



**Desarrollo de hidrogeles tubulares de polivinil-alcohol (PVA) con recubrimiento de PVA
producido por electrohilado para aplicaciones vasculares**

Edison Sebastián Muñoz Rodríguez

Trabajo de investigación para optar al título de Bioingeniero

Asesoras:

Claudia Patricia Ossa Orozco, Doctor (PhD) en Ingeniería Metalúrgica y de Materiales

Liliana María Arroyave Muñoz, Magíster (MSc) en Ingeniería de Materiales

Universidad de Antioquia

Facultad de Ingeniería

Programa de Bioingeniería

Medellín

2022

Cita	Muñoz Rodríguez [1]
Referencia Estilo IEEE (2020)	[1] E. S. Muñoz Rodríguez, “Desarrollo de hidrogeles tubulares de polivinil-alcohol (PVA) con recubrimiento de PVA producido por electrohilado para aplicaciones vasculares”, Trabajo de grado profesional, Bioingeniería, Universidad de Antioquia, Medellín, Antioquia, Colombia, 2022.



Grupo de Investigación en Biomateriales.

Centro de Investigación Ambientales y de Ingeniería (CIA).



Centro de Documentación Ingeniería (CENDOI)

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes

Decano Jesús Francisco Vargas Bonilla.

Coordinador de Programa: John Fredy Ochoa Gómez.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia, mi padre, mi madre y mi hermano, que siempre estuvieron acompañándome a pesar de la distancia física, y todo el hecho de realizar mi proyecto y mis estudios fuera del núcleo familiar, apoyándome, y motivándome para mantener mi fe y positivismo y así seguir adelante y completar esta etapa en mi vida académica.

Agradecimientos

Agradezco a mis profesoras Claudia Ossa Orozco y Liliana Arroyave Muñoz por la oportunidad y apoyo en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Agradezco a todo el grupo de BIOMAT por permitirme desarrollar este proyecto y por el aprendizaje adquirido.

Agradezco a el grupo de Biología de Sistemas de la Universidad Pontificia Bolivariana, en cabeza de la Dra. Lina Marcela Hoyos y el Dr. Jesús Carlos Cornelio por permitirme desarrollar la etapa de electrohilado en sus laboratorios

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO.....	4
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMEN.....	10
ABSTRACT	11
I. INTRODUCCIÓN	12
II. OBJETIVOS	14
A. Objetivo general	14
B. Objetivos específicos	14
III. MARCO TEÓRICO	15
A. Enfermedades vasculares	15
B. Tratamiento.....	17
C. Implantes de PVA.....	18
D. Electrohilado	19
IV. METODOLOGÍA	22
A. Solución de PVA	22
B. Congelado-Descongelado.....	23
C. Electrohilado.....	24
D. Muestra biológica de origen porcino.....	27
E. Evaluación de propiedades	27
1) Ensayos morfológicos:	28
2) Ensayo de tracción:.....	29
3) Ensayo de citotoxicidad:.....	30
V. RESULTADOS	32

A. Solución de PVA.....	32
B. Hidrogeles de PVA.....	32
C. Electrohilado	34
D. Muestra biológica.....	36
E. Evaluación de propiedades	39
1) Morfología:	39
a) SEM:	39
b) Ensayo de perfilometría:	41
2) Tracción:	43
3) Citotoxicidad:	45
VI. DISCUSIÓN	49
A. Solución de PVA	49
B. Hidrogeles de PVA.....	50
C. Electrohilado.....	50
D. Muestra biológica	51
E. SEM	53
F. Rugosidad.....	58
G. Tracción.....	59
H. Citotoxicidad.	60
I. Análisis general.....	60
VII. CONCLUSIONES	65
VIII. RECOMENDACIONES	67
REFERENCIAS	68

LISTA DE TABLAS

TABLA I. PARÁMETROS DE ELECTROHILADO.....	26
TABLA II. PARÁMETROS CONSTANTES.....	26
TABLA III. SOLUCIÓN USADA EN ELECTROHILADO.....	34
TABLA IV PROMEDIO PROPIEDADES MECÁNICAS AORTAS.....	38
TABLA V RUGOSIDAD CUALITATIVA SEGÚN IMÁGENES SEM.....	40
TABLA VI RESULTADOS DE MORFOLOGÍA ANALIZADOS CON IMAGEJ	41
TABLA VII RUGOSIDAD	43
TABLA VIII RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 1.....	45
TABLA IX DESVIACIÓN ESTANDAR DE RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 1.....	45
TABLA X RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 2.....	45
TABLA XI DESVIACIÓN ESTANDAR DE RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 2.....	45
TABLA XII RESULTADOS ENSAYO DE CITOTOXICIDAD	46
TABLA XIII PROPIEDADES MECÁNICAS VASOS SANGUINEOS HUMANOS Y BIOPOLÍMEROS [34].....	61
TABLA XIV MEJORES RESULTADOS SEGUN MUESTRAS	62

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Mayores causas de mortalidad a nivel mundial [1].	16
Fig. 2. Mortalidad por cada 100.000 habitantes en Colombia [8].	16
Fig. 3. Principales causas de muerte en hombres en Colombia [9].	17
Fig. 4. Principales causas de muerte de mujeres en Colombia[9].	17
Fig. 5. Proceso de electrohilado. Modificado de [19].	20
Fig. 6. Formación del cono de Taylor[20].	21
Fig. 7. Aplicaciones del electrohilado [20].	21
Fig. 8. Montaje preparación solución de PVA.	22
Fig. 9. Moldes tubos de PVA.	24
Fig. 10. Esquema del equipo de electrohilado.	25
Fig. 11. Equipo de electrohilado. Cortesía Laboratorio de Electrospinning, Grupo de Investigación en Biología de Sistemas. Universidad Pontificia Bolivariana.	25
Fig. 12. Esquema de la muestra electrohilada.	27
Fig. 13. Procesamiento de imagen realizado por ImageJ A: Inversión de colores entre blanco y negro. B: Cambio de color negro a color rojo. C: Conteo de áreas.	28
Fig. 14. Ensayo de rugosidad.	29
Fig. 15. Hidrogeles de PVA en molde.	33
Fig. 16. Hidrogeles almacenados en tubos Falcon.	34
Fig. 17. Electrohilado en proceso.	35
Fig. 18. Hidrogeles almacenados y marcados en bolsas selladas.	36
Fig. 19. Aortas porcinas recién obtenidas.	37
Fig. 20. Aortas porcinas limpias.	37
Fig. 21. Corte transversal de aorta porcina en la maquina universal.	38
Fig. 22. Gráficos Esfuerzo-Deformación para aortas, superiores de cortes trasversales, inferiores de cortes longitudinales.	39
Fig. 23. Muestras bajo SEM. A: Muestra control a x500. B: Muestra A a x1000. C: Muestra F a x2000. D: Muestra K a x5000. E: Muestra L a x8000. F: Muestra Ñ a x2000.	40
Fig. 24. Resultados ensayo de rugosidad para muestra control.	42

Fig. 25. Gráfica Esfuerzo-Deformación A: Muestra control 2. B: Muestra A1. C: Muestra F2. D: Muestra K2. E: Muestra L3 F: Muestra Ñ2.	44
Fig. 26. Gráfico de barras resultados de citotoxicidad 1.	47
Fig. 27. Gráfico de barras resultados de citotoxicidad 2.	47
Fig. 28. Coloración final ensayo de citotoxicidad, en el orden: C, G, F, M y N.	48
Fig. 29. Solución de PVA en tubo Falcon.	49
Fig. 30. Acumulación de PVA en la punta de la jeringa del equipo de electrohilado.	51
Fig. 31. Cortes de aortas A: Corte transversal anterior muestra 6. B: Corte transversal posterior muestra 6. C: Corte transversal superior muestra 9.	52
Fig. 32. Esquema estructura pared aorta. Modificado de [25]	53
Fig. 33. Muestra E con baja rugosidad.	54
Fig. 34. Muestra I sin presencia de fibras.	56
Fig. 35. Muestra F altamente porosa.	56
Fig. 36. Muestra Ñ con mayor porcentaje de espacio entre fibras.	57
Fig. 37. Muestra M con posibles partículas de Erucamida.	58

SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

PVA	Polivinil Alcohol
kDa	Kilo Dalton
p/v	Peso – Volumen
ePTFE	Politetrafluoroetileno expandido
PLLA	Ácido poliláctico
OMS	Organización Mundial de la Salud
ECV	Enfermedad Cardio Vascular
ACV	Accidente Cerebro Vascular
DANE	Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
C/D	Congelado y Descongelado
Ra	Rugosidad media aritmética
mm	Milímetro
µm	Micrómetro
nm	Nanómetro
mL	Mililitro
µL	Microlitro
Pa	Pascales
S	Desviación estándar
E	Módulo de Young

RESUMEN

Debido a que las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en Colombia y en el mundo, se ha buscado prevenirlas y librarlas, evitando arriesgar la integridad del paciente, por ello se han desarrollado técnicas, y/o tratamientos, donde el más eficiente e invasivo es una intervención quirúrgica donde utiliza un implante cardiovascular para cambiar la arteria causante de la enfermedad por un biomaterial, en este caso particular se utilizó el polivinil alcohol (PVA) como biomaterial, este debe cumplir con ciertas propiedades para asegurar su biocompatibilidad, y satisfacer las funciones de una arteria real. Para ello el PVA pasó por dos procesos de reticulación, que fueron congelación y descongelación (C/D) y el electrohilado, se modificaron los parámetros del proceso a saber, solución usada en electrohilado (PVA y PVA-Gel(Gelatina)), concentración utilizada (10 y 12,5 % p/v), voltaje aplicado (15 y 20 kV) y flujo de extrusión (0.1 y 1 mL/h), sus demás parámetros permanecieron constantes, posteriormente las muestras obtenidas fueron visualizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM) y por ensayo de perfilometría, se evaluaron sus propiedades mecánicas con el ensayo de tracción y su citotoxicidad en un ensayo de viabilidad celular con células L929. Usando de referente muestras biológicas se compararon los resultados y se determinó el nivel de cumplimiento de las propiedades del biomaterial con respecto a las de la muestra biológica. De los resultados obtenidos, las muestras realizadas por el grupo de parámetros B fueron quienes satisficieron la mayor cantidad de propiedades, acompañado del grupo de parámetros F, G, H, K, M y N.

Palabras clave —PVA, Polivinil Alcohol, PVA-Gel, Hidrogel, Electrohilado, Congelado y descongelado, Arterias, Aortas, Tracción, Rugosidad, SEM, Propiedades mecánicas, Citotoxicidad

ABSTRACT

Due to the fact that cardiovascular diseases are the main cause of death in Colombia and in the world, efforts have been made to prevent and get rid of them, avoiding risking the integrity of the patient, for this reason, techniques and/or treatments have been developed, where the most efficient and Invasive is a surgical intervention where a cardiovascular implant is used to change the artery causing the disease for a biomaterial, in this particular case polyvinyl alcohol (PVA) was used as a biomaterial, it must meet certain properties to ensure its biocompatibility, and satisfy the functions of a real artery. For this, the PVA went through two cross-linking processes, which were freezing and thawing (C/D) and electrospinning, the process parameters were modified, namely, the solution used in electrospinning (PVA and PVA-Gel(Gelatin)), the concentration used (10 and 12,5% w/v), applied voltage (15 and 20 kV) and extrusion flow (0.1 and 1 mL/h), its other parameters remained constant, later the samples obtained were visualized by scanning electron microscopy (SEM) and by profilometry assay, its mechanical properties were evaluated with the traction assay and its cytotoxicity in a cell viability assay with L929 cells. Using biological samples as a reference, the results were compared and the level of compliance of the biomaterial properties with respect to those of the biological sample was determined. Of the results obtained, the samples made by the group of parameters B were the ones that satisfied the greatest number of properties, accompanied by the group of parameters F, G, H, K, M, and N.

Keywords — PVA, Poly (vinyl alcohol), PVA-Gel, hydrogels, electrospinning, freeze-thawing (F-T), arteries, aorta, traction, rugosity, SEM, Mechanical Properties, cytotoxicity.

I. INTRODUCCIÓN

Según información de la Organización Mundial de la Salud (OMS) la principal causa de muerte a nivel mundial ha sido la cardiopatía isquémica, donde entre los años 2000 y 2019 ha pasado de más de 2 millones a 8,9 millones de defunciones, siendo la responsable del 16 % del total de muertes en el mundo[1]; ocasionada por una arteriosclerosis de las arterias coronarias, lenta acumulación de colágeno, linfocitos y lípidos en las arterias, que desencadenan una estenosis arterial (estrechamiento de la arteria) generando así un desbalance entre el oxígeno requerido por el tejido cardíaco y el oxígeno que pueden entregar las arterias coronarias lo cual puede terminar en un infarto cardíaco y muerte súbita [2].

El Ministerio de Salud de Colombia, en el año 2014, lanzó una alerta sobre el alto número de pacientes diagnosticados con alguna enfermedad cardiovascular (ECV), comprometiendo la vida del paciente, según la OMS, la tasa de mortandad de Colombia por cada 100 mil habitantes con enfermedad cardiovascular (ECV) es de 166,7 para mujeres y 205,9 para hombres [3], de acuerdo con el DANE, las enfermedades isquémicas de corazón encabezan la causa de muerte en hombres para lo corrido del 2022, con el 17,7 % del total de casos de defunciones, las ECV también ocupan el primer lugar de las defunciones femeninas ocurridas en el país con un 18,1 % [4]. Para dar solución a estas enfermedades que comprometen en gran medida la integridad y la vida del paciente, se tienen tratamientos para preservar la salud de quien sufre este tipo de dolencias, como la revascularización de las arterias, esta técnica consiste en reemplazar la zona obstruida por un injerto vascular, obtenido normalmente de una vena o arteria del paciente, hecho que causa otro trauma [5]. Para superar este inconveniente se plantea el uso de implantes vasculares artificiales que cumplan con requerimientos en sus propiedades mecánicas, de biocompatibilidad y de biodegradación; un biomaterial que puede ser capaz de utilizarse como implante vascular artificial es el hidrogel de polivinil alcohol (PVA), ya que debido a sus buenas propiedades es un biomaterial altamente usado en ingeniería de tejidos teniendo así diferentes aplicaciones en él área; para el caso de implante vascular adoptará una forma tubular [6].

Los tubos de PVA por su cuenta presentan superficies lisas, sin embargo, para su uso como implante vascular funcional es necesario cierto grado de rugosidad que permita la adherencia celular, para ello se aplicó la técnica de electrohilado que facilitó la deposición de fibras y

recubrimientos a una escala nanométrica, aumentando la rugosidad de la superficie, además mejorando las propiedades mecánicas que presenta el PVA.

En este proyecto se aplicaron capas de PVA electrohilado, sobre tubos de PVA que fueron previamente obtenidos por la técnica de congelación y descongelación C/D, se realizaron variaciones en los distintos parámetros del proceso de electrohilado esperando así obtener una modificación en sus propiedades que permita situar al hidrogel de PVA con óptimas cualidades y capacidades para cumplir con posibles aplicaciones vasculares; estas propiedades se evaluaron con ensayos morfológicos, ensayos de tracción y ensayos de citotoxicidad.

Luego de haber finalizado con los ensayos se logró observar el efecto de las capas de PVA y PVA-Gel electrohilado sobre los tubos de PVA donde el mejor de los resultados fue el efecto citotóxico nulo de las muestras dando a entender que es inerte y que es biocompatible, se evidenciaron cambios superficiales en cuanto a su rugosidad con el ensayo de perfilometría, además a través de la técnica SEM se logró apreciar como su superficie fue modificada, con un aumento de la rugosidad de las muestras y como hubo presencia de fibras y poros por el efecto del electrohilado, además, se evidenció mejoras y efectos sobre sus propiedades mecánicas que además fueron comparados con las propiedades mecánicas de muestras biológicas. Los mejores resultados fueron obtenidos con los parámetros B, estas fueron muestras electrohiladas con solución de PVA a una concentración de solución del 10 % p/v, un voltaje aplicado de 20 kV y un flujo de extrusión de 1 mL/h.

Se resalta el hecho de que este proyecto de pregrado se desarrolló en el marco del proyecto Minciencias: *“Desarrollo de implantes vasculares celularizados a partir del alcohol polivinilo y comparación de sus propiedades mecánicas y funcionales con arterias porcinas o implantes vasculares existentes en el mercado”*. Ejecutado por los grupos: Grupos Ingeniería de tejidos y terapias celulares de la Facultad de Medicina (GITIC) y Grupo de Investigación en Biomateriales BIOMAT.

II. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Desarrollar hidrogeles tubulares de PVA con la aplicación de una capa de PVA electrohilada para posibles aplicaciones vasculares.

B. Objetivos específicos

- Evaluar la influencia de la variación en los parámetros de la técnica de electrohilado para la obtención de la capa de PVA sobre los hidrogeles tubulares.
- Determinar las propiedades morfológicas, mecánicas, y de citotoxicidad de los hidrogeles tubulares con y sin capa electrohilada.
- Comparar las propiedades de los hidrogeles tubulares con y sin capa electrohilada con muestras biológicas obtenida de arterias porcinas.

III. MARCO TEÓRICO

A. Enfermedades vasculares

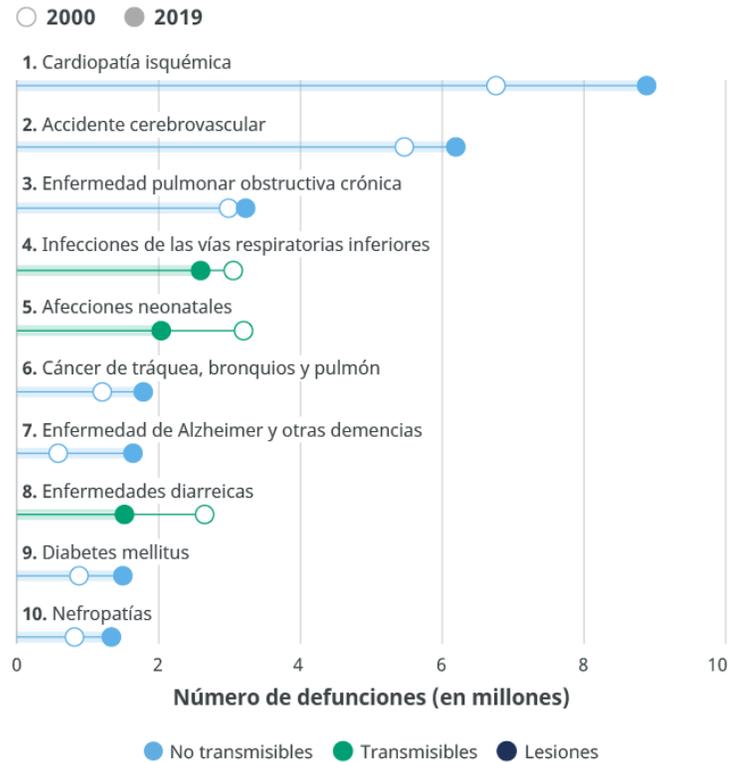
El sistema cardiovascular es el encargado de cumplir funciones primordiales para la vida como el transporte de sustancias en el cuerpo incluidas hormonas, oxígeno, proteínas entre otras a través de la constante circulación de la sangre por todo el cuerpo [7]. Lo que resulta en que este sistema sea de vital importancia y cualquier alteración pueda resultar en la incompatibilidad con la vida.

En el mundo las enfermedades cardiovasculares han sido la mayor causa de muerte por enfermedades no transmisibles, según los datos de la OMS, solo en el 2019 la enfermedad isquémica del corazón fue la causa de más de 9 millones de muertes en el mundo y la segunda causa fue el infarto, ambas enfermedades se relacionan con problemas asociados al sistema circulatorio y vasos sanguíneos. En la Fig. 1 se pueden ver las mayores causas de muerte por enfermedades no transmisibles en el mundo según la OMS entre los años 2000 y 2019.

Otros datos importantes de la OMS reflejan esta problemática para Colombia, entre los años 2000 y 2016, el porcentaje de muertes atribuidas a ECV por cada 100000 habitantes ha ido en aumento, en donde para hombres representa un porcentaje mayor que para mujeres, representando el 19 % y el 7,1 % de las defunciones totales, respectivamente, así como se evidencia en la Fig. 2, alcanzando 189,9 y 156,8 muertes por cada 100000 habitantes para hombres y mujeres, respectivamente [8].

Según el DANE, la mayor causa de muerte natural en Colombia también ha sido la enfermedad isquémica del corazón, además de las enfermedades cerebrovasculares, también relacionadas con los vasos sanguíneos. Esta entidad en su Boletín técnico Estadísticas Vitales enseña la realidad para el primer trimestre del 2020 de defunciones por causa natural en hombres, Fig. 3, y en mujeres, Fig. 4 [9].

Causas principales de defunción en el mundo



Fuente: WHO Global Health Estimates.

Fig. 1. Mayores causas de mortalidad a nivel mundial [1].

Mortalidad por causa de muerte: tendencias a lo largo del tiempo

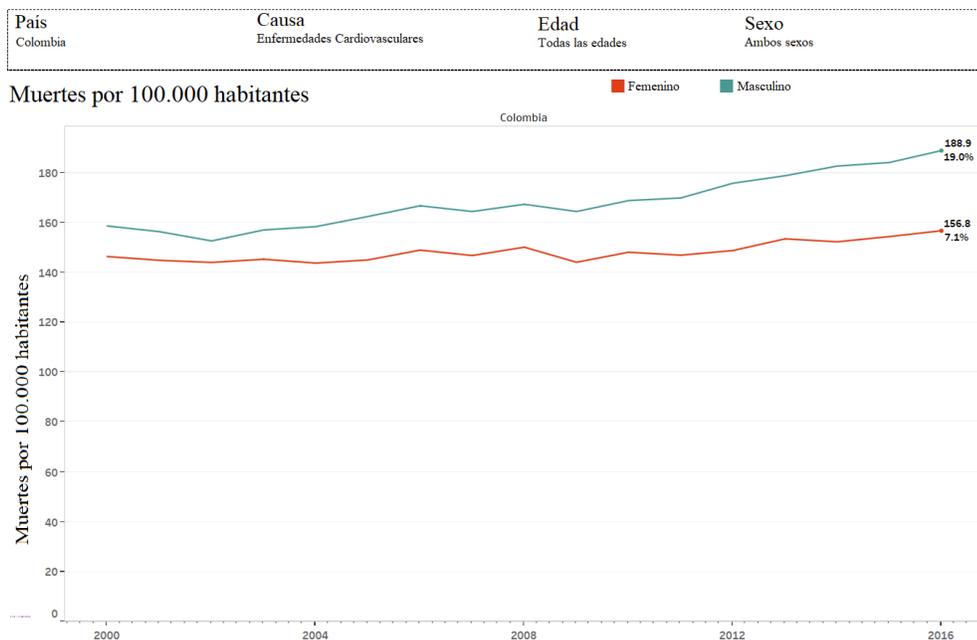


Fig. 2. Mortalidad por cada 100.000 habitantes en Colombia [8].

Código Grupo	Diez primeras causas de muerte natural en Hombres	I trim 2020pr	
		Total	%
	Total nacional	25.775	100,0
303	Enfermedades isquémicas del corazón	4.700	18,2
605	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	1.867	7,2
307	Enfermedades cerebrovasculares	1.738	6,7
108	Infecciones respiratorias agudas	1.173	4,6
302	Enfermedades hipertensivas	970	3,8
203	Tumor maligno de los órganos digestivos y del peritoneo excepto estóm	915	3,5
609	Resto de enfermedades del sistema digestivo	909	3,5
214	Tumores malignos de otras localizaciones y de las no especificadas	902	3,5
210	Tumor maligno de la próstata	824	3,2
601	Diabetes mellitus	821	3,2
	Otros grupos de causas naturales	10.956	42,5

Fig. 3. Principales causas de muerte en hombres en Colombia [9].

Código Grupo	Diez primeras causas de muerte natural en Mujeres	I trim 2020pr	
		Total	%
	Total nacional	24.259	100,0
303	Enfermedades isquémicas del corazón	3.821	15,8
307	Enfermedades cerebrovasculares	1.861	7,7
605	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	1.726	7,1
108	Infecciones respiratorias agudas	1.021	4,2
302	Enfermedades hipertensivas	1.003	4,1
601	Diabetes mellitus	957	3,9
609	Resto de enfermedades del sistema digestivo	938	3,9
203	Tumor maligno de los órg. digestivos y del peritoneo excepto estómago	931	3,8
610	Enfermedades del sistema urinario	840	3,5
206	Tumor maligno de la mama de la mujer	839	3,5
	Otros grupos de causas naturales	10.322	42,5

Fig. 4. Principales causas de muerte de mujeres en Colombia[9].

El observatorio nacional de salud manifiesta que en el periodo 1998-2011 se registraron 628630 muertes por ECV, que corresponden al 23,5 % del total de las muertes en Colombia. De las defunciones debidas al grupo de enfermedad cardiovascular, el 56,3 % se debieron a enfermedad cardiaca isquémica, 30,6 % a enfermedad cerebrovascular, 12,4 % a enfermedad hipertensiva y 0,5% a enfermedad cardiaca reumática crónica. La tasa de mortalidad anual promedio fue de 104,6 muertes por 100000 habitantes [10].

B. Tratamiento

Por todo lo mencionado anteriormente se requieren medidas que ayuden a mitigar las consecuencias de las enfermedades cardiovasculares, a lo cual se proponen diferentes estrategias para tratarlas, dependiendo de su gravedad, que van desde cambios en estilo de vida (un cambio en

la dieta, inclusión de actividad física), el uso de medicamentos (con finalidad de bajar la presión arterial, alivianar la sangre o reducir los niveles de colesterol en la misma) hasta procedimientos quirúrgicos. En el caso de enfermedades isquémicas del corazón, estos procedimientos quirúrgicos involucran una operación de bypass coronario, la cual consiste en el puenteo de las venas coronarias con aortas, en el 30 % de los pacientes esto se debe hacer con un implante autólogo, sin embargo, este proceso se dificulta debido a las pobres condiciones de los tejidos vasculares del paciente [11].

C. Implantes de PVA

El sistema cardiovascular es fundamental para el funcionamiento del cuerpo humano, por lo tanto, cuando se presenta una enfermedad cardiovascular, se considera de alta complejidad y pueden generar grandes complicaciones a la salud del individuo. En la actualidad estas enfermedades tienen la posibilidad de ser tratadas por medio de diversos tratamientos, ya mencionados, que en el caso de llegar a no ser efectivos se recurre a métodos más complicados, como el uso de implantes una intervención quirúrgica. En general se le llama implantes médicos a los dispositivos o tejidos los cuales son ubicados al interior del cuerpo o sobre la superficie de este, muchos consisten en prótesis que pueden llegar a reemplazar alguna parte del cuerpo, otros implantes pueden encargarse de administrar de medicamentos, controlar funciones corporales o brindar soporte a órganos y tejidos. Algunos implantes están hechos de piel, hueso y otros tejidos corporales, otros están hechos de metal, polímeros, cerámicos u otros materiales sintéticos [12], [13].

El implante de PVA es una prótesis de un polímero sintético, el cual es soluble en agua para convertirse en un hidrogel, en este estado tiene varias aplicaciones en el campo biomédico. Este polímero se produce por polimerización de acetato de vinilo a acetato de polivinilo seguido de hidrólisis de acetato de polivinilo a alcohol polivinílico. El PVA debe ser reticulado para evitar su degradación por hidrólisis y que pueda ser utilizado en una amplia variedad de aplicaciones en áreas como la medicina y las ciencias farmacéuticas, recientemente, se probaron otras aplicaciones biomédicas en condiciones experimentales como injertos vasculares, meniscos artificiales, prótesis de disco intervertebral y también como sustituto del humor vítreo [14]. Un método de reticulación del PVA es el C/D donde en la etapa de congelado conduce al atrapamiento de las cadenas de PVA entre los cristales de hielo debido a la separación de fases y, durante la descongelación, se forma

la red de gel a medida que los cristales de hielo se transforman en los poros de los hidrogeles. Cuanto mayor es el número de ciclos, más cadenas se incorporan a los cristallitos de PVA, lo que fortalece el gel. El grado de estabilidad de estos dependen del número de ciclos de C/D, que por lo general son entre 3 y 9 ciclos, además de la calidad de los ciclos (tiempo que pasa dentro del congelador y descongelado a temperatura mayor), el peso molecular del PVA, la concentración que lleve la solución, y las temperaturas empleadas a la hora de preparar la solución que se llevará a C/D y a las cuales se harán estos ciclos, todo esto influye sobre la capacidad de absorber agua en medios húmedos, en su naturaleza gomosa, elástica y su resistencia mecánica del hidrogel[15], [16].

Hoy en día los implantes exógenos dominantes en el mercado son los hechos en politetrafluoroetileno expandido o teflón expandido (ePTFE) y tereftalato de polietileno (PET), teniendo como grandes proveedores de implantes a *Bard Peripheral Vascular*, *Boston Scientific Corporation* y *Atrium Medical Corporation*, con esta última reconocida por fabricar implantes con diversas geometrías; estos implantes tienen buenas propiedades mecánicas, pero carecen de compliancia adecuada debido a la rigidez de los implantes fabricados y suelen ser susceptibles a contaminación bacteriana [17], [18].

D. Electrohilado

El electrohilado es una técnica que permite modificar la superficie de cualquier material ya obtenido, incluso llegando al área de los implantes, esta técnica crea fibras ultrafinas que pueden tener diámetros submicrométricos hasta nanométricos, se hace a partir de una diferencia de potencial generada por una fuente de alto voltaje (en orden de los kilovoltios) usada para crear un chorro cargado eléctricamente de una solución polimérica y un colector que es la tierra del sistema para poder cerrar el circuito, este puede ser fijo o giratorio. La fuente de alto voltaje se conecta a la punta de una jeringa que contendrá la solución polimérica a hilar, esta jeringa se ubica sobre una bomba extrusora que se encarga de la salida de solución por la jeringa a una velocidad constante; esta salida controlada permite que la gota de solución que sale por la jeringa se cargue estáticamente y las cargas inducidas se distribuyan uniformemente por la superficie de esta gota, esta acumulación de carga hace que la gota se distorsione en forma cónica conocida como el cono de Taylor, así como se puede observar en la Fig. 6. Con valores altos de intensidad del campo, la

fuerza electrostática de repulsión supera la tensión superficial y se expulsa un chorro de fluido cargado desde la punta del cono de Taylor cuando se alcanza un valor crítico. La solución de polímero se descarga como un chorro que luego se somete a un proceso de estiramiento y batido (una serie de bucles conectados), lo que lleva a la formación de un hilo largo y delgado. A medida que el solvente se evapora, se forman fibras sólidas de polímero con diámetros que van desde micrómetros a nanómetros y se colocan sobre el colector, que puede ser fijo o giratorio y que siempre está conectado a tierra, el proceso de electrohilado se muestra en la Fig. 5 [19].

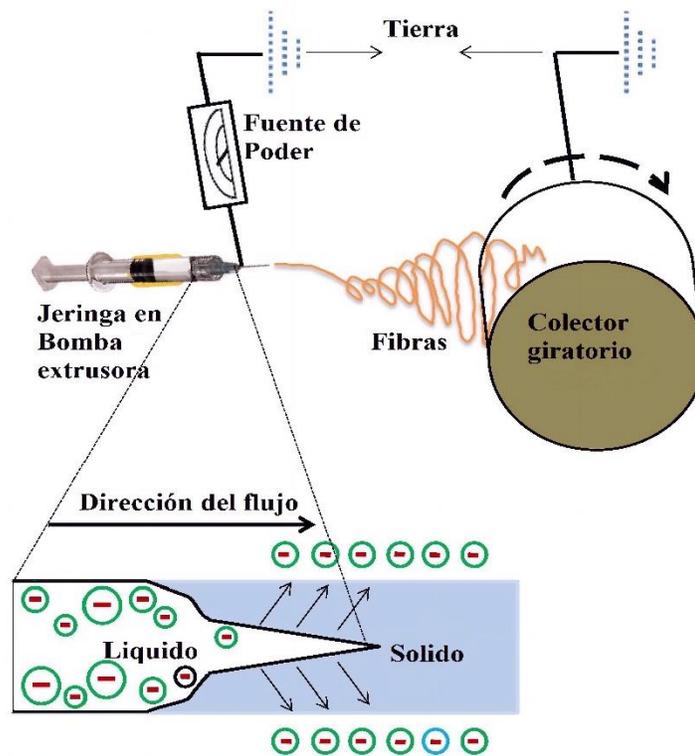


Fig. 5. Proceso de electrohilado. Modificado de [19].

Las aplicaciones del electrohilado derivan tanto de las propiedades únicas de los materiales nanoestructurados que pueden sintetizarse como de la versatilidad de la propia técnica, una de las aplicaciones donde el electrohilado ha ganado verdadera notoriedad ha sido en la ingeniería de tejidos, donde puede ser empleado para la fabricación de scaffolds. Por otra parte, las fibras artificiales también pueden funcionalizarse con fármacos y principios activos que promuevan procesos tan determinantes como la migración, proliferación y diferenciación celular. Cabe destacar que el electrohilado está siendo desarrollado en la ingeniería de tejidos de vasos

sanguíneos, hueso, cartílago y tejido nervioso, entre otras más minoritarias. Algunas, de sus aplicaciones se presentan en la Fig. 7 [20].

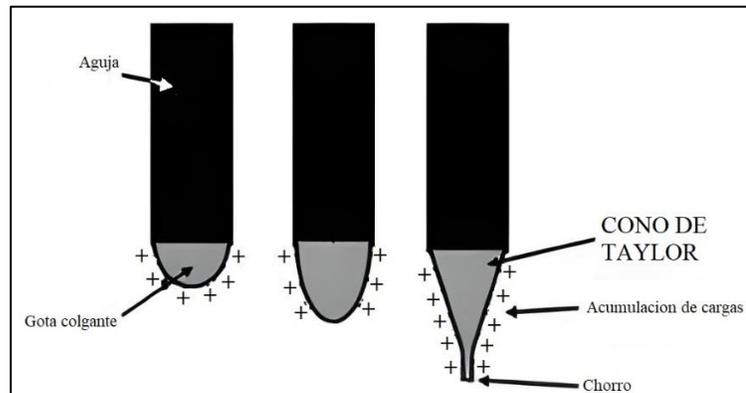


Fig. 6. Formación del cono de Taylor[20].

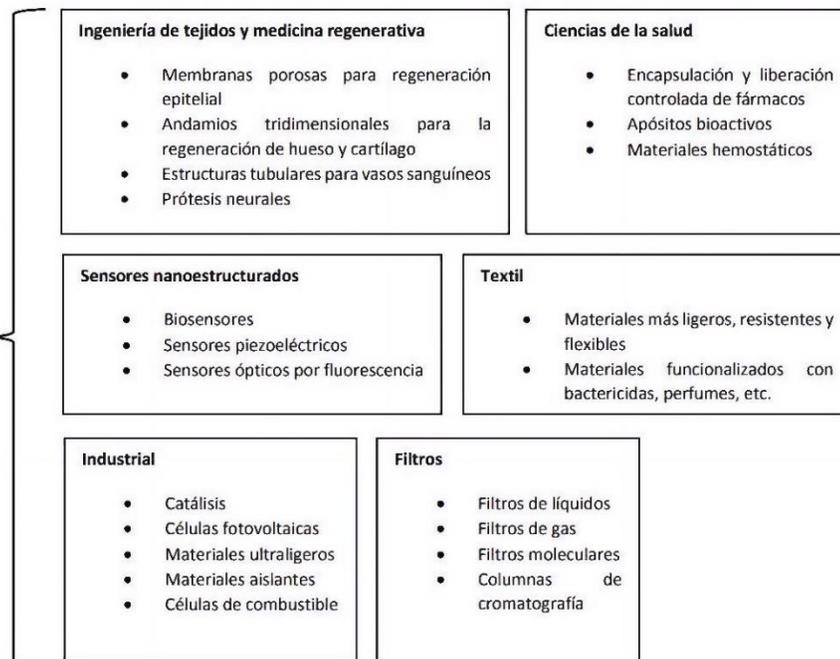


Fig. 7. Aplicaciones del electrohilado [20].

IV. METODOLOGÍA

A. Solución de PVA

Se tuvo como materia prima para la elaboración de los tubos polivinil alcohol (PVA), en polvo de color blanco con un peso molecular de 89-98 kDa de marca SIGMA-ALDRICH; se usó gelatina sin sabor en polvo de grado alimenticio de la marca Frutiño. Las soluciones de PVA fueron realizadas usando la relación peso-volumen para determinar sus concentraciones, estas fueron de 10 y 12,5 %, donde este porcentaje representaba la porción en peso de PVA respecto al volumen a usar del solvente, el cual fue agua destilada. Se tomó la cantidad requerida dependiendo del volumen a preparar para cada concentración y se llevó a baño termorregulado para ser diluido por medio de una plancha con agitador magnético, se conservó una velocidad de 400 rpm durante toda la preparación y una temperatura del baño termorregulado entre 80 y 90 °C durante 30 min; además de 1 h posterior a una temperatura de entre 50 – 60 °C para lograr la homogeneizar la mezcla; para la verificación del cumplimiento de dichas temperaturas se realizó un montaje, Fig. 8, que permitió ubicar un termómetro para el constante censando de estos valores del baño termorregulado logrando controlar la temperatura que presentaba.



Fig. 8. Montaje preparación solución de PVA.

Para la preparación de la solución PVA-Gelatina se usaron las mismas concentraciones de sólidos (10 y 12,5 %), con el detalle de que el 90% de la concentración de la solución correspondió al PVA y el 10 % restante a la gelatina.

Una vez terminado el proceso, la solución que era preparada para la formación de hidrogeles era vertida inmediatamente en los moldes cilíndricos para iniciar el proceso de C/D; la solución preparada para ser llevada a la etapa de electrohilado era almacenada en tubos Falcon a temperatura ambiente, y transportada hasta el equipo, las soluciones se utilizaron dentro de la primera semana de preparadas.

B. Congelado-Descongelado

Se fabricaron tubos de PVA por el método de C/D, este consistió en llevar la solución ya preparada al congelador y posteriormente exponerla a una temperatura mayor para cumplir su etapa de descongelado; en este caso se preparó la solución de PVA con una concentración de 10 % p/v. Una vez se tenía la solución ya preparada, esta era vertida sobre el interior de los moldes con ayuda de una jeringa y aguja de 40 mm de longitud para garantizar un correcto vaciado de la solución y evitar la encapsulación de burbujas que podrían generar posibles defectos sobre la muestra. Los moldes usados entregaron muestras con geometría cilíndrica, estos consistieron en varillas de acero inoxidable concéntricas a un tubo de igual longitud, los moldes son presentados en la Fig. 9, estos moldes tenían una longitud entre 90 y 100 mm, un diámetro interno de 4,76 mm, un diámetro externo de 7,6 mm para entregar muestras con un espesor de 2,84 mm Fig. 9. Posteriormente fueron llevados a temperaturas entre -20 y -15 °C para su etapa de congelado la cual se realizó por 3 h en el congelador de una nevera doméstica, posteriormente se retiraron del congelador y pasaron a la etapa de descongelado por 1 h a temperatura ambiente, se repitió este ciclo durante siete veces. Una vez culminados los siete ciclos, las muestras fueron extraídas de los moldes y se almacenaron en refrigerador hasta el momento de su uso.



Fig. 9. Moldes tubos de PVA.

C. Electrohilado

Los tubos que se obtuvieron por el método de C/D se llevaron a un equipo de electrohilado, conformado por una fuente de alto voltaje, una bomba extrusora y rotor que también era la tierra del sistema, como se observa en la Fig. 10, la muestra se ubica en el rotor. En la Fig. 11 se muestra el equipo usado para el desarrollo del proyecto. La salida de la fuente de alto voltaje se conecta en la punta de una jeringa la cual se encontraba en la bomba extrusora; de esta manera se cierra el circuito eléctrico, y la solución de PVA que se encuentra en la jeringa se cargará haciendo que el solvente (agua destilada) se evapore y el polímero (PVA) se estire para que resulte en fibras nanométricas dispersas sobre la muestra [21].

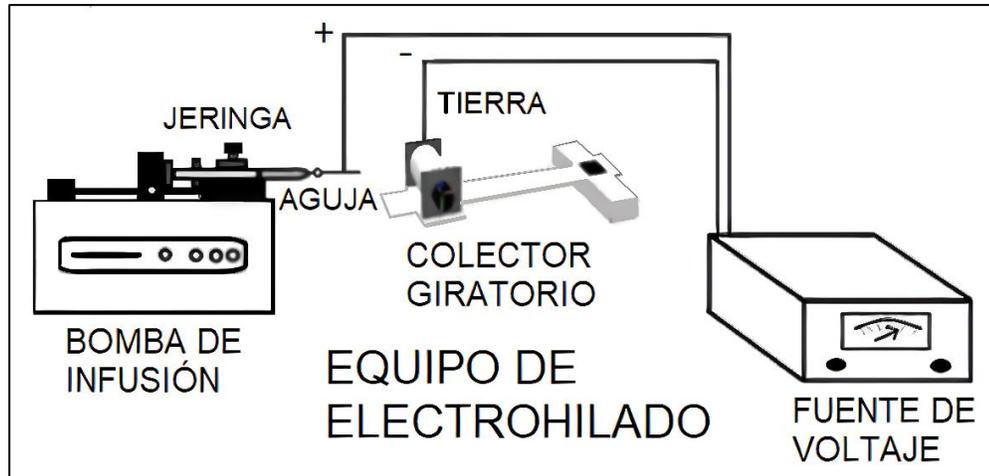


Fig. 10. Esquema del equipo de electrohilado.

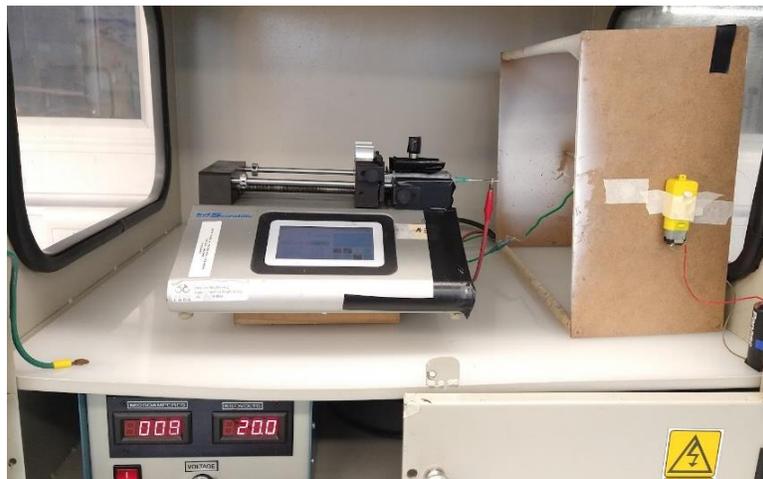


Fig. 11. Equipo de electrohilado. Cortesía Laboratorio de Electrospinning, Grupo de Investigación en Biología de Sistemas. Universidad Pontificia Bolivariana

El voltaje aplicado se suministró mediante una fuente de alto voltaje de Gamma High Voltage Research Inc., ES30P-10W que puede producir de 0 a 30 KV con una salida de corriente hasta 350 μ A. La bomba de infusión usada fue de KD scientific syringe pumps, modelo LEGATO 380 EMULSIFIER [22], [23]. El rotor está formado por un armazón de madera que sostenía una varilla metálica la cual estaba unida a un servomotor alimentado con baterías de 1,5 V que permitían una velocidad de giro de 48 rpm.

En este procedimiento se puede controlar bastantes parámetros, estos se pueden dividir en tres categorías como son parámetros de solución (concentración, peso molecular, viscosidad, tensión superficial y conductividad), de proceso (voltaje, flujo de extrusión, distancia entre aguja

y colector, tiempo y forma del colector) y ambientales (humedad, temperatura, presión y tipo de atmosfera); afectando así la morfología obtenida.

Los parámetros modificados en el desarrollo de este proyecto fueron la concentración de solución de PVA (10 % y 12,5 %), el voltaje aplicado (15 kV y 20 kV) y el flujo de extrusión (0,1 mL/h y 1 mL/h), dejando los demás parámetros como constantes. En la TABLA I se muestran los tratamientos obtenidos de las variaciones que fueron aplicadas y se usaron dos soluciones para el recubrimiento de PVA, una solamente con PVA y la otra que contenía PVA con gelatina; y la TABLA II presenta los parámetros que permanecieron constantes.

TABLA I.
PARÁMETROS DE ELECTROHILADO

Nomenclatura tubos	Concentración [% PVA]	Voltaje [kV]	Flujo de extrusión [mL/h]	Nomenclatura tubos	Concentración [% PVA-Gel]	Voltaje [kV]	Flujo de extrusión [mL/h]
A	10	20	0,1	I	10	20	0,1
B	10	20	1	J	10	20	1
C	10	15	0,1	K	10	15	0,1
D	10	15	1	L	10	15	1
E	12,5	20	0,1	M	12,5	20	0,1
F	12,5	20	1	N	12,5	20	1
G	12,5	15	0,1	Ñ	12,5	15	0,1
H	12,5	15	1	O	12,5	15	1

TABLA II.
PARÁMETROS CONSTANTES

Parámetro	Valor
Tiempo de extrusión	4 h
Distancia aguja-colector	15 cm
Velocidad rotor	48 rpm
Humedad	≈ 50 %
Temperatura	23 °C

En la Fig. 12 se presenta un esquema de la muestra obtenida posterior al recubrimiento con PVA electrohilado.

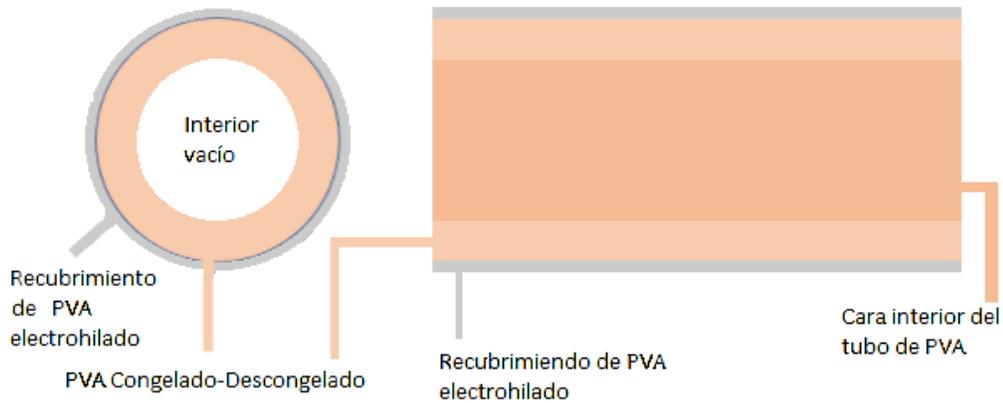


Fig. 12. Esquema de la muestra electrohilada.

D. Muestra biológica de origen porcino

Las muestras biológicas, aortas, fueron obtenidas de ganado porcino previamente sacrificados, estas fueron donadas por parte de la Central Ganadera S.A. de Medellín, presentaron longitudes cercanas a los 20 cm, las muestras se transportaron en solución salina, y se criopreservaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ aproximadamente. Para evitar la deshidratación de las muestras, estas permanecieron en solución salina. Para la limpieza de las arterias, se sujetaron por sus extremos con pinzas Kelly, y con tijeras y cuchillas quirúrgicas se retiró el tejido circundante a la aorta para finalizar con una limpieza con solución salina.

Para la aplicación del ensayo de tracción, se realizaron cortes a tres muestras, haciendo cortes longitudinales y transversales, estos adoptaron una forma rectangular para así facilitar la realización del ensayo de tracción, las muestras tuvieron medidas de largo entre 33 y 50 mm, de ancho entre 13,5 y 18,6 mm, y de espesor entre 2 y 3,9 mm.

E. Evaluación de propiedades

Se aplicaron distintas técnicas que permitieron evaluar las propiedades de las muestras, esto permitió la comparación y elección de las mejores propiedades posibles para la aplicación deseada, obtenidas con los parámetros modificados en la etapa de electrohilado. Los ensayos fueron:

1) *Ensayos morfológicos*: para determinar la morfología de la superficie de las muestras, se llevaron a microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés). Para ello las muestras se prepararon en un inicio haciendo cortes cuadrados de 3 mm de lado aproximadamente, estas fueron llevadas a desecador por un lapso de 48 h, finalmente se llevaron al equipo JEOL JSM 6490 LV, las muestras se fijaron en una cinta de grafito, se les realizó un recubrimiento delgado en oro (Au) y se analizaron en el microscopio electrónico de barrido en alto vacío, generado por el equipo DENTON VACUUM Desk IV, con el fin de obtener imágenes en alta resolución. Se empleó el detector de electrones secundarios para evaluar la morfología y topografía de las muestras. Una vez contando con las imágenes, se hizo uso del software de procesamiento digital de imágenes ImageJ con el que se pudo realizar conteo del diámetro de las fibras y de los poros para cada muestra asimismo el porcentaje del área que los poros ocupaban en la muestra, para ello ImageJ permitió contrastar las imágenes obtenidas por SEM para resaltar las zonas oscuras generadas por los poros y así realizar el conteo de estas zonas y evaluar dicho porcentaje, en la Fig. 13 se observa como el software contrastaba la imagen, cambiaba de color y realizaba el conteo de estas zonas.

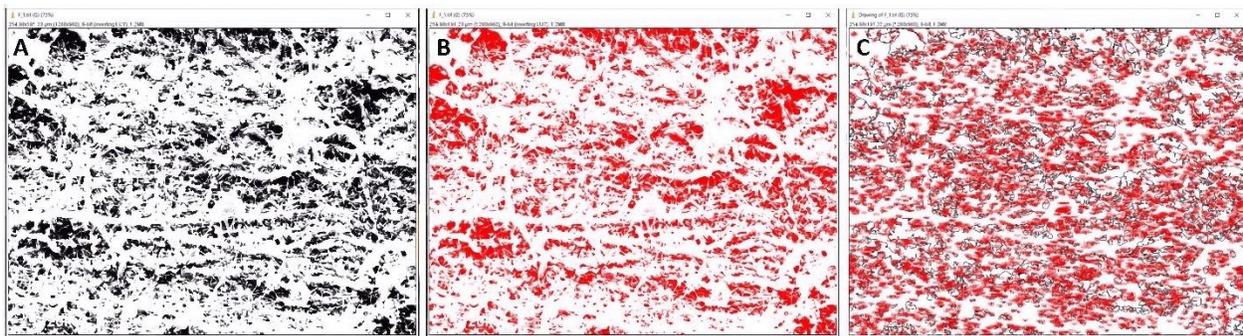


Fig. 13. Procesamiento de imagen realizado por ImageJ A: Inversión de colores entre blanco y negro. B: Cambio de color negro a color rojo. C: Conteo de áreas.

Además, se usó el rugosímetro Surtronic S128 de la marca Taylor Hobson, este equipo contaba con una unidad de visualización con una pantalla LCD donde mostraba los datos medidos y se configuraba la medición a realizar, también incluía una unidad de detección o censado que se puede separar de la unidad de visualización para facilitar las medidas, cuenta con un cilindro extraíble que en su extremo tenía una aguja que servía de sensor de superficie, esta recorría la muestra en línea recta retrocediendo hacia el equipo, terminada la medición este cilindro regresaba a su posición inicial, dando así un promedio de la rugosidad en la distancia recorrida, esta distancia recorrida era de aproximadamente 8 mm en donde el equipo hace 32 muestras por recorrido y

promedia los datos, este ensayo se trabajó bajo la norma ISO 4287 y la norma ISO 21920, la ubicación de la muestra y del equipo para realizar el ensayo se puede observar en la Fig. 14, las muestras fueron ubicadas sobre papel absorbente a la hora de aplicárseles el ensayo para poder retirar humedad de la muestra y así el equipo lograra hacer un recorrido más limpio sobre la muestra y entregar resultados veraces, esto además de que las muestras fueron evaluadas por triplicado para un mejor análisis.



Fig. 14. Ensayo de rugosidad.

2) *Ensayo de tracción:* se usó la máquina universal de ensayos donde se llevaron las muestras con y sin recubrimiento de PVA electrohilado, las muestras se sujetaron por sus extremos, dejando una longitud libre para los ensayos de entre los 75 a 109 mm, se usaron tornillos de diámetro externo igual al diámetro interno de las muestras, estos se recubrieron con cinta de teflón para poder ubicar las muestras sin que la rosca del tornillo afecte o pueda generar daños a la muestra, una vez ubicadas las muestras se hizo un nuevo recubrimiento con cinta de teflón y con abrazaderas plásticas con el fin de tener un mejor agarre de las mordazas de la máquina universal, la mordaza inferior se mantuvo fija mientras que la mordaza superior se desplazó a 50 mm/min, hasta el fallo de la muestra; se logró determinar las propiedades mecánicas, principalmente la resistencia máxima a la tracción, por medio de los datos entregados por el equipo Shimadzu Autograph AGS-X series, estos fueron la fuerza aplicada y el desplazamiento obtenido, conociendo el área transversal y la longitud inicial se aplicaron las siguientes ecuaciones:

$$\sigma = \frac{F}{A_0} \quad (1)$$

Donde,

σ : Esfuerzo [Pa], [N/m²]

F: Fuerza aplicada [N]

A₀: Área transversal inicial [mm²]

$$\varepsilon = \frac{d}{L_0} * 100 \% \quad (2)$$

Donde,

ε : Deformación [%]

d: Desplazamiento obtenido [mm]

L₀: Longitud inicial [mm]

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (3)$$

Donde,

E: Módulo de Young [Pa]

Se realizó este ensayo por triplicado para obtener tres datos que corroboraran el comportamiento de las muestras según su grupo de parámetros, además en caso de un mal fallo de la muestra se contaba con otras dos que ayudaron a la verificación y a determinar las propiedades mecánicas de las muestras. A los resultados entregados por el equipo se les aplicó las ecuaciones (1) y (2) para obtener el esfuerzo y la deformación, una vez con estos datos se procedió a graficarlos para así obtener la información de las propiedades mecánicas de las distintas muestras.

3) *Ensayo de citotoxicidad*: con el fin de evaluar si el hidrogel ya electrohilado tenía efectos tóxicos sobre células vivas se aplicó la técnica de contacto indirecto que permitió la evaluación cuantitativa de citotoxicidad, el ensayo consistió en una prueba de tres días:

En el día 1 se sembraron 10000 células (línea celular L929 Fibroblastos de ratón) por pozo en un plato de 96 pozos, de los cuales se usaron 69 pozos, y se incubaron en 100 μ L de DMEM-F12 (Medio mínimo esencial modificado por Dulbecco, por sus siglas en inglés) complementado con 5 % de SBF (suero bovino fetal por sus siglas en inglés), por 24 h, a 37 °C y 5 % CO₂, también se prepararon los extractos depositando el hidrogel en el medio complementado en una relación de 0,1 g/mL y se incubaron en las mismas condiciones que las células.

En el día dos se realizó la exposición de las células a los extractos, el medio se retiró de los pozos y se reemplazó por la solución de los extractos en porcentajes de 100 %, 75 %, 50 % y 25 %, Las células expuestas al extracto continuaron 24 h en incubación.

En el día tres se realizó la lectura, para ello se retiró el medio de las células, se reemplazó por una solución de 50 μ L MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) y se incubaron por 2 h, luego se retiró la solución de MTT y fue reemplazada por 100 μ L isopropanol por 30 min para lisar las células y liberar el formazán. Finalmente, el plato se leyó en un equipo ELISA a 570 nm.

V. RESULTADOS

Siguiendo lo descrito previamente en la metodología, se presentan y explican los resultados obtenidos, obedeciendo el orden allí presente para mejor comprensión de lo realizado. Siendo así, se inicia hablando sobre los materiales, estos desempeñaron un buen trabajo en el desarrollo del proyecto al ser materiales de alta calidad permitiendo así completar satisfactoriamente cada proceso sin necesidad de recurrir a otros materiales ni otras marcas comerciales de los mismos.

A. Solución de PVA

Procediendo con los protocolos para la preparación de la solución de PVA, se logró obtener soluciones con muy buena fluidez, hecho que variaba a la hora de aumentar la concentración de la solución. La solución que se usó para el proceso de C/D llevaba una concentración del 10 %, esta fue la menor concentración usada, es decir, la que tenía menor viscosidad y por ende la de mayor facilidad de preparación en cuanto a la agitación a lo largo de su preparación.

Las soluciones que se llevaron al proceso de electrohilado tenían dos concentraciones; 10 y 12,5 %, además de la adición de gelatina para preparar soluciones de igual concentración, a la hora de aumentar la concentración se evidenció como la solución tomaba mayor viscosidad, hecho que en el momento de preparación generó más resistencia al magneto que se encontraba agitando la solución en dicho proceso, este fenómeno no generó dificultades en su preparación ya que se solucionó con el aumento gradual de las revoluciones por minuto (RPM) por cortos intervalos de tiempo y retomando al valor establecido en el protocolo, así para garantizar la homogeneidad y la calidad de la solución.

B. Hidrogeles de PVA

Con la solución de PVA en los moldes y estos en conjunto cumpliendo con los siete ciclos de C/D (3 h a -20 °C aproximadamente y 1 h a temperatura ambiente), se logró obtener los hidrogeles de PVA, estos se extraían del molde (Fig. 9), retirando la tapa que sirvió para centrar la cubierta exterior, y quitando esta última del molde, de esta manera se obtenían los hidrogeles, así como se puede observar en la Fig. 15.



Fig. 15. Hidrogeles de PVA en molde.

En ocasiones, si el molde era mal ubicado al interior del congelador, se realizaba ciclos de manera incompleta o errónea y se obtenía un lote de tubos en donde alguno de ellos presentaba pobres propiedades y características, para el lote de la Fig. 15 se encontró que uno de los 5 tubos de PVA presentaba estas pobres propiedades, por tal razón este fue descartado para evitar que en etapas posteriores generara inconvenientes por su estado, por otro lado, el estado de los demás tubos era el correcto y el esperado tras haber completado el C/D.

Los hidrogeles de PVA obtenidos se almacenaban en tubos Falcon, como se presenta en la Fig. 16, sin aditivo alguno y se conservaban en refrigeración al interior de la nevera con el fin de evitar interacción con el ambiente o con luz solar y lograr conservar las propiedades del hidrogel para que al momento de ser usados en posteriores etapas del proyecto estos se encontraran en perfectas condiciones.



Fig. 16. Hidrogeles almacenados en tubos Falcon.

C. Electrohilado

Para esta etapa, se tomaba el hidrogel que iba a ser usado y se introducía en una varilla de igual diámetro que la de los moldes de los tubos, la varilla con el hidrogel de PVA era introducidos en bolsas selladas y llevadas al equipo de electrohilado. La solución de PVA que iba a ser electrohilada era introducida en una jeringa para poder ubicarla en la bomba extrusora, se llenaba de acuerdo con la cantidad a ser usada que dependía del flujo de extrusión y teniendo en cuenta que el tiempo de hilado era de 4 h, esto se especifica en la TABLA III.

TABLA III.
SOLUCIÓN USADA EN ELECTROHILADO.

Flujo de extrusión [mL/h]	Cantidad de solución a usar [mL]
0,1	0,4
1	4

El proceso de electrohilado se ejecutaba siguiendo los parámetros mostrados en las TABLA I, TABLA II, y TABLA III, donde para cada grupo de parámetros fue realizado por triplicado, es decir, se obtuvieron tres muestras del grupo de parámetros A, tres para el grupo de parámetros B y

así sucesivamente, esto se llevó a cabo con el fin de que en los ensayos posteriores se pudieran replicar los ensayos donde se obtuvieron los resultados más veraces, siendo así, fueron 48 tubos obtenidos por el método de C/D que se les aplicó la técnica de electrohilado, en la Fig. 17 se presentan imágenes del proceso de electrohilado.



Fig. 17. Electrohilado en proceso.

Una vez se culminó el proceso del electrohilado, cada muestra terminaba deshidratada haciendo que estas se adherieran fuertemente a la varilla usada para girar la muestra en el rotor del equipo, para solucionar este problema, que afectaba el diseño tubular y posiblemente las propiedades mecánicas de la muestra, se optó por adicionar agua estéril (menos de 2 mL) en la bolsa hermética donde se almacenaba la muestra mientras esta al estar en contacto con el agua se rehidrataba y recuperaba el volumen inicial, de manera que podía ser retirada sin afectar su integridad Fig. 18.

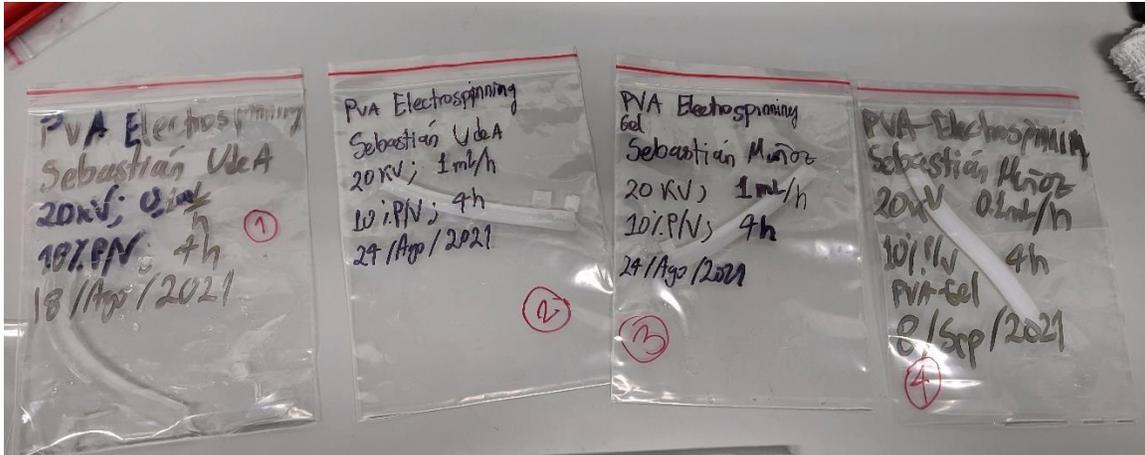


Fig. 18. Hidrogeles almacenados y marcados en bolsas selladas.

El electrohilado como proceso que modifica a nivel submicrométrico y hasta nanométrico las superficies del material, los cambios generados eran demasiados pequeños para ser percibidos al ojo humano por lo que las muestras obtenidas después de efectuar el electrohilado eran semejantes a las muestras obtenidas por el proceso de C/D, la verificación de estos cambios se observó en la evaluación de morfología.

D. Muestra biológica

Tras obtener 11 muestras biológicas por parte de la Central Ganadera S.A. de Medellín a modo de donación, como se observa en la Fig. 19, se siguió el protocolo mencionado previamente en el marco teórico para hacer una correcta limpieza (eliminando los tejidos circundantes) y almacenamiento de los tejidos (Fig. 20); a estas muestras se les aplicó ensayo de tracción para determinar sus propiedades mecánicas que sirvieron como referencia con los hidrogeles de PVA.



Fig. 19. Aortas porcinas recién obtenidas.



Fig. 20. Aortas porcinas limpias

Las muestras una vez limpias, fueron sumergidas en PBS, cubiertas de papel tela para mayor absorción del PBS y ubicadas dentro de bolsa sellada almacenándose en congelador a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la hora de su uso, para este momento se montaron los cortes de las muestras en la maquina universal como se muestra en la Fig. 21, tanto las muestras longitudinales como transversales fallaron satisfactoriamente dejando ver cómo alcanzaron las propiedades mecánicas presentadas en la TABLA IV, en ella se muestran los datos promediados de los ensayos realizados a 2 cortes, tanto

longitudinales como transversales, de 3 muestras seleccionadas, se seleccionaron los datos del ensayo del cual la muestra falló según las normas para tracción de polímeros ISO 527-2 y ASTM D638, normas más próximas para la muestra biológica, para la Fig. 22 se presentan los gráficos de un ensayo de tracción para corte transversal y corte longitudinal de cada aorta que se llevó a esta prueba.

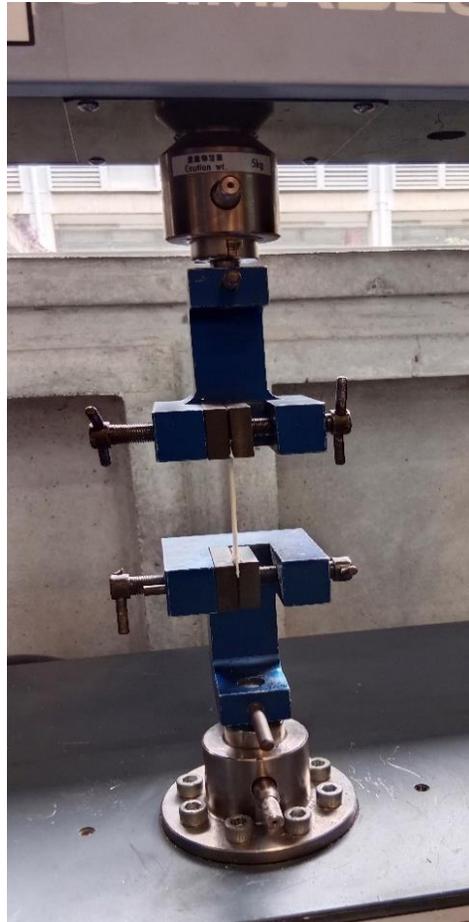


Fig. 21. Corte transversal de aorta porcina en la maquina universal.

TABLA IV
PROMEDIO PROPIEDADES MECÁNICAS AORTAS

PROPIEDADES	Corte transversal (T)	Corte longitudinal (L)
Elongación [%]	73,06	66,37
E [kPa]	295,01	234,39
Resistencia máxima [kPa]	1332,26	647,06

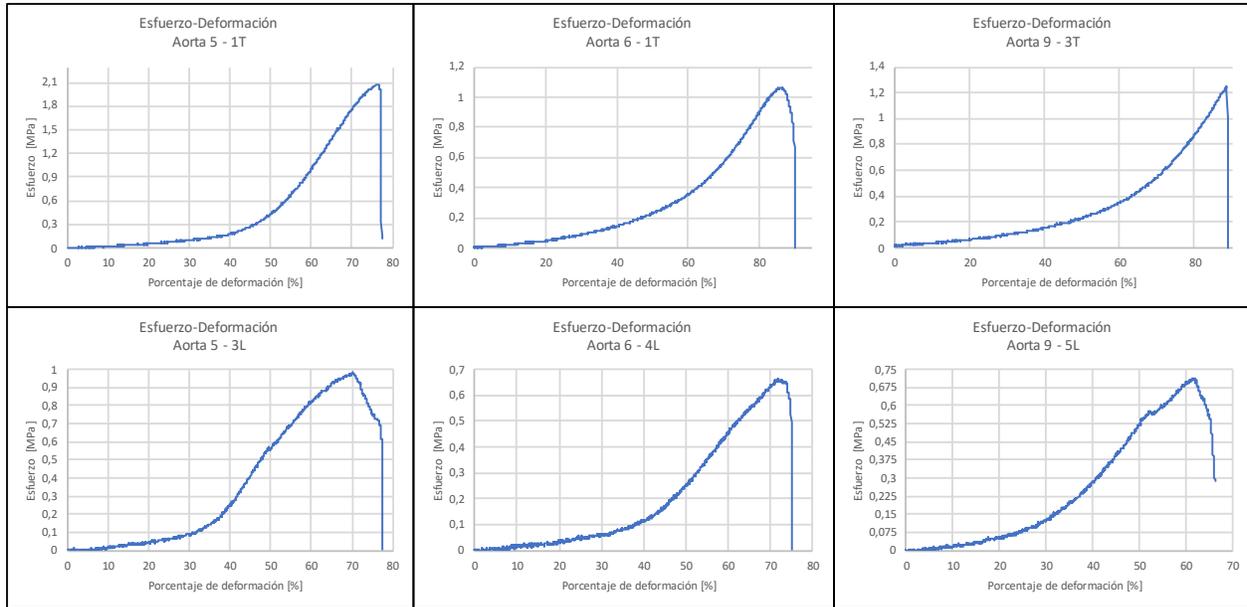


Fig. 22. Gráficos Esfuerzo-Deformación para aortas, superiores de cortes transversales, inferiores de cortes longitudinales.

E. Evaluación de propiedades

Las propiedades de las muestras finales se evaluaron de igual forma que lo planteado en la metodología, así se comprobó el efecto del proceso de electrohilado en la superficie del hidrogel de PVA por medio de los siguientes ensayos:

1) *Morfología*: como se mencionó en la metodología, se aplicaron dos ensayos para evaluar y conocer el comportamiento de la superficie de las distintas muestras, el SEM y el ensayo de rugosidad.

a) *SEM*: para este ensayo se tomó una muestra por grupo de parámetros y se observó bajo esta técnica, a cada muestra se le tomaron cinco imágenes, con aumentos de 500X, 1000X, 2000X, 5000X y de 8000X, obteniendo cerca de 85 imágenes en total, con el propósito de tener mejor claridad del resultado en la superficie de las muestras, en la Fig. 23 se muestran algunas imágenes obtenidas.

Observando las imágenes obtenidas, a grandes rasgos se pudo determinar cómo era la rugosidad cualitativa obtenida posterior al proceso de electrohilado, esto se puede ver claramente en la TABLA V.

TABLA V
RUGOSIDAD CUALITATIVA SEGÚN IMÁGENES SEM

IMAGENES SEM	RUGOSIDAD
BLANCO	Uniforme y baja
A	Moderada
B	Hay donde no hay porosidad
C	Alta, unión de las fibras a la superficie
D	Moderada
E	Baja, fibras unidas a la superficie
F	Moderada por porosidad
G	Alta, las fibras unidas modifican la superficie
H	Alta, las fibras unidas modifican la superficie
I	Alta, fibras completamente unidas a la superficie
J	Alta
K	Moderada, material acumulado
L	Alta, fibras unidas a la superficie
M	Alta, rugosidad sobre las fibras
N	Moderada, presencia de fibras y material acumulado
Ñ	Alta, porosidad y unión de fibras
O	Alta, fibras completamente unidas a la superficie

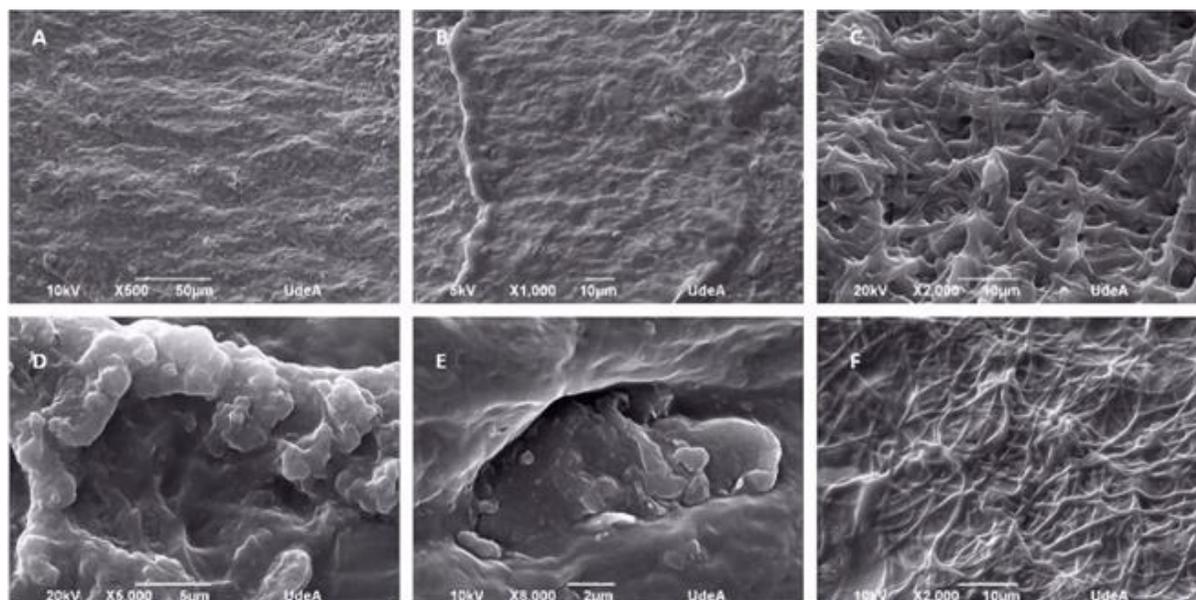


Fig. 23. Muestras bajo SEM. A: Muestra control a x500. B: Muestra A a x1000. C: Muestra F a x2000. D: Muestra K a x5000. E: Muestra L a x8000. F: Muestra Ñ a x2000.

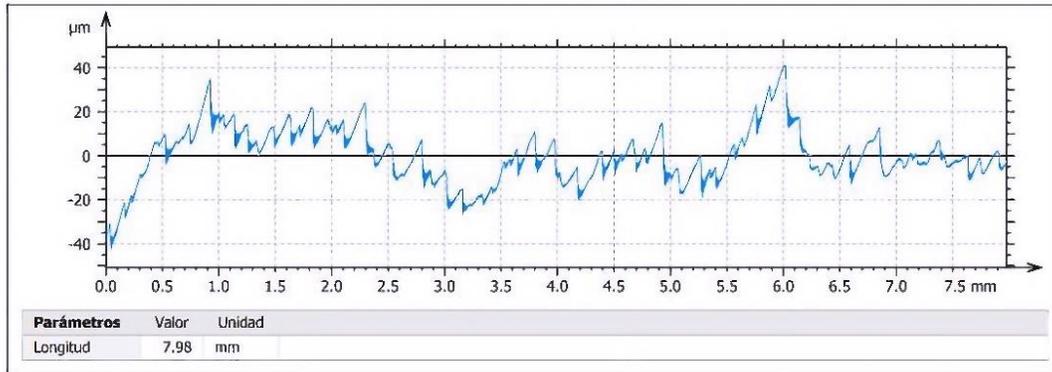
Los resultados obtenidos presentaron una gran nitidez en la imagen que facilitaron la visualización de la superficie y su posterior análisis por medio del software ImageJ, donde se tomó la imagen con aumento de 500X para cada muestra teniendo en cuenta que a este aumento el área observada es la mayor posible, el análisis de datos por medio del software arrojó los datos plasmados en la TABLA VI.

TABLA VI
RESULTADOS DE MORFOLOGÍA ANALIZADOS CON IMAGEJ

IMAGENES SEM	Fibras			Porosidad			
	Diámetro [μm]	S [μm]	Presencia	Diámetro [μm]	S [μm]	% Área	Presencia
BLANCO	No hay presencia		No	No hay presencia		0,00	No
A	5,55	1,09	Baja	No hay presencia		0,00	No
B	4,16	1,06	Moderada	2,74	1,16	19,70	Alta
C	0,26	0,18	Baja	4,79	2,65	3,67	Casi nula
D	3,44	1,09	Baja	No hay presencia		0,00	No
E	0,35	0,49	Baja	5,85	4,05	9,94	Baja
F	0,99	0,32	Alta	1,78	0,97	25,82	Alta
G	6,16	1,99	Baja	1,96	2,63	12,57	Baja
H	2,69	0,85	Moderada	3,49	4,59	9,03	Baja
I	No hay presencia		No	No hay presencia		0,00	No
J	5,36	1,54	Moderada	No hay presencia		0,00	No
K	3,68	1,35	Moderada	4,12	2,58	21,21	Moderada
L	4,34	1,44	Baja	3,78	2,33	2,30	Casi nula
M	1,65	0,46	Alta	3,27	1,63	3,24	Baja
N	2,22	1,29	Moderada	No hay presencia		0,00	No
Ñ	1,00	0,33	Alta	2,29	1,45	21,61	Alta
O	2,00	0,33	Baja	No hay presencia		0,00	No

b) *Ensayo de perfilometría:* los resultados arrojados por el equipo de perfilometría consistieron en una gráfica sobre el perfil de la muestra, además de los datos de la rugosidad media aritmética (R_a), rugosidad media cuadrática (R_q), rugosidad superficial (Z), rugosidad media (R_z), cresta mayor del perfil (R_p), valle más profundo (R_v), altura media (R_c), profundidad total de la rugosidad (R_t), desviaciones en la distribución de altura (R_{sk}), nitidez en la distribución de altura (R_{ku}), proporción de material del perfil de rugosidad (R_{mr}) [24], así como lo muestra la Fig. 24. para este ensayo, al igual que para el SEM, se tomó una muestra por grupo de parámetros y se hizo

el recorrido sobre la superficie de las muestras en tres ocasiones y en distintos lugares evitando sesgar los datos a una sola región muestreada, obteniendo así alrededor de 85 datos como se presentan en la Fig. 24.



ISO 4287		
Parámetros de amplitud - Perfil de rugosidad		
Rp	15.6 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rv	10.2 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rz	25.8 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rc	11.0 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm, ISO 4287 w/o amen...
Rt	32.2 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Ra	4.14 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rq	5.22 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rsk	0.611	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rku	3.37	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rp1max	20.6 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rv1max	11.6 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rz1max	31.4 µm	Filtro gaussiano, 0.8 mm
Parámetros de relación de material - Perfil rugosidad		
Rmr	0.320 %	c = 1 µm bajo el pico máximo, Filtro gaussian...
Rdc	8.34 µm	p = 20%, q = 80%, Filtro gaussiano, 0.8 mm
Rmr (Rz/4)	11.2 %	Filtro gaussiano, 0.8 mm

Fig. 24. Resultados ensayo de rugosidad para muestra control.

De los datos presentados en la Fig. 24 se tomaron la imagen del perfil de rugosidad y el valor Ra como medidas para evaluar y comparar los resultados del proceso de electrohilado en la superficie de las muestras dado que estos son los que proporcionan más información. Para la TABLA VII se muestra de manera ordenada los valores de Ra para cada muestra.

TABLA VII
RUGOSIDAD

MUESTRA	RUGOSIDAD Ra
	[μm]
BLANCO	2,86
A	3,33
B	3,17
C	2,35
D	3,64
E	2,55
F	2,77
G	2,44
H	2,48
I	2,87
J	1,91
K	2,89
L	2,87
M	2,89
N	2,32
Ñ	2,22
O	2,49

2) *Tracción*: para este ensayo se tomó cada una de las muestras y se les aplicó este ensayo, Se obtuvo la gráfica de esfuerzo-deformación, de esta manera se obtuvieron gráficas como las mostradas en la Fig. 25.

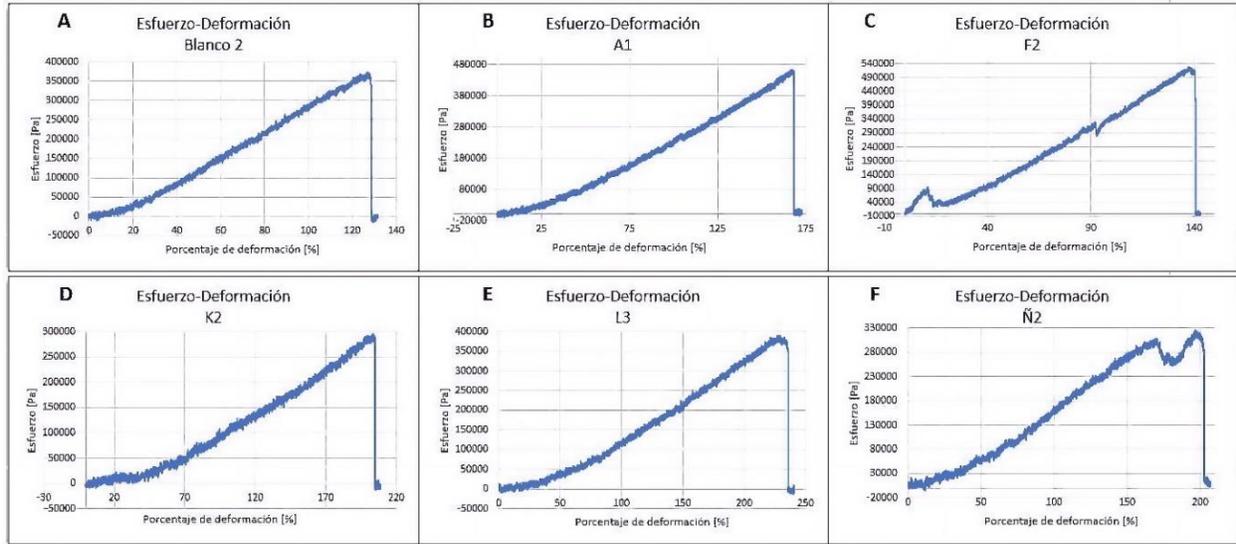


Fig. 25. Gráfica Esfuerzo-Deformación A: Muestra control 2. B: Muestra A1. C: Muestra F2. D: Muestra K2. E: Muestra L3 F: Muestra Ñ2.

A partir de las gráficas de esfuerzo-deformación obtenidas para cada muestra, se procedió a extraer la información relevante, para determinar las propiedades mecánicas, esta información correspondió a la resistencia máxima, módulo de Young (E), tenacidad y ductilidad, todo ellos dados en Pa excepto el último que esta dado en porcentaje, para encontrar el valor de E se usó la ecuación (3) mostrada ya en la metodología, para la resistencia máxima se tomó el valor más alto del esfuerzo aplicado sobre la muestra, la tenacidad era la suma de los valores del área bajo la curva de cada gráfica y la ductilidad corresponde al porcentaje de incremento de longitud que la muestra alcanzó al deformarse, al momento de presentarse el fallo, esto se realizó haciendo uso de la siguiente ecuación:

$$D = \frac{L_{fll}}{L_o} * 100 \quad (4)$$

Donde,

D: Elongación [%]

L_{fll} : Longitud al fallo [mm]

Tras aplicar las ecuaciones ya mencionadas y hallando los valores de interés, se procedió a organizar los datos para poder clasificar y determinar cuáles muestras fueron las de mejores

propiedades mecánicas, se promediaron de los ensayos por triplicado y organizaron los datos para cada resultado del ensayo como se muestra en la TABLA VIII, donde se muestran los datos de los hidrogeles electrohilados con solución de PVA y el ensayo realizado a la muestra sin electrohilar (BLANCO), y en la TABLA X, se muestran los datos de los hidrogeles electrohilados con solución de PVA-Gel facilitando la interpretación de los datos y la selección de los mejores resultados tras la aplicación del electrohilado.

TABLA VIII
RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 1.

PROPIEDADES	BLANCO	A	B	C	D	E	F	G	H
Elongación [%]	123,01	125,66	62,80	147,10	106,09	111,76	107,24	143,15	101,60
E [kPa]	281,06	263,45	1810,19	435,45	312,94	304,64	386,54	338,52	353,37
Resistencia Max [kPa]	348,90	335,83	347,36	653,78	327,18	352,40	388,97	484,00	377,20

TABLA IX
DESVIACIÓN ESTANDAR DE RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 1.

PROPIEDADES	BLANCO	A	B	C	D	E	F	G	H
Elongación [%]	11,45	60,13	52,29	16,54	21,77	49,61	49,34	15,76	72,55
E [kPa]	6,17	17,00	213,21	14,77	53,74	28,55	66,38	77,50	43,07
Resistencia Max [kPa]	28,15	178,15	69,71	28,78	2,85	18,45	15,94	91,46	30,19

TABLA X
RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 2.

PROPIEDADES	I	J	K	L	M	N	Ñ	O
Elongación [%]	157,89	97,28	167,25	205,00	221,75	191,75	183,40	203,95
E [kPa]	276,40	276,25	183,13	194,20	232,51	278,76	173,45	184,81
Resistencia Max [kPa]	414,62	244,54	289,71	381,81	485,87	541,22	310,75	362,06

TABLA XI
DESVIACIÓN ESTANDAR DE RESULTADOS ENSAYO DE TRACCIÓN 2.

PROPIEDADES	I	J	K	L	M	N	Ñ	O
Elongación [%]	36,90	32,34	53,10	42,85	43,91	16,05	27,01	44,336
E [kPa]	84,83	10,99	51,57	32,84	52,18	1,68	15,85	19,560
Resistencia Max [kPa]	42,40	43,95	8,97	10,40	31,59	43,42	22,01	38,321

3) *Citotoxicidad*: posterior a la aplicación del ensayo de citotoxicidad que duró tres días, donde se siguieron los pasos ya descritos en la metodología, el plato de 96 pozos fue llevado el equipo ELISA para la lectura de la absorbancia y así saber la respuesta de las células a la presencia del hidrogel por medio de extractos, los resultados arrojados por el equipo son mostrados en la TABLA

XII, en donde a los datos obtenidos de la lectura de la absorbancia se les restó el promedio de la absorbancia del blanco, que fue de 0,08 en promedio; para hallar el porcentaje de viabilidad se tomó cada uno de estos últimos datos para ser dividido por el promedio de los valores de la absorbancia de las células donde no se agregó extracto de la muestra (C-) y se multiplican por 100 para obtener el porcentaje, estos datos fueron promediados y se obtuvo su desviación estándar (S). Este mismo procesamiento se realizó con cada uno de los tratamientos evaluados.

TABLA XII
RESULTADOS ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

CITOTOXICIDAD						
Muestras	Concentración [%]	Porcentaje de Viabilidad [%]			Promedio [%]	S [%]
C	100	97,87	107,93	103,76	103,19	4,13
	75	86,84	97,87	112,10	98,94	10,34
	50	113,82	109,40	122,40	115,21	5,40
	25	115,29	111,61	92,23	106,38	10,12
F	100	67,70	102,54	105,48	91,90	17,16
	75	99,10	105,48	89,04	97,87	6,76
	50	101,80	95,91	94,68	97,46	3,10
	25	102,78	86,34	113,33	100,82	11,10
G	100	108,42	86,34	108,91	101,23	10,52
	75	57,89	73,34	109,89	80,38	21,80
	50	103,76	124,61	123,14	117,17	9,50
	25	105,72	91,45	98,86	98,69	5,81
M	100	75,55	87,82	115,29	92,89	16,61
	75	99,35	81,68	109,65	96,89	11,55
	50	112,10	109,40	109,16	110,22	1,33
	25	107,44	104,50	91,99	101,31	6,70
N	100	100,08	89,29	108,18	99,18	7,74
	75	89,29	107,93	78,74	91,99	12,07
	50	103,76	95,91	97,87	99,18	3,34
	25	105,72	86,34	92,23	94,77	8,11

En la TABLA XII se muestran los resultados de citotoxicidad para las muestras C, D, F, M y N, estas fueron escogidas entre el total de muestras debido a que presentaron las mejores propiedades mecánicas teniendo en cuenta de la relevancia de estas propiedades para el objetivo final que es el de un posible implante cardiovascular, adicionalmente, dichas muestras fueron electrohiladas con las dos soluciones.

Para mejor interpretación de estos datos fueron plasmados en un gráfico de barras donde también se incluyó la desviación estándar (S), además, se verificó la coloración de los extractos después de 24 h de exposición esto se puede observar en las Fig. 26, Fig. 27 y Fig. 28 respectivamente.



Fig. 26. Gráfico de barras resultados de citotoxicidad 1.

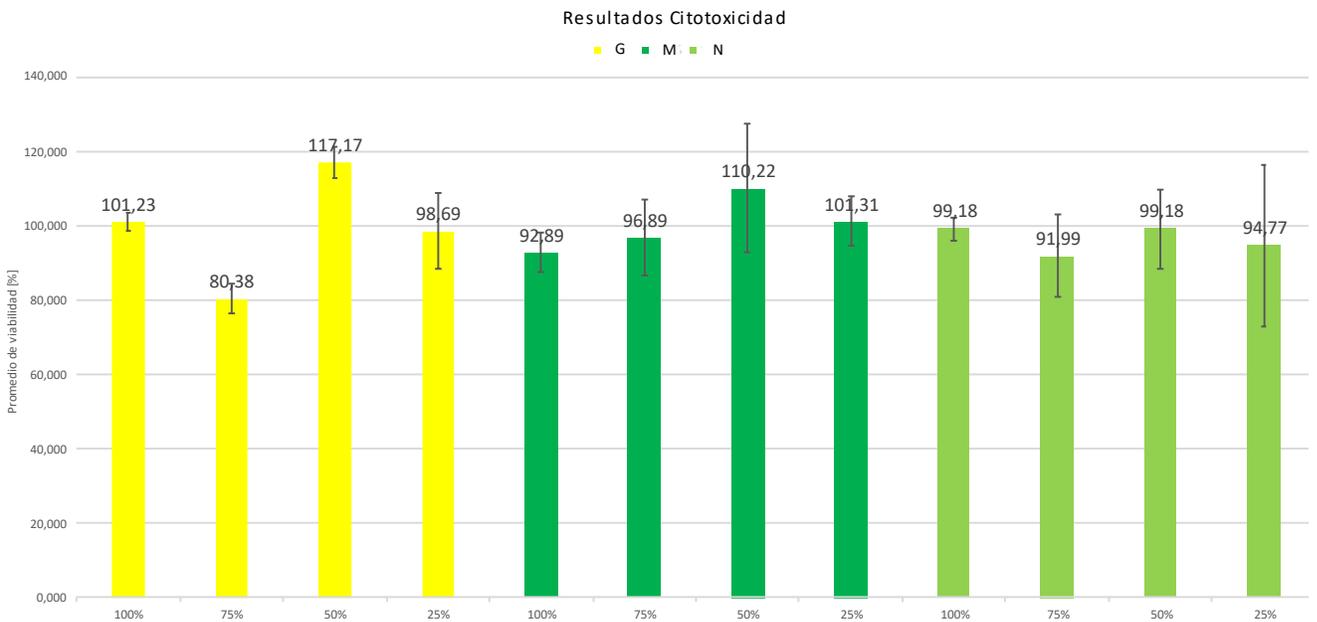


Fig. 27. Gráfico de barras resultados de citotoxicidad 2.

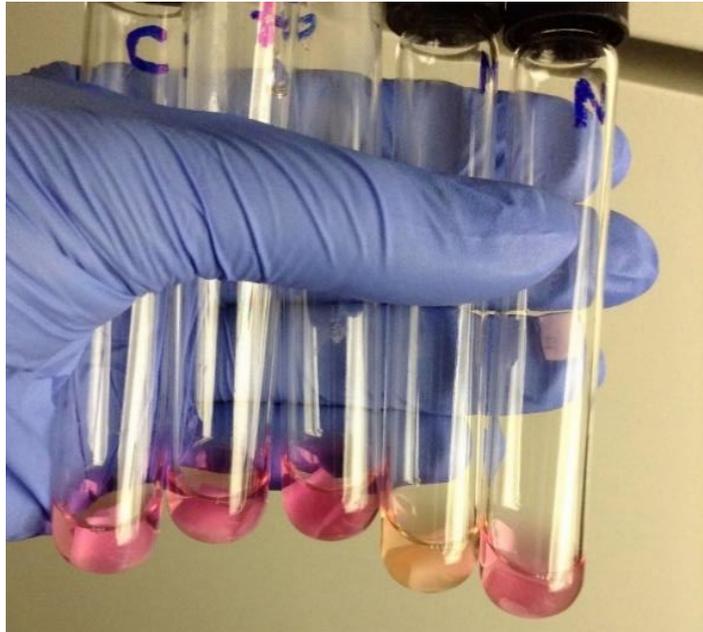


Fig. 28. Coloración final ensayo de citotoxicidad, en el orden: C, G, F, M y N.

VI. DISCUSIÓN

A. Solución de PVA

Las soluciones que se lograron realizar y fueron utilizadas a lo largo del proyecto presentaron buena calidad, no se presentaron dificultades técnicas durante el procesamiento de la solución ya que al terminar el proceso descrito en la metodología, estas soluciones no fueron sometidas a un choque térmico por retirarlas de inmediato de la plancha agitadora si no que se mantenían por unos minutos sobre esta mientras se encontraba apagada y bajando la temperatura de esta y manteniendo el montaje presentado en la Fig. 8 donde la agitación disminuía gradualmente y la temperatura era desactivada para que empiece a enfriarse la plancha, así para el momento de su uso ya se encontraba a temperatura ambiente y para llevarla al proceso de C/D no había un cambio brusco de temperatura, realizando el montaje, como el mostrado en la Fig. 8, se evitó la pérdida de material por evaporación y el ingreso de cualquier sustancia que se encontrara en el aire y pudiera generar contaminación o un deterioro más acelerado sobre la solución y con el fin de evitar esto se hizo uso de tubos Falcon para su transporte y almacenamiento, como se ve en la Fig. 29.



Fig. 29. Solución de PVA en tubo Falcon

B. Hidrogeles de PVA

Los hidrogeles de PVA que completaron satisfactoriamente su proceso de C/D se usaron sin problema alguno, pero existieron hidrogeles que por las condiciones en que terminaron el proceso de C/D no pudieron ser usados para las etapas posteriores, estos imperfectos se debían a que los moldes no quedaron correctamente centrados y el hidrogel presentaba una distribución no homogénea en su forma tubular.

C. Electrohilado

El proceso de electrohilado se desarrolló de forma adecuada siguiendo cada uno de los parámetros mostrados previamente en la TABLA I, TABLA II y en la TABLA III, obteniendo muestras muy bien electrohiladas en donde la varilla en donde estas rotaban en medio del proceso terminaban también con material electrohilado, debido a que esta varilla era la tierra del sistema y a que el proceso de electrohilado genera fibras en todas las direcciones, pero para llegar a estos, especialmente al parámetro de la concentración de la solución a usar, se realizaron pruebas en donde se comprobó el efecto del voltaje que entrega el equipo y la capacidad de formar un correcto cono de Taylor y de realizar un buen electrohilado cuando se usaban soluciones con una concentración igual o superior a 15 % p/v de PVA. En la Fig. 30 se observa como con soluciones a 15 % y 20 % p/v de PVA la solución se acumulaba en la punta de la jeringa y se desperdiciaba gran cantidad de material, la fuerza del campo eléctrico generado por la diferencia de voltaje del equipo no era capaz de vencer la tensión superficial de la solución y generaba la acumulación, de esta manera no se generó el cono de Taylor de forma correcta y tampoco se logró realizar electrohilado con esas concentraciones [17], además, en medio de estas pruebas se evidenció como el incremento del voltaje usado en el equipo, mayor a 21 kV, dificultaba el uso del equipo debido a las inestabilidades que presentaba ya que a tan alto voltaje, la corriente que este genera incrementaba haciendo presencia de un arco eléctrico.

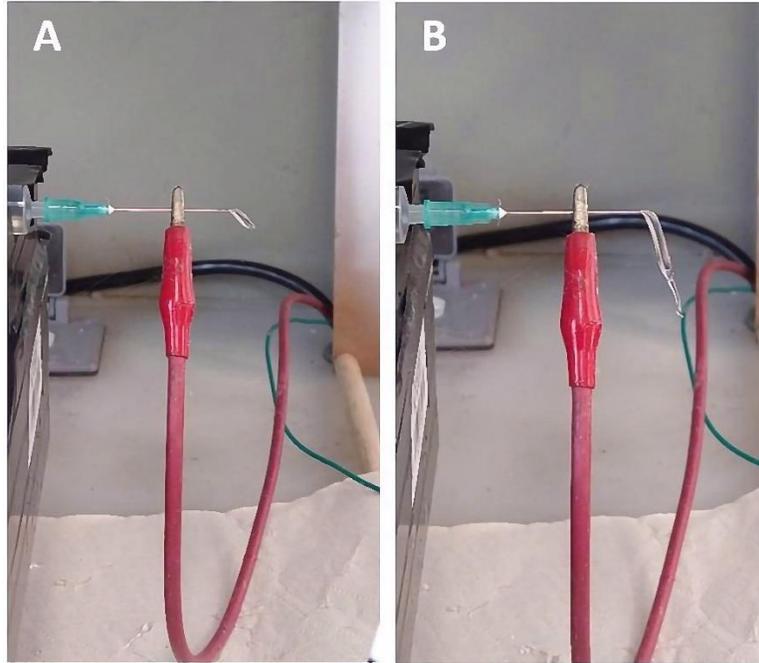


Fig. 30. Acumulación de PVA en la punta de la jeringa del equipo de electrohilado.

D. Muestra biológica

Las muestras biológicas presentaron óptimas condiciones en cada etapa en donde estas fueron empleadas, pues esto debido a como se obtuvieron una vez el cerdo fue sacrificado, los tejidos no presentaron rigidez por la descomposición y su adecuado transporte permitieron conservar las propiedades de las muestras; por otro lado, el proceso de limpieza y el almacenamiento usados favoreció su estado óptimo en el momento de la realización del ensayo de tracción sobre las mismas.

Se escogió como muestra biológica una aorta porcina debido a que el sistema circulatorio del cerdo presenta similitudes con el del ser humano, la conformación, la circulación sanguínea, y de nuestro interés, la estructura de las arterias, que para el ser humano están compuestas de tres capas, o tunicas, la capa interna, intermedia y externa [25], [26]. Al terminar el ensayo de tracción y retirar la muestra de las mordazas, se puede observar cómo en la aorta porcina, en especial en las muestras transversales, hay presencia de las capas que rodean una a la otra de manera concéntrica, de esta manera se comprende como logra alcanzar valores altos para la resistencia máxima, en la Fig. 31 se muestran los cortes transversales de dos aortas que terminaron el ensayo de tracción y

como las capas se desgarran en distintas partes, tanto interna como externamente, en la Fig. 32 se muestra un esquema de la estructura que presentan las aortas.

Al realizar este ensayo, se empieza a observar cómo los cortes transversales y longitudinales de la aorta porcina presentaron baja elongación, pero al detallar los resultados que estaba arrojando la máquina de ensayos universal, se evidenció como la muestra estaba soportando un valor alto que el equipo ejercía sobre la muestra, independiente del estado y los valores alcanzados por la elongación, ya para el análisis de los datos tras aplicar las ecuaciones (1) – (4), se ve como logran alcanzar valores muy altos en cuanto a su resistencia máxima, donde los valores más altos fueron alcanzados por los cortes transversales, llegando hasta 2,083 MPa, de manera longitudinal la resistencia máxima ronda los 500 kPa, esos valores se pueden visualizar en la Fig. 22.

Los valores de E y elongación se mantuvieron en el orden de los 200 kPa, ya que las aortas, en su medio natural, no están sometidas a esfuerzos de tensión longitudinal y no se deforman en este sentido, solamente transportan la sangre, además por no tener una gran capacidad de ductilidad y no presentar un alto E a nivel transversal es que en casos de isquemia cardiaca las arterias no soportan mucha elongación a nivel transversal y puede llegar a suceder la falla de la aorta [7].

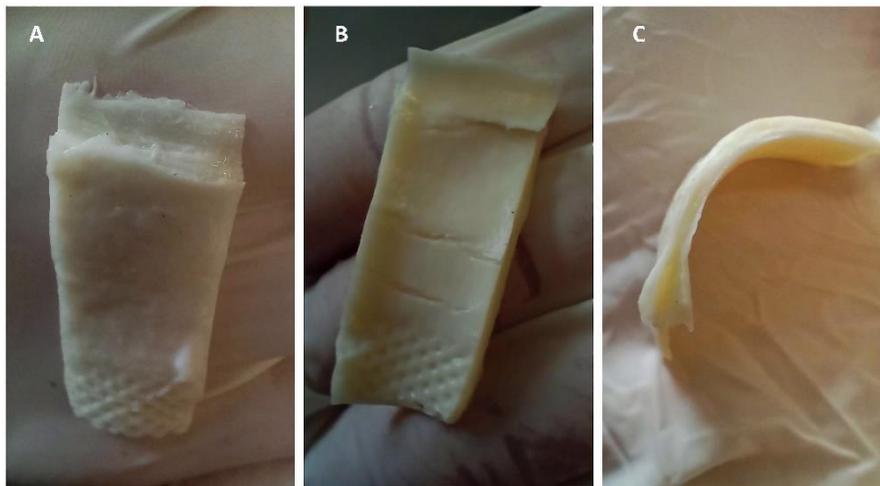


Fig. 31. Cortes de aortas A: Corte transversal anterior muestra 6. B: Corte transversal posterior muestra 6. C: Corte transversal superior muestra 9.

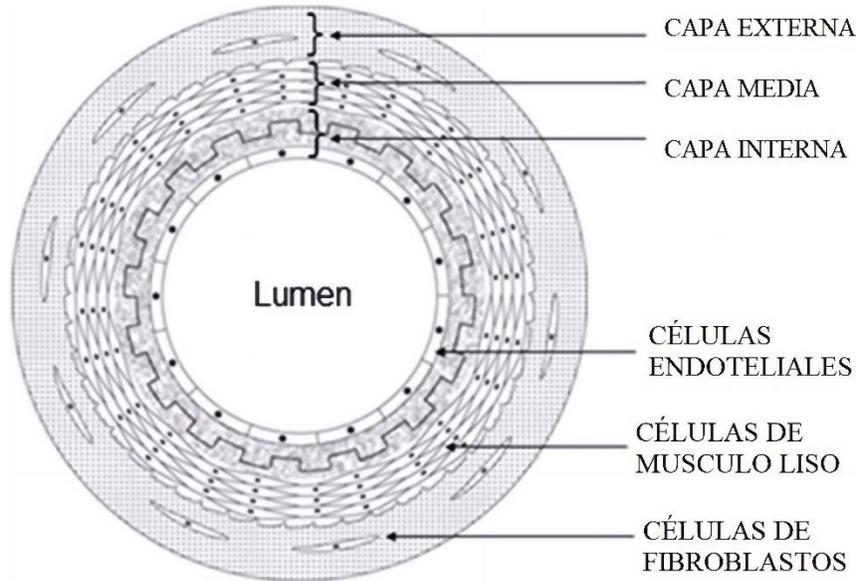


Fig. 32. Esquema estructura pared aorta. Modificado de [25]

E. SEM

La metodología utilizada para lograr visualizar las muestras fue adecuada, en ella no se perdió detalle del área observada y se logró tener gran calidad de la imagen también debido al apropiado uso del equipo de SEM. Tras haber analizado y detallado estas imágenes se logró observar cómo cambió y se modificó la superficie del hidrogel de PVA y como la variación de los parámetros del electrohilado lograron depositar fibras modificando la rugosidad superficial y porosidad, de la TABLA V se evidencia como el proceso de electrohilado genera cambios en la superficie de la mayoría de las muestras en cuanto aumenta su rugosidad por el efecto de la deposición de fibras, pero este mismo genera efecto en contra a razón de que cuando las fibras se fusionan muy bien a la superficie no generan rugosidad apreciable, como lo es el caso de la muestra E, Fig. 33.

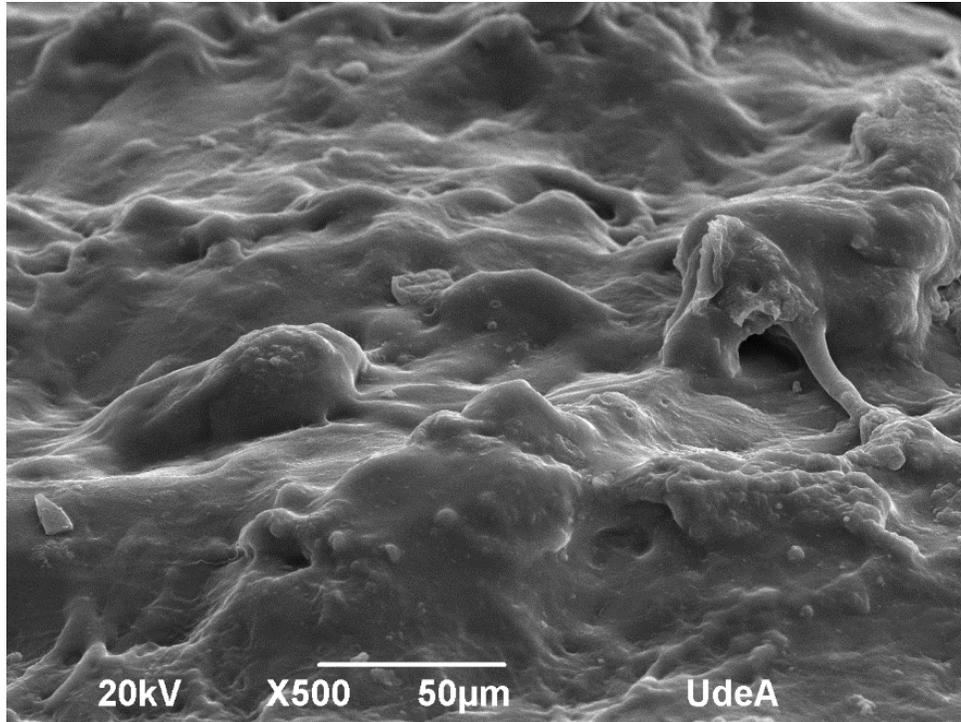


Fig. 33. Muestra E con baja rugosidad.

Según la TABLA VI se tiene que la presencia de fibras en las muestras en su mayoría es baja en donde muchas de estas se encuentran fusionadas a la superficie pero esta baja presencia de fibras se da en los hidrogeles que fueron electrohilados con solución de PVA, en cambio los hidrogeles que fueron electrohilados con solución de PVA-Gel presentaron aumento en la presencia de fibras y de igual forma aumento en el diámetro de estas, acompañada de una concentración de 10 % salvo para la muestra I (Fig. 34) donde las fibras quedaron muy bien fusionadas a la superficie sin dejar lugar a porosidad, solamente rugosidad, las muestras hiladas a 20 kV son las que obtuvieron mayores diámetros, además del aumento del tamaño de fibras debido al aumento del flujo de extrusión, tal y como se ve entre los dos flujos de extrusión las muestras presentan mayores diámetros cuando mayor es el flujo, como lo menciona Haider *et al.* [27], salvo en las muestras B y H.

De las muestras que fueron electrohiladas con solución de PVA todas presentaron porosidad, con diámetros de poro entre 1,79 y 5,86 μm aproximadamente, a excepción de 2 grupos de muestras que no hubo presencia de poro, las muestras A y D; las muestras F presentaron el menor diámetro de poro, estos parámetros constaban de un voltaje aplicado de 20 kV, una concentración de solución de 12,5 % p/v y un flujo de extrusión de 1 mL/h y las muestras E que

presentaron el mayor diámetro de poro (5,86 μm) se electrohilieron con los mismos parámetros de las muestras F con la diferencia del flujo de extrusión el cual fue de 0,1 mL/h, esto va en contra con lo dicho por Haider *et al* [27] donde mencionan que a mayor voltaje y flujo de extrusión se obtienen diámetros de poro mayores. Para la muestra F cumplió que, por el gran entrecruzamiento de fibras, así como se observa en la Fig. 35 hay más porcentaje de área con porosidad, como se muestra en la TABLA VIII.

También se apreció como a medida que aumenta el diámetro de poro de las muestras, se vio como disminuye el porcentaje del área con porosidad, presentando una relación inversamente proporcional entre la presencia de poros y el porcentaje de poros en el área observada, como en la muestra Ñ (Fig. 36).

Para las muestras electrohiladas con solución de PVA-Gel, las que fueron electrohiladas con los grupos de parámetros I, J, N y O no presentaron formación de poro, en las muestras con los demás grupos de parámetros (K, L, M y Ñ) hubo presencia de poros con diámetros aproximados entre 2,288 y 4,123 μm , los resultados donde se evidenció mayor diámetro y su presencia de porosidad obedeció a las muestras que se electrohilieron con menores voltaje aplicado y flujo de extrusión estos resultados van en contra con lo dicho por Haider *et al* [27] ya que ellos describieron que este comportamiento del tamaño del poro es directamente proporcional al flujo de extrusión y el voltaje aplicado, además, Haider *et al.* resaltan la importancia del tamaño de poro ya que es factor determinante para la deposición de otras partículas sobre las distintas muestras, dependiendo de este diámetro, y demás factores como la citotoxicidad de las muestras, definirán que células podrán estar sobre las muestras en cuestión.

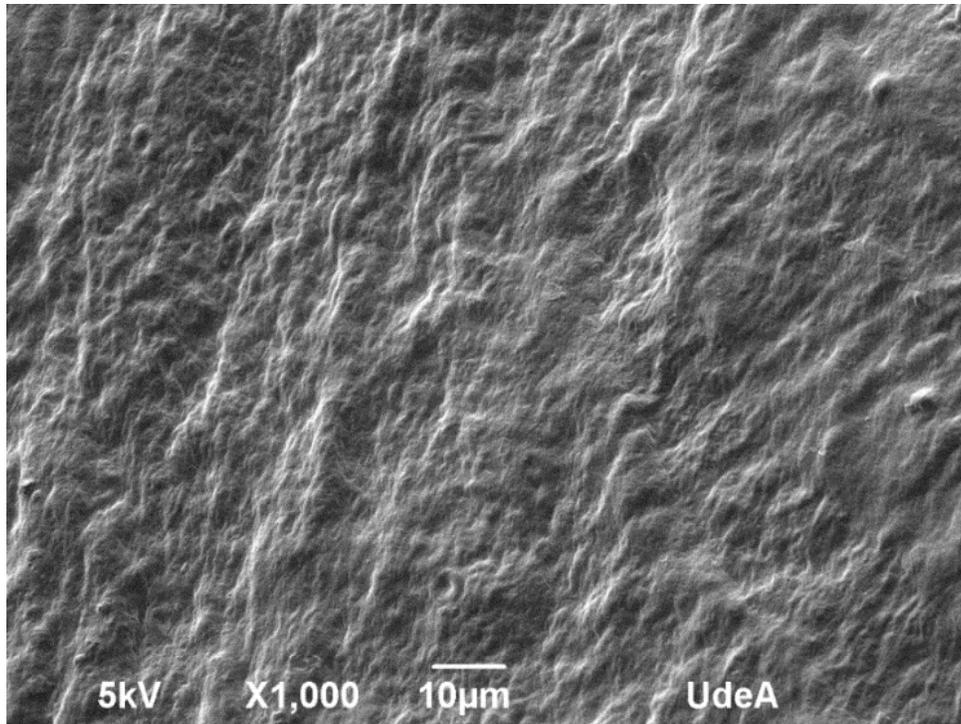


Fig. 34. Muestra I sin presencia de fibras.

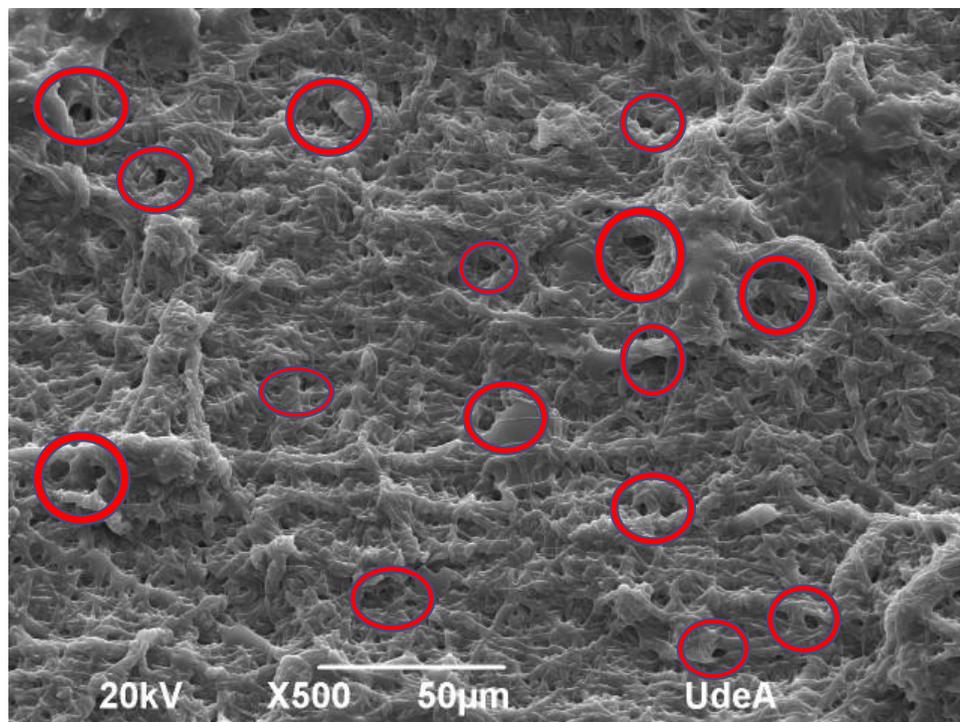


Fig. 35. Muestra F altamente porosa.

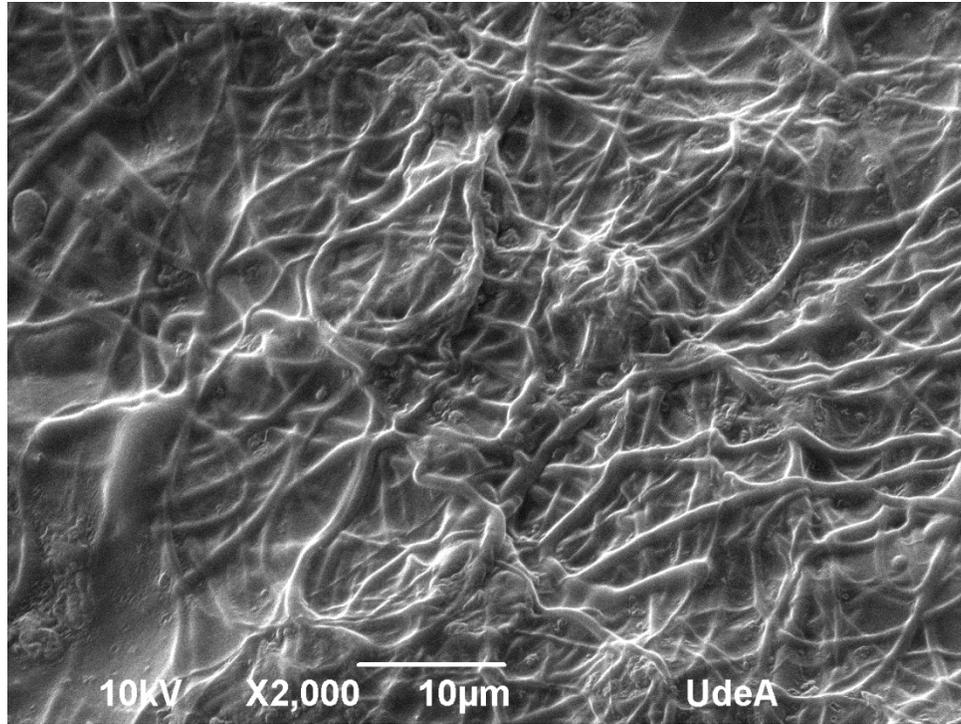


Fig. 36. Muestra Ñ con mayor porcentaje de espacio entre fibras.

Mientras se observaban las muestras en SEM, se evidenció la presencia de pequeñas cápsulas que en un comienzo se supuso que era material acumulado, pero debido a que las muestras electrohiladas se almacenaban y transportaban en bolsas selladas hechas de polietileno de baja densidad (LDPE) se conoció que para su proceso de fabricación se usa un aditivo deslizante llamado erucamida y que por lo general este aditivo queda presente en las bolsas de LDPE [28], por tal razón se sospecha que las partículas encerradas en rojo mostradas en la Fig. 37, corresponde a partículas de erucamida, que posiblemente fueron liberadas de las bolsas de LDPE y adheridas a las muestras por el agua estéril usada para rehidratar la muestra dentro de estas bolsas.

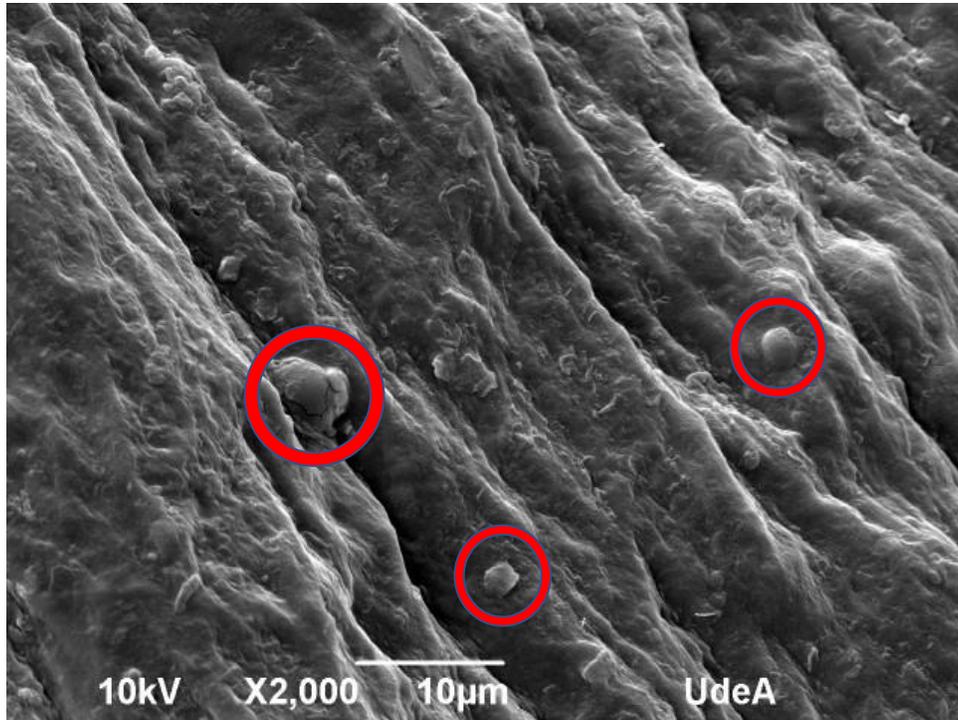


Fig. 37. Muestra M con posibles partículas de Erucamida.

F. Rugosidad

La rugosidad como propiedad morfológica de las muestras es un factor importante en cuanto esta determinará que tanta será la adhesión o el agarre de otros cuerpos sobre la superficie de interés, por tal razón se tiene que, a un mayor grado de rugosidad, se tendrá mayor agarre, que en términos técnicos se puede entender como mayor ángulo de contacto, para hidrogeles como el PVA, Suganthi *et al.* mencionan que a mayor rugosidad el ángulo de contacto es mayor y también que la actividad biológica es mayor sobre estas superficies [29]. Por tal razón se determinó que un mayor valor de Ra para las muestras es favorable para que células, como los fibroblastos, logren adherirse y poder adaptarse al implante. También se evidenció como el electrohilado mejoró la rugosidad de la capa externa del hidrogel, pero esta rugosidad se vio disminuida en ciertas muestras debido a que estuvieron en contacto con agua estéril para que estas volvieran a rehidratarse después del proceso de electrohilado y esto pudo generar la pérdida de esta rugosidad a la hora de ser evaluadas en este ensayo, esto posiblemente se debió al tiempo en contacto con el agua estéril que pudo hidratar más de lo normal y/o disminuir el efecto de la capa electrohilado; las muestras blanco siempre permanecieron almacenadas en tubos Falcon y refrigeradas donde no se modificó la

rugosidad que obtuvieron en el proceso de C/D, caso contrario a las muestras que fueron electrohiladas estuvieron sometidas cambios en su morfología debido a la deshidratación en esta etapa y la rehidratación que tuvieron. Pero cerca de la mitad de las muestras se mejoró la rugosidad superficial, donde se logró alcanzar valores de hasta 3,64 μm .

G. Tracción

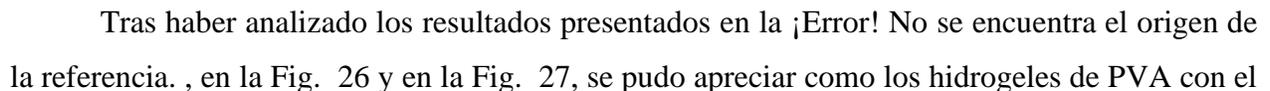
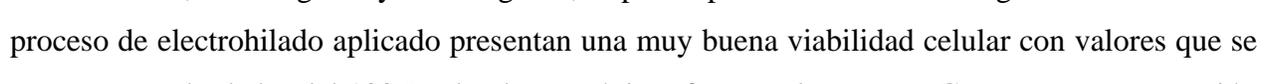
Después de culminar satisfactoriamente los ensayos de tracción sobre todas las muestras y obteniendo los resultados mostrados en la TABLA VIII y en la TABLA X se tomó como mejor resultado a las muestras electrohiladas con los parámetros C, G, M y N debido a que estas fueron las muestras de mayor valor en su resistencia máxima, por esta razón fueron seleccionadas para que se les aplicara el ensayo de citotoxicidad. De estas muestras poco comparten parámetros en común, salvo los parámetros que permanecieron constantes enunciados en la TABLA II, para las muestras C, G y M fueron electrohiladas con un flujo de extrusión de 0,1 mL/h, dos de ellas fueron electrohiladas con solución de PVA (C y G) y las otras dos (M y N) fueron electrohiladas con solución de PVA-Gel.

El proceso de electrohilado generó cambios sobre las propiedades medidas en este ensayo, pero las muestras blanco se destacaron entre las demás obteniendo valores superiores que ciertas muestras electrohiladas, su ductilidad fue mayor sobre seis muestras, su E se ubicó superior a nueve muestras, siendo mayor que el E de todas las muestras electrohiladas con solución PVA-Gel y fue superior a seis muestras en su resistencia máxima.

El E se conoce como la medida de la capacidad de un material para soportar cambios de longitud cuando el material está bajo tensión o compresión longitudinal, este es igual al esfuerzo longitudinal sobre la deformación [30], tal y como se muestra en la ecuación (3). La elongación es la capacidad de un material de deformarse permanentemente en respuesta a la tensión, este se mide a partir del porcentaje de elongación [31], tal y como se hizo con la ecuación (4). Esto se trae en mención debido a que son valores importantes que se obtuvieron de la gráfica de esfuerzo-deformación (Fig. 22 y Fig. 25) y dan información relevante sobre el comportamiento de las muestras y entre si se relacionan debido a que el E nos permite conocer que las muestras logran soportar grandes cambios de longitud y por tal razón las muestras poseen valores tan altos de ductilidad, de hasta el 221,75 % para la muestra M y que casi en su totalidad superan el 100 % de

elongación, es decir, lograron estirarse más del doble de su longitud inicial, esto salvo en dos ocasiones en que las muestras B y J tuvieron una ductilidad de 62,80 y 97,28 % respectivamente. Ya comparando con los resultados para las aortas mostrados en la TABLA IV y los resultados de las muestras, se evidenció como todas las muestras superan la ductilidad, tanto transversal como longitudinal de las aortas, con excepción de la muestra B que es el valor más bajo de ductilidad. En cuanto al E obtuvo un valor que se ubicó sobre 10 y 5 muestras a nivel transversal y longitudinal, respectivamente. La resistencia máxima alcanzada por las muestras no fue capaz de superar los promedios de resistencia máxima de las aortas (1332,26 kPa y 647,06 kPa para cortes transversales y longitudinales respectivamente), pero si se acerca a la resistencia máxima longitudinal de las aortas, y en ciertos ensayos si fue capaz de superar, pero solamente por las cuatro muestras que obtuvieron la mejor resistencia máxima, las muestras C, G, M y N.

H. Citotoxicidad.

Tras haber analizado los resultados presentados en la  y en la , se pudo apreciar como los hidrogeles de PVA con el proceso de electrohilado aplicado presentan una muy buena viabilidad celular con valores que se encontraron alrededor del 100 %, donde su máximo fue para la muestra G con una concentración de 50 % que alcanzó una viabilidad del 117,18 % y su mínimo con un porcentaje de viabilidad del 80,376 % que fue la muestra que menor porcentaje de viabilidad fue la G con una concentración del 75 %. Se tomó como base lo que dice la norma ISO 10993-5 del 2009 donde manifiesta que, si supera una viabilidad del 70 % en la prueba de citotoxicidad, o hay una reducción de la viabilidad celular menor al 30 %, el material no genera efectos citotóxicos sobre las células vivas, por tal razón se puede tomar que las muestras son inertes y no generaran reacción negativa sobre el organismo [32], [33].

I. Análisis general.

El ácido poliláctico (PLLA) es un polímero biodegradable usado un implante vascular también obtenido por electrohilado, al cual Henry *et al* [34]. lo produjeron por este método y le realizaron ensayo de tracción a esas muestras obtenidas y las compararon con las propiedades

mecánicas de un implante de ePTFE y una muestra biológica la cual fue una arteria carótida, esto mostrado en la TABLA XIII. Comparando los datos de la TABLA IV se evidencia como los valores promedios de las aortas porcinas, para resultados de corte transversal, están dentro del rango estipulado para la arteria carótida en materia de resistencia máxima y elongación, pero esta última supera por mucho en sus valores de E.

Comparando los resultados mostrados en la TABLA VIII y en la TABLA X con los mostrados en la TABLA XIII, se ve como en esta última los valores de resistencia máxima y E son valores muy altos, en el orden de los MPa, mientras que los valores alcanzados por las muestras del proyecto están en el orden de los kPa, siendo superados por los valores de las muestras de PLLA y de ePTFE de la TABLA XIII, pero comparando con la resistencia máxima de la arteria carótida con los mostrados en las tablas VIII y X se observa como la muestra C alcanza un valor promedio de resistencia máxima de 653,78 kPa y como la muestra N alcanzó valores promedio para la resistencia máxima de 541,22 kPa, estando alrededor de la mitad de valores de resistencia máxima para arterias carótidas.

TABLA XIII
PROPIEDADES MECÁNICAS VASOS SANGUÍNEOS HUMANOS Y BIOPOLÍMEROS [34]

Muestra	Resistencia Max (MPa)	E (MPa)	Elongación (%)
PLLA	3.7 ± 0.2	170.0 ± 7.6	40%
PLLA/5%PLLA	3.8 ± 0.2	180.0 ± 10.1	< 10%
PLLA/5%PCL	1.9 ± 0.1	67.0 ± 8.7	>75%
ePTFE	6	60	20–30%
Arteria Carótida	1–2	7–11	60–70%

Hecho un análisis de manera individual de todos los resultados obtenidos, se vio como el proceso de electrohilado alteró de manera significativa las propiedades de los hidrogeles, en la TABLA XIV se muestran los resultados que se consideraron suficientes para cada prueba tras haber superado los valores de la muestra blanco y alcanzar los mejores valores para sus propiedades, con una línea se marcó los valores que no lograron satisfacer las propiedades y un valor porcentual para los valores de resistencia mecánica máxima comparados con la resistencia máxima longitudinal de la muestra biológica (arteria porcina).

TABLA XIV
MEJORES RESULTADOS SEGUN MUESTRAS

MUESTRA	RUGOSIDAD POR SEM	PRESENCIA DE FIBRAS	PRESENCIA DE POROS	PERFILOMETRÍA	E	RESISTENCIA MAX [%]	CITOTOXICIDAD
A	Suficiente	---	---	Suficiente	Suficiente	51,90	---
B	Suficiente	Suficiente	Suficiente	Suficiente	Suficiente	53,68	---
C	Suficiente	---	---	---	Suficiente	101,04	Suficiente
D	Suficiente	---	---	Suficiente	Suficiente	50,56	---
E	---	---	Suficiente	---	Suficiente	67,49	---
F	Suficiente	Suficiente	Suficiente	---	Suficiente	60,11	Suficiente
G	Suficiente	---	Suficiente	---	Suficiente	74,80	Suficiente
H	Suficiente	Suficiente	Suficiente	---	Suficiente	58,29	---
I	Suficiente	---	---	Suficiente	Suficiente	64,08	---
J	Suficiente	Suficiente	---	---	Suficiente	37,79	---
K	Suficiente	Suficiente	Suficiente	Suficiente	---	44,77	---
L	Suficiente	---	---	Suficiente	---	59,01	---
M	Suficiente	Suficiente	---	Suficiente	---	75,09	Suficiente
N	Suficiente	Suficiente	---	---	Suficiente	83,64	Suficiente
Ñ	Suficiente	Suficiente	Suficiente	---	-----	48,02	---
O	Suficiente	---	---	---	---	55,95	---

El cambio más significativo se observó en la morfología de la superficie de las muestras incrementaron su topografía y relieve, comprobado gracias a las imágenes de SEM, en comparación a la muestra control, salvo en ciertas situaciones como lo fue la ya mencionada muestra E, por tal razón la clasificación asignada en la TABLA XIV De acuerdo con las imágenes de SEM, Fig. 23, y los resultados que se obtuvieron y mostraron en la TABLA V y en la TABLA VI, se clasificó como suficiente o no la rugosidad de la muestra, la presencia de fibras y poros, pues

se conoce que en el orden de los micrómetros se encuentra el tamaño de las células[35] y fibroblastos (diámetros que no superan los 30 μm) [36]; bien por el tamaño y la cantidad de poros que hay en la muestra, estas células pueden llegar a ubicarse entre los poros y tener mejor adhesión a la muestra debido a la presencia de fibras, que también tendrían tamaño similar, y de la misma rugosidad que el proceso de electrohilado mejoró en su superficie [35].

La perfilometría permitió conocer mejor como fue el cambio en la superficie en cuanto a la rugosidad de las muestras, pero no todas superaron la rugosidad de la muestra blanco por posibles causas que se explicaron en la discusión, pero teniendo en cuenta que a mayor rugosidad implica mayor adherencia de compuestos biológicos, se tomó como suficiente las muestras que superaron la rugosidad de la muestra blanco y no se descartaron por completo los resultados para las muestras que estuvieron por debajo de este valor, ya que por lo visto en SEM si mejoró la capa externa.

Las propiedades mecánicas que presentaron las muestras biológicas fueron valores muy altos que a los hidrogeles se les dificultó llegar, esto debido a la estructura y forma que presentan las muestras biológicas (Fig. 31 y Fig. 32), se tomó como referente el esfuerzo longitudinal de las muestras biológicas y se tomó como hidrogeles adecuados a los que superaron su E; además por los altos valores de la resistencia máxima de las aortas porcinas se tomó como proximal o como muestras opcionales a los que obtuvieron mejores valores con respecto a la resistencia máxima, por tal razón esas muestras no fueron descartadas en la TABLA XIV.

El efecto citotóxico que presentó las muestras evaluadas fue nulo, pues ante el ensayo su viabilidad celular fue muy alta, por tal razón las muestras a las que se les aplicó este ensayo se consideraron como muestras suficientes, las demás muestras no se rechazan debido a que no se les aplicó el ensayo, pero al haber realizado todas muestras con la misma sustancia (hidrogel de PVA con recubrimiento electrohilado de PVA) se deduce que el efecto citotóxico será similar para las demás muestras.

Las muestras biológicas evaluadas fueron aortas porcinas las cuales son las arterias de mayor diámetro, presentando diámetros de entre 20 y 25 mm, y las que mayores propiedades de resistencia mecánicas presentan, debido a que estas reciben la mayor cantidad de sangre del corazón con la mayor fuerza que este puede generar en este punto, mientras más avanza la sangre en su recorrido los diámetros disminuyen, cuando se encuentra en arterias los diámetros aproximados son de 4 mm [38], como los diámetros internos que presentaron los hidrogeles al concluir el proceso de C/D. Además, las aortas deben soportar la presión arterial que genera el

corazón, que esta llega a su máximo valor en los casos de actividad física, alcanzando hasta valores superiores a 200 mmHg [39]. Ya que se tienen unidades de presión (mmHg y Pa) se las relaciona por medio de la ecuación (5) [40]:

$$1 \text{ mmHg} = 133.322 \text{ Pa} \quad (5)$$

Se aplica la ecuación (5) para el valor más bajo de resistencia máxima obtenido en el ensayo de tracción (TABLA VIII y TABLA X), el cual fue 244,54 kPa para las muestras J y se obtiene que esa presión es igual a 1834,23 mmHg el cual es un valor casi de 9 veces el valor máximo que puede llegar la presión arterial, para una presión arterial de 200 mmHg se tiene que es igual a 26,66 kPa, valores muy por debajo de los alcanzados por los hidrogeles.

VII. CONCLUSIONES

- Se desarrollaron de manera exitosa hidrogeles de PVA que contaron con una capa electrohilada de PVA, además de hidrogeles que contaron con capa electrohilada de solución de PVA-Gel, aplicando los parámetros especificados para el proceso de electrohilado, logrando realizar modificaciones superficiales y mejoras en sus propiedades mecánicas.
- Se determinaron las propiedades morfológicas, mecánicas y de citotoxicidad de todas las muestras obtenidas por medio de los ensayos aplicados (SEM, perfilometría, ensayo de tracción y ensayo de citotoxicidad), que ayudaron a evidenciar la mejoría en rugosidad superficial, sus propiedades mecánicas y su citotoxicidad.
- Se compararon las propiedades de los hidrogeles obtenidos con las muestras biológicas permitiendo evidenciar como las muestras biológicas, por su estructura y orientación de fibras, alcanza valores de resistencia mecánica muy altos, hasta más de 2 MPa en comparación con los valores alcanzados por las muestras de PVA, donde el más alto fue de 657,78 kPa.
- El electrohilado permitió modificar la superficie de las muestras. Se evidenció como su efecto y las distintas combinaciones de parámetros generaron buenos resultados sobre las superficies como lo fue valores de rugosidad de hasta 3,64 μm , este para el caso para las muestras electrohiladas con los parámetros A (voltaje aplicado: 20 kV, concentración PVA: 10 % p/v, flujo de extrusión: 0,1 mL/h).
- Las condiciones que permanecieron constantes en el proceso de electrohilado no generaron alteraciones aparentes, los parámetros de temperatura y humedad que afectaron directamente al hidrogel durante el tiempo del electrohilado generaron resequedad y adherencia de este a la varilla molde en donde este era electrohilado.
- La morfología observada por SEM evidenció que las muestras con mayor presencia de fibras y poros fueron las muestras electrohiladas con los parámetros F (voltaje: 20kV, concentración de PVA: 12,5 % p/v, flujo de extrusión: 1 mL/h) y Ñ (voltaje: 15 kV, concentración PVA-Gel: 12,5 % p/v, flujo de extrusión: 0,1mL/h), la concentración de solución es idónea para alcanzar esta presencia de fibras para soluciones de PVA y PVA-Gel.
- Las propiedades mecánicas alcanzadas por las muestras lograron competir con las propiedades de las muestras biológicas a mediana escala por cuanto la resistencia máxima no logro ser alcanzada (1,33 MPa para cortes transversales y 647,05 kPa para cortes longitudinales), pero si

muchos valores en cuanto a E (promedios de E no mayores a 295 kPa para las muestras biológicas), donde también es útil una buena respuesta para las necesidades elásticas que llega a necesitar el implante cardiovascular.

- Las propiedades mecánicas fueron mejoradas a mayor nivel con los recubrimientos realizados en electrohilado con solución de PVA cuyo promedio en resistencia máxima fue de 408,34 kPa contra 378,82 kPa que logró en promedio las muestras electrohiladas con solución de PVA-Gel, comparadas con el promedio de las muestras blanco que fueron 348,90 kPa.
- Tras aplicar la ecuación (5) se evidenció que las muestras son suficientes para soportar las exigencias del sistema vascular humano donde la presión máxima alcanzada ante actividad física son valores muy por debajo (26,66 kPa) de los valores se lograron alcanzar los hidrogeles.
- Evaluando en conjunto los resultados para las muestras, se puede decir que una muestra que logra satisfacer mejor las solicitudes del tejido vasculares la muestra B que tiene como parámetros una concentración de solución de PVA del 10 % p/v, un voltaje aplicado de 20 kV y un flujo de extrusión de 1 mL/h.

VIII. RECOMENDACIONES

- Para mejorar las propiedades mecánicas se debe optar por simular aún más la estructura de las arterias, es decir, obtener hidrogeles con capas que le permitan tener una mejor respuesta ante el ensayo de tracción.
- Seguir los protocolos y metodología de los distintos procesos tal y como lo mencionan para evitar pérdidas de material o de insumos para la ejecución de estos.
- Realizar un mejor control sobre la muestra mientras se está en el proceso de electrohilado para evitar la deshidratación de la muestra y la modificación morfológica a causa de la rehidratación.

REFERENCIAS

- [1] Organización Mundial de la Salud, “Las 10 principales causas de defunción,” *9 de diciembre de 2020*, 2020. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- [2] Pontificia Universidad Católica de Chile - Escuela de Medicina, “Cardiopatía Coronaria,” *05/Jul/2018*, 2018. <https://medicina.uc.cl/publicacion/cardiopatia-coronaria/>.
- [3] A. GAVIRIA, “Colombia enfrenta epidemia de enfermedades cardiovasculares y diabetes,” *Ministerio de salud y la protección social*, 2015. <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Colombia-enfrenta-epidemia-de-enfermedades-cardiovasculares-y-diabetes.aspx>.
- [4] E. T. UNIDAD DE SALUD, “Infartos vuelven a ser la primera causa de muerte en Colombia - Salud - ELTIEMPO.COM,” *26 de marzo 2022, 01:02 A. M.*, Mar. 26, 2022. <https://www.eltiempo.com/salud/infartos-vuelven-a-ser-la-primera-causa-de-muerte-en-colombia-660986>.
- [5] Fundación Española del Corazón, “Cirugía de revascularización coronaria - Fundación Española del Corazón,” 2019. <https://fundaciondelcorazon.com/informacion-para-pacientes/tratamientos/cirugia-de-revascularizacion-coronaria.html>.
- [6] J. H. Lin *et al.*, “Tubular polyvinyl alcohol composites used as vascular grafts: Manufacturing techniques and property evaluations,” *Materials Letters*, vol. 190, pp. 201–204, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.matlet.2016.12.097.
- [7] M. Vejar *et al.*, “Adherencia farmacológica y prevención secundaria cardiovascular: una de las principales barreras en el tratamiento de la enfermedad aterosclerótica. Posición del Departamento de Prevención Cardiovascular de SOCHICAR en el uso de la polipíldora en prevención secundaria,” *Revista chilena de cardiología*, vol. 35, no. 3, pp. 270–282, 2016, doi: 10.4067/S0718-85602016000300010.
- [8] PLISA Plataforma de Información en Salud para las Américas, “PAHO/WHO Data - Mortalidad por causa de muerte: nivel por país,” *01 Octubre 2020*. <https://www3.paho.org/data/index.php/es/mnu-mortalidad/mortalidad-por-causa-de-muerte-nivel-por-pais.html>.

- [9] Departamento Administrativo Nacional de Estadística –DANE, “Boletín Técnico Estadísticas Vitales (EEVV) Nacimientos y defunciones,” Bogota DC, Jun. 2020. Accessed: Mar. 28, 2022. [Online]. Available: https://imgcdn.larepublica.co/cms/2020/06/25123829/bt_estadisticasvitales_Itrim_2020pr.pdf
- [10] Boletín Observatorio Nacional de Salud, “Enfermedad cardiovascular principal causa de muerte en Colombia,” *09/Dic/2013*, 2013. https://www.ins.gov.co/Direcciones/ONS/Boletines/boletin_web_ONS/conclusiones.html
- [11] Viva saludable, “Enfermedades Cardiovasculares; Diagnósis y Tratamiento; Viva Saludable - Un sitio de internet de GetHealthyClarkCounty.org,” 2019. <https://www.vivasaludable.org/know-your-risks/cardio-diagnosis-treatment.php>
- [12] Instituto Nacional del Cáncer, “Definición de implante - Diccionario de cáncer - National Cancer Institute,” *02/Feb/2011*. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/implante>
- [13] U.S. Food & Drug Administration (FDA), “Implants and Prosthetics ,” *09/30/2019*, Sep. 30, 2019. <https://www.fda.gov/medical-devices/products-and-medical-procedures/implants-and-prosthetics> (accessed Mar. 28, 2022).
- [14] N. Alexandre *et al.*, “Long term performance evaluation of small-diameter vascular grafts based on polyvinyl alcohol hydrogel and dextran and MSCs-based therapies using the ovine pre-clinical animal model,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 513, no. 1–2, pp. 332–346, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.09.045.
- [15] H. Adelnia, R. Ensandoost, S. Shebbrin Moonshi, J. N. Gavgani, E. I. Vasafi, and H. T. Ta, “Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future,” *European Polymer Journal*, vol. 164, p. 110974, Feb. 2022, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2021.110974.
- [16] C. M. P. A. Hassan, “Structure and Properties of Poly(vinyl alcohol) (PVA),” *Advances in Polymer Science*, vol. 153, 2000, Accessed: Mar. 29, 2022. [Online]. Available: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.383.9981&rep=rep1&type=pdf>
- [17] R. D. Kirkton, H. L. Prichard, M. Santiago-Maysonet, L. E. Niklason, J. H. Lawson, and S. L. M. Dahl, “Susceptibility of ePTFE vascular grafts and bioengineered human acellular

- vessels to infection,” *Journal of Surgical Research*, vol. 221, pp. 143–151, Jan. 2018, doi: 10.1016/J.JSS.2017.08.035.
- [18] W. Joanna, “The Application and Characteristics of Dacron Vascular Graft.,” *Encyclopedia of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, pp. 1–26, 2008.
- [19] L. Wang and A. J. Ryan, “Introducion to Electrospinning,” in *Electrospinning for Tissue Regeneration*, First Published., vol. 1, L. A. Bosworth and S. Downes, Eds. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2011. Accessed: Mar. 29, 2022. [Online]. Available: https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=hyFtAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=The+electrospinning+process,+conditions+and+control&ots=Leavq1mkD_&sig=dhYpCT0Yw751O72ENgOSos1hU4o&redir_esc=y#v=onepage&q&f=true
- [20] G. Landa Baila, “Desarrollo de andamios fibrosos de policaprolactona, condroitín sulfato y ácido hialurónico para regeneración de cartílago,” Zaragoza, 2018. Accessed: Mar. 29, 2022. [Online]. Available: <https://zagan.unizar.es/record/76326/files/TAZ-TFM-2018-077.pdf>
- [21] M. Elkasaby, H. A. Hegab, A. Mohany, and G. M. Rizvi, “Modeling and optimization of electrospinning of polyvinyl alcohol (PVA),” *Advances in Polymer Technology*, vol. 37, no. 6, pp. 2114–2122, 2018, doi: 10.1002/adv.21869.
- [22] “Gamma High Voltage/Series ES.” http://www.gammahighvoltage.com/html/series_es.html.
- [23] “Emulsifier/Homogenizer - Legato 380.” <https://www.kdscientific.com/legato-380-emulsifier.html> (accessed Feb. 24, 2022).
- [24] GRUPO TECNOLOGÍA MECÁNICA, Mitutoyo, and T. Hobson, “Rugosidad Superficial,” *PROCESOS DE FABRICACIÓN*, 2017, [Online]. Available: <http://www3.fi.mdp.edu.ar/tecnologia/archivos/TecFab/10.pdf>
- [25] el Sitio Porcino, “Sistema Circulatorio del Cerdo,” May 29, 2019. <https://www.elsitioporcino.com/articles/2610/sistema-circulatorio-del-cerdo/>.
- [26] Elsevier Connect, “Sistema cardiovascular, anatomía general,” Sep. 29, 2018. <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/sistema-cardiovascular-anatomia-general-arterias-venas> (accessed Apr. 16, 2022).
- [27] A. Haider, S. Haider, and I. K. Kang, “A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and

- biotechnology,” *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 8, pp. 1165–1188, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.ARABJC.2015.11.015.
- [28] P. Morales and R. Salazar, “FENÓMENO DE INMISCIBILIDAD EN PELÍCULAS DE POLIETILENO RAMIFICADO DE BAJA DENSIDAD, PEED, EN PROCESOS DE EXTRUSIÓN DE PELÍCULA SOPLADA,” *Ciencia, Tecnología y Futuro*, vol. 2, no. 1, Dec. 2000, Accessed: Apr. 17, 2022. [Online]. Available: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-53832000000100009
- [29] S. Suganthi, S. Vignesh, J. Kalyana Sundar, and V. Raj, “Fabrication of PVA polymer films with improved antibacterial activity by fine-tuning via organic acids for food packaging applications,” *Applied Water Science*, vol. 10, no. 4, Apr. 2020, doi: 10.1007/S13201-020-1162-Y.
- [30] Britannica and The Editors of Encyclopaedia Britannica, “Young’s modulus | Description, Example, & Facts,” Jul. 03, 2019. <https://www.britannica.com/science/Youngs-modulus> (accessed Apr. 18, 2022).
- [31] Britannica and The Editors of Encyclopaedia, “ductility. Encyclopedia Britannica,” Dec. 09, 2011. <https://www.britannica.com/science/ductility-physics>.
- [32] ISO, “ISO 10993-5:2009 - Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity,” Jun. 2009. <https://www.iso.org/standard/36406.html> (accessed Apr. 18, 2022).
- [33] O. Research Article *et al.*, “Composite scaffold of poly(vinyl alcohol) and interfacial polyelectrolyte complexation fibers for controlled biomolecule delivery,” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, Feb. 2015, doi: 10.3389/fbioe.2015.00003.
- [34] J. J. D. Henry, J. Yu, A. Wang, R. Lee, J. Fang, and S. Li, “Engineering the Mechanical and Biological Properties of Nanofibrous Vascular Grafts for In Situ Vascular Tissue Engineering,” *Biofabrication*, vol. 9, no. 3, p. 035007, Aug. 2017, doi: 10.1088/1758-5090/AA834B.
- [35] K. T. Patton and Elsevier Connect, *Estructura y función del cuerpo humano: Estructura de la célula*, 16th ed. Elsevier, 2021. Accessed: Apr. 19, 2022. [Online]. Available: <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/anatomia-y-estructura-de-la-celula>

-
- [36] Atlas de Histología Animal y Vegetal, Megías M, Molist P, and Pombal MA, “Tipos celulares. Fibroblasto.,” 2019. <https://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/fibroblasto.php>.
- [37] A. Hasan *et al.*, “Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts,” *Acta Biomaterialia*, vol. 10, no. 1, pp. 11–25, Jan. 2014, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2013.08.022.
- [38] T. Y. Tu and P. C. P. Chao, “Continuous blood pressure measurement based on a neural network scheme applied with a cuffless sensor,” *Microsystem Technologies*, vol. 24, no. 11, pp. 4539–4549, Nov. 2018, doi: 10.1007/S00542-018-3957-4.
- [39] C. Álvarez *et al.*, “Efectos de una sesión de ejercicio aeróbico en la presión arterial de niños, adolescentes y adultos sanos,” *artículos de investigación rev Med chile*, vol. 141, pp. 1363–1370, 2013.
- [40] Advanced Converter, “Convertidor de milímetros columna de mercurio a pascal.” <https://www.advancedconverter.com/es/conversion-de-unidades/convertir-presion/mmhg-a-pascals>.