



Fecha de presentación del Informe: Día Mes Año

Datos generales del Proyecto

Código del proyecto: 2657			
Título del proyecto: "Desarrollo de un biorreactor con estimulación magnética y validación en un modelo de implante de piel artificial".			
Facultad o Instituto Académico: Facultad de Ingeniería.			
Departamento o Escuela: Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica (EIEE).			
Grupo (s) de investigación: Percepción y Sistemas Inteligentes (PSI), Grupo de Investigación en Alta Tensión (GRALTA), Grupo de Investigación en Farmacología (INVITRO).			
Investigadores ¹	Nombre	Tiempo asignado	Tiempo dedicado
Investigador Principal	Carlos Rafael Pinedo Jaramillo	880 h	880 h
	Héctor Cadavid Ramírez	440 h	440 h
Coinvestigadores	José Oscar Gutiérrez Montes	240 h	240 h
	William David Criollo Gómez	440 h	110 h
	Luis Javier Martínez Guerrero	1760 h	1760 h
	Andrés Fernando Restrepo	1760 h	1760 h
Otros participantes	Laura Andrea Arce Polanco	220 h	440 h
	Jaime Alfonso Muñoz Botina	110 h	220 h
	Jacob Cardozo Londoño	440 h	220 h

1. Resumen ejecutivo:

En este trabajo se detalla el diseño e implementación de un sistema biorreactor asociado a un sistema de generación de campo magnético controlado y espacialmente localizado, que irradia una señal uniforme, de baja frecuencia seleccionable, de baja magnitud ajustable y temporización controlada, actuando sobre un cultivo celular matricial in vitro en proceso de desarrollo y crecimiento, con el fin de verificar la viabilidad y la proliferación de cultivos matriciales in vitro bajo los efectos de campos magnéticos de extrema baja intensidad y frecuencia.

¹ Todas las personas relacionadas en el informe y que participen en el proyecto deben haber suscrito el acta de propiedad intelectual de acuerdo con los formatos establecidos.

Debido a la creciente ubicuidad de los dispositivos tecnológicos en nuestro entorno, tales como: teléfonos celulares, computadores portátiles, tabletas, consolas portátiles de videojuegos y otros dispositivos de enlace inalámbrico, los seres humanos han comenzado a preocuparse por los efectos en la salud causados por un aumento exponencial a la exposición a campos electromagnéticos radiados, que son producidos por los nuevos dispositivos tecnológicos. En las últimas dos décadas, se han realizado estudios para determinar si el aumento de exposición puede dar lugar a efectos perjudiciales para la salud, sin embargo la mayoría de los estudios se han centrado en los campos electromagnéticos de alta frecuencia, tales como los emitidos por los teléfonos celulares y los hornos de microondas, centrados principalmente en determinar si pueden tener efectos cancerígenos. El efecto de la exposición a los campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja en sistemas celulares humanos todavía sigue sin determinarse.

Pensando en esto, en el proyecto se desarrolla un prototipo biotecnológico con el fin de cultivar células in vitro, creando un ambiente controlado que es sometido a radiación electromagnética de extremada baja intensidad y frecuencia. Al mismo tiempo, se implementa un protocolo de pruebas y ensayos experimentales, para determinar la viabilidad funcional del diseño y verificar algunas implicaciones en el comportamiento biológico del cultivo.

Abstract

In this work, is detailed below the design and implementation of a biorreactor system associated to a magnetic field generating system controlled and spatially localized, radiating an uniform signal, selectable low frequency, controlled low magnitude and adjustable timing details, acting on a matrix in vitro cell culture in the process of development and growth in order to verify the viability and proliferation in vitro cultures of matrix under the influence of magnetic fields of extremely low frequency and intensity .

Due to the growing ubiquity of technological devices in our environment, such as cell phones, laptops , tablets, portable game consoles and other devices wireless link, humans have begun to worry about the health effects caused by the exponential increase in exposure to radiated electromagnetic fields produced by new technological devices. In the last two decades, studies have been conducted to determine whether increased exposure may lead to adverse health effects, but most studies have focused on the electromagnetic fields of high frequency, such as those issued by cell phones and microwave ovens, focused mainly on whether they may have a carcinogenic effect. The effect of exposure to electromagnetic fields of extremely low frequency in human cell systems still remains undetermined.

With this in mind, in the project a biotechnology prototype is developed to cultivate in vitro cells, creating a controlled environment that is subjected to electromagnetic radiation of extremely low intensity and frequency. At the same time, a testing protocol is implemented and experimental tests to determine the functional viability of the design and verify some implications in the biological behavior of the crop.

2. Síntesis del proyecto:

Tema

“Desarrollo de un biorreactor con estimulación magnética y validación en un modelo de implante de piel artificial”.

Objetivos:

General

Crear y desarrollar un biorreactor de matriz celular, incluido dentro de un sistema de estimulación electromagnética externa, que corresponda al diseño experimental de crecimiento *in vitro* de células humanas normales, para someterlas a radiación por campos magnéticos de baja frecuencia, con lo cual se puedan estimar las variables eléctricas inducidas y establecer la relación de estas con efectos en el comportamiento biológico.

Específicos

- Desarrollar y construir un biorreactor de matriz celular viable para el mantenimiento y crecimiento de matrices celulares.
- Diseñar y construir un dispositivo de estimulación para la generación y control de la señal magnética.
- Integrar el biorreactor con el estimulador y los medios nutrientes necesarios para ambientar las condiciones requeridas para el sostenimiento de un cultivo matricial celular *in vitro*.
- Obtener una densidad celular suficiente para la realización del cultivo *in vitro* a partir de cultivos de células humanas normales.
- Medir las variables de proliferación de las células para las diferentes condiciones de estimulación.
- Comparar los resultados obtenidos con los grupos blanco y control para cada una de las condiciones de estimulación establecidas.
- Establecer si existen relaciones en la proliferación celular dentro de la matriz.

Metodología

El proyecto se hizo siguiendo una secuencia que va desde la concepción tecnológica de varios dispositivos mecánicos y electrónicos, necesarios para desarrollar cultivos de matrices celulares, hasta lograr su construcción, puesta en funcionamiento y la validación por la producción *in vitro* de un cultivo celular específico. La secuencia seguida es como se expresa a continuación:

Desarrollo de un biorreactor

El tipo de biorreactor considerado para este proyecto es un birreactor giratorio con flujo laminar. La razón por la cual se selecciona este tipo de birreactor, en comparación a las demás posibilidades, es porque permite el recambio constante de nutrientes y la evacuación de productos metabólicos, condiciones necesarias para mantener la matriz celular viva como se requiere para la experimentación planteada.

El biorreactor se diseña con especificación de partes selladas laterales, en acero 316, acopladas a un cuerpo central cilíndrico de vidrio, de tal manera que no interfiera con la incidencia de campos magnéticos a irradiar. El diseño se construye de acuerdo con las especificaciones dimensionales de capacidad y compatibilidad de flujo laminar. Una vez construido el biorreactor se ha mantenido en el laboratorio de farmacología, donde se hizo los experimentación, contando con la disponibilidad de un cuarto limpio con los suficientes protocolos y controles que satisfacen las condiciones ambientales para este tipo de procedimientos.

Desarrollo de un sistema estimulador magnético

Se parte de un sistema electrónico programable de una versión prototipo existente, utilizada para estimulación en un proyecto anterior, se hacen modificaciones tecnológicas para generar ondas sinusoidales, con frecuencias entre 5 y 105 Hz con resolución de 0.1 Hz y magnitudes de intensidad seleccionable hasta 10 mT. Generando un campo magnético homogéneo espacialmente distribuido, con unas dimensiones dependientes de los actuadores electromagnéticos contruidos para este proyecto.

Para la utilización experimental se desarrollo un sistema electrónico de temporización, mediante lo cual se programan los periodos de estimulación, acogiendo los protocolos experimentales, lo que permite el desarrollo de pruebas desatendidas pero perfectamente registradas durante el ciclo de vida celular.

El sistema de potencia utilizado en el prototipo anterior se modifíco, incluyendo una realimentación de campo magnético, que censa el centro del actuador electromagnético, para garantizar un valor de campo magnético estable en el espacio de trabajo, cuyos límites físicos los establece el dimensionamiento y la forma de los actuadores electromagnéticos (bobinas helmhotz circulares), siendo estos los encargados de irradiar el interior del biorreactor.

Obtención de la densidad celular necesaria para la validación in vitro

Se parte de una línea celular de fibroblastos de piel humana normal (FPHN), almacenados en termos con Nitrógeno Líquido de la Asociación *IN-VITRO*, de la Universidad del Valle. Se caracterizaron y se trabajaron en pase 5 de crecimiento. En los análisis se utilizaron FPHN en pase 6, previa descongelación de las células.

Los cultivos celulares se mantuvieron en medio D-MEM con aminoácidos no esenciales y, suplementado con 10% Suero Fetal Bovino (SFB) (Gibco-BRL), 2 mM de L-glutamina (Gibco-BRL) y antibióticos (100 U/ml penicilina; 100 µg/ml de estreptomycin) (Gibco-BRL). Para evitar cambios en el pH del medio se adiciono Hepes (pH 7.2) a una concentración final de 2 mM. La línea celular CRL-1474 se mantuvo en medio Earle's MEM (Gibco-BRL), suplementada con 10% SFB (Gibco-BRL), 2 mM de L-glutamina (Gibco-BRL) y antibióticos (100 U/ml penicilina;

100 µg/ml de estreptomicina) (Gibco-BRL) y 2 mM de piruvato de sodio. La incubación celular se hizo a 37°C en atmósfera húmeda, con 5% de CO₂ en botellas de cultivo FALCON.

Para el mantenimiento se usaron los siguientes medios de cultivo: Eagle's MEM (Gibco BRL); Dulbecco modificado medio D-MEM (Gibco BRL); SFB (Gibco BRL); los reactivos usados fueron: dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma); ácido etilendiaminotetraacético disódico (EDTA) 0.5 M pH 8.0: en agua bidestilada y tamponado con NaOH 10N. Esterilizado por filtración. SIGMA; tripsina 0.5% (Sigma) en agua bidestilada, esterilizada por filtración. SIGMA o equivalente; TD (500 ml): 17,125 ml 4 M NaCl, 625 µl 4 M KCl, 0.087 g Na₂HPO₄• 2H₂O, 10 ml Tris, en agua bidestilada (pH 7.4) SIGMA; solución de Tripsina-EDTA: 0.025% Tripsina, 0.5 mM EDTA pH 8.0 en TD SIGMA.

La manipulación de los cultivos y la preparación de las soluciones se hicieron bajo las máximas condiciones de esterilidad, los procedimientos se realizarán en cabina de flujo laminar tipo A2B3. Las líneas celulares adquiridas cuentan con el nivel de bioseguridad No. 1. Cada vez que se descongelo un stock, las células se sembraron en dos botellas T-75: una para la realización de los experimentos y otra para volver a congelar. Se crio preservan en una concentración de 5 x 10⁶ células/mL, en medio de cultivo con Suero fetal Bovino (SFB) 10% y Dimetil Sulfoxido (DMSO) 10%. El procedimiento seguido, se realiza para las células en suspensión y las no adherentes, se descarta el sobrenadante y se lava el pellet celular tres veces con PBS estéril. Se re-suspende el pellet en medio de cultivo frío con 10 % de DMSO. Se dispensa en crioviales de a 1 ml. Se criopreservan los viales, de acuerdo al protocolo del equipo de criopreservación y posteriormente se almacenan los viales en tanques con nitrógeno líquido hasta su utilización.

El procedimiento de descongelación se realiza para eliminar del medio de criopreservación el DMSO, molécula que puede resultar tóxica para algunas células en crecimiento, especialmente células no adherentes. Cada vez que se congela un stock celular se anota en el criovial el número exacto del pase de la línea celular utilizada. Cuando las células lleguen a condiciones de saturación confluencia (células adherentes), se procede a sub-cultivar para asegurar el crecimiento exponencial de las células. El sub-cultivo celular permite controlar la densidad del inóculo inicial y nos asegurara que trabajamos en condiciones de crecimiento óptimas para cada línea celular. El procedimiento se hace para las células en suspensión y las células no adherentes. El cultivo es incubado a 37 °C en una atmósfera humidificada, con 5 % de CO₂. El medio de crecimiento celular es cambiado cada 2 a 3 días hasta que se observa la confluencia de la monocapa celular.

La determinación del número de células para la siembra y los pases se realizara por el método de exclusión con azul tripam, el cual consiste en diluir 1:10 las células aisladas (0.1 mL.) y (0.9 mL.) de azul de tripam, la dilución se coloca en una cámara de conteo celular para determinar el número de células vivas y muertas.

Integración del biorreactor, el estimulador, los medios nutrientes y el cultivo celular

Las células se siembran en una matriz porosa con el objetivo de generar un complejo celular tridimensional y facilitar la nutrición a través de la matriz. El biorreactor tiene unas características dinámicas definidas y deseables para optimizar el crecimiento *in vitro* de las matrices de células.

La integración tecnológica y biológica se hace teniendo en cuenta que cuando se proyecta un crecimiento de células en capas múltiples o células que estén situadas en una matriz, estas deben tener acceso a sustratos tales como moléculas de señalización, factores de crecimiento, y alimentos (oxígeno, glucosa, aminoácidos y proteínas) y se deben remover los productos metabólicos (CO₂, lactato y urea), lo cual es esencial para la supervivencia de la célula. La difusión de estos sustratos, dentro del microambiente con células en desarrollo, es necesaria para poder proyectar los dispositivos de matrices como productos comerciales de materiales de tejidos orgánicos. El transporte de los sustratos es inducido mediante un flujo laminar constante, el cual es sostenido en el biorreactor con un sistema de bombeo peristáltico, controlando los gradientes de presión para evitar a toda costa la posibilidad de turbulencia en el flujo.

Al sistema antes mencionado, se integra a los actuadores electromagnéticos, que son dos bobinas Helmholtz circulares acopladas, diseñadas y construidas para el proyecto, donde su accionar se manifiesta en la inducción de una señal electromagnética controlada sobre el espacio de vidrio del biorreactor, generando una área de irradiación homogénea localizada en el interior del microambiente de cultivo celular matricial. El control electrónico de la señal permite parametrizar las variables de intensidad, frecuencia y tiempo de exposición durante la experimentación y el ciclo de vida celular.

Se utilizó la línea celular CRL -1474 [CCD- 25Sk], la cual es una línea celular de fibroblastos normales de la piel humana (NHSF), se sembraron a una concentración de 7×10^6 células en los soportes del biorreactor, utilizando como medio de cultivo D-MEM suplementado con 10% de suero fetal de ternera, penicilina 100U/ml, estreptomycin 100µ/ml, anfotericina 2 µg/ml e incubadas en atmósfera húmeda de 5% de CO₂ a 37°C. Una vez que los cultivos primarios de fibroblastos alcanzaron la densidad requerida se procede a inactivar utilizando Mitomicina C a una concentración de 4 µg/ml durante 2 horas.

Teniendo el equipo instalado y en funcionamiento, el biorreactor se opera controlado primero en blanco, o sea sin estimulación, se llevaron a cabo los protocolos y las pruebas experimentales. Luego se repite la operación, pero esta vez en condiciones de estimulación, repitiendo el procedimiento para cada una de las especificaciones de radiación definidas en el protocolo. Después de los experimentos, las tasas de crecimiento se evaluaron y se compararon para determinar diferencias en la proliferación. Posteriormente, las respectivas pruebas de caracterización de células se realizaron en el tejido con el fin de probar la viabilidad celular y la compatibilidad del tejido obtenido, para luego hacer comparaciones y buscar incidencia en las tasas de crecimiento.

Ensayo de viabilidad con azul de tripam

El método de exclusión con azul de tripam permite diferenciar las células vivas de las células muertas. La tinción con azul de tripam y la utilización de una cámara de Neubauer permite hacer determinaciones de proliferación y viabilidad celular. Se utilizó esta tinción para determinar la densidad (nº células/ml) de las líneas celulares y asegurar que el cultivo alcanza su nivel óptimo de crecimiento antes de congelarse o realizar cualquier ensayo.

Ensayo de Proliferación Celular con el Kit II XTT ® ROCHE

Este ensayo se basa en cambio de las sales del tetrazolium del XTT a un color anaranjado del formazan por la actividad metabólica de las células. Esta conversión ocurre solamente en células viables y se cuantifica directamente usando un espectrofotómetro de multiplicación (lector de ELISA). Las células se sembraron en placas de cultivo de tejido de 96 pozos, y se incuban con la solución de XTT (concentración final 0.3 mg/mL.) durante el periodo de análisis, considerado entre 4 y 24 h. Después de este período de incubación, se adiciona la solución de formazan de color anaranjado, que es cuantificada espectro-fotométricamente usando un lector de placas de ELISA. Para determinar el número de células requeridas se hizo la curva de crecimiento de cada una de las líneas celulares.

Proliferación Celular con el Kit II XTT

El aumento en el número de células vivas da un aumento en la actividad total de deshidrogenasa mitocondrial en la muestra. Lo que permite correlacionar la respuesta con la cantidad de formazan que esta disponible (color anaranjado). El análisis se hizo para la cuantificación espectrofotométrica del crecimiento y determinación de la viabilidad de las células sin el uso de isótopos radiactivos. Este resultado se uso para la medición de proliferación celular en respuesta a diferentes factores, como citoquinas y factores de crecimiento.

Análisis de resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados y validados mediante la comparación de las pruebas y procedimientos experimentales que se describieron anteriormente. Los resultados se caracterizaron sobre la base de las variables de estimulación que se aplicaron en las células con el fin de formar una relación entre las células y los resultados de la simulación. Los resultados ayudaron a validar el protocolo experimental y aplicar mejoras a la metodología para la medición de las propiedades eléctricas del tejido celular estimulado.

Con la metodología descrita se evaluó el comportamiento en el crecimiento de células humanas normales en la matriz dentro del biorreactor, sometidas a radiación por campos magnéticos de baja frecuencia, sobre los cuales se creó un modelo computacional correspondiente al diseño experimental *in vitro*, lo que permite estimar las variables eléctricas inducidas y con esto establecer una relación entre el tipo de señal generada, el tipo de señal inducida y los efectos de proliferación.

Después de realizar las pruebas y ensayos de citotoxicidad y la viabilidad y la formación de las relaciones entre las tasas de crecimiento y los mecanismos celulares, se utilizaron los resultados del ensayo y prueba para determinar el estado fisiológico y bioquímico de las células, y determinar su viabilidad biológica para ser utilizada como sustituto de piel. La formación efectiva de matrices de tejidos celulares indica viabilidad biológica y posibilidad de construir un sustituto de piel. La labor futura es caracterizar mecánicamente el tejido obtenido, replicar el proceso para mayores densidades y hacer validaciones en animales.

Resultados obtenidos

Con el desarrollo de este proyecto se logro el objetivo de construir y validar funcionalmente un biorreactor, con capacidad para cultivar piel bajo condiciones controladas de exposición a radiación electromagnética. Este trabajo es un desarrollo Biotecnológico, donde obtenemos

resultados a partir de la aplicación integral de conocimientos e investigación tanto en áreas de la Ingeniería como en áreas de la Biología Celular, específicamente en la metodología y tecnología para los cultivos matriciales celulares *in vitro*. De esta manera, se presentan resultados en ambos campos que finalmente convergen en aplicaciones tecnológicas de utilidad para el campo de la salud, así:

Se diseñó e implementó un sistema de bobinas Helmholtz cuadradas tri-axiales (HCT) para la generación de campo magnético uniforme de baja magnitud y frecuencia sobre cada uno de los ejes coordenados alrededor del centro de separación. Este arreglo consta de tres pares de bobinas Helmholtz cuadradas, donde cada par se ubica en cada uno de los ejes coordenados (x, y, z). La geometría de bobinas cuadradas permite una mayor homogeneidad, mejor uso del volumen, facilidad de implementación y menor susceptibilidad a errores de construcción comparadas con las bobinas circulares.

Se desarrolló un modelo computación 3D del sistema de bobinas HCT para la evaluación del sistema de generación de campo magnético. El modelo permitió verificar la distribución de campo magnético alrededor del centro de separación ante diferentes condiciones de operación. En general, se obtuvo una aproximación muy acertada del comportamiento del campo magnético por medio del método de elementos finitos, usando la herramienta de simulación COMSOL, para diferentes geometrías de bobinas implementadas, donde la confiabilidad de los resultados depende básicamente de una correcta asignación de los parámetros de simulación.

Se desarrolló un sistema de medición de campo magnético basado en una configuración de sensores ortogonales entre sí. Esta configuración permitió obtener la medida de cada una de las componentes B_x , B_y y B_z del campo magnético posibilitando el cálculo de la magnitud y dirección del campo magnético resultante por medio de la suma vectorial de las componentes. Los resultados experimentales presentan una alta linealidad y una rápida respuesta dinámica en cada uno de los sensores del sistema de medición con respecto al campo magnético medido usando el equipo FW Bell 5170.

Se planteó un método de medición de la distribución de campo magnético alrededor del centro de separación de la bobina HCT, basada en la medición de diferentes puntos sobre el volumen de trabajo usando una estructura base para determinar la ubicación exacta de los sensores. Los resultados obtenidos experimentalmente aseguran un área promedio de 120 mm x 120 mm con campo magnético uniforme alrededor del centro de separación sobre cada uno de los ejes coordenados, lo que posibilita la experimentación con placas de cultivo celular y pequeños animales o semillas de plantas. Estos resultados son consistentes con los teóricos y los obtenidos por medio de la herramienta de simulación.

La integración del sistema de bobinas HCT y la configuración de sensores ortogonales entre sí, permiten que por medio de un control simple se logre no solo la generación de campo magnético controlado, sino también la compensación del campo geomagnético o campo magnético ambiente (en el orden de varios μT) alrededor del centro de separación de las bobinas con el objetivo de realizar estudios de estimulación electromagnética sobre sistemas biológicos *in vivo* e *in vitro*.

Se desarrolló y llevó a cabo un protocolo para la medición de los campos magnéticos presentes en áreas cerradas o habitaciones, como fue el caso del laboratorio de cultivo de tejidos celulares *in vitro*. Esto nos permitió generar mapas de distribución de campo magnético en el

espacio de trabajo, con el fin de ayudar a determinar las magnitudes de diseño de los equipos y la parametrización de los experimentos. Estos mapas permiten un uso óptimo del espacio geográfico en el laboratorio y proporcionan información sobre la generación de campos magnéticos por algunos elementos o dispositivos contenidos en el laboratorio.

Se diseñó y construyó un biorreactor del tipo Couette –Taylor, giratorio y de flujo laminar, con una capacidad de procesamiento suficiente para permitir el cultivo matricial de tejido biológico a partir de procedimientos de sostenimiento *in vitro*, teniendo en cuenta las cantidades necesarias y el recambio del medio de cultivo para condiciones de crecimiento celular dentro de un recipiente.

Se logró la integración de un biorreactor a un sistema electrónico de estimulación magnética, totalmente programable, estableciéndose un sistema de cultivo matricial celular con incidencia de radiación por campo electromagnético homogéneo, con parametrización en frecuencia, intensidad y tiempo de exposición.

Se desarrolló un protocolo de pruebas y ensayos que permitió validar la proliferación celular y la viabilidad de un cultivo matricial *in vitro*, bajo las condiciones establecidas por la integración de un biorreactor giratorio de flujo laminar y un sistema estimulador magnético.

Principales observaciones y/o recomendaciones

A través del trabajo realizado en este proyecto, los vínculos entre las Facultades de Salud e Ingeniería se fortalecen y se impulsa la investigación, la aplicación y la apropiación tecnológica en los campos médicos y de salud, es un aporte al desarrollo Biotecnológico en nuestro medio.

El desarrollo propio de dispositivos de estimulación magnética, que han sido validados adecuadamente para su uso en cultivos celulares *in vitro*, así como la calibración con precisión para generar campos electromagnéticos muy específicos, ofrece la posibilidad de continuar con el proceso de caracterización y la comprensión de los mecanismos de comportamiento biológico. Esto manifiesta la necesidad de seguir escalando en el desarrollo y producción de equipos tecnológicos más allá de la escala de prototipos, y comenzar a integrar elementos de robustez, compatibilidad electromagnética y normalización de bioseguridad.

La formación efectiva de matrices de tejidos celulares indica viabilidad biológica y posibilidad de construir un sustituto de piel. La labor futura es caracterizar mecánicamente los tejidos obtenidos, replicar el proceso para mayores densidades y hacer validaciones en animales.

La experimentación realizada mostró la necesidad de hacer un registro y control preciso de la temperatura al interior del biorreactor, no es suficiente el sostenimiento de la temperatura de los medios de nutrición y la estabilidad de la temperatura ambiente del laboratorio. Se hace indispensable dotar de instrumentación para registrar y controlar algunas otras variables ambientales para tener manejo sobre la caracterización y calidad de los tejidos obtenidos.

La identificación de la incidencia del entorno en los procesos celulares continúa siendo un elemento de investigación, particularmente continuamos buscando comprender las funciones y



las consecuencias de los campos electromagnéticos en el desarrollo celular, y este proyecto no es más que una pequeña contribución a este proceso.

3. Productos:

Tabla No. 1. **Cantidad y tipo de productos pactados en el Acta de Trabajo y Compromiso y productos finalmente presentados**

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
Productos de nuevos conocimientos				
Artículo completo publicado en revistas A1 o A2	2		1	
Artículo completo publicado en revistas B	1		1	
Artículo completo publicado en revistas C			1	
Prototipos y patentes	1		3	
Productos o procesos tecnológicos usualmente no patentables o protegidos por secreto industrial	1		2	
Formación de recursos humanos	No. de estudiantes vinculados	No. de tesis	No. De estudiantes Vinculados	No. De tesis
Estudiantes de pregrado		2	1	1
Semillero de Investigación	2		1	
Estudiantes de maestría	1		1	1
Estudiantes de doctorado	1		1	1
Productos de divulgación				
Publicaciones en revistas no indexadas				
Ponencias en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales
Ponencias en congresos y seminarios	1	1	1	2
Propuesta de investigación				
Propuestas presentadas en convocatorias externas para búsqueda de financiación.	1		1	

Tabla No. 2. Detalle de productos.

Tipo de producto:	TG1 - Tesis Doctoral
Nombre General:	Tesis de Doctorado en Ingeniería con énfasis en Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Programa de Posgrado en Ingeniería Eléctrica y Electrónica (PPIEE), Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica (EIEE), Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, 2013.
Nombre Particular:	"Development of a Coutte-Taylor biorreactor with magnetic stimulation and validation through normal human skin fibroblasts (NHSF) tissue cultures".
Ciudad y fechas:	Cali, Octubre 8 de 2013
Participantes:	Luis Javier Martínez Guerrero.
Sitio de información:	Biblioteca Central Mario Carvajal, Universidad del Valle, Cali. http://opac.univalle.edu.co/cgi-olbib?infile=authk.glue&style=authk&nh=20&calling_page=hitlist.glu&key=291105
Formas organizativas:	GRALTA, PSI, INVITRO, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	TG2 - Tesis de Maestría
Nombre General:	Tesis de Maestría en Ingeniería con énfasis en Automática, Programa de Posgrado en Ingeniería Eléctrica y Electrónica (PPIEE), Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica (EIEE), Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, 2012.
Nombre Particular:	"Ambiente espacialmente restringido, con campo magnético uniforme de baja magnitud y frecuencia, y compensación del campo geomagnético para estudios sobre sistemas biológicos".
Ciudad y fechas:	Cali, Octubre 26 de 2012.
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo Álvarez.
Sitio de información:	Biblioteca Central Mario Carvajal, Universidad del Valle, Cali. http://opac.univalle.edu.co/cgi-olbib?infile=details.glu&luid=831425&rs=4252296&hitno=1
Formas organizativas:	GICI, PSI, Universidad del Valle, Cali.



Tipo de producto:	TG3 - Tesis de Pregrado
Nombre General:	Anteproyecto aprobado. Trabajo de grado de pregrado en proceso de desarrollo para optar al título de Ingeniero Electrónico. Programa Académico de Ingeniería Electrónica. Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica (EIEE), Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali.
Nombre Particular:	“Diseño y desarrollo de un sistema electrónico para transferencia inalámbrica de energía eléctrica de baja potencia a través de acoplamiento por resonancia magnética”.
Ciudad y fechas:	Cali, Noviembre 21 de 2012. Anteproyecto Aprobado. Trabajo a finalizar y sustentar en primer semestre de 2014.
Participantes:	Jacob Cardozo Londoño.
Sitio de información:	Centro de Documentación, Programa Académico de Ingeniería Electrónica. Edificio 353 Oficina 1001, Universidad del Valle, Cali.
Formas organizativas:	PSI, GRALTA, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	RP1 – Reporte Semillero de Investigación
Nombre General:	Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica (EIEE), Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, 2013.
Nombre Particular:	“Rediseño del sistema de mandos de un estimulador magnético programable”.
Ciudad y fechas:	Cali, Agosto de 2012
Participantes:	Laura Andrea Arce Polanco
Sitio de información:	Centro de Documentación, Programa Académico de Ingeniería Electrónica, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali.
Formas organizativas:	PSI, Universidad del Valle, Cali.



Tipo de producto:	AR1 y PI1 - Ponencia Internacional y Artículo en Memorias, publicación categoría C.
Nombre General:	Andean Region International Conference, ADESCON 2012, VI, Págs: 77-80. ISSN: 6734-4272
Nombre Particular:	"Study and analysis of magnetic field homogeneity of square and circular Helmholtz coil pairs: a Taylor series approximation".
Ciudad y fechas:	Cuenca (Ecuador), 7-9 Noviembre de 2012.
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo Álvarez, Edinson Franco Mejía, Carlos Rafael Pinedo Jaramillo.
Sitio de información:	http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6424124&tag=1
Formas organizativas:	GICI, PSI, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	AR2 – Artículo Publicación Categoría C
Nombre General:	Latin America Transactions, IEEE (Revista IEEE America Latina) (Volume:11, Issue: 1) No. 1, Pags: 130-136. ISSN :1548-0992
Nombre Particular:	"Design study for a cellular culture biorreactor coupled with a magnetic stimulation system".
Ciudad y fechas:	Febrero 2013.
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo, Luis Javier Martínez, Carlos Rafael Pinedo, Edinson Franco, Héctor Cadavid.
Sitio de información:	http://ieeexplore.ieee.org/xpl/abstractAuthors.jsp?arnumber=6502791
Formas organizativas:	GICI, PSI, GRALTA, Universidad del Valle, Cali.



Tipo de producto:	PI2 - Ponencia internacional
Nombre General:	ARGENCON 2012
Nombre Particular:	"Design study for a cellular culture biorreactor coupled with a magnetic stimulation system".
Ciudad y fechas:	Córdoba (Argentina), 12-15 de Junio de 2012.
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo, Luis Javier Martínez, Carlos Rafael Pinedo, Edinson Franco, Héctor Cadavid.
Sitio de información:	Libro de resúmenes, Jorge Sarmiento editor - Universitas , p.1 - 102 , v.1, fasc.1
Formas organizativas:	GICI, PSI, GRALTA, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	AR3 – Artículo Publicación A2
Nombre General:	Revista Ingeniería y Competitividad
Nombre Particular:	"Growth rates of human skin fibroblast last cellular tissue in a Coutte-Taylor biorreactor coupled with a magnetic field stimulation device".
Ciudad y fechas:	Cali, entregado en Agosto de 2013, actualmente en proceso de evaluación.
Participantes:	Luis Javier Martínez, Héctor Cadavid, Carlos Rafael Pinedo.
Sitio de información:	Revista Ingeniería y Competitividad, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali.
Formas organizativas:	GRALTA, PSI, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	AR4 – Artículo Publicación Categoría B
Nombre General:	CIT - Revista Internacional Información Tecnológica
Nombre Particular:	“A methodology to generate uniform magnetic field volume with a tri-axial square Helmholtz coil”.
Ciudad y fechas:	La Serena (Chile), entregado en Septiembre de 2013, actualmente en proceso de evaluación.
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo, Edinson Franco, Carlos Rafael Pinedo.
Sitio de información:	http://www.citrevistas.cl/a1.htm
Formas organizativas:	GICI, PSI, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	PN1 - Ponencia en Evento Nacional
Nombre General:	VI Seminario Internacional de Ingeniería Biomédica, SIB 2012, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
Nombre Particular:	“Desarrollo de un biorreactor con estimulación magnética y validación con un modelo de piel artificial”.
Ciudad y fechas:	Bogotá, 16-17 de Febrero de 2012.
Participantes:	Carlos Rafael Pinedo, Héctor Cadavid, Oscar Gutiérrez, William Criollo, Andrés Fernando Restrepo, Luis Javier Martínez.
Sitio de información:	Resúmenes del Seminario Internacional de Ingeniería Biomédica SIB 2012, ISSN-2322-7702, Página 95-96.
Formas organizativas:	PSI, GRALTA, INVITRO, Universidad del Valle, Cali.



Tipo de producto:	PR1 – Prototipo industrial.
Nombre General:	Sistema dinámico para cultivo matricial de células in vitro, con estimulación magnética, parametrización, registro y vigilancia remota.
Nombre Particular:	Biorreactor tipo Couette-Taylor con estimulación magnética radiada, programable remotamente en tiempo, forma de onda, intensidad y frecuencia.
Ciudad y fechas:	Cali
Participantes:	Luis Javier Martínez, Andrés Fernando Restrepo, Carlos Rafael Pinedo, Héctor Cadavid, Oscar Gutiérrez.
Sitio de información:	Laboratorio de Farmacología, Universidad del Valle, San Fernando, Edificio 116 4to piso.
Formas organizativas:	PSI, GRALTA, INVITRO, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	PR2 – Diseño industrial
Nombre General:	Sistema de medición espacial de campo magnético tridimensional y registro grafico.
Nombre Particular:	Medición tri dimensional de campo magnético y registro grafico de distribución espacial.
Ciudad y fechas:	Cali
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo, Carlos Rafael Pinedo, Edinson Franco.
Sitio de información:	Laboratorio de automatización, Edificio 353 2do piso, Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica - PPIEE
Formas organizativas:	PSI, GICI, Universidad del Valle, Cali.



Tipo de producto:	PR3 – Diseño y prototipo industrial
Nombre General:	Parametrización y control remoto de estimulación magnética.
Nombre Particular:	Sistema electrónico programable con enlace inalámbrico Xbee para control y parametrización remota de un estimulador magnético.
Ciudad y fechas:	Cali, Agosto 31 de 2012
Participantes:	Carlos Rafael Pinedo, Laura Arce.
Sitio de información:	Laboratorio de Secuenciales y Tiempo Real, Edificio 353 2do piso, Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica - PPIEE
Formas organizativas:	PSI, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	PR4 – Diseño y prototipo Industrial
Nombre General:	Actuadores electromagnéticos en configuración tri-axial.
Nombre Particular:	Bobinas tipo Helmholtz cuadradas en configuración tri-axial para radiar campo magnético uniforme en un espacio de incidencia tridimensional.
Ciudad y fechas:	Cali, Noviembre 30 de 2012
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo, Carlos Rafael Pinedo, Edinson Franco.
Sitio de información:	Laboratorio de automatización, Edificio 353 2do piso, Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica – PPIEE
Formas organizativas:	PSI, GICI, Universidad del Valle, Cali.



Tipo de producto:	PR5 – Diseño Industrial
Nombre General:	Sistema electrónico tri-axial para estimulación magnética tridimensional con parametrización programable.
Nombre Particular:	Circuito electrónico de potencia, con parametrización programable, para acoplamiento de actuadores magnéticos tipo bobinas Helmholtz cuadradas en configuración tri-axial.
Ciudad y fechas:	Cali, Enero 25 de 2013
Participantes:	Andrés Fernando Restrepo, Carlos Rafael Pinedo, Edinson Franco.
Sitio de información:	Laboratorio de automatización, Edificio 353 2do piso, Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica – PPIEE
Formas organizativas:	PSI, GICI, Universidad del Valle, Cali.

Tipo de producto:	PY1 – Convocatoria Externa
Nombre General:	Convocatoria Externa
Nombre Particular:	Aplicación de campo magnético, luz ultravioleta y nanocompuestos de TiO ₂ modificado para el ataque de células cancerígenas de cuello uterino HeLa y Caski.
Ciudad y fechas:	Cali, Mayo 24 de 2012
Participantes:	Rubén de Jesús Camargo Amado, José Oscar Gutiérrez Montes, Carlos Rafael Pinedo Jaramillo.
Sitio de información:	Escuela de Ingeniería Química, Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica y Laboratorio de Farmacología.
Formas organizativas:	Fisicoquímica de Bio y Nano materiales, Farmacología y Percepción y Sistemas Inteligentes - PSI, Universidad del Valle, Cali.

4. Impactos actual o potencial:

El desarrollo de este proyecto ha tenido injerencia en el desarrollo y apropiación de tecnología integrada en Salud e Ingeniería, formación de recurso humano, desarrollo multidisciplinario, investigación en bioelectricidad y electro-fisiología aplicada, desarrollo de ambientes controlados para cultivos celulares y tejidos utilizables en reconstrucción humana, publicaciones internacionales, divulgación tecnológica y notificación de posibles invenciones.

Todos estos elementos y las capacidades de formación logradas han permitido avanzar en los campos de aplicación cubiertos, involucrando inclusión de nuevos contenidos en los cursos de Ingeniería, proyectando la creación de cursos inter-facultades, promoviéndolo el área de la Bioingeniería y haciendo nuevas propuestas para continuar desarrollando el campo de la Bioingeniería, de gran utilidad en la salud de nuestra sociedad.

Nota: El informe final en extenso se configura con este informe ejecutivo profundizando con lo expresado en dos de los principales productos de este proyecto como son:

- Tesis Doctoral del Investigador Luis Javier Martínez titulada "Development of a Coutte-Taylor biorreactor with magnetic stimulation and validation through normal human skin fibroblasts (NHSF) tissue cultures".
- Tesis de Maestría del Investigador Andrés Fernando Restrepo titulada "Ambiente espacialmente restringido, con campo magnético uniforme de baja magnitud y frecuencia, y compensación del campo geomagnético para estudios sobre sistemas biológicos".

La presente versión del informe contiene las observaciones de los evaluadores:

Firma del investigador principal

VoBo. Vicedecano de Investigaciones