Clinical Translation. *Pharmaceutics*, 12(7), 602–602. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12070602>
- Murugiah Krishani, Wong Yen Shin, Hazwani Suhaimi, & Nonni Soraya Sambudi. (2023). Development of Scaffolds from Bio-Based Natural Materials for Tissue Regeneration Applications: A Review. *Gels*, 9(2), 100–100. <https://doi.org/10.3390/gels9020100>
- Hodzic, D., Adi Pandžić, Ismar Hajro, & Petar Tasić. (2020, August 28). *Strength Comparison of FDM 3D Printed PLA Made by Different Manufacturers*. ResearchGate; Association for Information Communication Technology Education and Science (UIKTEN). https://www.researchgate.net/publication/344042385_Strength_Comparison_of_FDM_3D_Printed_PLA_Made_by_Different_Manufacturers
- Lalit Ranakoti, Brijesh Gangil, Sandip Kumar Mishra, Singh, T., Sharma, S., Ilyas, R. A., & Samah El-Khatib. (2022). Critical Review on Polylactic Acid: Properties, Structure, Processing, Biocomposites, and Nanocomposites. *Materials*, 15(12), 4312–4312. <https://doi.org/10.3390/ma15124312>
- Preethi Lakkala, Siva Ram Munnangi, Bandari, S., & Repka, M. (2023). Additive manufacturing technologies with emphasis on stereolithography 3D printing in pharmaceutical and medical applications: A review. *International Journal of Pharmaceutics*. X, 5, 100159–100159. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2023.100159>
- Xue Liang Ma. (2013, September). *Research on Application of SLA Technology in the 3D Printing Technology*. ResearchGate; Trans Tech Publications, Ltd.

https://www.researchgate.net/publication/269969783_Research_on_Application_of_SL_A_Technology_in_the_3D_Printing_Technology

P, M. (2023, January 26). *The Different Types of Resins Available for 3D Printing*. 3Dnatives; 3D Natives. <https://www.3dnatives.com/en/different-types-of-resins-3d-printing-281220225/>

Prakash, J., Shenoy, M., Abdulmajeed Alhasmi, Saleh, A., C, S. G., & Sahana Shivakumar. (2024). Biocompatibility of 3D-Printed Dental Resins: A Systematic Review. *Curēus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.51721>

Md Rahatuzzaman, Mahmud, M., Rahman, S., & Md Enamul Hoque. (2024). Design, fabrication, and characterization of 3D-printed ABS and PLA scaffolds potentially for tissue engineering. *Results in Engineering*, 21, 101685–101685. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101685>

Meisam Omid, Atena Fatehinya, Farahani, M., Akbari, Z., Saleheh Shahmoradi, Fatemeh Yazdian, Mohammadreza Tahriri, Keyvan Moharamzadeh, Lobat Tayebi, & Daryoosh Vashae. (2017). Characterization of biomaterials. *Elsevier EBooks*, 97–115. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100961-1.00007-4>

Qiu Li Loh, & Choong, C. (2013). Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size. *Tissue Engineering. Part B, Reviews/Tissue Engineering. Part B, Reviews.*, 19(6), 485–502. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2012.0437>

Lou, S., Pagani, L., Zeng, W., Ghori, M. U., Jiang, X., & Scott, P. J. (2019). Surface texture evaluation of additively manufactured metallic cellular scaffolds for acetabular implants using X-ray computed tomography. *Bio-Design and Manufacturing*, 2(2), 55–64. <https://doi.org/10.1007/s42242-019-00042-x>

- Mata, A., Eun Jung Kim, Boehm, C. A., Fleischman, A. J., Muschler, G. F., & Roy, S. (2009). A three-dimensional scaffold with precise micro-architecture and surface micro-textures. *Biomaterials*, *30*(27), 4610–4617. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.05.023>
- Han, Y., Lian, M., Wu, Q., Qiao, Z., Sun, B., & Dai, K. (2021). Effect of Pore Size on Cell Behavior Using Melt Electrowritten Scaffolds. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.629270>
- Murphy, C. M., & O'Brien, F. J. (2010). Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds. *Cell Adhesion & Migration*, *4*(3), 377–381. <https://doi.org/10.4161/cam.4.3.11747>
- Jackson, C. E., Ramos-Rodriguez, D. H., Nicholas, English, W. R., Green, N. H., & Frederik Claeyssens. (2023). Development of PCL PolyHIPE Substrates for 3D Breast Cancer Cell Culture. *Bioengineering*, *10*(5), 522–522. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10050522>
- Dai, Z., Ronholm, J., Tian, Y., Sethi, B., & Cao, X. (2016). Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications. *Journal of Tissue Engineering*, *7*, 204173141664881–204173141664881. <https://doi.org/10.1177/2041731416648810>
- Tuttle, A. R., Trahan, N. D., & Son, M. S. (2021). Growth and Maintenance of *Escherichia coli* Laboratory Strains. *Current Protocols*, *1*(1). <https://doi.org/10.1002/cpz1.20>
- Riley, S. P., Woodman, M. E., Holt, J., & Stevenson, B. (2017). Culture of *Escherichia coli* and Related Bacteria. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, *15*(1). <https://doi.org/10.1002/cpet.17>
- Ludmil Benov. (2019). Effect of growth media on the MTT colorimetric assay in bacteria. *PLoS One*, *14*(8), e0219713–e0219713. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219713>

- Ronholm, J. (2016). *Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications - Zheng Dai, Jennifer Ronholm, Yiping Tian, Benu Sethi, Xudong Cao, 2016*. Journal of Tissue Engineering.
<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/2041731416648810>
- JoVE. (2019). Jove.com. <https://www.jove.com/es/v/10511/growth-curves-cfu-and-optical-density-measurements>
- American Type Culture Collection. (2020). *RAW 264.7 (ATCC TIB-71) product information / cell line information*. ATCC.
- ASTM International. (2019). *ASTM F2739-19: Standard guide for quantifying cell viability and related attributes within biomaterial scaffolds*. ASTM International.
<https://doi.org/10.1520/F2739-19>
- International Organization for Standardization. (2009). *ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices—Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*. ISO.