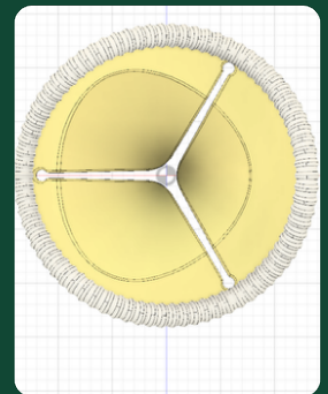
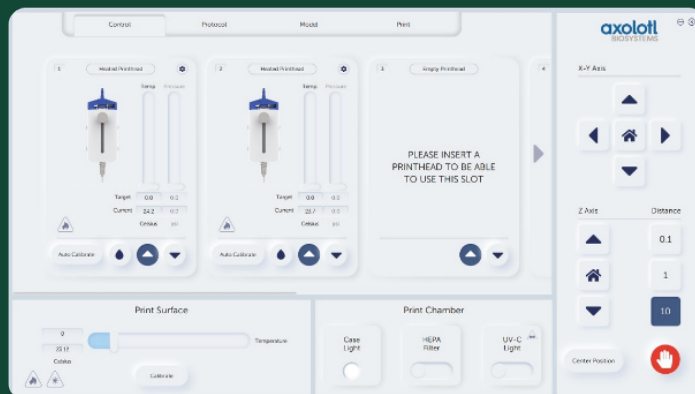
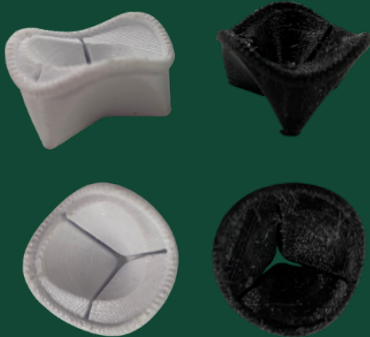
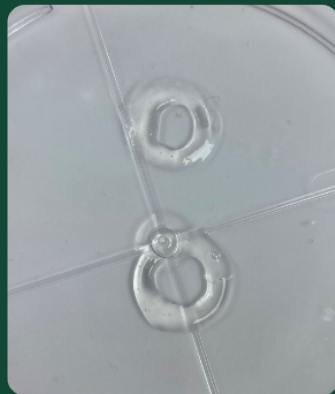
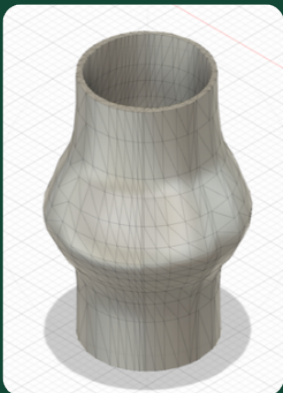

Evaluación de métodos de fabricación de biomateriales mediante impresión 3D para prótesis valvulares en el tratamiento de la estenosis aórtica en Guatemala

María Alejandra Rodríguez Roldán



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



**Evaluación de métodos de fabricación de biomateriales
mediante impresión 3D para prótesis valvulares en el
tratamiento de la estenosis aórtica en Guatemala**

Trabajo de graduación presentado por María Alejandra Rodríguez
Roldán para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería
Biomédica

Guatemala,

2025

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



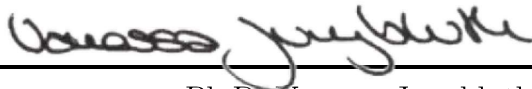
**Evaluación de métodos de fabricación de biomateriales
mediante impresión 3D para prótesis valvulares en el
tratamiento de la estenosis aórtica en Guatemala**


Trabajo de graduación presentado por María Alejandra Rodríguez
Roldán para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería
Biomédica

Guatemala,

2025

Vo.Bo.:

(f) 
Ph.D. Vanessa Jungbluth

(f) 
M.Sc. Carlos Esquit

Fecha de aprobación: Guatemala, 20 de noviembre de 2025.

El presente trabajo es el reflejo de un proceso de crecimiento tanto personal como profesional. Desde los primeros años de la carrera, descubrí que la Ingeniería Biomédica es un campo multidisciplinario con un gran potencial para mejorar la calidad de vida de las personas. A partir de recibir los cursos de Biomateriales e Ingeniería de Tejidos impartidos por la Dra. Mónica Echeverry-Rendón, me interesó como la investigación en laboratorio puede llegar a desarrollar materiales capaces de ser biocompatibles con el cuerpo humano y pueden contribuir a las funciones biológicas.

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta este momento, por darme la fortaleza necesaria para superar cada desafío y por acompañarme siempre. Quiero agradecer profundamente a mis papás, Carlos y Claudia, por su amor incondicional y apoyo constante; son mi mayor ejemplo de esfuerzo y perseverancia. Este logro también les pertenece, gracias por enseñarme a no rendirme y a luchar por mis sueños con humildad, dedicación y excelencia. Pero sobre todo, por recordarme siempre que disfrute cada momento del camino y a nunca dejar de sonreír. A mí Mama Tita, quien siempre creyó en mí y aunque ya no está físicamente conmigo, su recuerdo siempre me acompaña.

A mi asesora, Ph.D. Vanessa Wilma Jungbluth, por su apoyo y guía constante a lo largo del desarrollo de este trabajo. Gracias por compartir conmigo su conocimiento y por motivarme a confiar en mi trabajo. He aprendido mucho de su experiencia y disciplina, así como de su ejemplo profesional y humano que ha dejado una huella en mi formación. A el Ing. Pablo Mazariegos por su guía y ayuda en el proceso de impresión 3D, brindando su orientación. Agradezco también a todos los catedráticos del Departamento de Ingeniería Biomédica por compartir sus conocimientos, su tiempo y su compromiso. También agradezco a la Lic. Irma Orellana por abrirme las puertas de los laboratorios del Departamento de Química, así como acceso a reactivos y materiales utilizados en este trabajo.

A mis amigas, por su apoyo y amistad a lo largo de este proceso y por estar presentes, por las palabras de ánimo, por escucharme y por las risas compartidas. Por último, a la Universidad del Valle de Guatemala, por haber sido mi segundo hogar durante estos años y por proporcionarme las herramientas necesarias para completar mi formación como profesional.

Prefacio	I
Índice de figuras	V
Índice de cuadros	VI
Resumen	VII
Abstract	VIII
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
3. Justificación	4
4. Objetivos	6
4.1. Objetivo general	6
4.2. Objetivos específicos	6
5. Alcance	7
6. Marco teórico	8
6.1. Sistema cardiovascular y anatomía del corazón	8
6.2. Fisiología del corazón	11
6.3. Enfermedades cardiovasculares, estenosis aórtica	12
6.4. Ingeniería de tejidos e impresión 3D	15
6.5. Biomateriales para impresión 3D	15
7. Metodología	17
7.1. Síntesis de quitosano a partir de la quitina comercial	17
7.2. Diseño de plantilla para impresión 3D	19
7.3. Desarrollo de gel para impresión	22
7.4. Caracterización de los materiales para impresión	23

8. Resultados	26
8.1. Síntesis de quitosano a partir de quitina comercial	26
8.2. Impresión de modelo 3D de válvula aórtica en PLA y TPU	29
8.3. Impresión de gel de quitosano	29
8.4. Caracterización de los materiales para impresión	36
9. Discusión	41
9.1. Síntesis de quitosano a partir de quitina comercial	41
9.2. Impresión de modelo 3D de válvula aórtica en PLA y TPU	42
9.3. Impresión de gel de quitosano	43
9.4. Caracterización de los materiales para impresión	44
10. Conclusiones	47
11. Recomendaciones	49
12. Referencias	51

Índice de figuras

1.	Sistema circulatorio ejemplificando el circuito pulmonar y el circuito sistémico	9
2.	Capas del corazón y distribución	9
3.	Ubicación superior de válvulas cardíacas	10
4.	Cambios en el ciclo cardíaco. Cambios de presión, volumen y velocidad en el ciclo cardíaco (a), Ciclo de cambio de volumen vs presión en el ventrículo izquierdo (b)	11
5.	Progreso de estenosis aórtica en una válvula de 3 valvas (tricúspide)	13
6.	Evolución de los tipos de válvulas mecánicas	14
7.	Desacetilación alcalina [63]	17
8.	Preparación de dilución 50 % p/v NaOH	18
9.	Proceso de síntesis de quitina a quitosano	18
10.	Diseño 3D de la válvula semilunar aórtica. Vista frontal de la válvula (a), Vista superior de las valvas de la válvula aórtica semilunar (b)	19
11.	Diseño 3D de prótesis valvular aórtica. Vista inferior de la prótesis valvular (a), Vista lateral de la válvula (b), Vista superior de la prótesis (c)	20
12.	Configuración de impresora y propiedades de impresión para ambos modelos. Modelo de válvula aórtica con dimensiones anatómicas (a), Modelo de prótesis valvular (b)	21
13.	Preparación del material para impresión con quitosano. Creado con BioRender.com	22
14.	Distribución de condiciones evaluadas en ensayo MTT. Blanco (B), control positivo (+), control negativo (-), extracto de quitosano 100 % sin células (C1), extracto de quitosano 100 % (C2), extracto de quitosano 50 % (C3), extracto de PLA 100 % sin células (C4), extracto de PLA 100 % (C5), extracto de PLA 50 % (C6), Extracto de TPU 100 % sin células (C7), extracto de TPU 100 % (C8) y extracto de TPU 50 % (C9) con 5 réplicas por condición	24
15.	Espectros FTIR de quitosano sintetizado y quitosano comercial. Espectro FTIR quitosano sintetizado (a), Espectro FTIR quitosano comercial (b)	27

16.	Comparación de muestras analizadas. Superposición de espectros FTIR de las muestras de quitosano sintetizado (negro) y quitosano comercial (rojo) (a), superposición de espectros FTIR del quitosano sintetizado (negro) y con coincidencia de búsqueda en base de datos Fluka (rojo) (b)	28
17.	Válvulas aórticas impresas en 3D en ácido PLA (blanco) y TPU (negro). Diseño de válvula semilunar aórtica impreso en PLA (a), Diseño de válvula semilunar aórtica impreso en TPU (b), Diseño de prótesis valvular aórtica impreso en PLA (c), Diseño de prótesis valvular aórtica impreso en TPU (d) .	29
18.	Lectura de absorbancia promedio (n=5) obtenida de ensayo MTT con línea celular L929, con barras de error representando la desviación estándar	37
19.	Viabilidad celular (n=5) de línea celular L929 en ensayo MTT bajo distintas condiciones	37
20.	Ensayo de compresión en biomaterial de quitosano con glicerofosfato de sodio (Muestra 13)	38
21.	Pruebas mecánicas en PLA. Ensayo de compresión (a), ensayo de tensión (b)	39
22.	Pruebas mecánicas en TPU. Ensayo de compresión (a), ensayo de tensión (b)	40

Índice de cuadros

1.	Configuración para generación de G-Code para impresión en diferentes biomateriales	20
2.	Rendimiento de la síntesis de quitosano	26
3.	Porcentaje de desacetilación de quitosano sintetizado y quitosano comercial . .	27
4.	Resultados experimentales de mezclas de quitosano sintetizado y comercial . .	30
5.	Resultados de impresión de muestras de quitosano	33

La estenosis aórtica (EA) es una afección cardíaca que limita el flujo sanguíneo desde el ventrículo izquierdo hacia la aorta por el estrechamiento de la válvula aórtica. Para el tratamiento se incluyen desde cambios en el estilo de vida hasta la cirugía. Actualmente, están disponibles los procedimientos poco invasivos como *Transcatheter Aortic Valve Implantation* (TAVI)/ *Transcatheter Aortic Valve Replacement* (TAVR) los cuales han sustituido la cirugía a corazón abierto y demuestran ser efectivos en pacientes de alto riesgo. Este procedimiento comenzó a utilizarse en Guatemala en 2020, con válvulas biológicas ACURATE NEO 2, fabricadas con pericardio porcino y nitinol. Sin embargo, a pesar de mostrar buenos resultados, el acceso al procedimiento es limitado, por depender de proveedores internacionales y altos costos.

Se tiene como objetivo evaluar los métodos de fabricación de biomateriales mediante impresión 3D como alternativa para el tratamiento de estenosis aórtica en Guatemala. Se tienen 4 fases principales: síntesis de quitosano a partir de la quitina comercial, diseño del modelo 3D de válvula aórtica, impresión del modelo 3D y caracterización de los materiales con ensayo de biocompatibilidad y pruebas mecánicas de compresión y tensión. Los resultados mostraron que el ácido poliláctico (PLA) es altamente biocompatible mientras que el poliuretano termoplástico (TPU) y quitosano son moderadamente citotóxicos. Mientras que en términos de propiedades mecánicas el TPU es el material con características rígidas y elásticas, acercándose más a las propiedades naturales de una válvula aórtica. Esto establece bases para biomateriales al diseño valvular cardíaco.

Palabras clave: estenosis aórtica, impresión 3D, biocompatibilidad, pruebas mecánicas, quitosano.

Aortic stenosis (AS) is a cardiac condition that limits blood flow from the left ventricle to the aorta due to the narrowing of the aortic valve. Treatment options range from lifestyle modifications to surgery. Currently, minimally invasive procedures such as Transcatheter Aortic Valve Implantation (TAVI) or Transcatheter Aortic Valve Replacement (TAVR) have replaced open-heart surgery and have proven to be effective in high-risk patients. This procedure began to be used in Guatemala in 2020, employing ACURATE NEO 2 biological valves made from porcine pericardium and nitinol. However, despite showing good outcomes, access to the procedure remains limited due to dependence on international suppliers and high costs.

The objective of this study is to evaluate fabrication methods for biomaterials through 3D printing as an alternative treatment for aortic stenosis in Guatemala. The project consists of four main phases: synthesis of chitosan from commercial chitin, 3D modeling of the aortic valve, 3D printing of the model, and material characterization through biocompatibility assays and preliminary mechanical compression and tensile tests. The results showed that polylactic acid (PLA) exhibited high biocompatibility, while thermoplastic polyurethane (TPU) and chitosan were moderately cytotoxic. In terms of mechanical properties, TPU demonstrated rigid and elastic characteristics, most closely resembling the natural properties of an aortic valve. This establishes a foundation for biomaterials in cardiac valve design.

Keywords: aortic stenosis, 3D printing, biocompatibility, mechanical testing, chitosan.

La estenosis aórtica (EA) es una enfermedad cardiovascular que es una cardiopatía degenerativa que se caracteriza por el estrechamiento de la válvula aórtica, lo que afecta el flujo de sangre del ventrículo izquierdo hacia la aorta. Más de 5 millones de personas son diagnosticadas anualmente en Estados Unidos y más de 25,000 muertes son causadas por las enfermedades cardiovasculares [1]. En América Latina se registraron 2 millones de muertes y en Guatemala se reporta que el 55.32 % de cirugías cardíacas se realizan por cambio valvular aórtico [2], [3]. Actualmente, el tratamiento es el reemplazo de válvula aórtica y se utilizan procedimientos poco invasivos para su reemplazo, los cuales se empezaron a implementar en Guatemala a partir de 2020 [4].

En Guatemala, se tienen limitaciones de acceso al procedimiento y el tratamiento también tiene un costo elevado, además de depender de proveedores internacionales para la obtención de las válvulas. Por lo que, conociendo esta problemática se plantea el siguiente proyecto para evaluar los métodos de fabricación de biomateriales mediante impresión 3D como una alternativa para el tratamiento de estenosis aórtica en Guatemala. Para ello, el proyecto abordó varias fases iniciando desde la síntesis de quitosano a partir de la quitina comercial, el diseño 3D de un modelo de válvula aórtica con dimensiones anatómicas, la impresión 3D del modelo y la caracterización de los biomateriales realizando ensayos de biocompatibilidad bajo la norma ISO 10993-5 y pruebas mecánicas de compresión y tensión.

El presente trabajo se encuentra estructurado de manera que el los capítulos 2 y 3 se presentan los antecedentes más relevantes relacionados con la estenosis aórtica y la justificación de la realización del proyecto. Luego siguen los objetivos en el capítulo 4 y el capítulo 5 muestra el alcance del proyecto, así como las limitaciones. En el capítulo 6, se colocaron los fundamentos teóricos para comprender la afección cardíaca, los biomateriales y la impresión 3D. En el capítulo 7, se describe la metodología seguida para la realización del proyecto y el capítulo 8 se muestran y describen los resultados más relevantes. En el capítulo 9 se contrastan los resultados con la literatura, siendo la discusión y termina exponiendo las conclusiones y recomendaciones en los capítulos 10 y 11.

La estenosis aórtica (EA) es una cardiopatía congénita o adquirida degenerativa donde la válvula disminuye el área efectiva para el flujo de sangre [5]. Por lo que, se presenta el estrechamiento de la válvula aórtica reduciendo el flujo sanguíneo desde el ventrículo izquierdo hacia la aorta. El tratamiento para la estenosis aórtica se ha determinado en función de los síntomas presentados por el paciente. Por lo general, este puede consistir en medicamentos, cambios en el estilo de vida y cirugía. Los medicamentos se toman en su mayoría como cuidados paliativos cuando la afección cardíaca es muy grave, ya que ayudan a controlar los síntomas [6]. Además, el cambio en el estilo de vida involucra una dieta baja en sodio (consumo de sal), realizar actividad física moderada y controlar el consumo de grasas (colesterol).

Los tratamientos disponibles para la estenosis aórtica han cambiado conforme la medicina va evolucionando y avanzando. La implementación de la tecnología y la ingeniería en la medicina, a través de la ingeniería biomédica, ha permitido la disponibilidad de tratamientos innovadores. De manera que, involucrando la ingeniería de tejidos y el uso de biomateriales permite el desarrollo de prótesis más eficientes y accesibles.

El “*gold standard*” es la cirugía de Sustitución Valvular Aórtica (SVA), la cual puede ser por medio de una esternotomía completa (cirugía convencional) o miniesternotomía (cirugía menos invasiva), ambas técnicas siendo cirugías a corazón abierto [7], [8]. Además, en la actualidad se emplean los procedimientos poco invasivos *Transcatheter Aortic Valve Implantation* (TAVI) o *Transcatheter Aortic Valve Replacement* (TAVR) para realizar el reemplazo de la válvula aórtica deteriorada [9]. Estas técnicas se han implementado teniendo resultados prometedores y son recomendadas para pacientes de alto riesgo quirúrgico [7]. En este procedimiento se introduce una válvula expandible a través de un catéter por medio de la arteria femoral en la ingle.

Para el reemplazo de la válvula aórtica se han desarrollado dos tipos principales de prótesis: válvulas biológicas y válvulas mecánicas. Las válvulas biológicas, también llamadas bioprostéticas, se derivan de tejidos animales o humanos. En general, las que se encuentran disponibles comercialmente son las válvulas de xenoinjerto porcino (tejido de cerdo) o

pericárdicas bovinas (tejido de vaca) y las válvulas de aloinjerto u homoinjerto (donantes cadavéricos humanos) [10]. También se trabaja el reemplazo con válvulas mecánicas, las cuales están hechas de materiales fuertes y duraderos [11]. Existen tres tipos básicos de válvulas mecánicas, de dos valvas (bileaflet), de una valva (monoleaflet) y de bola cautiva (caged ball valves) [12].

El procedimiento TAVI/TAVR se ha implementado en Guatemala, para realizar el reemplazo de la válvula aórtica en pacientes con estenosis aórtica. Hospitales como el Centro Médico, El Pilar, Herrera Llerandi y UNICAR han implementado con éxito el procedimiento para el reemplazo valvular [13], [14], [15], [16], [4]. Además, en los procedimientos exitosos se han utilizado válvulas cardíacas hechas de nitinol flexible y pericardio de cerdo (ACURATE NEO 2) [13], [15]. La implementación del procedimiento se ha realizado por equipos multidisciplinarios que involucran a cardiólogos intervencionistas, cirujanos cardiovasculares, anestesiólogos, perfusionistas, enfermeras, ecografistas, terapistas de cuidados intensivos y especialistas/técnicos de producto.

A pesar de contar con estos avances, el acceso a este procedimiento es limitado, ya que en su mayoría está disponible en hospitales privados. Los costos elevados del tratamiento, la infraestructura que se requiere, obtención de válvulas por fabricantes internacionales y la necesidad de tener un equipo capacitado son factores que han influido a que la disponibilidad del procedimiento sea restringida. Además, Guatemala comenzó a utilizar este tipo de tratamientos en 2020, con la realización del primer procedimiento TAVI a finales de ese año, evitando la cirugía a corazón abierto para tratar la enfermedad [4].

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte a nivel internacional, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que 17.9 millones de personas fallecieron a causa de estas en 2019, lo que representa el 32 % de las muertes totales [17]. Dentro de las ECV, se encuentran las enfermedades cardíacas valvulares (Heart Valve Disease, HVD), las cuales afectan significativamente la salud cardíaca. En Estados Unidos más de 5 millones de personas son diagnosticadas anualmente y más de 25,000 muertes se atribuyen a estas afecciones al año [1]. En particular, la enfermedad valvular aórtica (Aortic Valve Disease, AVD) es una de las principales causas de muerte, reportándose un aproximado de 15,000 muertes atribuidas a la AVD hasta 2009 [18].

En contraste, en América Latina, las ECV siguen siendo la causa principal de muerte en la región, en 2019 se registró un total de 2 millones de muertes atribuidas a estas enfermedades [2]. Haití presentó la mayor tasa de mortalidad con 428.7 defunciones por cada 100,000 habitantes, mientras que en Guatemala la tasa fue de 142.1 muertes por cada 100,000 habitantes, situando al país por debajo del promedio regional de 158.7 muertes [2].

En este contexto, un estudio realizado en la Unidad de Cirugía Cardiovascular de Guatemala (UNICAR), encontró que el 55.32 % de las cirugías de cambio valvular cardíaco fueron necesarias debido a lesiones en la válvula aórtica [3]. En las lesiones aórticas, está la estenosis aórtica siendo una de las principales afecciones para realizar el cambio valvular. El estudio de UNICAR también reveló que los principales pacientes sometidos al procedimiento pertenecen a la población mayor, con un 50 % de los intervenidos en el rango de 56 a 75 años [3].

Hasta antes de 2020, el reemplazo de válvula cardíaca en Guatemala se realizaba principalmente con cirugía a corazón abierto. Sin embargo, a partir de finales de 2020, se comenzó a implementar con éxito el procedimiento TAVI/TAVR [14]. En los procedimientos tradicionales, la mayoría de las válvulas utilizadas para el reemplazo valvular aórtico eran mecánicas (49.1 %), mientras que 10.7 % fueron biológicas [3]. Actualmente, para el procedimiento TAVI/TAVR se utiliza una válvula transcatóter ACURATE NEO 2, que se considera biológica debido a que está hecha de tejido animal (pericardio del cerdo) y nitinol flexible [15].

A pesar de que, en Guatemala, ya se está implementando el procedimiento de reemplazo valvular cardíaco en hospitales como Centro Médico, El Pilar, Herrera Llerandi y UNICAR, las válvulas utilizadas son importadas de países como Estados Unidos [19]. Asimismo, no se cuenta con la infraestructura necesaria para la fabricación de válvulas cardíacas de ningún tipo dentro del país por lo que, se tiene una dependencia de proveedores internacionales, tanto para las válvulas biológicas como para las mecánicas [20]. Además, la evolución de la cardiología en Guatemala ha enfrentado varios desafíos en la implementación de nuevas tecnologías, sin embargo, debido a la falta de infraestructura y recursos es un proceso lento y costoso [21].

Al importar las válvulas cardíacas, se aumentan los costos y se limita el acceso a los tratamientos, especialmente en países como Guatemala. Sin embargo, el desarrollo de prótesis valvulares mediante las técnicas de impresión 3D es una alternativa que incentiva la fabricación local implicando un menor costo y una posibilidad personalización anatómica para cada paciente. El avance significativo de la tecnología de impresión 3D médica incluye la reducción de la duración de los procedimientos quirúrgicos, así como la mejora de la planificación preoperatoria [22]. Además, estas son técnicas que se han convertido en una opción viable en el campo biomédico, donde se pueden construir estructuras 3D de tejido biológico para crear estructuras funcionales biocompatibles con el cuerpo humano [23].

Existen varias técnicas de impresión que permiten diseñar y fabricar estructuras complejas que con métodos tradicionales serían difíciles de crear. En este caso, técnicas como la estereolitografía (SLA) y el modelado por deposición fundida (FDM), permiten tener precisión y versatilidad, implementando el uso de diversos biomateriales [24]. Por ende, en la fabricación de válvulas cardíacas estos avances tecnológicos ayudan a crear estructuras complejas y realizar el modelado 3D con medidas anatómicas exactas para el paciente [25]. Además, la bioimpresión 3D ha surgido para las aplicaciones en ingeniería de tejidos, por lo que, esta técnica permite la construcción de estructuras biológicas con células y diversidad morfológica y estructural [26].

4.1. Objetivo general

Evaluar métodos de fabricación de biomateriales mediante impresión 3D como una alternativa para las opciones actuales en el tratamiento de estenosis aórtica en Guatemala.

4.2. Objetivos específicos

- Sintetizar el quitosano por medio de la desacetilación alcalina de la quitina comercial.
- Diseñar el modelo 3D de la válvula aórtica con base a dimensiones anatómicas.
- Imprimir en 3D el diseño utilizando biomateriales como PLA (ácido poliláctico), TPU (poliuretano termoplástico) y quitosano.
- Evaluar la biocompatibilidad de las válvulas utilizando el ensayo MTT con fibroblastos de la línea L929.
- Evaluar las propiedades mecánicas de las válvulas mediante ensayo de tracción y compresión.

El presente trabajo de graduación tiene como objetivo principal la evaluación de métodos de fabricación de biomateriales mediante impresión 3D como una alternativa para las opciones actuales en el tratamiento de estenosis aórtica en Guatemala. Para ello, se utilizan materiales que son accesibles en Guatemala y de bajo costo, así como el ácido poliláctico (PLA), el poliuretano termoplástico (TPU) y el quitosano derivado de la quitina obtenido por medio de una desacetilación alcalina y comparado con quitosano comercial.

Este trabajo también se enfoca en la obtención de un diseño 3D de una válvula aórtica, el cual no corresponde a un paciente real, sino a uno obtenido de librerías públicas de modelos biológicos y biomédicos. Además, se verifican las dimensiones del modelo 3D en un software de diseño para ajustarlas a medidas anatómicas reportadas en la literatura científica. Por ende, el estudio no contempla la adquisición ni el procesamiento de imágenes médicas de pacientes, teniendo únicamente un enfoque en la evaluación de los métodos de fabricación.

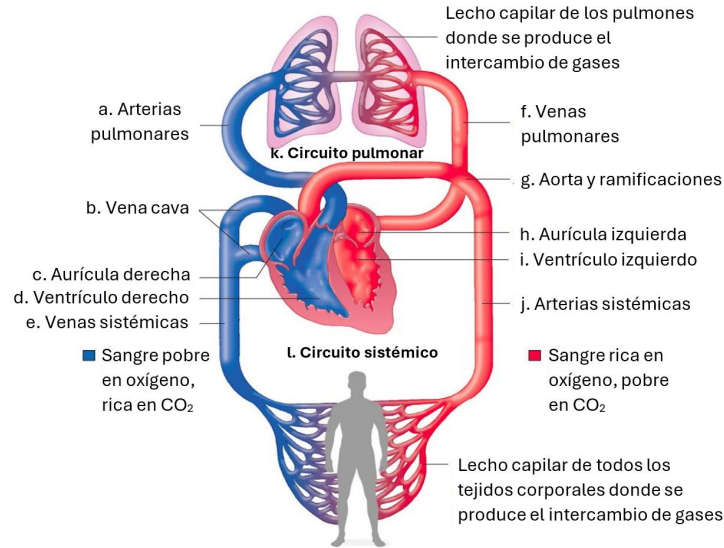
Al obtener el modelo, se realiza la impresión 3D con los biomateriales elegidos para posteriormente realizar pruebas de biocompatibilidad con un ensayo MTT en fibroblastos (L929) y ensayos mecánicos para comparar los resultados con la literatura. Las pruebas mecánicas se realizan en equipos disponibles en la universidad, usando un texturómetro de alimentos para el material a base de quitosano y una máquina universal del departamento de ingeniería civil, por lo que se deben de tomar en cuenta los límites del equipo para probar el PLA y TPU. Este trabajo no realizará pruebas en pacientes con estenosis aórtica para verificar el funcionamiento de la válvula. Por otra parte, la literatura en cuanto a bioimpresión de un modelo 3D específico de válvula aórtica con la bioimpresora Axo A3, es limitada, por lo que se buscan alternativas de materiales y estructuras probadas.

6.1. Sistema cardiovascular y anatomía del corazón

El sistema cardiovascular es un sistema continuo y circular que incluye el corazón y las estructuras vasculares incluyendo los vasos sanguíneos, así como las arterias, capilares y venas; este sistema también es conocido como sistema circulatorio [27]. Este circula la sangre por todo el cuerpo por la acción del corazón, transportando oxígeno y nutrientes a los tejidos y eliminando productos como el dióxido de carbono (CO_2) [28]. Además, está compuesto de dos partes importantes: el circuito pulmonar y el circuito sistémico (Figura 1k y 1l). El circuito pulmonar se encuentra entre el corazón y los pulmones, este transporta sangre desoxigenada a los pulmones para oxigenarla y de regreso al corazón; el circuito sistémico lleva la sangre oxigenada hacia afuera del corazón hacia los tejidos y células y luego de regreso al corazón [29] (Figura 1).

El corazón es el centro del sistema cardiovascular, de él se desprenden varias venas y arterias que recorren el cuerpo (Figura 1) [28]. El tamaño del corazón es un poco más grande que el puño de una persona y en promedio pesa aproximadamente 300 gramos [29]. Es un órgano muscular ubicado en el centro del pecho detrás del esternón, consiste de cuatro cavidades; dos superiores siendo la aurícula derecha (Figura 1c) e izquierda (Figura 1h) y dos inferiores llamados ventrículo derecho (Figura 1d) e izquierdo (Figura 1i) [30]. Este se encuentra en un saco fibroso de doble pared llamado pericardio, dividido en pericardio fibroso y pericardio seroso [31]. El pericardio fibroso es el que envuelve al corazón y se conecta a los principales vasos sanguíneos la aorta, el tronco pulmonar, las venas cavas superior e inferior y las venas pulmonares. El pericardio seroso es un saco cerrado que tiene dos capas la capa visceral o epicardio y una capa parietal (Figura 2c y 2e). Estas dos capas contienen el líquido pericárdico que evita la fricción entre el corazón y el pericardio [31].

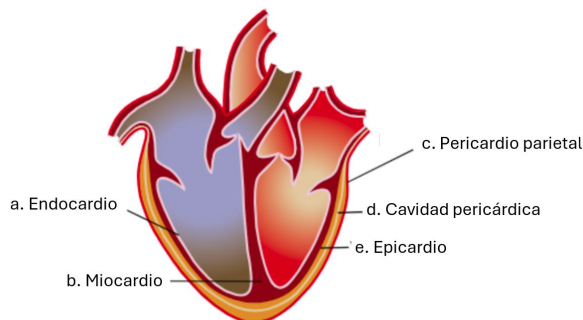
Figura 1. Sistema circulatorio ejemplificando el circuito pulmonar y el circuito sistémico



Nota. Modificada de [29].

La sangre circula desde el cuerpo hacia el corazón, la aurícula derecha recibe sangre desoxigenada de todo el cuerpo excepto de los pulmones (circuito sistémico), entrando por la vena cava superior e inferior [30]. La sangre fluye por la válvula tricúspide para llenar el ventrículo derecho y la bombea a través de la válvula pulmonar hacia la arteria pulmonar para distribuirla a los pulmones para oxigenarla. Al llegar a los pulmones, la sangre se oxigena en los capilares, luego se distribuye y recolecta en las venas pulmonares para acceder a la aurícula izquierda. Esta aurícula por medio de la válvula mitral pasa la sangre al ventrículo izquierdo para enviarla al circuito sistémico por la válvula aórtica [30]. Para lograr la circulación de la sangre adecuadamente y sin filtraciones, la pared del corazón está formada por tres capas, siendo el epicardio, el miocardio y el endocardio (Figura 2e, 2b y 2a). El epicardio es el revestimiento externo de las cámaras cardíacas, el miocardio es la capa intermedia y de él se desprenden 3 capas musculares, mientras que el endocardio es la parte más interna del corazón formado por el endotelio y tejido conectivo subendotelial [31].

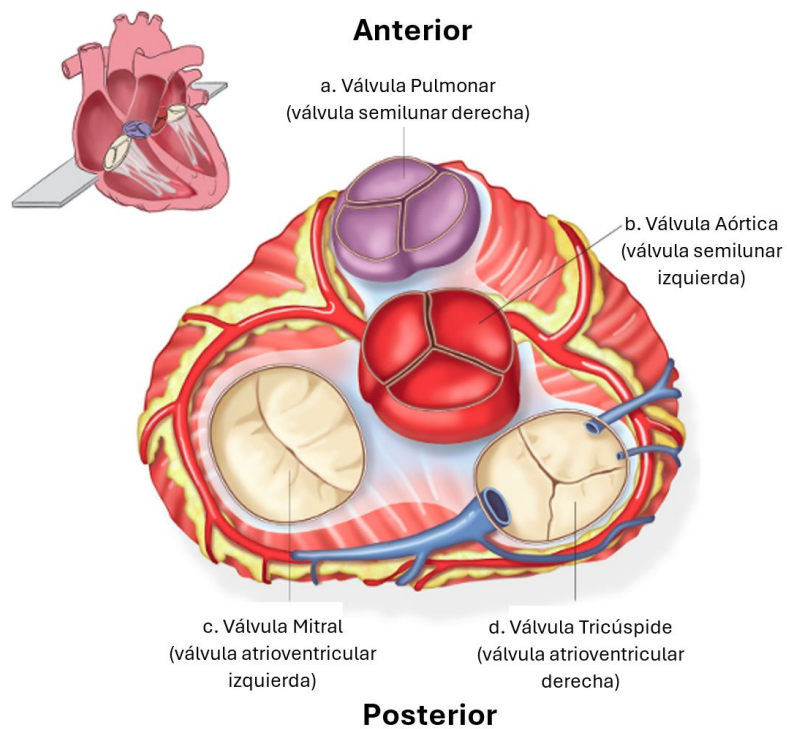
Figura 2. Capas del corazón y distribución



Nota. Modificado de [31]

El bombeo de la sangre en las cavidades del corazón es posible por un conjunto de válvulas internas para mantener el flujo en una dirección y evitar el regreso de la sangre a cavidades anteriores [32]. El corazón tiene dos tipos de válvulas principales, las válvulas cúspides o auriculoventriculares (atrioventriculares), ubicadas entre las aurículas y los ventrículos, y las válvulas semilunares que se encuentran en la base de los principales vasos sanguíneos [32] (Figura 3). En las válvulas auriculoventriculares se encuentra la válvula mitral o bicúspide y la válvula tricúspide [33]. La válvula mitral tiene dos cúspides donde la sangre fluye a través de ella desde la aurícula izquierda al ventrículo izquierdo sin poder regresar a la aurícula (Figura 3c); la válvula tricúspide (3 valvas o cúspides) controla el flujo de sangre entre la aurícula derecha y el ventrículo derecho, donde la sangre media vez entra al ventrículo no puede regresar a la aurícula (Figura 3d) [29]. La válvula pulmonar es semilunar y está ubicada entre el ventrículo derecho y la arteria pulmonar, la cual impide que la sangre expulsada a la arteria regrese al ventrículo derecho; por otro lado (Figura 3a), la válvula aórtica también es una válvula semilunar que se encuentra entre el ventrículo izquierdo y la aorta e impide que la sangre regrese al ventrículo (Figura 3b) [29].

Figura 3. Ubicación superior de válvulas cardíacas



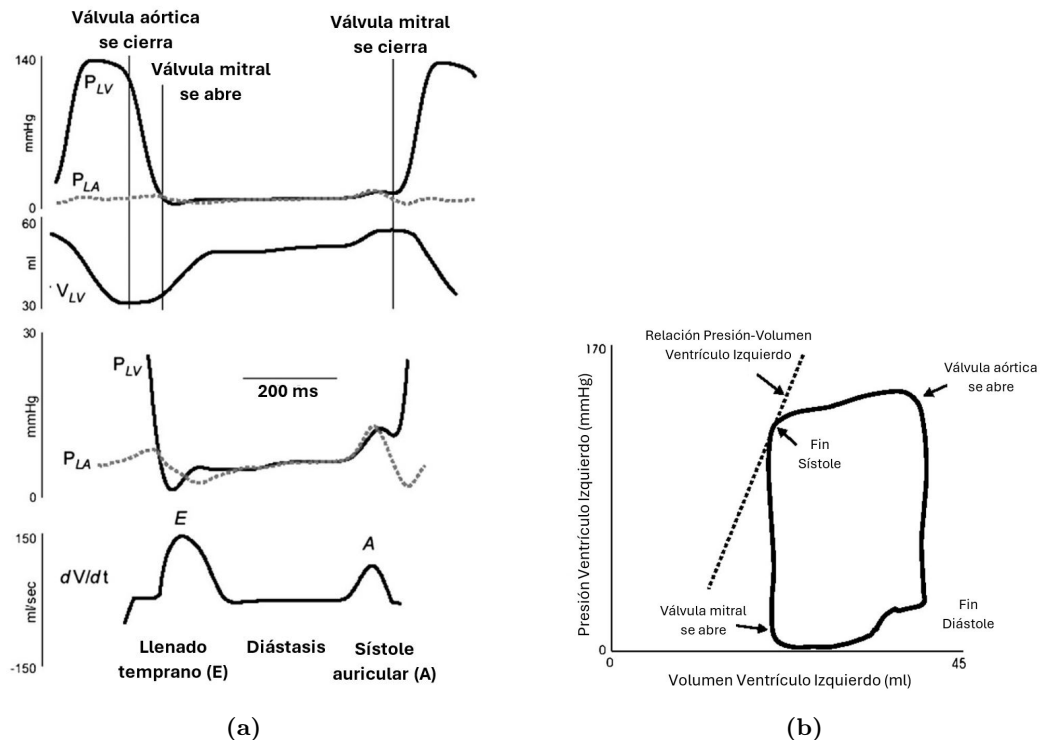
Nota. Modificado de [29]

6.2. Fisiología del corazón

El ciclo cardiaco es una serie de cambios de presiones que se da en el corazón, esto produce que la sangre pase por las diferentes cavidades y fluya por todo el cuerpo [34]. Cuando se produce el ciclo cardiaco, todos los componentes del corazón realizan su función para permitir que el músculo cardiaco se contraiga, por ende, las válvulas dirigen la sangre de una cavidad a otra [34]. Un ciclo cardiaco en condiciones normales (de reposo) dura aproximadamente 0.8 segundos en donde se producen contracciones y relajaciones que permiten la circulación de la sangre en el corazón y todo el cuerpo [35]. El ciclo se divide en dos fases importantes, la sístole y la diástole [36]. La sístole sucede desde la válvula mitral hasta la válvula aórtica y es donde el corazón se contrae para expulsar la sangre, mientras que la diástole sucede cuando el músculo cardiaco se relaja y las cavidades del corazón se llenan de sangre [36].

Durante el ciclo cardiaco suceden cambios de presión y volumen en las aurículas y ventrículos, los cuales determinan la apertura y cierre de las válvulas cardíacas (Figura 4). La apertura de la válvula mitral sucede cuando la presión auricular supera la ventricular e inicia el llenado temprano (E), luego viene la diástasis y la sístole auricular (A) la cual aumenta el volumen ventricular [37] (Figura 4a). Cuando la presión ventricular excede la auricular, la válvula mitral se cierra, luego la válvula aórtica eyecta la sangre hacia la aorta y se cierra dando inicio a la fase de diástole reiniciando el ciclo. Este ciclo también se puede relacionar con volumen y presión lo que se describe como un solo ciclo cardíaco (Figura 4b).

Figura 4. Cambios en el ciclo cardíaco. Cambios de presión, volumen y velocidad en el ciclo cardíaco (a), Ciclo de cambio de volumen vs presión en el ventrículo izquierdo (b)



Nota. Modificado de [36], [37]

Los cambios de presión y volumen que suceden dentro del corazón determinan el funcionamiento de las válvulas cardíacas debido a que son capaces de abrir y cerrarse ante gradientes específicos de presión. En el ventrículo izquierdo se generan presiones máximas de 120 mmHg y mínimas de 15 mmHg las cuáles son necesarias para abrir la válvula aórtica (mínimo para abrirse 80 mmHg), lo que permite eyectar la sangre a la aorta [34]. En el ventrículo derecho se manejan presiones de 25 mmHg como máximo y 5 mmHg como mínimo las cuales son suficientes para abrir la válvula pulmonar (mínimo para abrirse 10 mmHg) [34]. En las aurículas, la aurícula derecha necesita una presión de 4-5 mmHg y la aurícula izquierda funciona con una presión máxima de 25 mmHg y una mínima de 10 mmHg siendo similar a la de las venas y arterias pulmonares [34]. En cuanto a las válvulas tricúspide y mitral éstas se abren cuando la presión auricular supera la presión ventricular [36] (Figura 4a).

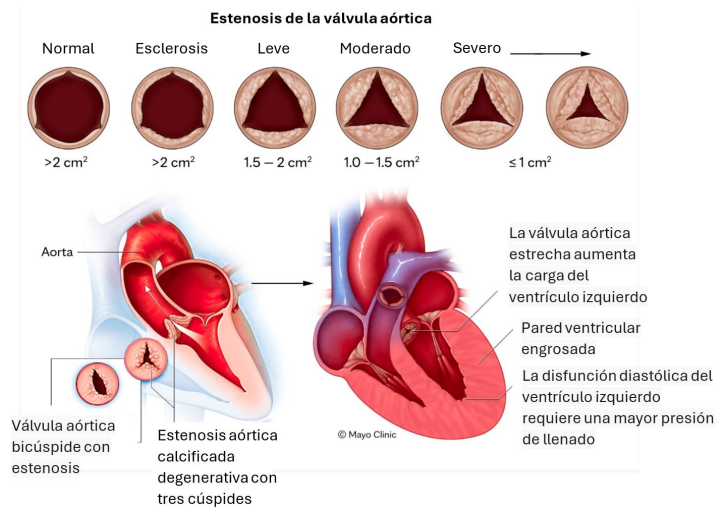
6.3. Enfermedades cardiovasculares, estenosis aórtica

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), según la Organización Mundial de la Salud (OMS) actualmente son la causa principal de defunción en todo el mundo, estimando que 17.9 millones de personas fallecieron en 2019 por una ECV [17]. Además, de los 17 millones de muertes prematuras, menores de 70 años, el 38 % se atribuyeron a una EVC en el mismo año [17]. Entre estas enfermedades están las patologías asociadas a válvulas cardíacas, siendo una de ellas la estenosis aórtica (EA) [18]. Esta es una de las patologías más comunes en la población mayor por lo que la edad y el envejecimiento rápido aumenta el número de casos [18]. Esta lesión prevalece en un 5 % de la población estadounidense a la edad de 65 años, aumentando su presencia con la edad [38]. Para esta condición se estima que la prevalencia es de casi 10 % en pacientes mayores a 80 años [8]. La EA es una condición progresiva y luego de la aparición de la insuficiencia cardíaca, la supervivencia es menor a 2 años sin un reemplazo de válvula [39].

La EA es una cardiopatía congénita o adquirida degenerativa donde la válvula disminuye el área efectiva para el flujo de sangre [5]. El progreso de la patología es complejo e involucra varios ámbitos desde la genética, el depósito y la oxidación de lipoproteínas, la inflamación y la calcificación de la válvula aórtica [40]. Existe una prevalencia bimodal, donde se puede degenerar por calcificación la válvula aórtica, siendo la más común y presente en edades avanzadas; mientras que en la válvula aórtica bicúspide se presenta en pacientes más jóvenes [41]. Esta afección presenta el estrechamiento de la válvula por lo que se reduce el flujo sanguíneo desde el ventrículo izquierdo hacia la aorta [41] (Figura 5).

En el caso de la EA grave/severa, se hace evidente la insuficiencia cardíaca y ritmos cardíacos irregulares [8]. Un diagnóstico temprano y un tratamiento oportuno es importante, ya que una estenosis no tratada lleva a una tasa de mortalidad de hasta 75 % en tres años [41]. El tratamiento que se elige en función de los síntomas que presente el paciente, por lo que puede consistir de medicamentos, cambios en el estilo de vida y cirugía; en el caso de los medicamentos, estos se toman en su mayoría como cuidados paliativos cuando la afección cardíaca es muy grave, ayudando a controlar los síntomas [6]. Asimismo, el cambio en el estilo de vida, implica una dieta baja en sodio (consumo de sal), realizar actividad física moderada y controlar el consumo de grasas (colesterol).

Figura 5. Progreso de estenosis aórtica en una válvula de 3 valvas (tricúspide)



Nota. Modificado de [41]

Como tratamiento “gold standard” se emplea como la cirugía de Sustitución Valvular Aórtica (SVA), esta puede ser una estereotomía completa, siendo la cirugía convencional o una miniesternotomía (cirugía menos invasiva), donde ambos procedimientos son a corazón abierto [8], [7]. Actualmente se emplean los procedimientos poco invasivos Transcatheter Aortic Valve Implantation (TAVI) o Transcatheter Aortic Valve Replacement (TAVR) para reemplazar la válvula aórtica afectada [9]. Estos procedimientos han demostrado tener resultados prometedores y son recomendados para pacientes de alto riesgo quirúrgico, donde se introduce una válvula expandible a través de un catéter por medio de la arteria femoral en la ingle [7].

Dado que el tratamiento común es el reemplazo de válvula, se necesitan alternativas viables de reemplazo debido a la falta de donantes de órganos [42]. Además, las válvulas del corazón no se pueden regenerar espontáneamente, debido a se presenta baja proliferación celular en sus capas estructurales [43]. Asimismo, las válvulas están en constante funcionamiento, ya que participan en cada latido del corazón, por ende, una reparación celular no es suficiente, por lo que se reemplazan con sustitutos bioprostéticos o mecánicos para evitar una falla cardíaca [43].

Las válvulas bioprostéticas (biológicas) se derivan de los tejidos animales o humanos, las que se encuentran disponibles comercialmente son las válvulas de xenoinjerto porcino (tejido de cerdo) o pericárdicas bovinas (tejido de vaca) y las válvulas de aloinjerto u homoinjerto (donantes cadavéricos humanos) [10]. También se puede reemplazar con válvulas mecánicas de materiales fuertes y duraderos siendo de dos valvas (bileaflet), de una valva (monoleaflet) y de bola cautiva (caged ball valves) [44], [12] (Figura 6).

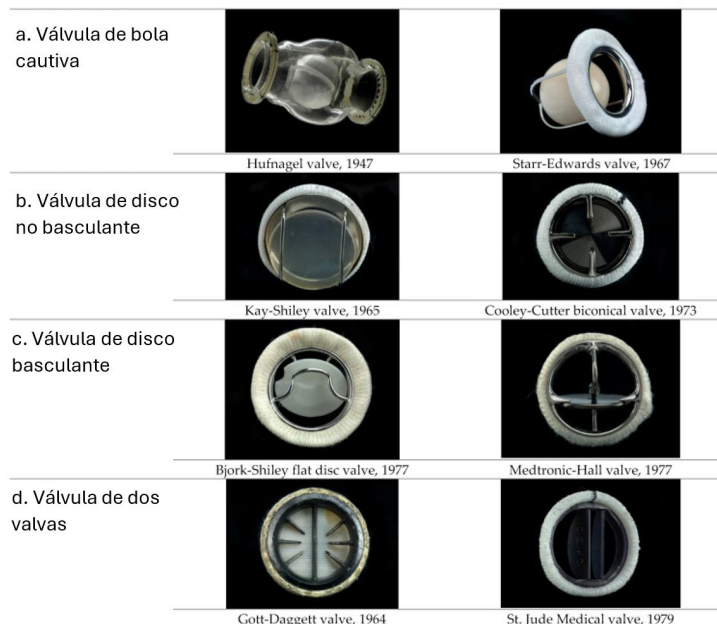
Las válvulas mecánicas se presentan en diferentes formas y tamaños, ya que tienen una alta durabilidad y una buena mecánica de fluidos [42]. La válvula de bola cautiva o bola enjaulada consistía en una jaula metálica de una aleación de cobalto-cromo-molibdeno-níquel, una bola de Silastic y una esponja de caucho de silicona en el anillo de sutura (Figura 6a) [45].

Los modelos anteriores a este presentaban problemas de trombosis, este modelo evolucionó cambiando materiales y la forma de la jaula y logró ser aún menos trombogénica; a pesar de haber reducido la trombosis, mostró un desgaste cada vez más frecuente en los orificios y soportes cubiertos por tela, considerado una falla estructural [45]. El modelo Starr-Edwards reportó tener un buen rendimiento, el cual mostró tener una longevidad de más de 50 años descubriéndolo al hacer revisiones sistemáticas para realizar una reimplantación de válvula para reemplazar este modelo [46].

El modelo Kay-Shiley es una válvula de disco no basculante que apareció en 1965 como una alternativa al modelo de Starr-Edwards, este utilizaba 4 puntales metálicos que estaban expuestos, por lo que se seguían teniendo altas tasas de tromboembolismo, desgaste del disco y reestenosis por crecimiento (Figura 6b) [47]. A pesar de ello, el caso reportado de un paciente con este modelo de válvula implantado se mantuvo en funcionamiento por 54 años, hasta presentar una complicación cardiaca donde recibió un trasplante de corazón [47]. Por otro lado, se tiene el modelo de Björk-Shiley, el cual tuvo varios ajustes, ya que también presentaba efectos adversos, incluyendo la trombosis y la obstrucción de las valvas (Figura 6c) [48]. Este modelo mostró tener una longevidad de 48 años en un paciente con reemplazo doble de válvulas aórtica y mitra, donde se observó que ambos reemplazos seguían funcionando adecuadamente, teniendo pocos efectos adversos presentes [48].

Finalmente, la válvula de dos valvas, es un modelo fabricado con materiales sintéticos flexibles, consistiendo de dos valvas ("*bileaflet*") las cuales ofrecen un mejor flujo y menores gradientes, así como reducción de la tendencia a la trombosis en comparación a los otros modelos [49]. Este modelo ha mostrado una durabilidad inesperada, donde no se han reportado casos de fallas estructurales, pero se tiene limitación en la posición de implantación [45].

Figura 6. Evolución de los tipos de válvulas mecánicas



Nota. Modificado de [42]

6.4. Ingeniería de tejidos e impresión 3D

La ingeniería de tejidos es una de las principales áreas en la medicina regenerativa, la cual sigue los principios de trasplante celular, la ciencia de los materiales (biomateriales) y la ingeniería para desarrollar sustitutos biológicos que puedan restaurar y mantener la función biológica [50]. Se tienen dos categorías importantes donde se utilizan scaffolds acelulares que dependen de la habilidad natural del cuerpo de regenerar apropiadamente el nuevo tejido y los scaffolds con células sembradas [50]. En el caso de los biomateriales, estos replican la función biológica y mecánica de un tejido específico del cuerpo y proveen un espacio 3D donde las células se pueden adherir, crecer y formar nuevos tejidos con la estructura y función adecuada [50].

Tanto los biomateriales como la ingeniería de tejidos tienen potencial para abordar desafíos médicos, así como lo son las ECV [51]. Los biomateriales pueden proporcionar soporte estructural y ayudar a reparar el tejido cardíaco dañado; por otro lado, la ingeniería de tejidos está presente para regenerar el tejido cardíaco mediante medicina regenerativa o el desarrollo de dispositivos biomédicos para reemplazar estructuras cardíacas [51]. Es importante reconocer que hay limitaciones en la regeneración de tejido cardíaco en adultos, por lo que se tienen desafíos significativos. En el área de cardiología, la ingeniería de tejidos se aplica desde el primer trasplante de corazón, el desarrollo de parches biocompatibles para la reparación del miocardio luego de un infarto, injertos vasculares para sustituir arterias dañadas y válvulas cardíacas fabricadas con polímeros naturales [51], [52].

En este contexto, la impresión 3D es una herramienta utilizada en la ingeniería de tejidos permitiendo la fabricación de andamios con geometrías que imitan la complejidad de las estructuras cardíacas anatómicamente [53]. El uso de impresión 3D y biomateriales permite controlar tanto las propiedades mecánicas como la biocompatibilidad para asegurar una integración adecuada con el paciente [51]. Su integración y aplicación conjunta permite desarrollar opciones innovadoras para tejidos cardíacos, replicando tanto la forma como su función fisiológica.

6.5. Biomateriales para impresión 3D

Se ha realizado investigación sobre los biomateriales empleados para diferentes aplicaciones cardiológicas en ingeniería de tejidos entre ellos se menciona polímeros naturales como fibrina, gelatina, quitosano y alginato, así como los componentes que se derivan de la matriz extracelular (ECM), como el colágeno y el ácido hialurónico; también están los biomateriales sintéticos como polietilenglicol (PEG), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y ácido poliláctico (PLA) [51]. El quitosano es un biopolímero económico, fácil de obtener y se encuentra disponible en grandes cantidades, este se obtiene de la desacetilación de la quitina [54], [55]. Este es un polímero natural que su estructura está compuesta por enlaces glucosídicos β (1-4) unidos a residuos de d-glucosamina con un número variable de grupos N-acetil-D-glucosamina (NAG) que se ubican aleatoriamente [55]. Es soluble en soluciones ácidas (pH 2-3), pero insoluble en soluciones acuosas por arriba de pH 6.5 [56]. Además, es un polímero biocompatible, biodegradable y con capacidad para soportar la adhesión y proliferación celular [51].

Estas propiedades se pueden mejorar al combinarlo con otros polímeros para aumentar la resistencia mecánica y su durabilidad [51], [55]. Su biocompatibilidad permite que las células se integren en el material y así tener interacción con los tejidos, células y matrices extracelulares y además, tiene baja toxicidad, por lo que no es tóxico para las células [55]. Para mejorar sus propiedades se puede combinar con gelatina, colágeno y alginato.

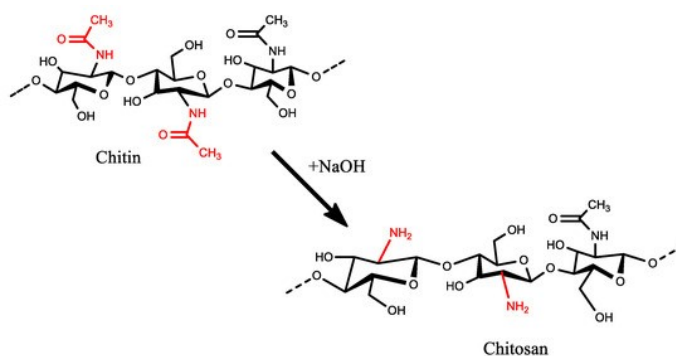
Además de los biomateriales naturales como el quitosano, los polímeros sintéticos también se pueden utilizar en aplicaciones cardiacas, así como el ácido poliláctico (PLA) y el poliuretano termoplástico (TPU). El PLA ha sido considerado para impresiones 3D para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares [57]. Este es un polímero biodegradable y biocompatible que tiene alta rigidez y resistencia estructural por lo que mantiene su forma y soporta cargas mecánicas [58]. En impresión 3D se puede utilizar para fabricar estructuras precisas y reproducibles que se adapten a la geometría de la estructura cardíaca.

Por otro lado, el TPU es un polímero flexible que tiene buenas propiedades de deformación y recuperación, por lo que es un material adecuado para aplicaciones donde se somete a resistencia y estrés [59]. Este material también puede integrarse con otros biomateriales para optimizar sus propiedades y reducir su efecto citotóxico [59]. También se puede modificar para mejorar su biocompatibilidad aplicando recubrimientos de proteínas, colágeno o alginato [60].

7.1. Síntesis de quitosano a partir de la quitina comercial

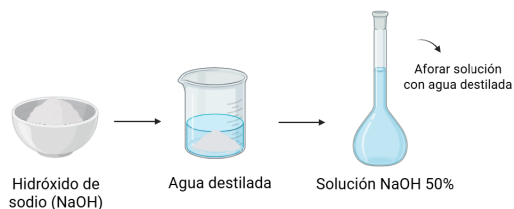
La síntesis de quitina a quitosano se realizó por medio de una desacetilación alcalina [61]. Este es un proceso químico donde los grupos acetilos se convierten en aminas al exponer la quitina a una solución alcalina concentrada a temperaturas elevadas arriba de 100 °C (Figura 7) . El protocolo utilizado para la desacetilación fue el propuesto en el trabajo de graduación por Andrea Ximena Contreras Payés, realizando modificaciones para el lavado [62].

Figura 7. Desacetilación alcalina [63]



Para la desacetilación se utilizó una solución de 50 % p/v de hidróxido de sodio (NaOH) en pellets (Supelco®), Alemania). En un beaker se colocó una parte del agua destilada y se añadió gradualmente el NaOH agitando constantemente con una varilla de vidrio. Se esperó a que se disolviera por completo y se dejó enfriar la solución debido a que es una reacción exotérmica. Al tener la solución a temperatura ambiente, esta se transfirió a un balón aforado y los residuos se lavaron con agua destilada, agregando los enjuagues al balón. Luego se aforó hasta que el menisco tocó la línea de aforo de 300 mL (Figura 8).

Figura 8. Preparación de dilución 50% p/v NaOH



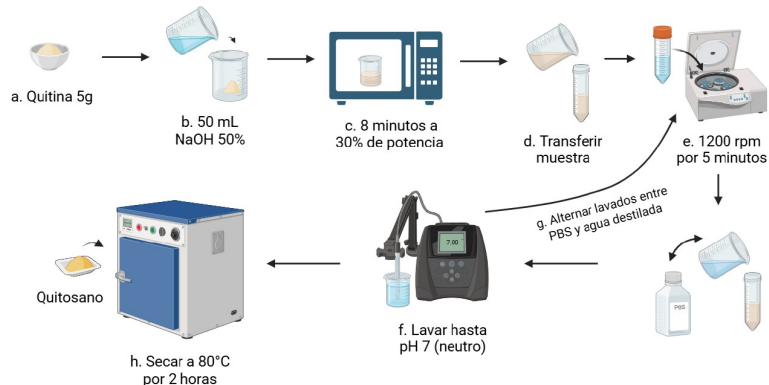
Nota. Creado con [BioRender.com](https://www.biorender.com)

Se prepararon 3 muestras de 5 gramos cada una de quitina comercial obtenida de cáscaras de camarón (Sigma Aldrich®), EE.UU.) (Figura 9a). A cada muestra de quitina se agregaron 50 mL de 50 % NaOH, mezclando con un agitador de vidrio hasta disolverse (Figura 9b). Cada beaker se calentó en un microondas por 8 minutos al 30 % de potencia (W), luego se dejó enfriar y se procedió a lavar con agua destilada los restos de la solución de NaOH en el quitosano obtenido (Figura 9c). Para ello, la muestra se separó en tubos falcon y se agregó agua destilada, cada tubo se agitó para mezclarlo y se centrifugó a 1200 rpm por 5 minutos (Figura 9d, e). Se retiró el sobrenadante y se midió el pH de este, repitiendo el proceso hasta obtener un pH neutro (pH 7) (Figura 9f). Durante el proceso, se alternaron los lavados con solución salina tamponada con fosfato (*Phosphate Buffered Saline*, PBS; Millipore®, EE. UU.) para favorecer la eliminación de residuos y estabilizar la muestra (Figura 9g).

Al alcanzar un pH neutro, el quitosano se transfirió a vidrios de reloj y se colocó en un horno de secado a 80 °C por 2 horas, para eliminar los residuos de agua (Figura 9h). El proceso de secado se realizó hasta obtener un peso constante. Estas muestras se pulverizaron para obtener un polvo fino y se pesó para determinar el rendimiento final del quitosano sintetizado (Ecuación 1).

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Valor final de quitosano (g)}}{\text{Valor inicial de quitina (g)}} \times 100 \% \quad (1)$$

Figura 9. Proceso de síntesis de quitina a quitosano



Nota. Creado con [BioRender.com](https://www.biorender.com)

Como parte de la caracterización del material, se realizó un análisis por medio de una espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para medir la absorción de radiación infrarroja de la muestra para identificar los enlaces químicos y grupos funcionales. A partir de los espectros obtenidos se utilizaron los valores de absorbancia por áreas para calcular el grado de acetilación (DA %) (Ecuación 2). Luego, se utilizó el grado de acetilación se calculó el grado de desacetilación, determinando el grado de conversión de quitina a quitosano (Ecuación 3). Se utilizó el área de la absorbancia de A_{1320} correspondiente al grupo amida III y A_{1420} absorbancia del grupo CH_2 .

$$DA \% = \frac{\frac{A_{1320}}{A_{1420}} - 0.3822}{0.0313} \quad (2)$$

$$DDA \% = 100 \% - DA \% \quad (3)$$

7.2. Diseño de plantilla para impresión 3D

Para el diseño de la plantilla en 3D de la válvula aórtica se utilizó como base la plantilla obtenida de la librería pública de modelos biológicos y biomédicos “*National Institutes of Allergy and Infectious Diseases 3D*” (NIH 3D) [64]. Esta plantilla es una aproximación anatómica de la válvula semilunar aórtica (Figura 10). También se utilizó una plantilla encontrada en una librería de objetos 3D “*GrabCad*” [65]. Esta es una plantilla de una prótesis biológica basada en el funcionamiento de una válvula aórtica (Figura 11).

Figura 10. Diseño 3D de la válvula semilunar aórtica. Vista frontal de la válvula (a), Vista superior de las valvas de la válvula aórtica semilunar (b)

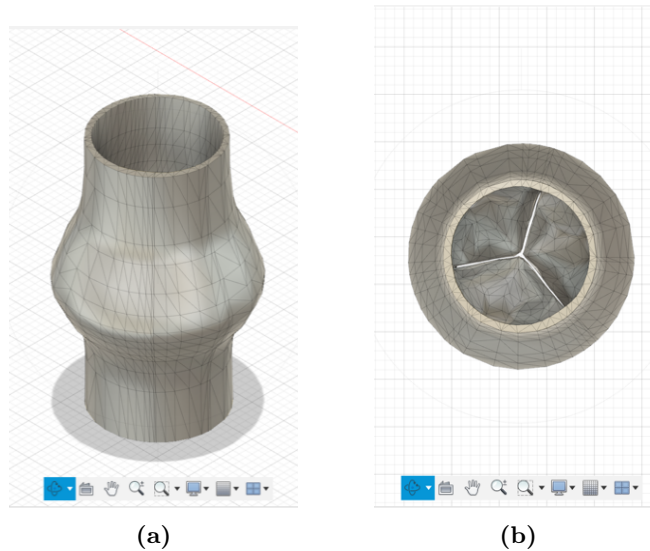
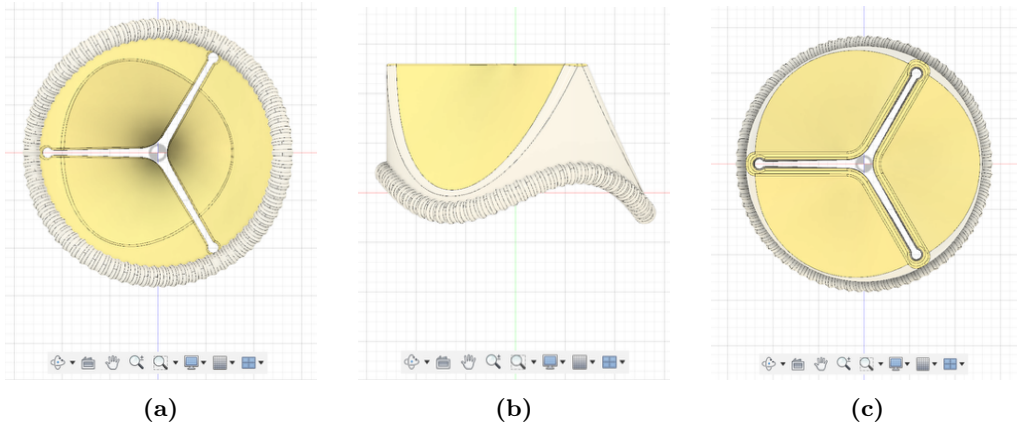


Figura 11. Diseño 3D de prótesis valvular aórtica. Vista inferior de la prótesis valvular (a), Vista lateral de la válvula (b), Vista superior de la prótesis (c)



En ambos modelos tridimensionales se revisó el diseño para verificar la estructura funcional de la válvula observando que estuviera compuesta por tres valvas, así como se describe en la anatomía cardíaca. La validación aseguró que los modelos representen adecuadamente la morfología real. El modelo 3D de la válvula semilunar fue convertido de un formato de malla (“*mesh*”) a un sólido, lo que permitió modificar las dimensiones de las estructuras, así como el tronco de la aorta y la altura de la válvula [64]. También se realizó un ajuste de escala en el diseño para que el anillo aórtico (la base donde se insertan las valvas) tuviera un tamaño de 23.7 mm, el cual está dentro del rango esperado siendo de 22 mm el diámetro corto a 27 mm el diámetro largo [66].

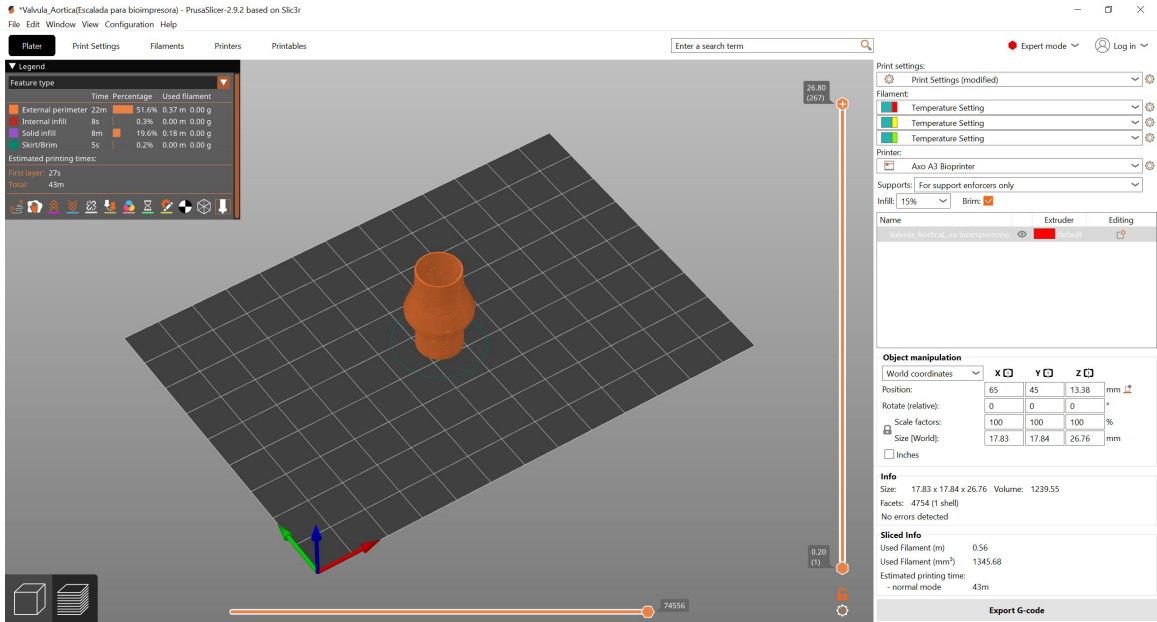
7.2.1. Desarrollo de G-Code para impresión

Se utilizó el modelo 3D tanto de la válvula aórtica con dimensiones anatómicas como del diseño de prótesis valvular. Se definieron parámetros relacionados con el filamento, la altura de capa de impresión y el infill de la estructura, así como el patrón de impresión para la estabilidad del modelo (Cuadro 1). Cada archivo se importó al software PrusaSlicer, y luego de definir las propiedades y características necesarias se genera el archivo de impresión a utilizar (Figura 12).

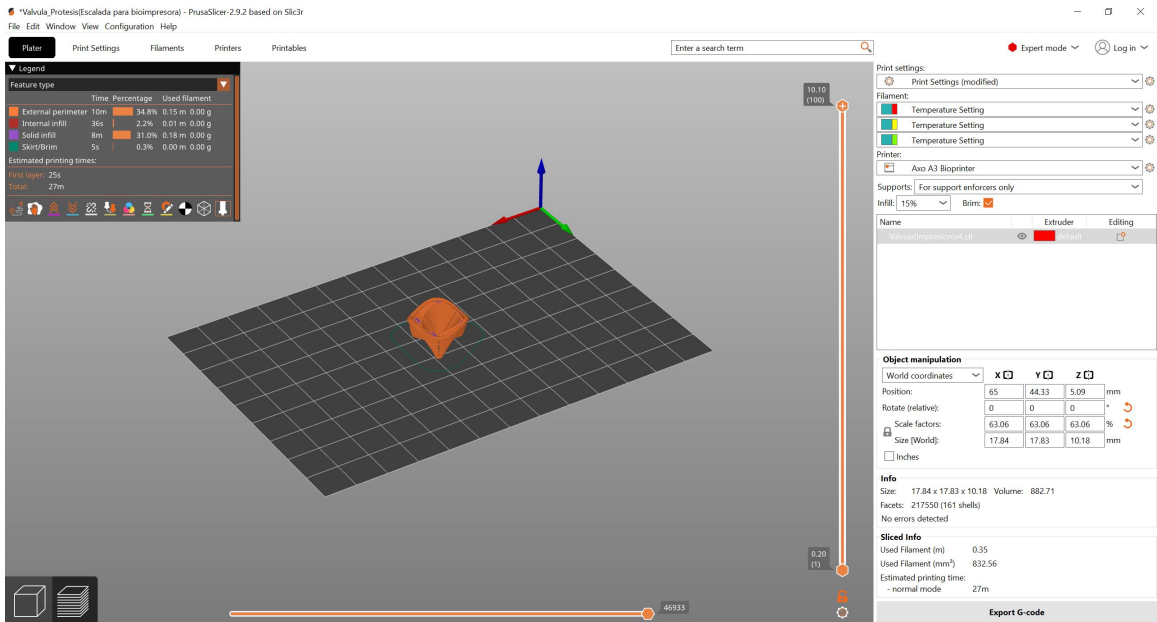
Cuadro 1. Configuración para generación de G-Code para impresión en diferentes biomateriales

Altura de capa	<i>Infill</i>	Patrón de impresión
0.20 mm	15 %	Rejilla

Figura 12. Configuración de impresora y propiedades de impresión para ambos modelos. Modelo de válvula aórtica con dimensiones anatómicas (a), Modelo de prótesis valvular (b)



(a)

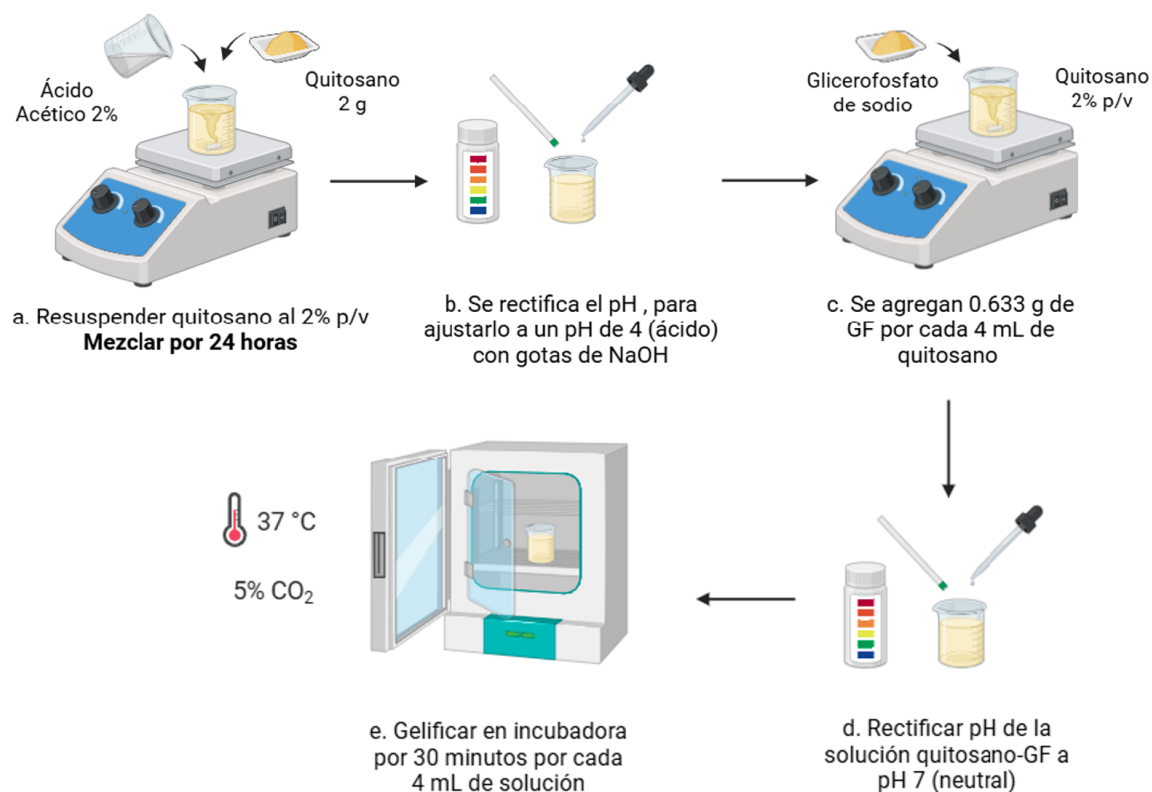


(b)

7.3. Desarrollo de gel para impresión

Se preparó una mezcla de 2 % p/v de quitosano sintetizado disolviéndolo en ácido acético glacial (Merck®), Alemania) al 2 % p/v, en agitación magnética por 24 horas obteniendo una solución de quitosano homogénea (Figura 13a). Se rectificó el pH de la solución, para ajustarlo a pH ácido de 4 agregando gotas de solución de hidróxido de sodio (NaOH) 2M (Figura 13b). Luego se agregaron 0.633 g de glicerofosfato de sodio (Proserquisa, El Salvador) por cada 4 mL de solución de quitosano al 2 % p/v (Figura 13c). Este se mezcló hasta visualizar la disolución completa de del glicerofosfato en la solución. Se midió nuevamente el pH para ajustarlo a un pH neutro de 7, agregando de ser necesario gotas de NaOH (Figura 13d). Esta solución se gelificó en incubadora a 37°C con 5 % CO₂ por 30 minutos por cada 4 mL, lo que permitió obtener una solución gelosa de quitosano y glicerofosfato de sodio (Figura 13e).

Figura 13. Preparación del material para impresión con quitosano. Creado con BioRender.com



Nota. Creado con [BioRender.com](https://www.biorender.com)

7.4. Caracterización de los materiales para impresión

7.4.1. Cultivo celular y preparación de extractos de biomaterial

Se trabajó con la línea celular L929 (ATCC® CCL-1TM, EE. UU.) cultivada en medio completo *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI; Sigma Aldrich®, EE.UU.), suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS; Sigma Aldrich®, U.K.) y 1% de penicilina-estreptomicina (Pen-Strep; Sigma Aldrich®, U.K.) y se mantuvieron a 37°C en 5% CO₂. Se revisó la confluencia y crecimiento celular y se realizaron pasajes para permitir el crecimiento celular. Para ello, se retiró el medio del frasco, se añadió la tripsina-EDTA (Sigma Aldrich®, EE.UU.) a 37°C y se incubó por 10 minutos. Se inactivó la tripsina agregando medio completo y se transfirió todo el contenido a tubos falcon para centrifugar a 1200 rpm por 8 minutos. Se descartó el sobrenadante y el pellet celular se resuspendió en medio completo para continuar con el cultivo.

Para la preparación de los extractos de los biomateriales, tanto para las muestras de PLA como las de TPU se mantuvieron sumergidas en etanol por 36 horas, luego para eliminar los residuos de etanol al 70% se mantuvieron bajo luz ultravioleta (UV). Para la esterilización del material de quitosano, se colocaron las muestras en una placa de 6 pocillos y se mantuvo bajo luz UV. Cada muestra de material fue pesada individualmente y se calculó la cantidad de medio a agregar para tener una concentración de 0.1 g/mL de cada material esterilizado, incubándolo a 37°C con 5% CO₂ por 4 horas. Luego del tiempo de incubación, se filtro con filtros de 0.22µm. A partir del extracto original de cada material, se prepararon diluciones al 50% agregando medio completo.

7.4.2. Ensayo de biocompatibilidad

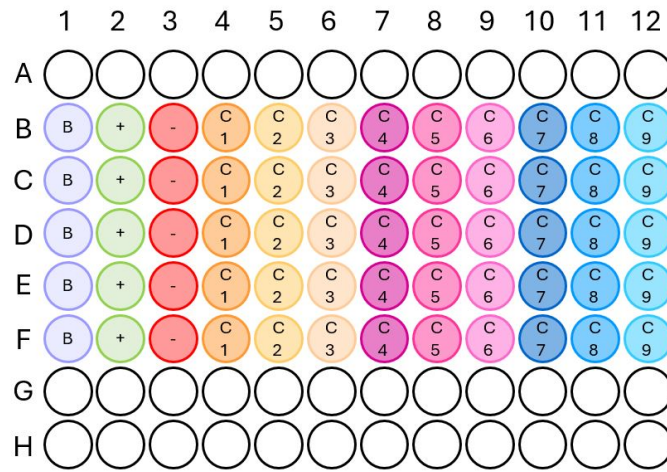
Se realizó un ensayo de biocompatibilidad MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro) con la línea celular L929, para ello se utilizaron las células en cultivo, se añadió tripsina-EDTA, se incubó a 37°C, se agregó medio completo para inactivar la tripsina y se centrifugó la suspensión. Luego se realizó el conteo celular, utilizando una cámara de Neubauer, cargando la muestra en una proporción 1:1 de suspensión celular y azul de tripano 0.4%. Se sembraron las células en una densidad de 5×10^4 células/mL en una placa de 96 pocillos siguiendo el mapa de condiciones a evaluar en el ensayo con 100 µL de medio completo por pocillo y se incubó por 24 horas a 37 °C con 5% CO₂ para la adherencia celular (Figura 14).

Luego de la incubación, se retiró el medio completo de las condiciones que se evaluarían con extracto (C1 a C9) y se añadieron las concentraciones del extracto de cada material en cada condición, además para el control negativo se añadió medio completo con 10% de dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma Aldrich®, EE.UU.), agregando también nuevo medio completo al control positivo y blanco y se incubó por 24 horas a 37°C con 5% CO₂. Posterior a la incubación celular con los extractos del material, se añadieron 10 µL de reactivo MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro) (5 mg/mL) a todos los pocillos y se incubaron por 4 horas a 37°C con 5% CO₂. Luego del tiempo de incubación, se retiró por completo el medio y se colocaron 100 µL de DMSO en cada pocillo para disolver los

cristales de formazán y se incubó por 15 minutos a 37°C con 5% CO_2 . Por último, se leyó la absorbancia de la placa de 96 pocillos con un filtro de 540nm en un lector de microplacas (BioTek®), EE.UU.) y se calculó la viabilidad celular (%) (Ecuación 4).

$$\text{Viabilidad}(\%) = \frac{\text{Absorbancia de células tratadas}}{\text{Absorbancia de células no tratadas}} * 100 \% \quad (4)$$

Figura 14. Distribución de condiciones evaluadas en ensayo MTT. Blanco (B), control positivo (+), control negativo (-), extracto de quitosano 100% sin células (C1), extracto de quitosano 100% (C2), extracto de quitosano 50% (C3), extracto de PLA 100% sin células (C4), extracto de PLA 100% (C5), extracto de PLA 50% (C6), Extracto de TPU 100% sin células (C7), extracto de TPU 100% (C8) y extracto de TPU 50% (C9) con 5 réplicas por condición



7.4.3. Pruebas mecánicas

Se realizaron pruebas mecánicas de los biomateriales trabajando con ensayos de compresión y tracción. Para el biomaterial basado en quitosano, se realizó el ensayo de compresión preparando las muestras con una altura de 14 mm y un diámetro de 2.5 cm. Se utilizó un texturómetro de alimentos (Brookfield, CT3 10K, EE.UU.) en donde se configuraron los parámetros para realizar la prueba. Posteriormente, se calculó el esfuerzo (Ecuación 5) y la deformación (Ecuación 6) para graficar los resultados e interpretarlos.

$$\text{Esfuerzo}(\sigma) = \frac{\text{Carga (g)} * 0.00981}{\text{Área de superficie (m}^2\text{)}} \quad (5)$$

$$\text{Deformación}(\epsilon) = \frac{\text{Distancia de movimiento de la sonda (mm)}}{\text{Altura de la muestra (mm)}} \quad (6)$$

Para los materiales de ácido poliláctico (PLA) y poliuretano termoplástico (TPU) se utilizó una máquina universal utilizada para pruebas de materiales de ingeniería civil (SOIL-TEST Versa Tester, EE.UU.), para realizar los ensayos de compresión y tracción (tensión). Se prepararon probetas para cada ensayo con medidas específicas, siendo para el ensayo de compresión las siguientes medidas: 38.1 mm * 38.1 mm * 50.8 mm, mientras que la probeta para ensayo de tracción medía 150 mm * 25 mm * 10 mm.

Las probetas se colocaron en la máquina, se aplicó carga en libras y se midió la cantidad de deformación del material. Con los datos obtenidos, fue posible calcular el esfuerzo y la deformación del material (Ecuación 7 y 8). Para la deformación, se utilizó un deformímetro el cuál presentó una relación de 1 vuelta = 2.54 mm de desplazamiento. Por lo que, para determinar la deformación correspondiente, se multiplicó el número de divisiones registradas (0.1, 0.2, 0.3, etc.) por la relación en mm (Ecuación 7). Por último, es importante mencionar que todos los ensayos realizados se trabajaron en 3 muestras de cada material.

$$\text{Deformación}(\epsilon) = \text{División deformímetro} * \frac{2.54mm}{1000mm} \quad (7)$$

$$\text{Esfuerzo}(\sigma) = \frac{\text{Carga (lb)} * 4.4482}{\text{Área de superficie (m}^2\text{)}} \quad (8)$$

8.1. Síntesis de quitosano a partir de quitina comercial

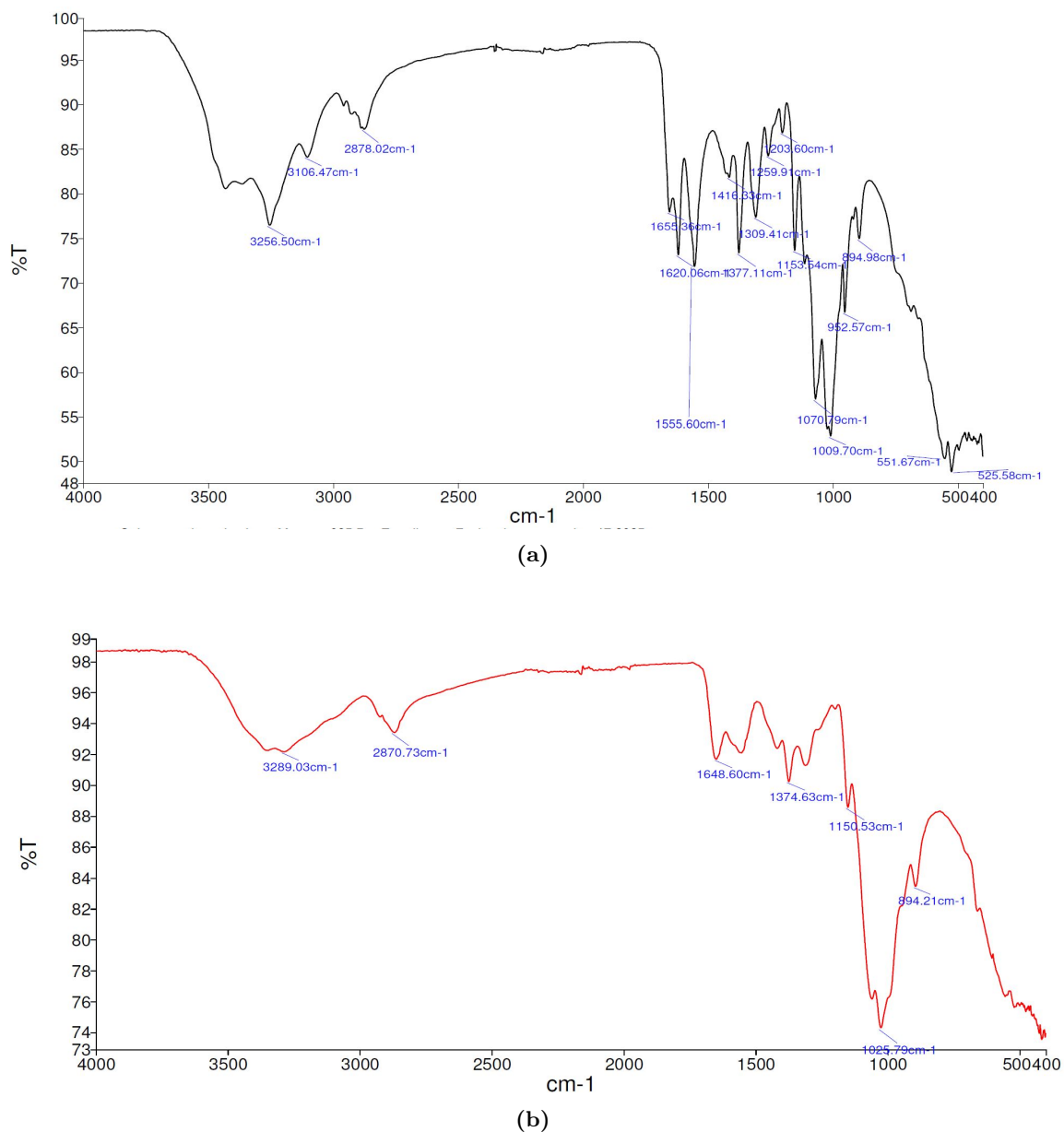
Se buscaba sintetizar quitosano a partir de la quitina comercial por medio de una desacetilación alcalina con hidróxido de sodio (NaOH), para conseguir un polvo fino que se pueda utilizar como biomaterial para la impresión de un modelo 3D. A partir del quitosano sintetizado, se obtuvo un porcentaje de rendimiento del 87.68 %. El Cuadro 2 muestra los datos de peso inicial y final utilizados para calcular el rendimiento. Además, se evaluó de forma cualitativa el aspecto físico del producto de la síntesis, el cual mostró un color beige claro, en forma de polvo fino y sin presencia visible de impurezas.

Cuadro 2. Rendimiento de la síntesis de quitosano

Muestra	Peso (g)	Rendimiento (%)
Quitosano sintetizado	13.1518	87.68
Quitina comercial inicial	15.0000	

En el espectro infrarrojo del quitosano sintetizado se identificaron varios polisacáridos (Figura 15a). Para el cálculo del porcentaje de desacetilación se utilizaron las mediciones de las señales de los espectros en absorbancia de la amina III, A_{1320} y del grupo CH₂, A_{1420} . Estos datos se obtuvieron directamente del software Perkin-Elmer Spectrum GX® (Cuadro 3). El grado de desacetilación (%DDA) del quitosano sintetizado fue de 22.01 %. Por otro lado, el espectro FTIR del quitosano comercial confirmó el grado de desacetilación mayor al 70 %, utilizando las absorbancias bajo la curva (área) de los grupos característicos que representan al quitosano, obteniendo un %DDA de 104.95 %, el cual excede el límite teórico de 100 %, por lo que se hace una corrección utilizando valores absolutos y se determina un %DDA corregido de 95.05 % (Figura 15b).

Figura 15. Espectros FTIR de quitosano sintetizado y quitosano comercial. Espectro FTIR quitosano sintetizado (a), Espectro FTIR quitosano comercial (b)



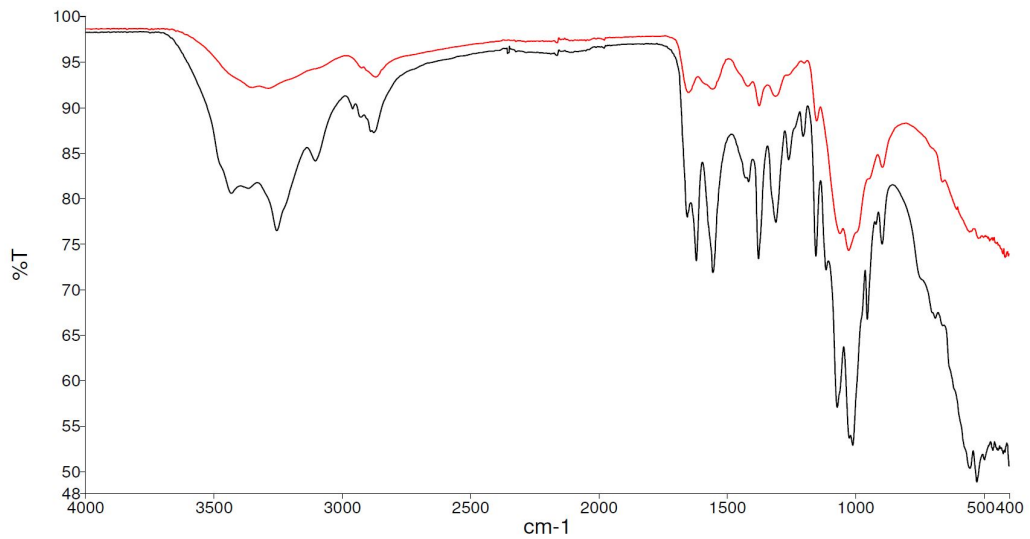
Cuadro 3. Porcentaje de desacetilación de quitosano sintetizado y quitosano comercial

Muestra	A_{1320}	A_{1420}	%DA	%DDA	%DA *	%DDA *
Quitosano comercial	-319.90	-113.34	-4.95 %	104.95 %	4.95 %	95.05 %
Quitosano sintetizado	-36.66	-161.22	77.99 %	22.01 %	77.99 %	22.01 %

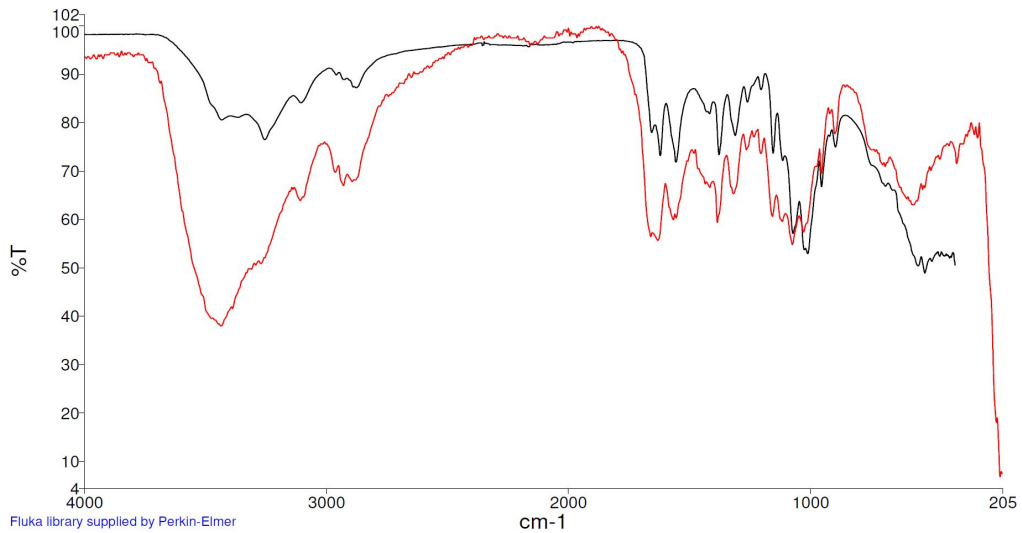
Nota: |%DA|* se refiere al valor absoluto del porcentaje de acetilación para corregir el valor negativo obtenido para el quitosano comercial, y |%DDA|* se refiere al porcentaje de desacetilación corregido calculándolo con los valores absolutos del porcentaje de acetilación.

La superposición de los espectros FTIR de la muestra de quitosano sintetizado con el quitosano comercial mostró una similitud estructural, siendo polisacáridos con grupos funcionales característicos. Sin embargo, se observa que en las lecturas de transmitancia hay variaciones en los valores entre ambas estructuras (Figura 16a). El análisis FTIR se comparó con la base de datos Fluka y se encontró una similitud con 70% de coincidencia correspondiente a la quitina (F22720) (Figura 16b).

Figura 16. Comparación de muestras analizadas. Superposición de espectros FTIR de las muestras de quitosano sintetizado (negro) y quitosano comercial (rojo) (a), superposición de espectros FTIR del quitosano sintetizado (negro) y con coincidencia de búsqueda en base de datos Fluka (rojo) (b)



(a)



(b)

8.2. Impresión de modelo 3D de válvula aórtica en PLA y TPU

A partir de diseñar el modelo 3D de la válvula aórtica en base a dimensiones anatómicas, se imprimió en 3D cada diseño utilizando biomateriales como ácido poliláctico (PLA) y poliuretano termoplástico (TPU). El modelo de válvula semilunar aórtica en PLA (Figura 17a) presenta una buena definición del diseño y cualitativamente se observó una mayor rigidez aparente al manipular el modelo impreso, pero en TPU (Figura 17b) el modelo tiene una mayor flexibilidad aparente en el anillo aórtico y en la inserción de las valvas de la válvula. En contraste, el modelo de prótesis valvular aórtica en PLA (Figura 17c) al evaluarlo cualitativamente también mostró rigidez aparente en las valvas de la prótesis; sin embargo, en TPU (Figura 17d) aunque sigue siendo rígido, presenta mayor flexibilidad aparente que en PLA.

Figura 17. Válvulas aórticas impresas en 3D en ácido PLA (blanco) y TPU (negro). Diseño de válvula semilunar aórtica impreso en PLA (a), Diseño de válvula semilunar aórtica impreso en TPU (b), Diseño de prótesis valvular aórtica impreso en PLA (c), Diseño de prótesis valvular aórtica impreso en TPU (d)



8.3. Impresión de gel de quitosano

Se trabajaron 13 muestras utilizando quitosano sintetizado y quitosano comercial, mezclando con distintos plastificantes y reticulantes, variando las condiciones de mezclado y las concentraciones de los materiales (Cuadro 4). Se utilizó maicena, tripolifosfato de sodio (TPP), ácido cítrico, gelatina, alginato de sodio y glicerofosfato de sodio (GF). Estas muestras se evaluaron en estabilidad y condiciones controladas de impresión determinando la viabilidad del material para su utilización en la bioimpresora Axo A3. Algunas de las muestras preparadas no fueron aptas para impresión por ser líquidas o muy poco densas. Las muestras con mejores resultados son la 3 y 8 realizadas con quitosano sintetizado y la

10, 11 y 13 hechas con quitosano comercial (Cuadro 5).

Tanto la muestra 3 como la muestra 8 formaron consistencias densas que mantenían la forma de la estructura impresa, además, aunque aún se ven algunas partículas de quitosano sintetizado no disueltas, es posible variar con la presión de la impresora para extruir el material de la aguja. En el caso de la estabilidad de la mezcla, la muestra 8 mostró mejores resultados al no disolverse en agua y mantener la forma de la estructura a temperatura ambiente, a pesar de si disolverse a 37°C. Por otro lado, las muestras de quitosano comercial (10, 11 y 13), generaron mezclas espesas, sin presencia de partículas de quitosano no disueltas y manteniendo su estructura en agua. En el caso de la muestra 8 mostró mantener su estructura a 37°C con 5% CO_2 . Estas características observadas mostraron tener mayor estabilidad y homogeneidad en las muestras de quitosano comercial comparado al quitosano sintetizado.

Cuadro 4. Resultados experimentales de mezclas de quitosano sintetizado y comercial

Tipo de muestra	No.	Materiales y concentraciones	Tiempo de mezclado	Características de la mezcla
Quitosano sintetizado	1	1 % p/v quitosano y 1 % p/v ácido acético 6 % p/v maicena	1 hr en agitación magnética 15 min en agitación magnética a 90 °C	Se mezclan en agitación magnética agregando la maicena a 90°C No se disuelve por completo, aún con partículas Se evaporó luego de mezclarlo a la solución de quitosano por temperatura
	2	1 % p/v quitosano y 1 % p/v ácido acético 3 % p/v TSP	1 hr en agitación magnética 3 min en vórtex	Se agrega TSP por goteo (1 min/gota) en agitación magnética No se disuelve por completo, aún con partículas La mezcla de quitosano y TSP sigue líquida
	3	1 % p/v quitosano en 3 % p/v ácido acético 10 % p/v ácido cítrico	1 hr en agitación magnética 1 min en vórtex	La solución de quitosano se calienta a 45°C por 35 min y se agrega ácido cítrico. Se eleva la temperatura 5°C cada 5 min hasta 90°C Consistencia densa, parecida a un gel
	4	1 % p/v quitosano y 3 % p/v ácido acético 15 % p/v gelatina	1 hr en agitación magnética 5 min en agitación magnética a 70 °C	Se agrega por goteo la gelatina y se mezcla por 15 min a 70°C en agitación magnética. Se solidifica a -4°C por 20 min Consistencia gelificada a temperatura ambiente

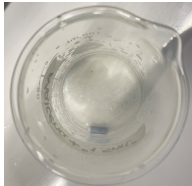


Continuación de cuadro 4

Tipo de muestra	No.	Materiales y concentraciones	Tiempo de mezclado	Características de la mezcla	
	5	4 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	6 hrs en agitación magnética	Se mezclan 1:1 por 20 mins en agitación magnética	Es espesa con partículas no homogéneas
		4 % p/v alginato de sodio	15 min en vórtex		Para evitar precipitaciones, el polvo de alginato se agrega poco a poco
	6	1 % p/v quitosano en 1 % p/v ácido acético	6 hrs en agitación magnética	TPP se agrega por goteo en agitación magnética y se mezcla por 3 hrs	No se observa la formación de un gel, la muestra queda con consistencia líquida
		3 % p/v TPP grado alimenticio	5 min en vórtex		
	7	2 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	6 hrs en agitación magnética	Se mezclan 1:1 por 20 min en agitación magnética	Se incorpora el alginato, pero no es un gel adecuado para impresión, aún es muy líquida. Se agrega alginato en polvo y cloruro de calcio para gelificar pero sigue estando líquida
		1 % p/v alginato de sodio	15 min en vórtex		
	8	4 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	6 hrs en agitación magnética	Se mezclan 1:1 por 15 min en agitación magnética	Mezcla espesa, poco homogénea
		4 % p/v alginato de sodio	15 min en vórtex		Se agrega poco a poco el polvo el polvo de alginato para evitar precipitaciones
Quitosano comercial	9	2 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	24 hrs en agitación magnética	Se agrega por goteo la solución de TPP y se mantiene en agitación magnética por 30 min	La mezcla sigue líquida con algunas partículas gelificadas pero no es homogénea
		2 % p/v TPP grado químico	2 min en vórtex		



Continuación de cuadro 4

Tipo de muestra	No.	Materiales y concentraciones	Tiempo de mezclado	Características de la mezcla	
	10	2 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	24 hrs en agitación magnética	Se agrega por goteo la solución de TPP y se mantiene en agitación magnética por 30 min	Se forma una mezcla espesa
		1 % p/v TPP grado químico	2 min en vórtex		
	11	2 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	24 hrs en agitación magnética	Se obtiene una solución homogénea	Se forma una mezcla densa y se incorpora adecuadamente el alginato 1:1
		2 % p/v alginato de sodio	15 min en agitación magnética	Se agrega poco a poco el polvo de alginato para evitar la formación de grumos	
	12	2 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	24 hrs en agitación magnética	El quitosano se calienta a 45°C por 35 min y se agrega ácido cítrico. Se eleva la temperatura 5°C cada 5 min hasta 90°C	Se observa esterificación, aunque sigue siendo muy líquida la solución para imprimir. Un poco densa.
		10 % p/v ácido cítrico	1 min en vórtex		
	13	2 % p/v quitosano en 2 % p/v ácido acético	24 hrs en agitación magnética	El pH de la solución de quitosano se ajusta a 4, se agrega el GF y se mezclan en agitación magnética por 10 min. Se ajusta el pH a 7 y se coloca 30 min (para 4 mL) a 37°C con 5 % CO ₂ para gelificar	La solución se gelifica a 37°C, es densa aunque con burbujas
		0.633g glicerofosfato de sodio (GF) por cada 4 mL de quitosano	Se disuelve directamente en la muestra de quitosano		


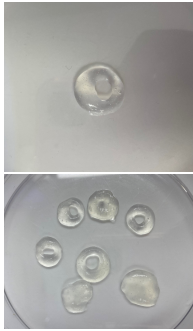
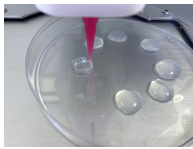
Cuadro 5. Resultados de impresión de muestras de quitosano

No. muestra	Condiciones de impresión	Observaciones de impresión	Estabilidad de la mezcla	Fotografía
1	No se puede imprimir	N/A	N/A	
2	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #18G ▪ Presión: 5 psi ▪ Velocidad: 10 mm/s 	La presión de impresión es variable, se puede extruir con 5 psi y 15 psi.	No se mantiene la estructura al sumergir en agua, la impresión se lava.	
3	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #18G ▪ Presión: 5-10 psi ▪ Velocidad: 10 mm/s 	Con presión alta, la estructura se imprime pero con líneas muy gruesas.	En agua, la estructura se desmorona y no tiene estabilidad.	


Continuación de cuadro 5

No. muestra	Condiciones de impresión	Observaciones de impresión	Estabilidad de la mezcla	Fotografía
4	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #18G ▪ Presión: 5, 10 y 30 psi ▪ Velocidad: 10 mm/s ▪ Temperatura extrusor: 40°C 	Se necesita encontrar un punto ideal de presión, temperatura de extrusión y de superficie. No se solidifica lo suficientemente rápido para mantener la forma de la estructura impresa.	Mantiene su forma al sumergirse en agua a temperatura ambiente. A 37°C se disuelve por completo.	
5	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #14G ▪ Presión: 10-15 psi ▪ Velocidad: 10 mm/s 	Dependiendo del tiempo que la mezcla pasa en el extrusor, es necesario utilizar más presión. No se imprime con detalles finos.	La mezcla pasó 48 hrs en agua sin disolverse. A 37°C pasa 2-3 hrs sin disolverse.	
6	No se puede imprimir	N/A	N/A	N/A
7	No se puede imprimir	N/A	N/A	N/A

Continuación de cuadro 5

No. muestra	Condiciones de impresión	Observaciones de impresión	Estabilidad de la mezcla	Fotografía
8	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #14G ▪ Presión: 10-15 psi ▪ Velocidad: 10 mm/s 	La mezcla contiene grumos, por lo que al extruir el material se necesita una presión variable.	Sumergido en agua a temperatura ambiente se mantiene la estructura. A 37°C sin disolverse pasa 1 hr.	
9	No se puede imprimir	N/A	N/A	N/A
10	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #14G ▪ Presión: 5 psi ▪ Velocidad: 10 mm/s 	Al cargar el material en la jeringa, varía la presión de extrusión, es necesario verificar la presión antes de imprimir.	Mantiene la estructura a temperatura ambiente. En baño de TPP se mantiene la forma de la estructura impresa.	
11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #25G cónica ▪ Presión: 3 psi ▪ Velocidad: 10 mm/s 	La presión de impresión varía durante la impresión.	En agua a temperatura ambiente la estructura no se disuelve.	
12	No se puede imprimir	N/A	N/A	N/A

Continuación de cuadro 5

No. muestra	Condiciones de impresión	Observaciones de impresión	Estabilidad de la mezcla	Fotografía
13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extrusor: Cabezal calentado ▪ Aguja: #18G ▪ Presión: 5 psi ▪ Velocidad: 5 mm/s 	<p>La mezcla es pegajosa, lo que dificulta mantener adecuadamente la forma de la estructura al imprimir. El protocolo utilizado es replicable, por lo que la presión no varía entre impresiones.</p>	<p>Se mantiene la forma de la estructura a 37°C con 5 % CO₂.</p>	

8.4. Caracterización de los materiales para impresión

8.4.1. Ensayo de biocompatibilidad

La absorbancia obtenida mediante ensayo MTT con la línea celular L929 bajo diferentes condiciones de evaluación, mostró en el control positivo (+) una absorbancia promedio (n=5) de 0.79 ± 0.39 , mientras que el control negativo (-) lanzó el valor más bajo de absorbancia siendo de 0.18 ± 0.02 (Figura 18). En la evaluación de los biomateriales en las condiciones de PLA, se obtuvieron los valores más altos de absorbancia, tanto para la condición con 100 % de extracto como la de 50 % en comparación al quitosano y TPU, obteniendo 0.57 ± 0.31 y 0.82 ± 0.28 respectivamente (Figura 18). En el caso de las muestras de quitosano para el extracto al 100 % se obtuvo una absorbancia promedio de 0.34 ± 0.04 y para el extracto al 50 % se reportó un valor de 0.32 ± 0.09 , mientras que para las condiciones con TPU se obtuvieron lecturas de 0.27 ± 0.07 y 0.28 ± 0.08 para los extractos 100 % y 50 % respectivamente (Figura 18).

Los resultados de viabilidad celular se calcularon a partir de la absorbancia obtenida con el lector de placas, tomando como referencia el control positivo (+), presentando un 100 % de viabilidad celular de la línea L929 (Figura 19). El control negativo (-; células + 10 % DMSO) mostró una viabilidad baja siendo de 22.79 % (Figura 19). Las condiciones de quitosano mostraron viabilidad de 42.93 % y 40.61 % para el caso del 10 % de extracto y 50 % respectivamente (Figura 19). Las muestras de extracto de PLA evaluadas mostraron tener una viabilidad alta obteniendo un 71.67 % para el extracto de 100 % y un 103.05 % para el extracto de 50 % (Figura 19). Por último, para los extractos de TPU se obtuvo una viabilidad celular baja tanto para el extracto de 100 % obteniendo un 34.38 % y para el extracto de 50 % se reportó un 34.71 % de viabilidad celular (Figura 19).

Figura 18. Lectura de absorbancia promedio (n=5) obtenida de ensayo MTT con línea celular L929, con barras de error representando la desviación estándar

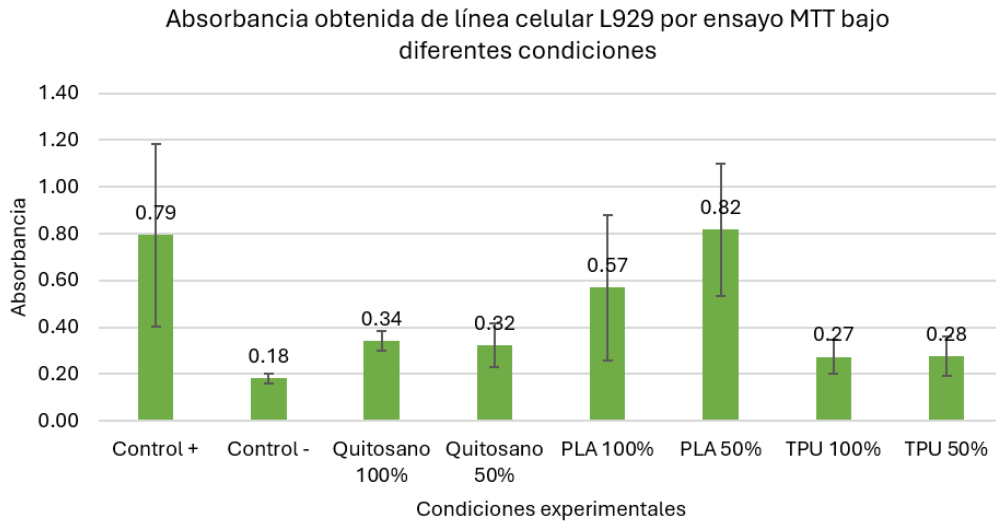
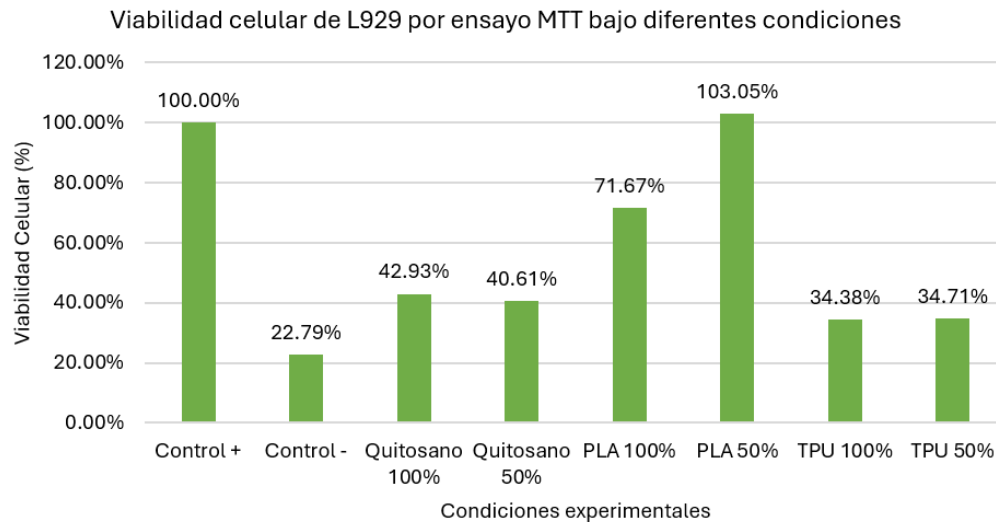


Figura 19. Viabilidad celular (n=5) de línea celular L929 en ensayo MTT bajo distintas condiciones

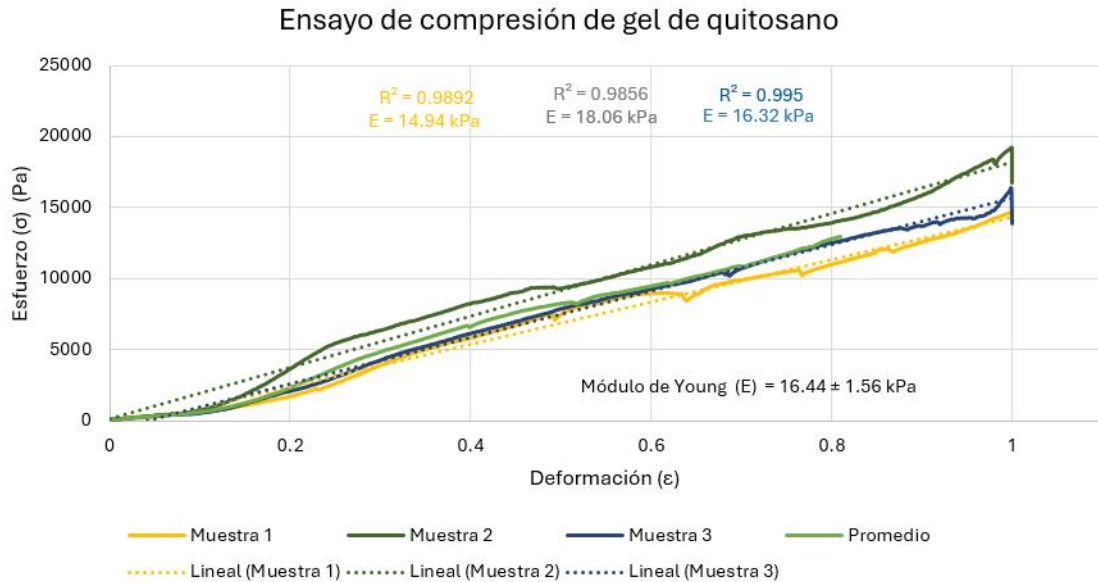


8.4.2. Pruebas mecánicas

El ensayo de compresión en las muestras de quitosano mostró que el gel de quitosano con glicerofosfato de sodio presentó un módulo de Young promedio (n=3) de 16.44 ± 1.56 kPa (Figura 20). Además, en la curva de esfuerzo-deformación se mostró una tendencia ascendente del esfuerzo conforme aumentaba la deformación, siendo una característica del comportamiento elástico, al llegar al 100 % de deformación, se observó el inicio de la deformación plástica o el comportamiento viscoelástico del material. Se alcanzó un esfuerzo

máximo entre 15kPa y 20kPa, calculando el módulo de Young para cada muestra obteniendo 14.94kPa, 18.06kPa y 16.32kPa, con coeficientes de determinación (R^2) de 0.9892, 0.9856 y 0.995 para la muestra 1, 2 y 3 respectivamente (Figura 20).

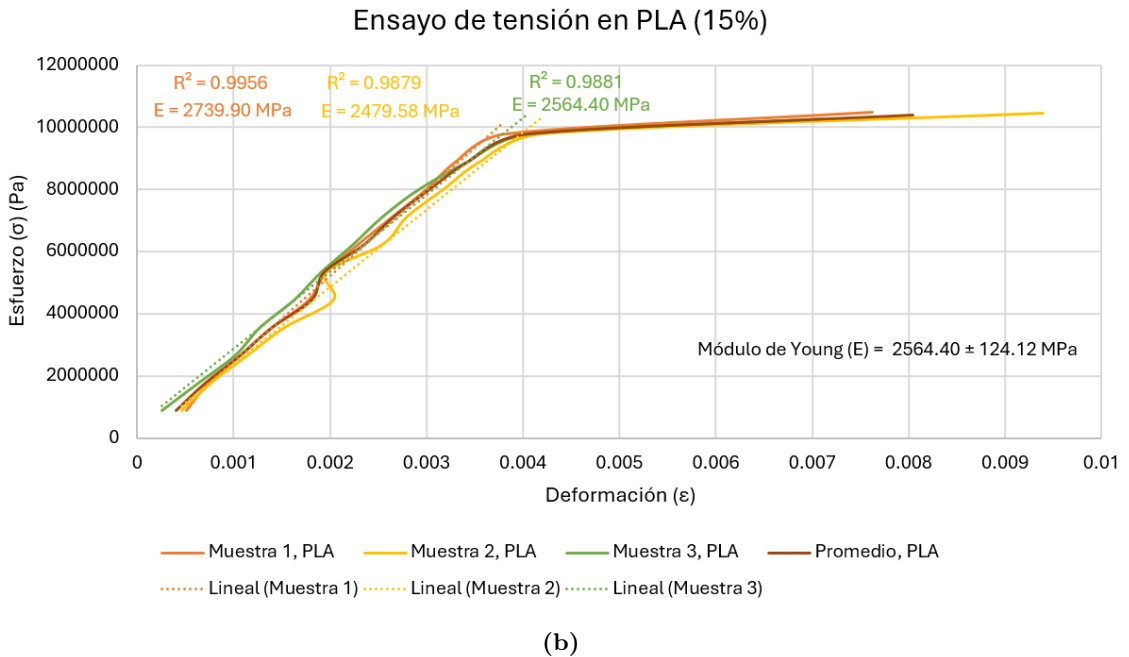
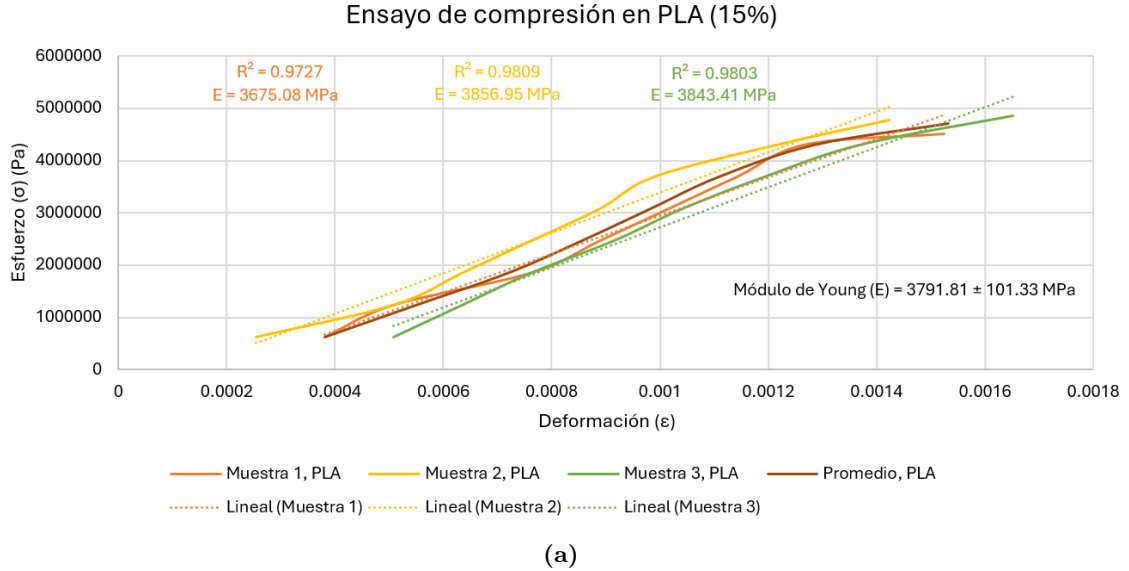
Figura 20. Ensayo de compresión en biomaterial de quitosano con glicerofosfato de sodio (Muestra 13)



Se obtuvieron las curvas de esfuerzo-deformación del ensayo de compresión de 3 muestras de PLA con 15 % de infill. Se observa que las 3 muestras tuvieron un comportamiento lineal correspondiente a la zona elástica, obteniendo un módulo de Young promedio ($n=3$) de 3791.81 ± 101.33 MPa (Figura 21a). Además, se obtuvo el módulo de Young de cada muestra siendo de 3675.08, 3856.95 y 3843.41 MPa con coeficientes R^2 de 0.9727, 0.9809 y 0.9803, respectivamente para la muestra 1, 2 y 3. La deformación de la muestra se mantuvo en un rango bajo, comenzando en 0.2% y teniendo una deformación final de 0.15% aproximadamente, mostrando un comportamiento rígido (Figura 21a).

Para el ensayo de tensión del material de PLA con 15 % de infill, se aplicó una carga de tracción a las muestras y se obtuvo la fuerza de tensión con la que responde la pieza. Se obtuvo un comportamiento lineal en la zona elástica y luego pasa a una zona de transición donde se desvía de la linealidad e inicia el comportamiento plástico (Figura 21b). Se obtuvo un módulo de Young promedio ($n=3$) de 2564.40 ± 124.12 MPa y los valores individuales de cada muestra mostraron poca variación entre sí, reportando 2739.90 MPa para la muestra 1, 2479.56 MPa para la muestra 2 y 2564.40 MPa para la muestra 3, con sus respectivos coeficientes de determinación siendo 0.9956, 0.9879 y 0.9881 (Figura 21b). Además, se observó una deformación del 0.4% antes de la falla del material, siendo el límite entre la región elástica y la de fractura.

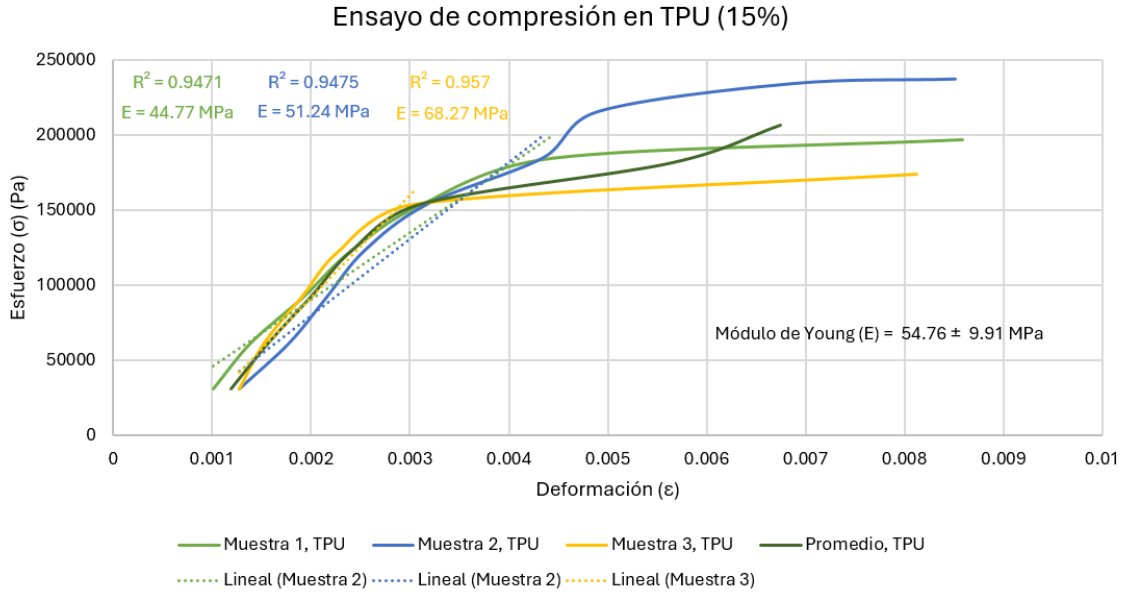
Figura 21. Pruebas mecánicas en PLA. Ensayo de compresión (a), ensayo de tensión (b)



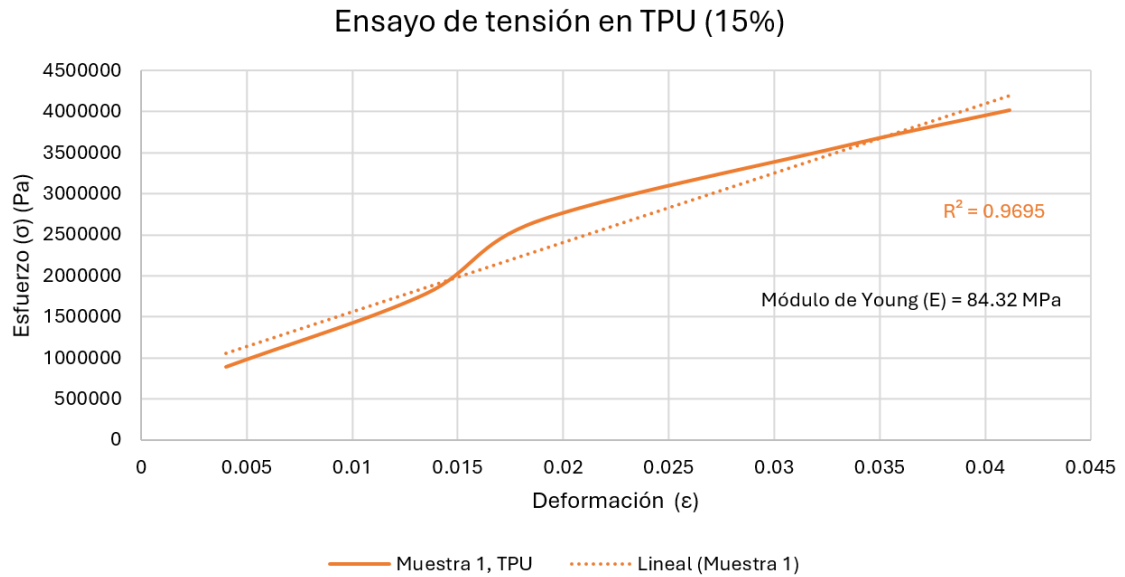
Para el biomaterial TPU también se obtuvieron las curvas de esfuerzo-deformación tanto para el ensayo de compresión como el ensayo de tensión. Se ensayaron 3 muestras impresas en TPU con infill de 15 %, para el ensayo de compresión se obtuvo un comportamiento lineal al inicio y luego pierde la linealidad (Figura 22a). Se realizó un ajuste lineal a la curva y se obtuvo el módulo de Young promedio ($n=3$) siendo de 54.76 ± 9.91 MPa y se reportaron los valores individuales de cada muestra siendo de 44.77 MPa, 51.24 MPa y 68.27 MPa para la muestra 1, 2 y 3 respectivamente (Figura 22a). Además, se obtuvieron coeficientes de determinación (R^2) entre 0.947 y 0.957.

Para el ensayo de tensión, se realizó una única muestra debido a los límites de la máquina universal. El módulo de Young obtenido fue cercano a los reportados en el ensayo de compresión siendo de 84.32 MPa (Figura 22b). Por haber sido una sola prueba no se reporta la desviación estándar.

Figura 22. Pruebas mecánicas en TPU. Ensayo de compresión (a), ensayo de tensión (b)



(a)



(b)

El objetivo de este trabajo fue evaluar métodos de fabricación de biomateriales mediante impresión 3D como una alternativa para las opciones actuales en el tratamiento de la estenosis aórtica en Guatemala. Para lograrlo, se realizó una síntesis de quitina comercial a quitosano, se diseñó un modelo 3D de una válvula cardiaca anatómica y una prótesis valvular aórtica, se imprimió en PLA (ácido poliláctico), TPU (poliuretano termoplástico) y quitosano y se evaluó la biocompatibilidad y las propiedades mecánicas de los biomateriales.

9.1. Síntesis de quitosano a partir de quitina comercial

En el proceso de desacetilación alcalina se obtuvo un porcentaje de rendimiento del 87.68 %, el cual sugiere que no se tuvieron pérdidas significativas al lavar el producto para eliminar los residuos de la solución alcalina de hidróxido de sodio (NaOH) (Tabla 1). Sin embargo, obtener un porcentaje de rendimiento alto, no significa que el porcentaje de desacetilación demuestre un grado alto de conversión de quitina a quitosano. Además, en la literatura se reportan porcentajes de rendimiento alrededor del 10 % a 30 %, utilizando quitina comercial y cáscara de camarón como materia prima inicial [67].

El análisis FTIR realizado mostró que el quitosano sintetizado tiene similitud espectral con la quitina (Figura 1). Se encontró que el quitosano sintetizado sigue siendo principalmente quitina, ya que la similitud más cercana fue la quitina (F22720), lo que confirmó que haber tenido un porcentaje alto de rendimiento no asegura haber desacetilado la quitina para convertirla en quitosano (Figura 2). De la prueba realizada, se concluyó que el grado de desacetilación del quitosano sintetizado es considerablemente bajo siendo de 22.01 % DDA, mientras que el del quitosano comercial es de 104.95 % DDA (Tabla 2). El porcentaje de desacetilación excedió el 100 %, por lo que se reportó el grado de desacetilación corregido, obteniendo un 95.05 % DDA, el cual es consistente con los grados reportados para quitosano comercial [68].

El grado de desacetilación bajo del quitosano sintetizado demostró que el proceso de síntesis no se completó químicamente, por lo que al tener un grado de acetilación alto (77.99%), la mayor parte del material final sigue siendo quitina. Esto afecta la funcionalidad del material ya que, la quitina es un material casi insoluble, debido a que tienen una menor cantidad de grupos amino libres protonados (-NH₂), estos grupos son los que ayudan a que el material sea soluble en medios ácidos [69]. Un grado de desacetilación bajo limita el uso del producto obtenido (quitosano sintetizado) como un biomaterial para impresión debido a que la solubilidad y la viscosidad dependen de la cantidad de grupos amino protonables [69]. Además, un bajo DDA hace que haya menos interacción con el medio ácido, por lo que no se produce una solución homogénea y este caso no permite obtener una mezcla adecuada para impresión [69]. Para que sea soluble, se ha reportado que cuando el material tiene un grado de desacetilación de alrededor del 50% DDA los grupos amino están protonados y el quitosano se vuelve soluble [69]. Por ende, el material obtenido no fue quitosano y no es soluble.

En comparación a los porcentajes de rendimiento obtenidos en otros estudios, el resultado obtenido en este trabajo es considerablemente mayor, mientras que el porcentaje de desacetilación es relativamente bajo, esto puede indicar que tanto la concentración de NaOH como el tiempo de la reacción fue insuficiente para poder eliminar todos los grupos acetilo de la quitina resultando en una baja desacetilación. A pesar de haber utilizado una concentración del 50% p/v de NaOH, la cual se considera alta, emplear una concentración cerca del 60% p/v ha mostrado tener mejores resultados en la solubilidad, grado de desacetilación y humedad del quitosano [70].

9.2. Impresión de modelo 3D de válvula aórtica en PLA y TPU

Se obtuvo la impresión del modelo 3D de la válvula aórtica y la prótesis valvular en PLA y TPU (Figura 3). Las impresiones en PLA mostraron rigidez y estabilidad aparente, que luego se verificó con pruebas mecánicas, por lo que se observó una buena definición estructural para ambos modelos (Figura 3a y 3c). Los modelos en PLA por su rigidez no permiten tener flexibilidad, por lo que realizar los movimientos anatómicos de la válvula cíclicamente se complica y es una desventaja, ya que limita la apertura y cierre de las valvas de la válvula en cada pulsación y fallaría [71]. Por otro lado, las impresiones realizadas en TPU mostraron ser más flexibles y elásticas, específicamente en el anillo aórtico y en la inserción de las valvas de la válvula (Figura 3b y 3d). Además, para ambos modelos, se verificaron las dimensiones de las impresiones 3D para confirmar que correspondieran a las medidas anatómicas.

En estudios anteriores, el TPU ha mostrado ser un material con buenas propiedades mecánicas y bioestabilidad [72]. Además, al comparar los materiales, la literatura coincide con las características observadas, donde el PLA es un material rígido que limita la movilidad de las valvas, mientras que materiales como el TPU y elastómeros (TPE) por su elasticidad, resistencia a la fatiga y propiedades modificables pueden llegar a replicar el movimiento fisiológico de la válvula aórtica [73]. Por lo que, al comparar ambos, el TPU es un material viable para el desarrollo de estructuras impresas en 3D y tiene potencial para optimizar el

diseño y desarrollo de válvulas aórticas en 3D.

9.3. Impresión de gel de quitosano

Inicialmente, se trabajaron muestras con el material sintetizado en el laboratorio y se observaron dificultades de solubilidad y dilución, por lo que, los geles obtenidos para impresión debían filtrarse o trabajarlos con partículas no disueltas. Al recibir el quitosano comercial, se realizó el análisis FTIR y se descubrió que el material sintetizado no correspondía a quitosano, sino a quitina, lo que explicó los problemas de solubilidad que se tenían. Esto debido a que la quitina se vuelve soluble cuando alcanza un grado de desacetilación aproximadamente de 50 %, por lo que su solubilidad presenta un problema importante en su uso como para su caracterización [74]. Además, la quitina es un biopolímero insoluble en los disolventes comunes como el agua, soluciones salinas y los disolventes orgánicos; sin embargo llega a ser soluble en disolventes específicos como el sesquihidrato de hexafluoroacetona, el hexafluoroisopropanol, los cloroalcoholes con ácido sulfúrico y en soluciones minerales acuosas [75]. Su baja solubilidad se debe a las propiedades altamente hidrófobas que lo caracterizan y a su estructura semicristalina [75]. De estas muestras, las trabajadas con el quitosano sintetizado, la 3 y 8 fueron las que mejores resultados mostraron en términos de impresión, pero no en solubilidad (Tabla 4 y 5).

Por otro lado, con el quitosano comercial se realizaron solamente impresiones de práctica con las muestras preparadas debido a que la optimización del material es necesaria para imprimir modelos funcionales, así como lo es un diseño de válvula aórtica. Se necesita ajustar la concentración del quitosano, el tipo y la proporción en la que se agrega el gelificante/plastificante, la viscosidad necesaria para la impresión y el tiempo exacto de gelificación. Estos parámetros son los más importantes para obtener un material que pueda mantener su estabilidad al extruirse en la aguja de la impresora y mantenga una buena resolución al verificar la estructura luego de imprimir. De las muestras trabajadas, las más prometedoras son la 10, 11 y 13, ya que mostraron tener propiedades viables en cuanto a consistencia y viscosidad para la impresión (Tabla 4 y 5).

Estas muestras tenían en común la preparación de quitosano comercial al 2 % p/v en 2 % de ácido acético glacial que se mantuvo por 24 horas en agitación magnética y luego se agregaba el gelificante o reticulante específico para cada una. Asimismo, mostraron resultados más prometedores debido a que tenían una mayor homogeneidad, lo que significó que no se observaron partículas de quitosano comercial sin disolver y una viscosidad controlable en cuanto a la cantidad de reticulante o gelificante que se agregaba. A pesar de haber modificado el pH agregando a la solución de quitosano hidróxido de sodio (NaOH) para trabajar con un pH neutral, en lugar de ácido o básico, así como haberlo mezclado con gelificantes como alginato de sodio o glicerofosfato de sodio y realizar la reticulación del material utilizando tripolifosfato de sodio (TPP), el gel de quitosano aún presentó dificultades en la extrusión durante la impresión. Se observó que las dificultades presentadas se deben a la presión del extrusor variable, así como la baja adherencia del material extruido a la superficie de impresión. Esto ocasionó irregularidades en las capas iniciales de impresión. Por lo que, se observa la necesidad de calibrar adecuadamente la presión de extrusión y la velocidad para mejorar la adhesión del material a la superficie.

Los resultados obtenidos se respaldan por lo reportado por Zhou et al., quienes mencionan que la impresión 3D de hidrogeles de quitosano necesitan un control exacto y preciso, así como condiciones de gelificación y control de temperatura para lograr estructuras estables [76]. Además, este tipo de materiales presentan varios desafíos de viscosidad, estabilidad y control de secado [77]. Por ende, es necesario modificarlo químicamente para mejorar sus propiedades o utilizar otros polímeros para que se tenga un mejor rendimiento y resultado de impresión [77].

9.4. Caracterización de los materiales para impresión

9.4.1. Ensayo de biocompatibilidad

Las células L929 son una línea celular de fibroblastos proveniente de una cepa de ratón, que se utilizan como un modelo estándar para la evaluación de citotoxicidad en biomateriales según la norma ISO 10993-5 [78]. Esta línea celular se utiliza por su disponibilidad y por ser fácil de cultivar, por ende, se pueden obtener resultados reproducibles. Según el ISO 10993-5 un valor de viabilidad mayor o igual a 70 % no es considerado citotóxico, por lo que si se tienen valores menores se tienen indicios de citotoxicidad [78]. En el ensayo realizado se obtuvo una viabilidad del 100 % en el control positivo (células sin tratamiento) y en el control negativo, se presentó una viabilidad celular del 22.79 % lo que indicó citotoxicidad presente en el medio, confirmando el funcionamiento del control negativo, debido a que eran células con DMSO. Además, la absorbancia obtenida mostró la intensidad de la señal obtenida en cada condición, la cual es proporcional a la cantidad de células viables que están presentes.

En el caso de las muestras de biomateriales, se evaluó la viabilidad celular con extractos en concentraciones al 100 % y 50 %. Para las muestras de quitosano se obtuvo que el extracto de 100 % tiene una viabilidad del 42.93 % y para el extracto del 50 % una viabilidad celular del 40.61 %. Ambos valores, se consideran citotoxicidad moderada por estar debajo del umbral establecido por la norma ISO 10993-5. Estos valores se consideran como una respuesta citotóxica significativa en la línea celular L929. Los valores obtenidos pueden deberse a residuos químicos en la muestra e incluso no tener un valor de pH neutral, a pesar de haberlo verificado para el proceso de gelación.

En contraste con la literatura, el quitosano, se considera un biomaterial biocompatible con diversas aplicaciones biomédicas y es totalmente citocompatible con diversos linajes celulares [79]. Pero la adhesión celular y la proliferación parece depender del linaje, ya que se ha reportado que la adhesión de fibroblastos se produce con una relación inversamente proporcional, lo que significa que a mayor grado de DDA hay menor adhesión y sin proliferación [79]. Esta observación en los estudios, concuerda con los resultados obtenidos, ya que se obtuvo baja viabilidad al estar trabajando con quitosano comercial con un grado de desacetilación mayor al 95 %.

A pesar de haber verificado que el pH de la muestra fuera neutral, algunos factores podrían haber contribuido a la baja viabilidad presentada. Entre ellos, la posible presencia de trazas de la solución ácida utilizada para la disolución del quitosano y la disolución casi inmediata del gel en el medio de cultivo durante la preparación del extracto. Además, la viabilidad celular obtenida comparada con la reportada en el estudio tomado como base para

la preparación del gel no es congruente con los resultados obtenidos, debido a que reportan una viabilidad mayor al 90 % [80]. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que el estudio utilizó una línea celular distinta y el quitosano se mezcló con hidroxiapatita lo que puede haber influido en la diferencia de resultados [80].

En el caso del PLA se obtuvieron valores de viabilidad celular de 71.67 % para la concentración del extracto de 100 % y de 103.05 % para la concentración del 50 %. El extracto en concentración del 100 % está cerca del límite establecido por la norma ISO, por lo que puede considerarse un material no citotóxico. Además, el resultado obtenido para el extracto al 50 % es superior al 100 % lo que sugiere que hay proliferación celular leve y que el PLA es biocompatible. Esto concuerda con literatura debido a que se ha reportado que muestras de PLA producidas por impresión 3D han mostrado valores de viabilidad de 95.3 % siendo mayor a la viabilidad del control en ese estudio [81]. Este comportamiento también se refleja en este trabajo en el caso de la concentración del extracto al 50 % respecto al control negativo, donde se obtiene mayor viabilidad celular.

Para el TPU se obtuvieron valores bajos de viabilidad celular reportando para la concentración del extracto al 100 % un 34.38 % y para el extracto al 50 % un 34.71 % de viabilidad celular. Estos valores se consideran moderadamente citotóxicos según la norma ISO, por lo que se puede relacionar la citotoxicidad a los compuestos del material o a residuos no esterilizados adecuadamente que se pueden transferir al medio de cultivo. Es posible, que el etanol no haya penetrado adecuadamente todas las capas del material durante la esterilización. Incluso, puede que el etanol no se haya evaporado/eliminado por completo antes de preparar el extracto. Por lo que, ambas situaciones pueden influir en la viabilidad celular dejando trazas del solvente así como contaminantes. Se ha reportado que la biocompatibilidad del biomaterial TPU es mayor cuando se trabaja con TPU de grado médico en lugar del material convencional, reportando una viabilidad celular de $132\% \pm 3\%$ [82]. Además, el estudio realizó ensayos de hematocompatibilidad, donde se obtuvo ausencia de lisis de glóbulos rojos y concluyeron que el TPU de grado médico puede ser utilizado para la fabricación de un dispositivo médico implantable en contacto con la sangre [82].

9.4.2. Pruebas mecánicas

Las pruebas mecánicas realizadas en el gel de quitosano reportaron un módulo de Young promedio de 16.44 ± 1.56 kPa, el cual se encuentra en el rango esperado para hidrogeles, teniendo poca rigidez, por lo que las cadenas de los polímeros no están entrecruzadas y el material permite mayor deformación. Además, se obtuvo una deformación reportada del 100 %. Un estudio reportó un módulo de Young de 6.96 ± 0.43 kPa para un material compuesto de quitosano, óxido de grafeno y glicerofosfato de sodio con una deformación del 20 %, mientras que el hidrogel compuesto por quitosano y glicerofosfato de sodio obtuvo un valor de 3.95 ± 0.68 kPa [83]. En este estudio se reportó un mayor módulo de Young al reforzar el material con óxido de grafeno al 0.5 %, por lo que se ve la necesidad de reforzar la mezcla con otro biopolímero [83]. Este gel mostró tener propiedades mecánicas compatibles con tejidos blandos. Sin embargo, a pesar de haber obtenido un módulo relativamente alto respecto a los estudios, este sigue siendo muy bajo para la aplicación propuesta teniendo alta deformabilidad.

Para el PLA se obtuvieron módulos de Young en el orden de MPa, obteniendo en compresión 3791.81 ± 101.33 MPa y en tensión 2564.40 MPa por lo que, se refleja su comportamiento como un biopolímero termoplástico rígido. Estos resultados reflejan la rigidez y estabilidad del modelo para mantener la forma de la válvula sin deformaciones. Sin embargo, tener mucha rigidez afecta la funcionalidad dinámica de la válvula ya que la apertura y cierre de la misma se vería afectada. Para ello, se necesita tener flexibilidad para poder imitar el comportamiento fisiológico. El valor obtenido concuerda con la literatura, ya que se ha reportado que el PLA mantiene un módulo de Young entre 2200 MPa y 4100 MPa [84].

Para el TPU también se obtuvo el módulo de Young en el orden de MPa, obteniendo en compresión 54.76 ± 9.91 MPa y en tensión 84.32 MPa. Estos valores indican una rigidez menor que el PLA y mayor elasticidad, el cual es un comportamiento que se busca para aplicaciones dinámicas como en el caso de una válvula aórtica. En este caso, la combinación de rigidez y flexibilidad permite mantener la forma de la válvula pero al mismo tiempo puede replicar el movimiento de abrir y cerrar la válvula. En general el módulo de Young del TPU está en el rango de 50 MPa a 100 MPa, por lo que el valor reportado se encuentra dentro del rango [85].

El módulo de Young de una válvula aórtica en un humano saludable es de aproximadamente 13.8 ± 6.4 MPa, mientras que en un paciente que presenta calcificación puede aumentar hasta 22.6 ± 9.2 MPa, por lo que se presenta un endurecimiento significativo en el anillo aórtico [86]. Comparando los resultados obtenidos, el gel de quitosano se encuentra muy por debajo del módulo necesario por lo que la muestra actual no da la rigidez necesaria para funcionar adecuadamente como válvula aórtica. Por otro lado, con el PLA sucede lo contrario, este reportó módulos de Young demasiado altos comparados a lo necesario, por lo que estos tampoco serían capaces de replicar la funcionalidad de la válvula aórtica, es necesario que el módulo de Young baje para tener mayor flexibilidad y elasticidad. El TPU reportó módulos de Young más cercanos al necesario, pero aún se considera elevado. Por ende, de los tres biomateriales propuestos, el TPU puede llegar a ser el más prometedor en términos de pruebas mecánicas.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar métodos de fabricación de biomateriales mediante impresión 3D como una alternativa para el tratamiento de la estenosis aórtica en Guatemala. El proyecto consistió en 4 fases principales desde la síntesis del material a trabajar hasta la caracterización de las válvulas impresas. Además, se trabajó en el diseño de un modelo 3D de una válvula aórtica y una prótesis valvular, así como impresiones en PLA (ácido poliláctico), TPU (poliuretano termoplástico) y quitosano.

Se obtuvo un porcentaje de rendimiento alto, siendo de 87.68 %, sin embargo, el análisis FTIR mostró que el quitosano sintetizado tiene un bajo grado de desacetilación siendo de 22.01 % DDA. Esto mostró una desacetilación alcalina incompleta de quitina a quitosano. Por lo que, se concluye que obtener un alto rendimiento no es indicio de un grado de desacetilación alto, mostrando que el proceso químico de conversión a quitosano no se completó. En contraste, se confirmó el grado de desacetilación del quitosano comercial obteniendo un grado corregido de 95.05 % DDA. Además, al trabajar con el biomaterial se observaron sus propiedades químicas y no se tuvo problema alguno de solubilidad, a diferencia del material sintetizado, donde si se presentaron dificultades para resuspenderlo debido a su bajo grado de desacetilación y por ser quitina en lugar de quitosano.

Se logró realizar un diseño con dimensiones anatómicas que fueron verificadas con la literatura. Se obtuvieron las impresiones en PLA que mostraron estabilidad estructural, sin embargo, se observó la ausencia de flexibilidad en el material ya que la rigidez aparente que presentó no permitió simular los movimientos de la válvula cardiaca. En contraste, la impresión en TPU mostró mayor flexibilidad por lo que puede tener un comportamiento similar a las condiciones fisiológicas de la válvula aórtica. Por ende, el TPU es un biomaterial con potencial para el desarrollo de modelos funcionales en el ámbito de válvulas cardíacas.

Por otro lado, la impresión 3D utilizando como base un biomaterial de quitosano mostró limitaciones al momento del desarrollo del material y la impresión. Las muestras realizadas con quitosano sintetizado mostraron baja solubilidad, por lo que aún tenían partículas del material sin disolver. Además, se presentaron dificultades en la extrusión del material en la bioimpresora. Mientras que, las muestras realizadas con quitosano comercial evidenciaron

una mejor solubilidad, así como consistencia, aunque se tuvieron problemas de adherencia a la superficie de impresión y precisión en las estructuras impresas.

La evaluación de biocompatibilidad en base a la norma ISO 10993-5 por medio de MTT con la línea celular L929, reportó que el biomaterial más biocompatible fue el PLA tanto para el extracto al 50 % obteniendo 103.05 % de viabilidad celular. Esto sugiere que se produjo proliferación celular. Por el contrario, tanto el material a base de quitosano como el TPU se consideran citotóxicos moderadamente, ya que se obtuvieron viabilidades por debajo del umbral de 70 % establecido por la norma ISO. La baja viabilidad celular del quitosano (40 % - 43 %) se relaciona con el alto grado de desacetilación y el TPU (34 %) se relaciona con residuos químicos en el material.

Las pruebas mecánicas de compresión y tensión mostraron que es necesario optimizar los biomateriales para obtener un material que se acerque al módulo de Young necesario para el funcionamiento adecuado de la válvula aórtica. Se necesita tener una combinación ideal entre rigidez y elasticidad para replicar el movimiento fisiológico de la válvula. Las pruebas mostraron que el gel de quitosano resultó ser demasiado flexible obteniendo 16.44 kPa de módulo de Young, mientras que el PLA es demasiado rígido reportando un módulo de Young en el rango de 2500 a 3800 MPa. Por último, el TPU fue el material más prometedor resultando con un módulo de Young entre 55 y 84 MPa el cual permite tener un equilibrio entre rigidez y elasticidad, por lo que este se presenta como el material más prometedor en términos de propiedades mecánicas.

El proyecto evaluó los métodos de fabricación de biomateriales por medio de impresión 3D para el tratamiento de la estenosis aórtica utilizando biomateriales como el quitosano, el ácido poliláctico (PLA) y el poliuretano termoplástico (TPU). Los resultados mostraron que los biomateriales cumplen parcialmente con las características necesarias, pero no de manera óptima. El PLA fue altamente biocompatible pero es demasiado rígido, lo que no permite que replique el movimiento fisiológico de la válvula aórtica. El quitosano, tanto el que se sintetizó como el comercial presentó varios desafíos desde su solubilidad hasta el proceso de impresión 3D donde solamente se realizaron impresiones de práctica. Además, este biomaterial combinado con glicerofosfato de sodio demostró ser moderadamente citotóxico. Por otro lado, el TPU parece ser un material más prometedor ya que las propiedades mecánicas se acercan a las necesarias para el funcionamiento de la válvula aórtica, logrando un equilibrio entre rigidez y elasticidad. Sin embargo mostró tener citotoxicidad moderada, por lo que a futuro se debe investigar como optimizar la biocompatibilidad teniendo como opción el uso de TPU de grado médico.

- Revisión y optimización del protocolo de síntesis de quitosano a partir de la quitina comercial por medio de una desacetilación alcalina. Se recomienda experimentar con distintas concentraciones de hidróxido de sodio (NaOH), temperatura y técnicas de purificación, así como de eliminación de residuos. De este modo, se obtiene un material de mayor pureza. Explorar el protocolo de síntesis es necesario para aumentar el grado de desacetilación para evitar problemas de solubilidad del material al resuspenderlo en soluciones ácidas.
- Investigar nuevos reticulantes ("*crosslinkers*") de biomateriales con quitosano para optimizar el proceso de bioimpresión y para ayudar a mejorar las propiedades del quitosano. Además, al optimizar las propiedades del material, se busca mejorar la resolución de impresión para obtener modelos 3D funcionales que simulen de manera más precisa las condiciones fisiológicas de la válvula aórtica.
- Analizar degradación del material para determinar la vida útil del modelo en el corazón. Esto permite evaluar la estabilidad del biomaterial en condiciones fisiológicas y su posible utilización en aplicaciones a largo plazo. Además, someterlos materiales a condiciones no controladas permite observar su comportamiento ante factores químicos y mecánicos del corazón.
- Para futuras investigaciones se puede hacer un diseño 3D del modelo anatómico en base a imágenes médicas de la afección de estenosis aórtica para la simulación de casos clínicos reales. Esto permitiría generar modelos anatómicos 3D personalizados por paciente, así como planificar intervenciones quirúrgicas. Asimismo, funcionaría como validación de la precisión geométrica de las impresiones 3D.
- Implementar el uso de COMSOL Multiphysics para simular el comportamiento hemodinámico dentro de la impresión 3D del modelo de la válvula aórtica.
- Realizar pruebas mecánicas exhaustivas para evaluar el comportamiento de los modelos en condiciones fisiológicas de cambio de presión arterial, flujo sanguíneo y la deformación que el modelo sufriría.

- Utilizar una máquina universal de pruebas mecánicas específica para biomateriales que este equipada con una celda de baja capacidad para probar materiales con módulo de Young en el rango de kPa y MPa.
- Complementar con pruebas de hematocompatibilidad ya que el modelo estaría en contacto con la sangre.

-
- [1] U. C. for Disease Control y Prevention, *About Heart Valve Disease*, 2025. visitado 21 de abr. de 2025. dirección: <https://www.cdc.gov/heart-disease/about/heart-valve-disease.html>.
 - [2] O. P. de la Salud, *La Carga de Enfermedades Cardiovasculares - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*, 2021. visitado 21 de abr. de 2025. dirección: <https://www.paho.org/es/enlace/carga-enfermedades-cardiovasculares>.
 - [3] A. O. A. Castillo, J. C. S. Córdova y R. A. R. Villatoro, «Perfil Epidemiológico del Cambio Valvular Cardíaco en UNICAR.,» *Asociación de Cirujanos, Guatemala*, 2020. visitado 1 de mar. de 2025. dirección: <https://pp.centramerica.com/pp/bancofotos/1519-40484.pdf>.
 - [4] J. Morales, *Unicar presenta caso exitoso de reemplazo de válvula aórtica por catéter*, mar. de 2023. visitado 9 de abr. de 2025. dirección: <https://agn.gt/unicar-presenta-caso-exitoso-de-reemplazo-de-valvula-aortica-por-cateter/>.
 - [5] C. Mancusi, E. Bahlmann, C. Basile y E. Gerdtts, «New Evidence About Aortic Valve Stenosis and Cardiovascular Hemodynamics,» *High Blood Pressure and Cardiovascular Prevention*, vol. 29, págs. 231-237, 3 mayo de 2022, ISSN: 1179-1985. DOI: 10.1007/s40292-022-00520-x.
 - [6] S. Godfrey, J. N. Kirkpatrick, D. B. Kramer y M. S. Sulistio, «Expanding the Paradigm for Cardiovascular Palliative Care,» *Circulation*, vol. 148, págs. 1039-1052, 13 sep. de 2023, ISSN: 0009-7322. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.063193.
 - [7] D. V. Echeverri, F. Estévez-Cid y J. J. C. Castillo, «Tratamiento de la estenosis valvular aórtica severa degenerativa: Actualidad y futuro. Perspectiva del cirujano cardíaco,» *Galicia Clin*, vol. 1, págs. 13-18, 76 ene. de 2015. dirección: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5150398.pdf>.
 - [8] J. Joseph, S. Y. Naqvi, J. Giri y S. Goldberg, «Aortic Stenosis: Pathophysiology, Diagnosis, and Therapy,» *The American Journal of Medicine*, vol. 130, págs. 253-263, 3 mar. de 2017, ISSN: 00029343. DOI: 10.1016/j.amjmed.2016.10.005. dirección: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934316310737>.

- [9] T. K. Pasala y C. E. Ruiz, «El TAVI como primera opción en la estenosis aórtica grave: ¿quimera o realidad?» *Revista Española de Cardiología*, vol. 71, págs. 141-145, 3 mar. de 2018, ISSN: 03008932. DOI: 10.1016/j.recesp.2017.09.008.
- [10] I. Vesely, «Heart Valve Tissue Engineering,» *Circulation Research*, vol. 97, págs. 743-755, 8 oct. de 2005, ISSN: 0009-7330. DOI: 10.1161/01.RES.0000185326.04010.9f.
- [11] A. H. Association, *Types of Replacement Heart Valves*, jun. de 2024. visitado 12 de abr. de 2025. dirección: <https://www.heart.org/en/health-topics/heart-valve-problems-and-disease/understanding-your-heart-valve-treatment-options/types-of-replacement-heart-valves>.
- [12] P. Pibarot y J. G. Dumesnil, «Prosthetic Heart Valves: Selection of the Optimal Prosthesis and Long-Term Management,» *Circulation*, vol. 119, págs. 1034-1048, 7 feb. de 2009, ISSN: 0009-7322. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.778886.
- [13] C. Médico, *Procedimiento TAVI para sustituir válvula aórtica se realiza con éxito en Centro Médico*, ago. de 2023. visitado 10 de mar. de 2025. dirección: <https://centromedico.com/noticias-1/andnfenf9hbhgup715sfobjhdo651s>.
- [14] G. G. Donis, *El tratamiento de la Estenosis Aórtica que evitará la cirugía a corazón abierto*, sep. de 2021. visitado 9 de abr. de 2025. dirección: <https://agexporthoy.export.com.gt/opinion-agexport/el-tratamiento-de-la-estenosis-aortica-que-evitara-la-cirugia-a-corazon-abierto/>.
- [15] R. Médica, *Hospital El Pilar, realiza con éxito el reemplazo de válvula cardiaca aórtica por catéter (TAVI o TAVR) con tecnología de última generación y protocolos internacionales que lo certifican*, oct. de 2021. visitado 9 de abr. de 2025. dirección: <https://relevanciamedica.com/hospital-el-pilar-realiza-con-exito-el-reemplazo-de-valvula-cardiaca-aortica-por-cateter-tavi-o-tavr-con-tecnologia-de-ultima-generacion-y-protocolos-internacionales-que-lo-certifican/>.
- [16] S. 502 y H. H. Llerandi, *Hospital Herrera Llerandi presenta innovadores avances en cardiología*, nov. de 2022. visitado 10 de abr. de 2025. dirección: <https://www.soy502.com/articulo/hospital-herrera-llerandi-presenta-avances-cardiologia-101337-0>.
- [17] O. M. de la Salud, *Enfermedades cardiovasculares*, jun. de 2021. visitado 4 de abr. de 2025. dirección: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)#:~:text=Las%20enfermedades%20cardiovasculares%20\(ECV\)%20son,las%20muertes%20a%20escala%20mundial..](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)#:~:text=Las%20enfermedades%20cardiovasculares%20(ECV)%20son,las%20muertes%20a%20escala%20mundial..)
- [18] S. Coffey, B. J. Cairns y B. Iung, «The modern epidemiology of heart valve disease,» *Heart*, vol. 102, págs. 75-85, 1 ene. de 2016, ISSN: 1355-6037. DOI: 10.1136/heartjnl-2014-307020.
- [19] J. Balcarcel, *CENTRO MÉDICO Líderes en innovación cardiovascular*, mayo de 2021. visitado 3 de jul. de 2025. dirección: <CENTRO%20M%C3%89DICO%20L%C3%ADderes%20en%20innovaci%C3%B3n%20cardiovascular>.
- [20] V. Becerril-Montekio y L. López-Dávila, «Sistema de Salud de Guatemala,» *Salud Pública de México*, vol. 53, 2 ene. de 2011. dirección: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342011000800015.

- [21] D. J. R. C. Molina, «Evolución y Desarrollo de la Cirugía Cardíaca en Guatemala (42 Años),» *Asociación de Cirujanos Guatemala*, vol. 25, 2019. dirección: <https://pp.centramerica.com/pp/bancofotos/1519-39081.pdf>.
- [22] D. Angelo et al., «3D-Printing of Artificial Aortic Heart Valve Using UV-Cured Silicone: Design and Performance Analysis,» *Bioengineering 2025, Vol. 12, Page 94*, vol. 12, pág. 94, 1 ene. de 2025, ISSN: 2306-5354. DOI: 10.3390/BIOENGINEERING12010094. dirección: <https://www.mdpi.com/2306-5354/12/1/94/htm%20https://www.mdpi.com/2306-5354/12/1/94>.
- [23] M. Vu, A. Pramanik, A. K. Basak, C. Prakash y S. Shankar, «Progress and challenges on extrusion based three dimensional (3D) printing of biomaterials,» *Bioprinting*, vol. 27, e00223, ago. de 2022, ISSN: 2405-8866. DOI: 10.1016/J.BPRINT.2022.E00223. dirección: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2405886622000331>.
- [24] V. Tuncay y P. M. van Ooijen, «3D printing for heart valve disease: a systematic review,» *European radiology experimental*, vol. 3, pág. 9, 1 feb. de 2019, ISSN: 25099280. DOI: 10.1186/S41747-018-0083-0/FIGURES/6. dirección: <https://eurradiolexp.springeropen.com/articles/10.1186/s41747-018-0083-0>.
- [25] M. J. Vernon et al., «3D printing of heart valves,» *Trends in Biotechnology*, vol. 42, págs. 612-630, 5 mayo de 2024, ISSN: 18793096. DOI: 10.1016/j.tibtech.2023.11.001. dirección: [https://www.cell.com/trends/biotechnology/abstract/S0167-7799\(23\)00323-2?rss=yes](https://www.cell.com/trends/biotechnology/abstract/S0167-7799(23)00323-2?rss=yes).
- [26] S. Jana y A. Lerman, «Bioprinting a cardiac valve,» *Biotechnology Advances*, vol. 33, págs. 1503-1521, 8 2015, ISSN: 07349750. DOI: 10.1016/J.BIOTECHADV.2015.07.006.
- [27] S. M. Turley, *Medical language*, 3rd ed. Upper Saddle River, N.J: Pearson Education, 2014, 958 págs., ISBN: 978-0-13-334683-1.
- [28] J. Rice, *Medical terminology for health care professionals*, 9 edition. Pearson, 2017, 845 págs., ISBN: 978-0134746272.
- [29] B. F. Fremgen y S. S. Frucht, *Medical terminology: a living language*, Seventh edition. New York, NY: Pearson, 2018, 612 págs., ISBN: 978-0-13-470120-2.
- [30] I. Rehman y A. Rehman, *Anatomy, Thorax, Heart*. StatPearls Publishing, ago. de 2023. visitado 8 de jun. de 2025. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470256/>.
- [31] S. Shah, G. Gnanasegaran, J. Sundberg-Cohon y J. R. Buscombe, «The Heart: Anatomy, Physiology and Exercise Physiology,» en *Integrating Cardiology for Nuclear Medicine Physicians*. Springer Berlin Heidelberg, 2009, págs. 3-22. DOI: 10.1007/978-3-540-78674-0_1.
- [32] S. T. Modules, *Structure of the Heart*, 2025. visitado 28 de jun. de 2025. dirección: <https://training.seer.cancer.gov/anatomy/cardiovascular/heart/structure.html>.
- [33] R. B. Hinton y K. E. Yutzey, «Heart Valve Structure and Function in Development and Disease,» *Annual Review of Physiology*, vol. 73, págs. 29-46, 1 mar. de 2011, ISSN: 0066-4278. DOI: 10.1146/annurev-physiol-012110-142145.
- [34] J. D. Pollock y A. N. Makaryus, *Physiology, Cardiac Cycle*. StatPearls Publishing, oct. de 2022. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459327/>.

- [35] N. Bachani, S. Vijay, A. Vyas, J. Jadwani, G. Panicker e Y. Lokhandwala, «The diastolic duration as a percentage of the cardiac cycle in healthy adults: A pilot study,» *Indian Heart Journal*, vol. 77, págs. 73-77, 2 mar. de 2025, ISSN: 00194832. DOI: 10.1016/j.ihj.2025.02.005.
- [36] H. Fukuta y W. C. Little, «The Cardiac Cycle and the Physiologic Basis of Left Ventricular Contraction, Ejection, Relaxation, and Filling,» *Heart Failure Clinics*, vol. 4, págs. 1-11, 1 ene. de 2008, ISSN: 15517136. DOI: 10.1016/j.hfc.2007.10.004.
- [37] W. C. Little, J. G. Warner, K. M. Rankin, D. W. Kitzman y C.-P. Cheng, «Evaluation of left ventricular diastolic function from the pattern of left ventricular filling,» *Clinical Cardiology*, vol. 21, págs. 5-9, 1 ene. de 1998, ISSN: 0160-9289. DOI: 10.1002/clc.4960210102.
- [38] D. R. Anacona y D. S. C. Pinto, «Epidemiology of aortic valve stenosis (AS) and of aortic valve incompetence (AI): is the prevalence of AS/AI similar in different parts of the world?» *European Society of Cardiology*, vol. 18, 10-12 feb. de 2020. dirección: <https://www.escardio.org/Journals/E-Journal-of-Cardiology-Practice/Volume-18/epidemiology-of-aortic-valve-stenosis-as-and-of-aortic-valve-incompetence-ai>.
- [39] S. Nathaniel, «Aortic stenosis: An update,» *World Journal of Cardiology*, vol. 2, pág. 135, 6 2010, ISSN: 1949-8462. DOI: 10.4330/wjc.v2.i6.135.
- [40] P. Génereux, B. R. Lindman y P. Pibarot, «New Classification to Describe Clinical Presentation in Aortic Stenosis: Stable, Progressive, and Acute Valve Syndrome,» *Circulation*, vol. 151, págs. 1627-1629, 23 jun. de 2025, ISSN: 0009-7322. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.125.074251.
- [41] I. G. Scalia et al., «Aortic Valve Calcium Score by Computed Tomography as an Adjunct to Echocardiographic Assessment—A Review of Clinical Utility and Applications,» *Journal of Imaging*, vol. 9, pág. 250, 11 nov. de 2023, ISSN: 2313-433X. DOI: 10.3390/jimaging9110250.
- [42] D. E. Ciolacu, R. Nicu y F. Ciolacu, «Natural Polymers in Heart Valve Tissue Engineering: Strategies, Advances and Challenges,» *Biomedicines*, vol. 10, pág. 1095, 5 mayo de 2022, ISSN: 2227-9059. DOI: 10.3390/biomedicines10051095.
- [43] E. Rabkin-Aikawa, J. E. Mayer y F. J. Schoen, «Heart Valve Regeneration,» en *Regenerative Medicine II* (Advances in Biochemical Engineering), I. V. Yannas, ed., Advances in Biochemical Engineering. Springer, mar. de 2005, vol. 94, págs. 141-179. DOI: 10.1007/b100003.
- [44] A. H. Association, *Types of Replacement Heart Valves*, jun. de 2024. dirección: <https://www.heart.org/en/health-topics/heart-valve-problems-and-disease/understanding-your-heart-valve-treatment-options/types-of-replacement-heart-valves>.
- [45] A. D. Martino, A. D. Milano, M. D. Barbera, G. Thiene y U. Bortolotti, «The Caged-Ball Prosthesis 60 Years Later: A Historical Review of a Cardiac Surgery Milestone,» *Texas Heart Institute Journal*, vol. 49, 2 2022, ISSN: 1526-6702. DOI: 10.14503/THIJ-20-7267.
- [46] M. Amrane, G. Soulat, A. Carpentier y J. Jouan, «Starr–Edwards aortic valve: 50+ years and still going strong: a case report,» *European Heart Journal - Case Reports*, vol. 1, 2 dic. de 2017, ISSN: 2514-2119. DOI: 10.1093/ehjcr/yt014.

- [47] K. Kapoor, H. Bhardwaj y W. Paulsen, «LONGEST KNOWN DURATION OF IMPLANTED MODEL K/TYPE I KAY-SHILEY DISC VALVE IN THE LITERATURE AT 54 YEARS,» *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 77, pág. 2762, 18 mayo de 2021, ISSN: 07351097. DOI: 10.1016/S0735-1097(21)04117-6.
- [48] T. McManus y P. D. Zinn, «Forty-Eight-Year Functionality of Björk-Shiley Aortic and Mitral Valves in One Patient,» *Cureus*, sep. de 2023, ISSN: 2168-8184. DOI: 10.7759/cureus.44976.
- [49] P. Tschorn, F. Schröter, M. Hartrumpf, R.-U. Kühnel, R. Ostovar y J. M. Albes, «Engineering a New Polymeric Heart Valve Using 3D Printing—TRISKELION,» *Medicina*, vol. 58, pág. 1695, 11 nov. de 2022, ISSN: 1648-9144. DOI: 10.3390/medicina58111695.
- [50] J. L. Olson, A. Atala y J. J. Yoo, «Tissue Engineering: Current Strategies and Future Directions,» *Chonnam Medical Journal*, vol. 47, pág. 1, 1 2011, ISSN: 2233-7385. DOI: 10.4068/cmj.2011.47.1.1.
- [51] D. Zhang, R. He, Y. Qu, C. He y B. Chu, «Application of biomaterials in cardiac tissue engineering: Current status and prospects,» *MedComm – Biomaterials and Applications*, vol. 3, 4 dic. de 2024, ISSN: 2769-643X. DOI: 10.1002/mba2.103.
- [52] T. K. Rajab, J. Jagers y D. N. Campbell, «Heart transplantation following donation after cardiac death: History, current techniques, and future,» *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, vol. 161, págs. 1335-1340, 4 abr. de 2021, ISSN: 00225223. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2020.02.085.
- [53] Z. Sun et al., «Three-Dimensional Bioprinting in Cardiovascular Disease: Current Status and Future Directions,» *Biomolecules*, vol. 13, pág. 1180, 8 ago. de 2023, ISSN: 2218273X. DOI: 10.3390/BIOM13081180. dirección: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10452258/>.
- [54] C. Tormos y S. Madihally, «Chitosan for cardiac tissue engineering and regeneration,» en *Chitosan Based Biomaterials Volume 2*. Elsevier, 2017, págs. 115-143. DOI: 10.1016/B978-0-08-100228-5.00005-5.
- [55] J. A. Roacho-Pérez et al., «Artificial Scaffolds in Cardiac Tissue Engineering,» *Life*, vol. 12, pág. 1117, 8 jul. de 2022, ISSN: 2075-1729. DOI: 10.3390/life12081117.
- [56] Y. Fang, T. Zhang, Y. Song y W. Sun, «Assessment of various crosslinking agents on collagen/chitosan scaffolds for myocardial tissue engineering,» *Biomedical Materials*, vol. 15, pág. 045003, 4 mayo de 2020, ISSN: 1748-605X. DOI: 10.1088/1748-605X/ab452d.
- [57] H. Wang et al., «Three-dimensional printing for cardiovascular diseases: from anatomical modeling to dynamic functionality,» *BioMedical Engineering OnLine*, vol. 19, pág. 76, 1 dic. de 2020, ISSN: 1475-925X. DOI: 10.1186/s12938-020-00822-y.
- [58] V. DeStefano, S. Khan y A. Tabada, «Applications of PLA in modern medicine,» *Engineered Regeneration*, vol. 1, págs. 76-87, 2020, ISSN: 26661381. DOI: 10.1016/j.engreg.2020.08.002.
- [59] D. Wienen, T. Gries, S. L. Cooper y D. E. Heath, «An overview of polyurethane biomaterials and their use in drug delivery,» *Journal of Controlled Release*, vol. 363, págs. 376-388, nov. de 2023, ISSN: 01683659. DOI: 10.1016/j.jconrel.2023.09.036.

- [60] L. P. Hatt et al., «Micro-porous PLGA/ -TCP/TPU scaffolds prepared by solvent-based 3D printing for bone tissue engineering purposes,» *Regenerative Biomaterials*, vol. 10, ene. de 2023, ISSN: 2056-3426. DOI: 10.1093/rb/rbad084.
- [61] M. Kozma, B. Acharya y R. Bissessur, «Chitin, Chitosan, and Nanochitin: Extraction, Synthesis, and Applications,» *Polymers 2022, Vol. 14, Page 3989*, vol. 14, pág. 3989, 19 sep. de 2022, ISSN: 2073-4360. DOI: 10.3390/POLYM14193989. dirección: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/19/3989/htm%20https://www.mdpi.com/2073-4360/14/19/3989>.
- [62] A. X. C. Payés, «Optimización de la extracción de quitosano a partir del exoesqueleto de camarón *Litopenaeus Vannamei*, utilizando radiación de microondas como alternativa sostenible,» Tesis doct., Universidad del Valle de Guatemala, 2022. dirección: <https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/handle/123456789/4457>.
- [63] N. F. Rasifudi, L. Mekuto y M. J. Mathaba, «Optimization of Chitosan Synthesis Process Parameters to Enhance PES/Chitosan Membrane Performance for the Treatment of Acid Mine Drainage (AMD),» *Materials*, vol. 17, pág. 2562, 11 mayo de 2024, ISSN: 1996-1944. DOI: 10.3390/ma17112562.
- [64] C. Leggett, *Semilunar heart valve CAD model design for 3D printing*, jun. de 2023. visitado 8 de mar. de 2025. dirección: <https://3d.nih.gov/entries/452/2>.
- [65] R. Syed, *Heart Valve Bioprosthesis - 3D printed*, ago. de 2024. visitado 7 de mar. de 2025. dirección: <https://grabcad.com/library/heart-valve-bioprosthesis-3d-printed-1>.
- [66] J. Jahanyar et al., «Functional and pathomorphological anatomy of the aortic valve and root for aortic valve sparing surgery in tricuspid and bicuspid aortic valves,» *Annals of Cardiothoracic Surgery*, vol. 12, págs. 179-193, 3 mayo de 2023, ISSN: 2225319X. DOI: 10.21037/acs-2023-avs1-22.
- [67] A. Hosney, S. Ullah y K. Barčauskaitė, «A Review of the Chemical Extraction of Chitosan from Shrimp Wastes and Prediction of Factors Affecting Chitosan Yield by Using an Artificial Neural Network,» *Marine Drugs*, vol. 20, pág. 675, 11 oct. de 2022, ISSN: 1660-3397. DOI: 10.3390/md20110675.
- [68] J. Weißpflog et al., «Characterization of chitosan with different degree of deacetylation and equal viscosity in dissolved and solid state – Insights by various complimentary methods,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 171, págs. 242-261, feb. de 2021, ISSN: 0141-8130. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.01.010. dirección: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813021000246>.
- [69] I. Aranaz et al., «Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications,» *Polymers*, vol. 13, pág. 3256, 19 oct. de 2021, ISSN: 20734360. DOI: 10.3390/POLYM13193256. dirección: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8512059/>.
- [70] M. Hossain y A. Iqbal, «Production and characterization of chitosan from shrimp waste,» *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, vol. 12, págs. 153-160, 1 dic. de 2014, ISSN: 2408-8684. DOI: 10.3329/jbau.v12i1.21405.

- [71] E. Fallahiarezouard, M. Ahmadipourroudposht, N. M. Yusof, A. Idris y N. H. A. Ngadiman, «3D Biofabrication of Thermoplastic Polyurethane (TPU)/Poly-l-lactic Acid (PLLA) Electrospun Nanofibers Containing Maghemite (-Fe₂O₃) for Tissue Engineering Aortic Heart Valve.» *Polymers* 2017, Vol. 9, Page 584, vol. 9, pág. 584, 11 nov. de 2017, ISSN: 2073-4360. DOI: 10.3390/POLYM9110584. dirección: <https://www.mdpi.com/2073-4360/9/11/584/htm%20https://www.mdpi.com/2073-4360/9/11/584>.
- [72] M. Rozeik, D. Wheatley y T. Gourlay, «The aortic valve: structure, complications and implications for transcatheter aortic valve replacement.» *Perfusion*, vol. 29, págs. 285-300, 4 jul. de 2014, ISSN: 0267-6591. DOI: 10.1177/0267659114521650.
- [73] V. Ciobotaru et al., «Aortic Valve Engineering Advancements: Precision Tuning with Laser Sintering Additive Manufacturing of TPU/TPE Submillimeter Membranes.» *Polymers*, vol. 16, pág. 900, 7 abr. de 2024, ISSN: 20734360. DOI: 10.3390/POLYM16070900/S1. dirección: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11013727/>.
- [74] I. Younes y M. Rinaudo, «Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications.» *Marine Drugs*, vol. 13, págs. 1133-1174, 3 mar. de 2015, ISSN: 1660-3397. DOI: 10.3390/md13031133.
- [75] C. Casadidio, D. V. Peregrina, M. R. Gigliobianco, S. Deng, R. Censi y P. D. Martino, «Chitin and Chitosans: Characteristics, Eco-Friendly Processes, and Applications in Cosmetic Science.» *Marine Drugs*, vol. 17, pág. 369, 6 jun. de 2019, ISSN: 1660-3397. DOI: 10.3390/md17060369.
- [76] L. Zhou et al., «3D printing of high-strength chitosan hydrogel scaffolds without any organic solvents.» *Biomaterials Science*, vol. 8, págs. 5020-5028, 18 sep. de 2020, ISSN: 2047-4849. DOI: 10.1039/D0BM00896F. dirección: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2020/bm/d0bm00896f%20https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2020/bm/d0bm00896f>.
- [77] M. Taghizadeh et al., «Chitosan-based inks for 3D printing and bioprinting.» *Green Chemistry*, vol. 24, págs. 62-101, 1 2022, ISSN: 1463-9262. DOI: 10.1039/D1GC01799C.
- [78] I. O. for Standardization (ISO), *ISO 10993-5:2009 - Evaluación biológica de dispositivos médicos — Parte 5: Pruebas de citotoxicidad in vitro*, jun. de 2009. visitado 17 de oct. de 2025. dirección: <https://www.iso.org/standard/36406.html>.
- [79] L. J. R. Foster, S. Ho, J. Hook, M. Basuki y H. Marçal, «Chitosan as a Biomaterial: Influence of Degree of Deacetylation on Its Physiochemical, Material and Biological Properties.» *PLOS ONE*, vol. 10, e0135153, 8 ago. de 2015, ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0135153.
- [80] T. T. Demirtaş, G. Irmak y M. Gümüşderelioğlu, «A bioprintable form of chitosan hydrogel for bone tissue engineering.» *Biofabrication*, vol. 9, pág. 035003, 3 jul. de 2017, ISSN: 1758-5090. DOI: 10.1088/1758-5090/aa7b1d.
- [81] M. C. Wurm et al., «In-vitro evaluation of Polylactic acid (PLA) manufactured by fused deposition modeling.» *Journal of Biological Engineering*, vol. 11, pág. 29, 1 dic. de 2017, ISSN: 1754-1611. DOI: 10.1186/s13036-017-0073-4.
- [82] M.-S. M'Bengue et al., «Evaluation of a Medical Grade Thermoplastic Polyurethane for the Manufacture of an Implantable Medical Device: The Impact of FDM 3D-Printing and Gamma Sterilization.» *Pharmaceutics*, vol. 15, pág. 456, 2 ene. de 2023, ISSN: 1999-4923. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020456.

- [83] H. Qin, J. Wang, T. Wang, X. Gao, Q. Wan y X. Pei, «Preparation and Characterization of Chitosan/-Glycerophosphate Thermal-Sensitive Hydrogel Reinforced by Graphene Oxide,» *Frontiers in Chemistry*, vol. 6, nov. de 2018, ISSN: 2296-2646. DOI: 10.3389/fchem.2018.00565.
- [84] Z. W. Muthui, P. K. Kamweru, F. G. Nderitu, S. A. G. Hussein, R. Ngumbu y G. N. Njoroge, «Polylactic acid (PLA) viscoelastic properties and their degradation compared with those of polyethylene,» *International Journal of Physical Sciences*, vol. 10, págs. 568-575, 21 nov. de 2015, ISSN: 1992-1950. DOI: 10.5897/IJPS2015.4412.
- [85] B. Adrover-Monserrat, J. Llumà, R. Jerez-Mesa y J. A. Travieso-Rodríguez, «Study of the Influence of the Manufacturing Parameters on Tensile Properties of Thermoplastic Elastomers,» *Polymers*, vol. 14, pág. 576, 3 ene. de 2022, ISSN: 2073-4360. DOI: 10.3390/polym14030576.
- [86] A. Hamdan et al., «Deformation Dynamics and Mechanical Properties of the Aortic Annulus by 4-Dimensional Computed Tomography,» *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 59, págs. 119-127, 2 ene. de 2012, ISSN: 07351097. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.09.045.

