



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**DISEÑO E IMPRESIÓN 3D DE ANDAMIOS HÍBRIDOS DE PLA Y
PCL PARA SU APLICACIÓN EN DEFECTOS SEGMENTALES EN
FÉMUR DE RATA WISTAR**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
CIRUJANO DENTISTA**

P R E S E N T A

HERNÁNDEZ MARTINEZ JOSÉ RODRIGO

Y

ROMERO GRIFALDO GIOVANA PAMELA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. JANETH SERRANO BELLO

ASESOR: MTRO. RICARDO GAMALIEL GONZÁLEZ ANDRADE

ASESOR: MTRA. GABRIELA PAOLA DONATO MIRANDA



Ciudad de México 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatorias

Dedicatorias de Romero Grifaldo Giovana Pamela

A mis abuelos

Por ser la base de soporte en mi vida, por guiar mi camino a base de amor y ternura, y por ayudarme a ver soluciones donde no siempre las veo. Gracias por apoyarme a lo largo de toda mi carrera, y mi vida. Les agradezco por velar por mí en todo sentido. Los amaré siempre.

A mis padres

Gracias a mis padres por apoyarme en cada momento, por guiarme a través de este camino, por todo el amor incondicional que me han dado y el cual me ha ayudado a ser la persona que soy, me han dado un impulso para alcanzar cada una de mis metas.

A mi hermano

Por ser el cómplice que siempre me saca una sonrisa, por protegerme incluso cuando es tan pequeño. Se que siempre podré contar contigo y tu contarás siempre conmigo. Te amo.

A mis tíos y primos

Sería imposible no sentirme agradecido al tener una familia tan grandiosa como la que tengo, su apoyo ha sido fundamental para lograr esta meta. Gracias por todo.

A Edgar

Gracias por aparecer en mi vida y entrar en mi corazón, por contagiarme tu entusiasmo y apoyarme durante este trayecto universitario más allá de las circunstancias, problemas y dificultades que se presentaron.

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A mi Universidad, la cual me dio todo para convertirme en una profesionista. Gracias por tanta felicidad, por todos los conocimientos y experiencias.

Los recuerdos del tiempo recorrido en mis años como estudiante representan uno de mis mayores tesoros, los cuales siempre llevaré en mi corazón.

A la Dra. Janeth Serrano Bello

Por ser mi directora de tesis, agradezco la auténtica importancia y dedicación que le brindo a mi conocimiento a través de este trabajo. Por ser una excelente profesora dentro y fuera del aula, además de un gran ser humano que contribuye en la construcción de profesionistas con aquellos valores que los hacen mejores.

Al Mtro. Ricardo Gamaliel

Por la pasión que le invierte a su profesión, por contagiar a sus alumnos el amor hacia la Odontología. Agradezco el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por brindarnos su apoyo pese a las circunstancias y dificultades.

A mis amigos

Por brindarme palabras de aliento, consejos sinceros y por sus acciones encaminadas a apoyarme durante este trayecto. Nada se puede comparar con la felicidad de tener amigos como ustedes.

A Lucía Pérez Sánchez

Por encaminar este trabajo y apoyarnos durante su realización con gran esmero.

Al Laboratorio de bioingeniería de los Tejidos de la F.O UNAM

Agradezco al Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos de la FO UNAM, en especial al Dr. Marco Antonio Álvarez Pérez por su apoyo.

Unidad de Bioterio (DEPeI) FO UNAM

En especial al Sr. Juan Manuel Trejo Ramírez por su apoyo técnico en el cuidado y manejo de los animales de laboratorio.

Se agradece al proyecto DGAPA –UNAM –PAPIIT IN221020 por la beca otorgada y el financiamiento para el presente proyecto.

Este es un recordatorio de las recompensas de la perseverancia

Dedicatorias de Hernández Martínez José Rodrigo

A Dios

Dios no encuentro las palabras para agradecerte todo lo que me has brindado durante todo este tiempo, han sido 5 años de estudio en los que por momento dude de mi pero siempre fuiste mi guía me diste la fuerza, sabiduría necesaria para continuar y cumplir con esta gran carrera.

A mis padres

Quiero agradecer a dos personas fundamentales quienes desde el día que sembraron esa semilla comenzaron a preocuparse por mí. Si sería hombre o mujer, aquellas personas que hicieron de mi lo mejor hoy y siempre; me guiaron por el buen camino, cuando acertaba o cuando me equivocaba jamás dejaron de apoyarme. De darme su amor, cariño y amistad. GRACIAS, mamá y papá por todo el tiempo que me regalan, porque jamás me hizo falta nada, por sus consejos para que mis equivocaciones fueran las menos posibles. Hoy gracias a ustedes concluí esta gran etapa y su apoyo fue fundamental, no tengo manera de pagar todo lo que hicieron por mí; aquellos sacrificios por el material que ocupaba. Gracias por ser mis pilares y no dejarme solo nunca. Esto es por y para ustedes se lo merecen por hacer de mi la mejor persona.

A mi hermano

Gracias Isaac por compartir esta gran etapa a mi lado por esas alegrías y tropiezos de los cuales siempre salimos adelante, por creer en mí y tener confianza en mí como tu dentista, por ser un hombre ejemplar y por siempre impulsarme y apoyarme en cada uno de mis proyectos. Somos un gran dúo.

A mis abuelitos

Gracias abuelitos Consuelo, Patricio, Paula y Gustavo porque gracias a su cariño, guía y apoyo he llegado a realizar uno de mis anhelos más grandes de mi vida, fruto del inmenso apoyo, amor y confianza que en mi depositaron y con los cuales he

logrado terminar mis estudios profesionales que constituyen el legado más grande que pudiera recibir y por lo cual les viviré eternamente agradecido. Un abrazo hasta el cielo.

A Verónica Lilia

Gracias pingüinovia fuiste partícipe desde que entre a esta carrera, tu apoyo incondicional fue uno de los ingredientes perfectos para poder lograr y alcanzar esta dichosa y muy merecida victoria en la vida el concluir mis estudios profesionales y poder disfrutar del privilegio de ser agradecido contigo porque te preocupaste por mí en cada momento y siempre quiere lo mejor para mí. Agradezco tanto todo lo que aportaste en el desarrollo de mi carrera y en mi vida.

A mi familia materna y paterna

Me siento muy feliz de poder agradecerles la confianza que depositaron en mí, pues en ningún momento demostraron duda alguna ante mi persona, por el contrario, siempre estaban dándome palabras de aliento y cuando me sentía cansado estuvieron ahí para ayudarme a levantarme de nuevo y no desistir de mi meta trazada. Agradezco a todos los que me ayudaron de una u otra forma, porque algo bueno me quedó de todos ustedes. Los llevo en un rincón muy especial de mi corazón

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A mi alma mater quien me acogió desde que inicié en la preparatoria hasta este momento de culminar mis estudios profesionales y en mi han quedado marcadas huellas profundas de formación, trabajo, esfuerzo, dedicación y sabios consejos

A la Doctora Janeth Serrano Bello

Por ser mi directora de mi tesis, como modelo a seguir profesional y personalmente, porque el tiempo que dedica a esta investigación también es suyo, por su dedicación y trabajo, porque ha demostrado ser una excelente profesora y persona. Inspira y reconoce cada paso y cada logro, y contribuye a mi crecimiento intelectual y personal.

Al Maestro Ricardo Gamaliel

Por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por todas las lecciones brindadas dentro del aula, me siento muy afortunado de haber sido su alumno, un ejemplo a seguir profesional y personalmente por la invitación a este gran proyecto y contribuye a mi crecimiento profesional.

A Lucía Pérez Sánchez

Por su apoyo, por su comprensión y los conocimientos compartidos en este trayecto

A Manchas

Mi gran amigo gracias por estar conmigo en este logro por desvelarte cuando tenía proyectos que hacer y ser mi compañero en esta aventura.

Al Laboratorio de bioingeniería de los Tejidos de la F.O UNAM

En especial al Dr. Marco Antonio Álvarez Pérez, por su apoyo para la culminación de mis estudios profesionales.

Unidad de Bioterio (DEPeI) FO UNAM

En especial al Sr. Juan Manuel Trejo Ramírez por su apoyo técnico en el cuidado y manejo de los animales de laboratorio.

Se agradece al proyecto DGAPA –UNAM –PAPIIT IN221020 por la beca otorgada y el financiamiento para el presente proyecto.

Índice

1. Introducción	9
2. Marco Teórico	11
3. Planteamiento del problema	24
4. Justificación	25
5. Hipótesis	26
6. Objetivos	27
6.1 Objetivo General	27
6.2 Objetivos Específicos	27
7. Material y Método	28
7.1 Clasificación del tipo de estudio	28
7.2 Universo de estudio	28
7.3 Muestra	28
7.4 Criterios de selección	29
7.4.1 Criterios de inclusión	29
7.4.2 Criterios de exclusión	29
7.4.3 Criterios de eliminación	29
7.5 Material	30
7.6 Método	31
7.7 Variables	33
8. Resultados	34
8.1 Diseño del andamio	34
8.2 Preparación del andamio híbrido	39
8.3 Microtomografía Computarizada (μ CT)	42
9. Discusión	45
10. Conclusiones	48
11. Perspectivas a futuro	49
12. Referencias Bibliográficas	50

Abreviaturas y Siglas

3D: Estructura tridimensional

PLA: Ácido Poliláctico

PCL: Policaprolactona

DEPeI: División de Estudios de Posgrado e Investigación

μ CT/ micro CT: Microtomografía computarizada

FDM: Modelado por Deposición Fundida

ABS: Acrilonitrilo butadieno estireno

CSD: Defectos de tamaño crítico

mL: mililitros

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos

PGA: Ácido poliglicólico

PLGA: Ácido láctico-co-glicólico

HA: Hidroxiapatita

TCP: Fosfato tricálcico

SLUP: Salt Leaching

NaCl: Cloruro de Sodio

1. Introducción

La bioingeniería de tejidos es una rama de la Ingeniería que se dedica a restaurar las funciones biológicas mediante la combinación de principios de ingeniería y ciencias biológicas con el fin de desarrollar sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren el tejido.

La importancia del constante avance en el diseño y la fabricación de sustitutos biológicos radica en la constante necesidad de alternativas para restaurar, mantener o implementar tejidos debido a que, las técnicas tradicionales no siempre brindan la posibilidad de que la restauración sea funcional o satisfactoria.

En el Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos de la División de Estudios Posgrado e Investigación (**DEPeI**) de la Facultad de Odontología UNAM se desarrollan diferentes sustitutos biológicos, tales como los andamios, los cuales son fabricados por diferentes técnicas y materiales.

Una de las técnicas que es muy prometedora es la impresión por estructura tridimensional (**3D**), la cual, brinda la posibilidad de diseñar e imprimir andamios con medidas exactas, así como una estructura anatómica similar al tejido a reemplazar o restaurar.

Por otro lado es importante mencionar que los biomateriales con los que se fabrican los andamios deben ser biocompatibles, biodegradables y propiedades mecánicas similares al tejido de interés, permitiendo su regeneración. En muchos casos estos andamios son sembrados con células y factores de crecimiento aumentando su eficacia.

En el presente estudio se diseñaron por medio de diferentes softwares andamios con tecnología 3D para huesos largos, con estructura superficial similar al hueso cortical, los cuales se imprimieron por medio la técnica de deposición fundida, capa

por capa, con un filamento polimérico de Poliácido Láctico (**PLA**), por otro lado, con la finalidad de obtener un andamio que contara con las características de un hueso largo, se fabricaron andamios híbridos. La estructura superficial de los andamios se logró con el diseño e impresión con PLA y una estructura interna con Policaprolactona (**PCL**) al 15% por la técnica de salt leaching, es preciso mencionar que el PCL también es un material polimérico y biocompatible.

La finalidad de diseñar un andamio híbrido es poder potencializar las cualidades de cada polímero y lograr un andamio que se asemeje en características anatómicas a los huesos largos, por un lado, el PLA le da estructura y soporte al andamio semejando el hueso cortical, y por otro lado el PCL forma una estructura porosa que le da una apariencia de hueso esponjoso, sinergizando así sus propiedades logrando un sustituto óseo con características prometedoras para la bioingeniería de tejidos.

En el presente además del diseño y fabricación de los andamios híbridos se logró evaluar sus propiedades estructurales por microtomografía computarizada (**μ CT**).

2. Marco Teórico

Antecedentes

A mediados del decenio de 1980 nació el término de Bioingeniería de tejidos como una alternativa al trasplante tradicional de órganos debido a la escasez o rechazo por parte de los pacientes ⁽¹⁾. Se desarrollaron las primeras matrices o andamios de soporte en donde las células podían proliferar y formar tejidos. Las primeras matrices estaban hechas de polímeros biodegradables, mientras que en la actualidad existe una gran variedad de materiales que pueden ser utilizados para construir estos andamios ya sea solos o cargados de células o biomoléculas ⁽²⁾.

Bioingeniería de Tejidos

La Bioingeniería de tejidos es un campo de investigación interdisciplinario, que aplica tanto los principios de la ingeniería como los procesos y fenómenos de las ciencias de la vida, hacia el desarrollo de sustitutos biológicos que restauran, mantienen o mejoran la función de los tejidos ^(3, 4, 5).

De acuerdo con Paz (2015) “Es un método alternativo para la regeneración de tejidos y la restauración de la función de órganos a través de la implantación de células o tejidos cultivados fuera del cuerpo o estimulando el crecimiento celular dentro de una matriz que ha sido implantada” ⁽⁶⁾.

Las estrategias de ingeniería de tejidos generalmente se dividen en dos categorías: el uso de andamios acelulares, que dependen de la capacidad natural del cuerpo para regenerarse, orientar y direccionar el crecimiento de nuevos tejidos, y el uso de andamios sembrados con células, siendo esta última la categoría que asocia a la biología celular y la ingeniería con materiales biocompatibles⁽⁷⁾, el cual es un campo en rápido desarrollo⁽⁸⁾, que busca la combinación de andamios, células y moléculas biológicamente activas^(9, 10,11, 12), conocida como la triada de la bioingeniería de tejidos.

Este estudio está enfocado en la primera parte de la triada que es el andamio, en cuanto a su diseño.

Andamios

Son soportes o estructuras tridimensionales utilizados para la reconstrucción de defectos.

Los andamios proporcionan una plantilla que promueve la adhesión y proliferación celular, así como, la generación de matriz extracelular, restauración de vasos y tejidos como nervios, músculos y huesos, etc. ^(13,14,15).

Requerimientos en los Andamios

Existen ciertos requisitos que los andamios deben cumplir, además de ser tridimensionales, deben ser porosos y tener interconectividad entre ellos, ser biocompatibles y biodegradables, entre otras características ⁽¹⁴⁾, a continuación, se desglosan algunas de esas características:

- **Biocompatibilidad**

Es el primer criterio de cualquier andamio utilizado para bioingeniería de tejidos; las células se deben adherir, mantener su función normal y migrar hacia la superficie, eventualmente, proliferan a través del andamio antes de generar una nueva matriz.

- **Biodegradabilidad**

El objetivo de la Bioingeniería es permitir que las células del cuerpo formen tejido de interés al mismo tiempo que los andamios se degradan, con la finalidad de obtener un tejido anatómico y fisiológicamente estable.

- **Geometría del tejido**

Primero se debe definir la geometría del tejido a reconstruir para poder adaptarse de manera exacta al defecto ⁽¹⁶⁾.

- Propiedades mecánicas

Idealmente, el andamio debe tener propiedades mecánicas similares con el sitio anatómico donde va a ser implantado.

- Arquitectura del andamio

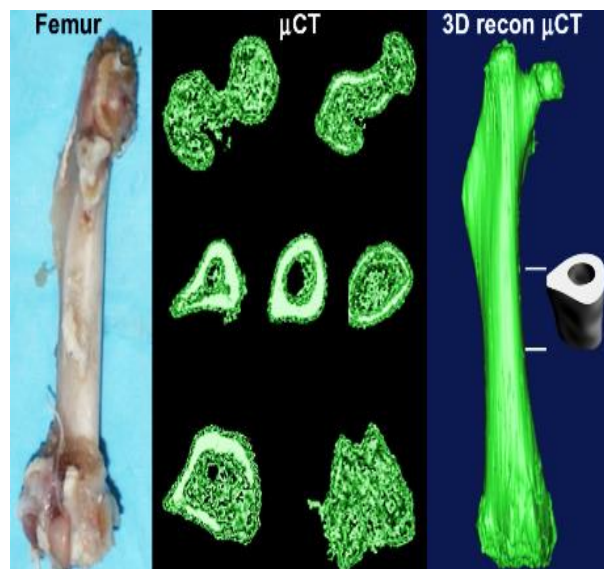
Los andamios deben tener una estructura similar a la del tejido de interés, en el caso del tejido óseo debe contar con una estructura porosa interconectada para asegurarnos de la penetración celular y la adecuada difusión de nutrientes a las células dentro de la construcción y a la matriz extracelular formada por estas células.

- Tecnología de manufactura

Debe de ser viable desde un punto de vista clínico y comercial ⁽⁷⁾.

Existen diferentes técnicas de fabricación de andamios, sin embargo una de interés para este estudio es la impresión 3D, la cual cuenta con gran potencial en la producción de andamios funcionales ⁽¹⁷⁾.

Además, es importante mencionar que los andamios 3D son diseñados con estructuras óseas anatómicamente precisas y que coinciden con el tamaño y la forma del hueso faltante (ver figura 1) ⁽¹⁸⁾.



(Figura 1) El fémur fue escaneado usando μ CT y los cortes axiales fueron utilizados para la reconstrucción femoral 3D, usando estas medidas fue fabricado un andamio de PCL e hidroxiapatita.

Tipos de Andamios

Existen diferentes formas de clasificar los andamios, una es por el origen del material del que se componen, otra es por las estrategias tomadas en la ingeniería de tejidos y por la técnica de fabricación y estructura. Entre esta clasificación, las formas más comunes son por la estrategia y por el origen del material.

Clasificación basada en las estrategias en la Ingeniería de Tejidos

La clasificación de andamios de acuerdo con las estrategias en la ingeniería de Tejidos se puede dividir en:

- Andamios acelulares
- Andamios celulares ⁽¹⁹⁾.

Los andamios acelulares generalmente se preparan fabricando andamios artificiales o eliminando componentes celulares de los tejidos mediante manipulación mecánica y química para producir matrices acelulares ricas en colágeno ⁽¹²⁾.

Mientras los andamios celulares se siembran típicamente con células y ocasionalmente con factores de crecimiento. El uso de células también se puede combinar con andamios 3D porosos que actúan como una plantilla para la formación de tejidos ⁽¹³⁾.

Las fuentes celulares utilizadas en ingeniería de tejidos incluyen: células troncales pluripotentes, células troncales adultas, células progenitoras y células de tejido adulto ya diferenciada ⁽¹⁴⁾.

Un factor muy importante tanto para los andamios acelulares como celulares es la generación de la matriz extracelular.

- Matrices

La matriz extracelular se forma en el andamio cuando ha sido colonizado por células y éstas depositan su matriz. Se considera un componente esencial para conseguir el microambiente necesario para el crecimiento celular y desarrollo de un tejido. Las funciones de una matriz extracelular ideal son ^(15, 16):

- ✓ Favorecer la adhesión celular.
- ✓ Favorecer las interacciones entre células y el medio.
- ✓ Facilitar el movimiento de los nutrientes y las sustancias de desecho a través de su estructura.
- ✓ Biocompatibles.
- ✓ No carcinogénicos y no inmunogénicos.
- ✓ Con las características mecánicas adecuadas.
- ✓ Que sea capaz de degradarse en un periodo de tiempo adecuado que permita la regeneración del tejido.

Su aplicación en el campo de la medicina abre nuevas alternativas de tratamiento para pacientes con diferentes tipos de patologías^(20, 21, 22).

Clasificación basada en el origen del material

Existen tres grupos de biomateriales utilizados para la fabricación de andamios; cerámicas, polímeros sintéticos y naturales. Cada material tiene sus ventajas y desventajas ⁽⁷⁾. En medicina los más utilizados son los materiales sintéticos y los materiales biológicos ⁽²³⁾.

- Biomateriales cerámicos

Tienen una alta rigidez mecánica, muy baja elasticidad, y una superficie dura y frágil. Sin embargo, exhiben una excelente biocompatibilidad debido a su similitud química y estructural con la fase mineral de hueso nativo.

Un ejemplo de los biomateriales cerámicos es la Hidroxiapatita (**HA**), componente primario del hueso, que entre sus características sobresale la dificultad para controlar su tasa de degradación ⁽⁷⁾.

- Biomateriales biológicos o naturales

Se obtienen de la naturaleza; sean de origen mineral, vegetal o animal como el colágeno, la fibrina, la agarosa, el quitosán, el alginato, etc. ⁽²⁴⁾.

Promueven una excelente adhesión celular y crecimiento. Son biodegradables, y permiten a las células producir su propia matriz extracelular y reemplazar al andamio degradado. Sin embargo, fabricar andamios de materiales naturales con estructuras homogéneas y reproducibles representa un reto. Por último, se puede mencionar que generalmente tienen deficientes propiedades mecánicas.

Aunque generalmente no se use para la regeneración de tejidos blandos, ha habido un uso generalizado por los andamios de cerámica, tanto como de hidroxiapatita y fosfato tricálcico (**TCP**) para aplicaciones de regeneración ósea ⁽⁷⁾.

- Biomateriales sintéticos

Se producen en laboratorio mediante procesos industriales; entre estos destacan los polímeros, los metales, los de origen cerámico y los nanocomposites.

Han sido usados en el intento de producir andamios, que incluyen poliestireno, PLA, ácido poliglicólico (**PGA**) y ácido poli-dl-láctico-co-glicólico (**PLGA**). Han tenido mucho éxito, ya que pueden fabricarse con arquitectura personalizada y sus características de degradación son controladas variando el mismo polímero o la composición del polímero individual ⁽²⁵⁾.

Los polímeros de curado por fusión, que generalmente son mecánicamente robustos y duraderos, se pueden usar como soporte estructural en la ingeniería de

tejidos debido a su bajo punto de fusión (60°C) en comparación con otros materiales de curado por fusión ⁽²⁶⁾.

Los polímeros sintéticos bioabsorbibles son utilizados en el campo biomédico, ya que tienen la capacidad de degradarse, debido a reacciones de hidrólisis en condiciones fisiológicas dentro del cuerpo humano, después de cierto tiempo de ser implantados dan lugar a productos que no son tóxicos y que pueden ser eliminados por el organismo o metabolizados por éste ⁽¹⁷⁾.

En este trabajo se desarrollaron andamios de PLA y PCL, materiales sintéticos, los cuales describiremos a continuación;

Ácido poliláctico

Algunas de las propiedades físicas y químicas del PLA están resumidas en el siguiente cuadro ⁽²²⁾.

Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas del PLA

Propiedades	PLA
Solubilidad	Es soluble en benceno, cloroformo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, dioxano, etc. Pero insoluble en etanol, metanol, e hidrocarburos alifáticos.
Estructura cristalina	Hemicristalino
Temperatura de fusión TM/°C	~180
Temperatura de transición del vidrio (Tg)/°C	55-60
Temperatura de descomposición	~200
Alargamiento a la rotura/ (%)	20-30
Fuerza de rotura / (g/d)	5.0-6.0
Vida media en 37°C (solución salina normal)	4-6 meses

Policaprolactona

La poli(ϵ -caprolactona) es un polímero semicristalino, biocompatible, biodegradable con buenas propiedades mecánicas, fácil de procesar, compatible tanto con tejidos duros como blandos y aceptado por la Administración de Medicamentos y Alimentos (**FDA**). Sin embargo, su hidrofobicidad limita la adhesión y proliferación celular. Con la finalidad de modificar sus propiedades superficiales se mezcla con polímeros hidrofílicos materiales naturales que facilitan la adhesión celular, el incremento en las propiedades mecánicas y térmicas de las membranas basados en la PCL ⁽¹⁹⁾.

Éstos dos últimos materiales, se están estudiando en bioingeniería de tejidos para resolver defectos óseos, en el presente estudio se emplearon de manera conjunta, por medio de dos técnicas que se detallan a continuación.

Impresión 3D

La impresión 3D es un conjunto de procesos usados para realizar un objeto físico tridimensional. Esto se realiza mediante la aplicación capa por capa de un material sólido a temperatura ambiente, con un punto de fusión conocido controlado por un sistema computarizado para crear dicho objeto ⁽²⁷⁾. En la actualidad existen diferentes técnicas de bioimpresión, las más utilizadas son; la bioimpresión con chorro de tinta, la bioimpresión asistida por láser y la bioimpresión por extrusión que es la más común y utilizada en investigación en bioimpresión ⁽²⁸⁾. En este trabajo hablaremos del modelado por deposición fundida.

El método Modelado por Deposición Fundida, o más conocido como **FDM** (Fused Deposition Modeling), es una técnica de tecnología de manufactura por adición de capas que produce piezas y partes con geometrías complejas mediante la extrusión y deposición de un material fundido, normalmente acrilonitrilo butadieno estireno (**ABS**) o PLA. El material de impresión que se encuentra inicialmente en forma de filamento se obliga a pasar por una boquilla que se encuentra a altas temperaturas, en donde se funde para luego ser depositado en una plataforma. Por medio de movimientos rectilíneos en un plano, el material va generando la forma de la pieza. Cada pasada corresponde a una línea de material depositado, que se vincula a otra adyacente mediante la energía térmica del material semifundido ⁽²⁹⁾. Además, se encuentra un ventilador al final de la boquilla, que controla la velocidad de solidificación del material fundido ⁽³⁰⁾.

El FDM es un método ideal debido a su versatilidad con el uso de diferentes materiales ⁽³¹⁾. Sin embargo, la limitación de FDM radica en la mala elección de los materiales de impresión. Solo los materiales termoplásticos pueden fabricarse mediante este método (Ver cuadro 2) ⁽³²⁾.

Cuadro 2. Procesos de impresión de los materiales termoplásticos

Forma	Materiales de impresión	Procesos de impresión 3D adecuados
Filamento no quebradizo	Termoplásticos, p. Ej., ABS, PLA y PCL.	Modelado por deposición Fundida

Esta tecnología necesita soportes que se realizan en el mismo material y por tanto son tan resistentes como la propia pieza, posteriormente estos soportes deben ser eliminados dejando marcas visibles ⁽³³⁾. Por otro lado, esta tecnología es muy lenta, lo que penaliza mucho su productividad ⁽³⁴⁾.

Técnica de Salt Leaching

Se denomina **Salt Leaching-SLUP** (lixiviación de sal con polvo) y es una técnica novedosa para fabricar andamios ⁽³⁵⁾.

La técnica consiste colocar un polímero (en el presente estudio se utilizó el PCL), el cual es mezclado con un compuesto porógeno que debe ser soluble en agua como el Cloruro de Sodio (**NaCl**). Una vez mezclado es colocado mediante presión manual en el molde deseado. Ya endurecido, la sal se elimina mediante un solvente volátil como el alcohol ⁽³⁶⁾.

Esta técnica surge como una alternativa a las desventajas que presentaban otras técnicas para la fabricación de andamios poliméricos. La técnica SLUP remarca notables ventajas, entre estas debemos mencionar que se puede controlar el tamaño de los poros y proporciona una interconectividad de poros ⁽³⁷⁾.

Como fue abordado en los requerimientos arquitectónicos de los andamios, el andamio debe contar con una estructura porosa interconectada para asegurar la penetración celular y la adecuada difusión de nutrientes a las células y a la matriz

extracelular. Es por lo que la técnica SLUP es la técnica ideal para semejar la porosidad del hueso esponjoso en los andamios del presente trabajo.

La importancia de realizar un andamio híbrido de un hueso largo es poder diseñar un constructo que cuente con los diferentes componentes óseos, es decir, que cuente con una estructura cortical y trabecular, para que en un futuro se puedan hacer evaluaciones a mayor profundidad, tales como; comportamiento mecánico, adhesión y proliferación celular, etc. Esto con el objetivo de poder regenerar defectos óseos en lugares donde la carga mecánica es importante, como en el caso del hueso fémur.

A continuación, se explica de manera detallada, que es un defecto óseo para comprender con precisión por qué es importante su regeneración.

Defectos óseos

Un defecto óseo, por definición, es la falta de tejido óseo en un área del cuerpo donde normalmente debería estar ⁽³⁸⁾.

Hoy en día, los defectos óseos representan uno de los casos de mayor impacto en la salud debido a la frecuencia con que éstos ocurren a causa de traumatismos, fracturas, enfermedades congénitas o degenerativas ⁽³⁹⁾. Sin importar su causa, los defectos óseos son funcionalmente debilitantes, socialmente incapacitantes y, biomédica y económicamente complejos.

La dependencia tradicional de tejidos donados y órganos para trasplantes enfrentan el problema de la escasez de donantes y el posible rechazo inmunológico. La escasez de tejidos y órganos ha sido identificada como uno de los principales problemas de salud pública ⁽⁴⁰⁾. Frente a estas necesidades la Ingeniería Tisular emerge como una alternativa dando origen a la Medicina Regenerativa ⁽⁴¹⁾.

Defectos de tamaño crítico

Por definición clásica, un defecto óseo de tamaño crítico es aquel que no se resuelve de manera espontánea durante la vida natural de un animal ⁽⁴²⁾.

Actualmente se utilizan diferentes animales para simular la reacción del organismo mamífero frente a nuevos tratamientos experimentales, uno de estos animales son las ratas *Wistar*.

La razón por la que se ocupan estos roedores es porque anatómicamente, muchas áreas del esqueleto de las ratas pueden servir como sitios receptores de defectos de tamaño crítico, incluidos los fémures, la columna vertebral, la mandíbula y la calvaria ⁽⁴³⁾.

Un defecto crítico consistente y reproducible en ratas consta de una ostectomía diafisaria de 5mm en el fémur de rata ⁽⁴⁴⁾. Es por lo que en el presente trabajo se diseñaron andamios a partir de este defecto.

3. Planteamiento del problema

En la actualidad la bioingeniería de tejidos tiene como objetivo restaurar la funcionalidad de los tejidos dañados o perdidos por alguna enfermedad, trauma o malformación congénita, por medio de la fabricación de andamios que imiten la estructura anatómica y superficial del tejido de interés. En el caso de los defectos óseos de cabeza y cuello es un gran reto diseñar un constructo que soporte las cargas mecánicas, pero, además, que permita el paso de nutrientes, adhesión y proliferación celular, con la finalidad de regenerar los defectos de una manera más rápida y eficiente. Por tal motivo surge la siguiente pregunta de investigación: ¿El diseño e impresión 3D del andamio, asemejará las características anatómicas y estructurales de un hueso fémur de rata *Wistar*?

4. Justificación

La regeneración de tejido óseo de cabeza y cuello es una alternativa innovadora que emerge ante la imposibilidad de restaurar satisfactoriamente el tejido mediante las técnicas tradicionales. Múltiples pacientes con defectos óseos críticos, como, por ejemplo; pacientes que han sufrido graves accidentes o pacientes con cáncer de cabeza y cuello avanzado que tienen grandes zonas de necrosis, las cuales deben ser removidas. Estos pacientes no tienen la comodidad para desarrollar su vida y deben cargar con las limitaciones funcionales.

Por tal motivo la ingeniería de tejidos busca desarrollar andamios híbridos que cumplan con características prometedoras, por un lado, tener una estructura que imite la parte cortical de hueso mediante biomateriales termoplásticos como el PLA, por técnica de impresión 3D, los cuales sean diseñados a la medida, con la finalidad de realizar tratamientos personalizados, en cuanto a tamaño y forma, y por otra parte el empleo de polímeros como la PCL, por la técnica de Salt leaching que imite la porosidad y estructura del hueso poroso.

Ambos polímeros cumplen los parámetros adecuados de biocompatibilidad, biodegradabilidad, comportamiento mecánico y relación costo/beneficio, por tal motivo si se logra diseñar andamios híbridos a la medida con la finalidad de sinergizar sus propiedades, se podrán obtener andamios prometedores para la regeneración ósea. Para lo cual un buen modelo para el diseño de andamios es el fémur de rata, por su posición y tamaño.

5. Hipótesis

Los andamios híbridos de PLA-PCL presentan semejanza anatómica y estructural a un segmento de diáfisis de hueso fémur de rata *Wistar*.

6. Objetivos

6.1 Objetivo General

Diseñar un andamio híbrido, que se asemeje anatómicamente y estructuralmente a un segmento de diáfisis de hueso fémur de ratas *Wistar*.

6.2 Objetivos Específicos

- 1.- Diseñar un andamio a partir de una imagen por microCT
- 2.- Desarrollar un andamio híbrido a partir de PLA impreso en 3D y PCL/Salt leaching
- 3.- Evaluar las características de andamio híbrido por medio de microCT.

7. Material y Método

7.1 Clasificación del tipo de estudio

El tipo de estudio: experimental, prospectivo y longitudinal.

7.2 Universo de estudio

- 26 andamios de PLA impresos 3D (de 5.0x7.8x7.3mm)
- 26 andamios híbridos de PLA y PCL (de 5.0x7.8x7.3mm)

7.3 Muestra

Por conveniencia para este trabajo se emplearon 52 andamios impresos 3D, de los mencionados 26 fueron impresos de filamentos de PLA y 26 fueron híbridos, es decir, impresos 3D con PLA y con PCL depositado manualmente en su interior. Ambos grupos se dividieron de la siguiente forma; 20 andamios fueron destinados para realizar pruebas mecánicas, 3 para su evaluación de la estructura superficial por medio de microscopia electrónica de barrido y 3 para su evaluación por μ CT. (Sin embargo, estas pruebas no se realizaron por la contingencia Covid-19, pero se espera su evaluación a futuro).

7.4 Criterios de selección

7.4.1 Criterios de inclusión

Andamios híbridos sintetizados bajo las mismas condiciones.

7.4.2 Criterios de exclusión

Se considerará a toda aquella muestra que no tenga la concentración de material y tamaño requerido.

7.4.3 Criterios de eliminación

Andamios dañados o fracturados.

7.5 Material

<i>Equipo</i>	<i>Insumos</i>	<i>Recursos Humanos</i>	<i>Recursos Financieros</i>	<i>Infraestructura</i>	
μPET/SPECT/CT (Albira 2009)	Vasos recolectores para muestras clínicas	Formol al 10%	Romero Grifaldo Giovana Pamela	Línea de investigación del Dr. Marco Antonio Álvarez Pérez	Bioterio de la Facultad de Odontología DEPEl, UNAM.
Computadora	Guantes	Filamento de PLA para impresora 3D transparente	José Rodrigo Hernández Martínez	Línea de investigación de la Dra. Janeth Serrano Bello (DGAPA-UNAM-PAPIT-IN221020).	Instituto Nacional de Cancerología, Laboratorio de Física Médica (INCan).
Impresora 3D	PCL al 15%	Cloroformo	Dra. Janeth Serrano Bello (directora)		Instituto de Física, UNAM
Balanza analítica	Frasco ámbar	Cloruro de sodio	Mtro. Ricardo Gamaliel Andrade (asesor)		Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos DEPEl, UNAM.
Maquina Universal para pruebas mecánicas Instron	Parafilm	Alcohol etílico al 100%	Mtra. Gabriela Paola Donato Miranda (asesora)		
	Agua bidestilada	Vernier	Lucía Pérez Sánchez		.
Micromotor	Suero Fisiológico	Fresas quirúrgicas	Misael Aarón Ortiz de la O		
Calculadora científica	Campos	Espatula 7A	María Fernanda Ramírez Ruíz.		
Horno de secado	Cuádruple				

7.6 Método

PRIMERA FASE (Diseño)

Diseño de andamios de PLA por medio de impresión 3D

Se tomó un CT del hueso fémur derecho de rata *Wistar*, mediante el μ PET/SPECT/CT (Albira 2009). El andamio se diseñó traspasando las imágenes obtenidas de la microtomografía computarizada a la computadora donde se modificaron en una herramienta de software para modelado en tres dimensiones *Rhino* de acuerdo con las medidas del defecto segmental inducido mediante el software Meshmixer se verificaron los bordes internos y externos del andamio. La impresión del andamio se llevó a cabo utilizando el software de impresión 3D *Ultimaker Cura*, en el cual se modificaron los parámetros de impresión y se imprimió el andamio de filamento de PLA en la impresora 3D.

SEGUNDA FASE (Preparación del andamio híbrido)

Elaboración de andamios híbridos

Se mezclaron en el agitador magnético 2.63g de PCL y 10 mL. de cloroformo por 24 horas., hasta conseguir una solución viscosa. De esta solución se pesaron 3.5g y se mezclaron manualmente con 7g de cloruro de sodio, hasta conseguir una pasta uniforme. Al andamio de PLA obtenido mediante impresión 3D se le colocó una cubierta de Parafilm en uno de los extremos y se introdujo la pasta con ayuda de una espátula 7A y un cuádruple, cubriendo de manera uniforme la parte media del andamio. Los andamios se colocaron 30 minutos. en etanol, y se les realizaron

lavados en agua bidestilada cada 24 horas por 5 días. Finalmente se colocaron en un horno de calor para su secado.

Evaluación de estructura por μ CT

Se evaluó la estructura en 3D de los andamios de PLA e híbrido por imágenes microtomográficas. Para el diseño del andamio se tomó un μ CT del hueso fémur derecho de rata macho *Wistar* de 250 g, mediante el μ PET/SPECT/CT (Albira 2009) en el Laboratorio de Física Médica e Imagen Molecular del Instituto Nacional de Cancerología.

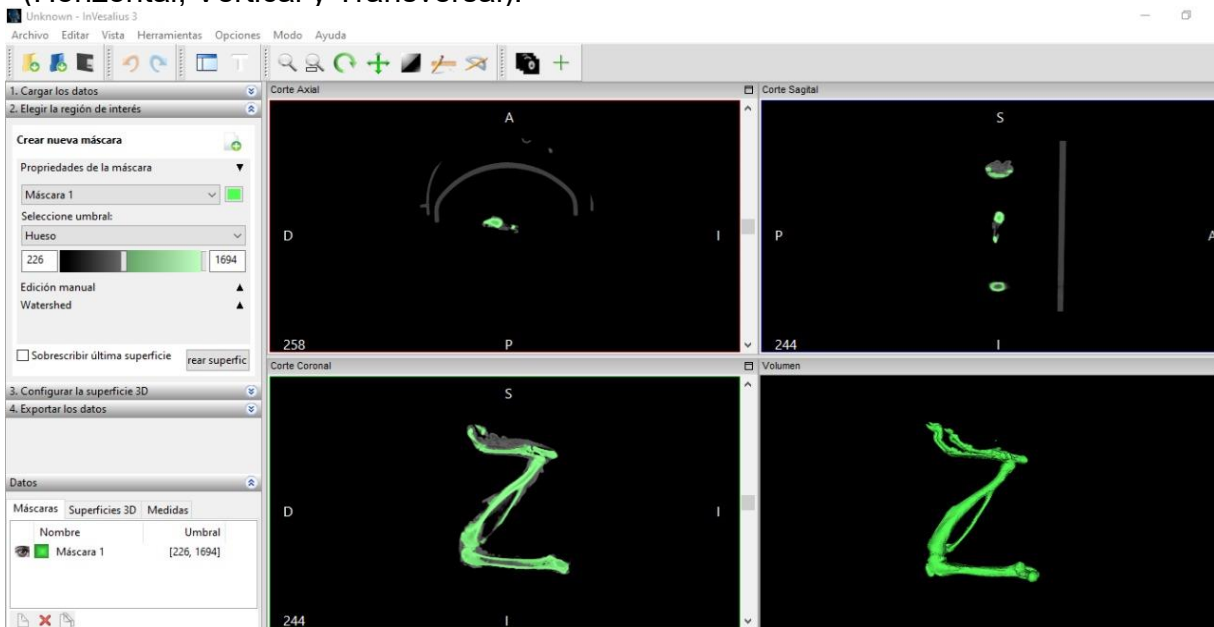
7.7 Variables

<i>Variables dependientes</i>		
Variable	Definición operacional	Escala de medición
MicroCT	Evaluación de la estructura en 3D de los andamios de PLA e híbrido por imágenes microtomográficas.	Cualitativa
<i>Variables independientes</i>		
Variable	Definición operacional	Escala de medición
Andamios impresos en 3D de PLA	Estructuras tridimensionales impresas en 3D mediante filamentos de PLA	Cualitativa
Andamios híbridos de PLA/PCL	Estructuras tridimensionales impresas en 3D mediante filamentos de PLA y PCL depositado en su interior.	Cualitativa

8. Resultados

8.1 Diseño del andamio

Para el diseño del andamio se tomó un μ CT del hueso fémur derecho de rata macho *Wistar* de 250 g, mediante el μ PET/SPECT/CT (Albira 2009) en el Instituto Nacional de Cancerología; el cual se puede observar en la figura 2 en sus diferentes cortes (Horizontal, Vertical y Transversal).

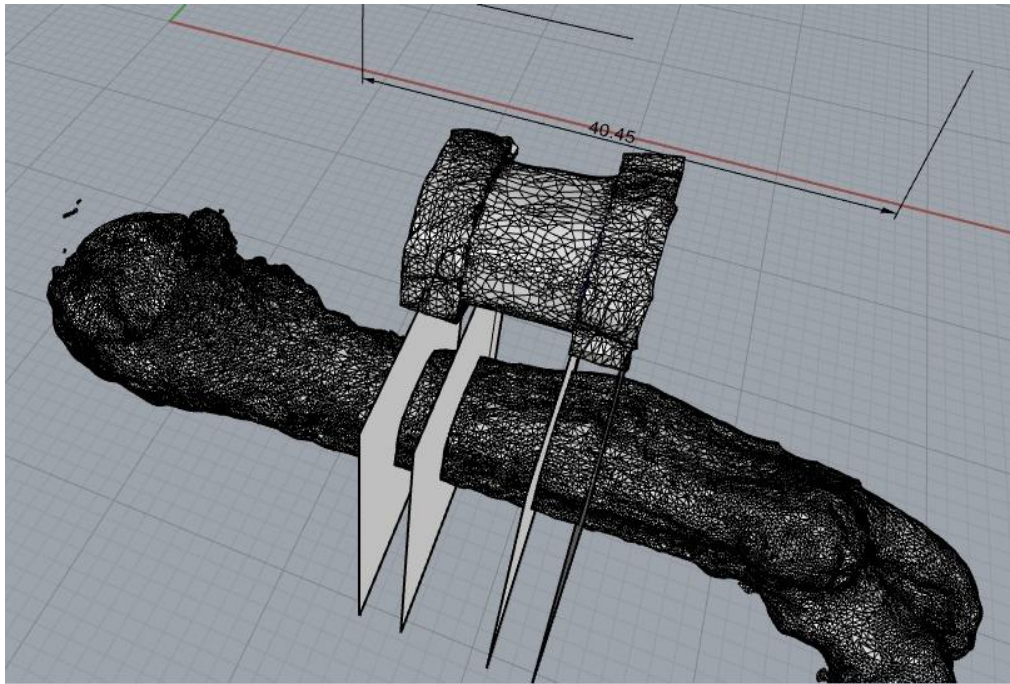


(Figura 2) Microtomografía computarizada del fémur de rata *Wistar* tomada en el Instituto Nacional de Cancerología

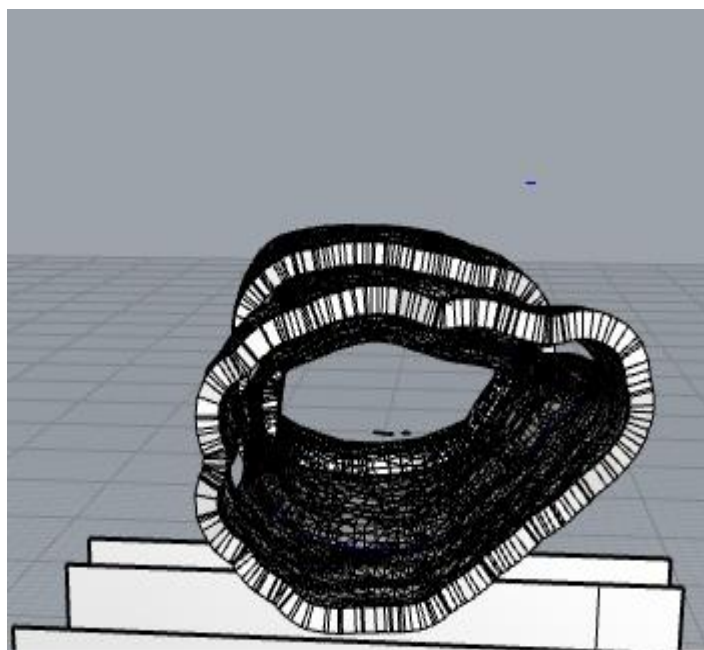
Se traspaso la imagen de la tomografía computarizada a la computadora mediante un disco duro USB extraíble, se abrió el formato de archivo tridimensional en el software de modelado *Rinho* realizando dos cortes transversales de 5 mm entre ellos (ver figura 3).

El segmento cortado se utilizó en el programa con el fin de suplantar el defecto óseo generando dos muescas para mayor soporte en el borde del fémur; dicho modelo se puede observar en 3 dimensiones mediante el modelado *Rinho* (ver figura 4).

El segmento cortado se utilizó en el programa con el fin de suplantar el defecto óseo, generando dos muescas para mayor soporte en el borde del fémur. Este modelo se puede observar en 3 dimensiones mediante el modelado Rhino (ver figura 4).

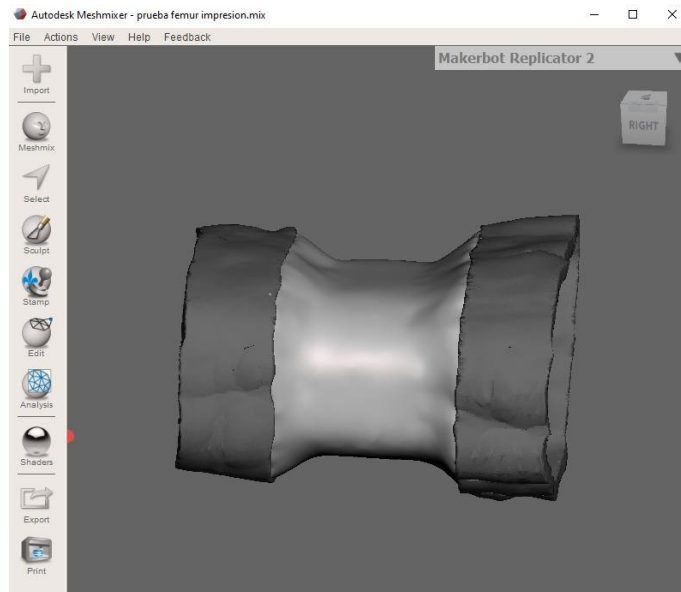


(Figura 3) se observa el diseño en 3 dimensiones mediante el software de modelado *Rhino*



(Figura 4) se observa el diseño en 3 dimensiones mediante el software de modelado *Rhino*

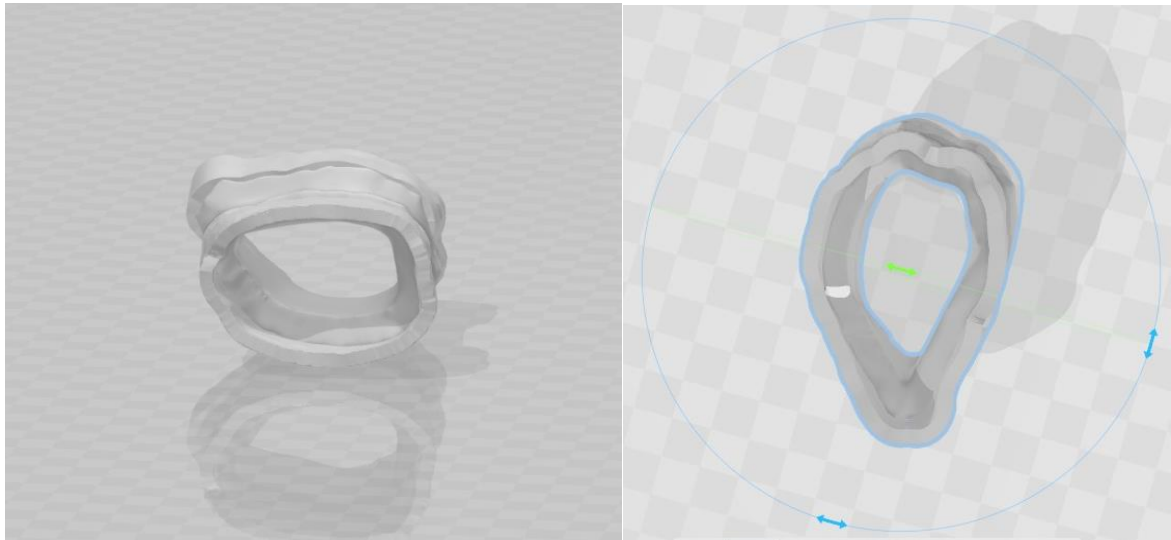
La rectificación del diseño se hizo mediante el software *Meshmixer* (Ver figura 5) con las herramientas sculpt>brushes dando una textura lisa y uniforme para evitar que presentara relleno o irregularidades en los bordes.



(Figura 5) Rectificación de bordes mediante el software Meshmixer

Una vez rectificado el diseño se envió al software de impresión 3D *Ultimaker Cura* dividido en tres partes las cuales se ubicaron tridimensionalmente para que congeniaran y se pudiera unir el andamio en su totalidad. Al final sus dimensiones fueron de 5.0x7.8x7.3mm.

Posteriormente se visualizó la forma ideal para imprimirlo, la cual fue de forma vertical, dejando la muesca más ancha más cercana al material de sacrificio (ver figura 6).



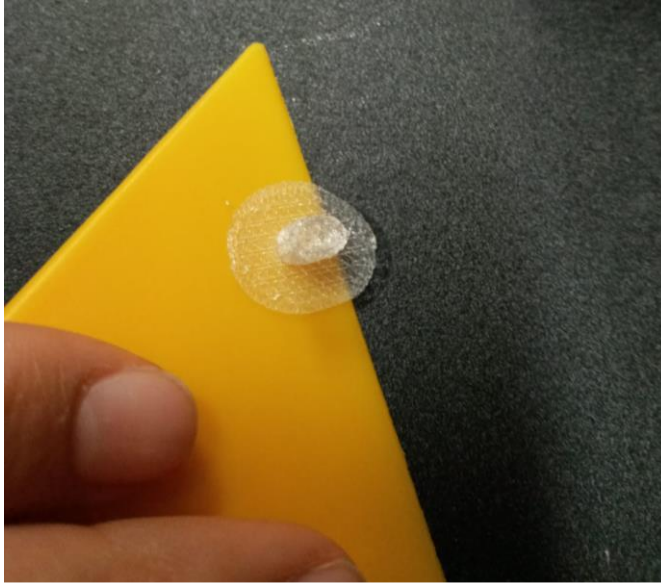
(Figura 6) Impresión del andamio mediante el software de impresión 3D *Ultimaker Cura* en vista horizontal y vista vertical.

Se imprimió el andamio por modelado por deposición fundida FDM mediante el material termoplástico PLA, el cual fue agregado por capas hasta su totalidad (ver figura 7 y 8).

Se retiró el material de sacrificio mediante un micromotor de baja velocidad y una fresa de bola de carburo manteniendo la estructura del andamio.



(Figura 7) Andamio impreso mediante modelado por deposición fundida del material termoplástico PLA transparente.



(Figura 8) Retirado del andamio de la cama caliente de la impresora 3D

El resultado final del andamio se puede observar la figura 9 conservando su estructura, sin relleno, sin bordes irregulares, cortes definidos en horizontal y vertical y con una porosidad que puede ser útil para su uso.



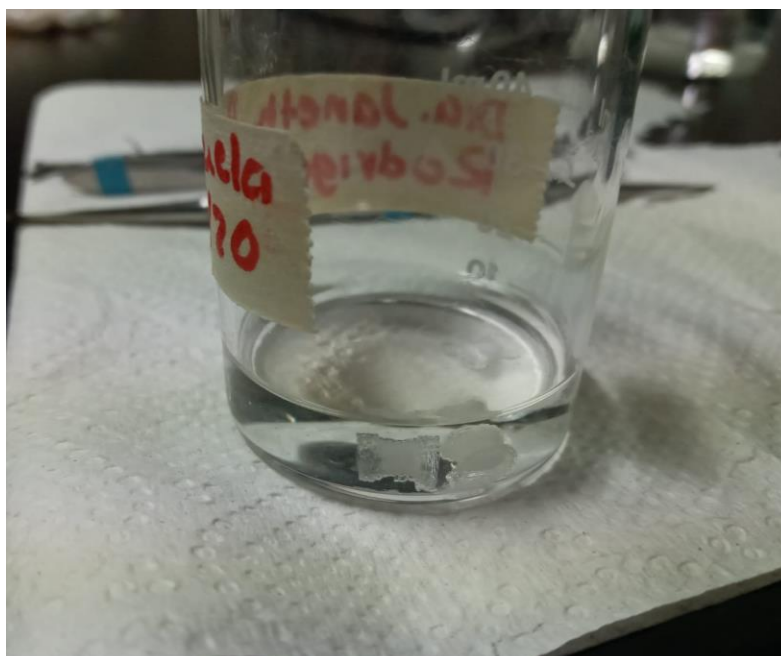
(Figura 9) Se observa un andamio e impreso 3D con filamento de PLA transparente.

8.2 Preparación del andamio híbrido

La preparación del andamio se realizó mediante la técnica **SLUP**.

Se mezclaron en el agitador magnético 2.63g de PCL y 10 mL de cloroformo por 24 horas, hasta conseguir una solución viscosa. De esta solución se pesaron 3.5g y se mezclaron manualmente con 7g de cloruro de sodio, hasta conseguir una pasta uniforme. Al andamio de PLA obtenido mediante impresión 3D se le colocó una cubierta de Parafilm en uno de los extremos y se introdujo la pasta con ayuda de una espátula 7A y un cuádruple, cubriendo de manera uniforme la parte media del andamio.

Los andamios se colocaron 30 minutos en etanol (ver figura 10) y se les realizaron lavados en agua bidestilada cada 24 horas por 5 días. Finalmente se colocaron en un horno para su secado.



(Figura 10) Lavado de los andamios caracterizados en agua bidestilada por 24 horas durante 5 días para su posterior secado.

El resultado final del andamio híbrido se puede observar la figura 11.



(Figura 11) Resultado de andamio híbrido de PLA y PCL

Ambos andamios se colocaron en huesos fémur derechos provenientes de rata macho Wistar de 250 g a los cuales se les realizó un corte de 5 mm con un micromotor de baja velocidad y fresa de carburo 701 L (ver figura 12). Posteriormente se colocaron los andamios donde fue realizado el corte. El resultado final fue que ambos congeniaron mostrando soporte y reestructura ósea (ver figura 12 y 13).



(Figura 12) Andamio de PLA y andamio híbrido de PLA y PCL junto al hueso fémur derecho.



(Figura 13) Andamio de PLA y andamio híbrido
congeniados en hueso fémur

8.3 Microtomografía Computarizada (μ CT)

Defectos inducidos

En la figura 14 se puede observar el defecto óseo inducido (ostectomía diafisaria) de 5mm en fémur de rata *Wistar*



(Figura 14) Ostectomía diafisaria en fémur

Microtomografía Computarizada del andamio de PLA

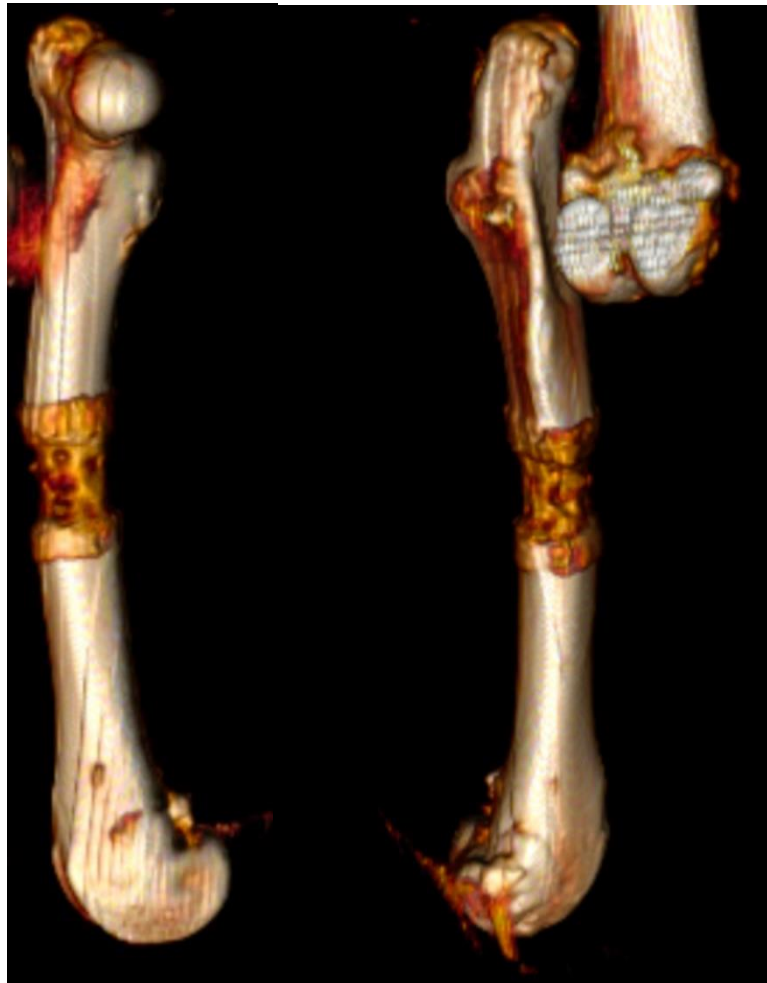
Se puede observar el defecto intraóseo el andamio de PLA ajusta forma adecuada con el hueso (ver figura 15), sin presentar irregularidades rehabilitando la estructura ósea mediante el diseño del andamio proporcionándole mayor soporte mediante las muescas y asemejando hueso cortical gracias a la porosidad del PLA igualando los canales y orificios por donde pasan los vasos sanguíneos y nervios.



(Figura 15) Andamio de PLA rehabilitando la estructura ósea.

Microtomografía Computarizada del andamio híbrido

Se puede observar el defecto intraóseo y el andamio de híbrido (PLA y PCL) ajusta forma adecuada con el hueso (ver figura 16), sin presentar irregularidades rehabilitando la estructura ósea mediante el diseño del andamio proporcionándole mayor soporte mediante las muescas y asemejando hueso esponjoso gracias a la porosidad brindada por el PLA mediante la técnica SLUP, igualando lo canales y orificios por donde pasan los vasos sanguíneos y nervios.



(Figura 16) Andamio híbrido rehabilitando la estructura ósea.

9. Discusión

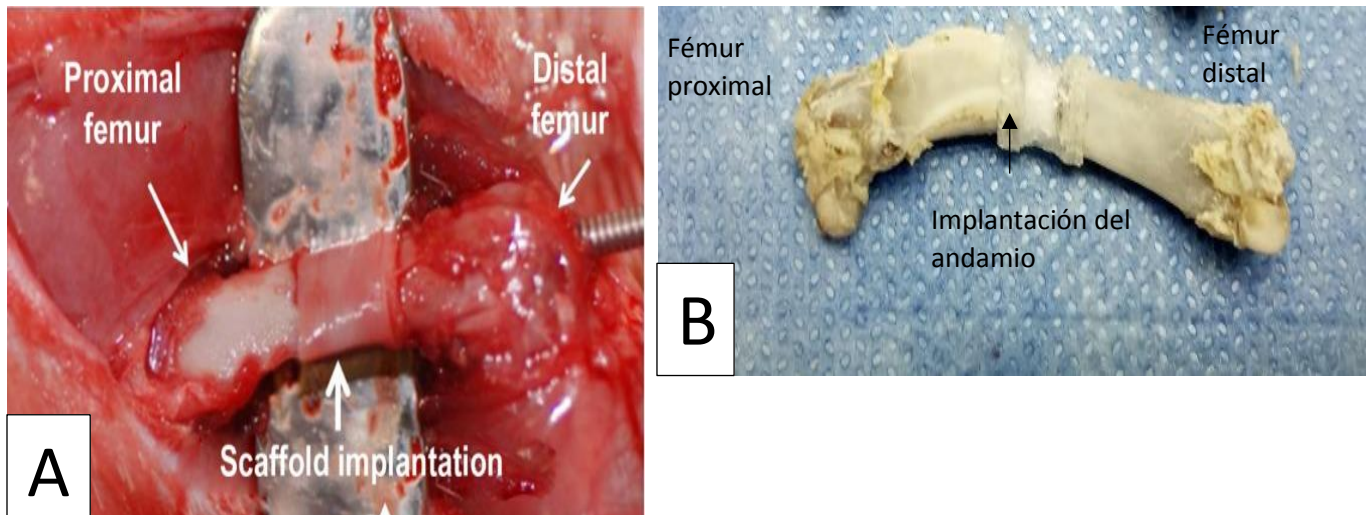
La bioingeniería de tejidos es un campo multidisciplinario que ayuda en el desarrollo de alternativas biológicas, tiene como objetivo lograr la regeneración de los tejidos de forma anatómica y fisiológica en el lugar del daño. Se han estudiado diferentes materiales para tratar la regeneración tisular. Uno de ellos es el PLA. Por sus propiedades, como la biocompatibilidad, la inducción de la adhesión y la proliferación celular es un biomaterial apto para su uso en el cuerpo humano. Y diferenciación. Las propiedades químicas del PLA permiten la hidrólisis, una vez degradados los componentes monoméricos, se eliminan por la vía natural del organismo (ciclo del ácido tricarboxílico), por lo que cuando se utilizan para defectos óseos en fémur.

Las fracturas y/o los defectos óseos (carencia de un segmento del hueso) por lo general causan un gran costo económico tanto a la sociedad como a la persona que lo padece, los periodos de tratamiento pueden llegar a ser largos y complicados.

Por ello es importante hacer estudios de nuevos materiales y tratamientos en modelos animales que disminuyan el tiempo de recuperación y que posteriormente lleven a la aplicación en humanos. Por lo que en la presente investigación se trabajó con huesos de fémur de ratas macho *Wistar*.

Al igual que la investigación de Amorosa et al. 2013, en este trabajo también se fabricó el andamio de un segmento de 5 mm de la diáfisis del hueso fémur derecho de rata macho *Wistar* constituido de 80% de PLA Y 20% PCL, sólo se diferenció en la fabricación de su andamio ellos agregaron hidroxiapatita.

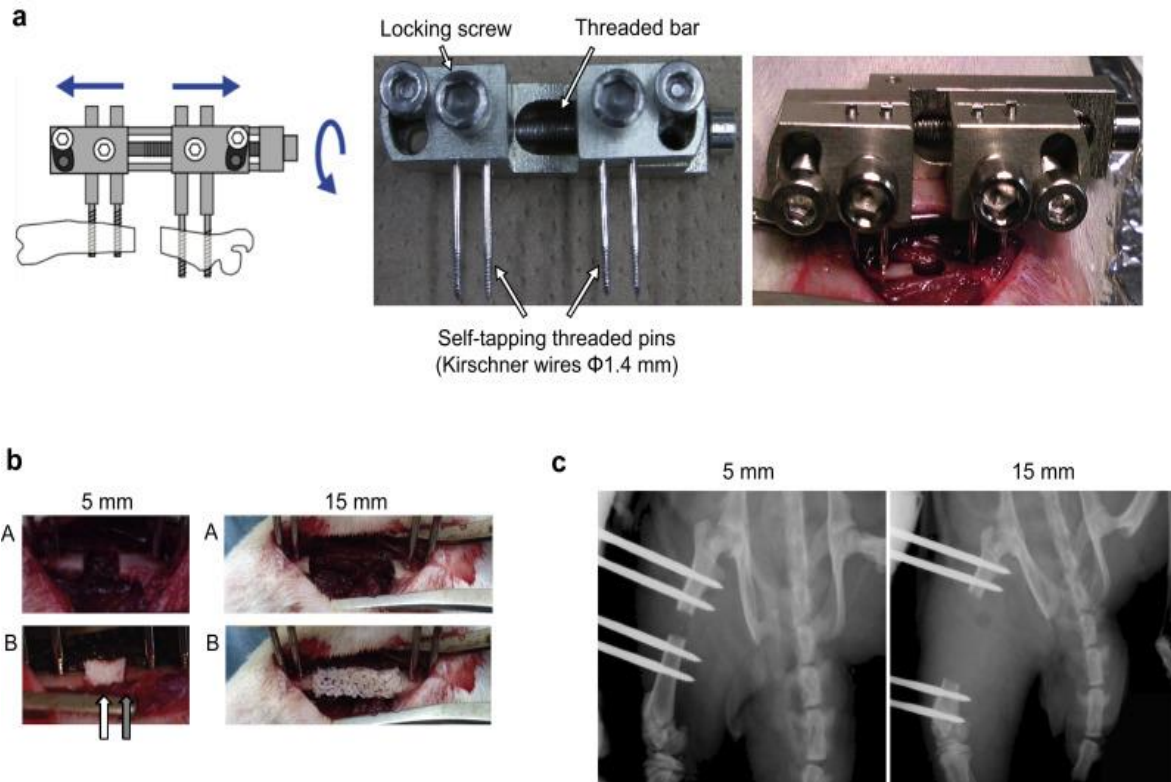
De acuerdo con el diseño de su andamio, utilizaron un segmento de hueso tomado por μ CT para fabricar un andamio 3D, el cual fue sujetado mediante una aguja de Kirschner para mantener fijos los fragmentos óseos y el andamio. De forma contraria nuestro andamio sujetaba y mantenía fijos los fragmentos óseos mediante las muescas laterales diseñadas mediante el programa *Rhino* (ver figura 17).



(Figura 17) En la imagen A se observa el andamio de Amorosa y colaboradores implantados mediante una aguja de Kirschner y en la imagen B el andamio diseñado en este trabajo sostenido por muescas laterales

Noriko Harada et al. 2014, por su parte realizaron un andamio de PLGA, el cual implantaron en ratas *Fisher* que tenían defectos de 5 y 15mm en fémur izquierdo (Ver figura 18).

Este andamio también se colocó y estabilizó mediante cuatro agujas Kirschner de forma proximal y distal mediante un fijador externo ⁽⁴⁵⁾.



(Figura 18) En la imagen A se observa el sujetador externo y las cuatro agujas Kirschner de forma proximal y distal, mientras que en la imagen B observamos la colocación del andamio de su respectivo tamaño.

De acuerdo con las investigaciones descritas anteriormente concordamos con Morosa et al., en la toma de tomografías computarizadas para diseñar un andamio a la medida que concuerde con la anatomía ósea del fémur de rata *Wistar*, ya que le da mayor precisión asemejando la estructura ósea.

Debemos mencionar que en este trabajo mediante el diseño se buscó darle una alternativa al uso de agujas Kirschner y otros tipos de implantes, sustituyéndolos con apoyo del diseño 3D, buscando el soporte en el mismo andamio, a diferencia de las investigaciones mencionadas.

La limitante encontrada en la presente investigación fue la falta de tiempo para comprobar la eficacia del andamio en tratamiento de fracturas o defectos óseos, por lo que se invita a seguir estudiándose e investigándose el diseño y uso de andamios en modelos animales para la obtención de resultados favorables y posteriormente extrapolar en humanos para mejorar la calidad de vida.

10. Conclusiones

Con base a los resultados obtenidos podemos concluir que:

- ✓ El andamio de PLA presenta semejanza anatómica y estructural con el segmento de diáfisis de hueso fémur de rata *Wistar*.
- ✓ El andamio híbrido presenta semejanza anatómica y estructural con el segmento de diáfisis de hueso fémur de rata *Wistar*.

11.Perspectivas a futuro

Los resultados del presente trabajo son prometedores, por lo cual se sugiere continuar con la línea de investigación y se propone lo siguiente:

- ✓ Continuar con la realización de pruebas mecánicas en los andamios híbridos para conocer su comportamiento.
- ✓ A pesar de que los materiales empleados son biocompatibles, es necesario realizar pruebas de biocompatibilidad celular para corroborar que su manipulación en la impresora no modificó sus propiedades.
- ✓ Los andamios de PLA fabricados muestran semejanza anatómica y estructural con el segmento de diáfisis de hueso fémur de rata, por lo cual se sugiere continuar con estudios *in vivo*, realizando defectos segmentales en ratas *Wistar*.
- ✓ Realizar evaluaciones histológicas y mecánicas de los resultados *in vivo*.
- ✓ Dependiendo de la respuesta *in vivo*, a futuro se pueden realizar estudios traslacionales no solo de huesos largos, en el área odontológica se pueden realizar tratamientos a la medida en defectos de tamaño crítico de cabeza y cuello, por ejemplo, en hemimandibulectomías, defectos craneales, maxilofaciales, etc.

12.Referencias Bibliográficas

1. Chachques JC, Herreros J, Trainini JC, Lago N, Díez Solórzano L, Tascón V, et al. Ingeniería tisular y miocardio bioartificial. *Cirugía Cardiovasc.* 2011;18(3):217–24.
2. Colorado A, Agudelo C, Moncada AM. Análisis de biomateriales para uso en ingeniería de tejido de piel: Revisión. *Revista Ingeniería Biomédica.* 2013;7(14):11–23.
3. Valencia G A, Emérito P. La ingeniería, la transhumanidad y la posthumanidad. *Ingeniería y Sociedad.* 2016;(11):1–25.
4. Akter F. What is Tissue Engineering? *Tissue Engineering Made Easy.* Junio de 2016;1–2.
5. Howard D, Buttery LD, Shakesheff KM, Roberts SJ. Tissue engineering: strategies, stem cells and scaffolds. *J Anat.* Julio de 2008;213(1):66–72.
6. Jenkins TL, Little D. Synthetic scaffolds for musculoskeletal tissue engineering: celular responses to fiber parameters. *Regenerative Medicine.* 2019;4(15) doi: 10.1038 / s41536-019-0076-5.
7. Paz RJG, Baudrit JRV, Hernández KZR. Ingeniería de tejidos y biocompatibilidad: nanomateriales biomiméticos, agua, mineralización y respuesta celular. 2015.
8. Ribeiro L, Castro E, Ferreira M, Helena D, Robles R, Faria e Almeida A, et al. Conceptos y aplicaciones de la ingeniería tisular en Otorrinolaringología. *Acta Otorrinolaringológica Española.* 2015;66(1):43–8.
9. Rosales Ibáñez R, Alvarado Estrada KN, Ojeda Gutiérrez F. Ingeniería Tisular

- en Odontología. Rev Adm. 2012;VOL. LXIX(4):164–7.
10. Hernández Figueroa C. Obtención de andamios de colágeno para la restauración del tejido del miocardio. 2016;VII(3):15–24.
 11. Estrada Catalina, Paz Ana Cristina LLE. Ingeniería de tejido óseo: Consideraciones básicas. Rev EIA. 2006;5:93–100.
 12. German F, Atala A. Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando ingeniería tisular. Arch argent pediatr. 2000;98(2):103–15.
 13. Nikolova MP, Chavali MS. Avances recientes en biomateriales para andamios 3D: una revisión. Bioact Mater. 2019; 4: 271–92.
 14. Armentano I, Dottori M, Fortunati E, Mattioli S, Kenny JM. Polymer Degradation and Stability. 2010; 95: 2126-2146.
 15. Zhang B, Lei G, Liang M, Yichen L, Huayong Y, Zhanfeng C. 3D Bioprinting: A Novel for Manufacturing Tissues and Organs. 2019;5:777–94.
 16. Serrato OD; Nieto AR; Aguilera MA. Ingeniería de tejidos. Una nueva disciplina en medicina regenerativa Investigación y Ciencia, vol. 23, núm. 64, enero-abril, 2015, pp. 61-69 Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, México.
 17. Liu J, Yan C. Impresión 3D de andamios para ingeniería de tejidos. En: Cvetković D, editor. Impresión 3d. Londres, Inglaterra: InTech; 2018.

18. Amorosa LF, Lee CH, Aydemir AB, Nizami S, Hsu A, Patel NR, et al. Physiologic load-bearing characteristics of autografts, allografts, and polymer-based scaffolds in a critical sized segmental defect of long bone: an experimental study. *International Journal of Nanomedicine*. 2013;8:1637–43.
19. de 2013 / págs. 11- | 1909-9762 / . V 7. / . N 14 / . JD. *Revista Ingeniería Biomédica. Rev Ing Biomed* [Internet]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rinbi/v7n14/v7n14a02.pdf>.
20. Ochoa S, Aguilar N, Méndez A. Investigación y Ciencia. Ing tejidos Una nueva Discip en Med Regen. 2012;64:61–9.
21. Ibarra C, Garcíadiego D, Martínez V, Velasquillo C. Ingeniería de tejidos y osteoartritis. *Reumatol Clínica*. 2007;3(Supplement 3):S19–22.
22. Sequeda LG, Díaz JM, Gutiérrez SJ, Perdomo SJ, Gómez OL. Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéutica*.
23. Estupiñán HA, Vásquez C, Peña D, Ardila LF. Degradación de ácido poliláctico/hidroxiapatita y ácido poliglicólico en fluido corporal simulado, vol. 10, núm. 2, julio-diciembre 2011, pp. 145-150. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.
24. Khan Y, Laurencin CT. *Regenerative Engineering: Advanced Materials Science Principles*. 1°. (Khan Y, Laurencin CT, eds.) New York: CRC Press Taylor y Francis Group 2018.
25. Shor L, Güçeri S, Chang R, Gordon J, Kang Q, Hartsock L, et al. Precision extruding deposition (PED) fabrication of polycaprolactone (PCL) scaffolds for bone tissue engineering. *Biofabrication*. 2009 Mar;1(1):015003. doi: 10.1088/1758-5082/1/1/015003.

26. Xiao L, Wang B, Yang G, Gauthier M. Poly(Lactic Acid)-Based Biomaterials: Synthesis, Modification and Applications. Biomedical Science, Engineering and Technology [Internet]. el 20 de enero de 2012 [citado el 4 de julio de 2020]; Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/biomedical-science-engineering-and-technology/poly-lactic-acid-based-biomaterials-synthesis-modification-and-applications>
27. César JA, Olivos MA, Landa SC, Cárdenas SV, Silva BP, Suárez AC, et al. Uso y aplicación de la tecnología de impresión y bioimpresión 3D en medicina. 2018;61(6):43–51.
28. Alvarez C, Kenny L, Lagos C, Rodrigo F, & Aizpun, Miguel. (2016). Influencia del porcentaje de relleno en la resistencia mecánica en impresión 3D, por medio del método de Modelado por Deposición Fundida (FDM). *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 24(Especial), 17-24.
29. Jingyu Liu. 3D Printing of Scaffolds for Tissue Engineering. En: Cheng Yan ED1 - Dragan Cvetković, editor. 3D Printing [Internet]. Rijeka: IntechOpen; 2018 [citado el 28 de marzo de 2020]. p. Ch. 7. Disponible en: <https://doi.org/10.5772/intechopen.78145>
30. Shor L, Güçeri S, Chang R, Gordon J, Kang Q, Hartsock L, et al. Precision extruding deposition (PED) fabrication of polycaprolactone (PCL) scaffolds for bone tissue engineering. *Biofabrication*. 2009 Mar;1(1):015003. doi: 10.1088/1758-5082/1/1/015003
31. An J, Teoh JEM, Suntornnond R, Chua CK. Design and 3D Printing of Scaffolds and Tissues. *Engineering*. el 1 de junio de 2015;1(2):261–8.
32. Odreman J. Impresión 3D en la Industria: Un acercamiento a la tecnología y su influencia en la Industria Petrolera. *Universidad, Ciencia y Tecnología*. diciembre de 2014;18(73):166–80.

33. Hollister SJ, Maddox RD, Taboas JM (2002) Optimal design and fabrication of scaffolds to mimic tissue properties and satisfy biological constraints. *Biomaterial* 23: 4095–4103. Available:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12182311>.
34. Lanza R, Langer R, Vacanti JP. *Principles of tissue engineering*. Academic press Elsevier, NY, 3rd edition 2007, Cap 1, 4 y 5.
35. Cho YS, Kim B-S, You H-K, Cho Y-S. A novel technique for scaffold fabrication: SLUP (salt leaching using powder). *Curr Appl Phys*. 2014;14(3):371–7.
36. Figueroa CH, *Ingeniería de tejidos*, monografía Junio 2020 citado el 29 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://file:///C:/Users/pcs/Downloads/C.Figueroa.MONOGRAFA.pdf>
37. Sabino MA, *Técnicas para la fabricación de andamios poliméricos con aplicaciones en ingeniería de tejidos*, *Revista Latinoamericana Mat*. 2017; 37 (2): 120-146
38. Smrke D, Roman P, Veselko M, Gubi B. Tratamiento de defectos óseos: gel de plaquetas alogénicas y técnica de hueso autólogo. En: Andrades JA, editor. *Medicina regenerativa e ingeniería de tejidos*. Londres, Inglaterra: InTech; 2013.
39. Ochandiano SC. Relleno de cavidades óseas en cirugía maxilofacial con materiales aloplásticos. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac*. 2007;29(1):21–32.
40. Dzobo K, Thomford NE, Senthebane DA, Shipanga H, Rowe A, Dandara C, et al. *Advances in Regenerative Medicine and Tissue Engineering: Innovation and Transformation of Medicine*. *Stem Cells Int*. 2018; 2018:2495848.
41. Garrido F M. Ingeniería tisular y medicina regenerativa en cirugía pediátrica. *Revista chilena de cirugía*. diciembre de 2011;63(6):635–40.

42. Cooper GM, Mooney MP, Gosain AK, Campbell PG, Losee JE, Huard J. Prueba del tamaño crítico en los defectos óseos de la calota: revisando el concepto de defecto de tamaño crítico. *Plast Reconstr Surg*. 2010; 125 (6): 1685–92.
43. Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG. Evaluación de la regeneración ósea utilizando el defecto calvarial de tamaño crítico de rata. *Nat Protocol*. 2012; 7 (10): 1918–29.
44. Schmitz JP El defecto de tamaño crítico como modelo experimental para las pseudoartrosis craneomandibulofaciales. *Europepmc.org*. [citado el 24 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/3084153>.
45. Noriko H, Yoshinobu W, Kenji S, Satoshi A, Katsuyuki Y, Yuhiro S, Tadashi K, Takashi M. Bone regeneration in a massive rat femur defect through endochondral ossification achieved with chondrogenically differentiated MSCs in a degradable scaffold. *Biomaterials*. Vol. 35, núm 27, 2014, pp. 7800-7810, ISSN 0142-9612, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.05.052>.