

# Tecnologías de impresión 3D en ingeniería tisular para la reparación de patologías degenerativas de columna

López-Gómez, Patricia<sup>1</sup>; González-Alcaide, Manuel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Biomateriales, Biomecánica e Ingeniería de Tejidos (BBT), Universitat Politècnica de Catalunya (UPC)

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Universidad de Granada (UGR)

## Resumen

La columna vertebral constituye una pieza clave en la estructura del organismo. Debido a su localización, composición y su gran longitud, está expuesta a numerosos factores que pueden reducir la calidad de vida del paciente. La ingeniería tisular es un área de investigación biomédica emergente que combina los principios de la ingeniería, la biología y la medicina para crear sustitutos morfofuncionales de tejidos y órganos. Esta disciplina ha experimentado un desarrollo tecnológico exponencial en las últimas dos décadas gracias al desarrollo de la impresión y la bioimpresión tridimensional (3D). Ante este auge sin precedente, se presenta una revisión bibliográfica de los avances en la fabricación de biomodelos y guías para la planificación quirúrgica, así como en la fabricación de sustitutos de cartílago intervertebral mediante ingeniería tisular, con especial énfasis en las técnicas de bioimpresión 3D, una herramienta muy prometedora en el tratamiento de un gran número de patologías de columna.

**Palabras clave:** impresión 3D, bioimpresión, cartílago intervertebral, columna, ingeniería tisular.

## 1. Introducción

La columna vertebral constituye una pieza clave en la estructura del organismo. Debido a su localización, composición y su gran longitud, está expuesta a numerosos factores de estrés, como la tracción mecánica, traumatismos y otras patologías que pueden empeorar la calidad de vida del paciente (1).

La enfermedad degenerativa de la columna es un motivo importante de discapacidad en el mundo; hasta 266 millones de personas padecen esta enfermedad cada año (2). En ella se incluyen diversas patologías, como la espondilolistesis, la degeneración del disco intervertebral o la estenosis espinal lumbar (3) y concurren una amplia variedad de dolencias, entre las que se incluyen el dolor en las extremidades inferiores, debilidad y lumbalgias graves. Las patologías de columna resultan en una clara reducción en la calidad de vida del paciente (2, 4).

A este respecto, la complejidad estructural y funcional de la columna, asociada a la avascularidad y la escasa capacidad de regeneración del tejido cartilaginoso del disco intervertebral, ha suscitado la necesidad de buscar nuevas terapias en la ingeniería tisular, diferentes de los métodos tradicionales, tales como técnicas farmacológicas (analgésicos, esteroides, antiinflamatorios no esteroideos...) o intervenciones (colocación de varillas para intentar corregir las desviaciones, técnicas de descompresión y fusión...) (5, 6), que actualmente resultan ineficientes (7).

La ingeniería tisular es un área emergente en la investigación biomédica que combina los principios básicos de la ingeniería, la biología y la medicina para la fabricación de sustitutos funcionales de

uso terapéutico (8). Esta disciplina ha tenido un desarrollo tecnológico exponencial en los últimos años, como muestra el desarrollo de la impresión y la bioimpresión tridimensional (3D) de tejidos y órganos (9-11). Actualmente muchos de estos materiales y productos de terapias avanzadas ya han sido transferidos con éxito a la práctica clínica (12). Mediante el uso y la combinación de células, biomateriales y factores bioactivos, junto con el uso de una técnica de biofabricación óptima, es posible elaborar tejidos artificiales que asemejan la estructura y función de los tejidos nativos, incluido el tejido cartilaginoso (13).

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica acerca del estado actual de las técnicas de impresión 3D, discutir sus posibles aplicaciones en la ingeniería de tejidos y, particularmente, en la reparación de estructuras de la columna gravemente dañadas por estrés o por defectos secundarios a una patología. Se presentan las bases biológicas de los tejidos en estudio y los tratamientos actuales en uso. Los avances relacionados con los modelos y las guías para la planificación quirúrgica y la fabricación de sustitutos de cartílago intervertebral mediante ingeniería tisular y bioimpresión también serán presentados. Por último, se discutirá sobre las futuras estrategias de investigación y su posible traslación clínica.

## 2. Bases biológicas del tejido óseo y cartilaginoso de la columna

El origen embrionario de la totalidad de la arquitectura vertebral es mesodérmico y endodérmico: la mayor parte de la columna vertebral, junto con

las vértebras, las placas terminales de tejido condral y el anillo fibroso, proceden del mesodermo, mientras que el núcleo pulposo procede del endodermo. El desarrollo de la columna vertebral comienza durante el proceso de gastrulación, donde el mesodermo que rodea la notocorda se divide en tres áreas: paraxial, lateral e intermedia. El mesodermo paraxial se diferencia en 42 pares de somitos, cada uno de los cuales se divide en un dermomiótomo y un esclerotomo. El esclerotomo se convertirá en el esqueleto de la columna vertebral (14).

La histología de la vértebra y el disco intervertebral revela tejidos altamente especializados y organizados con una buena integración entre ellos. Sin embargo, puede sufrir deterioros mecánicos y cambios morfofisiológicos que contribuyen a la patología con el envejecimiento y las lesiones (3, 15).

El disco intervertebral es una estructura condral que presenta grandes similitudes con otros tejidos cartilaginosos en relación con su bioquímica, pero son morfológicamente muy dispares (3). Es el primer tejido conectivo que muestra signos de deterioro y envejecimiento (16). Por ello, para tratar una lesión de la forma más segura y eficaz posible, es crucial conocer en detalle su estructura, composición y organización celular.

### 3. Terapias avanzadas en el tratamiento de las lesiones de columna

La pérdida de la estructura, el deterioro de la matriz de cartilago o la falta de integridad de la propia vértebra ocurren durante una lesión de columna (3, 13). Problemas de locomoción derivados de la pérdida de alineación de la médula espinal, flexibilidad o en la anatomía neural contribuyen a la aparición de enfermedades que afectan a la calidad de vida del paciente (16), tales como hernias (protrusiones o extrusiones), estenosis, osteofitos, espondilolistesis y espondilosis. Dichas patologías han obtenido gran relevancia en la investigación biomédica, dando pie a numerosas técnicas paliativas y reparativas en el tratamiento de las lesiones de columna, entre las que destacan la terapia celular y la ingeniería tisular (3, 17).

#### 3.1. Terapia celular

La terapia celular hace referencia a los tratamientos que contienen células como principal componente activo para el tratamiento de enfermedades o patologías (18). Estas técnicas han demostrado un gran potencial en el tratamiento de lesiones de columna, consolidándose como alternativa a las técnicas clásicas o a los reemplazos por prótesis, lo que se traduce en una mejora de la calidad de vida del paciente (13).

#### 3.2. Ingeniería tisular

Ante las limitaciones inherentes de las técnicas clásicas, se han propuesto diversas estrategias combinatorias entre células, biomateriales y moléculas señalizadoras (8), entre las que encontramos el uso de hidrogeles con carga celular (12), implantes basados en andamios que promueven el reclutamiento de células con moléculas señalizadoras (sin aporte celular externo), y técnicas basadas en la generación de sustitutos libres de biomateriales (17), pudiendo incluirse además métodos complementarios de terapia génica para conseguir expresar factores de crecimiento específicos (13).

Una de las tecnologías propuestas para mejorar y optimizar los tratamientos de este tipo de lesiones es la impresión 3D aplicada al campo de la ingeniería tisular, ya que podría suponer una alternativa a los métodos tradicionales, que actualmente resultan ineficientes (19).

### 4. Generalidades sobre la impresión 3D

La impresión 3D es una técnica de prototipado y fabricación aditiva utilizada en la construcción de modelos de arquitectura compleja, es decir, un mecanismo de alta precisión que se lleva a cabo mediante un proceso de adición sucesiva de capas del material en cuestión. Esta técnica facilita la fabricación y replicación de estructuras complejas con gran precisión y de forma controlada, incluyendo factores como: la forma externa, la geometría interna, su porosidad e interconectividad. Al mismo tiempo, este proceso permite una alta reproducibilidad y repetibilidad de los resultados (20).

La idea fue introducida por primera vez en la década de los 70 por Pierre A. L. Ciraud, quien describió un método de fabricación en el que, mediante material pulverizado y la acción de un haz de alta energía, se lograba la solidificación de las capas (21).

Una década más tarde, la estereolitografía (Stereo Lithography Apparatus, SLA) se convirtió en la primera técnica de fabricación aditiva aplicada en medicina para el modelo de cirugía de implantes aloplásticos (22, 23). En la década de los 90 se realizó uno de los primeros trabajos en ingeniería tisular usando la SLA por Widmer y su grupo para la regeneración de nervios periféricos (24). Esa misma década, Emanuel Sachs y su grupo patentaron «técnicas de impresión tridimensional» con aplicación médica (25).

En los últimos 10 años se han optimizado las diferentes técnicas de impresión, desarrollándose impresoras con varios cabezales para imprimir distintos materiales simultáneamente. Además, se ha implementado el uso de técnicas de imagen médica y software de diseño asistido por ordenador (21, 26, 27).

## 5. Métodos de impresión 3D

Las tecnologías de fabricación aditiva pueden ser clasificadas en cuatro grupos principales:

### 5.1. Técnica de impresión basada en la polimerización en cubeta/batea

Un polímero fundido que ha sido previamente colocado en una batea (Vat polymerization, o VAT) es polimerizado por una fuente de luz (Figura 1.1). En esta categoría podemos encontrar las técnicas de SLA, el procesamiento de luz directa (Digital Light Processing, o DLP) y el procesamiento de luz directa continua (Continuous Digital Light Processing, o CDLP).

### 5.2. Técnica de impresión a base de polvo

Un láser recorre la zona donde se ha depositado el material fusionando las partículas de polvo en capas sucesivas (Figura 1.2). Aquí se encuentran la sinterización selectiva por láser (Selective laser sintering, o SLS), la sinterización directa de metal por láser (Direct Metal Laser Sintering, o DMLS), la fusión selectiva por láser (Selective Laser Melting, o SLM) y la fusión por haz de electrones (Electron Beam Melting, o EBM).

### 5.3. Técnica de impresión a base de gotas (inyección de tinta)

Se emplea un chorro preciso de material líquido sobre un sustrato para construir el modelo mediante la adición de capas (Figura 1.3). Existen varias técnicas, como el modelado de inyección múltiple (Multi Jet Modeling, o MJM), el modelado por deposición de cera (Wax Deposition Modeling, o WDM), la transferencia inducida por láser (laser-induced forward transfer, o LIFT) y la inyección de aglutinante (Binder Jetting, o BJ).

### 5.4. Técnica de impresión basada en la extrusión

Se deposita un polímero fundido a través del extrusor de la impresora, que deposita el material capa por capa sobre el sustrato (Figura 1.4). Aquí se incluyen el modelado de deposición fundida (Fused Deposition Modeling, o FDM) y la escritura con tinta directa (Direct Ink Write, o DIW) (21, 22, 28, 29).

## 6. Fundamentos técnicos de la impresión 3D para la reparación de patologías de columna

### 6.1. Generación de modelos anatómicos a partir de imágenes DICOM para la planificación quirúrgica

El primer paso para obtener información acerca del estado actual de la patología y poder elaborar un protocolo de actuación es realizar un diagnóstico por imagen que se lleva a cabo mediante tomografía computarizada (TC) o imagen por resonancia

magnética (RM). Posteriormente almacenamos la información de las imágenes obtenidas en formato DICOM (Data Imaging and Communications in Medicine), con las cuales seremos capaces de obtener un diseño computarizado gracias a un software de diseño asistido por ordenador (Computer-Aided Design, o CAD) y un programa de segmentación específico. Por último, generamos un archivo de capas en formato STL (STereoLithography) que podemos transferir a nuestra impresora (7) (Figura 2). Los biomodelos que se imprimen a partir de esta técnica proporcionan información muy exacta sobre el estado concreto de la patología del paciente, lo que supone un extraordinario apoyo a la hora de planear cirugías, además de minimizar el tiempo y los posibles riesgos asociados (30).

### 6.2. Impresión de biomateriales para ingeniería tisular

Los biomateriales son esenciales en la ingeniería de tejidos. Proporcionan el soporte estructural para que las células se adhieran, migren, proliferen, produzcan su propia matriz extracelular y se diferencien en un fenotipo determinado (22). Debe ser biocompatible, bioactivo, poroso y tener una resistencia mecánica adecuada. De esta forma se da una correcta difusión de las células, los nutrientes y los desechos del tejido. La biodegradabilidad del biomaterial es clave, ya que permite el reemplazo progresivo del tejido artificial por tejido neoformado (31, 32).

Tradicionalmente se han empleado métodos de fabricación convencionales como electrospinning (33), lixiviación, liofilización o moldeado (27). Sin embargo, estas técnicas carecen de la precisión necesaria para controlar la porosidad, la geometría interna o la disposición espacial de los componentes (22).

La fabricación aditiva ha ganado bastante terreno como técnica de fabricación alternativa de estos soportes estructurales, permitiendo el control del tamaño, la forma y la arquitectura del andamio y una alta precisión para sintonizar la porosidad y la degradabilidad, así como la distribución tridimensional de los elementos (27, 33). Otras ventajas son su diseño individual y personalizado y su alta reproducibilidad y rendimiento. Los métodos más utilizados son FDM (21), SLS/DMLS, BJ y VAT (22).

### 6.3. Uso de las tecnologías de impresión 3D en patologías de columna

Se ha reportado el uso de la impresión 3D para diversas patologías de columna. Entre ellas cabe destacar la fabricación de implantes individualizados con alto índice de osteointegración y precisión anatómica para:



- Una fusión intersomática lumbar lateral en una paciente con radiculopatía intratable a causa de una compresión de disco (34).
- La extracción de un tumor óseo primario destructivo a nivel de T9 en una paciente con cifoescoliosis progresiva (35).
- El tratamiento de quistes sintomáticos en el canal del sacro mediante el uso de duramadre artificial impresa en 3D junto con radiculoplastia (36).

#### 6.4. Bioimpresión 3D

El enfoque ideal de fabricación aditiva para andamiajes requiere la incorporación de células, bien sea sembrándolas en el biomaterial una vez impreso este, bien incorporándolas como material imprimible. Cualquier técnica que incluya células en la formulación de la tinta, a diferencia de las técnicas de impresión 3D previamente descritas, se denomina «bioimpresión» (22).

La bioimpresión es capaz de generar estructuras tridimensionales compuestas por un biomaterial, que actúa como soporte, y componentes celulares (29, 37). Es posible agregar otros elementos como fármacos, componentes de la matriz extracelular, factores de crecimiento y otros factores biológicos (38) con el objetivo de construir tejidos semejantes al tejido nativo o biomiméticos (29). Las 3 tecnologías mayormente utilizadas son la inyección de biotinta, la extrusión y la bioimpresión asistida por luz (38).

El proceso de bioimpresión 3D está dividido en 3 fases:

##### 6.4.1. Pre-procesamiento

Diseño del objeto 3D con un software de diseño CAD y caracterización de los datos para optimizar la geometría. El preprocesamiento implica el diseño digital obtenido a partir de imágenes médicas (TC o RM) y la selección de componentes (Figura 3.1)

##### 6.4.2. Procesamiento

Generación de capas y proceso de impresión del modelo mediante la técnica elegida. Las imágenes diseñadas se envían al sistema y se preparan los biomateriales y las biotintas (Figura 3.2).

##### 6.4.3. Post-procesamiento

Adaptación del tejido impreso para su posterior uso. Este proceso puede llevar días o incluso semanas. Durante esta fase las construcciones impresas se transfieren a un biorreactor para la maduración del tejido (Figura 3.3) (21, 27, 29, 39).

## 7. Generación de sustitutos cartilagosos por técnicas de bioimpresión 3D

Los desafíos asociados a la arquitectura y a la complejidad del tejido condral exigen una elección ideal de los componentes y técnicas de biofabricación (28). Las interacciones entre las células y el andamiaje determinan la calidad final del modelo impreso, por lo que la elección de cada elemento es crucial (29).

### 7.1. Biomateriales

Los biomateriales utilizados en la bioimpresión de cartílago pueden ser de origen natural, sintético, o bien una mezcla de ambos, que permite la obtención de mejores propiedades biomecánicas y biológicas (28, 29, 40).

Los polímeros naturales empleados en mayor medida son: el colágeno, el componente más abundante en la matriz extracelular de mamíferos; la agarosa, un hidrogel polimérico termosensible; el alginato, derivado de la pared de las algas pardas; el quitosano, un polisacárido que puede formar una matriz de gel; el ácido hialurónico, un polisacárido aniónico que promueve la regeneración de tejidos condrales; y la gelatina (28, 29, 41). Su principal ventaja es su biocompatibilidad y baja citotoxicidad. Sin embargo, poseen una baja capacidad de manipulación y resolución de impresión debido a su viscosidad (41).

Para solventar estas limitaciones, se emplean polímeros sintéticos en el desarrollo de hidrogeles, ya que, a diferencia de los polímeros naturales, sus propiedades pueden ser controladas. Esta característica les confiere ventajas respecto a la resistencia mecánica, estabilidad, manipulación e incluso biodegradabilidad (40). Algunos comúnmente usados son: poli-alcohol-vinílico, polietilenglicol, ácido poli-láctico-co-glicólico y policaprolactona (29).

Teniendo en cuenta las propiedades de cada tipo, un hidrogel mixto con un componente natural y otro sintético solventa estas limitaciones, obteniéndose propiedades biomecánicas y biológicas mejoradas, que supera los resultados obtenidos por separado (40). Por ello, habitualmente se emplean andamiajes compuestos:

- La combinación de alginato con nanocelulosa (19, 29) ha demostrado propiedades muy favorables relacionadas con la estabilización del constructo y la disminución de la viscosidad (41).
- Los compuestos de quitosano y poloxámeros favorecen el crecimiento de condrocitos, y su combinación con acrilato produce un hidrogel nanoestructurado.

- Los bioandamios generados a partir de quitosano (80 %), policaprolactona (15 %) e hidroxipatita (5 %) permiten emular características similares al cartílago humano y son capaces de ser sometidas a un procesamiento histológico (42).
- La adición de grupos laterales a hidrogeles de gelatina o ácido hialurónico facilitan la reticulación o *crosslinking* entre polímeros, resultando en una matriz muy estable (43).
- Los hidrogeles de polietilenglicol pueden conjugarse con péptidos o proteínas de adhesión, lo que les confiere capacidades de interacción fisiológica entre célula y material (28, 29).

## 7.2. Fuentes celulares

Pese a que el uso de condrocitos diferenciados en la bioimpresión ha sido ampliamente descrito (19, 29, 44, 45), es difícil obtenerlos de manera directa debido a su baja tasa de renovación, la limitación de fuentes de extracción y la complejidad intrínseca de su recolección. Esto ha llevado a que se prueben fuentes celulares alternativas, como las células madre (41). Estas constituyen un grupo de células indiferenciadas con capacidad ilimitada para la división y alto potencial de regeneración.

Dependiendo de su potencial de diferenciación, las células madre se clasifican en totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes, y, según sea su origen, en embrionarias, fetales y «adultas» (somáticas) (8, 17), empleando fundamentalmente estas últimas. El empleo de células madre mesenquimales (*Mesenchymal Stem Cells*, o MSCs) implica eficacia y seguridad para el paciente (19, 46) y supone un riesgo menor en la formación de teratomas o diferenciación no deseada, en comparación con la acción de las células madre embrionarias (41). Pueden ser obtenidas de numerosos tejidos, siendo las derivadas de la médula ósea y del tejido adiposo (8) las más empleadas en tratamientos para el tejido condral (28, 46), ya que muestran un excelente potencial condrogénico (47). Las células del tejido adiposo resultan muy prometedoras para el tratamiento en trastornos musculoesqueléticos. El tejido adiposo es una gran fuente de células madre por varios motivos: son muy abundantes en el organismo, pueden obtenerse fácilmente del paciente mediante procedimientos mínimamente invasivos y tienen un gran rendimiento a nivel celular (48). Además, diversos estudios han demostrado que el tratamiento con co-cultivos reporta mejores resultados que aquellos con monocultivos, siendo una mezcla de MSC y condrocitos en proporción 4:1 la más eficiente (41).

## 8. Limitaciones de las tecnologías de impresión 3D

Estas limitaciones hacen referencia a la falta de resolución de la imagen 3D y a la presencia de artefactos durante la generación del modelo 3D. En algunos casos estos artefactos afectaron a la arquitectura de prótesis fabricadas, volviéndolas totalmente inutilizables. También deben ser considerados el elevado poder económico para adquirir todo el equipo, la velocidad de impresión y la falta de profesionales cualificados que sepan manejar las impresoras durante emergencias (49).

## 9. Perspectivas de futuro de las tecnologías de impresión 3D para la reparación de patologías de columna

La tecnología de impresión 3D fue descrita hace décadas, pero la bioimpresión es mucho más reciente. Aunque evoluciona muy rápido, y muestra una capacidad y flexibilidad para generar tejidos vivos con mínimos o nulos efectos secundarios, los estudios *in vivo* se encuentran todavía en una etapa inicial: existe una brecha entre las propiedades biológicas y mecánicas que hay que solventar (29), ya que es imprescindible estabilizar el implante e integrarlo con el tejido nativo circundante (45). Sin embargo, los avances y resultados obtenidos permiten ser optimistas respecto a la bioimpresión 3D de sistemas complejos y la resolución de la escasez de donantes de tejidos y órganos (29, 50).

## 10. Traslación clínica

La tecnología de impresión 3D ya forma parte de una serie de rutinas clínicas, tales como la generación de modelos a partir de imágenes de referencia tomadas mediante TC o RM o la fabricación de prototipos con fines educativos para ayudar a los cirujanos en la planificación de cirugías complejas (50).

Para la traslación clínica de la bioimpresión se han de cumplir las normas y requisitos de seguridad: esterilidad, contenido de endotoxinas, reproducibilidad y, debido a la presencia de células, someterse a la ley correspondiente por la cual deben incorporarse buenas prácticas de fabricación, procurando una manipulación mínima y un procesamiento en sistema cerrado. Sin embargo, no existe una normativa vigente actualizada que evalúe la calidad, la seguridad y eficiencia de la bioimpresión 3D en pacientes. Hasta el momento solo se han procurado recomendaciones para la realización de estudios preclínicos y clínicos por parte de la Sociedad Internacional de Reparación del Cartílago (29, 50).

## 11. Conclusiones

Las tecnologías de impresión 3D podrían ofrecer grandes ventajas para el paciente: el desarrollo de un tratamiento totalmente personalizado y capaz de solventar con precisión lesiones de gran complejidad, permitiendo de la misma manera afrontar futuras intervenciones quirúrgicas con mayor seguridad y conocimiento previo. En relación con la bioimpresión 3D, existen obstáculos que deben superarse antes de su puesta en valor en dimensiones clínicamente relevantes. Es necesario evaluar la totalidad de combinaciones posibles entre los biomateriales, las fuentes celulares y las moléculas, a fin de establecer una construcción ideal que haga factible un sustituto cartilaginoso óptimo, tanto en estructura como en función. Para ello es fundamental seleccionar cuidadosamente los materiales con compatibilidad celular y con las propiedades mecánicas adecuadas.

También es necesaria una regulación a todos los niveles: desde el plano legislativo, que contemple las técnicas de biofabricación con células hasta el uso de materiales para guías e implantes generados mediante impresión 3D, con el fin de asegurar una fabricación y una aplicación correcta y segura para el paciente.

A pesar de estas limitaciones, es esclarecedor que el futuro de la gestión de las lesiones de columna se encuentre en el desarrollo de técnicas interdisciplinarias, que aúnen las capacidades de la medicina regenerativa y la bioingeniería. La próxima generación de implantes biológicamente compatibles, capaces de tratar daños en la columna, será una realidad gracias a la implementación de la impresión 3D en hospitales, como una alternativa a las técnicas vigentes.

## Declaraciones

### Agradecimientos

Los autores de este trabajo agradecen la implicación de los coordinadores y docentes de los cursos «Producción y traducción de artículos biomédicos (III ed.)» y «Traducción inversa de artículos científicos biomédicos (español-inglés)», así como al equipo de traducción al inglés de este artículo.

### Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

## Referencias

- Artificial discs for lumbar and cervical degenerative disc disease update: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2006;6(10):1-98.
- Ravindra VM, Senglaub SS, Rattani A, Dewan MC, Härtl R, Bisson E, et al. Degenerative Lumbar Spine Disease: Estimating Global Incidence and Worldwide Volume. *Glob spine J.* 2018;8(8):784-94.
- Bowles RD, Setton LA. Biomaterials for intervertebral disc regeneration and repair. *Biomaterials.* 2017;129:54-67.
- Hoy D, March L, Brooks P, Blyth F, Woolf A, Bain C, et al. The global burden of low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(6):968-74.
- Kalichman L, Hunter DJ. Diagnosis and conservative management of degenerative lumbar spondylolisthesis. *Eur spine J Off Publ Eur Spine Soc Eur Spinal Deform Soc Eur Sect Cerv Spine Res Soc.* 2008;17(3):327-35.
- Cunin V. Early-onset scoliosis: current treatment. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2015;101(1 Suppl):S109-18.
- Cho W, Job AV, Chen J, Baek JH. A Review of Current Clinical Applications of Three-Dimensional Printing in Spine Surgery. *Asian Spine J.* 2018;12(1):171-7.
- Hunziker EB, Lippuner K, Keel MJB, Shintani N. An educational review of cartilage repair: precepts & practice--myths & misconceptions--progress & prospects. *Osteoarthr Cartil.* 2015;23(3):334-50.
- Lippincott Williams & Wilkins. *Histology for pathologists.* MILLS S, editor. 2019.
- Sheha ED, Gandhi SD, Colman MW. 3D printing in spine surgery. *Ann Transl Med.* 2019;7(Suppl 5):S164.
- Burnard JL, Parr WCH, Choy WJ, Walsh WR, Mobbs RJ. 3D-printed spine surgery implants: a systematic review of the efficacy and clinical safety profile of patient-specific and off-the-shelf devices. *Eur Spine J [Internet].* 2020;29(6):1248-60. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00586-019-06236-2>
- Bonhome-Espinosa AB, Campos F, Durand-Herrera D, Sánchez-López JD, Schaub S, Durán JDG, et al. In vitro characterization of a novel magnetic fibrin-agarose hydrogel for cartilage tissue engineering. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2020;104:103619.
- Álvarez E, Ripoll PL, Restrepo A, Forriol F. Revisión de la reparación del cartílago. Posibilidades y resultados. *Trauma (Spain).* 2010.
- Kalamchi L, Valle C. *Embryology, Vertebral Column Development.* In Treasure Island (FL); 2021.
- Roberts S, Evans H, Trivedi J, Menage J. Histology and pathology of the human intervertebral disc. *J Bone Joint Surg Am.* 2006;88 Suppl 2:10-4.
- Urban JPG, Roberts S. Degeneration of the intervertebral disc. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(3):120-30.
- Caldwell KL, Wang J. Cell-based articular cartilage repair: the link between development and regeneration. *Osteoarthr Cartil.* 2015;23(3):351-62.
- Kolios G, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration.* 2013;85(1):3-10.
- Daly AC, Freeman FE, Gonzalez-Fernandez T, Critchley SE, Nulty J, Kelly DJ. 3D Bioprinting for Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering. *Adv Healthc Mater.* 2017;6(22).
- Cui H, Nowicki M, Fisher JP, Zhang LG. 3D Bioprinting for Organ Regeneration. *Adv Healthc Mater.* 2017;6(1).
- Jamróz W, Szafraniec J, Kurek M, Jachowicz R. 3D Printing in Pharmaceutical and Medical Applications - Recent Achievements and Challenges. *Pharm Res.* 2018;35(9):176.
- Liaw CY, Guvendiren M. Current and emerging applications of 3D printing in medicine. *Biofabrication.* 2017.
- Anderl H, Zur Nedden D, Mühlbauer W, Twerdy K, Zanon E, Wicke K, et al. CT-guided stereolithography as a new tool in craniofacial surgery. *Br J Plast Surg.* 1994;47(1):60-4.
- Widmer MS, Gupta PK, Lu L, Meszlenyi RK, Evans GR, Brandt K, et al. Manufacture of porous biodegradable polymer conduits by an extrusion process for guided tissue regeneration. *Biomaterials.* 1998;19(21):1945-55.
- Haggerty J, Cima M, Williams P, inventores; Sachs E, titular. (1993). *Técnicas de Impresión Tridimensional.* Patente Estadounidense. 5,204,055 04/28/1993.
- Richter DL, Schenck RCJ, Wascher DC, Treme G. Knee Articular Cartilage Repair and Restoration Techniques: A Review of the Literature. *Sports Health.* 2016;8(2):153-60.
- Sabino MA, Loaiza M, Dernowsek J, Rezende R, Da Silva JVL. Técnicas para la fabricación de andamios poliméricos con aplicaciones en ingeniería de tejidos. *Rev Latinoam Metal y Mater.* 2017.
- Vijayavenkataraman S, Yan W-C, Lu WF, Wang C-H, Fuh JYH. 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;132:296-332.
- Huang Y, Zhang XF, Gao G, Yonezawa T, Cui X. 3D bioprinting and the current applications in tissue engineering. *Biotechnology Journal.* 2017.
- D'Urso PS, Williamson OD, Thompson RG. Biomodeling as an aid to spinal instrumentation. *Spine (Phila Pa 1976).* 2005;30(24):2841-5.
- Moroni L, Boland T, Burdick JA, De Maria C, Derby B, Forgacs



- G, et al. Biofabrication: A Guide to Technology and Terminology. *Trends Biotechnol.* 2018;36(4):384-402.
32. Elkasabgy NA, Mahmoud AA. Fabrication Strategies of Scaffolds for Delivering Active Ingredients for Tissue Engineering. *AAPS PharmSciTech.* 2019;20(7):256.
  33. Sun J, Vijayavenkataraman S, Liu H. An Overview of Scaffold Design and Fabrication Technology for Engineered Knee Meniscus. *Mater (Basel, Switzerland).* 2017;10(1).
  34. Siu TL, Rogers JM, Lin K, Thompson R, Owbridge M. Custom-Made Titanium 3-Dimensional Printed Interbody Cages for Treatment of Osteoporotic Fracture-Related Spinal Deformity. *World Neurosurg.* 2018;111:1-5.
  35. Choy WJ, Mobbs RJ, Wilcox B, Phan S, Phan K, Sutterlin CE 3rd. Reconstruction of Thoracic Spine Using a Personalized 3D-Printed Vertebral Body in Adolescent with T9 Primary Bone Tumor. *World Neurosurg.* 2017;105:1032.e13-1032.e17.
  36. Liu B, Wang Z, Lin G, Zhang J. Radiculoplasty with reconstruction using 3D-printed artificial dura mater for the treatment of symptomatic sacral canal cysts: Two case reports. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(49):e13289.
  37. Fricain JC, De Olivera H, Devillard R, Kalisky J, Remy M, Kériquel V, et al. Impression 3D en médecine régénératrice et ingénierie tissulaire. *Medicine/Sciences.* 2017; 33 (1) 52-59.
  38. Zhu W, Ma X, Gou M, Mei D, Zhang K, Chen S. 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering. *Current Opinion in Biotechnology.* 2016.
  39. O'Brien CM, Holmes B, Faucett S, Zhang LG. Three-Dimensional Printing of Nanomaterial Scaffolds for Complex Tissue Regeneration. *Tissue Eng Part B Rev [Internet].* 2015;21(1):103-14.
  40. Roseti L, Cavallo C, Desando G, Parisi V, Petretta M, Bartolotti I, et al. Three-Dimensional Bioprinting of Cartilage by the Use of Stem Cells: A Strategy to Improve Regeneration. *Mater (Basel, Switzerland).* 2018;11(9).
  41. Apelgren P, Amoroso M, Lindahl A, Brantsing C, Rotter N, Gatenholm P, et al. Chondrocytes and stem cells in 3D-bioprinted structures create human cartilage in vivo. *PLoS One.* 2017;12(12):e0189428.
  42. Láinez Ramos AJ, Rivera Izquierdo M. Synthesis and characterization of a cartilage model using hydroxyapatite, chitosan and polycaprolactone. *Actual Medica.* 2017;102(800):7-12.
  43. Duchi S, Onofrillo C, O'Connell CD, Blanchard R, Augustine C, Quigley AF, et al. Handheld Co-Axial Bioprinting: Application to in situ surgical cartilage repair. *Sci Rep.* 2017;7(1):5837.
  44. Shim JH, Lee JS, Kim JY, Cho DW. Bioprinting of a mechanically enhanced three-dimensional dual cell-laden construct for osteochondral tissue engineering using a multi-head tissue/organ building system. *J Micromechanics Microengineering.* 2012;
  45. Cui X, Breitenkamp K, Finn MG, Lotz M, D'Lima DD. Direct human cartilage repair using three-dimensional bioprinting technology. *Tissue Eng Part A.* 2012;18(11-12):1304-12.
  46. Lopa S, Mondadori C, Mainardi VL, Talò G, Costantini M, Candrian C, et al. Translational Application of Microfluidics and Bioprinting for Stem Cell-Based Cartilage Repair. *Stem Cells Int.* 2018;2018:6594841.
  47. Żylińska B, Silmanowicz P, Sobczyńska-Rak A, Jarosz Ł, Szponder T. Treatment of Articular Cartilage Defects: Focus on Tissue Engineering. *In Vivo.* 2018;32(6):1289-300.
  48. Rivera-Izquierdo M, Cabeza L, Láinez-Ramos-Bossini A, Quesada R, Perazzoli G, Alvarez P, et al. An updated review of adipose derived-mesenchymal stem cells and their applications in musculoskeletal disorders. *Expert Opin Biol Ther.* 2019;19(3):233-48.
  49. Martelli N, Serrano C, van den Brink H, Pineau J, Prognon P, Borget I, et al. Advantages and disadvantages of 3-dimensional printing in surgery: A systematic review. *Surgery.* 2016;159(6):1485-500.
  50. Mouser VHM, Levato R, Bonassar LJ, D'Lima DD, Grande DA, Klein TJ, et al. Three-Dimensional Bioprinting and Its Potential in the Field of Articular Cartilage Regeneration. *Cartilage.* 2017;8(4):327-40.

## FIGURAS

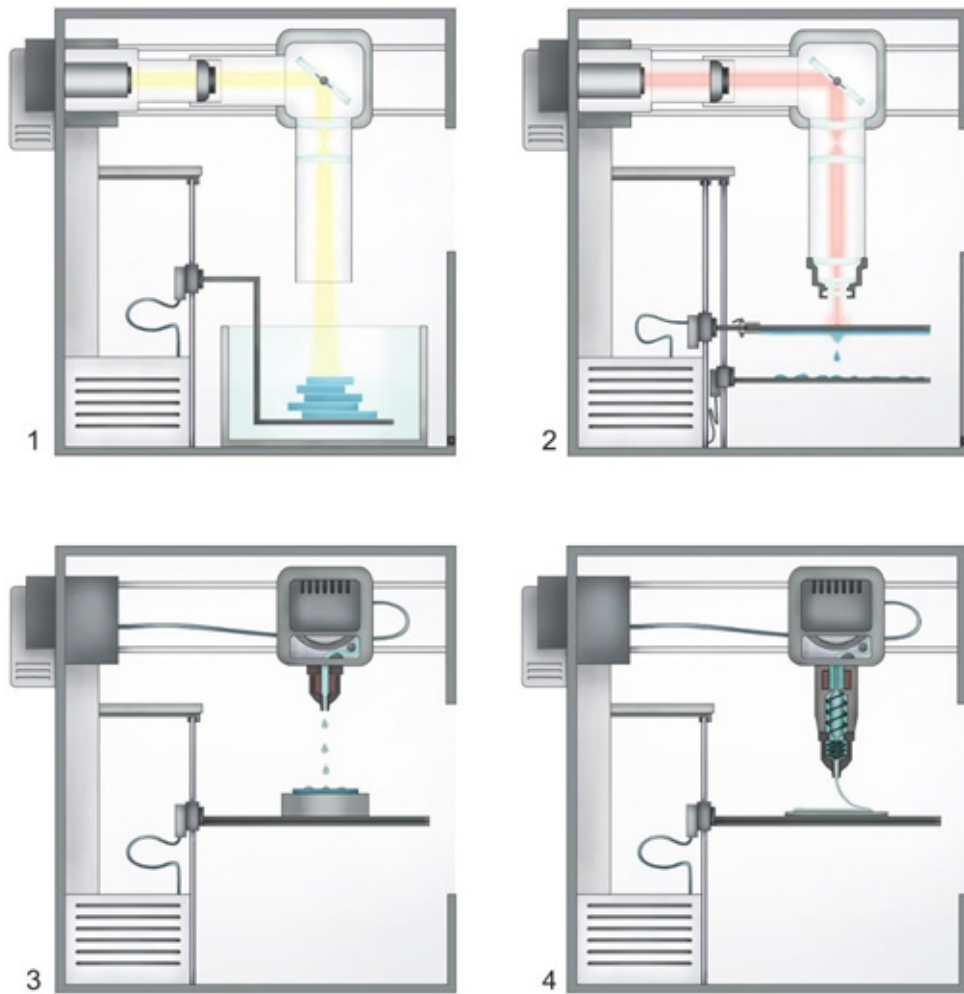


Figura 1. Representación gráfica de los diferentes tipos de impresión 3D. 1. Impresión basada en la polimerización en cubeta. 2. Impresión a base de polvo. 3. Impresión a base de gotas. 4. Impresión basada en la extrusión.



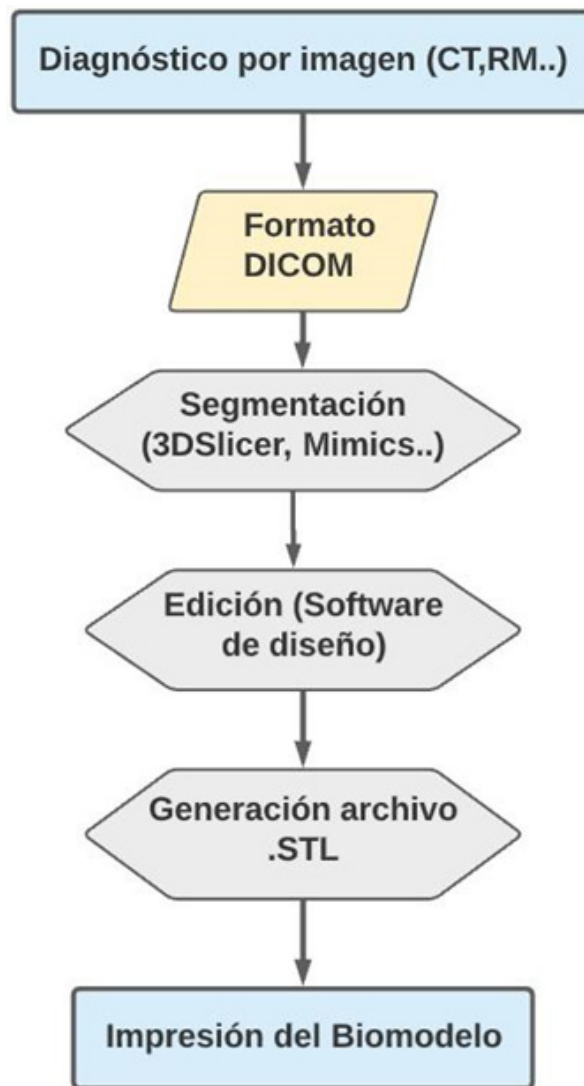


Figura 2. Diagrama de flujo que representa los pasos a seguir para la generación de un modelo anatómico mediante impresión 3D a partir de imagen médica.

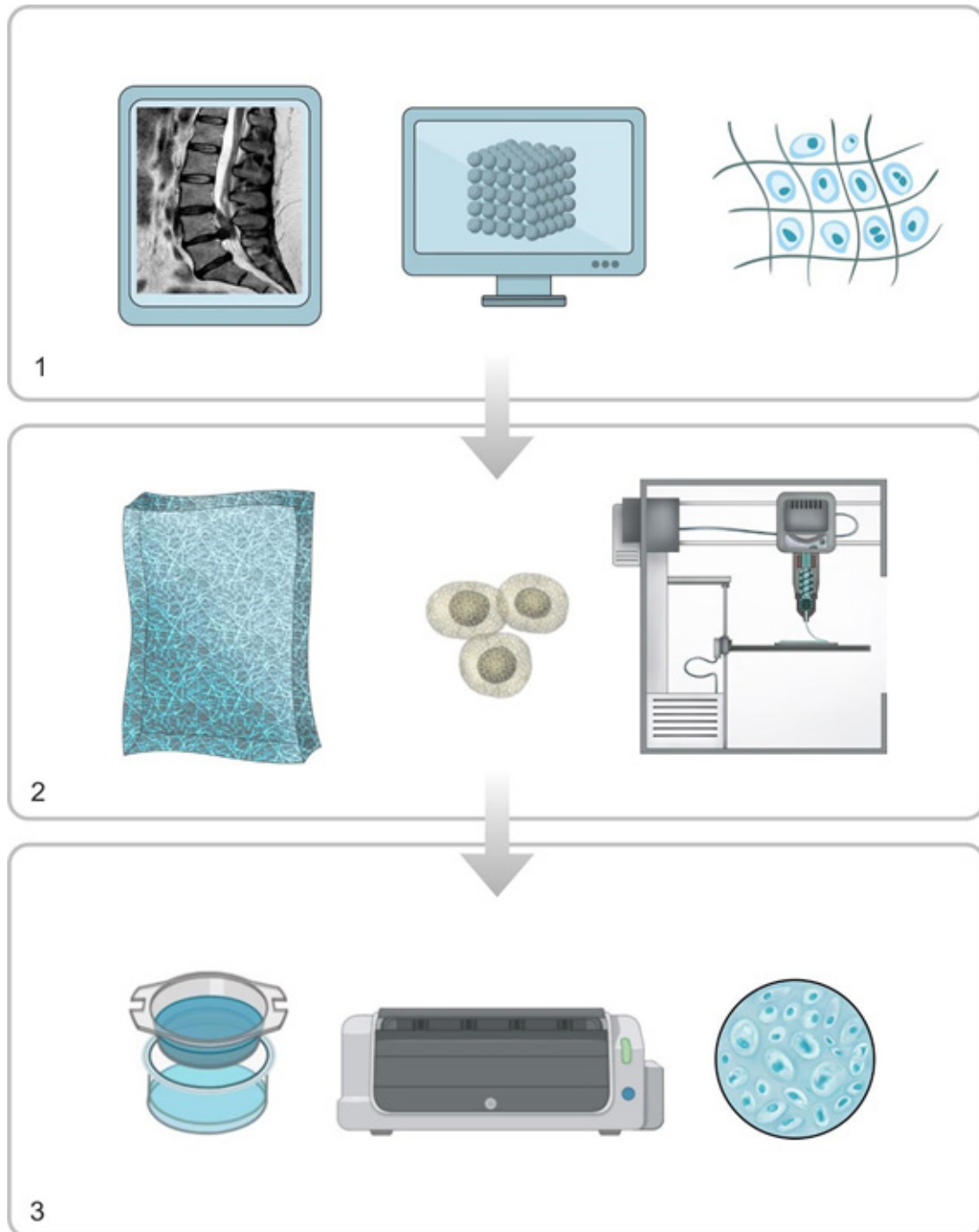


Figura 3. Representación gráfica del proceso general de bioimpresión.1. Pre-procesamiento. 2. Procesamiento. 3. Post-procesamiento.