

Creación de partes humanas: un futuro cercano

Creation of human parts: a near future

Angie Lorena Aldana Padilla¹ y Mikel Fernando Hurtado Morales²

Resumen

La bioimpresión 3D es una técnica emergente que se utiliza en el desarrollo de tejido tridimensional funcional vivo y se basa en el depósito de materiales cargados de células e hidrogeles capa por capa. Si bien este nuevo procedimiento aún debe superar varias dificultades, sus aplicaciones prometen grandes avances en la medicina, sobre todo en la regeneración de tejidos y el trasplante de órganos. Por el momento, los desafíos son considerables, pues se requiere estudiar los materiales y la técnica adecuados para que las células no sufran daño y tengan un buen crecimiento. Este artículo es una revisión bibliográfica sobre el funcionamiento, las formas de imitación de la matriz extracelular, los tipos de células, los enfoques de diseño, las técnicas y las aplicaciones de la bioimpresión 3D.

Palabras clave: biomateriales, bioimpresión 3D, tejido tridimensional, hidrogeles, regeneración, *scaffold*, *bioink*.

Abstract

3D bioprinting is an emerging technique used in the development of living functional three-dimensional tissue and based on the deposit of cell-laden materials and hydrogels layer by layer. Although this new procedure still must overcome several difficulties, its applications promise great advances in medicine, especially in tissue regeneration and organ transplantation. Presently, the challenge is considerable given the necessity to study the appropriate materials and technique so that the cells do not suffer damage and have a good growth. This article is a review of literature on the functioning, ways to mimic the extracellular matrix, types of cells, design approaches, techniques, and applications of 3D bioprinting.

Keywords: biomaterials, 3D bioprinting, tridimensional tissue, hydrogels, regeneration, scaffold, bioinks.

¹ Estudiante de Ingeniería Electrónica, Universidad Central. Correo electrónico: aaldanap@ucentral.edu.co.

² Profesor asociado de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas, Universidad Central. Miembro de los grupos de investigación Bioingeniería, Nanotecnología y Comunicaciones (SPIN) y Maxwell. Correo electrónico: mhurtadom1@ucentral.edu.co.

1. Introducción

Según Abouna (2008), en Estados Unidos se agrega un nombre a la lista de espera de trasplante de órganos cada 15 minutos. Esta estadística no varía significativamente en otros países; en Colombia, por ejemplo, mueren cinco pacientes cada día por falta de donación de órganos (Elpaís.com, 2014). Sin embargo, una técnica de rápido desarrollo se ha convertido en una posibilidad para quienes necesitan una nueva parte del cuerpo: la ingeniería de tejidos (IT). En este procedimiento, la ciencia es el donante principal y se utilizan dos tipos de procesos para la combinación de células y biomateriales: los de arriba hacia abajo (*top-down*), en los cuales las células se siembran escasa y homogéneamente en biomateriales formados para parecerse a las geometrías biológicas, y los de abajo hacia arriba (*bottom-up*), en los que las unidades moleculares de las células y los biomateriales se combinan para formar tejidos. Sin embargo, en los métodos *top-down* no se puede controlar con precisión la distribución de las celdas, lo que impide generar la matriz extracelular de forma adecuada e inhibe el correcto funcionamiento de los tejidos (Mandrycky et ál., 2015). Por tal razón, Shapira, Kim y Dvir (2014) recomiendan aplicar la IT de abajo hacia arriba.

La bioimpresión 3D (3DBP, por su sigla en inglés) es una técnica que combina la ingeniería, los biomateriales y la nanotecnología para crear tejidos y órganos artificiales funcionales (Mandrycky, Wang, Kim y Kim, 2016). Según Sun (2013), tiene tres principales aplicaciones: implantes (biocompatibles pero no biodegradables), andamios de tejidos (biocompatibles, biodegradables y bioabsorbibles) y modelos biológicos *in vitro* (células y compuestos biológicos vivos). El presente artículo se centrará en las dos últimas.

2. Principios básicos de la bioimpresión 3D

Para entender el funcionamiento y los principios básicos que rigen la 3DBP, es necesario entender que las células se encuentran inmersas en una matriz extracelular (MEC), un medio de integración fisiológico que sirve como componente cohesivo y medio logístico de integración de las unidades funcionales celulares. La 3DBP busca crear materiales que imiten la MEC y proporcionen a las células el ambiente ideal para su desarrollo en la construcción de tejidos y órganos funcionales. Actualmente, existen dos formas de imitar la MEC: *scaffold* y *bioink*. Ambas dan soporte a las células durante la bioimpresión y luego se degradan para dar lugar a la proliferación de las células y formación del tejido (Hözl, Lin, Tytgat, Vlierberghe, Gu y Ovsianikov, 2016). De esta manera, la bioimpresión asegura que la aceptación del implante en el cuerpo sea satisfactoria y no ocurra ningún daño o efecto secundario.

3. Formas de imitar la matriz extracelular

3.1. *Scaffold* o andamio de tejidos

Los andamios son estructuras que se diseñan para imitar la MEC provocando interacciones celulares deseables y contribuyendo a la formación de nuevos tejidos funcionales como los huesos. Para lograrlo, se fabrica una estructura biodegradable, biocompatible y bioabsorbible (normalmente con hidrogeles) del orden de los micrómetros, con suficientes poros donde se depositan las células posteriormente (figura 1).

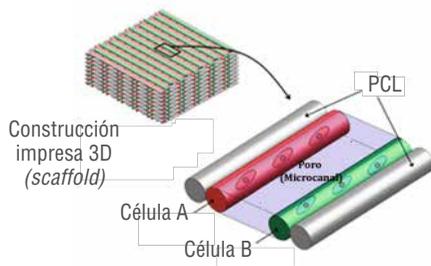


Figura 1. Estructura de un andamio de tejidos.
Fuente: Kang, Lee, Ko, Kengla, Yoo y Atala (2016).

Para la construcción de un *scaffold*, se requiere un material biodegradable y biocompatible que pueda ser absorbido por los tejidos circundantes. Asimismo, debe tener una gran cantidad de poros del tamaño adecuado para facilitar la siembra de las células y los nutrientes. Los poros deben tener un área de superficie grande para favorecer la unión y el crecimiento de las células, un volumen considerable para acomodar un número suficiente de células y una alta porosidad para facilitar la difusión de nutrientes (Murphy y Atala, 2014).

3.2. Bioink

Al igual que los andamios, los *bioink*³ imitan la MEC, pero en lugar de estructuras sólidas, son una solución de células de prepolímero de hidrogel y tienen la capacidad de depositarse como filamentos durante el proceso de fabricación aditiva. Para su creación, se extraen células madre de biopsias de pacientes y se cultivan en un medio de crecimiento para que se multipliquen. Una vez son suficientes, se agrupan en esferas y se cargan a un cartucho para crear el *bioink*. Estos materiales deben cumplir las siguientes características para que la impresión sea adecuada:

³ Dependiendo del diseño del hidrogel, existen dos tipos: basados en polímeros naturales (gelatina, colágeno, laminina y fibronectina) y basados en polímeros sintéticos (más control en las propiedades mecánicas) (Mandrycky et ál., 2015).

Reticulabilidad y capacidad de impresión: es la relación entre bioinsumos y sustratos que da como resultado un patrón preciso y de alta calidad (Murphy y Atala, 2014).

Propiedades mecánicas: los hidrogeles deben proporcionar a las células un entorno estable para el apego. Estas propiedades incluyen tensión, tensión de corte, módulo de compresión e índice de hinchamiento de masa (Mandrycky et ál., 2015). Los tejidos dependen principalmente de sus propiedades mecánicas (Murphy y Atala, 2014).

Biocompatibilidad y controlabilidad de subproductos y degradación: se requiere que el material no sea nocivo para el crecimiento celular y proporcione un enlace adecuado con las células. El material debe tener la capacidad de degradarse o integrarse con la matriz de células sin generar residuos tóxicos o tener interacciones negativas con las células (Williams, 2008).

4. Células para bioimpresión

Otro factor importante es la proliferación de las células para formar un tejido u órgano. Al momento de seleccionar celdas para bioimpresión, se debe tener en cuenta qué tanto las células bioimpresas pueden imitar el estado fisiológico de las células *in vivo* y hasta qué punto se pueden desarrollar sus funciones *in vivo* de forma optimizada. Para la bioimpresión existen tres tipos de células:

Células diferenciadas: se especializan en llevar a cabo una determinada función y no pueden transformarse en otro tipo celular de diferente estirpe.

Células madre pluripotentes: son capaces de producir la mayor parte de los tejidos de un organismo, aunque no pueden generar un embrión.

Células madre multipotentes: solo pueden generar células de su propia capa embrionaria.

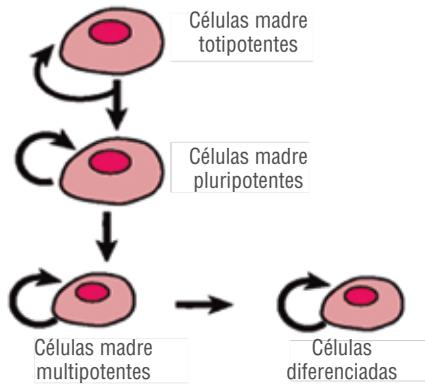


Figura 2. Tipos de células para bioimpresión.
Fuente: adaptada de Kang et ál. (2016).

5. Técnicas de diseño

Al momento de diseñar un tejido existen tres enfoques principales que determinan su desarrollo:

Biomimetismo: su objetivo principal es crear estructuras fabricadas idénticas a las estructuras naturales que se encuentran en los tejidos y órganos del cuerpo humano.

Autoensamblaje: utiliza el desarrollo de órganos embrionarios como guía; es decir, el componente celular temprano de un tejido en desarrollo sirve para que las células se autoensamblen y creen sus propios componentes de MEC.

Minitejidos: es una combinación de los enfoques anteriores. Se diseñan reproducciones precisas de alta calidad de un tejido y se les permite autoensamblarse en un tejido funcional de gran escala. Este enfoque es necesario en la fabricación de estructuras tridimensionales complejas.

6. Técnicas de bioimpresión

Existen tres técnicas principales de 3DBP, cada una con ventajas y debilidades:

6.1. Impresión de inyección de tinta

Fue la primera técnica de bioimpresión en desarrollarse (Xu et ál., 2012). Primero se encapsula una solución de prepolímero de hidrogel con células y se almacena en el cartucho de la tinta. El cartucho luego se conecta a una cabeza de impresora y actúa como la fuente de *bioink* en el control electrónico de la impresión. Durante la impresión, los cabezales de la impresora se deforman por un efecto térmico o piezoeléctrico para generar gotas de un tamaño controlable (Mandrycky et ál., 2015; Lee et ál., 2015) (figura 3).

6.2. Impresión asistida por láser

En esta técnica, el haz de luz de un rayo láser es enfocado y escaneado sobre un sustrato donante recubierto con una capa absorbente (en oro o titanio) y una capa de *bioink*. El punto focal del láser provoca la evaporación local de la capa absorbente y crea una burbuja de alta presión que propulsa pequeñas porciones de *bioink* hacia una plataforma colectora (Murphy y Atala, 2014) (figura 3). Esta tecnología puede funcionar con alta viscosidad dado que no posee cabezales; sin embargo, el calor generado por el láser conduce a una mayor tasa de células dañadas.

6.3. Impresión de extrusión

Es una modificación de la impresión de inyección de tinta que solventa el problema de imprimir materiales viscosos. Para lograrlo utiliza una bomba de fuerza de aire o un émbolo de tornillo mecánico para dispensar *bioinks* aplicando una fuerza continua. Puede imprimir líneas cilíndricas sin interrupción

en lugar de una sola gota (figura 3). Aunque se considera la técnica más adoptada hasta la fecha, también enfrenta varias limitaciones debido al aumento del estrés que resulta en más lesiones celulares (Mandrycky et ál., 2015; Murphy y Atala, 2014).

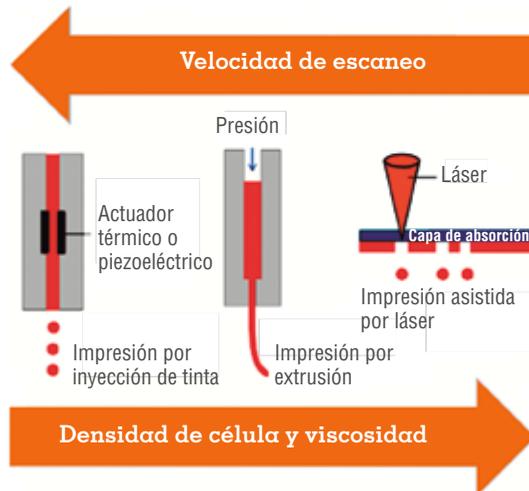


Figura 3. Técnicas de bioimpresión.
Fuente: Hölzl et ál. (2016).

Unos de los tejidos más bioimpresos en el mundo son los vasos sanguíneos. En este proceso, una estructura delgada hecha de fibras biocompatibles actúa como esqueleto de la capa de tejido que se está imprimiendo. Después, las células se depositan cuidadosamente siguiendo un patrón controlado por computadora y así nuevas capas de fibra se establecen periódicamente. Finalmente, el esqueleto de fibra se disuelve y las capas de tejido se fusionan (figura 4).

Para cualquiera de las técnicas mencionadas es importante tener un sistema de control efectivo que asegure la menor cantidad de errores durante la impresión (Mandrycky et ál., 2015). El proceso de impresión se desarrolla en los siguientes pasos (figura 5):

1. Se escoge el método de obtención de los datos para la fabricación del tejido; puede ser mediante rayos X, tomografía computarizada o imagen por resonancia magnética.
2. Los diseñadores elaboran una representación de la geometría del tejido en la computadora y verifican manualmente su factibilidad.
3. Se decide si se utilizará *scaffold* o *bioink*.
4. Los diseñadores seleccionan tipos de células e hidrogeles apropiados y cargan los biogeles en el sistema de bioimpresión.
5. Se elige el tipo de impresora.
6. Las rutas diseñadas se envían al sistema de bioimpresión a través del lenguaje de control y protocolos.
7. El sistema construye estructuras depositando *bioinks* bajo el control de una computadora.
8. Los tejidos bioimpresos se revisan manualmente mediante microscopía después de la bioimpresión.
9. Si el proceso es exitoso, se transfiere el producto a una incubadora para el cultivo.

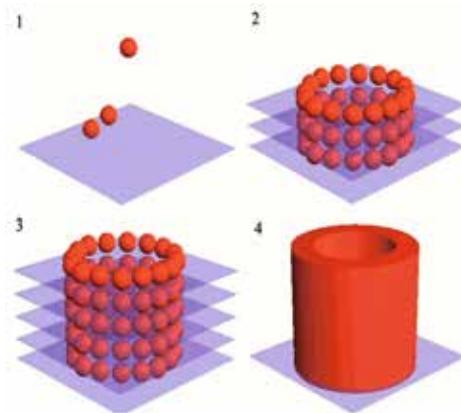


Figura 4. Proceso de fabricación aditiva de un vaso sanguíneo.
Fuente: Ozbolat, Peng y Ozbolat (2016).

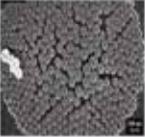
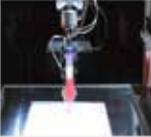
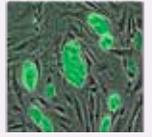
Paso 1	Paso 2	Paso 3	Paso 4	Paso 5	Paso 6
Imágenes	Enfoque de diseño	Selección de material	Selección de células	Bioimpresión	Aplicación
					
Rayos X	Biomimetismo	Polímero sintético	Células diferenciadas	Inyección de tinta	Maduración de células
					
Tomografía computarizada	Autoensamblaje	Polímero natural	Células madre pluripotentes	Microextrusión	Implantación
					
Imagen por resonancia magnética	Minitejidos	Matriz extracelular	Células madre multipotentes	Láser asistido	Evaluación <i>in vitro</i>

Figura 5. Proceso de bioimpresión.

Fuente: Murphy y Atala (2014).

7. Aplicaciones

Las aplicaciones de la 3DBP son de gran variedad en el campo de la medicina, principalmente. A pesar de las dificultades encontradas en el proceso de impresión, algunos tejidos han tenido éxito en la bioimpresión: tejido óseo, tejido cardíaco, tejido del cartílago, válvulas cardíacas, tejido hepático, tejido pulmonar, tejido neuronal, tejido del páncreas, tejido de la piel, tejido vascular y tejidos compuestos como músculos y tendones (Ozbolat et ál., 2016) (figura 6).

Con la obtención de estos tejidos es posible realizar trasplantes, un objetivo que aún no se ha logrado en humanos. Sin embargo, hasta el momento se han imprimido implantes de plástico, cerámica y metal para reemplazar tejido óseo (Ozbolat et ál., 2016). En el campo de la farmacia se han desarrollado modelos de

tejidos bioimpresos para el cribado (detección sistemática) de fármacos de alto rendimiento y se están diseñando modelos farmacocinéticos para sustituir las pruebas de productos dermatológicos en animales. La 3DBP también se utiliza en la investigación sobre el cáncer y otros modelos fisiológicos para recrear el ambiente que propicia el surgimiento de esta enfermedad y, de este modo, estudiar mejor su patogénesis y metástasis (Ozbolat et ál., 2016).

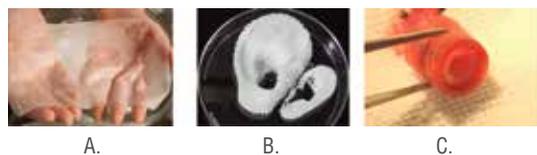


Figura 6. Tejidos bioimpresos. A: piel; B: cartílago; C: vaso sanguíneo.

Fuente: adaptada de Ozbolat et ál. (2016).

La 3DBP ha resultado ser útil en la fabricación de los denominados *lab on a chip*,

que se implantan en el cuerpo humano para monitorear y solucionar problemas existentes, y la elaboración de órganos en chip (TEDx Talks, 2017), que son un sistema de cultivo celular que simula el microambiente y los aspectos funcionales claves de órganos vivos a una escala microscópica usando principios de biomimetismo, microingeniería y tecnologías de microfluidos (Bhise et ál., 2014). Esta plataforma está diseñada principalmente para la manufactura y prueba de nuevos medicamentos, lo que contribuye a disminuir las pruebas en animales (figura 7).

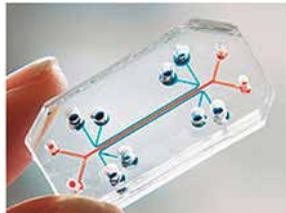


Figura 7. Órgano en chip.
Fuente: Bhise et ál. (2014).

Gracias a los proteccionistas de animales y la creciente política de protección animal, está en auge el uso de la 3DBP para la elaboración de comida bioimpresa y tejido animal. Actualmente, la empresa Modern Meadow está trabajando en la biofabricación de cuero (Modern Meadow, s. f.) y ha empezado proyectos para la fabricación de carne.

Finalmente, una de las aplicaciones más importantes es la mejora de los procesos quirúrgicos. El ingeniero especializado en Ciencias de la Vida Carsten Engel afirmó en una charla para TEDx que gracias al proceso de bioimpresión se pudo recrear el cráneo de unas siamesas unidas en esta parte. Los cirujanos pasaron horas revisando la recreación y realizaron la cirugía sobre esta simulación, de manera que la operación fue exitosa y el tiempo de cirugía se redujo notoriamente (TEDx Talks, 2014).

Por otro lado, la 3DBP ha fomentado un desarrollo acelerado en la medicina. Engel menciona que en la década de 1900 en una cirugía estaban presentes un gran número de personas entre personal médico y estudiantes y las condiciones de salubridad no eran muy buenas; en la actualidad, los protocolos de salubridad han mejorado, la tecnología aumentó y la cantidad de personal disminuyó a un grupo de máximo cinco personas. Sin embargo, se espera que en el futuro las máquinas realicen los procesos de cirugía (TEDx Talks, 2014).

8. Conclusiones

La bioimpresión es una técnica avanzada que promete grandes aplicaciones en la solución de problemas importantes para la medicina. Sin embargo, aún debe superar numerosos desafíos antes de poder ser implementada industrialmente. Los procesos de abajo hacia arriba (*bottom-up*) ofrecen mayores beneficios, ya que permiten la impresión personalizada y con mayor probabilidad de aceptación en el cuerpo. En cuanto a las formas de imitar la matriz extracelular, se prefieren los *bioinks*, que generan una buena proliferación de la células.

Existe una discusión sobre el método de bioimpresión que causa menor estrés en las células, el cual podría ser la inyección por tinta, aunque no es el más eficiente. Recientemente han surgido procesos que apuntan a resolver este debate tales como los procesos térmicos y los acústicos. En general, la bioimpresión tiene diferentes aplicaciones en la medicina, la alimentación y la tecnología. Por tal razón, es imperante dedicar esfuerzos desde la ingeniería electrónica para el diseño y mejoramiento de las técnicas de bioimpresión, los sistemas de control y la caracterización de materiales. En la actualidad, solo 17 países están trabajando

en temas relacionados con bioimpresión, entre los cuales Estados Unidos, Canadá y Alemania están a la vanguardia. Por ser una tecnología que ofrece soluciones a problemas de gran interés, es necesario que más del 8,8% de los países del mundo trabajen en su desarrollo para disminuir los costos y aumentar la cantidad de beneficiarios.

Referencias

- Abouna, G. (2008). Organ shortage crisis: problems and possible solutions. *Transplantation Proceedings*, 40(1), 34-38. DOI: <http://doi.org/fgdt4t>.
- Bhise, N., Ribas, J., Manoharan, V., Zhang, Y., Polini, A., Massa, S., . . . Khademhosseini, A. (2014). Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 190, 82-93. DOI: <http://doi.org/f6ng8m>.
- Elpaís.com. (2014, mayo 30). Cada día mueren cinco pacientes en Colombia por falta de donación de órganos. *Elpaís.com.co*. Consultado en <http://bit.ly/2kt1NSw>.
- Hözl, K., Lin, S., Tytgat, L., Vlierberghe, S., Gu, L. y Ovsianikov, A. (2016). Bioink properties before, during and after 3D bioprinting. *Biofabrication*, 8(3).
- Kang, H., Lee, S., Ko, I., Kengla, C., Yoo, J. y Atala, A. (2016). A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nature Biotechnology*, 34(3), 312-319.
- Lee, V., Dias, A., Ozturk, M., Chen, K., Tricomi, B., Corr, D., . . . Dai, G. (2015). 3D bioprinting and 3D imaging for stem cell engineering. En K. Turksen (Eds.), *Bioprinting in Regenerative Medicine. Stem Cell Biology and Regenerative Medicine* (pp. 33-66). Cham: Springer.
- Mandrycky, C., Wang, Z., Kim, K. y Kim, D. (2016). 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnology Advances*, 34(4), 422-434. DOI: <http://doi.org/gctr3r>.
- Modern Meadow. (s. f.). Our technology. Nutley. Consultado en <http://bit.ly/2rPVsUE>.
- Murphy, S. y Atala, A. (2014). 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology*, 32(8), 773-785. DOI: <http://doi.org/f6rkgh>.
- Ozbolat, I., Peng, W. y Ozbolat, V. (2016). Application areas of 3D bioprinting. *Drug Discovery Today*, 21(8), 1257-1271. DOI: <http://doi.org/c949>.
- Shapira, A., Kim, D. y Dvir, T. (2014). Advanced micro- and nanofabrication technologies for tissue. *Biofabrication*, 6(2), 020301. DOI: <http://doi.org/c95b>.
- Sun, W. (2013, julio 11). Bio-3D printing. NSF Workshop on Frontiers of Additive Manufacturing Research and Education. Filadelfia: Drexel University.
- TEDx Talks. (2014, junio 26). 3D printing & medical applications: Carsten Engel at TEDxLiege [video de YouTube]. Consultado en <http://bit.ly/2lCLVgi>.
- TEDx Talks. (2017, noviembre 28). Órganos en un chip. Solange Massa. *Tedxjoven@RíodelaPlata* [video de YouTube]. Consultado en <http://bit.ly/2RhI9GY>.
- Xu, T., Binder, K., Albanna, M., Dice, D., Zhao, W., Yoo, J. y Atala, A. (2013). Hybrid printing of mechanically and biologically improved constructs for cartilage tissue engineering applications. *Biofabrication*, 5(1), 015001. DOI: <http://doi.org/jtw>.
- Williams, D. (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20), 2941-2953.