

03-044

APPLICATION OF BIOPRINTING TO REVERSE-ENGINEERED DENTAL IMPLANTS

Mendoza Cerezo, Laura ⁽¹⁾; Rodríguez Rego, Jesús Manuel ⁽¹⁾; Macías García, Antonio ⁽¹⁾;
Carrasco Amador, Juan Pablo ⁽¹⁾; Marcos Romero, Alfonso Carlos ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidad de Extremadura

Bioprinting is a tool that will be of great use in the field of medicine in the future, and that should be further researched and developed due to its high potential. In this work we propose its use through reverse engineering for the development of dental pieces by means of bioprinting. To do this, we must start by selecting the appropriate bioprinting hydrogel to bioprint the part based on its rheological characteristics and cell viability properties. With the selected material, and using 3D scanning technology, a dental piece of the patient's teeth must be digitised, and then the image must be digitally processed to give it the desired shape and fit perfectly into the existing defect. Finally, the dental piece is generated using the bioprinting technique and the patient's own cells and the growth factors necessary for its viability are added, allowing it to be perfectly integrated into the organism without the possibility of rejection.

Keywords: bioprinting; hydrogel; dentistry; product engineering; rheology; 3D design

APLICACIÓN DE LA BIOIMPRESIÓN EN IMPLANTES DENTALES MEDIANTE INGENIERÍA INVERSA

La bioimpresión es una herramienta que resultará de gran utilidad en el campo de la medicina en el futuro, y que debe seguir siendo investigada y desarrollada debido a su alto potencial. En este trabajo proponemos su uso a través de la ingeniería inversa para el desarrollo de piezas dentales mediante bioimpresión. Para ello, se debe comenzar por la selección del hidrogel para bioimpresión adecuado, para bioimprimir la pieza basándose en sus características reológicas y sus propiedades de viabilidad celular. Con el material seleccionado, y mediante la tecnología de escaneo 3D, se debe digitalizar una pieza dental del paciente, para posteriormente realizar un tratado digital de la imagen hasta darle la forma deseada y que encaje perfectamente en el defecto existente. Por último, se genera la pieza dental mediante la técnica de bioimpresión y se le añaden las células del propio paciente y los factores de crecimiento necesarios para su viabilidad, permitiendo que se integre perfectamente en el organismo sin posibilidades de producir rechazo.

Palabras clave: bioimpresión; hidrogel; odontología; ingeniería de producto; reología; diseño 3D

Agradecimientos: Esta investigación ha sido financiada por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) en el marco del proyecto (BIOSIMPRO) con el código 2021/00110/001.



© 2023 by the authors. Licensee AEIPRO, Spain. This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introducción

Las tecnologías de fabricación aditiva permiten la reproducción de piezas de una forma relativamente sencilla y con aplicaciones en diferentes campos (Yang et al., 2018): automotriz (producir piezas de repuestos, crear mecanismos de producción), aeroespacial (crear piezas complejas), salud (planificación de operaciones, desarrollo de implantes y prótesis, bioimpresión de tejidos, formación médica), venta minorista (juguetes personalizados, uso en reparaciones sencillas), etc.

En el área de la salud, la impresión 3D se está extendiendo para ser aplicada en la fabricación de prótesis médicas y en un nuevo y revolucionario concepto denominado bioimpresión 3D.

La bioimpresión 3D integra la impresión 3D y la ingeniería de tejidos con el objetivo de crear estructuras funcionales con aplicaciones directas en la industria biomédica (Ma, 2008; Zhu et al., 2021). Gracias a esta tecnología surgen soluciones muy interesantes para la medicina regenerativa mediante la combinación de células, factores de crecimiento, biomateriales y la tecnología de impresión 3D para fabricar construcciones biológicas con la forma deseada.

Se trata de un proceso de fabricación de tejidos funcionales y órganos a partir de biomateriales por medio de un software computarizado que genera un modelo 3D. El proceso consiste en la adición de capas sucesivas de biomaterial, con la dificultad añadida de que, al tratarse de material vivo, debe realizarse en unas condiciones que aseguren la supervivencia y proliferación de las células (Ghorbani et al., 2021; González Yeguas, 2020; Rodríguez Márquez et al., 2021).

Para ello, en primer lugar, se digitaliza el tejido u órgano utilizando alguna tecnología de procesamiento de imágenes (resonancia magnética, ultrasonido...) con el objetivo de generar un modelo 3D. Posteriormente, se convierte ese modelo digital en un archivo con formato STL (Standard Triangle Language) o, en su defecto, el tipo de archivo que lea la bioimpresora que vayamos a usar. Por último, la parte biológica consiste en obtener y cultivar las células. Este paso es clave, ya que requiere escoger las biotintas adecuadas para emular el tejido que se va a fabricar.

Una vez terminada la impresión del tejido o del órgano se mantiene en la bioimpresora para su maduración antes de poder ser utilizado o estudiado (Vijayavenkataraman et al., 2018).

El objetivo de este proyecto es estudiar el potencial de la bioimpresión 3D en combinación con programas de cómputo especializados de tipo CAD (computer-aided design) para fabricar estructuras tridimensionales biomiméticas. Para ello, se han fabricado y caracterizado diversos hidrogeles con la capacidad de obtener bioimpresiones dentales que favorezcan la regeneración del hueso maxilofacial, con la finalidad de lograr la reconstrucción de un diente o de formas más complejas que solventen problemas tales como la pérdida del hueso maxilofacial.

2. Objetivos

El objetivo final del trabajo se basa en estudiar el potencial de la bioimpresión 3D en combinación con programas de cómputo especializados de tipo CAD. Para ello, es necesario cumplir con los siguientes objetivos menores:

1. Realizar formulaciones de hidrogeles naturales o híbridos que posibiliten la supervivencia celular y posean propiedades mecánicas adecuadas.
2. Estudiar una metodología de digitalización, moldeado y biofabricación.

3. Bioimprimir la estructura biomimética diseñada para comprobar la capacidad estructural del hidrogel seleccionado y asegurar que la metodología de digitalización es útil para la bioimpresión 3D.

3. Metodología

3.1 Materiales

Para esta investigación se han utilizado los siguientes materiales de partida:

➤ **CoIMA**

Colágeno con metacrilato, suministrado por CELLINK. Es un hidrogel híbrido, obtenido mediante la adición de grupos metacrilato fotoactivos, lo que permite su reticulación por la activación de un fotoiniciador y le proporciona mejores propiedades estructurales (*PhotoCol® Methacrylated Type I Collagen - CELLINK*, n.d.).

➤ **GeIMA**

Gelatina con metacrilato, suministrada por CELLINK. Es un hidrogel híbrido a base de gelatina porcina que proporciona a las células un medio óptimo para su crecimiento. Los enlaces de esta biotinta están modificados con grupos metacrilato para reticularse con un fotoiniciador al exponerse a la luz ultravioleta, confiriendo una mayor capacidad estructural. (*GeIMA Lyophilizate - CELLINK Global*, n.d.).

➤ **Konjac**

El glucomanano de konjac es un polisacárido abundante, renovable, biocompatible y biodegradable, con unidades de D-manosa y D-glucosa unidas por enlaces β -(1,4) y que posee muy buenas propiedades de formación de hidrogeles (Wang et al., 2022) y gran capacidad de absorción de agua.

➤ **Goma Gellan**

La goma gellan es un exopolisacárido aniónico secretado por la bacteria *Sphingomonas paucimobilis* con unidades repetitivas de D-glucosa, ácido D-glucurónico, D-glucosa y L-ramnosa, biocompatible, no tóxico, resistente al calor y al estrés ácido y transparente, que posee la capacidad de formar hidrogeles blandos y elásticos (Akkineni et al., 2022).

3.2 Metodología de digitalización, moldeado y biofabricación

Una vez caracterizados los hidrogeles, se procede a la digitalización, moldeado y biofabricación de piezas maxilofaciales. Para ello, se han utilizado diferentes softwares como Inventor, SolidWorks y Meshmixer, y se comprobó que ni Inventor ni SolidWorks, a pesar de tener más opciones y herramientas de modelado, permitían una lectura óptima de los archivos exportados, y que las herramientas extras que ofrecían no suponían una mejora en el modelaje para los fines de este proyecto.

Esto sucede porque el modelo importado está formado por más de 5000 triángulos, valor a partir del cual el mismo software nos avisa de que puede haber problemas en el proceso de cosido, por lo que no es funcional y complica mucho su uso. El software gratuito Meshmixer, usado en odontología para fabricar dientes provisionales, facilita nuestros objetivos.

Para este estudio, en un phantom se simuló las condiciones de ausencia del diente número 31, correspondiente a un incisivo de la semi-arcada inferior izquierda (Figura 1).

Figura 1: Obtención del modelo 3D de un phantom mediante la aplicación de la opción “Digitalización, moldeado y biofabricación de piezas maxilofaciales”.

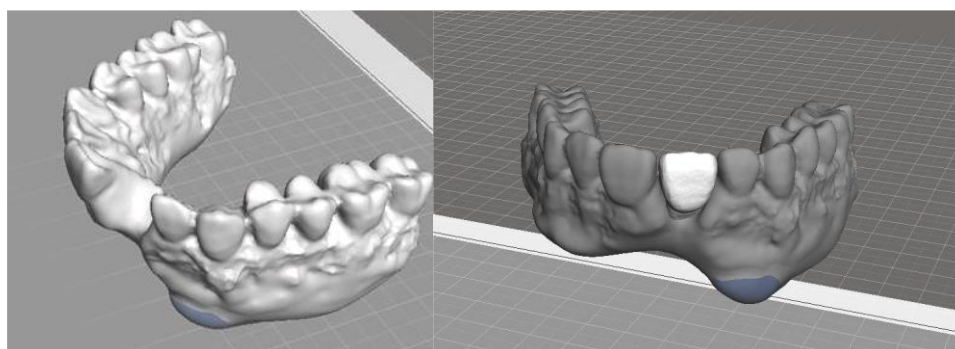


Algunos autores, al estudiar el tamaño mesiodistal y la forma de los dientes permanentes en el lado derecho e izquierdo, no observaron la existencia de diferencias significativas entre las medias de las medidas mesiodistales para cada diente (Austro Martínez et al., 2004).

Por ello, mediante un escáner 3D, es posible generar un objeto tridimensional y biomimético respecto al phantom original a partir del diente correspondiente del lado opuesto. De esta forma, podemos obtener un molde del diente que falta que coincide en forma y tamaño con el diente número 41 de la semi-arcada inferior izquierda.

Se procedió a obtener, mediante este programa (Meshmixer) y el tratamiento informático de imagen, una simulación de forma y tamaño del diente 41 (Figura 2), correspondiente a la semi-arcada inferior derecha, con el objetivo de obtener un modelo lo más parecido posible al diente real que falta (el número 31).

Figura 2: Proceso de escaneado de la mandíbula, creación del diente que falta y colocación en la mandíbula.



4. Resultados

Se conformó ColMA con una concentración objetivo de 10 mg/ml y GeIMA al 5% siguiendo los protocolos de CELLINK. Por último, se formuló un hidrogel a base de konjac y goma gellan.

El protocolo de conformación de los hidrogeles híbridos confirmó que el proceso de gelificación varió en función de la temperatura.

El hidrogel natural de konjac y goma gellan (KG) fue el que mejores resultados mostró, con una imprimibilidad adecuada y ausencia de toxicidad.

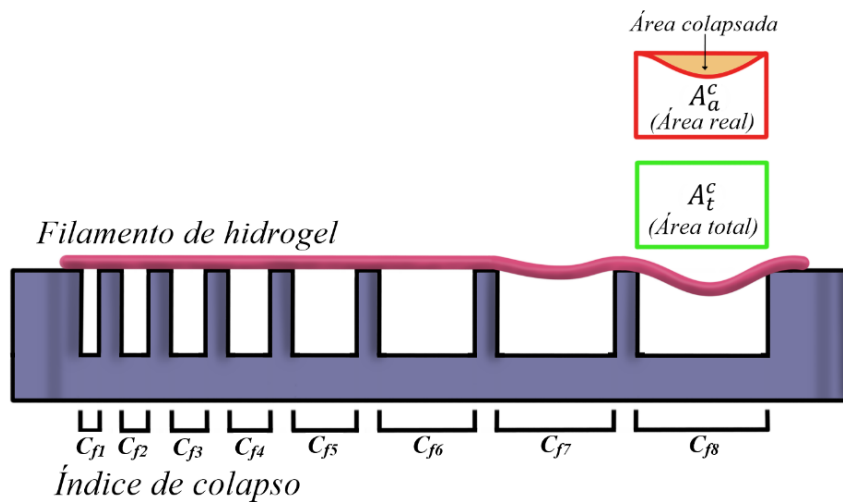
4.1 Caracterización de los hidrogeles

➤ Prueba de colapso

Para conocer qué hidrogel es el más favorable de los utilizados en este trabajo para la impresión de una estructura biomimética, es necesario estudiar la imprimibilidad y algunas características de ellos (Mancha et al., 2020; Rodríguez-Rego, Mendoza-Cerezo, Macías-García, Carrasco-Amador, et al., 2023).

La primera prueba que se le realiza se basa en estudiar la deflexión que presenta el filamento de hidrogel sobre un útil conformado por unos pilares separados por diferentes distancias (Figura 3).

Figura 3: Plataforma utilizada junto con una bioimpresora para realizar pruebas de colapso.



Para realizar esta prueba se debe determinar el área colapsada. Para ello, se deposita un filamento de hidrogel pasando sobre todos los pilares y se visualiza cuándo el área teórica y el área real difieren en gran medida. De esta forma se puede obtener el índice de colapso mediante la siguiente fórmula (ecuación 1) (Mayra Candela, 2019):

$$C_f = \frac{A_t^c - A_a^c}{A_t^c} \cdot 100\% \quad (1)$$

Donde A_t^c es el área total y A_a^c es el área que se genera tras depositar el filamento.

Si el filamento no colapsa, lo cual conlleva a que el área real y el área teórica son prácticamente la misma, el coeficiente de colapso es del 0% (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados de los hidrogeles que fueron estudiados con la prueba de colapso.

Hidrogel	C_{f1}	C_{f2}	C_{f3}	C_{f4}	C_{f5}	C_{f6}	C_{f7}	C_{f8}
CoIMA (Cs= 10)	0	100	100	100	100	100	100	100
GeIMA 5%	0	0	0	0	0	2.49	3.59	7.33
KG	0	0	0	0	0	0	1,37	2,24

La Tabla 1 muestra que el hidrogel híbrido CoIMA (Cs=10) no superó la prueba debido a que no tiene unas propiedades mecánicas suficientes para presentar resistencia al colapso.

El resto de los hidrogeles ofrecieron unos resultados muy prometedores para permitir generar estructuras biomiméticas.

➤ **Prueba de imprimibilidad y estado de gelificación**

Estas pruebas determinan si el hidrogel tiene un estado de gelificación adecuado (Figura 4), además de unas propiedades mecánicas suficientes para generar una “grilla” o matriz formada con cuadrados o rectángulos de diferentes dimensiones (Figura 5).

Al conocer las dimensiones de la matriz diseñada (valor teórico), mediante un programa de visualizado de imágenes se obtienen las dimensiones reales (valor real) que ha generado el hidrogel al crear la matriz.

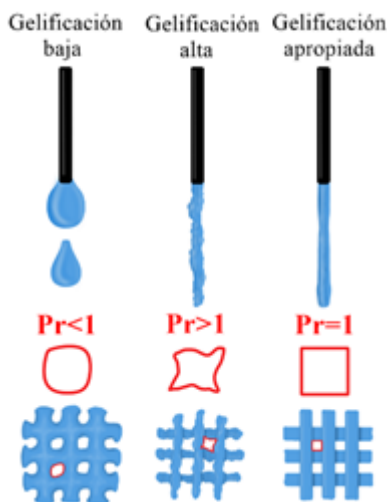
Se busca medir dos variables muy relevantes para conocer la utilidad de los hidrogeles (ecuaciones 2 y 3) (Rodríguez-Rego, Mendoza-Cerezo, Macías-García, C. Marcos-Romero, et al., 2023).

- Estado de gelificación:

$$Pr = \frac{\pi}{4} \cdot \frac{1}{C} \tag{2}$$

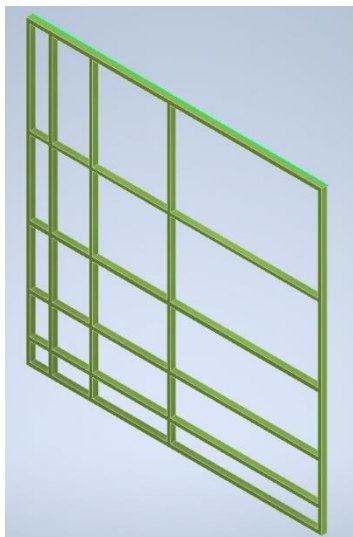
$$\text{Si la figura es cuadrada} \rightarrow C = \frac{4\pi}{16} \rightarrow Pr = \frac{\pi}{4} \cdot \frac{16}{4\pi} = 1 \tag{3}$$

Figura 4: Estudio comparativo de la imprimibilidad.



- Capacidad para reproducir una grilla:

Figura 5: Matriz formada por cuadrados y rectángulos de diferentes dimensiones. Imagen obtenida mediante el software Inventor.



En la Tabla 2 se muestra los resultados del estado de gelificación del GelMa 5% y del KG debido a que fueron los dos hidrogeles que presentaron en la prueba de colapso unos valores que permitían realizar estructuras biomiméticas, y en la Tabla 3 se muestran los resultados de la capacidad de ambos hidrogeles para reproducir una grilla previamente diseñada.

Tabla 2: Estado de gelificación e impresión de la grilla de la Figura 3.

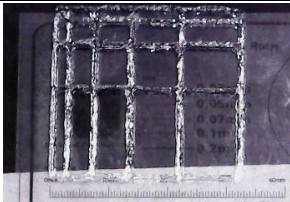

Hidrogel	Imagen	Pr	Estado de gelificación
GelMA 5%		1	Apropiada/alta
KG		1	Apropiada/alta

Tabla 3: Capacidad de los hidrogeles estudiados para reproducir grillas previamente diseñadas. Fn: Fila n; Cn: Columna n; VT: Valor teórico; VR: Valor real; DT: Desviación típica.

	C1			C2			C3			C4			
	VT (mm ²)	VR (mm ²)	DT	VT (mm ²)	VR (mm ²)	DT	VT (mm ²)	VR (mm ²)	DT	VT (mm ²)	VR (mm ²)	DT	
GeIMA 5%	F1	2,55	0,42	1,07	5,10	4,26	0,42	10,20	8,05	1,08	20,41	17,33	1,54
	F2	5,10	4,48	0,31	10,21	9,98	0,12	20,41	17,52	1,45	40,83	36,33	2,25
	F3	7,65	6,50	0,58	15,31	14,66	0,33	30,62	25,78	2,42	61,24	55,08	3,08
	F4	10,20	8,96	0,62	20,41	19,45	0,48	40,83	36,23	2,30	81,66	74,40	3,63
	F5	12,76	10,36	1,20	25,52	23,71	0,90	51,03	48,80	1,12	102,06	98,68	1,69
KG	F1	2,55	0,60	0,98	5,10	3,37	0,87	10,20	8,10	1,05	20,41	16,90	1,76
	F2	5,10	3,57	0,77	10,21	9,34	0,44	20,41	17,58	1,42	40,83	28,69	6,07
	F3	7,65	6,90	0,38	15,31	13,95	0,68	30,62	24,42	3,10	61,24	55,65	2,80
	F4	10,20	9,37	0,42	20,41	19,25	0,58	40,83	35,53	2,65	81,66	79,24	1,21
	F5	12,76	10,58	1,09	25,52	23,27	1,13	51,03	48,74	1,15	102,06	99,32	1,37

La desviación típica se calculó mediante la siguiente fórmula, empleando como datos VT y VR para cada fila:

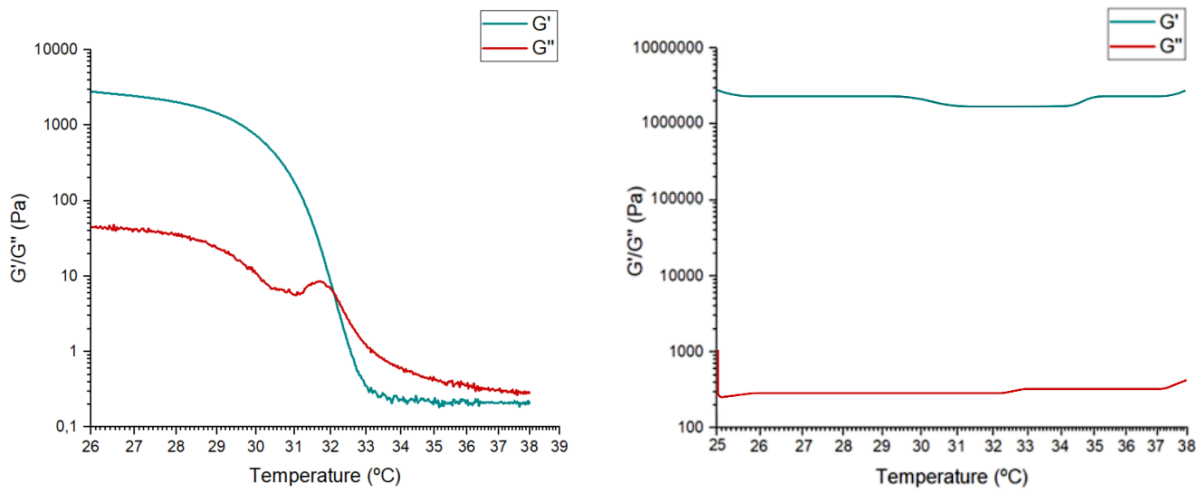
$$\sigma = \frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N} \quad (4)$$

Ambos hidrogeles mostraron unos resultados de imprimibilidad muy similares. Ambos hidrogeles consiguieron reproducir con suficiente solvencia las diferentes rejillas diseñadas sin mostrar fallos importantes e incorregibles en el proceso de bioimpresión.

➤ Estudio reológico

Para determinar cómo afectaba la temperatura a la estructura interna del hidrogel, se estudiaron el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G''). El módulo elástico o de almacenamiento G' representa el componente elástico del producto. El módulo viscoso o de pérdida G'', representa el comportamiento viscoso de la muestra. Es directamente proporcional a la energía disipada por el material en un ciclo de deformación (Yin et al., 2018).

Figura 6: Análisis de G' y G'' a diferentes temperaturas para el hidrogel GelMA (izquierda) y para el hidrogel KG (derecha).

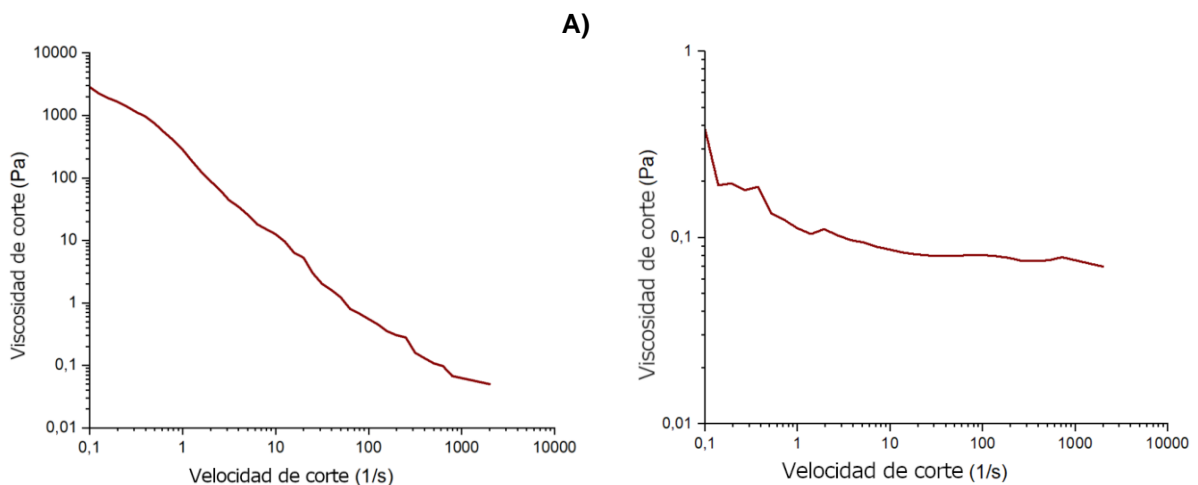


La Figura 6 muestra que, para el hidrogel GelMA 5% a una temperatura próxima a 32°C, se encuentra el punto de corte entre G' y G'' , por lo que podemos afirmar que este punto, que marca la temperatura de gelificación, informa de que a temperaturas superiores a 32°C el hidrogel presenta un comportamiento fluido y menor cohesión interna entre las moléculas debido a que G'' es superior a G' . A temperaturas inferiores a 32°C el hidrogel manifiesta un estado de gel.

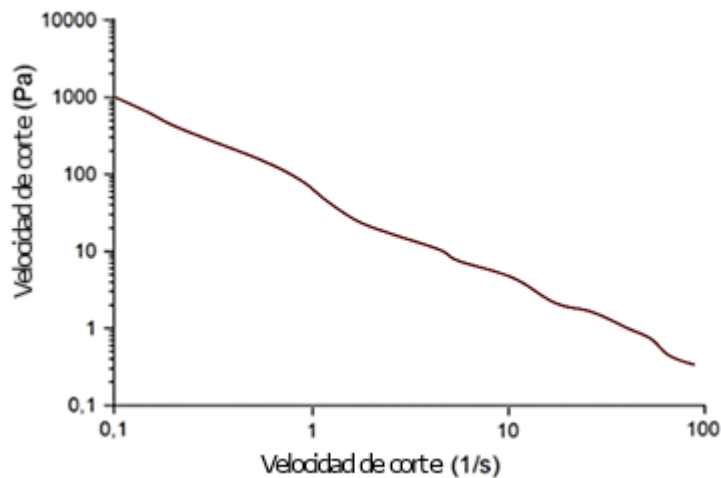
En cambio, el hidrogel en de konjac y goma gellan no presenta gelación por temperatura dentro del rango estudiado, y en todo momento el módulo de almacenamiento es mayor que el módulo de pérdida, denotando un comportamiento elástico (estado gel) del hidrogel.

El estudio de la respuesta del esfuerzo cortante frente a la velocidad de cizalla nos informa del comportamiento del hidrogel. Para la bioimpresión son muy interesantes los comportamientos no newtonianos, donde la viscosidad se ve afectada por un esfuerzo cortante, a diferencia de lo que ocurre con los fluidos newtonianos, donde la viscosidad permanece constante en todo el rango de esfuerzo cortante.

Figura 7: Comportamiento del hidrogel GelMA y KG en la prueba reológica de velocidad de cizallamiento frente a viscosidad de cizallamiento. A) Hidrogel GelMA a 28°C (izquierda) y a 34°C (derecha); B) Hidrogel KG a 37°C.



B)



En la Figura 7 se observa que el hidrogel GelMA 5% presenta un comportamiento pseudoplástico muy interesante para bioimpresión, pero a temperaturas menores a 34°C, coincidiendo con los resultados mostrados en la Figura 6, el hidrogel muestra comportamientos newtonianos (la deformación es proporcional al esfuerzo aplicado).

Uno de los principales intereses de los hidrogeles es su capacidad para ser cargados celularmente, por lo que la temperatura óptima para el proceso de bioimpresión está alrededor de 37°C. Debido a esto, el hidrogel GelMA al 5% puede presentar, en el proceso de bioimpresión a una temperatura menor a 34°C (rango de temperatura donde presenta un comportamiento no newtoniano), unos rangos de muerte celular a tener en cuenta.

El hidrogel KG, debido al comportamiento que presentó en el análisis del módulo de almacenamiento en función de la temperatura, solo se estudió a 37°C (Figura 7B), al ser la temperatura idónea para el proceso de bioimpresión. A esa temperatura el hidrogel presentó un comportamiento pseudoplástico donde la viscosidad aparente disminuye al aumentar el esfuerzo cortante.

4.2 Metodología de digitalización, moldeado y biofabricación

Previamente a la bioimpresión de la pieza dental con el hidrogel que mejores resultados ofreció en las pruebas de caracterización, se realizó un testeo del método planteado mediante una impresión 3D con ácido poliláctico (PLA) (Figura 8).

Figura 8: Visualización de la mandíbula con el diente diseñado y posteriormente impreso (color gris).



Para conseguir un scaffold funcional que se adhiere directamente al hueso y promueva la proliferación celular es necesario crear una pieza con una corona simétrica a la del diente 41, y darle al diente una forma adaptada al hueco que se produce por esa falta de hueso maxilofacial. Es decir, la corona replica el aspecto de su diente complementario y la forma de la parte inferior del diente se adapta a la deformación presentada.

En la Figura 8 no se aprecian diferencias en forma y dimensiones entre la pieza dental impresora y las piezas propias del phantom, por lo que este método puede ser planteado para su utilización con tecnología de bioimpresión 3D.

Figura 9: Bioimpresión del diente con la tecnología de bioimpresión 3D y el hidrogel KG.



En la Figura 9 se visualiza el diente bioimpreso con el material KG, que fue el que mejores resultados ofreció.

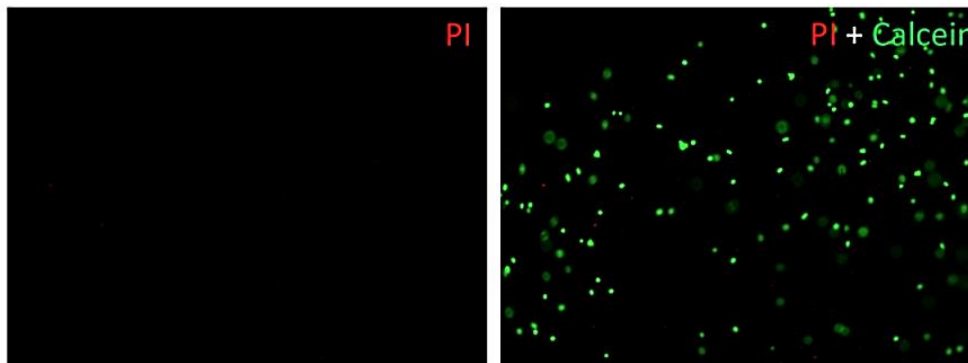
Se comprueba así que las pruebas realizadas fueron relevantes para caracterizar el hidrogel, y que las propiedades mecánicas que presenta permiten la reproducción de la estructura biomimética previamente diseñada.

4.3 Prueba de toxicidad

Para comprobar la toxicidad del hidrogel creado, con vistas a la introducción de células que puedan proliferar, colonizar y, posteriormente, degradar el hidrogel, se realizó el siguiente protocolo:

- Se mezclaron células HeLa, una línea celular derivada de un adenocarcinoma cervical, con el hidrogel KG, el que mejores resultados de imprimibilidad ofreció. Debido a que la línea celular HeLa fue una de las primeras líneas celulares cultivadas con éxito in vitro y fue ampliamente utilizada para estudios tumorales, además de presentar una rápida multiplicación, optamos por utilizarlas para este estudio.
- Las células se cultivaron en medio DMEM (ThermoFischer) suplementado con 10% FBS (Gibco, ThermoFischer) y 1% penicilina/estreptomicina (Sigma Aldrich) a 37°C en una incubadora con 5% de CO₂. El pase se realizó usando una solución de tripsina/EDTA (Sigma-Aldrich).
- El ensayo de toxicidad se realizó a las 24 horas mediante el ensayo LIVE/DEAD de Invitrogen™ para observar si existía viabilidad celular. Las imágenes de fluorescencia se tomaron en un microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse 80i (Figura 10):

Figura 10: Prueba de toxicidad realizada al hidrogel KG.



5. Conclusiones

Durante la ejecución del trabajo se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- La metodología de estudio seguida para caracterizar los hidrogeles es de gran utilidad, y permite asegurarse de que hidrogel presenta las propiedades más interesantes para la bioimpresión 3D sin necesidad de gastar mucha cantidad de material ni recursos.
- De los hidrogeles estudiados, solo el ColMA con una concentración de 10mg/ml no presentaba propiedades mecánicas óptimas para plantear realizar estructuras biomiméticas.
- El hidrogel GelMA 5% presenta propiedades reológicas y de imprimibilidad interesantes, pero al perder el comportamiento pseudoplástico a temperaturas mayores a los 32°C no permite realizar bioimpresiones 3D a temperaturas cercanas a los 37°C (temperatura donde se consigue la mayor supervivencia celular).
- El hidrogel GelMA podría llegar a ser un hidrogel muy interesante si se consigue cambiar su formulación para bajar el grado de gelificación y mantener propiedades pseudoplásticas a temperaturas cercanas a los 37°C.
- El hidrogel natural de konjac y goma gellan, aunque no exhibe una gelación por temperatura y, por lo tanto, de inicio, no presenta un cambio de estado de fluido a gel interesante para el proceso de bioimpresión 3D, sí que ofrece otras propiedades reológicas, mecánicas y de viabilidad celular muy interesantes. La imprimibilidad del hidrogel y su capacidad para reproducir estructuras biomiméticas a 37°C fueron las mejores de los hidrogeles estudiados. En todo momento presentó un comportamiento pseudoplástico dentro del rango de temperatura entre los 26°C y los 38°C, y consiguió reproducir el diente previamente diseñado sin ningún problema.
- La metodología expuesta permite obtener una estructura biomimética dental con un grado de precisión suficientemente bueno para, mediante la tecnología de bioimpresión 3D y la Ingeniería de tejidos, poder ser utilizado con el objetivo de solventar problemas odontológicos en un futuro.

6. Referencias

- Akkineni, A. R., Elci, B. Sen, Lode, A., & Gelinsky, M. (2022). Addition of High Acyl Gellan Gum to Low Acyl Gellan Gum Enables the Blends 3D Bioprintable. *Gels* 2022, Vol. 8, Page 199, 8(4), 199. <https://doi.org/10.3390/GELS8040199>
- Austro Martínez, M. D., Ostos Garrido, M. J., García Ballesta, C., & Pérez Lajarín, L. (2004). Análisis de la simetría del tamaño dentario mesiodistal de la misma muestra en dentición mixta y permanente. Estudio longitudinal. *Avances En Odontostomatología*, 20(6), 305–313. <https://doi.org/10.4321/S0213-12852004000600005>
- GelMA Lyophilizate - CELLINK Global*. (n.d.). Retrieved June 8, 2021, from <https://www.CELLINK.com/global/product/gelma-lyophilizate/>
- Ghorbani, F., Li, D., Zhong, Z., Sahranavard, M., Qian, Z., Ni, S., Zhang, Z., Zamanian, A., & Yu, B. (2021). Bioprinting a cell-laden matrix for bone regeneration: A focused review. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(8), 49888. <https://doi.org/10.1002/APP.49888>
- González Yeguas, L. (2020). *Estudio de la bioimpresión de hidrogeles aplicados a la generación de piel artificial mediante impresión laser BA-LIFT*. Tesis doctoral no publicada, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.
- Ma, P. X. (2008). Biomimetic Materials for Tissue Engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(2), 184. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2007.08.041>
- Mancha, E., Gómez, J. C., López, E., Casado, J., Macías, A., Díaz, M. Á., Carrasco, J. P., Torrejón, D., Sánchez, F. M., & Pagador, J. B. (2020). Hydrogels for Bioprinting: A Systematic Review of Hydrogels Synthesis, Bioprinting Parameters, and Bioprinted Structures Behavior. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 776. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2020.00776/BIBTEX>
- Mayra Candela, M. (2019). *Estudio del composite hidroxiapatita - acrílico como material de bioimpresión 3d*. Obtenido de <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/24734/Proyecto%20Integrador-%20Morello%20Mayra%20Candela.%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- PhotoCol® Methacrylated Type I Collagen - CELLINK*. (n.d.). <https://www.CELLINK.com/product/photocol-methacrylated-type-i-collagen/>
- Rodríguez Márquez, J. M., Rodríguez Rego, J. M., Sánchez Sánchez, R., Macías García, A., & Díaz Parralejo, A. (2021). Development of a device for the control of variables in the bioprinting of hydrogels. *XXV Congreso Internacional de Ingeniería de Proyectos*.
- Rodríguez-Rego, J. M., Mendoza-Cerezo, L., Macías-García, A., C. Marcos-Romero, A., & P. Carrasco-Amador, J. (2023). Comparison of the potential for bioprinting of different 3D printing technologies. *International Journal of Bioprinting*, 9(3). <https://doi.org/10.18063/IJB.680>
- Rodríguez-Rego, J. M., Mendoza-Cerezo, L., Macías-García, A., Carrasco-Amador, J. P., & Marcos-Romero, A. C. (2023). Methodology for characterizing the printability of hydrogels. *International Journal of Bioprinting*, 9(2), 280–291. <https://doi.org/10.18063/IJB.V9I2.667>
- Vijayavenkataraman, S., Yan, W. C., Lu, W. F., Wang, C. H., & Fuh, J. Y. H. (2018). 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 132, 296–332. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2018.07.004>

Wang, Y. L., Han, L., Zhang, X. L., Cao, L., Hu, K., Li, L. H., & Wei, Y. (2022). 3D bioprinting of an electroactive and self-healing polysaccharide hydrogels. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 16(1), 76–85. <https://doi.org/10.1002/TERM.3238>

Yang, Y., Song, X., Li, X., Chen, Z., Zhou, C., Zhou, Q., & Chen, Y. (2018). Recent Progress in Biomimetic Additive Manufacturing Technology: From Materials to Functional Structures. *Advanced Materials*, 30(36), 1706539. <https://doi.org/10.1002/ADMA.201706539>

Yin, J., Yan, M., Wang, Y., Fu, J., & Suo, H. (2018). 3D Bioprinting of Low-Concentration Cell-Laden Gelatin Methacrylate (GelMA) Bioinks with a Two-Step Cross-linking Strategy. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 10(8), 6849–6857. https://doi.org/10.1021/ACSAMI.7B16059/SUPPL_FILE/AM7B16059_SI_001.PDF

Zhu, Y., Joralmon, D., Shan, W., Chen, Y., Rong, J., Zhao, H., Xiao, S., & Li, X. (2021). 3D printing biomimetic materials and structures for biomedical applications. *Bio-Design and Manufacturing*, 4(2), 405–428. <https://doi.org/10.1007/S42242-020-00117-0>

**Comunicación alineada con los
Objetivos de Desarrollo Sostenible**

