

Design Study for a Cellular Culture Bioreactor Coupled with a Magnetic Stimulation System

A. F. Restrepo, *Member*, IEEE, L. J. Martínez, C. R. Pinedo, E. Franco and H. Cadavid

Abstract— This article presents a design study performed to integrate a cellular culture bioreactor along with an external magnetic stimulation system, aimed at creating ideal environmental conditions that allow for cellular culture and cellular tissue growth to take place in three dimensions, under a sterile environment favorable for the development of bioorganic grafts which have been exposed to controlled electromagnetic fields. The different systems that have been designed and constructed are described along with their particular characteristics and all general considerations that were taken into account during the design process are presented, as well as the main variables that must be considered during implementation in order to guarantee constant and adequate function of the integrated systems, as well as reproducible results.

Keywords— bioreactor, magnetic stimulation, cell cultures, cellular proliferation, integration.

I. INTRODUCCIÓN

LOS PROTOCOLOS sobre métodos de cultivación celular permiten su proliferación adecuada y el mantenimiento de las células en ambientes *in vitro*, conservando al máximo sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas con el objetivo de preservar los mecanismos del tejido celular de origen [1]. Un ejemplo de un método de cultivación son los sistemas bioreactores, los cuales permiten mantener ciertas condiciones ambientales propicias para el organismo o sustancia química que se cultiva [2, 3]. Por otra parte, se han estudiado varios modelos de crecimiento celular donde se utiliza la estimulación electromagnética de extrema baja frecuencia para alterar la tasa de proliferación celular, incrementando la expresión celular de factores de crecimiento en diversos modelos de cultivo celular [4-6].

Algunas aplicaciones en las cuales se utiliza estimulación electromagnética pueden variar desde la reducción de tiempos de consolidación de fracturas [7], hasta la aceleración de proliferación de matrices endoteliales [8] para la implantación de injertos de piel. Por su parte, el uso de los bioreactores en ingeniería de tejidos tiene como objetivo crear las condiciones óptimas para el crecimiento del cultivo celular en un ambiente

tridimensional (3D) [9], similar al crecimiento que se presenta naturalmente, generando un cambio notable en las técnicas de cultivos tradicionales que se tenían hasta el momento [10].

Partiendo de estas características se plantea la posibilidad de integración de un bioreactor y un sistema de estimulación electromagnética externa con el fin de crear un ambiente estéril y favorable que permita el crecimiento y cultivo de células.

II. DESCRIPCIÓN DE LOS SISTEMAS

Los efectos a corto plazo (corrientes inducidas en el cuerpo y en objetos por los campos DC) de los campos electromagnéticos (CEM) sobre sistemas biológicos son efectos conocidos y comprobados [11]. Para ellos, las prácticas de ingeniería normalmente adoptadas y las recomendaciones de los límites científicamente fundamentados como los de la ICNIRP (Comisión Internacional de Protección contra la Radiación No Ionizante) [12], son más que suficientes para prevenir eventuales efectos en la salud. Sin embargo, algunos efectos producidos por la interacción con los CEM son: (i) comportamiento no lineal del flujo de corriente a través de las membranas [13]; (ii) actuación de la membrana como sólido poroso para campos magnéticos aplicados perpendicular a su superficie y como líquido viscoso, para campos aplicados en el plano [14, 15]; (iii) heterogeneidad de las membranas para un mismo campo perturbador; (iv) reacciones químicas que llegan a transmitir señales eléctricas y cambiar la conductividad.

Por otro lado, la ingeniería para el desarrollo de tejidos de mamíferos *in vitro* con fines terapéuticos ha demostrado ser un desafío de ingeniería muy importante [16, 17]. El proceso por el cual se busca producir tejidos viables ha dado como resultado varios tipos de configuraciones y modelos que buscan servir como solución, un ejemplo es el uso de bioreactores [18, 19]. Sin embargo, en algunas pocas se ha reportado crecimiento de tejido funcional [10]. La ingeniería de tejidos tiende a convertirse en un campo del conocimiento de mucha importancia para las terapias de remplazo de órganos, por lo tanto, los bioreactores deben ser desarrollados como una opción para generar la gran variedad de tipos de tejido deseado y mantener el crecimiento celular en tres dimensiones (3D) para grandes masas celulares.

A. Sistema de estimulación electromagnética

Los parámetros que se consideran en estas especificaciones hacen referencia al sistema de estimulación magnética, éste consiste básicamente de un sistema fuente donde se definen los valores de magnitud, frecuencia y forma de onda del campo magnético generado, y un sistema de irradiación donde

A. F. Restrepo, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia, andres.restrepo@correounivalle.edu.co

L. J. Martínez, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia, luis.j.martinez.g@gmail.com

C. R. Pinedo, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia, carlos.pinedo@correounivalle.edu.co

E. Franco, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia, edinson.franco@correounivalle.edu.co

H. Cadavid, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia, hector.cadavid@correounivalle.edu.co



Figura 2. Prototipo del sistema de estimulación magnética.

TABLA I.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL SISTEMA DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA.

DESCRIPCIÓN	VARIABLE
Corriente máxima	6,5 A
Rango de voltaje	± 70 V
Potencia	1000 W
Rango de frecuencias de trabajo	1 Hz – 100 Hz
Duración mínima del tren de pulsos	1 ms
Tipos de onda de estimulación	Senoidal
Tiempos de estimulación	De 1 hora a 1 semana

se define la geometría del elemento final de irradiación magnética y la ubicación del sistema biológico dentro del área de interés.

El sistema de estimulación magnética cuenta con una fuente de voltaje variable que permite inferir en la frecuencia e intensidad de la señal de estimulación y un par de bobinas tipo Helmholtz como elemento final de irradiación magnética. Este sistema cumple con las características eléctricas y físicas necesarias para soportar las especificaciones de corriente, voltaje y campo magnético de extrema baja frecuencia. Además, la fuente de alimentación del sistema cuenta con las características de regulación, disipación de potencia y protección necesarias para garantizar la generación de la señal de estimulación. En la Fig. 1 se muestra el prototipo del sistema de estimulación magnética y en la Tabla I se presentan las características generales del mismo.

1) *Sistema de control y generación de señal*: El sistema de estimulación magnética está construido por diferentes módulos que se muestran en el esquema de la Fig. 2. Una de las etapas de mayor importancia es la fuente de generación, la cual fue desarrollada en la Universidad del Valle [7] y cuenta con un hardware denominado “Tarjeta ESTIM-MAG versión 4” basado en microcontroladores ATmega.

El sistema cuenta con una plataforma de control utilizando microcontroladores ATmega en configuración maestro-esclavo. Por su parte, la generación de la señal senoidal se basa en una técnica conocida como Sintetizador Digital Directo (DDS por sus iniciales en inglés) que se fundamenta en el uso de la electrónica digital para la obtención de señales eléctricas analógicas. La implementación del algoritmo en el microcontrolador posibilita la generación de tales formas de

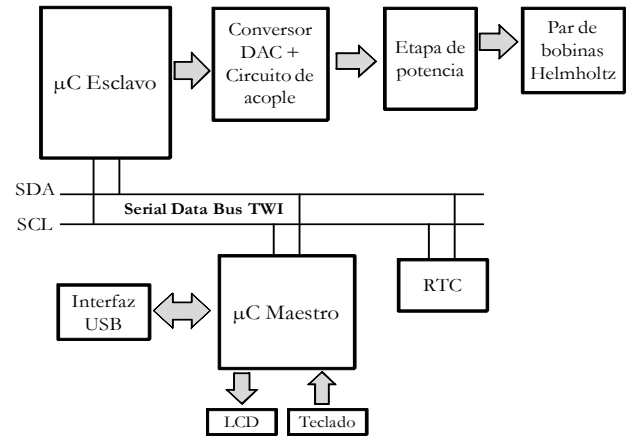


Figura 1. Esquema del sistema de estimulación magnética.

onda a partir de un hardware simple, transfiriendo la complejidad al desarrollo de la programación.

2) *Campo magnético uniforme*: El estudio del comportamiento del campo magnético generado por las bobinas Helmholtz se realiza mediante la ley de Biot-Savart (1), por medio de la cual se puede determinar el campo magnético creado por una distribución de corrientes dada. La configuración de bobinas Helmholtz consiste en un par de bobinas circulares o cuadradas ubicadas de forma paralela una a cada lado del área experimental a lo largo de un eje común y separadas a una distancia h . En el caso de las bobinas circulares, cada una está formada por un hilo conductor que recorre N vueltas en torno a un apoyo cilíndrico cuyo radio a coincide con la distancia h entre las bobinas ($h = a$). De esta manera, las bobinas están conectadas en serie y por ellas circula una corriente eléctrica de intensidad I . Como consecuencia, éstas generan un campo magnético que es prácticamente uniforme en el espacio comprendido entre ellas.

$$B = \nabla \times A = \nabla \times \frac{\mu_0 I}{4\pi} \int \frac{ds}{R} \quad (1)$$

Donde:

A : vector de potencial.

B : Inducción magnética.

μ_0 : Permeabilidad del espacio libre ($4\pi \cdot 10^{-7}$ H/m).

I : Corriente en la bobina (Ampere).

R : Distancia entre el punto P a un punto de referencia (metros).

ds : Segmento infinitesimal del circuito de corriente.

Por ejemplo, considerando el circuito de corriente de la Fig. 3, la expresión del campo magnético (B) en un punto del eje de simetría y a una distancia z con respecto a una de las bobinas viene dada por:

$$\vec{B} = \frac{\mu_0 a^2 I}{2(a^2 + z^2)^{3/2}} \hat{z} \quad (2)$$

Ahora, considerando el campo magnético en el eje de las bobinas se calcula por superposición de las contribuciones de cada bobina, las cuales se obtienen directamente relacionando

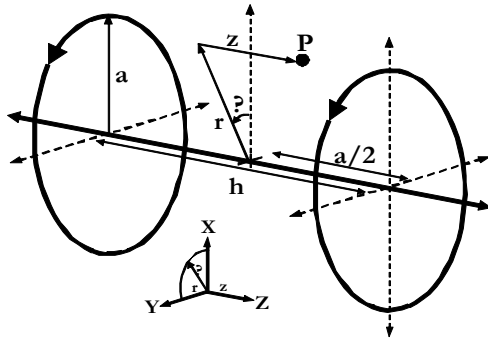


Figura 3. Configuración de bobinas Helmholtz.

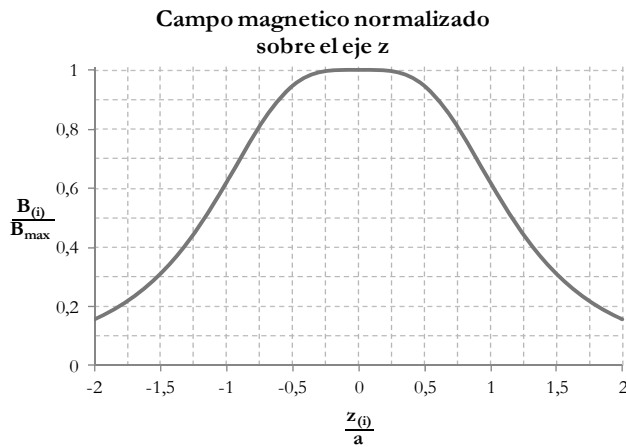


Figura 4. Distribución de campo magnético normalizado de las bobinas Helmholtz.

la ecuación (2) a la posición y dimensiones de cada una de ellas como se muestra en la ecuación (3).

$$\bar{B}(z) = \frac{\mu_0 N I a^2}{2} * \left[\frac{1}{\left(a^2 + \left(z + \frac{a}{2} \right)^2 \right)^{3/2}} + \frac{1}{\left(a^2 + \left(z - \frac{a}{2} \right)^2 \right)^{3/2}} \right] \hat{z} \quad (3)$$

Donde:

$a/2$: Distancia entre las bobinas y el centro de separación.

z : Distancia entre el centro de separación y el punto evaluado.

En términos generales el resultado de la distribución de campo magnético usando una configuración Helmholtz será homogéneo solo para un determinado volumen ubicado en el centro de separación del par de bobinas y sigue la distribución que se muestra en la Fig. 4, donde se observa la distribución de campo magnético normalizado ($B(0)/B_{max}$) en función de la distancia de separación normalizada ($z(0)/a$) [20].

B. Sistema Bioreactor

El sistema bioreactor tiene un diseño tipo Couette-Taylor el cual cuenta con dos cilindros co-axiales; el cilindro externo tiene una rotación constante por medio de un motor, mientras que el cilindro interno se mantiene estático y por él entra un

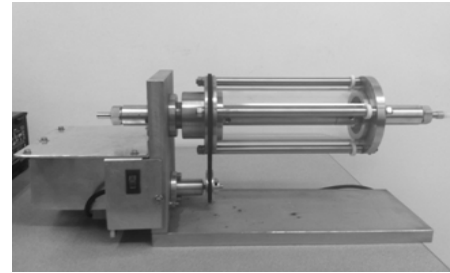


Figura 5. Prototipo del sistema bioreactor.

flujo de medio de crecimiento celular con los nutrientes necesarios para el crecimiento del tejido y salen los productos generados por la respiración celular. Este sistema cumple con las características eléctricas y físicas necesarias para soportar las condiciones de operación requeridas (funcionamiento continuo y esterilización). En la Fig. 5 se muestra el prototipo del sistema bioreactor.

El prototipo del sistema bioreactor fue desarrollado por el grupo de Investigación en Alta Tensión (GRALTA) de la Universidad del Valle [21]. Por razones de su futura comercialización no es posible profundizar en detalles de diseño, implementación y resultados debido a que fue firmada un acta de confidencialidad.

1) *Características del bioreactor:* El sistema bioreactor construido es de tipo tubular con flujo laminar en el cual se lleva a cabo un proceso anaeróbico homogéneo, cuenta con agitación mecánica y opera en modo continuo durante el intercambio de nutrientes. La razón por la cual se selecciona este tipo de bioreactor en comparación a las demás posibilidades tiene que ver con el hecho de que un bioreactor simple no tiene el constante intercambio de nutrientes necesario para alimentar la matriz celular como se requiere para un desarrollo de tejidos con suficiente densidad celular para ser usado experimental y clínicamente durante el tiempo necesario hasta alcanzar una densidad crítica. Además un bioreactor con movimiento giratorio cumple con las características necesarias para permitir crecimiento en tres dimensiones (3D). Sin embargo, un bioreactor con cargas mecánicas es más complejo [22] de lo requerido para esta metodología, pues no se necesita realizar una separación de fases.

El bioreactor se construyó con un material liviano de baja permeabilidad magnética para que no interfiriera con los campos magnéticos aplicados. Además, el área donde se ubica el material biológico (células) está cubierto por el cilindro externo de vidrio lo que garantiza idealmente la invariancia del campo magnético aplicado. Es importante tener en cuenta que la función del cilindro interno es básicamente de permitir el acceso de substratos tales como moléculas de señalización, factores de crecimiento, y nutrientes (oxígeno, glucosa, aminoácidos y proteínas) y la remoción de los productos metabólicos (CO_2 , lactato, y urea), pues esto es crítico para la supervivencia de la células.

El principio de funcionamiento del bioreactor tipo Couette-

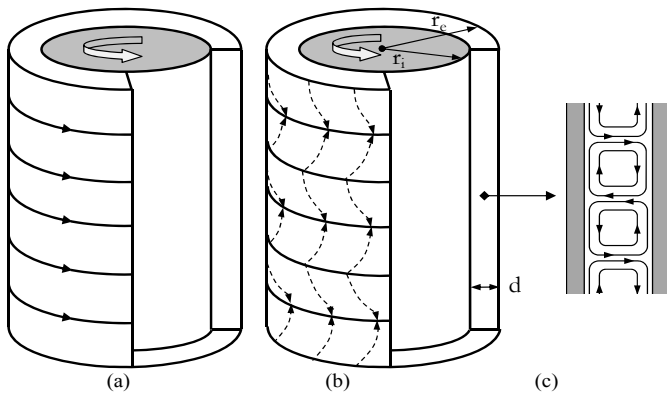


Figura 6. Patrón de flujo entre dos cilindros concéntricos. (a) Flujo circular de Couette. (b) Flujo vórtice de Taylor. (c) Celdas de vórtices producidos en el interior durante el flujo vórtice de Taylor.

Taylor se basa en la suspensión del cultivo celular durante el proceso de intercambio de nutrientes, esto se logra con el movimiento rotacional del dispositivo lo que genera condiciones de baja gravedad en el espacio anular entre los cilindros donde ocurre la reacción. El movimiento del fluido en este espacio fue descrito en el siglo XIX y encontró su primera aplicación como viscosímetro en 1890 [23]. Este dispositivo cuenta con un cilindro exterior estático y un cilindro interior con rotación lenta, donde se genera un flujo estable puramente acimutal y el gradiente de velocidad en dirección radial (velocidad de corte) es igual a la derivada de la velocidad angular con respecto a la dirección radial. Cualquier perturbación de la velocidad es amortiguada por la viscosidad del fluido, produciendo un flujo que se denomina flujo circular de Couette como se muestra en la Fig. 6a. Cabe señalar que el mismo tipo de flujo se produce cuando el cilindro exterior está girando y el interior está en reposo [24]. Al incrementar la velocidad de rotación del cilindro interno, se puede llegar a condiciones en que las fuerzas viscosas (proporcionales al gradiente de velocidad) no son capaces de compensar la fuerza centrífuga que actúa sobre los elementos de fluido (proporcional al cuadrado de la velocidad), produciendo entonces un flujo secundario. Este patrón de flujo caracterizado por la presencia de vórtices con simetría axial se conoce como flujo vórtice de Taylor [25], y se superpone al flujo de Couette como se ilustra en la Fig. 6b y Fig. 6c.

En cuanto a dispositivos de flujo, tales como tuberías o tanques agitados, el patrón de flujo observado se puede relacionar con el número adimensional de Reynolds (Re), relacionando la fuerza inercial con la fuerza viscosa [26] como se presenta en la siguiente ecuación:

$$Re = \frac{r_i \omega_i d}{\nu} \quad (4)$$

Donde:

- ω_i : Velocidad angular del cilindro interno.
- r_i : Radio del cilindro interno.
- d : Espacio anular entre los cilindros $d = (r_e - r_i)$
- ν : Viscosidad cinemática.

Por su parte, para relacionar las fuerzas centrífugas (fuerzas de inercia debidas a la rotación de un fluido alrededor de un eje vertical) con las fuerzas viscosas, se utiliza otro grupo adimensional llamado número de Taylor (Ta) y se define por medio de la siguiente ecuación:

$$Ta = \frac{\omega_i^2 r_i d^3}{\nu^2} \quad (5)$$

En términos generales cuando el número Taylor es menor que un valor crítico (Ta_c) alrededor de 1700, el flujo en el sistema es puramente tangencial y es considerado como flujo de Couette. Por otra parte, cuando el número Taylor es superior a este valor crítico se presenta una serie de vórtices con simetría axial que se denominan vórtices de Taylor [27].

2) *Revisión de variables:* El diseño de bioreactores es una tarea de ingeniería bastante compleja, teniendo en cuenta que los microorganismos o células son capaces de realizar su función deseada con gran eficiencia bajo condiciones óptimas. Las condiciones ambientales de un bioreactor tales como flujo de gases (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono, etc.), la transferencia de masas (nutrientes, aminoácidos y factores de crecimiento en el suero disuelto en el medio de crecimiento), temperatura, pH, oxígeno disuelto, viscosidad y velocidad de agitación o circulación, deben ser cuidadosamente monitoreadas y controladas.

Dado que los bioreactores utilizan cultivos vivos, se ven afectados por muchas variables en su medio ambiente. Específicamente para el bioreactor bajo estudio se definen las siguientes variables que son prioridad en el monitoreo y control con el propósito de garantizar un alto desempeño en los procedimientos de cultivo celular:

- Dimensiones del área donde se ubica el cultivo celular.
- Viscosidad de los fluidos.
- Velocidad angular del cilindro.
- Concentración de gases (oxígeno y dióxido de carbono).
- Tasa de transferencia celular de nutrientes y productos.

Estas variables son clave para asegurar condiciones controladas de operación al igual que una reproducibilidad verificable. Además, permite determinar los efectos de las variables que se prevén medir durante la experimentación. Sin embargo, se debe tener en cuenta que no todas las variables medidas se pueden obtener instantáneamente y deben ser medidas fuera de línea [28].

III. CONSIDERACIONES PARA LA INTEGRACIÓN DE LOS SISTEMAS

El objetivo principal es lograr la operación de un bioreactor para el cultivo de tejidos celulares incluido en un sistema de estimulación electromagnética externa con el fin de crear un

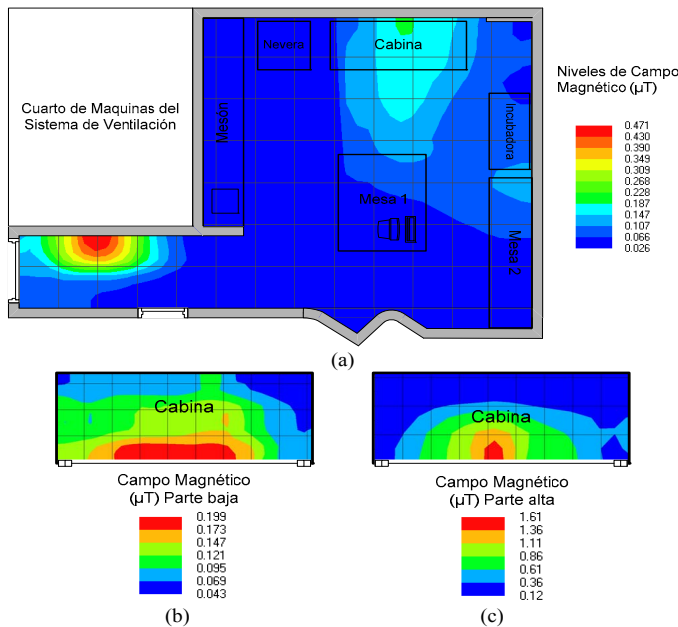


Figura 8. Mapeo de campo magnético. (a) Laboratorio de Farmacología. (b) Parte baja del interior de la cabina. (c) Parte alta del interior de la cabina.

ambiente estéril y favorable que permita el crecimiento y cultivo de células.

El bioreactor tiene la función de permitir el crecimiento de una matriz celular [29, 30] que va a ser irradiada por campo magnético desde la parte externa del bioreactor. Los aspectos más importantes para el desarrollo y uso del bioreactor son: (i) nutrición de las células en la matriz; (ii) control sobre condiciones ambientales, mantenimiento de cultivos a largo plazo; (iii) evaluación y control de parámetros biológicos.

Por otra parte, el rango de las señales electromagnéticas que son aplicadas corresponde a diseños experimentales de exposición de células que han sido reportados en publicaciones como posibles influyentes en las tasas de crecimiento, sea positiva o negativamente [5]. Las señales son de extrema baja frecuencia pues estas se postulan como las que más directamente influyen en el metabolismo celular.

Una vez construido el bioreactor se ubica con el equipo de estimulación en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad del Valle, donde se llevan a cabo los experimentos definitivos debido a que este laboratorio cuenta con un cuarto limpio y con los suficientes controles ambientales para este tipo de experimentos de cultivo de tejido celular.

1) Condiciones de campo magnético: Con el objetivo de garantizar las condiciones de campo magnético adecuadas para la integración de los sistemas y posterior experimentación, se realiza la medición de los niveles de campo magnético en el laboratorio donde se realizan las pruebas parciales y definitivas de los sistemas involucrados con la finalidad de descartar posibles interferencias de campos magnéticos externos durante la puesta en marcha de los sistemas integrados.

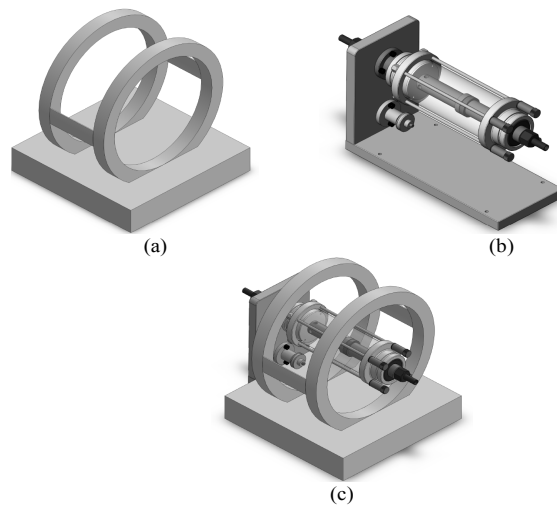


Figura 7. Modelos computacionales de los sistemas. (a) Sistema de estimulación magnética (bobinas Helmholtz). (b) Sistema bioreactor. (c) Integración de los sistemas.

Las mediciones de campo magnético se llevaron a cabo en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad del Valle (San Fernando), siguiendo las recomendaciones del estándar IEEE 644-1994 [31] y el procedimiento interno del Laboratorio de Alta Tensión de la Universidad del Valle.

Para medir la densidad de flujo magnético se utilizó el medidor EMDEX II de la firma EnerTech Consultants propiedad del Laboratorio de Alta Tensión. Los resultados de las mediciones de campo magnético en el laboratorio se presentan en el mapa de contorno de la Fig. 7a, mientras que las mediciones realizadas en la parte baja y alta del interior de la cabina se presentan en los mapas de contorno de la Fig. 7b y Fig. 7c respectivamente.

De los resultados se obtiene que la magnitud máxima de campo magnético alrededor del sistema de estimulación electromagnética en el Laboratorio de Farmacología es menor a $1 \mu T$. Por su parte, el campo magnético máximo en el interior de la cabina no supera el valor de $1.61 \mu T$. Estas pequeñas magnitudes pueden ser tolerables para la experimentación con los sistemas integrados.

2) Integración de los sistemas: En las Figs. 8a y 8b se presentan los modelos computacionales de los sistemas de estimulación electromagnética (bobinas Helmholtz) y bioreactor respectivamente, desarrollados en base a la geometría (medidas) real de los sistemas y como parte de la validación sobre la integración basada en modelos computacionales.

Para los sistemas reales se deben considerar la adecuación de los elementos auxiliares como el generador de señales que hace parte del sistema de estimulación electromagnética y los equipos auxiliares del bioreactor como el motor que genera el movimiento del cilindro exterior, tanques de O_2 y CO_2 , medidor de temperatura, sistema de circulación de fluidos (conectores,

mangueras), etc.

Para la integración de los sistemas se plantea la ubicación del bioreactor en el centro de las bobinas Helmholtz como se muestra en la Fig. 8c. Los detalles en el diseño del experimento no pueden ser revelados por razones de confidencialidad. Sin embargo, actualmente se realizan pruebas parciales de los sistemas con el objetivo de garantizar un correcto funcionamiento en la etapa de experimentación con los sistemas biológicos.

IV. CONCLUSIONES

El principio de funcionamiento del sistema de estimulación electromagnética se basa en la implementación de un par de bobinas Helmholtz para la generación de campo magnético uniforme de extrema baja frecuencia. Por su parte, el sistema bioreactor tipo Couette-Taylor se basa en la suspensión del cultivo celular por medio del movimiento rotacional del dispositivo, generando condiciones de baja gravedad en el espacio anular entre los cilindros donde ocurre la reacción. Ambos sistemas influyen directamente en el metabolismo celular, por lo tanto, la integración de estos sistemas permite el crecimiento celular en tres dimensiones (3D).

La verificación de los niveles de campo magnético en los sitios donde se realizan las pruebas parciales o definitivas permite descartar posibles interferencias de campos magnéticos externos durante la puesta en marcha de los sistemas. La magnitud máxima de campo magnético medido se ubicó en el interior de la cabina del Laboratorio de Farmacología con valores alrededor de $1.61 \mu\text{T}$. Estas pequeñas magnitudes pueden ser tolerables para la experimentación e integración de los sistemas.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se realizó gracias a la financiación del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias) a través del Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores "Virginia Gutiérrez de Pineda" y la Universidad del Valle a través de la Vicerrectoría de Investigaciones.

REFERENCIAS

- [1] U. Meyer, H. D. Szulcowski, K. Moller, H. Heide, and D. B. Jones, "Attachment kinetics and differentiation of osteoblasts on different biomaterials," *Cells Mater*, vol. 3, pp. 129-140, 1993.
- [2] Y. Martin and P. Vermette, "Bioreactors for tissue mass culture: Design, characterization, and recent advances," *Biomaterials*, vol. 26, pp. 7481-7503, 2005.
- [3] I. Martin, D. Wendt, and M. Heberer, "The role of bioreactors in tissue engineering," *Trends in Biotechnology*, vol. 22, pp. 80-86, 2004.
- [4] C. F. Martino, H. Perea, U. Hopfner, V. L. Ferguson, and E. Wintermantel, "Effects of Weak Static Magnetic Fields on Endothelial Cells," *Bioelectromagnetics*, vol. 31, pp. 296-301, May 2010.
- [5] C. F. Martino, L. Portelli, K. McCabe, M. Hernandez, and F. Barnes, "Reduction of the Earth's Magnetic Field Inhibits Growth Rates of Model Cancer Cell Lines," *Bioelectromagnetics*, vol. 31, pp. 649-655, Dec. 2010.
- [6] F. Focke, D. Schuermann, N. Kuster, and P. Schär, "DNA fragmentation in human fibroblasts under extremely low frequency electromagnetic field exposure," *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 683, pp. 74-83, Jan. 2010.
- [7] M. E. Moncada, C. Sarmiento, C. Martinez, and A. Martinez, "Magnetic stimulation for fracture consolidation - Clinical study," in *Engineering in*

Medicine and Biology Society (EMBC) 2011 Annual International Conference of the IEEE, Boston, Massachusetts USA, 2011, pp. 1141-1144.

- [8] F. Li, K.-w. Xu, H.-c. Wang, W.-y. Guo, Y. Han, B. Liu, and R.-q. Zhang, "Effects of static magnetic field on human umbilical vessel endothelial cell," *Journal of Medical Colleges of PLA*, vol. 22, pp. 106-110, 2007.
- [9] J. F. Alvarez Barreto, "Regeneración ósea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción," *RET Revista de Estudios Transdisciplinarios*, vol. 1, pp. 98-109, Julio - Diciembre 2009.
- [10] Administration Space and Sciences Microgravity, "Bioreactor expands health research: NASA device gives new dimension to cell science," National Aeronautics and Space Administration, 1998.
- [11] World Health Organization, *Extremely low frequency fields*. Switzerland: WHO Press, 2007.
- [12] International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, "Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 Hz to 100 kHz)," *Health Physics*, vol. 99, pp. 818-836, 2010.
- [13] F. S. Barnes and C. L. Hu, "Nonlinear interactions of electromagnetic waves with the biological materials," in *Nonlinear Electromagnetics*: Academic Press, 1980, pp. 391-426.
- [14] S. J. Singer and G. L. Nicolson, "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes," *Science*, pp. 720-731, 1972.
- [15] M. Poo, "In situ electrophoresis or membrane components," in *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, vol. 10: Academic Press, 1981, pp. 245-276.
- [16] F. M. Braye, A. Stefani, E. Venet, D. Pieptu, E. Tissot, and O. Damour, "Grafting of large pieces of human reconstructed skin in a porcine model," *British Journal of Plastic Surgery*, vol. 54, pp. 532-538, 2001.
- [17] D. F. MacFarlane, "Current Techniques in Skin Grafting," *Advances in Dermatology*, vol. 22, pp. 125-138, 2006.
- [18] S. Álvarez Teijeiro, "Biorreactores: Tipos, Aplicaciones y Formas de Operación," in *Technology of Bioprocesses and Reactors (TBR) - Universidad de Oviedo*, 2010.
- [19] R. J. Blaszcak, U. S. Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards, Information Transfer and Program Integration Division, Information Transfer Group, and Clean Air Technology Center, *Uso de biorreactores para controlar la contaminación del aire*. North Carolina, United States, 2004.
- [20] J. I. Torres O., B. Cruz Muñoz, and W. Marin Ramírez, "Caracterización y calibración automática de bobinas de Helmholtz en DC," *Scientia et Technica*, vol. XVIII, pp. 535-539, Mayo 2007.
- [21] C. Pinedo, H. Cadavid, O. Gutiérrez, W. Criollo, A. Restrepo, and L. Martinez, "Desarrollo de un Bioreactor con Estimulación Magnética y Validación en un Modelo de Implante de Piel Artificial," Proyecto de convocatoria interna - Universidad del Valle, Santiago de Cali - Colombia, 2011.
- [22] U. Meyer and H. P. Wiesmann, "Bioreactors and Cell Stimulation," in *Bone and Cartilage Engineering*, H. Gabriele Shröder, Ed.: Springer Berlin Heidelberg, 2006, pp. 149-161.
- [23] M. Couette, "Études sur le Frottement des Liquides," *Annales de Chimie et de Physique*, vol. 6, pp. 433-510, 1980.
- [24] T. Tazeglock, *A Novel Lobed Taylor-Couette Bioreactor for the Cultivation of Shear Sensitive Cells and Tissues*: ETH, 2008.
- [25] G. I. Taylor, "Stability of a Viscous Liquid Contained between Two Rotating Cylinders," *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character*, vol. 223, pp. 289-343, 1923.
- [26] S. J. Curran and R. A. Black, "Oxygen transport and cell viability in an annular flow bioreactor: Comparison of laminar Couette and Taylor-vortex flow regimes," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 89, pp. 766-774, 2005.
- [27] B. Haut, H. Ben Amor, L. Coulon, A. Jacquet, and V. Halluin, "Hydrodynamics and mass transfer in a Couette-Taylor bioreactor for the culture of animal cells," *Chemical Engineering Science*, vol. 58, pp. 777-784, 2003.
- [28] A. C. Rodríguez A., A. I. Cabrera L., and J. I. Valencia F., "Diseño y construcción de los instrumentos de medición para un biorreactor prototipo," *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, vol. 24, pp. 55-70, Marzo 2003.
- [29] L. G. Griffith and G. Naughton, "Tissue Engineering--Current Challenges and Expanding Opportunities," *Science*, vol. 295, pp. 1009-1014, Feb. 2002.

- [30] J. Malda, D. E. Martens, J. Tramper, C. A. van Blitterswijk, and J. Riesle, "Cartilage Tissue Engineering: Controversy in the Effect of Oxygen," in *Critical Reviews in Biotechnology*. vol. 23: Taylor & Francis Ltd, 2003, pp. 175-194.
- [31] The Institute of Electrical and Electronics Engineers, "IEEE Standard Procedures for Measurement of Power Frequency Electric and Magnetic Fields From AC Power Lines - IEEE Std 644-1994," New York - United States: IEEE Standards Board, 1995, p. 31.



Andrés F. Restrepo received the Engineering degree in Electronic Engineering from Universidad del Valle, Cali, Colombia, in 2010, and is a Master's student in Engineering with emphasis in Automatic in the same institution. His current research interests are the applications of magnetic fields on biological systems, specifically the generation and control of uniform magnetic field with geomagnetic field compensation.



Luis J. Martinez received his B.S.E. degree in Biomedical Engineering from the University of Iowa, Iowa City, United States, in 2005, and is currently a Ph.D. candidate in Electrical Engineering specializing in Biological Analysis and Applications of Electromagnetic Fields at the Universidad del Valle in Cali, Colombia. His current research interests lie in bioelectromagnetics, the use of electromagnetic fields to probe biological function and develop diagnostics and therapeutic instruments.



Carlos R. Pinedo J. received the Engineering degree in Electrical Engineering from Universidad del Valle, Cali, Colombia, in 1983, and the Master in Automatic, in 1998. He is a Titular Professor of Electrical and Electronic Engineering at Universidad del Valle since 1992. His current research interest are applications of real time systems, biomedical equipment design, Petri nets techniques to modeling, and impact of electromagnetic fields on human health.



Edinson Franco received the Engineering degree in Electrical Engineering, the Master degree in Automatic and the Engineering Doctor degree from Universidad del Valle, Cali, Colombia, in 1991, 1994 and 2007, respectively. He is working as full time professor in the same University, where he is Director and professor of the Postgraduate Program on Electrical and Electronic. His current research interest is on industrial control applications and modeling to control applications.



Hector Cadavid Ramirez received his B.S.E., M.S.E., and Ph.D. degrees in Electromechanical Engineering from the Moscow Power Engineering Institute, in Moscow, Russia, in 1983, 1985 and 1996, respectively. His Master's work was in Triphasic Transformer design and his Ph.D. research was held in Distribution Transformers and their short circuit responses in magnetic fields. His current research interests lie in electromagnetic field simulation and modeling, as well as Dynamic Transformer analysis and behavior.