



Informes Anticipando
BIOIMPRESIÓN
EN LA MEDICINA DEL FUTURO



Informe Anticipando coordinado por:

José Luis Jorcano Noval

Profesor del Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial de la Universidad Carlos III de Madrid.
Cátedra Ramón Areces.



Expertos colaboradores:

Elisabeth Engel López

Investigadora principal del Grupo de biomateriales para terapias regenerativas del Instituto de Bioingeniería de Cataluña (IBEC) y Catedrática del Departamento de ciencia de los materiales e ingeniería metalúrgica, Universidad Politécnica de Cataluña.

Álvaro Meana Iniesta

Director del Banco de Tejidos del Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias e Investigador asociado al Instituto Universitario Fernández-Vega de la Universidad de Oviedo.

Rubén Pérez Mañanes

Cirujano Ortopédico Oncológico y Fundador y coordinador de la Unidad de Impresión 3D Hospitalaria, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

Diego Velasco Bayón

Profesor del Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial de la Universidad Carlos III de Madrid.



Comité Asesor Observatorio de Tendencias de Medicina Personalizada de Precisión:

Joaquín Arenas

Director del Instituto de Investigación del Hospital Universitario 12 de Octubre (i+12).

Ángel Carracedo

Director de la Fundación Pública Gallega de Medicina Genómica (Servicio Gallego de Salud) y Coordinador del Grupo de Medicina Genómica de la Universidad de Santiago de Compostela (CIBERER).

Pablo Lapunzina

Jefe de grupo de investigación del Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM) del idIPaz y Director Científico del CIBERER.

Nº de depósito legal: M-19548-2019

© 2019 del contenido: Fundación Instituto Roche. Se permite la reproducción parcial, sin fines lucrativos, indicando la fuente y la titularidad de la Fundación Instituto Roche sobre los derechos de la obra.

www.institutoroche.es

Con la colaboración de Ascendo Consulting Sanidad&Farma.

Contenidos

PRESENTACIÓN.....	5
RESUMEN EJECUTIVO	7
INTRODUCCIÓN.....	9
Impresión 3D.....	9
• Aplicaciones de la impresión 3D en medicina.....	10
Bioimpresión.....	11
• Biotintas	11
• Principales técnicas de bioimpresión	12
• Proceso de bioimpresión	14
APLICACIONES DE LA BIOIMPRESIÓN.....	16
Aplicaciones actuales de la Bioimpresión	17
Aplicaciones de la Bioimpresión en la medicina del futuro.....	18
• Aplicaciones a corto-medio plazo	18
• Aplicaciones a largo plazo.....	19
RETOS.....	21
Retos tecnológicos	21
Retos para la traslación a la práctica clínica	22
Retos éticos y legales	23
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES PARA AVANZAR EN LA APLICACIÓN DE LA BIOIMPRESIÓN EN LA MEDICINA PERSONALIZADA DE PRECISIÓN	25
Bibliografía	27

Informes Anticipando

BIOIMPRESIÓN EN LA MEDICINA DEL FUTURO





PRESENTACIÓN

Los Informes Anticipando, elaborados en el marco del Observatorio de Tendencias de Medicina Personalizada de Precisión (MPP) promovido por la Fundación Instituto Roche, surgen con el objetivo de contribuir a la generación y puesta en común del conocimiento, así como a la difusión de los avances que se producen en la evolución de la Medicina Personalizada de Precisión para colaborar a traer al presente la medicina del futuro.

El Observatorio cuenta con un Comité Asesor de expertos formado por el **Dr. Ángel Carracedo**, el **Dr. Joaquín Arenas** y el **Dr. Pablo Lapunzina**. Entre sus funciones se incluye la selección de las temáticas que abordan estos informes, la identificación de expertos y la validación de los contenidos.

Este informe que versa sobre la bioimpresión en la medicina del futuro está coordinado por el **Dr. José Luis Jorcano Noval** y en su elaboración han participado como expertos la **Dra. Elisabeth Engel López**, el **Dr. Álvaro Meana Infiesta**, el **Dr. Rubén Pérez Mañanes** y el **Dr. Diego Velasco Bayón**.

El **Dr. José Luis Jorcano Noval**, es actualmente codirector del grupo TERMeG-Integra (Tissue Engineering and Regenerative Medicine-Integrative Biomedicine) en la Universidad Carlos III de Madrid (UC3M). En su etapa como director de la División de Biomedicina Epitelial del CIEMAT, su grupo adquirió reconocimiento internacional como pionero en la generación de modelos transgénicos para el estudio de la piel y de las enfermedades cutáneas. Posteriormente, en colaboración con el profesor Meana, desarrolló y aplicó un método para producir grandes superficies de piel (cultivos organotípicos 3D) a partir de pequeñas biopsias, el cual fue aplicado al tratamiento de grandes quemados, diferentes tipos de úlceras, heridas quirúrgicas y a pacientes de Epidermolisis Ampollosa. Tras su incorporación a la UC3M, desarrolla proyectos multidisciplinares en varias áreas de la bioingeniería tales

como la mecánica celular, la bioimpresión 3D de tejidos humanos y tejidos en chips. Su laboratorio es reconocido por haber sido primero en producir por bioimpresión 3D un tejido humano funcional, en este caso la piel. Actualmente es el director de la Unidad Académica “Disruptive Technologies in Biomedicine (Integrative Biology)” de la UC3M.

La **Dra. Elisabeth Engel López**, investigadora principal del grupo de biomateriales para terapias regenerativas en el Instituto de Bioingeniería de Cataluña (IBEC), junto con su grupo, centra su actividad investigadora en el desarrollo de biomateriales en el campo de la medicina regenerativa. Dentro de este ámbito, una de las áreas en las que trabajan es en la generación de biomateriales bioactivos para la regeneración utilizando la impresión 3D para dotarlos de las características necesarias para que puedan substituir tejidos y órganos de forma temporal mientras promueven la regeneración. En el ámbito de la bioimpresión, están desarrollando nuevas tintas para ser utilizadas en bioimpresión, así como matrices descelularizadas producidas por células en cultivo. Las dos estrategias permitirán generar constructos que promuevan un microambiente que induzca la regeneración de los tejidos.

El **Dr. Álvaro Meana Infiesta** es Director del Banco de Tejidos y Unidad de Ingeniería Tisular del Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias cuya actividad está basada en proporcionar tejidos humanos aptos para el trasplante a las unidades clínicas. Además, también se encargan de proporcionar a las Unidades de Quemados piel bioartificial para el tratamiento de grandes quemados, úlceras cutáneas crónicas y enfermedades raras de la piel. En el ámbito de la investigación, como Investigador de la Fundación de Investigación Oftalmológica del Instituto Universitario Fernández-Vega de la Universidad de Oviedo, realiza estudios de medicina regenerativa

en córnea, especialmente en búsqueda de modelos de córneas bioartificiales. Actualmente, en el campo de la impresión 3D está desarrollando modelos de biotintas a partir de componentes sanguíneos y tejidos no empleados en transfusión y trasplante.

En el campo de la impresión 3D integrada trasversalmente en el tejido hospitalario, destaca la experiencia del **Dr. Rubén Pérez Mañanes**, Cirujano Ortopédico Oncológico, como fundador y coordinador de la Unidad de Impresión 3D Hospitalaria del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Este laboratorio de impresión 3D, que se puso en marcha en el año 2015, es un laboratorio pionero en España que ofrece soluciones específicas para cada paciente fabricadas en el propio hospital dando respuesta a necesidades de

planificación preoperatoria y ejecución quirúrgica a más de 12 especialidades médicas. Actualmente, participa en varios proyectos de investigación y desarrollo relacionados con la impresión 3D destacando, por su gran repercusión, la hibridación de impresión 3D con realidad aumentada y su aplicación clínica real en cirugía.

El **Dr. Diego Velasco Bayón** es profesor e investigador en el grupo TERMeG-Integra (Tissue Engineering and Regenerative Medicine-Integrative Biomedicine) en la Universidad Carlos III de Madrid. Actualmente, participa en varios proyectos de investigación y desarrollo relacionados con el diseño de nuevas biotintas naturales y sintéticas para la bioimpresión 3D de piel humana, así como el diseño de nuevos dispositivos para la modelización de enfermedades de piel.





RESUMEN EJECUTIVO

La impresión 3D, técnica de fabricación por adición mediante la aplicación capa por capa de un material, ha encontrado aplicación en casi todas las áreas de la ciencia y su utilización y potencial en el campo de la medicina es cada vez mayor. Es precisamente en el campo de la medicina en el que la impresión 3D ha evolucionado dando lugar a la bioimpresión. La **bioimpresión** es un proceso mediante el cual se obtienen **estructuras tridimensionales** mediante la **adición de capas de materiales biológicos, bioquímicos y células vivas**.

El objetivo principal de la bioimpresión es su aplicación para la **fabricación de estructuras humanas complejas en 3D con propiedades biológicas y mecánicas que permitan restaurar la función de un tejido o un órgano** cuya obtención mediante otros métodos de fabricación no es posible. Además, la bioimpresión se podría **personalizar y adaptar a las necesidades de los pacientes** abriendo un amplio abanico de posibilidades en el campo de la Medicina Personalizada de Precisión.

Actualmente, la bioimpresión permite fabricar tejidos que pueden utilizarse, por un lado, para **reemplazar estructuras enfermas, dañadas o envejecidas** y, por otro, para **sustituir a los modelos animales en los estudios farmacológicos o en la generación de modelos de enfermedades**. La bioimpresión de piel es el caso más claro de aplicabilidad de esta tecnología a la práctica clínica y es solo el primer paso hacia la **bioimpresión personalizada**,

a partir de células del propio paciente, de **órganos sólidos funcionales en un futuro**. El desarrollo de nuevas aplicaciones como la bioimpresión de modelos tumorales para diseñar estrategias terapéuticas personalizadas, la impresión *in situ*, la impresión 4D o la bioimpresión a gran escala, si bien actualmente están en fase experimental, en un futuro cambiarán la manera de enfrentarse a campos tan relevantes como el trasplante de órganos, la medicina regenerativa o el abordaje personalizado de tumores u otras patologías, entre otros.

El desarrollo de la bioimpresión dará lugar a nuevas estrategias que tendrán un importante papel en el futuro tanto de la investigación biomédica como de los posibles tratamientos y aproximaciones a diferentes patologías.



Informes Anticipando

BIOIMPRESIÓN EN LA MEDICINA DEL FUTURO





INTRODUCCIÓN

Actualmente, la impresión 3D ha encontrado aplicación en gran parte de áreas científicas, tecnológicas e, incluso, industriales y su utilización y potencial en el campo de la medicina es cada vez mayor. Es precisamente en este campo, el de la medicina, en el que, debido a sus particularidades, la impresión 3D ha evolucionado dando lugar a la denominada bioimpresión.

Es por ello que el presente informe parte de la introducción de la impresión 3D y sus aplicaciones actuales en medicina para, después, profundizar en el potencial y las implicaciones de la bioimpresión en la medicina del futuro.

IMPRESIÓN 3D

La impresión 3D es una **técnica de fabricación por adición**, es decir, mediante la aplicación capa por capa

de un material, que permite la generación de diversas estructuras y geometrías complejas.¹ Esta tecnología, que fue descrita por primera vez en 1986 por Charles W. Hull,² ha sido aplicada a distintas áreas, desde la construcción hasta la biomedicina, adaptando el método empleado, los materiales y el equipo según la aplicación a la que se destina. Sin embargo, el proceso fundamental es compartido en general por los distintos métodos y consiste, en primer lugar, en la **generación por ordenador de un modelo tridimensional que sirve después de guía para la superposición sucesiva de capas de material, hasta llegar a la estructura deseada** (Figura 1).

Existen distintos **métodos y materiales en impresión 3D** que se han ido adaptando con el paso de los años a las aplicaciones que han ido surgiendo para esta tecnología.¹ En cuanto a los **materiales empleados** en impresión

Figura 1. Proceso de Impresión 3D. Adaptado de (3)

Modelo en ordenador

Objeto 3D

El proceso de impresión 3D sigue siempre los mismos pasos. El primer paso consiste en la **adquisición de imágenes** que proporcionen una **visión detallada del objeto que se pretende reproducir**. Después, estas imágenes son **procesadas de manera informática** con el objetivo de **generar el modelo tridimensional** del objeto, es decir, una imagen digital de la estructura. Ese modelo es el que seguirá la impresora 3D para realizar el proceso de **fabricación por adición capa a capa** de material, cuyo **resultado final es una réplica del objeto modelado**.



***Archivo STL:** formato de archivo informático de diseño asistido por computadora (CAD) que define geometría de objetos 3D.

****Slicing Software:** dado que la impresora 3D funciona superponiendo capas de material, este programa se encarga de dividir el modelo 3D generado por ordenador en esas capas.



3D, de manera general se pueden emplear metales y aleaciones, polímeros y conglomerados, cerámica y hormigón entre otros. Concretamente, en el campo de la medicina se utilizan diversos materiales, como por ejemplo materiales termoplásticos, resinas fotopolimerizables, nanomateriales, materiales cerámicos y compuestos biológicos tales como polímeros naturales, factores de crecimiento celular, sustancias bioactivas, fármacos y células (en cuyo caso la tecnología pasa a denominarse bioimpresión, campo que trataremos en profundidad en otros apartados).

Esta tecnología cada vez tiene más aplicaciones gracias al desarrollo de nuevos materiales y dispositivos de impresión, pero también al hecho de que **permite fabricar estructuras personalizadas, de geometría muy compleja, con mucha precisión, reduciendo costes y tiempos de producción de constructos^a**. De hecho, la capacidad de reproducir estructuras complejas con elevada precisión es lo que hace a la impresión 3D especialmente atractiva en el campo de la medicina.¹

APLICACIONES DE LA IMPRESIÓN 3D EN MEDICINA

Desde el principio del siglo XXI, las tecnologías de impresión 3D se han empleado en distintas áreas de la medicina, siendo la aplicación principal la fabricación de sustitutos de estructuras rígidas, es decir, principalmente materiales ortopédicos. A continuación, se enumeran algunas de estas aplicaciones, siendo muchas de ellas soluciones específicas para cada paciente.

- **Mejora o corrección de funciones mecánicas y fisiológicas**

Una de las aplicaciones más inmediatas de la impresión 3D en medicina es la generación de **prótesis personalizadas, estructuras de soporte o dispositivos médicos**, adaptados a las necesidades de cada paciente con el objetivo de ayudar a mejorar o corregir determinadas funciones mecánicas y fisiológicas de dicho paciente. Un claro ejemplo de este tipo de aplicaciones es el desarrollo, mediante técnicas de impresión 3D, de prótesis torácicas o implantes para reconstrucciones dentales⁴ y maxilofaciales⁵ para un paciente en concreto gracias al uso de técnicas

de imagen médica. Los diseños más avanzados incluyen nuevos materiales que las convierten en estructuras muy flexibles y totalmente personalizadas, ya que se generan a partir de imágenes médicas del propio paciente, permitiendo que se adecúen mejor a su estructura ósea.

- **Generación de tratamientos para enfermedades: impresión de medicamentos**

La fabricación de medicamentos a gran escala está evolucionando hacia el desarrollo de medicamentos personalizados para cada paciente y en este sentido, la impresión 3D puede jugar un papel muy importante en el proceso de producción.⁶ La impresión 3D permite crear estructuras complejas, por ejemplo, cavidades internas o una combinación de múltiples materiales en un solo paso mediante la adición controlada de los compuestos. Estas características trasladadas a la fabricación de medicamentos orales implican flexibilidad con respecto a la dosis y el perfil de liberación y capacidad de fabricar a demanda y en ubicaciones descentralizadas.⁷ Por tanto, la ventaja principal de esta aplicación en el contexto de la Medicina Personalizada de Precisión es la posibilidad de **personalizar los medicamentos**, diseñando comprimidos que contengan diferentes principios activos y diferentes dosis en función de las características que presenta un paciente en concreto e, incluso, con diferentes patrones de liberación del fármaco en el organismo, **mejorando la efectividad y reduciendo los efectos adversos**.

- **Modelos pre-quirúrgicos en la planificación personalizada de intervenciones quirúrgicas**

La impresión 3D hace posible la fabricación de modelos pre-quirúrgicos, réplicas exactas de las estructuras anatómicas del paciente, con el objetivo de poder **planificar y ensayar intervenciones quirúrgicas**⁸ altamente complejas con antelación de manera mucho más personalizada. La impresión 3D de modelos pre-quirúrgicos resulta especialmente importante en operaciones que implican a órganos delicados, poco accesibles o de elevada complejidad estructural, como es



el caso de los modelos de cráneo y cerebro⁹ ya que el equipo quirúrgico puede planificar mejor su actuación y ensayar previamente la intervención lo que permite anticipar algunos eventos y decisiones que de otra manera se tendrían que tomar durante la propia intervención. La planificación previa a través del modelo 3D reduce el tiempo que el paciente va a estar en la cirugía y, por tanto, por un lado, contribuye a reducir los riesgos que conllevan este tipo de intervenciones y, en consecuencia, aumentar la tasa de éxito de las mismas, y, por otro, reduce los costes.

BIOIMPRESIÓN

La **Bioimpresión** es un proceso que aplica los principios y las técnicas de la impresión 3D adaptadas a la **producción de estructuras tridimensionales** como es el caso de tejidos u órganos por métodos de fabricación **por adición de capas de materiales biológicos, bioquímicos y células vivas**.¹⁰

El **objetivo principal** con el que se adaptaron las diferentes técnicas de impresión 3D, dando lugar a lo que se conoce como bioimpresión, es su aplicación para la **fabricación de estructuras humanas complejas en 3D con propiedades biológicas y mecánicas que permitan restaurar la función de un tejido o un órgano**.¹⁰ La alta necesidad de órganos para trasplantes derivada, entre otras causas, por el aumento de la esperanza de vida y la falta de donantes, ha llevado a muchos grupos de investigación a buscar estrategias, como la impresión de órganos y tejidos a la carta, que permitieran solventar esta demanda. No obstante, la bioimpresión tiene otras aplicaciones pudiéndose emplear para el *screening* farmacológico, o en otras palabras, la evaluación inicial de la actividad potencial de nuevos fármacos, o la generación de modelos de enfermedades *in vitro*, concretamente modelos de tejidos en 3D con características similares a las que se presentan *in vivo*, lo que permite alcanzar una mayor comprensión de las enfermedades y cuyo objetivo va desde al estudio del desarrollo tisular hasta el desarrollo de nuevas terapias.

Por tanto, la bioimpresión es una tecnología que permite reproducir estructuras muy complejas que por otros métodos de fabricación no serían posibles, abriendo las

puertas a la producción de implantes de tejidos y órganos. Además, la bioimpresión **permite personalizar los constructos¹ y adaptarlos a las necesidades de los pacientes**, teniendo por tanto lugar dentro de la Medicina Personalizada de Precisión.

BIOTINTAS

Las técnicas de bioimpresión buscan reproducir estructuras que encontramos en el cuerpo humano en un proceso de adición, en el que se van depositando **biotintas** (término acuñado por analogía con la impresión clásica “en papel” si bien las biotintas no guardan ninguna relación respecto a su composición con las tintas utilizadas en la impresión “en papel”), que contienen fundamentalmente **células, componentes biológicos y biomateriales** necesarios para generar estructuras tridimensionales similares a los tejidos humanos. Las **biotintas** son biomateriales compuestos por una combinación de células y biomoléculas, que pueden ser material genético (ADN), fármacos, factores de crecimiento, sustancias bioactivas y componentes extracelulares.¹¹

El término **biomateriales** hace referencia a cualquier material capaz de interactuar con sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o sustituir un tejido, órgano o función.¹² Dentro de esta categoría son particularmente relevantes los polímeros de origen natural o sintético, que se usan para **generar el andamiaje** (o **scaffold**) que contendrá las células que poblarán las estructuras diseñadas y que dotará al constructo impreso de forma tridimensional de propiedades mecánicas y biológicas. Uno de los principales desafíos de la bioimpresión es el diseño de estos andamiajes con estructura y funcionalidad similares a las existentes en los tejidos y órganos a bioimprimir. Otra forma de obtener una estructura de soporte altamente precisa es la generación de **órganos descelularizados**, que consiste en un órgano de un individuo donante al que se le extraen las células, dejando el “esqueleto” del órgano, es decir, la matriz extracelular,¹³ y se sustituyen por células del receptor, por lo que ninguno de los componentes genera rechazo por parte del paciente. Esta aproximación abre la posibilidad de, a partir de la matriz extracelular de órganos descelularizados, imprimir soportes más biomiméticos, con una composición similar a la del órgano en cuestión.

Dado que la bioimpresión implica el uso de células, ya sean libres o embebidas en un material, las **bioimpresoras** y los **biomateriales** empleados deben tener unas **características determinadas que garanticen la viabilidad y funcionalidad celular** durante y después del proceso de bioimpresión. Generalmente los materiales que se emplean para la bioimpresión son hidrogeles, que son redes tridimensionales de polímeros naturales o sintéticos que absorben grandes cantidades de agua, en concreto hasta mil veces su peso seco, sin disolverse dado la naturaleza hidrofílica de sus componentes y su naturaleza entrecruzada.

Además de los problemas planteados en la generación de los andamiajes, hay que tener en consideración las células que se van a utilizar. Estas pueden distinguirse en base a dos criterios: el tipo celular empleado y el origen de las células.

- **Tipo celular empleado.** En un primer momento, las células empleadas para la bioimpresión eran células inmortalizadas^b, más resistentes a las condiciones de estrés causadas durante el proceso de bioimpresión. Sin embargo, en la actualidad, gracias a la mejora de las tecnologías de bioimpresión, las **células madre** son el **tipo celular más empleado**. Estas células madre a su vez pueden ser **células adultas de tejidos**^c, de las cuales solo es posible obtener pequeñas cantidades a partir de biopsias de los pacientes, o **células pluripotentes inducidas**^d (iPS), derivadas de células como fibroblastos. En el caso de las células iPS es necesario llevar a cabo un proceso de desdiferenciación para, posteriormente, volver a diferenciarlas en las células que resulten de interés en función del tejido que se va a bioimprimir. Sin embargo, los métodos actuales utilizados para llevar a cabo estas modificaciones no están perfeccionados en el sentido de que no siempre se puede generar el tipo celular deseado y van acompañados del riesgo de conferir potencial tumoral a estas células, llegando a producir teratomas en los pacientes.¹⁴ Por lo tanto, existe una clara necesidad de células que puedan diferenciarse en distintos tejidos, pero garantizando su seguridad y eliminando el riesgo de transformarse en células tumorales.

- **Origen de las células.** Las células pueden ser **autólogas** (del propio paciente) o **alógenicas** (procedentes de un donante). La utilización de células autólogas tiene como principal ventaja el hecho de evitar un posible rechazo una vez estas se implantan en el paciente, al ser reconocidas como propias. Sin embargo, la desventaja de este procedimiento es que el número de células que pueden obtenerse de una biopsia es limitado, y para poder reposar un constructo (por ejemplo, en el hipotético caso de bioimprimir un corazón serían necesarias millones de células) hay que expandir esas poblaciones mediante cultivo celular, lo que consume tiempo. Las células alógenicas serían las células de elección para sistemas de testeo de fármacos o, por ejemplo, en el caso de la piel, para llevar a cabo terapias temporales que no requieran la integración en el propio paciente, como en el caso de úlceras crónicas o heridas producidas en accidentes.

PRINCIPALES TÉCNICAS DE BIOIMPRESIÓN

Inicialmente, las **tecnologías de impresión 3D** no se diseñaron para aplicaciones biológicas, por lo que **han tenido que adaptarse a condiciones compatibles con el uso de moléculas biológicas** y, en particular, con el uso de **células** asegurando su viabilidad, ya que son los componentes principales de las biotintas empleadas por las técnicas de bioimpresión. Es por ello que las bioimpresoras, al tratarse de una especialización de las impresoras 3D, actualmente pueden obtenerse ajustando las impresoras 3D a las necesidades de los usuarios y del proceso de bioimpresión en sí mismo. Además pueden, o bien adquirirse directamente de las compañías que comercializan bioimpresoras teniendo en cuenta que probablemente sea necesaria su adaptación a las necesidades concretas del usuario, o fabricar manualmente una bioimpresora *ad hoc*.

En la actualidad, las técnicas de bioimpresión más utilizadas son la bioimpresión con chorro de tinta, la bioimpresión asistida por láser y la bioimpresión por extrusión. (Figura 2 y Tabla 1)



Figura 2. Principales técnicas de bioimpresión. Adaptada de (15)

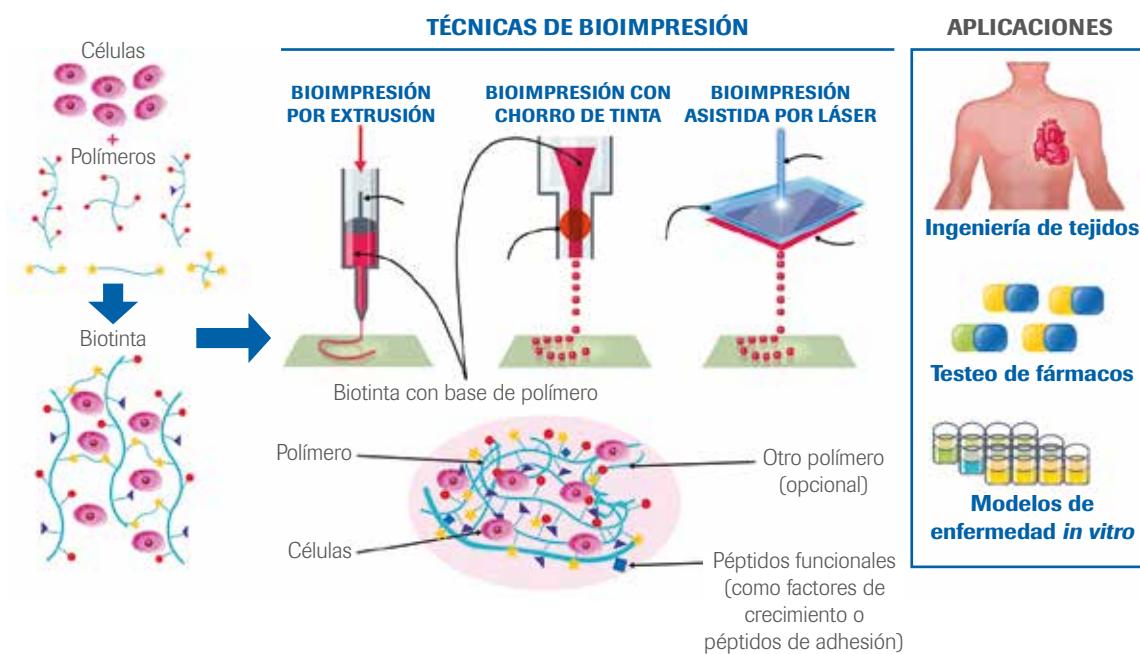


Tabla 1. Resumen de las principales técnicas de bioimpresión.⁹

TÉCNICA	DESCRIPCIÓN
Bioimpresión por micro-extrusión	Técnica en la que la biotinta almacenada en el cartucho se extruye por presión a través de un dispensador con un sistema aéreo, mecánico o solenoide para imprimir de forma continua. Es la modalidad más común y más empleada en investigación en bioimpresión debido a que es muy práctica y robusta y a su capacidad para fabricar constructos en 3D de mayor tamaño en tiempos asumibles.
Bioimpresión con chorro de tinta	Técnica utilizada por las impresoras de tinta, en la que, por diferentes procedimientos, la biotinta cargada en el cartucho es descompuesta en gotas, cuyo tamaño y lugar de deposición son controladas por software para dar lugar al tejido.
Bioimpresión asistida por láser	Técnica que consiste en un rayo láser que se enfoca sobre un sustrato absorbente que resulta en la generación de una burbuja por presión que fuerza al material biológico a depositarse sobre una superficie colectora. Las impresoras asistidas por láser, tienen una mayor precisión y están en fase de desarrollo pronosticándose una gran utilidad en el futuro.

PROCESO DE BIOIMPRESIÓN

La bioimpresión es un proceso que consta de **3 fases**: una fase inicial de **pre-bioimpresión**, la fase en la que se realiza la **bioimpresión** propiamente dicha y, por último, una fase de **post-bioimpresión**. Los pasos principales en el proceso de bioimpresión, igual que en la impresión 3D, son: la toma de imágenes y el diseño digital de un modelo tridimensional de lo que se quiere reproducir; la elección de los materiales y células que se van a emplear como biotintas; y, por último, la bioimpresión de la estructura. En algunos casos, el constructo generado se puede emplear directamente, pero en otros casos se requiere un período de maduración del tejido u órgano producido (Figura 3).

Actualmente, en la **fase de pre-bioimpresión**, resulta crucial la **etapa de selección de las células**, ya que, como se ha indicado con anterioridad, hay diferentes tipos celulares que pueden ser empleados en bioimpresión y es de gran importancia tener en cuenta la posibilidad de obtener un número suficiente de células. Las **etapas de toma de imágenes y de diseño digital** serán pasos esenciales de cara a generar órganos sólidos, ya que de ellos depende la capacidad para reproducir la arquitectura heterogénea y compleja de los mismos. En estas etapas, generalmente, se emplean tecnologías de imagen médica, como la Tomografía Computarizada y la Imagen por Resonancia Magnética (TC e IRM) para proporcionar información precisa sobre la estructura tridimensional. En cuanto al modelado digital de la arquitectura de los tejidos, el diseño guiado por ordenador y fabricación guiada por ordenador (CAD y CAM respectivamente por sus siglas en inglés) son las herramientas matemáticas empleadas con este fin.

Tras la fase de bioimpresión propiamente dicha, y durante la **fase de post-bioimpresión**, frecuentemente, es necesario que el tejido impreso tenga que pasar por un **proceso de maduración**. Esta maduración puede ocurrir *in vivo*, una vez trasplantado el tejido al propio paciente, o *in vitro* sometiendo al tejido impreso a cultivos sofisticados o en un biorreactor destinado a tal fin hasta que pueda ser trasplantado al paciente.

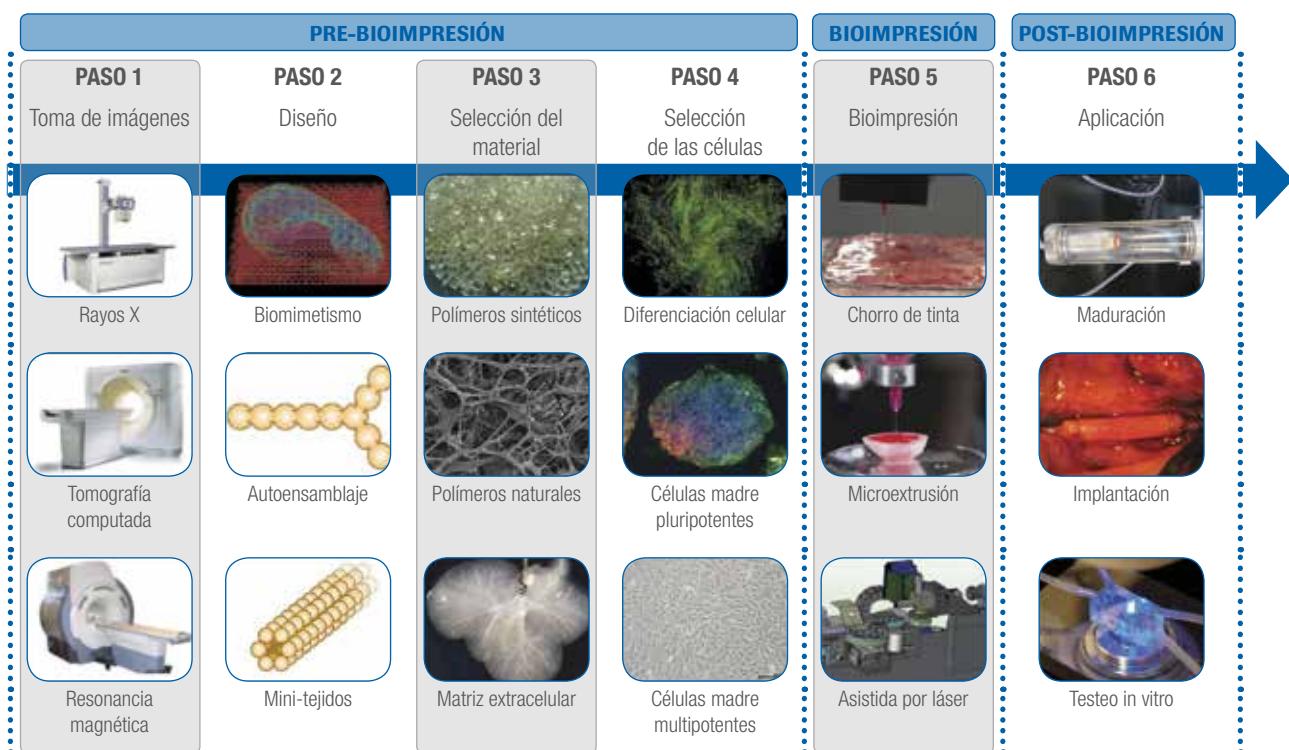
El proceso de bioimpresión, debido a que necesariamente requiere el uso de células, debe realizarse en el laboratorio, en unas condiciones especiales similares a las de un laboratorio de cultivo celular. Tanto las instalaciones como el flujo de trabajo, deberán estar adaptados a los tipos celulares y materiales y a la técnica de bioimpresión utilizada garantizando la viabilidad de los tejidos bioimpresos. Como consecuencia del tiempo dedicado a la expansión de las poblaciones celulares a través de cultivo celular para ser empleadas en las biotintas, actualmente, por ejemplo, en el caso de la bioimpresión de grandes superficies de piel (1-2 m²) el proceso tiene una duración estimada de 2-3 semanas,¹⁶ aunque esto varía en función del tamaño del tejido que se quiera bioimprimir.

Una ventaja derivada del proceso de bioimpresión es el hecho de que los documentos digitales de modelado tridimensional pueden compartirse fácilmente a través de internet haciendo **possible el intercambio de diseños entre clínicos o investigadores**. Por tanto, no es estrictamente necesario que todas las fases del proceso se realicen en el mismo lugar físico. Este amplio abanico de posibilidades permite que, aunque no se disponga de los medios necesarios para llevar a cabo todos los pasos del proceso de impresión, estas tecnologías sean bastante accesibles, siempre y cuando se disponga de una bioimpresora facilitando su uso.





Figura 3. Proceso de bioimpresión. Adaptada de (9).



Toma de imágenes. Las imágenes obtenidas a través de diferentes técnicas del tejido dañado y su entorno sirven para guiar el proceso de bioimpresión. **Diseño.** El biomimetismo, el autoensamblaje de tejidos y los minibloques de construcción de tejidos son enfoques de diseño que se utilizan individualmente o en combinación. **Selección del material y de las células.** La selección de los materiales y células es esencial y específica para la forma y función del tejido. **Bioimpresión.** Estos componentes deben integrarse con sistemas de bioimpresión como impresoras de inyección de tinta, microextrusión o asistidas por láser. **Aplicación.** Algunos tejidos bioimpresos pueden requerir un periodo de maduración en un biorreactor. Posteriormente los tejidos bioimpresos podrán ser implantados o usados en aplicaciones *in vitro*.

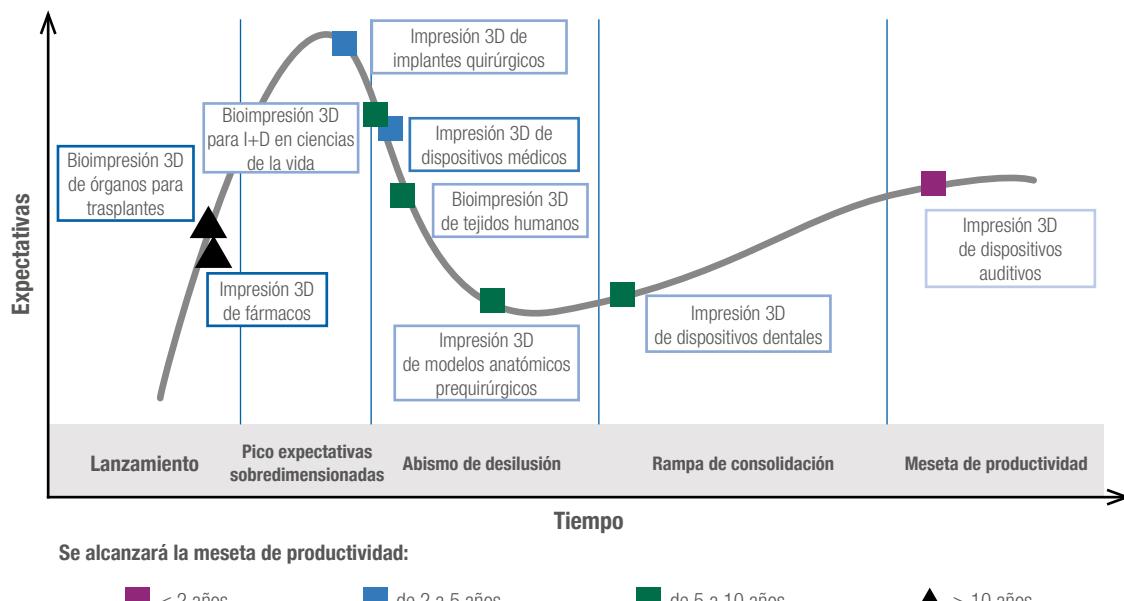


APLICACIONES DE LA BIOIMPRESIÓN

La bioimpresión encuentra en diversos aspectos de la medicina un amplio campo de aplicación. Algunas de estas aplicaciones están implantadas y son utilizadas en la actualidad y otras, cuyo desarrollo está en marcha,

encontrarán aplicación en la medicina del futuro contribuyendo al progreso e implantación de la Medicina Personalizada de Precisión (Figura 4).

Figura 4. Gartner Hype Cycle: ciclo de sobreexpectación de la bioimpresión e impresión 3D. Adaptado de (17)



El **ciclo de sobreexpectación** es una **representación gráfica de la madurez, adopción y aplicación comercial de una tecnología específica**. Este ciclo se compone de cinco fases. La primera fase de “**Lanzamiento**” se corresponde con la presentación de una tecnología, producto o evento que genera interés y durante esta fase las expectativas van en aumento. En la siguiente fase, “**Pico de expectativas sobredimensionadas**”, el impacto en los medios genera normalmente un entusiasmo y expectativas poco realistas. Una vez que las expectativas alcanzan su pico máximo, los consumidores se dan cuenta de que la tecnología será más difícil de implementar de lo que se esperaba pasando a la fase denominada “**Abismo de desilusión**”. Finalmente la curva alcanzará su segunda ola de crecimiento, “**Rampa de consolidación**”, que aumenta gradualmente a medida que se hacen inversiones y se continua experimentando para conocer los beneficios que pueden derivar en una aplicación práctica de la tecnología. Finalmente la tecnología llega a la “**Meseta de productividad**” cuando sus beneficios están ampliamente demostrados y aceptados y la tecnología se vuelve cada vez más estable.



A continuación, se abordan de manera más detallada las principales aplicaciones de la bioimpresión en la actualidad, así como aquellas aplicaciones que se encuentran en fase de desarrollo pero que se prevé que tendrán un impacto inmediato o a largo plazo en la medicina del futuro.

APLICACIONES ACTUALES DE LA BIOIMPRESIÓN

MODELOS 3D DE PATOLOGÍAS Y TESTEO DE FÁRMACOS

Desde el punto de vista de la investigación biomédica y traslacional, la bioimpresión ofrece nuevas posibilidades que dan lugar a nuevas aproximaciones que las técnicas convencionales no permitían. La introducción de tejidos y órganos bioimpresos en el ámbito de la investigación biomédica y traslacional aporta, como valor añadido, la estandarización y automatización que supone la utilización de material biológico idéntico en cada uno de los ensayos lo que significa por un lado la obtención de resultados más reproducibles y, por otro, menos costes de producción.

Hoy en día el **uso de modelos animales en experimentación biomédica**, a pesar de estar regulado y aplicarse estrictos principios bioéticos y legales, **está disminuyendo** y se buscan alternativas al mismo. En este sentido la bioimpresión se posiciona como una solución, gracias a la **generación de tejidos u órganos orientados al testeo de fármacos o a la generación de modelos fisiopatológicos más precisos** que permitan eliminar la barrera de la especie que supone el uso de animales¹⁸ y así poder obtener resultados extrapolables a humanos.

Además, la posibilidad de **generar modelos de patologías concretas con células de cada paciente**, que permitan probar estrategias terapéuticas específicas, posibilitará el diseño de tratamientos personalizados a partir de un modelo humano en 3D. Concretamente, en el caso de existir un grupo de pacientes no respondedores a una terapia determinada, estos modelos contribuirán en gran medida a la identificación de la causa o mecanismo implicado en la falta de respuesta y permitirán probar otras aproximaciones terapéuticas en el marco de la Medicina Personalizada de Precisión. El tejido más próximo a esta

aplicación es la piel ya que la técnica de bioimpresión permite estandarizar, automatizar y abaratar el proceso de producción.

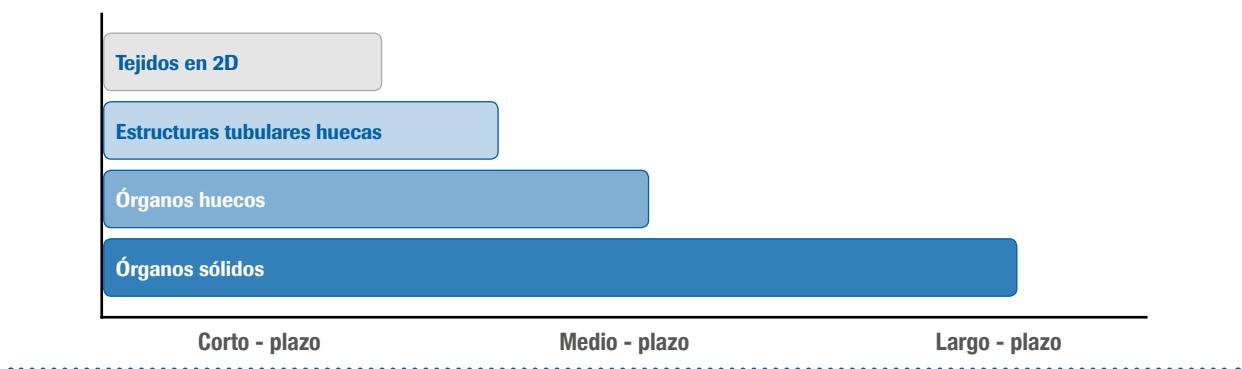
Siguiendo esta línea, en el caso concreto de la Oncología la bioimpresión va un paso más allá dando lugar a la **posibilidad de generar modelos tumorales con los distintos tipos celulares que los componen** a partir de células del propio paciente, colocados de manera que **repliquen la disposición que presentan en el tumor y la vasculatura del mismo**. De esta manera, en un futuro, se podrá generar una imagen fiel de la fisiopatología del tumor y no sólo servir de entrenamiento para el cirujano, sino que también permitirá determinar si existe la posibilidad de expansión del tumor a otros órganos y el testeo de fármacos. Esto permitirá valorar la respuesta a los diferentes fármacos o combinaciones de los mismos sobre el propio tumor bioimpreso dando lugar a la posibilidad de **diseñar estrategias terapéuticas personalizadas** que deberían ir acompañadas de un aumento en el éxito de los tratamientos instaurados.^{19,20}

INGENIERÍA DE TEJIDOS: BIOIMPRESIÓN DE TEJIDOS DE ESTRUCTURA SENCILLA

La ingeniería de tejidos evolucionó a partir del campo de desarrollo de biomateriales y hace referencia a la práctica de combinar andamios, células y moléculas biológicamente activas para crear tejidos funcionales siendo la bioimpresión una de las tecnologías utilizadas para este fin. A la hora de hablar de ingeniería de tejidos, podemos clasificar las estructuras biológicas que podrían generarse mediante impresión 3D en base a **4 niveles de complejidad** de las propias estructuras¹⁰:

1. La estructura más sencilla que podemos generar son los **tejidos en 2D** (p. ej. piel¹⁶ y tejido óseo plano²¹).
2. **Estructuras tubulares huecas** (p. ej. estructuras vasculares).¹⁰
3. El siguiente nivel de complejidad, serían los **órganos huecos**, como vejigas y vaginas, que se han conseguido producir por ingeniería tisular convencional e implantar con poco éxito en algunos pacientes.²²

Figura 5. Niveles de complejidad y tiempo estimado para la obtención de los mismos mediante bioimpresión. Adaptada de (10).



4. Los órganos sólidos, con **distintas propiedades funcionales, mecánicas y de soporte**, como pulmones, corazón o hígado, aún no han podido producirse por estas técnicas.

Por tanto, **hasta el momento, de los cuatro niveles de complejidad, solo ha sido posible imprimir los dos primeros con diferente grado de éxito.**

El **ejemplo más claro** de la aplicabilidad de estas tecnologías en la práctica clínica es el caso de la **bioimpresión de piel**. En medicina regenerativa desde hace años se fabrica piel por ingeniería tisular en el laboratorio²³ para usarla a modo de “apósitos” que ayudan a la cicatrización de heridas, en concreto en los grandes quemados.²⁴ Esta “piel cultivada” (siguiendo la terminología de laboratorio) se consigue al depositar sobre un recipiente células procedentes de la capa más externa de la piel, los queratinocitos de la epidermis. Éstos se dividen hasta ocupar toda la superficie del recipiente, formando un delgado lecho de células que se coloca sobre la zona afectada. Posteriormente, se han fabricado productos tisulares, tanto autólogos como alogénicos, en forma de bicapa, conteniendo la epidermis y la dermis, una capa más gruesa formada por otro tipo celular, y se han podido aplicar en pacientes^{24,25} o han permanecido a nivel clínico experimental.²⁷ La bioimpresión de piel, que también se lleva a cabo en el laboratorio y reproduce ambas capas de la piel, **permite la obtención de piel de manera más precisa**, con distintos niveles de grosor, dando lugar a una estructura más compleja y **más parecida a la piel real**. A pesar de

que la bioimpresión abre la puerta a la estandarización y el abaratamiento de costes de producción, la piel bioimpresa todavía no ha podido ser trasplantada en pacientes y al contener células será considerada como un producto de terapia avanzada y por tanto sujeto a las regulaciones establecidas por las correspondientes agencias reguladoras.

APLICACIONES DE LA BIOIMPRESIÓN EN LA MEDICINA DEL FUTURO

APLICACIONES A CORTO-MEDIO PLAZO

IMPRESIÓN *IN SITU*

La **bioimpresión de piel** puede llevarse a cabo *in vitro* o *in situ*, siendo ambos enfoques similares excepto por el lugar de impresión. En ambos casos es necesario un proceso de ampliación de las células obtenidas de las biopsias de los pacientes y una valoración post-trasplante pero, en el caso de la bioimpresión *in vitro*, las células se ensamblan en una matriz, generando un equivalente dermo-epidérmico que luego podría implantarse en los pacientes. En cambio, la **bioimpresión *in situ***, implica la **impresión directa de este equivalente cutáneo en el sitio de la lesión lo que permite la maduración en la propia herida y acomodarse a la superficie y espesor de la**



misma. En este sentido, el Instituto Wake Forest, pionero en el área de la bioimpresión, ha diseñado un sistema de bioimpresión *in situ* que permitirá restaurar la integridad de la piel sobre el propio paciente.²⁸ Este sistema, que todavía es una prueba de concepto de lo que podrá llegar a ser una bioimpresora de piel “portátil”, consiste en un dispositivo que integra técnicas de imagen acopladas a un sistema de deposición de células cutáneas (fibroblastos y queratinocitos). De esta manera, es posible determinar la topografía de la herida que se trata de regenerar a medida que se generan las distintas capas de la piel sobre la herida, **adaptándose a las necesidades de cada paciente**.²⁸

Si bien la **bioimpresión supone un cambio de paradigma en cuanto al tratamiento personalizado y a la mejora en los resultados**, para alcanzar la introducción exitosa de esta tecnología como parte de la práctica clínica de la medicina del futuro, el proceso ha de ser simple y capaz de integrarse sin problemas en el flujo de trabajo quirúrgico, así como en el propio proceso operatorio.²⁴

USO EN LA PRODUCCIÓN DE “ORGANS-ON-A-CHIP”

Una de las proyecciones más ambiciosas de las aplicaciones de la bioimpresión es la generación de lo que se conoce como *organ-on-a-chip* siendo su objetivo principal el sustituir los modelos animales en investigación. Además, aportan resultados más rápidos, rentables y precisos a la hora de determinar la eficacia y toxicidad de un fármaco que los obtenidos en estudios con animales o con cultivos celulares. Esos “órganos en chips” son microchips, similares a los que pueden encontrarse en un ordenador, pero en este caso revestidos de células humanas específicas de órganos que interactúan con una vasculatura artificial, conformada por microcanales revestidos con células endoteliales humanas. Gracias a una impresora 3D se puede generar la estructura de canales del tamaño de micrómetros sobre la que luego es posible o bien perfundir las células o bien colocarlas de forma precisa mediante una bioimpresora.²⁹ Es decir, la bioimpresión, en este contexto, permitirá reproducir de manera más exacta la estructura 3D del tejido que se quiere reproducir.

Aunque ya se dispone de algunos ejemplos de tejidos en chips, como tejidos cardíacos,³⁰ el Wake Forest Institute y el Wyss Institute de Harvard han iniciado proyectos con el objetivo de obtener un **sistema miniaturizado de órganos humanos sobre los que poder modelar la**

respuesta del cuerpo a distintos agentes. Partiendo de esta premisa, han conseguido reproducir en estos chips la interacción entre células específicas de tejido con vasculatura artificial, dispuestas sobre canales de microfluídica^e que pueden ser sometidos a distintas tensiones físicas, simulando la distensión pulmonar durante la respiración o los movimientos peristálticos de la digestión.³¹

Además, **estos chips se pueden acoplar de manera holística para conseguir simular el funcionamiento del cuerpo en todo su conjunto.** Esto permitirá hacer estudios farmacológicos, de manera que se pueda ver el **efecto de los fármacos, no sólo en un tejido, sino en el conjunto del organismo.**

IMPRESIÓN 4D

Recientemente se ha introducido una nueva dimensión a la hora de imprimir estructuras: el tiempo. La impresión 4D consiste en la **modificación del constructo generado en primer lugar mediante la aplicación de factores externos**, que pueden ser químicos o físicos (como la aplicación de un campo magnético, la adición de agua o cambios en la temperatura), **de manera que la estructura tridimensional cambia a lo largo del tiempo**.³²

Desde el punto de vista biomédico, otro aspecto que se ve alterado debido a la acción del tiempo es la maduración de las células empleadas en el proceso de bioimpresión. Se trata de un factor clave de cara a asegurar el correcto funcionamiento del constructo, ya que éste no ha alcanzado el grado de madurez necesario, a pesar de que suelen pasar por un proceso de maduración en biorreactores antes de ser implantadas en los pacientes. Gracias a la bioimpresión 4D, a través de la adecuada combinación de factores será posible guiar el comportamiento de las células en el tiempo. Además, de la misma manera que será posible guiar el comportamiento celular, la impresión 4D podrá aplicarse a la producción de fármacos con distintos patrones de liberación.

APLICACIONES A LARGO PLAZO

INGENIERÍA DE TEJIDOS: BIOIMPRESIÓN DE ÓRGANOS PARA TRASPLANTES

Hasta el momento, debido a las limitaciones de estas tecnologías, como queda reflejado anteriormente al

^eLa microfluídica hace referencia a los dispositivos y métodos para controlar y manipular fluidos con escalas de longitud menores a algunos milímetros.⁴¹

describirse los niveles de complejidad de las estructuras biológicas, todavía no se ha conseguido imprimir un órgano sólido complejo plenamente funcional para su implantación en pacientes, aunque sin duda será la aplicación más importante de estas tecnologías en la Medicina Personalizada de Precisión del futuro. Si bien es cierto que ha sido posible generar algunas estructuras con cierto grado de complejidad como prototipos de riñones,^{9,22} parches de tejido hepático³³ y, más recientemente, un corazón vascularizado,¹⁴ estos están aún lejos de poder ser implantados en pacientes y por el momento se trata de pruebas de concepto. Sin embargo, en el campo de la bioimpresión, es necesario **mejorar la capacidad de generar estructuras complejas, con distintas funcionalidades, vascularizadas e inervadas** antes de poder alcanzar el **hit de producir, de manera personalizada, el tejido u órgano requerido por un paciente.**

Como se ha comentado anteriormente, en el caso de la impresión 3D, hay hospitales que cuentan con impresoras para producir prótesis o implantes personalizados para cada paciente. Además de los trasplantes de órganos sólidos, otro de los campos en los que posiblemente la bioimpresión supondrá un gran avance es en la cirugía ortopédica reconstructiva. Los procedimientos

quirúrgicos que suponen grandes resecciones, en un futuro, tendrán una alternativa de reconstrucción en la **bioimpresión osteoarticular**, donde no solamente se podrá fabricar tejido óseo, sino que este tendrá la forma y conformación específica del paciente a partir de su propio estudio radiológico 3D.

BIOIMPRESIÓN A GRAN ESCALA

Actualmente, varias compañías del sector se han lanzado a desarrollar bioimpresoras a las que llaman de nueva generación o *Next Generation Bioprinting (NGB)*. El objetivo es poder **estandarizar los procesos y los constructos obtenidos** por bioimpresión, de manera que puedan servir de **herramienta para la investigación preclínica, la medicina regenerativa o el testeo de fármacos**, y que supone un **primer paso en cuanto a la bioimpresión de tejidos y órganos a gran escala**.³⁴ Este hecho implica un avance para que, en un futuro lejano y bajo estrictas medidas de seguridad, este modelo sirva como base para diseñar un hipotético proceso de producción a gran escala de tejidos y órganos sólidos para su implantación en pacientes, solventando el problema actual en cuanto a la necesidad de donantes.



RETOS

RETOS TECNOLÓGICOS

La bioimpresión es uno de los campos de la impresión 3D que más crecimiento e innovaciones ha experimentado en los últimos tiempos; sin embargo, y a pesar de su auge y potencial en la Medicina Personalizada de Precisión del futuro, se trata de un **campo de especialización incipiente para el cual será necesario afrontar y solventar múltiples retos tecnológicos antes de que la bioimpresión de órganos humanos funcionales se convierta en una realidad**. Estos retos tecnológicos hacen referencia por un lado a las bioimpresoras y por otro a los biomateriales y biotintas.

- Las **bioimpresoras** deben tener unas características determinadas que garanticen la supervivencia de las células durante el proceso de bioimpresión. La bioimpresión basada en extrusión es la técnica que presenta un mayor potencial a la hora de fabricar tejidos u órganos con tamaños clínicamente relevantes, pero carece de la velocidad y resolución necesarias.³⁵ Las estrategias dirigidas al **aumento de la resolución y de la velocidad de impresión** se identifican como imprescindibles de cara a garantizar una aplicación clínica en el futuro, siempre teniendo en cuenta que estas tecnologías han de ser compatibles con la fisiología de las células y los biomateriales empleados.
- En cuanto a los **biomateriales** que conforman la biotinta, el principal reto se centra en poder modificar o diseñar biomateriales cuyas características faciliten su empleo por parte de las bioimpresoras pero que sigan conservando las propiedades de post impresión deseadas. Es decir, estos materiales deben **asegurar la supervivencia de las células** una vez se encuentren en la estructura de soporte, pero **respetando** unas condiciones, en especial de **viscosidad** y **temperatura**, para poder ser impresos.
- El desarrollo de **biotintas** con propiedades que imiten a la matriz extracelular del tejido³⁵ es un área principal que se ha de potenciar en el campo de la investigación en bioimpresión. Será necesaria una comprensión más profunda de las interacciones que se producen entre las células y la matriz dentro de las biotintas para garantizar la seguridad del trasplante de tejidos bioimpresos en humanos.
- Una vez superados estos aspectos puramente tecnológicos, se tendrán que abordar dos puntos clave de cara a alcanzar una futura impresión de órganos funcionales de mayor tamaño y complejidad: la **vascularización** y la **inervación**. Los capilares y microvasos son imprescindibles para la perfusión de los tejidos por lo que las investigaciones han de centrar sus esfuerzos en conseguir generar mediante bioimpresión árboles vasculares bien desarrollados para aquellos órganos y tejidos de mayor tamaño con propiedades mecánicas factibles para soportar las presiones y permitir su conexión quirúrgica. Además, se ha de garantizar la inervación de los tejidos para su correcto funcionamiento.¹⁰ En este sentido, el desarrollo de sistemas híbridos que integren diferentes modalidades de bioimpresión será esencial para bioimprimir tejidos y órganos con una citoarquitectura altamente compleja.³⁵
- Por último, el **desarrollo de modelos matemáticos y la simulación computacional** permitirá profundizar en el **estudio del crecimiento de los**

tejidos y su fusión con los tejidos del paciente tras la implantación y así contribuir a diseñar y potenciar el proceso de bioimpresión.³⁵

RETOS PARA LA TRASLACIÓN A LA PRÁCTICA CLÍNICA

Además de los retos tecnológicos, expuestos anteriormente a los que se enfrenta la bioimpresión, el garantizar su traslación e incorporación a la práctica clínica se considera un reto en sí mismo siendo imprescindible **abordar y diseñar estrategias que permitan disminuir los tiempos** necesarios para el desarrollo de un tejido u órgano.

- En primer lugar y dado que la bioimpresión precisa de células vivas para desarrollar órganos y tejidos, el hecho de asegurar una **fuente óptima de células bien caracterizadas**, compatibles con el receptor de dichos órganos y tejidos y **disponibles en un tiempo razonable en términos médicos** supone todo un desafío de cara a la implantación, en el marco de la Medicina Personalizada de Precisión del futuro, de la bioimpresión como un recurso terapéutico más. En relación a las fuentes de células coexisten diferentes aspectos que en conjunto suponen un gran reto. Actualmente se requiere de un **mejor entendimiento de la heterogeneidad de los tipos celulares presentes en los tejidos**, así como la combinación entre fenotipos celulares con funciones específicas. Una vez reforzados los conocimientos, es necesario que las células de las que se dispone estén bien caracterizadas y, alcanzado esto, sean reproducibles, es decir, ha de **asegurarse que los diferentes lotes de células cumplen las mismas características** disminuyendo al máximo la variabilidad entre lotes. Por otro lado, como se ha mencionado con anterioridad, en el caso de considerar partir de células autólogas, se ha de tener en cuenta que la disponibilidad de células autólogas de muchos tejidos para cada paciente es limitada, lo que hace necesario el proceso conocido como expansión celular que permite obtener un número suficiente de células autólogas, puesto que dependiendo del tamaño del constructo que se quiera generar se necesitarán más o menos células, pero para el cual, es necesario invertir tiempo. En este sentido, se han de seguir investigando **estrategias que permitan reducir los tiempos de expansión de las células de los pacientes** para obtener el número necesario de células para la generación de los constructos. En cuanto al uso de células alogénicas, empleadas normalmente en la bioimpresión de tejidos para coberturas temporales, de cara a conseguir un equilibrio y disminuir los tiempos lo máximo posible con el objetivo de que la bioimpresión suponga un impacto real en la práctica clínica, una primera medida podría ser la **creación de bancos de células de donantes** que permitieran, gracias a la disponibilidad inmediata de un número suficiente de células, imprimir órganos y/o tejidos con la mayor rapidez posible. Además, serán necesarios estudios a largo plazo para la **evaluación de los constructos con el objetivo de garantizar la viabilidad celular, su funcionalidad o detectar si se producen cambios fenotípicos en las células**. Otro de los aspectos fundamentales que supondrá un reto técnico es, en el caso del uso de células madre, la necesidad de ejercer un control sobre la diferenciación de estas células mediante pequeñas moléculas u otros factores con el objetivo de disponer de un amplio repertorio de células destinadas a la producción de un órgano o tejido concreto.
- En algunos casos, es preciso un **proceso de maduración del tejido u órgano** producido lo que también supone un **punto crítico en cuanto a tiempo**. Este proceso de maduración se lleva a cabo en biorreactores que ayudan a mejorar la viabilidad de las células y asegurar la diferenciación de las células inmaduras al tejido u órgano que se quiere reproducir.
- En el camino hacia la traslación a la práctica clínica de la bioimpresión se deberá tener en cuenta el hecho de que el aumento de **costes derivados de la producción individualizada** y la obtención de productos personalizados son complejos de asumir tanto por una industria como para el sistema de salud tanto público como privado.



- Los pasos del proceso de bioimpresión ponen de manifiesto la necesidad de contar con un **equipo multidisciplinario** para llevar a cabo de principio a fin y correctamente el proceso de bioimpresión. Se necesita, tanto personal con formación informática para lo referente al manejo del software y el modelaje; especialistas en materiales y biología celular para el desarrollo de los componentes de las biotintas; e incluso ingenieros que ayuden a ajustar la impresora a las características y necesidades del proceso.
- Por último, será necesario **establecer los circuitos y procesos ad hoc**, por un lado, **intrahospitalarios**, que garanticen que el producto de bioimpresión se maneja bajo estrictas condiciones de seguridad y esterilidad manteniendo las condiciones óptimas de los productos de bioimpresión antes de ser implantados en el paciente. Y, por otro, los circuitos externos, de conservación y transporte adecuados, en el caso de que el producto de bioimpresión sea generado fuera del propio hospital.

RETOS ÉTICOS Y LEGALES

La bioimpresión es una tecnología en auge que previamente supondrá un cambio de paradigma en varios campos de la medicina del futuro como son la medicina regenerativa y los trasplantes de órganos. Su rápido progreso nos acerca cada vez más a su uso práctico y desde esta perspectiva se plantean **múltiples cuestiones legales y aspectos éticos que han de abordarse**.

- Actualmente, la Agencia Europea del Medicamento (EMA, por sus siglas en inglés) clasifica como **productos de terapia avanzada**, entre otros, los medicamentos de ingeniería tisular que son aquellos que contienen células o tejidos para su uso para reparar, regenerar o reemplazar tejido humano, lo que incluye los productos resultantes de la bioimpresión. Esto supone una de las limitaciones más importantes de cara a la traslación de esta tecnología a la práctica clínica ya que los productos de bioimpresión han de ajustarse a sus criterios de seguridad, reproductibilidad, eficacia

y beneficio coste efecto para el paciente. Algunos de los aspectos más relevantes en torno a la regulación de la bioimpresión incluyen el hecho de conocer cómo van a ser clasificados estos productos que incluyen un componente biológico y una tecnología, si van a ser considerados como medicamentos y por lo tanto tendrán que estar sujetos a ensayos clínicos y que regulación deberá cumplir la bioimpresora. Es por ello que, en la medida de lo posible, sería deseable que los **organismos reguladores acompañen al desarrollo de esta tecnología** teniendo en cuenta el beneficio futuro a los pacientes y dando seguimiento y estableciendo todos los aspectos legales que rodean a este campo de especialización desde la investigación hasta el momento en que estos avances estén disponibles para un público más amplio.

- Desde la perspectiva de la bioética, la bioimpresión no sólo se enfrenta a los aspectos éticos clásicos en el campo de la ingeniería de tejidos como son la fuente y donación de las células (especialmente las células madre), sino que se enfrenta a **desafíos éticos propios debido a su singularidad**. Como cualquier nueva tecnología biomédica o medicamento, la bioimpresión se enfrenta a retos éticos generales relacionados con el uso restringido de la tecnología a través de licencias o patentes de manera que se garantice la calidad y fiabilidad del producto, pero se frene la innovación en el campo o establecer una política de código abierto. La **propiedad del órgano bioimpreso**, o los **costes asociados** a la tecnología que pueden suponer un problema y convertir la bioimpresión en una **opción terapéutica solo asumible por aquellas personas con un mayor poder adquisitivo**, son algunos de los aspectos éticos concretos que deberán considerarse y abordarse adecuadamente.^{36,37} En el campo de la bioimpresión, en un futuro, la resolución de los desafíos éticos en muchos casos podrá ir ligada a la aparición de nuevas necesidades legales. Concretamente, la propiedad del órgano bioimpreso y el valor potencial de los productos obtenidos por bioimpresión para las diferentes partes interesadas incluidos médicos, investigadores y

empresas biotecnológicas suponen un desafío ético a la vez que legal por la posibilidad de que surjan nuevas formas de explotación o la hipotética venta de órganos biofabricados en el mercado negro.³⁸ Otros aspectos bioéticos relevantes a tener en cuenta en este sentido estarán relacionados con los **tipos de órganos que se**

pueden o no bioimprimir, afectando especialmente a la bio impresión del cerebro por tratarse de un órgano clave y cognitivo, y **bajo qué supuestos estará aceptada su bioimpresión** lo que posiblemente también de lugar a marcos legislativos concretos.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES PARA AVANZAR EN LA APLICACIÓN DE LA BIOIMPRESIÓN EN LA MEDICINA PERSONALIZADA DE PRECISIÓN

Los avances acontecidos hasta el momento y el gran impacto que el desarrollo de la bioimpresión se prevé que tenga en campos tan relevantes como el trasplante de órganos, la medicina regenerativa o el abordaje personalizado tumores, probablemente, darán lugar a nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas que configurarán el futuro tanto de la investigación biomédica como de los posibles tratamientos y aproximaciones a diferentes patologías.

Las nuevas oportunidades que ofrece la impresión 3D y en concreto la bioimpresión en el campo de la medicina resultarán clave a la hora de definir la medicina del futuro, si bien se enfrenta a retos tecnológicos, éticos y legales que, durante los próximos años, habrán de solventarse para su traslación definitiva a la práctica clínica.

RECOMENDACIONES:

- Apoyar la [investigación en el campo de la bioimpresión](#) dirigida al desarrollo y mejora de

las bioimpresoras, haciendo especial énfasis al aumento de la resolución y la velocidad de impresión, así como el desarrollo de nuevas biotintas (teniendo en cuenta aspectos como la multifuncionalidad, la facilidad de manejo y el coste) como pasos previos e imprescindibles a la traslación e implantación de la bioimpresión dentro de la práctica clínica.

- Impulsar la [investigación en el campo de la ingeniería celular](#) para, entre otros, diseñar nuevas estrategias que permitan reducir los tiempos de expansión de las células y mejorar los procesos de mantenimiento en cultivo y diferenciación de células iPS para la producción de un tejido u órgano concreto como aspectos clave para el desarrollo de la bioimpresión.
- Fomentar la creación de [grupos de investigación multidisciplinares](#) en el ámbito de la bioimpresión que integren ingenieros para mejorar el diseño y la fabricación de las bioimpresoras y expertos en materiales y biología celular

encargados de seleccionar los biomateriales más adecuados, tanto para el proceso de impresión, como para el tejido resultante. De cara a la traslación a la práctica clínica, será importante contar con el apoyo de los equipos asistenciales para adaptar los resultados a las necesidades médicas reales y a las particularidades de cada tejido y órgano. Será fundamental la **integración de ingenieros biomédicos en estos equipos multidisciplinares**.

- Promover la **formación de nuevos perfiles profesionales** que contribuyan al desarrollo de la bioimpresión, así como la adquisición por parte de los profesionales sanitarios de nuevas competencias que faciliten la incorporación de las tecnologías de impresión 3D en el entorno sanitario.
- Establecer **redes de colaboración con centros de referencia** que permitan aunar y coordinar esfuerzos, así como establecer **protocolos y procedimientos normalizados de trabajo acorde a los criterios de calidad y excelencia** dirigidos a facilitar la traslación e implantación de la bioimpresión en la práctica clínica de una manera estandarizada y homogénea.
- Revisar los posibles **costes asociados a la incorporación de estas tecnologías en la asistencia sanitaria** dado que, al tratarse

de tecnologías disruptivas, será necesaria la realización de **análisis de coste-efectividad y de nuevas competencias profesionales**.

- Explorar **modelos o formas innovadoras que permitan implementar la bioimpresión en los centros hospitalarios** de manera que genere cambios en la atención sanitaria que aporten un valor real a todo el sistema asegurando la sostenibilidad y la equidad en el acceso.
- Incidir en la **importancia de comunicar los avances** acontecidos en el ámbito de la bioimpresión de manera que **no se sobredimensionen los resultados** de las investigaciones haciendo que sea posible **valorar el nivel de madurez** de la bioimpresión de cara a su traslación a la clínica.
- Desarrollar **marcos regulatorios concretos y adaptados que garanticen el buen uso y seguridad de la bioimpresión** con el objetivo de garantizar una buena implantación de esta tecnología en el ámbito clínico, así como la generalización de su uso en la práctica médica. Esto tendría que incluir tanto la **clasificación de los productos bioimpresos** y las **vías de aprobación** como establecer, aprobar y regular las **pautas en los procesos de fabricación** de estos productos, todo ello evaluado mediante ensayos tanto pre-clínicos como clínicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, Nguyen KTQ, Hui D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials , methods , applications and challenges. *Compos Part B*. 2018;143:172-196. doi:10.1016/j.compositesb.2018.02.012
2. Hull CW. Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography. 1986. <https://patents.google.com/patent/US4575330A/en>
3. Sturm LD, Williams CB, Camelio JA, White J, Parker R. Cyber-physical vulnerabilities in additive manufacturing systems: A case study attack on the .STL file with human subjects. *J Manuf Syst*. 2017;44:154-164. doi:10.1016/J.JMSY.2017.05.007
4. Lee M, Chang C, Ku Y. New layer-based imaging and rapid prototyping techniques for computer-aided design and manufacture of custom dental restoration. *J Med Eng Technol*. 2008;32:83-90.
5. Abbasi AJ, Azari A, Mohebbi SZ. Mandibular Rami Implant : A New Approach in Mandibular Reconstruction. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017;75(12):2550-2558. doi:10.1016/j.joms.2017.06.001
6. Sanderson K. 3D printing: the future of manufacturing medicine? *Pharm J*. 2015. <https://www.pharmaceutical-journal.com/news-and-analysis/features/3d-printing-the-future-of-manufacturing-medicine/20068625.article?firstPass=false>
7. Hsiao W-K, Lorber B, Reitsamer H, Khinast J. 3D printing of oral drugs: a new reality or hype? *Expert Opin Drug Deliv*. 2018;15(1):1-4. doi:10.1080/17425247.2017.1371698
8. Kim GB, Lee S, Kim H, et al. Three-Dimensional Printing : Basic Principles and Applications in Medicine and Radiology. *Korean J Radiol*. 2016;17(2):182-197. doi: <http://dx.doi.org/10.3348/kjr.2016.17.2.182>
9. Naftulin JS, Kimchi EY, Cash SS. Streamlined , Inexpensive 3D Printing of the Brain and Skull. *PLoS One*. 2015;10(8):1-15. doi:10.1371/journal.pone.0136198.
10. Murphy S V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*. 2014;32(8):773-785. doi:10.1038/nbt.2958.
11. Velasco D, Quílez C, García M, Cañizo JF, Jorcano JL. 3D human skin bioprinting: a view from the bio side. *J 3D Print Med*. 2018;2(3):141-162. doi:10.2217/3dp-2018-0008.
12. Consensous definition. 2nd Biomaterials Consensous Conference. In: Chester, UK; 1992.
13. Yu Y, Alkhawaji A, Ding Y, Mei J. Decellularized scaffolds in regenerative medicine. *Oncotarget*. 2016;7(36):58671-58683. doi:10.18632/oncotarget.10945.
14. Noor N, Shapira A, Edri R, Gal I, Wertheim L, Dvir T. 3D Printing of Personalized Thick and Perfusionable Cardiac Patches and Hearts. *Adv Sci*. 2019;1900344. doi:10.1002/advs.201900344
15. Sigma Aldrich. 3D Bioprinting: Bioink Selection Guide. <https://www.sigmapelab.com/technical-documents/articles/materials-science/3d-bioprinting-bioinks.html>
16. Cubo N, García M, Cañizo JF, Velasco D, Jorcano JL. 3D bioprinting of functional human skin : production and in vivo analysis 3D bioprinting of functional human skin : production and in vivo analysis. *Biofabrication*. 2017;9(1):1-12. doi:10.1088/1758-5090/9/1/015006.
17. Gartner Inc. and/or its affiliates. Smarter With Gartner. Gartner Hype Cycle for Emerging Technologies. <https://www.gartner.com/smarterwithgartner/top-trends-in-the-gartner-hype-cycle-for-emerging-technologies-2017/>. Published 2017
18. Mazzocchi A, Soker S, Skardal A. 3D bioprinting for high-throughput screening : Drug screening , disease modeling , and precision medicine applications. *Appl Phys Rev*. 2019;6(1). doi:10.1063/1.5056188.
19. Yi H, Jeong YH, Kim Y, Choi Y, Moon HE, Cho D. A bioprinted human-glioblastoma-on-a-chip for the identification of patient-specific responses to chemoradiotherapy. *Nat Biomed Eng*. 2019. doi:10.1038/s41551-019-0363-x.
20. Wang X, Zhang X, Dai X, et al. Tumor-like lung cancer model based on 3D bioprinting. *3 Biotech*. 2018;8(12):1-9. doi:10.1007/s13205-018-1519-1.
21. Kang H, Lee SJ, Ko IK, Kengla C, Yoo JJ, Atala A. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nat Biotechnol*. 2016;34(3):312-319. doi:10.1038/nbt.3413.
22. Shafiee A, Atala A. Tissue Engineering : Toward a New Era of Medicine. *Annu Rev Med*. 2017;68:29-40. doi:10.1146/annurev-med-102715-092331.
23. Meana A, Iglesias J, Del Río M, et al. Large surface of cultured human epithelium obtained on a dermal matrix based on live fibroblast-containing fibrin gels. *Burns*. 1998;24(7):621-630.

24. Varkey M, Visscher DO, Zuijlen PPM Van, Atala A, Yoo JJ. Skin bioprinting : the future of burn wound reconstruction ? *Burn Trauma*. 2019;7(4):1-12. doi: <https://doi.org/10.1186/s41038-019-0142-7>
25. Llames S, García E, García V, et al. Clinical results of an autologous engineered skin. *Cell Tissue Bank*. 2006;7(1):47-53.
26. Llames S, Del Río M, Larcher F, et al. Human plasma as a dermal scaffold for the generation of a completely autologous bioengineered skin. *Transplantation*. 2004;77(3):350-355.
27. Gómez C, Galán J, Torreno V, et al. Use of an autologous bioengineered composite skin in extensive burns: Clinical and functional outcomes. A multicentric study. *Burns2*. 2011;37(4):580-589. doi:doi: 10.1016/j.burns.2010.10.005
28. Albanna M, Binder KW, Murphy S V, et al. In Situ Bioprinting of Autologous Skin Cells Accelerates Wound Healing of Extensive Excisional Full- Thickness Wounds. *Sci Rep*. 2019;(December 2018):1-15. doi:10.1038/s41598-018-38366-w.
29. Yuan H, Yadid M, Park S, et al. Instrumented cardiac microphysiological devices via multi-material 3D printing. *Nat Mater*. 2017;16(3):303-308. doi: 10.1038/nmat4782.Instrumented
30. Zhang YS, Arneri A, Bersini S, et al. Bioprinting 3D micro-fibrous scaffolds for engineering endothelialized myocardium and heart-on-a-chip. *Biomaterials*. 2016;110:45-59. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.09.003.Bioprinting
31. Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering. <https://wyss.harvard.edu/technology/human-organs-on-chips/>. Accessed April 21, 2019
32. Gao B, Yang Q, Zhao X, Jin G, Ma Y, Xu F. 4D Bioprinting for Biomedical Applications. *Trends Biotechnol*. 2016;34(9):746-756. doi:10.1016/j.tibtech.2016.03.004
33. Organovo - Bioprinting functional human tissue. <https://organovo.com/tissues-services/exvive3d-human-tissue-models-services-research/exvive3d-liver-tissue-performance/>. Published 2019. Accessed April 21, 2019
34. Poietis. Next Generation Printing. <https://www.poietis.com/fr/ngb/welcome.php>. Accessed April 22, 2019
35. Vijayaventaraman S, Yan W, Feng W, Wang C, Ying J, Fuh H. 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018;132:296-332. doi:10.1016/j.addr.2018.07.004
36. Vijayaventaraman S, Invited Editorial. A Perspective on Bioprinting Ethics. *Artif Organs*. 2016;40(11):1033-1038. doi:10.1111/aor.12873
37. Gilbert F, Connell CDO, Mladenovska T, Dodds S. Print Me an Organ ? Ethical and Regulatory Issues Emerging from 3D Bioprinting in Medicine. *Sci Eng Ethics*. 2017. doi:10.1007/s11948-017-9874-6
38. Vermeulen N, Haddow G, Seymour T, Faulkner-Jones A, Shu W. 3D bioprint me: a socioethical view of bioprinting human organs and tissues. *J Med Ethics*. 2017;43(9):618 LP - 624. doi:10.1136/medethics-2015-103347
39. Carter M, Shieg J. Chapter 14. Cell culture techniques. In: *Guide to Research Techniques in Neuroscience*; 2015:295-310. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800511-8.00014-9>
40. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663-676. doi:10.1016/j.cell.2006.07.024
41. Fernandez Rivas D. Microfluidos ¿cuánto hay de nuevo? *Rev Cub Física*. 2008;25:142-149. <https://core.ac.uk/download/pdf/31150624.pdf>



NOTAS

NOTAS

