

MÓDULO DE CONTROL DE TEMPERATURA PARA MUESTRAS BIOLÓGICAS EN AMBIENTES DE MICROGRAVEDAD

LAURO SANTIAGO CRUZ, SERGIO JAVIER BAUTISTA HERNÁNDEZ Y LUIS ÁNGEL HERNÁNDEZ PASCUAL

En este proyecto de investigación, se realizan estudios para conocer el incremento en la producción de células HEK293-Adenovirus, cuando éstas se encuentran sometidas en microgravedad con temperaturas muy por debajo de cero grados centígrados; para conocer el comportamiento de las células bajo estas dos condiciones, se desarrolló el sistema CubeSat, denominado XIPE-1.

Conocer el aumento o la reducción del número de células es crucial en este proyecto, donde se analiza también, a los interferones, que son proteínas encargadas de desencadenar las defensas protectoras del sistema inmune. Los interferones están encargados de la comunicación entre las células (figura 1) y nos ayudan a erradicar patógenos como: virus, bacterias, parásitos y células tumorales. Los interferones obtienen su nombre por su capacidad de “interferir” con la replicación viral al proteger a las células de infecciones virales.

Los Interferones (IFN) también tienen otras funciones: activan células del sistema inmune, como las células asesinas naturales y los macrófagos, e incrementan las defensas del

hospedador al regular el incremento en la presentación del antígeno. Algunos de los síntomas de las infecciones, tales como la fiebre, el dolor muscular y otros síntomas similares a los de la gripe, también, son causados por la producción de IFN y otras citosinas.

En este estudio se utilizaron las células embrionarias de riñón humano 293, que son sencillas de cultivar y se transfectan fácilmente, por lo que se han usado ampliamente durante muchos años para la investigación en biología celular. Se utilizan también en la industria biotecnológica, para producir virus y proteínas para terapia génica. Las células del riñón conocidas como HEK293 son adenovirus (*Adenoviridae*), que pertenecen a la familia de virus, éstas, infectan tanto a humanos como a otros animales. Pueden provocar infecciones en las vías respiratorias, conjuntivitis, cistitis hemorrágica y gastroenteritis. Además, los adenovirus se utilizan para obtener ADN para la terapia génica.

Se ha observado que en condiciones de muy baja temperatura y de microgravedad, los adenovirus son capaces de incrementar su número, pero, para comprobar simultáneamente su comportamiento con estas dos condiciones, se utilizará el sistema XiPE-1, desarrollado por los Institutos de Ingeniería y el de Ciencias Aplicadas y Tecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México; la Facultad de Farmacia, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y el Centro de Desarrollo Aeroespacial del Instituto Politécnico Nacional. El módulo XiPE fue diseñado e integrado a partir de la sinergia de tres áreas principales: instrumentación electrónica, mecánica y óptica (Figura 2).

Las características principales del instrumento científico CubeSat XIPE-1, son: CubeSat de 6 unidades (10 x 10 x 60 cm);

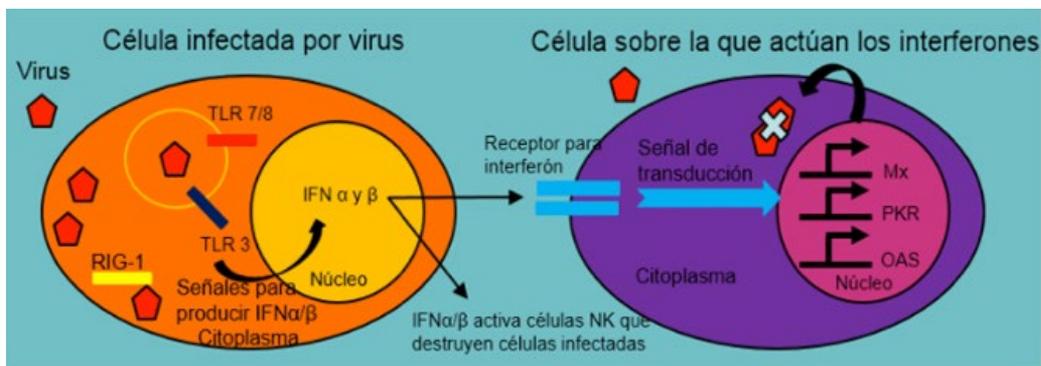




Figura 2. CubeSat XIPE-1

que incluye sistemas electrónicos y ópticos para la adquisición y almacenamiento de datos de cámaras y sensores ambientales; elementos que permiten la protección mecánica de las tarjetas electrónicas y del contenedor con muestras biológicas, objeto principal de estudio para el XIPE-1.

Un aspecto importante en el cultivo de las células es el control de la temperatura, por eso, el XIPE-1 tiene un módulo (MCT: Módulo de Control de Temperatura) encargado de conservar una temperatura estable al interior de la cámara, donde estará instalado el contenedor de las muestras biológicas. Teniendo como *set point* una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Los elementos que constituyen al sistema de instrumentación electrónica MCT son: una tarjeta electrónica (basada en microcontrolador, memoria flash y RAM, con velocidad de operación de hasta 80 MHz, disponibilidad de 42 puertos de entrada/salida); una interfaz para la comunicación con la computadora principal (OBC, por sus siglas en inglés); una tarjeta de interfaz eléctrica-electrónica para los elementos de control de la temperatura; un pad térmico; una tarjeta para el registro de datos; seis sensores de temperatura instalados dentro de la cámara; un sensor de temperatura ambiente; las fuentes de alimentación de energía y el contenedor.

Además, el sistema MCT está formado por un *hardware* y un *software*. Como parte del desarrollo del *Hardware*, se caracterizó el comportamiento del pad térmico y los sensores de temperatura. Se probó la comunicación de datos con la OBC junto con la tarjeta de memoria μSDCard y se evaluó el consumo de energía del sistema en su conjunto. Esto último permitió definir los elementos de control eléctrico-electrónicos y el diseño de la fuente de alimentación de energía (Figura 3).

Para la operación adecuada del sistema se desarrolló el *software* correspondiente. Considerando la declaración de bibliotecas, la definición de parámetros de operación, la iniciación del reloj de tiempo real y de las interfaces, la adquisición y procesamiento de la información, el almacenamiento de datos y la operación continua del MCT, (Ver el diagrama de flujo de la figura 4).

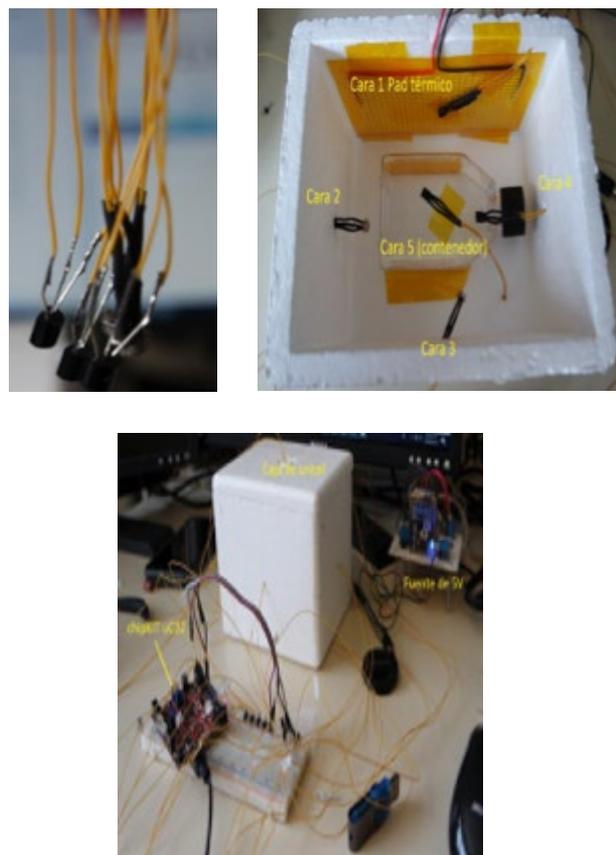


Figura 3. Elementos para el MCT

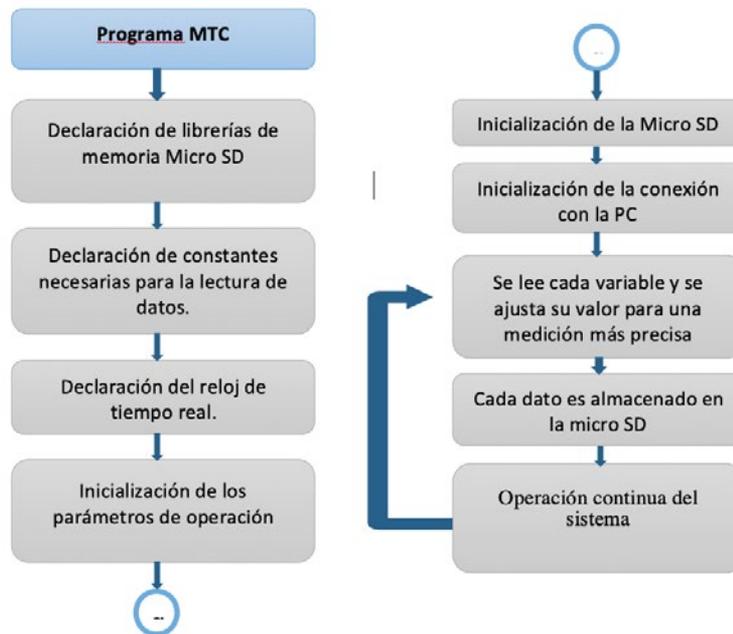


Figura 4. Diagrama de flujo de la operación del MCT

Después de realizar diversas pruebas modulares, diseñar y fabricar el circuito impreso correspondiente, y poner a punto la programación desarrollada, se integraron todos los elementos y se procedió a realizar pruebas de operación del sistema completo (Figura 5).

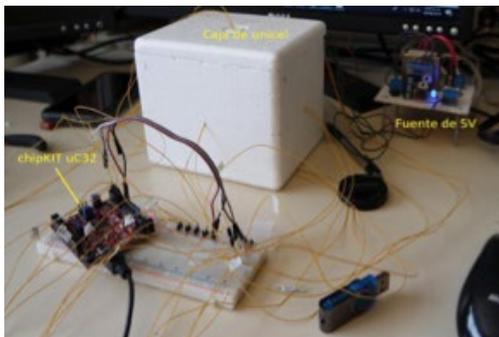


Figura 5. Pruebas al MCT

Con el fin de observar el comportamiento "natural" del sistema, se muestra en la figura 6, la manera en la que trabajan los sensores de temperatura sin considerar el control. Bajo estas condiciones en el interior de la cámara, la temperatura presenta un comportamiento homogéneo, en la tapa y en las caras 2 a 5, no así en la cara 1, que es donde está ubicado el *pad* térmico. Esto último resulta lógico, debido a que es el elemento calefactor. En esta prueba se comprobó que se requieren del orden de 15 minutos para tener una temperatura más o menos estable alrededor del contenedor de las muestras; lo que representa demasiado tiempo, ya que las muestras biológicas se pueden dañar.

Para optimizar el comportamiento del MCT se probaron diferentes esquemas de control de temperatura. El que nos dio los resultados deseados es el control proporcional, integral y derivativo (PID). En la figura 7 se muestra el sistema funcionando con los parámetros de control ya sintonizados. Con el PID observamos la estabilidad y rapidez de la respuesta del control, incluyendo la temperatura del *pad* térmico, con lo que se evita que las muestras biológicas se dañen.

COORDINACIÓN DE ELECTRÓNICA

Finalmente, después de una serie de pruebas diarias y semanales, ajustando los parámetros de sintonía, se logró poner el sistema a punto. Las pruebas finales se llevaron a cabo seis horas diarias durante una semana, lo que representa el doble de tiempo que tiene un vuelo estratosférico, con lo que se comprueba que el sistema es más robusto.

Resultados y conclusiones

- El equipo cumple con el objetivo solicitado: controlar la temperatura a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

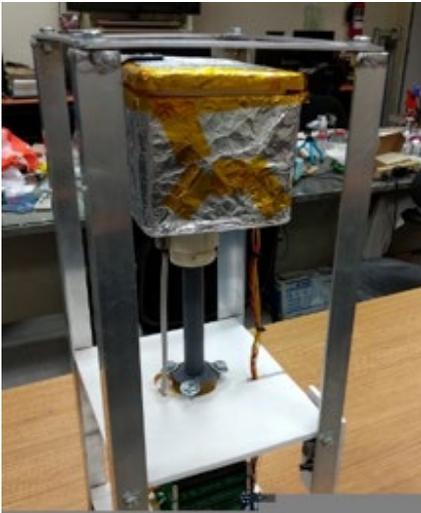


Figura 8. Plataforma de montaje del MTC

- Los resultados presentados se desarrollaron a temperatura ambiente en el laboratorio.
- Estamos en proceso de realizar las pruebas de termovaciación, en ambientes de temperatura controlada (temperatura ambiente y hasta menos 80°C) a una presión del orden de los milibares, condiciones similares a las del espacio.

Actualmente el sistema es completamente funcional y está integrado al CubeSat XIPE-1. Una vez que se desarrollen las pruebas necesarias al CubeSat XIPE-1, se procederá a realizar un vuelo estratosférico, para probar el sistema en condiciones reales de baja presión (microgravedad) y temperatura por debajo de los cero grados centígrados, ya que con estas condiciones se espera que haya mayor producción de células, lo que sería útil para continuar con la investigación.

En el desarrollo de este instrumento científico, para aplicaciones espaciales, colaboraron los Instituto de Ingeniería y el de Ciencias Aplicadas y Tecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México; la Facultad de Farmacia, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y el Centro de Desarrollo Aeroespacial del Instituto Politécnico Nacional. Este proyecto fue patrocinado por la Agencia Espacial Mexicana y el CONACYT, Proy: AEM-2015-1- 262872, denominado “Análisis de la expresión de interferón gamma humano, usando el sistema de células HEK293-Adenovirus, en ambientes de microgravedad”.

Agradecimientos

A la agencia Espacial Mexicana (AEM) y al CONACYT por el apoyo económico brindado a través del Fondo sectorial AEM-CONACYT. |