

TESI DOCTORAL

---

**CARTÍLAG BIOIMPRÈS:  
TRANSFERÈNCIA A LA  
PRÀCTICA CLÍNICA DE LES  
INVESTIGACIONS SOBRE L'ÚS  
EN HUMANS**

---

**Àngels Salvador i Vergés**

Directors de la tesi:

**Dr. Francesc Garcia Cuyàs**

**Dr. Luis Fernàndez-Luque**

Programa de doctorat: **Ciències Experimentals i Tecnologies**

**Any 2019**



UNIVERSITAT DE VIC  
UNIVERSITAT CENTRAL DE CATALUNYA

Escola de Doctorat



FEM CONSTAR que aquest treball, titulat "Cartílag bioimprès: Transferència a la pràctica clínica de les investigacions sobre l'ús en humans", que presenta Àngels Salvador Vergés per a l'obtenció del títol de doctora, ha estat realitzat sota la nostra direcció en el Programa de Doctorat Ciències Experimentals i Tecnologies.

Els directors de la tesi

**Dr. Francesc García Cuyàs**



**Dr. Luis Fernández-Luque**



Vic, desembre de 2019



Everything is a fresh start,  
and I'd love to do every project that I have ever looked at,  
and have a second bite at it,  
because you can always go one step further,  
and if you can't go one step further,  
then it means that you haven't learned from what you've done  
before, and you're not sharp.  
Then it's time to say stop and do something else.

Norman Foster



*Per als directors de la tesi, per la meva família,  
i per tu, Miquel, que ho has fet possible.*





---

*Índex general*

---



Presentació.....	i
Índex general.....	ii
Abstract.....	iii

## CAPÍTOL 1

<b>1. Estructura de la tesi.....</b>	<b>21</b>
<b>2. Justificació .....</b>	<b>21</b>
<b>3. Preguntes de recerca.....</b>	<b>22</b>
<b>4. Objectius.....</b>	<b>22</b>
<b>5. Context .....</b>	<b>23</b>
<b>6. Enfocament.....</b>	<b>24</b>

## CAPÍTOL 2

### **Revisió de la literatura i l'estat de l'art**

<b>1. El cartílag articular</b>	
1.1. Composició .....	30
1.1.1. Les cèl·lules.....	30
1.1.2. La matriu extracel·lular.....	32
1.1.3. Líquid sinovial.....	34
1.2. Estructura i fisiopatologia .....	34
1.2.1. Nutrició i funció.....	36
1.2.2. Comportament mecànic.....	38
<b>2. Tractaments quirúrgics en ús pels defectes focals</b>	
2.1. Tipus de lesions.....	39
2.1.1 Graus en lesions condrials .....	40
2.2. Tècniques quirúrgiques .....	40
<b>3. Enginyeria tissular</b>	
3.1. Fonts d'obtenció cel·lular .....	47
3.2. Biomaterials .....	51
3.3. Factors de creixement .....	52
<b>4. Bioimpressió</b>	
4.1. Bioinks i imprimibilitat.....	54
4.2. Tipus de bioimpressores.....	55
4.3. Estàndards essencials per garantir la qualitat .....	57
<b>5. Consideracions normatives</b>	
5.1. Marc legal de l'ús de cèl·lules en bioimpressió.....	60
5.2. Validació i control de processos .....	62
5.3. Garantir la biocompatibilitat i l'esterilitat .....	63
<b>6. Qüestions bioètiques</b>	

## CAPÍTOL 3

### **Trends in scientific reports on cartilage bioprinting: A scoping review: P1**

<b>Objective.....</b>	<b>67</b>
-----------------------	-----------

<b>Methods</b> .....	67
<i>Study Design</i>	
<i>Study selection</i>	
<i>Reporting the findings</i>	
<b>Results</b> .....	71
<b>Discussion</b> .....	76
<i>Identified Gaps</i>	
<i>Regulation</i>	
<i>Cost</i>	
<i>Implications for future research.</i>	
<i>Strengths and Limitations</i>	
<b>Conclusions</b> .....	80

## CAPÍTOL 4

### **Perspectives of Orthopedic Surgeons on the Clinical Use of Bioprinted Cartilage: Qualitative Study: P2**

<b>Objectives</b> .....	83
<b>Methods</b> .....	83
<i>Study Design</i>	
<i>Interview Structure for Data Generation</i>	
<i>Global Data Analysis</i>	
<b>Results</b> .....	86
<i>Barriers</i>	
<i>Facilitators</i>	
<i>Key Factors</i>	
<b>Discussion</b> .....	93
<i>Principal Considerations</i>	
<i>Limitations</i>	
<b>Conclusions</b> .....	96

## CAPÍTOL 5

### **Orthopedic surgeons' perspective on the decision-making process for using bioprinter cartilage grafts: a web-based survey: P3**

<b>Objectives</b> .....	99
<b>Methods</b> .....	99
<i>Contextualization of research and ethical approval</i>	
<i>Survey design</i>	
<i>Sample population</i>	
<i>Statistical analysis</i>	
<b>Results</b> .....	100
<i>Demographic data</i>	
<i>Information linked to the decision-making process of surgeons</i>	
<i>Information received</i>	
<i>Information relevance</i>	
<i>Level of acceptance of new technologies</i>	

<i>Analysis of the qualities of the archetypal bioprinted cartilage graft</i>	
<b>Discussion</b> .....	106
<i>Limitations</i>	
<i>Comparison with previous studies</i>	
<b>Conclusions</b> .....	109

## CAPÍTOL 6

<b>1. Respostes a les preguntes d'investigació</b> .....	113
<b>2. Respostes als objectius</b> .....	114
<b>3. Conclusions finals de la tesi</b> .....	115
<b>4. Limitacions</b> .....	116
<b>5. Implicacions futures</b> .....	116

## APÈNDIX

<i>Llistat de figures</i> .....	121
<i>Abreviatures</i> .....	123
<i>Referències</i> .....	125

## ANNEXES



---

## *Abstract*

---





Traumatic and degenerative cartilage injuries are one of the most challenging and frustrating injuries for surgeons and patients who suffer from it. Over the last 60 years, none of the techniques used to treat cartilage injuries have produced satisfactory results.

This lack of satisfactory therapeutic strategies in the repair of cartilage injuries has led biomedical surgeons and engineers to investigate the role of tissue engineering and bio-printing as a viable alternative for the treatment of these injuries in specialties such as Orthopedic surgery, plastic surgery, and otorhinolaryngology. The rise in the scientific literature in recent years seems to indicate that this new possibility of bioprinted cartilages could become an alternative solution. The bioprinting could provide the new and awaited solution to this problem.

The doctoral project described here focuses on the research to find the best technical solutions for the clinical recovery of people affected by this type of injury. We also want to determine the degree of knowledge and expectations of orthopedic surgeons about the clinical implantation of the bioprinting cartilage, with questions about the size of the ideal graft, the age-appropriate to be implanted, the difficulties of the technique, the function of regulators, and the ethical implications. The barriers that this new technology will have to face in the future also identified, as it is crucial to address them and overcome them before the implementation phase arrives. Since clinical, efficacy, and safety application studies do not always imply successful implementation.

A range of research methods has applied, they begin with a scoping review of the literature published, a qualitative research part with healthcare professionals, and a quantitative part through an online survey to orthopedic surgeons.

This thesis summarizes almost five years of work in the field of bioprinting cartilage, summarized in three articles and presentations in poster format. One of the aims highlighted was to determine the degree of knowledge and expectations of orthopedic surgeons on the clinical implantation of the bioprinting cartilage graft, and the other they define how they would like it to be this graft.

We recognize the limitations of the study since it can not be extrapolated to all countries and contexts by the small group of professionals that participated and the local area where they were carried out.

Surgeons are willing to accept this new technology, as it has the potential to solve a clinical need. In the same way that advances in research in the laboratory have to be consolidated, the involvement of surgeons is key, to advance and recognize the bioprinting as a technology for the immediate future.



---

## *Capítol 1*

---



## **1. Estructura de la tesi**

Per tal d'assegurar una millor lectura i coherència d'aquest treball, s'ha estructurat de la següent manera:

En aquest primer capítol resum es justifica l'elecció del tema d'investigació, el plantejament de les preguntes de recerca, els objectius, el context on es desenvolupa i finalment quina és l'aproximació o enfocament de la tesi vers al tema.

En el segon capítol s'inclou una revisió bibliogràfica sobre l'estat de l'art del cartílag, els tipus de lesions i els tractaments actuals, i un petit resum dels conceptes clau del que és l'enginyeria tissular i la bioimpresió, així com les consideracions tan normatives com bioètiques que es plantegen amb aquesta nova possibilitat.

En el tercer, quart i cinquè capítol estan els treballs publicats que componen aquesta tesi, en l'idioma original que van ser publicats. No s'ha inclòs la bibliografia d'aquests treballs, doncs es pot consultar directament als llocs web de publicació.

Al sisè capítol s'hi troben les respostes a les preguntes d'investigació i els objectius, les conclusions finals, així com les limitacions del treball i les implicacions per a noves investigacions.

A l'apèndix hi consten el llistat de figures, les abreviatures i les referències utilitzades per a la redacció de la tesi.

Al final, en l'annex, estan els documents d'autorització del comitè d'ètica per la recerca, el consentiment informat pels participants a les entrevistes semiestructurades i el text de l'enquesta en línia.

21

## **2. Justificació**

El cartílag és un teixit especialitzat de tipus connectiu, que està desproveït de nervis, vasos sanguinis i limfàtics. Té característiques flexibles i està integrat per una abundant matriu extracel·lular (MEC). Aquest teixit és el que recobreix els extrems ossis de les articulacions i és el que permet un moviment suau, protegint les terminacions òssies i actuant com a suport davant dels traumatismes.

El cartílag articular té poca capacitat de regeneració, en part degut a la seva manca de vascularització. El procés no es coneix encara completament, però inclou l'alteració de l'equilibri metabòlic amb l'augment de l'activitat catabòlica causant la degradació de la matriu del cartílag.<sup>1</sup> El trencament de l'estructura de la MEC deteriora la funció mecànica del teixit.

Pels traumatòlegs, suposa un problema tractar les lesions cartilaginoses, ja que, en l'actualitat, no es tenen prou eines per donar solució a la majoria d'aquest tipus de lesions, tot i ser molt freqüents a la pràctica diària.

El dany al teixit cartilaginós pot succeir a causa de traumatismes directes o

microtraumatismes de repetició, o bé per diverses malalties d'etiologia reumàtica; també hi ha altres causes com l'alteració biomecànica de l'eix de càrrega de l'articulació originada per la exèresis d'un menisc trencat<sup>2</sup> o pel trencament no reparat dels lligaments encreuats.

Fa uns anys que els investigadors dels camps de la medicina regenerativa, l'enginyeria de teixits i la bioimpresió estan fent esforços conjunts per tal d'obtenir empelts viables de cartílag bioimprès. És per això que per a aquest treball s'ha escollit aquesta nova possibilitat per aprofundir-hi i obtenir una visió que pugui ser entenedora pels clínics.

#### *Acrònims utilitzats per a la descripció*

Enumerarem els treballs publicats com P1, P2 i P3; a les preguntes de recerca RQ1, RQ2, RQ3, RQ4, RQ5 i RQ6; a les respostes obtingudes a aquestes preguntes RRQ1, RRQ2, RRQ3, RRQ4, RRQ5 i RQ6; als estudis realitzats S1, S2 i S3 i, finalment, a les conclusions, C1, C2, C3.

### **3. Preguntes de recerca**

Ja que el tractament actual de les lesions cartilaginoses no té bons resultats, cal seguir investigant i, a continuació, establir una estratègia de transferència dels resultats obtinguts amb les noves possibilitats perquè arribi correctament als clínics encarregats de donar solució als problemes dels pacients.

En l'última dècada, els avenços en bioimpresió i biofabricació del cartílag han estat molt importants, i s'està a un pas de poder-los aplicar.

S'estableixen les següents preguntes d'investigació:

- RQ1-** Quines són les publicacions que ajuden a entendre aquesta nova possibilitat?
- RQ2-** Quins són els reptes de futur que tenen actualment els investigadors?
- RQ3-** Què opinen i quines expectatives tenen els cirurgians ortopèdics respecte al cartílag bioimprès?
- RQ4-** És suficient la informació que tenen els cirurgians sobre aquesta possibilitat?
- RQ5-** De quina qualitat és la informació que reben els cirurgians per poder prendre decisions informades?
- RQ6-** Quines millores caldria aplicar al procés de transferència d'informació per garantir un èxit futur per aquesta tècnica?

### **4. Objectius**

#### *General*

L'objectiu principal d'aquesta tesi és establir un punt inicial del coneixement disponible sobre el cartílag bioimprès i, alhora, aprofundir i intervenir en el procés de translació d'aquest coneixement als clínics, tot aportant algunes possibilitats per a la implementació.

1. Sintetitzar els avenços científics publicats fins a la data.
2. Identificar problemes tècnics no resolts en relació amb l'aplicació humana.
3. Resumir i classificar les barreres i els facilitadors d'aquesta nova possibilitat i determinar els factors clau que caldria tenir en compte per a la implementació reeixida del cartílag bioimprès en la pràctica clínica habitual.
4. Determinar els coneixements i les expectatives dels cirurgians ortopèdics sobre l'ús clínic del cartílag bioimprès.
5. Explorar la postura dels cirurgians ortopèdics sobre l'ús d'empelts de cartílags bioimpresos per les lesions cartilaginoses.
6. Resumir les característiques que hauria de tenir l'empelt de cartílag bioimprès, sota la percepció dels clínics.
7. Explorar les maneres més efectives per la transferència d'informació als cirurgians.

## 5. Context de la recerca

La majoria de les tècniques emprades per donar solució als problemes de cartílag són poc efectives i això no alleugera el dolor, la discapacitat, ni les múltiples consultes dels pacients. També provoca llistes d'espera per operar lesions articulars que, en últim terme, requereixen pròtesis totals.

Es tracta d'una qüestió que preocupa a molts cirurgians ortopèdics que, durant els seus anys de pràctica clínica, participen activament en la recerca de noves possibilitats terapèutiques per aquest tipus de lesions.

### *La necessitat clínica de noves teràpies pel tractament de lesions cartilaginoses.*

En els últims temps, la pràctica d'esport i fitness està sent molt promocionada per la millora de la salut i la forma física entre la població en general i això està comportant un augment de les lesions de l'aparell musculoesquelètic, incloent les de cartílag.

Actualment es diagnostiquen moltes més lesions atès que les tècniques d'obtenció d'imatge han millorat significativament, i possiblement perquè es fan més artroscòpies pel tractament de parts toves com els meniscs o lligaments encreuats.

També l'augment de l'expectativa de vida, i per tant la proporció de gent d'edat avançada amb incapacitat, està demandant més investigació de noves opcions de tractament per a les articulacions danyades o malaltes. Quan una articulació es veu greument compromesa la intervenció quirúrgica actual és la substitució total de l'articulació amb una pròtesi de metall i polietilè (PT). No obstant això, hi ha una sèrie de limitacions ben documentades associades amb aquest tractament,<sup>3</sup> com ara l'afluixament asèptic i una vida útil limitada de 10-15 anys, després de la qual es requereix una cirurgia de revisió més complexa.

L'osteoartritis (OA) és una malaltia de les articulacions que pot afectar el cartílag, la membrana sinovial i l'os subcondral. L'OA s'associa generalment amb la població de més

edat i amb l'obesitat, tot i que els primers símptomes són diagnosticats cada cop en pacients més joves. Quan apareix l'artrosi el dany articular generalment va evolucionant fins que el pacient presenta dolor i incapacitat funcional.

L'any 2004, l'Organització Mundial de la Salut posicionava l'OA entre les deu primeres malalties que provoquen la pèrdua de treball a causa de la discapacitat, i el 2016<sup>4</sup> van dir que la incidència augmentaria en un 32,9% en els pròxims anys.

Durant els últims seixanta anys s'han estat utilitzant tot un seguit de tècniques quirúrgiques per tal de reparar les lesions cartilaginoses, amb resultats dispars respecte a la millora del dolor, la mobilitat i el vessament articular. Una de les últimes tècniques implementada fa 25 anys va ser el trasplantament de condrocits autòlegs recoberts amb una capa de periosti (ACI).<sup>5</sup> Posteriorment es va desenvolupar una matriu sintètica per col·locar-hi els condrocits cultivats que recobreixen el defecte (MACI).<sup>6</sup> Tot i que aquestes tècniques s'han aplicat durant tots aquests anys, tenen l'inconvenient de què calen dos actes quirúrgics, el primer per a l'obtenció de condrocits que s'hauran de cultivar i replicar, i el segon per practicar una artrotomia i accedir al defecte del cartílag per procedir al trasplantament. Alguns estudis han demostrat que els resultats clínics i histològics obtinguts després de 5 anys de la reparació amb ACI/MACI són, si més no, semblants als obtinguts amb la tècnica de les microfractures.<sup>7</sup>

#### *La medicina regenerativa i l'enginyeria de teixits per a la regeneració de cartílag.*

La medicina regenerativa<sup>8</sup> és un camp interdisciplinari que té com a objectiu la reposició o regeneració de cèl·lules, teixits o òrgans danyats estructural i funcionalment. Es troba vinculada amb diversos camps de la ciència, l'enginyeria genètica, l'enginyeria de teixits i la teràpia cel·lular avançada. Les estratègies per a futurs tractaments en medicina regenerativa passen per la introducció de cèl·lules mare o progenitores, la regeneració per inducció de diverses substàncies, i finalment el trasplantament d'òrgans i teixits cultivats *in vitro*.

L'enginyeria de teixits<sup>9</sup> és una disciplina de la biomedicina que, combinant cèl·lules, materials i eines de l'enginyeria, dissenya estructures biològiques funcionals per substituir, reparar o regenerar teixits danyats. Es basa en tècniques de laboratori mitjançant les quals es busca generar teixits o òrgans *in vitro*.

## **6. Enfocament de la recerca**

En aquest context, la present tesi s'estableix com un punt d'ancoratge entre la recerca bàsica per trobar noves possibilitats de tractament i els clínics que hauran d'aplicar els resultats obtinguts pels investigadors.

S'ha tingut en compte on s'estan produint les investigacions i en quin nivell es troben i s'ha buscat expressament com i de quina manera poden arribar als clínics.



## Disseny

El disseny de la tesi i els mètodes de recerca emprats es plantegen com la millor aproximació per resoldre els objectius plantejats.

Els tres treballs que conformen la tesi s'han realitzat a partir de diferents mètodes. La revisió d'abast fa un recull de la investigació actual, mentre que els enfocaments quantitativs i qualitativs permeten analitzar la transferència d'aquesta investigació, posant l'accent en els clínics que han d'aplicar la recerca.

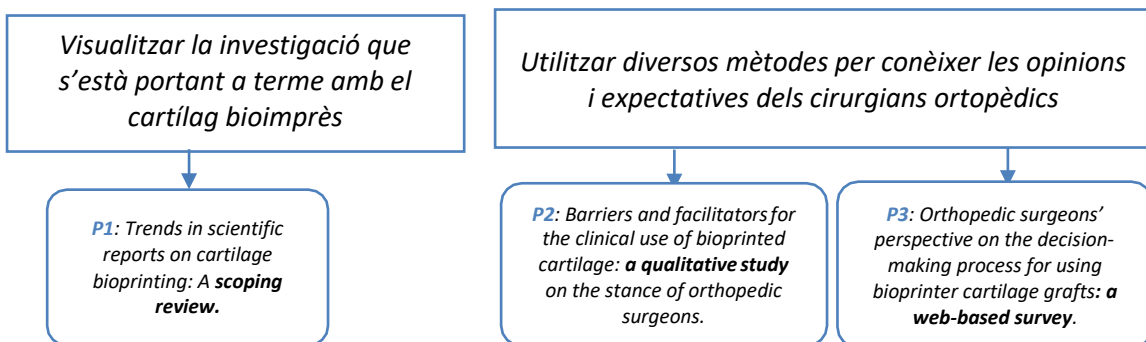


Fig. 1. Disseny de la recerca

## Mètodes

La investigació interdisciplinària és el nucli imprescindible per les aplicacions clíniques en què s'emmarca aquesta tesi. El món sanitari és molt complex i inclou aspectes socials, d'informació i de presa de decisions, així com la resolució de problemes ètics i legals que deriven de l'aplicació de noves tecnologies. El caràcter multidisciplinari d'aquesta tesi queda reflectit en l'abordatge, a partir de la recerca qualitativa, de persones de diferents disciplines per donar una visió general. Entre aquestes persones destaquen professionals de la salut, científics, químics, enginyers i empresaris de l'entorn de la bioimpressió.

Aquesta estratègia en diferents contextos i situacions, en els estudis S1, S2 i S3, ha donat una visió àmplia del tema per poder fer una transferència als clínics de la possibilitat d'ús del cartílag bioimprès.

FASE 1: Revisió bibliogràfica i d'abast - S1

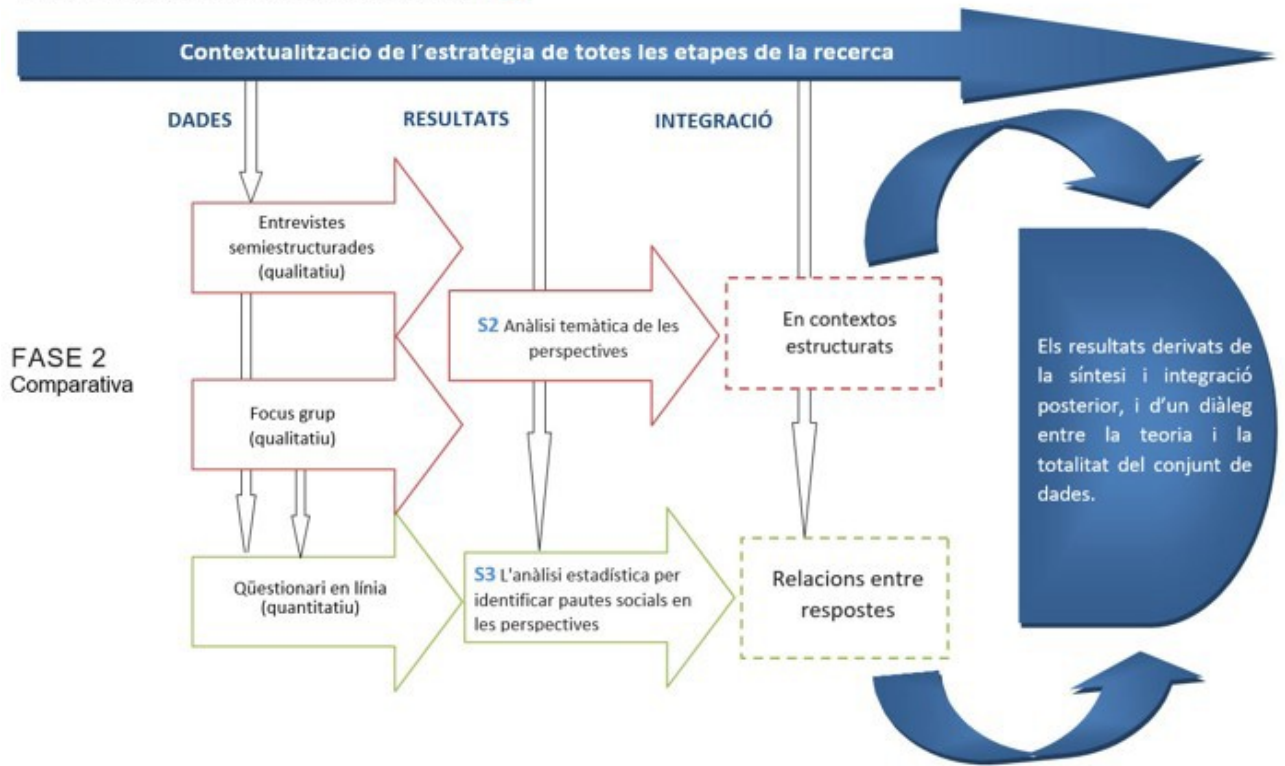


Fig. 2. Estratègia de contextualització de les etapes de la investigació. Extret de: Woolley C M. Meeting the Mixed Methods Challenge of Integration in a Sociological Study of Structure and Agency. Journal of Mixed Methods Research 2009; 3(1):7-25

---

*Capítol 2: Revisió de la literatura i l'estat de  
l'art*

---



El cartílag és un teixit de tipus connectiu, present en els éssers vius del regne animal, que té com a funció donar suport a algunes estructures i òrgans. És un teixit semirígid, la seva fermesa li permet resistir la tensió mecànica però amb més flexibilitat que l'os.

Hi ha tres tipus diferents de cartílag en el cos: el cartílag elàstic, el fibrocartílag i el cartílag hialí articular.

L'elàstic ajuda a mantenir la forma de les estructures com l'oïda i la tràquea. També forma el teixit a la part posterior de la gola que és responsable de detenir els aliments que entren a les vies respiratòries, l'epiglotis.

El fibrocartílag es troba entre les vèrtebres de la columna vertebral per protegir els discs intervertebrals.

El cartílag hialí articular es troba en les articulacions, així com entre les costelles i fins i tot al voltant de la tràquea. Aquest és el tipus de cartílag més dur, alhora que és esponjós, cosa que el fa perfecte per absorbir el xoc de caminar, córrer i saltar.

## 1. Cartílag articular

És una capa densa i prima de teixit que recobreix els extrems ossis de les articulacions sinovials. Permet la fricció i el lliscament de les articulacions. Macroscòpicament té un aspecte blanc nacrat. És un teixit únic que no està innervat ni té vasos sanguinis ni limfàtics.

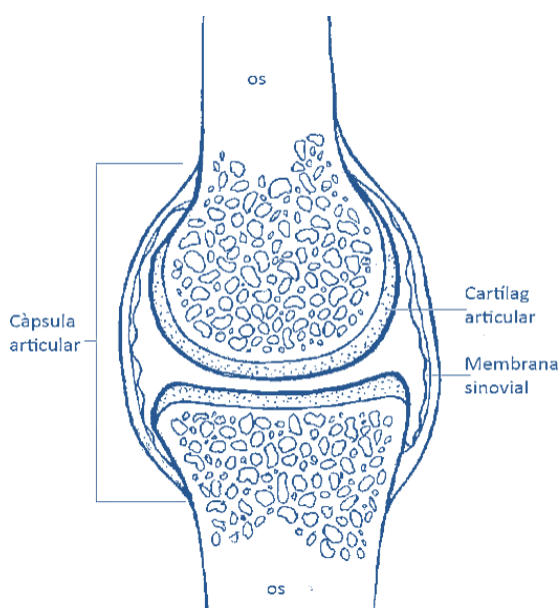


Fig. 3. Representació esquemàtica d'una articulació.

Les propietats biològiques i mecàniques úniques del cartílag articular<sup>10</sup> depenen de la interacció entre un sol tipus de cèl·lules, els condrocits, i la matriu extracel·lular (MEC).

Al llarg de la vida, el teixit cartilaginós experimenta una remodelació interna contínua a mesura que les cèl·lules substitueixen macromolècules matricials perdudes per la degradació.

L'evidència disponible<sup>1</sup> indica que la reducció de la matriu depèn de la capacitat dels

condròcits per detectar alteracions en la composició i organització macromolecular de la mateixa, inclosa la presència de molècules degradades, i respondre sintetitzant noves molècules del tipus adequat.

Una disminució perllongada en l'ús de l'articulació condueix a alteracions en la composició de la matriu i finalment a la pèrdua de l'estructura del teixit i de les propietats mecàniques, mentre que l'ús continuat de l'articulació estimula l'activitat sintètica dels condròcits i possiblement la remodelació del teixit intern.

L'envelliment es produeix pel descens de la quantitat d'aigua i dels proteoglicans (controïtina-4 sulfat i queratina-sulfat) i condueix a alteracions en la composició de la matriu i l'activitat dels condròcits.

## **1.1. Composició**

Histològicament, el cartílag està compost per una població de condròcits que es troba immersa en la MEC altament especialitzada. Les cèl·lules presents en el teixit cartilaginós compleixen diverses funcions, sent la principal la síntesi de la MEC.

A l'interior de la MEC aquestes cèl·lules interactuen amb altres, tot i que principalment ho fan amb el medi extracel·lular i la MEC. Una característica important de les cèl·lules presents en el teixit cartilaginós és la capacitat de dur a terme un mecanisme d'adhesió de les cèl·lules a la MEC per poder mantenir l'organització del teixit i contribuir a la seva 30 estabilitat mecànica.<sup>12</sup>

### **1.1.1. Les cèl·lules**

El teixit cartilaginós està compost per una població cel·lular en la qual es distingeixen tres tipus de cèl·lules, els condrogens o condroprogenitors, els condroblasts i els condròcits.

#### *Les cèl·lules condrogèniques o condroprogenitores:*

Són les que deriven de les cèl·lules mare mesenquimals. Des del punt de vista morfològic, són estretes, en forma de fus i escàs citoplasma. Aquestes cèl·lules posseeixen un aparell de Golgi petit, poques mitocòndries, reticle endoplasmàtic rugós desenvolupat i ribosomes lliures. Aquestes generalment es poden diferenciar en condroblastos, i en algunes circumstàncies, poden diferenciar-se en cèl·lules osteoprogenitores.<sup>12</sup>

#### *Els condroblasts*

Aquests deriven de les cèl·lules condroprogenitores i de les cèl·lules condrogèniques ubicades a la capa interna del pericondri. El condroblast presenta un citoplasma basòfil, però a mesura que madura va perdent la basofília i es torna acidòfil.

Els condroblasts són els encarregats de sintetitzar la matriu cartilaginosa. Una vegada queden envoltats per aquesta, passen a denominar-se condròcits.

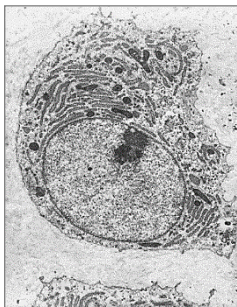
#### *Els condròcits*

Els condrocits són principalment d'origen mesodèrmic i són els únics constituents cel·lulars del cartílag normal. Els condrocits del cartílag articular persisteixen i normalment no es divideixen després d'aconseguir la maduresa esquelètica. Els que es troben a la placa de creixement, l'epífisi, es diferencien per facilitar l'ossificació endocondral, després de la qual poden patir apoptosi o convertir-se en osteoblasts.<sup>13</sup>

Els condrocits són cèl·lules metabòlicament actives que sintetitzen i facturen un gran volum de components de matriu extra-cel·lular com el col·lagen, les glicoproteïnes, els proteoglicans i l'àcid hialurònic. Les activitats metabòliques dels condrocits es veuen alterades per molts factors presents en el seu entorn químic i mecànic.

Els condrocits només ocupen d'un 1% a un 5% del teixit total.<sup>13</sup> Són cèl·lules especialitzades que produeixen i mantenen la MEC, es poden trobar soles o en cúmuls, secretant no només col·lagen, sinó també tots els glicosaminoglicans i proteoglicans.

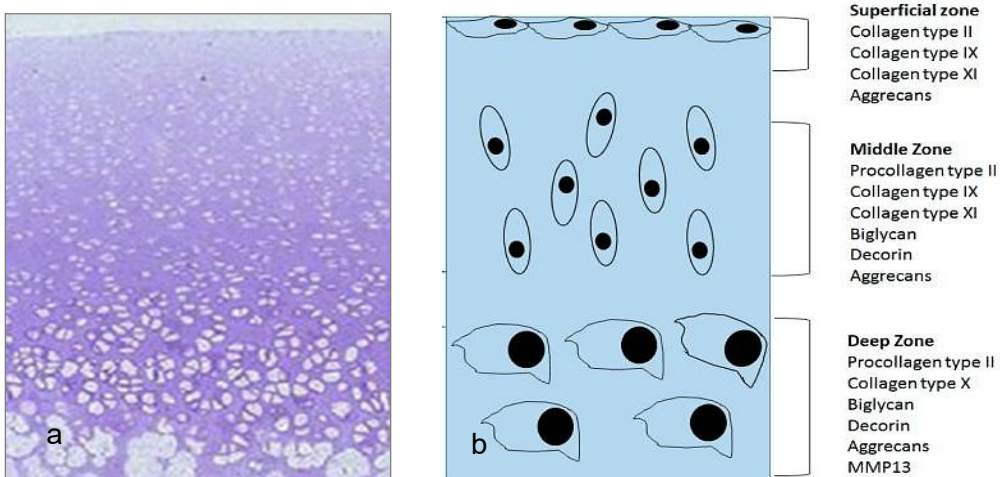
Aquestes cèl·lules mesuren aproximadament entre 10-30µ i presenten un nucli gran amb nuclèol prominent. Els condrocits joves tenen abundants mitocondris, un reticle endoplasmàtic rugós i un aparell de Golgi ben desenvolupat, i contenen grànuls de glucogen i lípids que serveixen de reserva energètica. A més a més, sintetitzen principalment col·lagen II i agrecà, que són les principals molècules de la MEC cartilaginosa.<sup>14</sup>



**Fig. 4.** Cèl·lules aïllades activen el metabolisme i segregació de components de la matriu. Vega JA, Salvador A. *Ciencias Básicas: Cartílago. Documento de conferència. 2000 DOI: 10.13140 / 2.1.4448.3842*

31

La densitat cel·lular és més gran en el nivell més superficial, disminuint en els nivells més profunds.<sup>14</sup> La densitat de condrocits també disminueix amb l'edat.



**Fig. 5a** La mesura i la forma de les cèl·lules: a prop de la superfície articular, les cèl·lules són petites i aplanades horitzontalment; Amb una profunditat creixent, es tornen més grans, més rodones i, en última instància (prop de la

frontera d'invasió vascular) de forma irregular. En el cartílag articular adult, els condrocits s'organitzen en diferents columnes verticals i zones horitzontals (superficial / tangencial, de transició, superior i inferior radial, i calcificades). (Imatge de Osteoarthritis and Cartilage 2007 15, 403-413DOI: 10.1016/j.joca.2006.09.010)

**Fig.5b.** Organització del cartílag articular normal. Les zones superficials, mitjanes i profundes i la seva matriu extracel·lular es divideixen mitjançant diferents seccions.

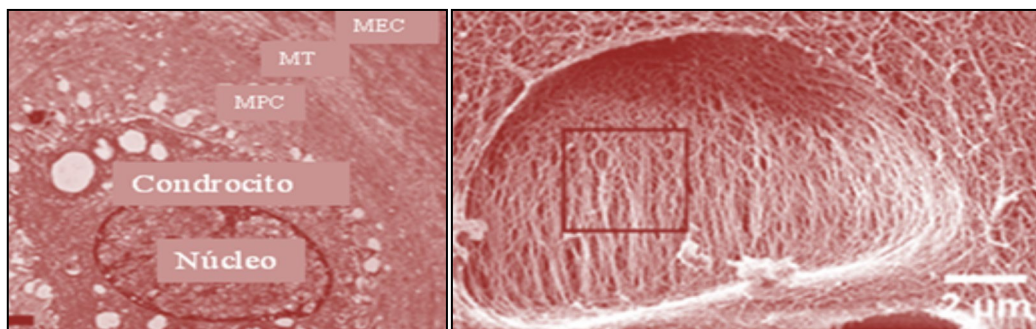
Segui per envelliment o altres causes, es produeix una menor producció de col·lagen, fent que la funció protectora de la matriu es vagi reduint, deixant les cèl·lules restants més exposades a danys mecànics.

### 1.1.2. La matriu extracel·lular (MEC)

La MEC és la substància intercel·lular que conforma el medi d'integració fisiològic del teixit cartilaginós. La seva naturalesa bioquímica és complexa i ve determinada per una confluència d'estímuls, i es pot veure afectada per canvis cel·lulars o d'altres tipus.

És un gel semi sòlid, que sustenta les cèl·lules presents en el teixit cartilaginós on es troben immerses. És una xarxa complexa de macromolècules auto acoblades produïdes per les cèl·lules, que atorguen suport estructural. A més a més, moltes molècules de la MEC poden regular diversos processos cel·lulars pel fet que actua com a reservori per factors de creixement i citoquines.<sup>15</sup>

Està composta aproximadament per un 70% d'aigua en forma de gel col·loidal ferm que compleix un paper fonamental en la nutrició del teixit cartilaginós, a través del qual es produeix la difusió de nutrients i gasos.<sup>15</sup> La resta dels components són molècules sòlides, en un 20%-30%. Dins d'aquest percentatge de composició sòlida el 60% correspon a col·lagen, 30% a proteoglicans i 10% a altres molècules.<sup>16</sup>



**Fig.6.** Imatge de microscopi electrònic de transmissió. A) S'observa un condrocit envoltat de la matriu extracel·lular (MEC), en el qual s'aprecien zones de matriu pericel·lular (MPC) i de matriu territorial (MT). B) Càpsula pericel·lular a major augment (imatges A i B modificades de: Wilusz, R.E., J. Sanchez-Adams, and F. Guilak, The structure and function of the pericellular matrix of articular cartilage. Matrix Biol, 2014;39:25-32).

La MEC del cartílag articular madur es relaciona directament amb el volum de condrocits, i es compon de tres tipus principals de macromolècules: fibres de col·lagen i elastina, proteoglicans i glicoproteïnes, que se sintetitzen i es mantenen pels condrocits. Presenta característiques específiques que estan en estreta relació amb les seves cèl·lules i la seva funció.

#### Fibres col·làgenes

Aquestes són les fibres més abundants a la MEC de l'organisme. El col·lagen és la proteïna



més abundant en el cos humà,<sup>17</sup> sent el principal component fibril·lar de la MEC. Aquesta proteïna s'entrecreu amb els agregats de proteoglicans<sup>18</sup> i altres proteïnes constitutives de la MEC.

El col·lagen és una proteïna constituïda per tres cadenes polipèptiques (cadenes  $\alpha$ ), compostes pels aminoàcids prolina, lisina i hidroxiprolina.<sup>19</sup> És una molècula llarga, rígida i estructurada en triple hèlix. A cada molècula de col·lagen les tres cadenes s'enrosquen entre si formant una estructura en corda, aquesta estructura fa a la molècula resistent a la degradació enzimàtica.

En l'actualitat s'han identificat 28 tipus de col·lagen en humans,<sup>20</sup> sent el col·lagen tipus II, en la seva variant *Ila* i *Ilb*, el més abundant i representatiu del teixit cartilaginós (90-95%).<sup>21</sup> No obstant això, altres tipus de col·lagen es troben en quantitat variable en el teixit cartilaginós, sent els tipus I, IV, V, VI, IX i XI els que són presents i ajuden a establir la xarxa de fibres col·làgenes.

La principal funció de les fibres col·làgenes és resistir a les forces de tensió i compressió i establir la MEC.<sup>22</sup> El col·lagen X només es troba en el cartílag hipertròfic.<sup>23</sup>

#### *Components no fibril·lars*

El component no fibril·lar de la MEC està format per diverses molècules, les quals estan immerses en la substància fonamental, que és clara, viscosa i està composta principalment per aigua, però també de glicosaminoglicans (GAGs), proteoglicans i glicoproteïnes.

La substància fonamental representa aproximadament el 80% de la composició del cartílag i ocupa l'espai entre les cèl·lules i fibres, funcionant com el mitjà per difondre el líquid tissular que conté tant ions orgànics de sodi, calci, clor i potassi i els nutrients com els productes de rebuig.<sup>24</sup>

Els principals GAGs presents són l'àcid hialurònic, la condroitina, el dermatan, el queratan i el heparan. Tots aquests són sulfatats, a excepció de l'àcid hialurònic.<sup>13</sup> Aquests GAGs són sintetitzats en el complex de Golgi, però l'àcid hialurònic (no sulfatat) és sintetitzat per les proteïnes integrals de membrana (HA) sintases.<sup>25</sup>

La naturalesa hidròfila dels GAGs és la que fa a la MEC resistent a les forces de compressió. La quantitat de GAGs en la matriu depèn del tipus de teixit, l'edat i el microambient.<sup>26</sup> Aquests s'uneixen a una proteïna central i constitueixen els proteoglicans

Els proteoglicans són molècules de la MEC formades per un nucli proteic unit covalentment a una o més cadenes de GAGs. Són complexes, n'hi ha en forma de monòmers o d'agregats units a l'àcid hialurònic. Són cabdals en la senyalització química entre cèl·lules.

Les glicoproteïnes són proteïnes unides a carbohidrats. Aquestes molècules es troben a la MEC i en les unions cel·lulars.<sup>27</sup>

## Aigua

Constitueix el component més abundant del cartílag d'un 60% a un 80%. Permet la deformació del cartílag en resposta a l'estrès, fluint dins i fora del mateix. La seva quantitat és més gran en superfície que en profunditat. És molt important per a la nutrició del cartílag i per a la lubricació articular.

## Ac. Hialurònic

És un factor important del cartílag articular. Està constituït per cadenes de carbohidrats complexos, en concret uns 50.000 disacàrids de N-acetilglucosamina i àcid glucurònic per molècula.<sup>28</sup> Té la propietat de retenir grans quantitats d'aigua i d'adoptar una conformació estesa en dissolució, pel que és útil a l'hora d'encoixinar o lubricar. El pes molecular de l'àcid hialurònic al cartílag disminueix amb l'edat, però la quantitat augmenta.

### 1.1.3. Líquid sinovial

És el líquid produït en la membrana cel·lular per ultrafiltració plasmàtica. Es produeix poca quantitat i exerceix un paper fonamental en el comportament biomecànic del cartílag articular, lubrica i nodreix el cartílag, sent la principal font de nutrients en un teixit avascular.

El líquid sinovial és un dipòsit dinàmic de les proteïnes derivades del cartílag i del teixit sinovial; per tant, la seva composició pot servir com un bio-marcador que reflecteix la salut i condició fisiopatològica de l'articulació.

La capacitat lubricant i el de fricció del líquid sinovial en el cartílag s'aconsegueixen mitjançant la combinació de l'acció sinèrgica de tots: l'àcid hialurònic de la zona superficial i els fosfolípids en concentracions fisiològiques.<sup>29,30</sup>

## 1.2. Estructura i fisiopatologia

La composició i l'organització estructural del cartílag articular en l'ésser humà adult dóna resposta al paper tan especialitzat d'aquest teixit en les articulacions. Tot i la quantitat d'informació de què es disposa, encara hi ha molts aspectes del procés que romanen desconeguts. Els darrers 25 anys han sigut clau per identificar moltes de les proteïnes que conformen el cartílag, així com molts col·làgens, proteoglicans i altres molècules, juntament amb alguns dels seus processos bàsics.<sup>1</sup>

Es distingeixen quatre zones:

*La zona superficial* (tangencial), representa del 10-20% del gruix de cartílag, limita amb la cavitat sinovial, la major composició és de lubricin i de proteïnes de superfície.<sup>32</sup> Les cèl·lules ubicades en aquesta zona sintetitzen col·lagen I. Posseeix pocs proteoglicans ja que se sintetitzen poc i es degraden amb facilitat. Les fibres col·làgenes es troben orientades paral·lelament a la superfície articular. La zona superficial compta un gran nombre de condrocits aplanats i més petits. La integritat d'aquesta capa determina la protecció de les zones més profundes. Aquesta zona, a l'estar en contacte amb el líquid

sinovial, és responsable de les propietats mecàniques del cartílag, com la seva resistència a les forces verticals de tensió i compressió.<sup>33</sup>

*Una zona intermèdia* (de transició), que representa del 40% al 60% de gruix de la zona. Les cèl·lules són més arrodonides, s'observa la presència de col·lagen tipus VI i el proteoglicà més abundant és la decorina.<sup>21</sup> En aquesta zona les fibres col·làgenes es troben distribuïdes obliquament i els condrocits són esfèrics i es troben en menor quantitat. És la primera línia per a la resistència a forces compressives.<sup>33</sup>

*La zona profunda* (radial) és la responsable de la resistència a la compressió i representa aproximadament el 30% del volum articular. Les fibres col·làgenes tipus II estan distribuïdes de manera perpendicular a la superfície articular. La zona profunda posseeix fibres col·làgenes de gran diàmetre en disposició radial.<sup>34</sup> En aquesta zona els condrocits estan més escampats i ubicats en forma de columnes paral·lels a les fibres col·làgenes, i les proteïnes més abundants són el col·lagen tipus II i l'agrecà.<sup>33</sup> També posseeix un alt contingut de proteoglicans i una baixa concentració d'aigua. L'orientació vertical d'aquesta xarxa comença a l'interval cartílag-os i continua a través de la zona de cartílag calcificat i la zona radial. Aquestes fibres comencen a corbar-se ja en la zona de transició, assumint una orientació tangencial respecte a la superfície del cartílag articular.

*La zona calcificada* es troba en contacte amb la zona subcondral on el cartílag comença a mineralitzar-se, a més conté col·lagen X.<sup>21</sup> En aquesta zona es troben dipòsits d'hidroxiapatita i els condrocits adopten una disposició en columnes verticals cap a la superfície articular. Aquesta capa també té la funció de fixar el cartílag a l'os subcondral.

Per comprendre el comportament biomecànic del cartílag cal observar-lo com un teixit bifàsic, compost d'una fase fluïda aquosa i una fase sòlida composta per MEC, la qual és permeable i presenta porositats.<sup>35</sup>

Quan el cartílag és sotmès a una càrrega ràpida es produeix un increment de la pressió del líquid intersticial, causant que el líquid surti de la MEC, el que dona origen a una gran resistència a la fricció per part del teixit.<sup>36</sup> La baixa permeabilitat del cartílag articular evita que el líquid que ha sortit de la matriu quedi fora d'aquesta.

Al llarg de la vida, el teixit està sotmès a una remodelació interna contínua, ja que les cèl·lules reemplacen les macromolècules de la matriu perdudes com a conseqüència de la degradació.

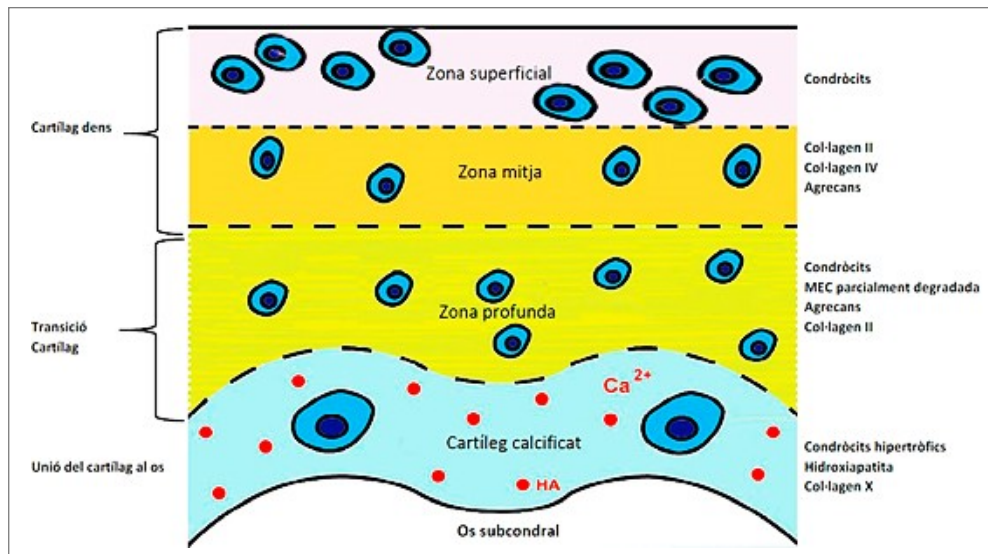


Fig. 7. Esquema de les capes del cartílag articular

La regulació de la biologia del cartílag depèn de:

- Factors de creixement: que són de síntesi extra cartilaginosa i augmenten la producció de la MEC i d'inhibidors tissulars de les metalproteasas de la matriu (TMPs).
- Interleucines: sintetitzades pels condrocits, cèl·lules sinovials i cèl·lules inflamatòries, disminueixen la síntesi de la MEC i augmenten la síntesi de les proteasas.

### 1.2.1. Nutrició i funció

36

Com a teixit avascular, el cartílag es nodreix fonamentalment a partir del líquid sinovial, procés en el qual està molt implicat el mecanisme de lubricació articular, encara que la capa més profunda (1/3 aproximadament pel que fa a gruix) es pot nodrir a partir de la vascularització epifisària<sup>37</sup>.

Cal dir que en aquests moments, malgrat les nombroses investigacions realitzades, la nutrició del cartílag articular continua sent objecte de discussió. Algunes de les qüestions que es debaten són les següents:

Considerant la via de la nutrició sinovial:

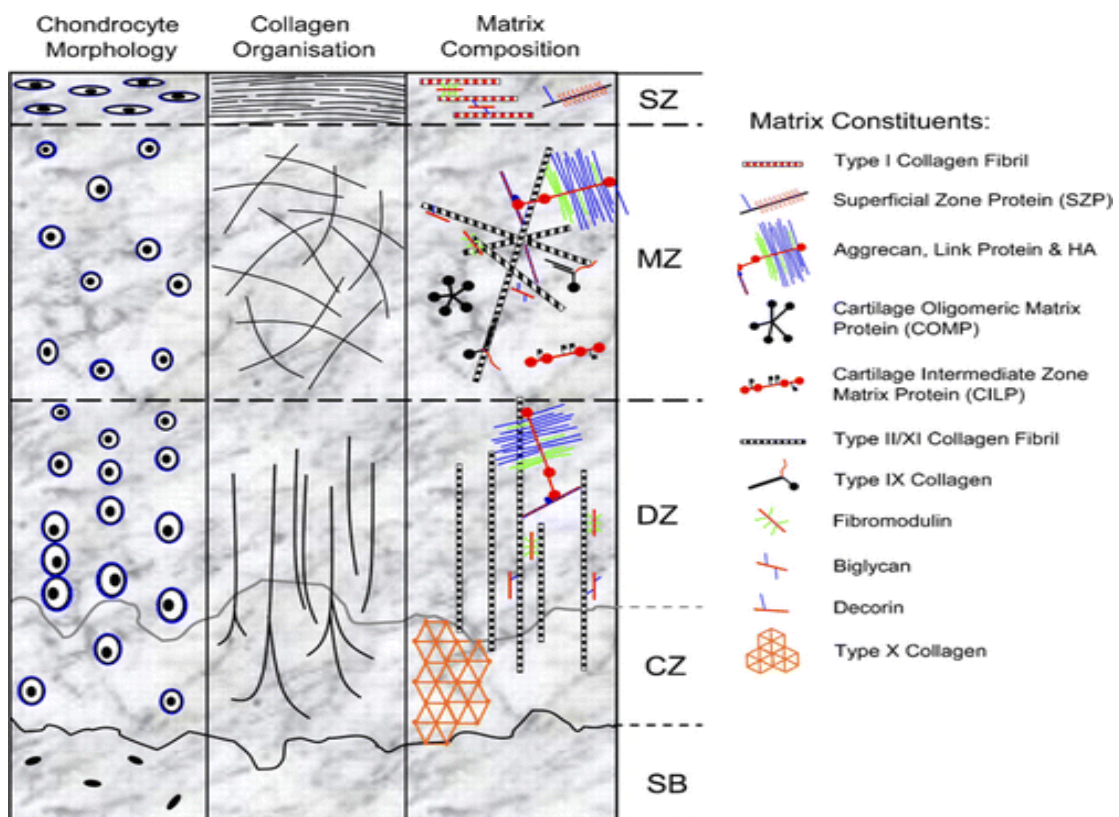
- L'efecte de bombeig, provocat pel moviment i la càrrega articular alternativa amb fases de repòs; i la gran superfície de cartílag articular en contacte amb la membrana sinovial.
- La supervivència dels cossos lliures d'origen cartilaginós en l'articulació.
- La impossibilitat de pas de diferents substàncies a través de l'os subcondral, quan s'ha assolit la maduració esquelètica, per l'acció de barrera de la capa calcificada.<sup>38</sup>

Pel que fa a la nutrició per difusió a partir de l'os subcondral:

- Quan es realitzen sinoviectomies el cartílag continua viu.
- La persistència de canals vasculars en grans mamífers després de la maduració i que, per tant, nodreixen capes més profundes del cartílag.
- L'aparició de canvis artròsics quan es perd la vascularització de l'os subcondral.<sup>39</sup>

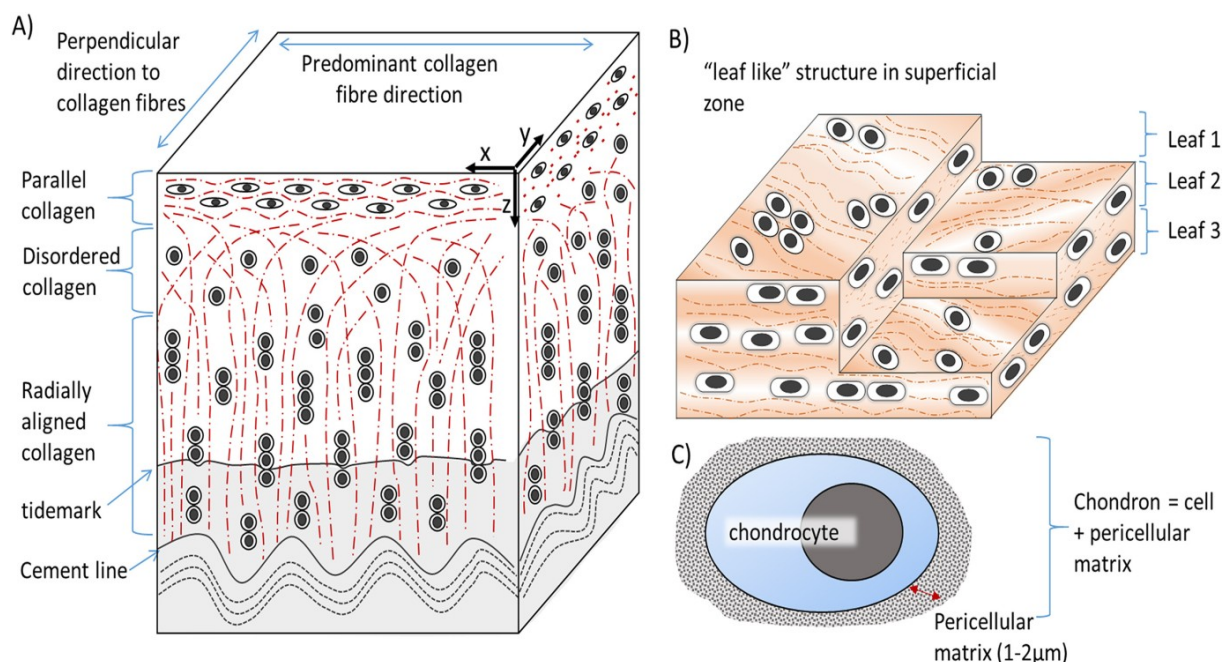
És possible que ambdues teories siguin vàlides i complementàries, considerant en primer lloc la via sinovial com a principal medi d'aportació de nutrients al cartílag hialí i acceptant l'existència de la via vascular amb una funció secundària.

Les propietats mecàniques compressives s'atribueixen principalment al contingut de proteoglicans,<sup>40</sup> però la xarxa de col·lagen també pot tenir un paper essencial en la definició de les propietats de compressió del cartílag.<sup>41</sup>



**Fig. 8.** Esquema que resumeix l'organització macromolecular del cartílag articular madur. El teixit consta de quatre zones diferents: superficial (SZ); mitja (MZ), profunda (DZ), i una zona de matriu de cartílag calcificada (CZ), per sota del qual es troba l'os subcondral (SB). Cada zona és diferent en termes de la seva morfologia cel·lular (panell esquerre), l'organització de la fibra de col·lagen (panell central) i la composició bioquímica de la seva matriu extracel·lular (MEC) (panell dret). Els components de matriu de cada zona del cartílag es presenten com a esquemes moleculars. Imatge extreta de Hayes A, et als. *Macromolecular Organization and In Vitro Growth Characteristics of Scaffold-free Neocartilage Grafts. J Histochem Cytochem*, 2007. 55(8): p. 853-66.





**Fig. 9.** Diagrama esquemàtic per mostrar el canvi en l'estructura del cartílag (A) en profunditat, (B) l'estructura superficial "leaf like" i (C) un condron. Imatge de: Mansfield JC, et als.. *The micromechanics of the superficial zone of articular cartilage. Osteoarthr Cartil.* 2015; 23(10):1806–16.

### 1.2.2. Comportament mecànic

L'entorn mecànic del condrocit és un factor important que influeix en la salut i la funció de les articulacions. Els condrocits del cartílag articular utilitzen senyals mecànics en relació amb altres factors mediambientals, genètics, extrínsecs i intrínsecs hormonals i / o paracrins o autocrins per regular la seva activitat metabòlica. Aquesta capacitat proporciona els mitjans pels quals el cartílag articular pot alterar la seva estructura i composició per satisfer les demandes físiques del cos.<sup>42</sup>

Les propietats mecàniques inclouen la resposta del cartílag en càrregues de fricció, compressió, cisallament i tracció. El cartílag és resistent i mostra propietats viscoelàstiques. Durant la marxa, el cartílag articular es veu sotmès a pressions que oscil·len de 0 a 10 vegades respecte a les del pes corporal. L'aplicació d'aquestes pressions es dona en petites àrees que es van desplaçant al llarg de tota la superfície articular, a mesura que l'articulació es mou, provocant un considerable estrès. Les fibres de col·lagen i els proteoglicans donen al cartílag una ultraestructura que li confereix la consistència elàstica. Els cisallaments i friccions als que està sotmès són absorbits per les fibres de col·lagen, mentre que les sol·licitacions verticals, de compressió, ho són pels proteoglicans.<sup>43</sup>

## 2. Tractaments quirúrgics en ús pels defectes focals

L'aparició de dolors articulars després de traumatismes directes sobre les articulacions ha estat motiu constant de consulta per part dels pacients. Paradoxalment es va menysprear la situació en absència d'una fractura visible en l'estudi radiològic i no va provocar

històricament gran interès entre els metges i investigadors en la recerca d'una explicació per a aquesta problemàtica. L'estudi de Ficat C.<sup>44</sup> va ser un dels primers a relacionar el traumatisme per impacte articular i l'aparició posterior d'un procés degeneratiu.

Els traumatismes per impacte simple o repetitiu, amb una força suficient, són capaços de produir una degeneració del cartílag articular, que pot arribar fins a la capa calcificada i l'os subcondral igual que s'observa a l'artrosi, si bé la mobilitat articular precoç de forma controlada pot tenir un efecte reparador.<sup>45</sup>

El cartílag articular distribueix la càrrega entre els ossos que la formen l'articulació, per evitar altes tensions en les àrees del punt de suport de càrrega dins de l'articulació i proporcionar una superfície de baixa fricció, irrigada tota ella pel líquid sinovial.

En la maduresa esquelètica, el cartílag articular no cicatritza ni es regenera espontàniament si està danyat, independentment de si aquest dany ve originat per un traumatisme agut o per una degeneració progressiva mecànica. El cartílag madur no disposa d'una capacitat de reparació intrínseca.

Les lesions del cartílag de les grans articulacions de càrrega es poden produir a causa d'un elevat nombre de situacions: des de petites lesions agudes, que poden ser actualment diagnosticades per artroscòpia, i no són necessàriament simptomàtiques, fins a lesions més grans, problemes degeneratius crònics simptomàtics, o desalineacions articulars en *varo* o *valgo*.



**Fig. 10.** Telemetria: traçat de la línia de Mikulicz (línia maluc-genoll-turvell), que connecta el centre del cap femoral amb el centre de la cúpula astragalina. En una extremitat normo alineada aquesta línia es troba entre els dos mal·lèols. En aquest cas es tracta d'un genoll en desviació en varo.

L'etiologia de l'osteoartritis (OA) està ben definida, i el concepte primari implica una homeòstasi desequilibrada, és a dir, la secreció i la degradació de components de la MEC.

## 2.1. Tipus de lesions

Es descriuran les superficials o condrials i les profundes o osteocondrials. No es farà esmena de les lesions degeneratives ni d'aquelles degudes a malalties reumàtiques, les de desalineaments dels eixos de càrrega articular, o les d'etiologia genètica. Les lesions profundes o osteocondrials estan relacionades amb malalties tipus osteocondritis dissecant.

La incidència exacta de les lesions condrials simptomàtiques en la població general és desconeguda. En alguns estudis epidemiològics a gran escala les lesions del cartílag s'observen en el 5-11% de les artroscòpies diagnòstiques, en les poblacions d'adults predominantment joves amb dolor articular.<sup>46</sup> No obstant això, les lesions condrials focals són sovint resultats coincidents a altres lesions, per exemple, en el genoll amb les ruptures de menisc o de lligaments encreuats.

### 2.1.1. Graus de lesions condrials

Hi ha diverses classificacions per valorar la gravetat de les lesions del cartílag articular. Es basen principalment en la visualització del defecte, de manera que pot existir gran variabilitat entre observadors. De les classificacions existents a la literatura, l'establerta per Outerbridge el 1961 és la més emprada. S'estableixen quatre graus:

- Grau I: Inflamació i reblaniment del cartílag articular.
- Grau II: Grau I amb fissuració en zones  $\leq 1,25$  cm de diàmetre.
- Grau III: Grau I amb fragmentació en zones  $>$  de 1,25 cm de diàmetre.
- Grau IV: Erosió del cartílag que arriba fins a l'os subcondrial.

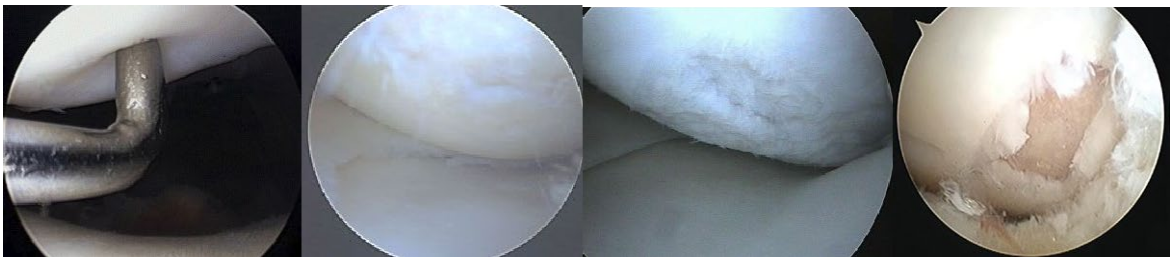


Fig. 11. Imatges d'artroscòpia de lesions del cartílag articular que il·lustren la classificació per graus d'Outerbridge

Recentment, l'*International Cartilage Repair Society* (ICRS) ha proposat una nova escala de valoració i descripció del dany de la superfície del cartílag articular, en la qual s'inclou la osteocondritis dissecant, amb la finalitat de crear un llenguatge més universal per a la comunicació i difusió dels avenços en patologia del cartílag.

## 2.2. Tècniques quirúrgiques

Hi ha un gran nombre de procediments quirúrgics que s'han estat utilitzant pel tractament de lesions condrials.

### *Tècniques reparadores*

Les tècniques de reparació inclouen l'estimulació òssia, com l'artroplàstia d'abradió, les perforacions fins a os subcondrial, i les microfractures. Totes elles indueixen la formació de teixit de reparació de tipus fibrocartilaginós. Si bé els resultats clínics a curt termini mostren bons resultats, la durabilitat clínica de la medul·la òssia estimulada per reparar el teixit ha mostrat una disminució funcional progressiva en els seguiments posteriors realitzats.

- a. Amb l'abradió<sup>47</sup> s'elimina el teixit del cartílag i de l'os subcondrial escleròtic,



exposant la vascularització i refrescant el llit de la lesió per potenciar l'organització de coàguls de sang i afavorir la formació de teixit fibrós.

b. L'estimulació medul·lar, descrita per K.H. Pridie el 1959 i posteriorment millorada per Steadman,<sup>48</sup> es fonamenta en la reparació del cartílag lesionat gràcies al sagnat local que es produeix al perforar la placa òssia subcondral amb una agulla de Kirchner o amb un punxó, permetent la formació d'un coàgul ric en factors de creixement i poblat per algunes cel·les pluripotencials procedents de la medul·la òssia que, juntament amb els fibroblast, formaran un nou teixit de tipus fibrocartilaginós. Tot i el temps transcorregut, aquest procediment encara s'utilitza per la seva disponibilitat, tècnica senzilla, i poc cost.

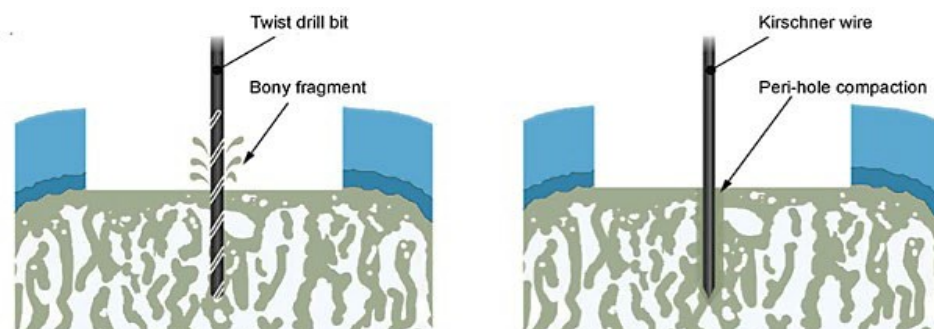


Fig. 12. Perforacions fins a l'os subcondral amb broca o kirschner. Gao et al. *Disease Models & Mechanisms* 2018; 11.

Tot i el temps transcorregut, aquest procediment encara s'utilitza per la seva disponibilitat, tècnica senzilla, i poc cost.

41

c. Les microfractures,<sup>49</sup> procediment semblant al Pridie, però amb broca i perforacions molt més precises i petites, es realitza practicant entre 4 i 6 perforacions per cm<sup>2</sup>. Implica la penetració fins a l'os subcondral per causar sagnat que al seu moment forma un coàgul de sang ple de cèl·lules mare de la medul·la òssia. L'objectiu és que aquestes cèl·lules estimulin la reparació, però aquest procediment sovint dóna lloc a fibrocartílag inferior.<sup>49</sup> Tot i així, és la tècnica de referència pel tractament de les lesions condrials i el control amb el que es comparen totes les altres.

Actualment es practiquen microfractures podent-hi afegir:

- Chitosan: BST-CarGel® és una solució basada en biopolímers que es barregen amb la sang del pacient i s'implanten en el llit de la lesió després d'un procediment de microfractura. Millora l'adhesió i l'estabilització del coàgul. Millora la composició bioquímica i l'organització del teixit a reparar (col·lagen tipus II, glicosaminoglicans).
- CartiFill™, mesclat amb fibrina (Tissucol).

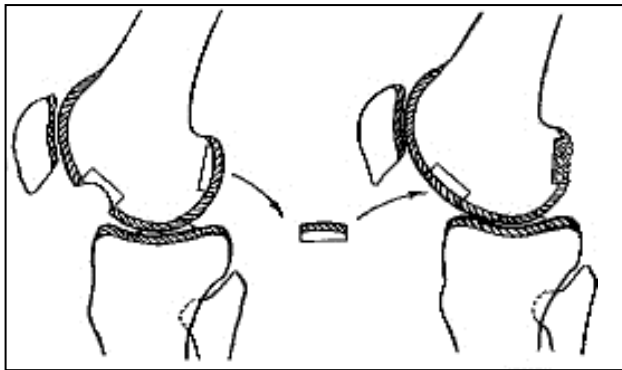
En la bibliografia analitzada es constata que les microfractures són efectives en lesions

menors i acostumen a associar-se a una major proporció de producció de fibrocartílag, que pot tenir un efecte sobre la durabilitat i el possible fracàs.<sup>50</sup>

### Tècniques reconstructives

Algunes de les tècniques de reconstrucció utilitzades són l'autoempelt osteocondral, la mosaicoplàstia<sup>51</sup> i l'al·loempelt osteocondral per substituir el defecte de cartílag, ja sigui amb el del propi pacient, però d'una altra localització, o de donant en una sola intervenció.

- a. L'autoempelt osteocondral autòleg: ja en els anys 60 del passat segle, Wagner va preconitzar els autoempelts per l'osteocondritis dissecant.



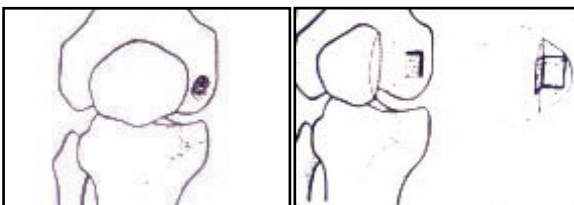
**Fig.13.** Tècnica de Wagner. Wagner, H. *Traitement opératoire de l'ostéocondrite disséquante cause de l'arthrite déformante du genou* Rev. Chir. Orthop.,50, 335-352, 1964

- b. Actualment, la mosaicoplàstia<sup>52</sup> és una tècnica semblant, no únicament per la osteocondritis, que recull petits empelts circulars de la mateixa articulació però d'altres zones i el seu trasplantament posterior en un patró de mosaic, dins del defecte osteocondral existent, fins que queda totalment recobert. En el genoll, habitualment els empelts s'obtenen de la perifèria de la tròclea. Les indicacions clàssiques inclouen pacients menors de 45 anys, amb defectes osteocondrals de grandària moderada, generalment de 3 a 5 cm.



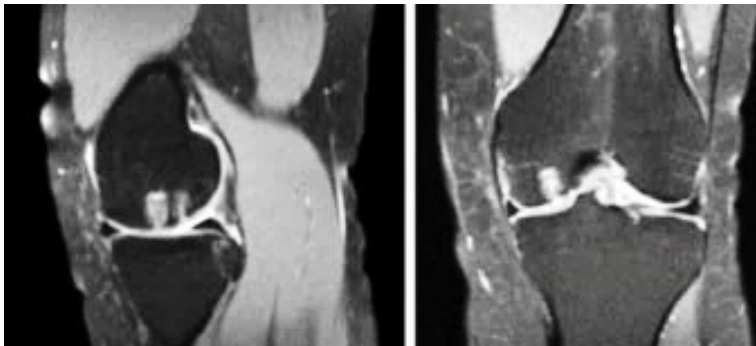
**Fig. 14.** Tècnica de Mosaicoplàstia. Imatge del servei de COT Hospital Plató.

per una modificació d'autoempelt procedent de la ròtula.



**Fig. 15.** Autogreffe osteo-cartilagineuse rotule-condyle. Navés J. 12<sup>e</sup> Congrès International de Chirurgie Orthopédique Tel Aviv, pag.980, 197254

- c. Al·loempelt osteocondral procedent de banc és un tractament eficaç pels defectes en zones de càrrega, ja que no s'ha d'extreure d'altres llocs de l'articulació, però el procediment està limitat per l'escassetat d'empelts de banc. La substitució completa d'una articulació danyada representa una possible solució. Els al·loempelts s'han utilitzat en la cirurgia de recat de les extremitats després d'un traumatisme greu o de la resecció de tumors ossis malignes, sols o en associació amb una pròtesi.<sup>53</sup> Els inconvenients d'aquests al·loempelts inclouen l'absència de supervivència del condrocits, i per tant el seu potencial curatiu es redueix, i al mateix temps s'ha de tenir en compte el risc de possibles fractures.
- d. Com a substitut de l'empelt ossi en les mosaicoplàsties estan els cilindres sintètics,<sup>54,55</sup> com ara el comercialitzat amb la marca TruFit® fabricat a partir d'una barreja de poli DL-lactida-co-glicólida, sulfat de calci, fibres de poliglicolida i tensioactius, que es reabsorbeix i es transforma en os, durant el procés de curació.



**Fig. 16.** Imatge dos anys després de la col·locació del cilindre sintètic TruFit. Paul Hindle P.et al. Autologous osteochondral mosaicplasty or TruFit™ plugs for cartilage repair. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*

- e. Recobriments metàl·lics:<sup>56</sup> també s'han utilitzat materials no reabsorbibles com a recobriments metàl·lics del focus lesionat, amb material tipus alumini o titani, impactat directament. Aquesta tècnica es va abandonar molt aviat, per un problema de fixació del material metàl·lic.



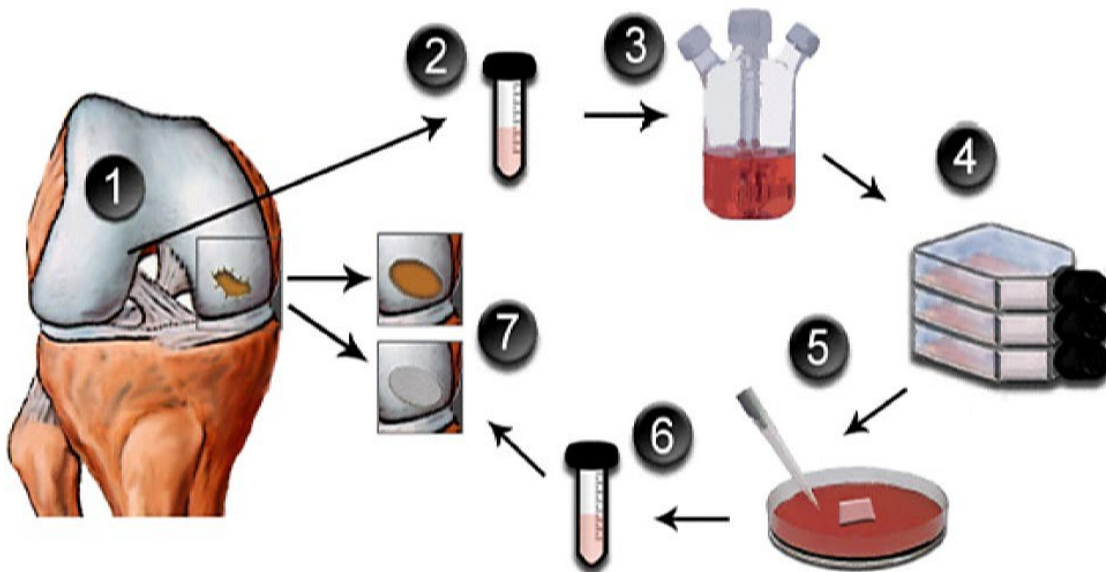
**Fig. 17.** Mini-hemi-artroplàstia. Navés J, Puig M, Salvador A. 1976

### *Tècniques regeneratives*

La tècnica d'implantació de condrocits autòlegs<sup>57</sup> consisteix en un procediment en dos passos: un primer pas que consisteix en una cirurgia per extreure una mostra de condrocits i poder expandir-la *in vitro*, i un segon per implantar-ho després del seu cultiu.

- a. El procés pel trasplantament de condrocits autòlegs o ACI es va publicar per primera vegada el 1994. Amb aquesta tècnica es tracten els defectes del cartílag d'un gruix d'entre 1.6 a 6.5 cm. Els condrocits obtinguts a partir d'una àrea no afectada per la lesió s'aïllen i cultiven al laboratori entre 14 i 21 dies. Els condrocits cultivats són implantats posteriorment a l'àrea del defecte i es cobreixen amb un penjoll de periosti i es segellen amb fibrina.<sup>57,58</sup>
- ChondroCelect® és una suspensió per implantació que conté cèl·lules de cartílag derivades del mateix pacient, es troba actualment en el mercat a Bèlgica, Països Baixos, Espanya, Regne Unit i Finlàndia.
- b. El trasplantament de condrocits autòlegs amb matriu o MACI<sup>59</sup> consta de condrocits autòlegs, sembrats sobre una membrana de col·lagen d'origen porcí (tipus I / III ACI-Maix) i utilitza fibrina com a segellant.

Els principals problemes derivats de l'ús d'aquestes tècniques són: la necessitat de dues intervencions quirúrgiques i la forma d'assegurar els condrocits a l'interior del defecte. Estudis experimentals en gossos han observat que la sutura del penjoll periòstic en el defecte presenta efectes nocius en el cartílag adjacent, com ara fissures, pèrdua de proteoglicans i augment de la clonació de condrocits.<sup>60</sup>



**Fig. 18.** Descripció esquemàtica de MACI de: (1) Artroskòpia inicial amb avaluació del cartílag lesionat i de la collita d'una biòpsia de cartílag de gruix complet; (2) la biòpsia s'envia en un recipient estèril i refredat al laboratori de cultiu cel·lular; (3) el cartílag és digerit enzimàticament (4) l'expansió dels condrocits en el cultiu mono capa durant aproximadament quatre setmanes; (5) les cèl·lules se sembren a la bastida uns dies abans de la implantació; (6) l'implant d'enginyeria es torna al cirurgià en un recipient estèril, (7) una cirurgia definitiva amb desbridament del cartílag lesionat seguit d'una implantació MACI, que s'ajusta a la mida del defecte i s'encola amb una capa fina de fibrina. Imatge de Jacobi et al. *Sports Medicine, arthroscopy, rehabilitation, therapy & technology* 2011, 3:10. (1)

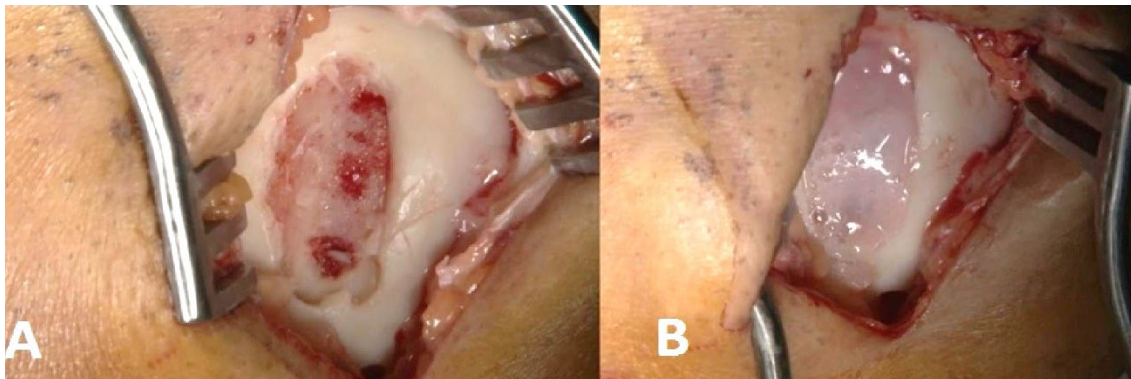
Actualment, amb aquesta tècnica<sup>61</sup> s'ha demostrat que la capacitat d'orientació espacial dels condrocits és limitada. És per això que, al transplantar els condrocits en monocapa mitjançant la tècnica MACI, els condrocits no s'organitzen amb les característiques tridimensionals del cartílag hialí i finalment es diferencien en un teixit de



característiques fibrocartilaginoses.

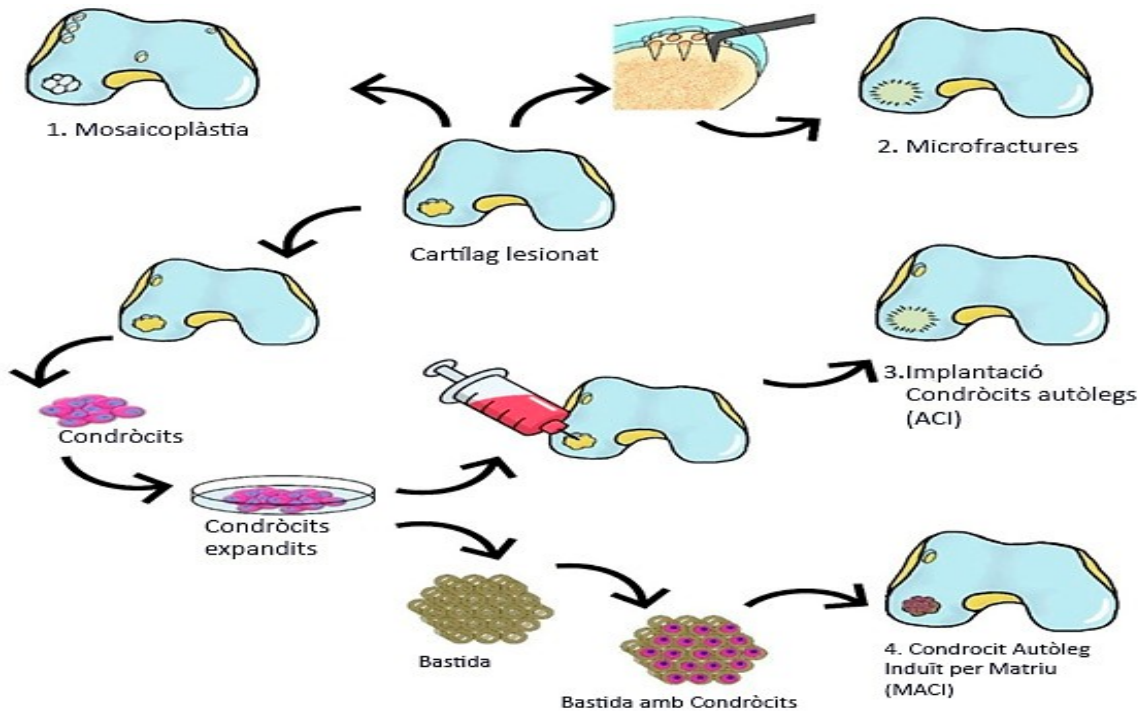
El trasplantament de condrocits autòlegs amb periosti s'ha vist associada amb hipertròfia de cartílag simptomàtic amb més freqüència que la implantació de condrocits autòlegs amb matriu de col·lagen.

La implantació de condrocits autòlegs associats a matrius és tècnicament menys desafiant que les altres tècniques disponibles, i en lesions de més de 4 cm<sup>2</sup> s'ha intentat demostrar que és més eficaç que la microfractura.<sup>62</sup>



**Fig. 19.** Tècnica de MACI, des del defecte irregular del cartílag es col·loca la matriu sense sutura. Autologous Chondrocyte implantation, simplified. Imatge de: GURSOY S, et als. Factors Influencing the Results in Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Implantation: A 2 - 5 Year Follow-Up Study. *J Clin Med Res.* 2019;11(2):137-44.

Comparar de manera directa les diverses tècniques aquí descrites suposa un repte metodològic, atesa la gran varietat de tècniques, l'absència de seguiment a llarg termini d'algunes d'elles, i l'heterogeneïtat de les mesures del resultat que aporten els cirurgians.



**Fig . 20.** Il·lustració dels enfocaments clínicament provats per a la restauració del teixit cartilaginós. Medvedeva, E. V et als. Repair of Damaged Articular Cartilage: Current Approaches and Future Directions. *International journal of molecular sciences.* 2018; 19(8), 2366.

### 3. Enginyeria tissular

El terme "enginyeria de teixits" indica un camp interdisciplinari que té com a objectiu cultivar teixits o òrgans directament des d'una cèl·lula extreta d'un individu.<sup>63</sup>

La primera aparició del terme imprès trobada a través d'una recerca PubMed va ser una publicació de 1984 que descrivia l'organització d'una membrana semblant a l'endoteli a la superfície d'una pròtesi oftalmològica sintètica de llarga implantació.<sup>64</sup>

L'origen del terme,<sup>65</sup> tal com es coneix avui dia, es pot atribuir a un individu concret. El 1985, YC Fung, pioner en el camp de la biomecànica i, de manera més àmplia, de la bioenginyeria, va presentar "Una proposta a la National Science Foundation per a un centre d'investigació en enginyeria a UCSD, Centre per a l'enginyeria de teixits vius".<sup>66</sup> El concepte de Fung es basava en la definició tradicional de "teixit" com a estructura fonamental en l'anàlisi d'organismes vius, entre cèl·lules i òrgans. La seva proposta no va ser acceptada en aquell moment, però el 1987 ja es va començar a utilitzar.<sup>67</sup>

L'enfocament típic implica tres focus: les cèl·lules, els biomaterials i els senyals o factors d'estimulació que han de rebre les cèl·lules per tal de fer la seva funció. Això sovint s'anomena com la tríada de l'enginyeria de teixits.

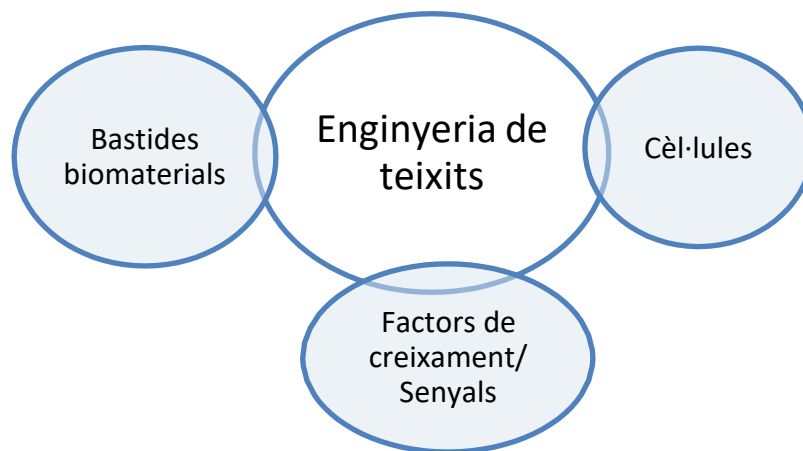


Fig. 21. Tríada de l'enginyeria de teixits

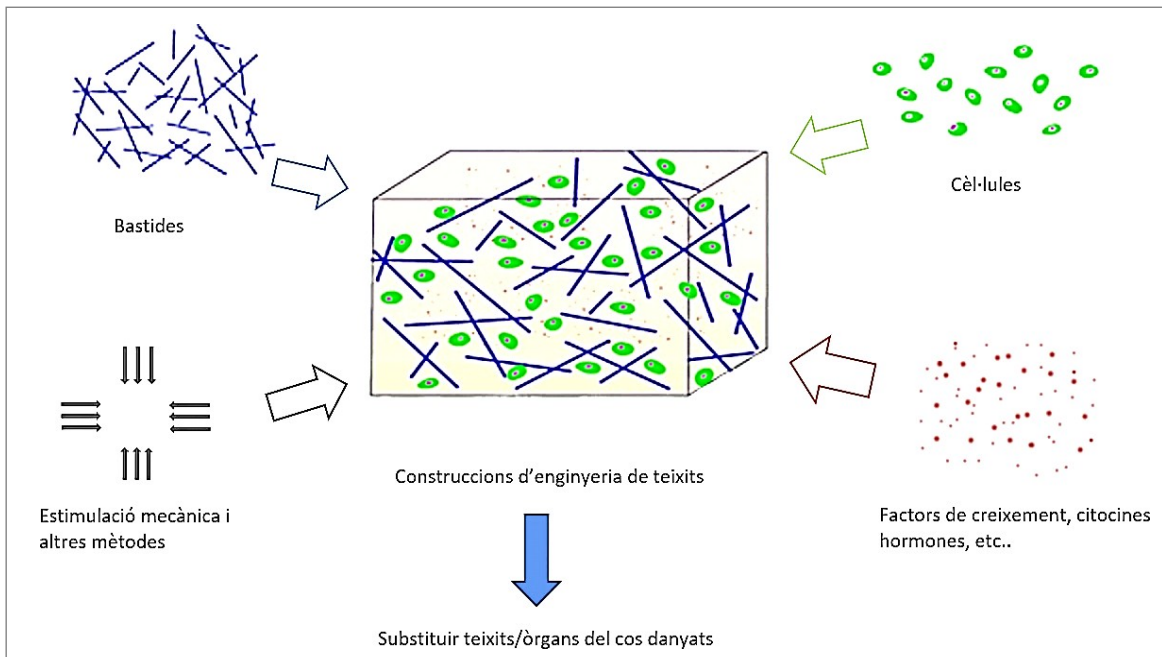
Les cèl·lules són les encarregades de sintetitzar la matriu extracel·lular del nou teixit i restaurar la funció dels teixits lesionats, mentre que la bastida ha de proporcionar un ambient favorable per a l'adhesió, proliferació i diferenciació cel·lular. Juntament amb les molècules bioactives han de facilitar i promoure la regeneració del nou teixit.

La bastida<sup>68</sup> ha de proporcionar l'estructura tridimensional temporal on es formarà el nou teixit, i alhora pot ser el vehicle que controli l'alliberament de substàncies biològicament actives que afavoreixin el creixement o la diferenciació cel·lular. Aquesta bastida o matriu, per a poder dur a terme aquesta funció, ha de complir alguns requeriments: ha de ser biocompatible amb els teixits; ha de ser biodegradable, permetent així que el teixit nou que va sorgint substitueixi la matriu; no ha d'incloure cap

resposta adversa a l'organisme; ha de tenir unes propietats mecàniques adequades segons el tipus d'aplicació;<sup>69</sup> i ha de tenir una porositat i una morfologia pertinent per afavorir el transport de cèl·lules, gasos, metabòlits, nutrients i molècules bioactives tant dintre de la matriu com entre aquesta i el medi circumdant.

Els senyals que han de rebre les cèl·lules poden ser mecànics, químics o biològics i són triats i adaptats depenent del teixit que ha de ser regenerat.

Els enfocaments actuals de la regeneració del cartílag articular inclouen l'ús de condrocits, cèl·lules mare, bastides i factors de creixement.



**Fig. 22.** L'enginyeria de teixits incorpora molts factors crítics que inclouen cèl·lules, bastides, factors bioactius i estímuls físics per reunir construccions biomimètiques dissenyades per teixits per reemplaçar els teixits danyats en humans. Imatge de: Zhang, L., et al's. *The role of tissue engineering in articular cartilage repair and regeneration. Critical reviews in biomedical engineering*, 2009; 37(1-2), 1-57.

El cartílag continua sent un dels teixits més difícils de reconstruir o reemplaçar, a causa de la seva complexa geometria estructural i la força mecànica que han de suportar les superfícies articulars.

Això ha suposat un repte per als avenços en l'enginyeria de teixits<sup>70</sup>. La varietat de polímers i tècniques de fabricació disponibles continua expandint-se. La mida dels porus, la porositat, la biocompatibilitat, l'especificitat de la forma, la integració amb el teixit natiu, la degradació adaptada a la velocitat de formació del nou cartílag i l'eficiència de costos són factors importants que cal tenir en compte en el desenvolupament d'una bastida ideal per a l'aplicació clínica.

### 3.1. Fonts d'obtenció cel·lular

#### Condròcits

L'elecció dels condrocits sembla que hauria de ser una decisió òbvia pel que fa a la

regeneració de les lesions del cartílag articular, ja que són cèl·lules natives del teixit. Formen teixit cartilaginós tan *in vitro* com *in vivo*<sup>71</sup> i es fan servir clínicament en el procediment d'ACI. Però en els tractaments tradicionals basats en condrocits es van identificar diversos inconvenients:

- Només un nombre limitat dels condrocits es pot aïllar d'una articulació.<sup>72</sup>
- L'extracció del cartílag de les àrees no danyades pot causar morbiditat del lloc d'extracció i d'altres lesions addicionals com ara la degradació del lloc.
- El nombre de condrocits per gram de teixit disminueix amb l'edat.<sup>73</sup>
- Els condrocits perden gradualment el seu fenotip i es diferencien quan es passen a *in vitro*.<sup>74</sup>

A causa de les limitacions relacionades amb les fonts de condrocits, s'estan fent molts esforços per explorar altres fonts cel·lulars. Les característiques desitjables per a aquestes fonts inclouen accessibilitat, disponibilitat i capacitat condrogènica.

#### *Cèl·lules mare mesenquimals (MSCs)*

Les MSC autòlogues procedents d'una varietat de teixits són una font de cèl·lules multipotents amb la capacitat de proliferar extensivament i diferenciar-se al llarg d'una sèrie de llinatges. La ruta de diferenciació d'una MSC depèn de la font, la química, i de senyals ambientals i físics. Han estat investigades en medicina regenerativa per a la reparació de defectes de cartílag.

Les cèl·lules mare mesenquimals són cèl·lules multipotents que es poden trobar a la medul·la òssia i són importants per a fabricar i reparar teixit esquelètic. No s'han de confondre amb les cèl·lules mare hematopoètiques (de la sang) que també es troben a la medul·la òssia i són les precursoras de les cèl·lules sanguínies.

Destacar que s'han realitzat nombrosos estudis que demostren que les MSC en condicions concretes son possibles si es sotmeten a la condrogènesi en presència de factors de creixement transformadors (TGF- $\beta$ 3), i en condicions de baix oxigen.<sup>75</sup>

#### *Cèl·lules mare embrionàries (CME)*

Les cèl·lules mare embrionàries procedeixen de la massa cel·lular interna de blastocists. Es tracta de pre-embrions de 5-6 dies amb aproximadament 150-200 cèl·lules. La massa cel·lular interna, origen de les CME en condicions de cultiu *in vitro*, és la que donaria lloc al fetus en condicions *in vivo*, si el pre-embrió s'implantés i la gestació arribés a terme.

El cultiu d'aquesta estructura dóna lloc al creixement de les CME. Aquesta mena de cèl·lules posseeixen unes característiques específiques a causa de la capacitat d'auto renovació indefinida i de la pluripotencialitat de què gaudeixen. Les CME poden donar lloc a noves cèl·lules mare indiferenciades o convertir-se en distints tipus cel·lulars dels més de 200 que hi ha en un individu adult de l'espècie humana.

Són cèl·lules pluri o multipotents (en alguns casos totipotents) que poden donar lloc a distints tipus cel·lulars, depenent del seu origen i plasticitat.<sup>76</sup>



### *Cèl·lules mare obtingudes de teixit adult*

S'han identificat cèl·lules mare adultes en molts teixits animals i humans. En general, es fan servir varis mètodes per determinar si les cèl·lules mare candidates adultes donen lloc a cèl·lules especialitzades. Les cèl·lules mare adultes es poden etiquetar *in vivo* i poden ser rastrejades.

A diferència de les cèl·lules mare embrionàries, que es defineixen pel seu origen, les cèl·lules mare adultes no comparteixen cap mitjà definitiu de caracterització. Les definicions de cèl·lules mare adultes varien en la literatura científica, des d'una simple descripció de les cèl·lules fins a un rigorós conjunt de criteris experimentals que s'han de complir abans de caracteritzar una cèl·lula determinada com a cèl·lula mare adulta.<sup>77</sup> La llista de teixits adults que se sap que contenen cèl·lules mare està creixent i inclou medul·la òssia, sang perifèrica, cervell, medul·la espinal, polpa dental,<sup>78</sup> vasos sanguinis, múscul esquelètic,<sup>79</sup> greix, epíteli de la pell i sistema digestiu, còrnia, retina, fetge i pàncrees.

Dels diferents tipus de cèl·lules mare, les cèl·lules mare derivades de medul·la òssia (BMSCs) i les cèl·lules mare adiposes (ADSc) tenen molts avantatges per a les aplicacions clíniques pel seu potencial condrogènic.<sup>80</sup> És més fàcil separar i proliferar BMSCs i ADSc que els condrocits primaris. Aquestes cèl·lules mare poden diferenciar-se en ossos i cartílags i per tant regeneren el cartílag *in vitro* i *in vivo*.<sup>81</sup>

En l'última dècada, el teixit adipós s'ha convertit en una font molt interessant de cèl·lules mare adultes per a cirurgia plàstica i medicina regenerativa.

49

Les cèl·lules mare derivades del greix infrapatel·lar (ADSc) són aïllades en el coixinet adipós que es troba darrere de la ròtula de l'articulació del genoll.<sup>82</sup> Les cèl·lules adiposes han demostrat expressar marcadors condrogènics (SGAG) i col·lagen de tipus II utilitzant cèl·lules de porcí quan el cultiu es complementa amb factor de creixement TGF- $\beta$ 3. Resulta cabdal per a la condrogènesi el senyal que deriva del factor de creixement TGF- $\beta$ 3. Cal, per tant, estandarditzar processos i fonts cel·lulars que incrementin el potencial condrogènic.

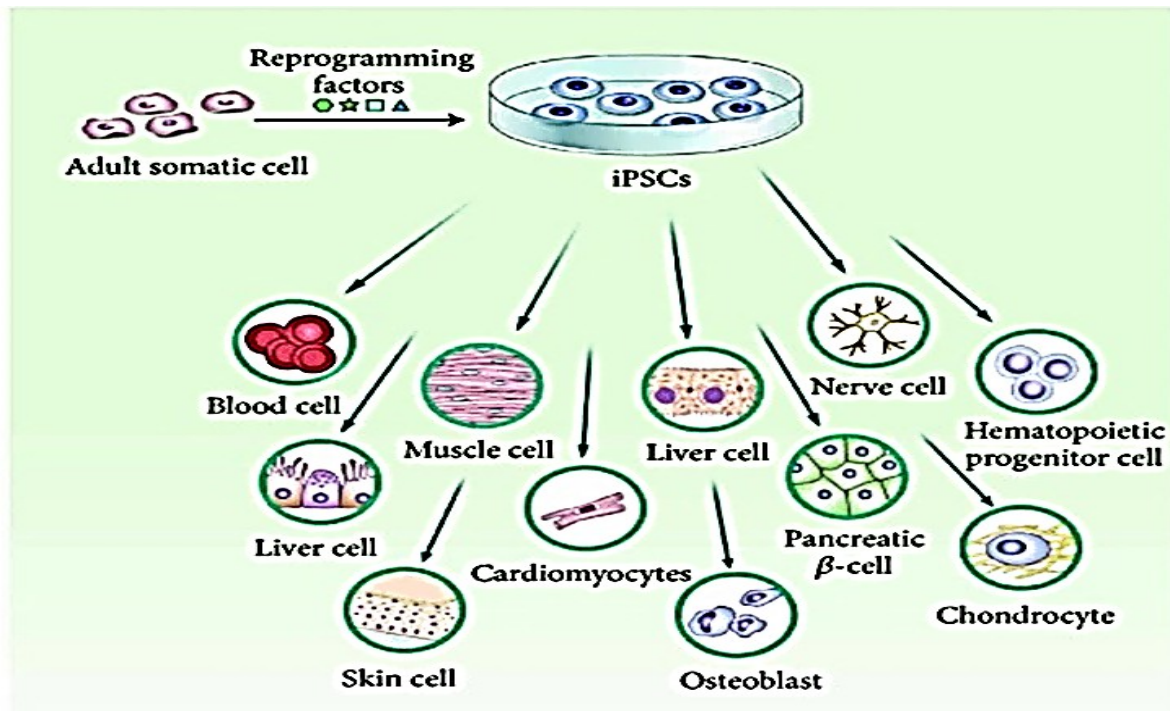
No obstant això, és difícil obtenir un gran nombre de BMSCs i ADSc mitjançant un cultiu *in vitro*, ja que l'expansió extensa pot alterar els seus fenotips.<sup>83</sup>

Per aquests motius, es necessita una nova font de cèl·lules per a la regeneració del cartílag. En aquest sentit, són interessants les cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPSCs), que poden proliferar indefinidament i que es produeixen en grans quantitats.

### *Cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPSCs)*

La primera cèl·lula pluripotencial induïda va ser creada al inserir quatre gens a l'ADN de les cèl·lules. Les iPSc es van generar per primera vegada per la transducció de fibroblasts de ratolí amb quatre factors de transcripció (c-Myc, KLF4, oct3/4 i Sox2) el 2006, per

Yamanaka.<sup>84</sup> Aquests factors s'anomenen factors de reprogramació, ja que poden reprogramar els nuclis de cèl·lules somàtiques perquè siguin pluripotents, i per tant pot revertir el nivell de diferenciació de les cèl·lules somàtiques. Aquesta combinació de quatre factors de reprogramació va ser identificada a partir d'anar provant diverses combinacions de 24 factors que s'expressen abundantment en les CE de manera endògena.



**Fig. 23.** Les iPSC es poden generar artificialment reprogramant les cèl·lules pròpies del pacient i també es poden diferenciar en diversos llinatges. Nam Y, Rim YA, Lee J, Ju JH. *Current Therapeutic Strategies for Stem Cell-Based Cartilage Regeneration. Stem Cells Int* 2018:1–20.

Aquestes cèl·lules són una eina de recerca interessant i valuosa, però les cèl·lules iPSC s'enfronten a alguns obstacles abans que puguin avançar cap als assajos clínics. Per exemple, les primeres versions de la tècnica van utilitzar un virus per introduir els gens a la cèl·lula de la pell. Aquest virus podria integrar-se a l'ADN de la cèl·lula i, possiblement, causar mutacions perilloses.

Al 2007, les iPSCs es van generar a partir de cèl·lules somàtiques humanes mitjançant la introducció de la mateixa combinació de factors (c-MYC, KLF4, oct3 / 4 i Sox2) [15] i també amb l'ús d'una combinació diferent de factors (oct3 / 4, Sox2, Nanog i Lin28).<sup>85</sup>

Les iPSC humanes es poden generar a partir d'un ampli espectre de cèl·lules somàtiques, incloent-hi fibroblasts, queratòcits i cèl·lules del teixit adipós.<sup>86</sup> A més a més, els bancs de sang del cordó umbilical ja han recollit grans repositoris d'al·lotips antigènics de leucòcits humans, que poden esdevenir una font d'existències histo-compatibles d'iPSCs.

Les iPSC són una gran promesa per al desenvolupament de les teràpies específiques pel pacient per restaurar teixits danyats que tenen una deficient capacitat de regeneració, com el cartílag articular.<sup>87</sup>

Tanmateix, s'han d'abordar diversos aspectes importants abans que les cèl·lules iPSC humanes puguin ser utilitzades per a la regeneració del cartílag, el principal d'ells és la capacitat per activar les vies de senyalització i programes de transcripció, pas indispensable per tal de dirigir i restringir la diferenciació de cèl·lules mare pluripotents en condicions funcionals de manera eficient. Els resultats dels estudis<sup>88</sup> que utilitzen tant cèl·lules humanes com de ratolí van recolzar la hipòtesi que les cèl·lules iPSCs no són iguals i que les diferències en les seves tendències de diferenciació poden atribuir-se, almenys en part, al tipus de cèl·lula d'origen.

Les iPSCs tenen pluripotència i potencial d'auto renovació similars a les cèl·lules mare embrionàries (CE), però no desperten tantes qüestions ètiques com les embrionàries. Els recents progressos han fet possible la generació de cèl·lules IPS i la posterior diferenciació en condicions.

S'està desenvolupant una biblioteca<sup>89</sup> iPSCs formada a partir de donants homozigots per a tipus d'HLA comuns, que serà capaç de proporcionar els condicions al·logènics derivats d'iPSCs a baix cost per poder cobrir la majoria de la població, sempre i quan les tècniques de producció arribin al nivell d'exigència i seguretat requerits per la clínica.<sup>90</sup>

### 3.2. Biomaterials

Els biomaterials han de permetre a les cèl·lules proliferar, migrar, diferenciar-se i poder-se integrar *in vivo*,<sup>92</sup> amb diversos polímers naturals i sintètics emprats per al cultiu de condicions.<sup>93</sup> No obstant això, aquests biomaterials no són biomimètics, i poden desprendre metabòlits tòxics durant la seva degradació, causant la mort cel·lular.

Les bastides 3D s'utilitzen en el camp de l'enginyeria de teixits per a l'encapsulació de cèl·lules com a matriu extracel·lular temporal fins que les cèl·lules poden secretar la seva pròpia matriu.

Les bastides es poden formar a partir de teixits descel·lulitzats o polímers, sintètics o naturals. Hi ha diverses consideracions a l'hora de triar un biomaterial per a l'enginyeria de teixits del cartílag.

La biocompatibilitat és la característica primordial, és a dir, el biomaterial no ha de produir una reacció immune adversa ni una resposta inflamatòria.<sup>94</sup> També ha de tenir una elasticitat i unes propietats mecàniques semblants al teixit natiu per ajudar a mantenir el fenotip de condició o permetre que les cèl·lules mare llargues vagin diferenciant al llarg del llinatge condrogènic. Això també pot impedir que es produeixi una fallada de la bastida quan s'implanta al lloc. El cartílag ha de suportar càrrega, per tant, bastides de propietats mecàniques inferiors poden desnaturalitzar-se o danyar-se. També ha de poder suportar la característica morfologia de les cèl·lules rodones del condició.

Estudis *ex vivo* han demostrat que la regeneració del cartílag depèn tant de la taxa de proliferació de condicions com de la capacitat de diferenciació de cèl·lules dins d'una matriu tridimensional, una estructura que actua com a operador cel·lular per mantenir i donar

suport a les característiques específiques del teixit.

#### *Matrius naturals*

Les matrius naturals se subdivideixen en bases de proteïnes (col·lagen, fibrina, seda) i materials basats en hidrats de carboni (hialuronat, alginat, agarosa, quitosà, goma de gellan). No són tòxiques, i s'integren perfectament a l'ambient creat.

#### *Matrius sintètiques*

Aquestes tenen diversos avantatges sobre les naturals, com ara que posseeixen un major grau d'adaptabilitat i facilitat de fabricació. Els seus desavantatges són la ràpida pèrdua de propietats mecàniques després de la implantació i la toxicitat potencial. Els materials sintètics també mostren un menor grau de biocompatibilitat que els naturals.<sup>95</sup> Els més comunament utilitzats en la regeneració de cartílag són, poly (ethylene glycol) (PEG) i els seus derivats poly (Lactide-co- glycolide) (PLGA), i poly (L-lactic acid) (PLLA).

### **3.3. Factors de creixement**

Els factors de creixement són polipèptids biològics que activen/estimulen el creixement, la diferenciació o la proliferació de cèl·lules actives. S'uneixen a receptors específics en la superfície cel·lular, alguns són versàtils i alguns són de tipus cel·lular específic. Molts factors de creixement estan presents en el cartílag articular i treballen sinèrgicament per regular i promoure el creixement del cartílag i el metabolisme.<sup>96</sup> Només les cèl·lules mare no són suficients per induir la condrogènesi en un model 3D.<sup>97</sup>

52

## **4. Bioimpressió**

La bioimpressió és bàsicament una tecnologia per fabricar construccions complexes de teixits a través d'un procés de construcció capa a capa i utilitzant cèl·lules hidrogels i factors d'estimulació de manera específica.

A través d'una sèrie de processos tecnològics, les imatges mèdiques DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) traduïdes al format STL (Standard Triangle Language) imprimeixen / creen els teixits.

Un requisit essencial per a la reproducció de l'arquitectura complexa i heterogènia dels teixits o òrgans funcionals és una comprensió integral de la composició i l'organització dels seus components.

La bioimpressió 3D per a enginyeria de teixits es pot dividir en dues formes, amb i sense cèl·lules vives incorporades impreses directament a les construccions. En el primer cas, es dipositen bioinks amb cèl·lules viables per formar una estructura viva tridimensional, mentre que en el segon només es produeix l'estructura acel·lular

Té una importància crucial el software, ja que les impressores es poden comprar al mercat, però el resultat final és tan delicat que els retocs del software es fan

imprescindibles i únics per cada grup de treball.

La impressió 3D va ser descrita per primera vegada el 1984 per Charles W. Hull. En el seu mètode, el que va anomenar “estereolitografia”, capes primes de material operable amb llum ultraviolada s’imprimien seqüencialment per formar una estructura sòlida tridimensional.

L’any 1999, 3D Systems Inc® va patentar un mètode i un aparell per fabricar un objecte tridimensional per estereolitografia. Des de llavors, s’han anat aprovant una sèrie de patents amb millores per a la impressió 3D, però també s’han desenvolupat altres tecnologies de bioimpressió, com ara el modelat per deposició fosa, la sinterització selectiva per làser, la fusió de filaments, el Polyjet<sup>98</sup> (aquesta bioimpressora funciona de manera similar a la d’injecció de tinta, però en comptes de raig de gotes de tinta, les impressores de raig de Polyjet 3D imprimeixen capes de fotopolímers líquids operables sobre una bastida).

Entre les estratègies de bioimpressió, es troba una línia específica anomenada biofabricació, que és un pas imprescindible per a la traducció comercial de la tecnologia d’impressió de teixits i òrgans. En la biofabricació de cartílag, el repte principal és reproduir el complex micro arquitectònic dels components de la matriu extracel·lular, i els múltiples tipus de cèl·lules, en una resolució suficient per aconseguir la funció biològica.<sup>99</sup>

Actualment, també s’està fent servir per a la investigació de fàrmacs i píndoles de medicaments individualitzades.

Any	
1984	Charles Hull inventa "l'aparell per fer objectes tridimensionals per estereolitografia".
1996	Aplicació clínica de biomaterials per a la regeneració de teixits.
1999	El Dr. L. Massella rep una de les primeres bufetes impreses en 3D gràcies a "Institute Forest Wake for Regenerative Medicine". Es tracta d'una combinació de biomaterials impresos en 3D i de les seves pròpies cèl·lules.
2002	Prototip del ronyó d'etapa precoç fabricat amb bioimpressió a l'Institut Wake Forest per a la Medicina Regenerativa.
2003	La primera patent de bioimpressores va ser presentada als Estats Units per 3D Systems Inc®.
2005	El Dr. Bowyer (Universitat de Bath) funda RepRap, una iniciativa de codi obert per construir una impressora 3D que pot imprimir la major part dels seus propis components.
2007	Hi ha disponibles màquines selectives de sinteritzat làser, crea peces impreses en 3D a partir de metall / plàstic fusionat. Obre la porta a la personalització massiva i a la fabricació sota demanda de peces industrials.
2007	RepRap Aquest any Darwin presenta, la primera impressora que es pot reproduir automàticament, capaç d'imprimir la majoria dels seus propis components, que permeten la millora dels usuaris.
2009	La patent de modelació de deposició fosa expira, encenen la innovació en la indústria gràfica 3D.
2009	MakerBot comença a vendre kits per fer una impressora 3D. El primer kit per construir una impressora es ven per \$ 750.
2010	Organovo, Inc., va anunciar l'alliberament de dades sobre els primers vasos sanguinis totalment bioimpresos.
2012	Bioimpressió basada en extrusió (xeringa) per a un fetge artificial.
2014	Implantació d'una bioimpressora multi braç per integrar la fabricació de teixits amb vasos impresos 3D, artificial.

Fig. 24. Taula de l’evolució de la impressió 3D en el temps.

Per entendre les tècniques de bioimpresió, cal fixar-se en les formulacions dels bioinks i en la modalitat o tipus d'impresió.

#### **4.1. Bioinks i imprimibilitat**

El terme "bioink" fa referència als materials que imiten una matriu extracel·lular per recolzar l'adhesió, la proliferació i la diferenciació de les cèl·lules vives en un entorn 3D.

Imprimibilitat és un terme genèric que incorpora la resolució i l'estabilitat de la forma que està influenciada per la reologia de la bioink, la concentració i el mecanisme de reticulació.<sup>100</sup>

El material del qual està compost el bioink és crucial perquè ha de proporcionar l'espectre bioquímic (és a dir, quimioquinas, factors de creixement, factors d'adhesió o proteïnes de senyalització) i físic (és a dir, fluxos intersticials, mecànics i estructurals de la matriu extracel·lular) que promouen un entorn favorable per a la supervivència cel·lular, la motilitat i la diferenciació.<sup>101</sup>

S'ha definit el bioink ideal com:<sup>102</sup>

- Gel sòlid abans d'imprimir amb una dilució i viscositat que permeti la impressió amb la tecnologia seleccionada.
- Gelificació ràpida després de la impressió per obtenir una alta fidelitat.
- Augment mínim o nul de la mida durant o després de l'extrusió.

En general, els broquets de la impressora d'injecció de tinta són més adequats per dipositar materials de baixa viscositat que no obstrueixen el capçal d'impresió.<sup>103</sup>

54

Els paràmetres que poden alterar la viscositat d'un bioink inclouen la concentració de biomaterial,<sup>104</sup> la temperatura o el nombre de cèl·lules encapsulades.<sup>105</sup>

S'han utilitzat diversos mètodes senzills per avaluar la capacitat de la bioimpresora, com per exemple comparar la geometria impresa amb la geometria obtinguda de les exploracions originals del TAC, tant després de la bioimpresió com a les 24 hores.<sup>106</sup>

En la bioimpresió complexa de teixits, el procés post-impresió o el procés de regenerar teixits inclou tres fases.

##### *La viabilitat cel·lular*

El temps del procés d'impresió i la sensibilitat de les cèl·lules poden afectar la viabilitat de les cèl·lules. Si el temps és llarg i les cèl·lules són fràgils, sense cap suplement de nutrició addicional, la viabilitat de les cèl·lules disminuirà considerablement.

La incorporació de mitjans de cultiu durant el procés pot millorar significativament la viabilitat cel·lular.

##### *L'estimulació mecànica*

Les cèl·lules es troben directament encapsulades en els bioinks en el procés d'impresió, o

són sembrades a les bastides impreses; és fonamental complementar-los amb nutrients i oxigen durant el període de cultiu. Després de la fabricació, les construccions amb cèl·lules viables no només hauran de mantenir-se viables per al llarg període de cultiu, sinó que també han de ser capaces de funcionar de la manera prevista.

Els bioreactors, que normalment utilitzen perfusió, càrrega de tracció o compressió, rotació o altres condicionaments, poden proporcionar una estimulació mecànica i envoltar de forma dinàmica els cultius de cèl·lules *in vitro*, imitant el medi natiu i les forces físiques *in vivo*.<sup>107</sup>

#### *Maduració*

En aquesta etapa, les cèl·lules han de proliferar per formar les connexions de cèl·lula-cèl·lula adequades per comunicar-se entre elles, han de ser capaces de segregar els seus propis components de la matriu i de realitzar funcions biològiques naturals, per poder integrant-se en el teixit hoste.

Les construccions poden proporcionar un entorn adequat per al desenvolupament de les cèl·lules, tant biomecàniques com biològiques, i també poder ser substituïdes per una MEC nativa.

## **4.2. Tipus de bioimpressores**

En general, les bioimpressores utilitzen un dispositiu d'impressió, controlat per ordinador, per dipositar amb precisió les cèl·lules i biomaterials en geometries precises, i crear estructures biològiques anatòmicament correctes. Les característiques principals d'aquesta tecnologia inclouen l'ús d'hidrogeles sense productes químics i una tecnologia de dosificació que és respectuosa amb les cèl·lules.

55

Basant-se en les estratègies de treball de cada grup investigador, es podrien classificar principalment en tres categories, les basades en gotes, les basades en extrusió i la bioimpressió assistida per làser.

#### *Basat en gotes*

La bioimpressió basada en gotes es fonamenta en diverses fonts d'energia (mecanismes tèrmics, elèctrics, làser, acústics o pneumàtics) per modelar les micro-gotes dels bioink amb cèl·lules vives i altres productes biològics de manera rendible. Ofereix majors avantatges per la seva senzillesa i agilitat amb un control precís sobre la deposició de productes biològics incloent cèl·lules, factors de creixement i gens per a la regeneració de teixits / òrgans.<sup>108</sup>

Com a tècnica, proporciona un mètode de rendiment elevat per dipositar múltiples cèl·lules o productes biològics en petites gotetes sobre una posició espacial dirigida.<sup>109</sup>

#### *Basat en extrusió*

La bioimpressió basada en l'extrusió té origen en la impressió de modelatge de deposició



fusionada (FDM). Utilitza sistemes pneumàtics, mecànics o electromagnètics per disposar cèl·lules basant-se en una mena de "xeringa". Durant la bioimpressió, el bioink dispensat per un sistema de deposició imprimeix amb precisió filaments carregats de cèl·lules, formant les estructures 3D desitjades.<sup>110</sup>

La bioimpressió basada en l'extrusió és una tècnica integrada que consisteix en un sistema de dispensació de fluids per al control d'extrusió i un sistema robotitzat automatitzat per a la bioimpressió. El bioink s'extrudeix en forma de filaments cilíndrics carregats de cèl·lules, que es poden disposar amb precisió a les estructures 3D.<sup>111</sup>

La deposició contínua proporciona una millor integritat estructural durant la fabricació ràpida. Els sistemes de dispensació es poden classificar en tres tipus: microextrusió pneumàtica, mecànica (de pistó o de cargol) i de solenoide

#### *Basat en estereolitografia*

L'esterelitografia (SLA) ofereix una tècnica de fabricació additiva amb una alta resolució i precisió. Utilitza la irradiació controlada espacial de la llum o el làser per solidificar un patró geomètricament 2D a través de fotopolimerització selectiva al dipòsit dels bioinks.<sup>112</sup> L'estructura 3D es pot construir de manera consecutiva "capa per capa". La fotopolimerització de capes amb patrons 2D és el pas més crucial en la bioimpressió basada en SLA. Les tècniques d'esterelitografia també es poden aplicar per a la fabricació de bastides acèl·lulars.

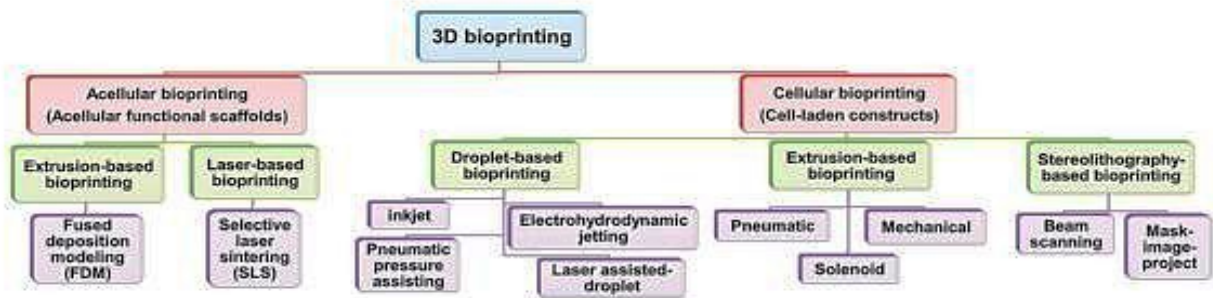
#### *Impressora integrada d'òrgans de teixits (IOP)*

Probablement una de les aportacions més interessants i innovadores en el camp de la biofabricació ha sigut l'estudi de Hyun-Wook Kang et al.<sup>113</sup> que va presentar una impressora integrada d'òrgans de teixits (Integrated Tissue Organ Printer- ITOP), per fabricar construccions de teixits de diverses formes a escala humana a partir de la traducció d'arxius CAD que representaven dades d'imatge clínica.

En aquesta estratègia, la integritat mecànica proporcionada per polímers termoplàstics biodegradables (poli-ε-caprolactona [PCL]) es va combinar amb el rendiment biològic superior i la capacitat de modelatge cel·lular d'hidrogels carregats de cèl·lules en una construcció perfusible mitjançant l'ús d'un multi-capçal d'impressora 3D. Els autors van mostrar la viabilitat de tots els passos incrementals d'una estratègia d'enginyeria de teixits integrada,<sup>114</sup> que abasta des de la fabricació de la construcció en 3D, i el seu pre-cultiu *in vitro* amb condicions inductives per a diferents teixits (ossos, cartílags i múscul esquelètic), fins al trasplantament i la maduració *in vivo*. La incorporació de microcanals a les construccions de teixits va afavorir la difusió de nutrients i l'oxigen a les cèl·lules impreses, que no van mostrar signes de necrosi.



(a)



(b)

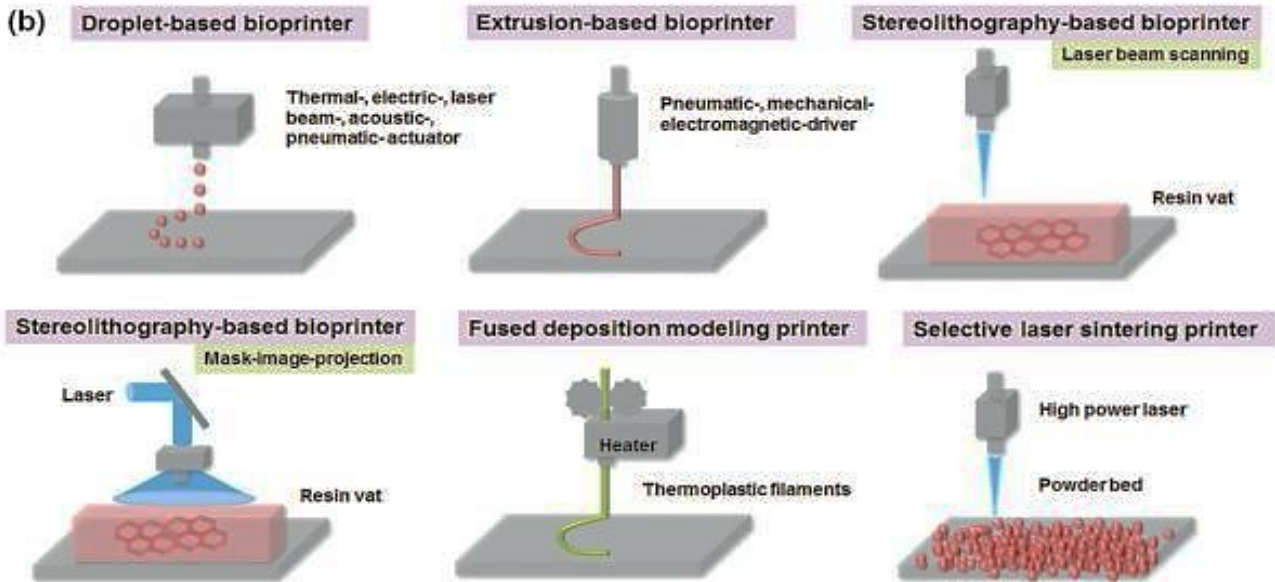


Fig. 25 . (a) Un diagrama de l'arbre de les diferents tècniques de bioimpressió en 3D i (b) Il·lustracions simplifiades de tècniques típiques de bioimpressió per a la regeneració de teixits/òrgans. Extret de: Cui, H., et als. (2017). 3D Bioprinting for Organ Regeneration. *Advanced healthcare materials*, 6 (1), 10.1002/adhm.201601118.

57

### 4.3. Estàndards essencials per garantir qualitat

#### Reptes de la traducció clínica

Alguns dels desafiaments importants que enfronta l'aplicació clínica de la teràpia basada en cèl·lules pel cartílag bioimprès inclouen la fabricació de cèl·lules, el lliurament cel·lular, la supervivència cel·lular, el comportament cel·lular fisiològic, la resposta immune i un risc potencial de desenvolupament de càncer.<sup>115</sup>

Els estàndards guien les característiques de biocompatibilitat, d'esterilitat en el procés de biofabricació, de rigidesa i de resistència mecànica. La validació dels resultats requereix garanties per poder permetre la implantació en éssers humans.<sup>116</sup>

Les regulacions actuals estableixen que les teràpies avançades basades en cèl·lules han de complir amb les directrius i principis del manual de GMPs (Good Manufacturing Practices). Els temes clau inclouen la reproductibilitat de la producció, el manteniment, el lliurament, la traçabilitat i labio-vigilància.<sup>117</sup>

El reglament en assajos clínics relacionats amb teràpies avançades ha de tenir en compte una sèrie de factors clau:<sup>118</sup>

- La biologia de les cèl·lules utilitzades, ja que la composició dels productes bioactius difereix substancialment en funció de les qualitats específiques dels tipus cel·lulars utilitzats en la seva producció.
- El mecanisme d'acció i objectiu terapèutic de les teràpies individuals.
- Els mètodes i tècniques necessàries per a l'alliberament i lliurament de productes bioactius basats en la manipulació de teixits (per exemple: expansió cel·lular *ex vivo*, creixement en bastides i manipulació mínima de processament).

L'ús de teràpies cel·lulars utilitzant cèl·lules mare adultes humanes requereix el continu desenvolupament i implementació de mesures cada vegada més estrictes de control de qualitat per a garantir la seguretat del pacient. Per tant, és essencial que el GMPs estableixi un control òptim del procés de fabricació de cèl·lules, centrant-se en diferents etapes de desenvolupament del producte cel·lular/tissular, com l'aïllament, l'expansió i el lliurament d'un producte segur i eficaç per a l'usuari final.

Cal una revisió crítica de les diferents etapes en els processos de fabricació (des de la selecció de donants fins el lliurament del producte cel·lular acabat), que ha d'incloure la validació apropiada dels procediments tècnics i els mètodes utilitzats per garantir que són segurs i reproduïbles.

Altres procediments que s'han de revisar inclouen:

- Els mètodes utilitzats per obtenir i aïllar les cèl·lules, el sistema de cultiu cel·lular amb la definició correcta del medi de cultiu.
- Les estratègies d'expansió *ex vivo*, la selecció dels mitjans de crio-preservació.
- Les estratègies per a la criopreservació i l'emmagatzematge a llarg termini.
- Estratègies d'enviament dels productes cel·lulars obtinguts pels centres de trasplantament, procediments de descongelació i rentat efectiu per a l'eliminació d'agents crioprotectors.

A més a més, els processos han d'assegurar que les poblacions cel·lulars obtingudes siguin suficients en el menor número de cultius en el laboratori, per tal de disminuir el risc de qualsevol possible variació genotípica i fenotípica que es pugui observar quan les cèl·lules cultivades primàries es mantenen durant períodes de temps prolongats.<sup>119</sup>

### *Bones pràctiques de fabricació*

Per complir els criteris del GMPs per a l'elegibilitat dels donants i mantenir el compliment de control de qualitat, hi ha controls d'envasat i etiquetatge que s'apliquen a la utilització de materials, als assaigs i exàmens periòdics, al manteniment de la temperatura, i a l'emmagatzematge del producte.

La garantia de qualitat per al control microbiològic dels materials i ambients, del personal tècnic, i de la bioseguretat s'ha d'aconseguir mitjançant el desenvolupament de procediments operatius estàndard, que requereixen que els usuaris defineixin

adequadament, comprovin i documentin els detalls de tots els procediments i les mesures adoptades amb ells.<sup>120</sup>

El GMPs també cobreix la traçabilitat dels materials i reactius utilitzats durant els procediments. Totes les activitats de fabricació han de ser realitzades per personal qualificat i en instal·lacions degudament dissenyades (sales netes i estèrils) i controlades regularment. Tant les eines emprades com les tècniques han de ser analitzades per al control i mesurament de qualitat de manera independent. Abans d'adoptar un nou protocol o estratègia, els processos han de ser degudament validats. El sistema de gestió de la documentació i el control de qualitat ha de ser complet, i s'ha d'anar actualitzat constantment.

Pel costat clínic, es va informar l'agost de 2016 que hi havia 546 assaigs clínics registrats que utilitzaven cèl·lules mare mesenquimals humanes (hMSC) soles, que consisteix un increment substancial en relació als assajos registrats el 2011.<sup>121</sup> Per un ampli marge, les hMSC són el tipus cel·lulars més utilitzat en la investigació actual. Les hMSC resulten atractives per al seu ús en teràpies cel·lulars a causa de la seva disponibilitat, versatilitat i capacitat de diferenciar i respondre a entorns amb efectes tròfics, immuno-moduladors i antiinflamatoris beneficiosos. Els usos de les cèl·lules mare per al tractament inclouen les injeccions cel·lulars per a la substitució del teixit deteriorat i la injecció per a la regulació de factors bioactius amb efectes terapèutics, els quals requereixen altes dosis cel·lulars que van des de  $10^5$  a  $10^9$  cèl·lules per tractament.

Per tal de mantenir la línia d'innovació en aquesta indústria en creixement, es va crear el 2014 un consorci industrial-acadèmic que va establir el full de ruta tecnològic per a la fabricació de productes cel·lulars a gran escala, que serà rendible a partir de l'any 2025. L'objectiu d'aquest consorci és desenvolupar i promoure, a través de l'Institut Nacional d'Estàndards i Tecnologia, l'avanç de les tecnologies de fabricació cel·lular mitjançant associacions entre la indústria pública, la privada i els acadèmics.<sup>122</sup> Això ha promogut la creació de diverses agències per al finançament de projectes innovadors de fabricació cel·lular, que es podrien calcular en desenes o centenars de milions de dòlars, en els pròxims anys.

Un altre punt de gran importància és la gestió d'errors, que requereix accions correctives que s'han de prendre i reportar en conseqüència. Per fer front a la prevenció i al control de la contaminació, cal validar tècniques asèptiques ben definides per implementar-les en tot el procés de fabricació.<sup>123</sup> En les instal·lacions de producció a gran escala, a més dels tècnics específicament formats i qualificats, també serà necessari un assessor mèdic i científic, que les aconsellarà en aquests procediments. També hi haurà un gestor de qualitat que asseguri l'exactitud i adequació del sistema de gestió de qualitat (SGC) que s'implementa.

## **5. Consideracions normatives**

Un ràpid desenvolupament en els camps de la biologia cel·lular i molecular, la

biotecnologia, la bioenginyeria i la medicina han aportat nous tractaments innovadors i productes mèdics, que contenen cèl·lules i teixits associats amb bastides o productes biotecnològics.

Aquestes noves estratègies terapèutiques basades en cèl·lules aplicades a la medicina regenerativa tenen un gran potencial per al seu ús en el tractament d'una sèrie de malalties que en l'actualitat no es poden tractar amb total satisfacció. Tenint en compte els desafiaments associats a aquest desenvolupament, es requereix una gran cura en l'elaboració de procediments i pràctiques, així com també cal posar especial atenció en la regulació.<sup>124</sup>

Per estudiar la regulació en el camp de la bioimpressió és útil observar i sintetitzar-la a partir dels fonaments de les tecnologies similars existents. Cal ser conscients que les investigacions sobre productes bioimpressos dins d'un cos humà poden implicar problemes de bioseguretat i plantejar qüestions sobre si s'ha violat la dignitat humana (Varkey i Atala al 2015). Altres preocupacions ètiques inclouen les fonts qüestionables dels biomaterials, així com la manera d'eliminar els seus residus (Akar et al's al 2006).

### **5.1. Marc legal de l'ús de cèl·lules per bioimpressió**

Les teràpies cel·lulars són intervencions clíniques dissenyades per al tractament de malalties, mitjançant la modificació dels processos biològics, en subjectes humans.

L'objectiu de la supervisió normativa és protegir els subjectes del tractament i ajudar a assegurar a tots els interessats, i al públic en general, que els processos utilitzats per adquirir, processar i administrar les cèl·lules compleixen els estàndards apropiats.

Les regulacions per a l'ús humà de productes mèdics de teràpia avançada, com la teràpia gènica i cel·lular, han evolucionat d'acord amb l'avanç de l'experiència clínica, el coneixement científic i l'acceptació social d'aquestes tecnologies.

El Parlament Europeu, a finals del 2003, es va interessar en finançar amb fons comunitaris la investigació amb cèl·lules mare derivades d'embrions.

El Regne Unit,<sup>125</sup> el 2004, va obrir el seu primer banc de cèl·lules mare embrionàries, i les autoritats van aprovar el protocol de recerca de la Universitat de Newcastle per a la clonació d'embrions humans en la investigació per a tractaments per a la diabetis i les malalties de Parkinson i Alzheimer.

Tots aquests esforços legislatius han hagut de ser revisats a mesura que els científics han sigut capaços de crear cèl·lules mare per curar malalties, fins ara incurables, sense la necessitat de l'ús d'embrions humans.

El 2007, a Canadà,<sup>126</sup> va entrar en vigor el reglament de la CTO aplicat als òrgans i cèl·lules mínimament manipulats i teixits destinats al seu ús al·logen i homòleg. El Centre per a l'Avaluació de Productes Biològics (CBE)<sup>127</sup> té la responsabilitat de controlar els productes incloent cèl·lules i teixits per a trasplantament (reparació i substitució), incloent-hi també les estratègies amb cèl·lules mare, tant les tradicionals com les noves,

i l'ús de vectors recombinats, incloses les cèl·lules, dissenyades per mostrar epítops per a la generació d'una resposta immune profilàctica.

Al Japó<sup>128</sup> es van promulgar dues lleis el novembre de 2014: la llei dels productes farmacèutics i dispositius mèdics (PMD) i la Llei sobre la Seguretat de la Medicina Regenerativa (ASRM). La PMD inclou definicions de productes mèdics regeneratius per primera vegada i introdueix un sistema per a l'autorització de comercialització condicional i limitada en el temps dels productes mèdics regeneratius.

La FDA, el 2016, va aprovar els condrocits autòlegs conreats en membrana de col·lagen porcí (MACI, Vericel Corp<sup>®</sup>) per a la reparació dels defectes del cartílag de gruix complet, simptomàtics en genoll en adults. Aquest producte va ser el primer en què, mitjançant la tècnica MACI, s'aplicava el procés d'enginyeria de teixits per fer créixer cèl·lules sobre les bastides amb el cartílag a teixit del genoll del mateix pacient.<sup>129</sup>

### *La llei Europea*

A la Unió Europea,<sup>130</sup> els assajos clínics de medicaments de teràpia avançada estan regulats en l'àmbit nacional, en contrast amb la situació d'una sol·licitud d'autorització de comercialització, en què es preveu un procediment centralitzat d'aquests medicaments. L'aprovació d'una sol·licitud d'assaig clínic és diferent entre els estats membres de la Unió Europea, com ara a França,<sup>131</sup> a Alemanya,<sup>132</sup> o a Suïssa.<sup>133</sup>

L'Agència Europea de Medicaments (EMA), juntament amb el seu Comitè de Teràpies Avançades, el Comitè de Medicaments d'Ús Humà i la xarxa d'agències nacionals, és responsable de l'avaluació científica de les sol·licituds d'autorització de comercialització

61

A Europa, les teràpies basades en cèl·lules per a fins clínics es classifiquen com a medicaments de teràpia avançada (ATMPs) a menys que es transformin en una escala molt petita i que estiguin destinats per a ús autòleg. A causa de la complexitat dels medicaments de teràpia avançada, hi ha una organització reguladora dedicada a ells, anomenada el Comitè de Teràpies Avançades (CAT), que va ser establert per l'EMA i està autoritzat a revisar les sol·licituds per a la comercialització de productes cel·lulars mitjançant l'avaluació de la seva qualitat, seguretat i eficàcia per al seu ús clínic.<sup>134</sup>

Un nou marc regulador (1394/2007/CE)<sup>135</sup> es va introduir el 2004. Entre les seves més de 30 consideracions, destaca la següent: “Los nuevos progresos científicos en biotecnología celular y molecular han conducido al desarrollo de terapias avanzadas como la terapia génica, la terapia celular somática y la ingeniería tisular. Este campo emergente de las ciencias biomédicas ofrece nuevas oportunidades para el tratamiento de enfermedades o disfunciones corporales humanas”

També existeix un protocol adicional per a la convenció sobre els drets humans i biomedicina sobre trasplantament d'òrgans i teixits d'origen humà (ETS núm. 186).<sup>136</sup>

### *La llei Espanyola<sup>137</sup>*

Espanya es regeix per la “Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica”.<sup>138</sup>

S'espera que els nous marcs legislatius promoguin el desenvolupament de nous productes i tecnologies, per aconseguir que les teràpies regeneratives siguin més segures i eficaces.

Un nivell adequat de regulació té el potencial de protegir als pacients i al mateix temps ser un facilitador de l'avanç científic, reduint al mínim el risc d'esdeveniments adversos amb el seu impacte negatiu i mantenint la suficient flexibilitat per donar suport a la innovació.

## 5.2. Validació i control de processos<sup>139</sup>

La mateixa naturalesa dels productes bioimpresos significa que és fonamental construir una estratègia de control que no només es basi en les proves dels productes finals, sinó també en el control de les matèries primeres, el control del disseny i la validació dels processos de fabricació (i programari de control associat). Això probablement requeriria enfocaments multi paramètrics basats en riscos per avaluar les fonts d'error o fracàs i les relacions entre els paràmetres de procés i generació i el producte final i que, quan es validessin, proporcionarien una garantia del disseny i l'especificació de la construcció del producte a l'entrega del destinatari.

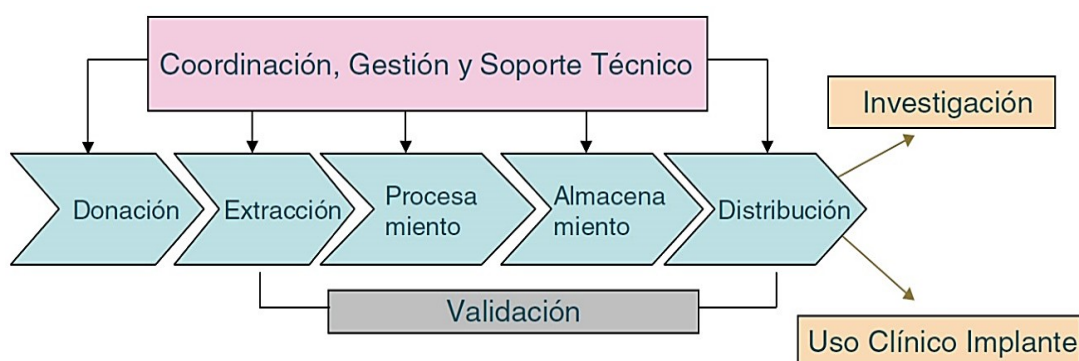


Fig.26. Procés d'obtenció de teixits humans per a ús clínic/investigació. Imatge de : B. Miranda et al .Med. Clin (Barc.)2012;138(8):338–34

### Selecció de fonts donants

Les cèl·lules i teixits d'origen autòleg i al·logènic s'han d'avaluar per optimitzar el conjunt normalitzat de proves i per establir els criteris apropiats necessaris per a l'aprovació.<sup>140</sup>

### Obtenció

Els medicaments basats en cèl·lules humanes (CBMPs) són heterogenis pel que fa al seu origen cel·lular i el tipus i la complexitat del producte. Les cèl·lules poden ser autòlogues o al·logèniques. A més a més, les cèl·lules poden també ser modificades genèticament. Es poden usar soles, associades amb biomolècules o altres substàncies químiques, o combinades amb materials estructurals classificats com a dispositius mèdics, el que permet la creació d'ATMPs (medicaments de teràpia avançada).<sup>141</sup>

### Processament i emmagatzemament

La fabricació de CBMPs ha d'estar efectuada amb els principis de la bona pràctica de fabricació. La substància activa de CBMPs es compon principalment de cèl·lules modificades (substancialment manipulades) i/o teixits. Les substàncies addicionals (per exemple, bastides, matrius, dispositius, biomaterials, biomolècules i/o altres components) quan es combinen com una part integral amb les cèl·lules manipulades es consideren part de la substància activa i, per tant, es consideren com a materials de partida, encara que no siguin d'origen biològic.<sup>142</sup>

### *Envasament i etiquetatge*

El propòsit de les operacions d'envasat i d'etiquetatge és protegir el producte i proporcionar la identificació i la informació suficient per a l'usuari. L'empaquetatge i l'etiquetatge són elements clau per assegurar que les normes apropiades es mantenen durant el cicle de vida d'un producte, així com per garantir una informació útil i aplicada a l'usuari.<sup>143</sup>

### *Distribució*

Els productes han de ser distribuïts directament per professionals sanitaris o institucions autoritzades, els quals han de tenir certificats professionals i instal·lacions apropiades abans de rebre els productes. Els sistemes de transport han de ser verificats per assegurar que les condicions adequades es mantenen en tot moment. Un sistema per a l'ús de recipients tancats utilitzats per a l'emmagatzematge, l'envasat, i la distribució de productes finals per a l'ús clínic humà s'ha de desenvolupar i validar per garantir que s'evitin riscos de contaminació, creuada entre mostres, i al mateix temps per protegir al personal i al medi ambient del risc potencial de patògens.<sup>144</sup> Els sistemes de contenidors han de ser adequats per a l'ús amb productes de teràpia basada en cèl·lules a baixes temperatures, i han de complir els requisits farmacèutics de qualitat dissenyats per mantenir la viabilitat cel·lular durant el temps de conservació previst.<sup>145,146</sup>

63

### *Traçabilitat*

Tota la cadena, des de l'obtenció de les cèl·lules fins a l'ús en el pacient, i en concret cadascuna de les seves fases, ha d'estar documentada i clarificada. S'han de tenir en compte les reaccions especials dels reactius que entraran en contacte amb els teixits i les cèl·lules i els que els acompanyaran durant la seva aplicació al receptor. Un sistema que permet la traçabilitat total del pacient, així com del producte i dels seus materials de partida, és essencial per al monitoratge de la seguretat i l'eficàcia de les CBMPs.

## **5.3. Garantir la biocompatibilitat i l'esterilitat**

Les complexes geometries 3D i les microestructures d'accés obert habilitades per a la impressió 3D creen reptes tant per a la biocompatibilitat com per a l'esterilitat. Fins i tot si el material d'impressió 3D seleccionat és "aprovat clínicament" com a part d'un dispositiu autoritzat per un mercat o un dispositiu marcat per la CE, el fabricant ha d'establir la seva compatibilitat amb materials biològics i el procés d'impressió.<sup>147</sup> Això

requereix una comprensió de l'efecte del procés de bioimpresió sobre el material, ja que fins i tot petits canvis en la propietat química, física (estructura i degradació) i mecànica poden afectar la integritat i la biocompatibilitat del component estructural i, en definitiva, el rendiment del producte final un cop implantat.<sup>148</sup>

L'estratègia de control té com a finalitat mostrar la reproductibilitat del procés de fabricació d'un producte, així com assegurar que és estèril i lliure de contaminants no desitjats.

## 6. Qüestions bioètiques

Els problemes i dilemes de la bioètica<sup>149</sup> han sigut una constant en els avanços tecnològics de la medicina i si bé pot semblar que són nous, les qüestions morals que plantegen són “de les més antigues que els éssers humans s’han preguntat”.

La bioimpresió d'òrgans i teixits planteja un problema ètic important que està vinculat amb la justícia. En l'àmbit de la societat, qui tindrà accés a les noves tecnologies? Tots els pacients, o les persones amb suficient disponibilitat econòmica o que hagin contractat una assegurança adequada?

La bioimpresió podria ser una font de desigualtat entre els diferents països, perquè podria avançar sense parar en els països amb supervisions de govern menys restrictius, mentre que els assaigs clínics i les proves d'òrgans per a trasplantament en els Estats

Units podrien trigar, segons Jasper L. Tran, fins a una dècada en ser aprovats per la FDA.

Entre els reptes futurs es troba la necessitat de regular la bioimpresió, especialment per evitar que es produeixi un mercat negre de teixits i òrgans, com succeeix a vegades. També cal evitar a tota costa el turisme cel·lular en aquells països amb les lleis més permissives. Així, una cooperació internacional es demostra clau per intentar abordar els reptes ètics d'aquesta nova tecnologia.

No únicament això, sinó que altres debats guanyaran importància: segons Nancy King,<sup>150</sup> la línia entre el tractament i la prevenció es veurà cada cop més desdibuixada. Decidir quan un òrgan ha deixat de ser funcional per passar a ser malalt serà un tema de relleu per abordar la urgència o necessitat de cada operació o tractament. Qui decidirà. ?

Pel que fa al cartílag articular aquesta qüestió esdevé important ja que alguns cirurgians ortopèdics podrien usar el cartílag bioimprès per prevenir l'artrosi, anticipant-se al desgast simptomàtic i a la incapacitat que genera la malaltia.

Aquestes qüestions i d'altres sorgiran evidentment quan les tècniques estiguin a punt per ser utilitzades directament en els pacients. En aquest sentit, entendre el posicionament dels clínics és important perquè són els qui acabaran recomanant en quines situacions emprar les noves tècniques i en quines altres esperar però, a la vegada, cal una coordinació amb altres òrgans que ajudin a definir unes línies que assegurin el correcte funcionament del procés.



---

*Capítol 3:  
Trends in scientific reports on cartilage  
bioprinting: A scoping review.*

---

**P1**



Review

# Trends in Scientific Reports on Cartilage Bioprinting: Scoping Review

Àngels Salvador Vergés<sup>1</sup>, MD; Meltem Yildirim<sup>2</sup>, PhD; Bertran Salvador<sup>3</sup>, MSc; Francesc Garcia Cuyas<sup>4</sup>, MD, MPH

<sup>1</sup>Digital Care Research Group, Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Research Group on Methodology, Methods, Models and Outcomes of Health and Social Sciences, Department of Nursing, Faculty of Health Sciences and Welfare, Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

<sup>3</sup>Communication Department, University Pompeu Fabra, Barcelona, Spain

<sup>4</sup>Catalan Society of Digital Health, Hospital Sant Joan de Déu, Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

**Corresponding Author:**

Àngels Salvador Vergés, MD

Digital Care Research Group

Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya

Magi Casanovas, 11

Barcelona, 08870

Spain

Phone: 34 630887995

Email: [angels.salvador@uvic.cat](mailto:angels.salvador@uvic.cat)

## Abstract

**Background:** Satisfactory therapeutic strategies for cartilaginous lesion repair do not yet exist. This creates a challenge for surgeons and biomedical engineers and leads them to investigate the role of bioprinting and tissue engineering as viable treatments through orthopedic surgery, plastic surgery, and otorhinolaryngology. Recent increases in related scientific literature suggest that bioprinted cartilage may develop into a viable solution. 67

**Objective:** The objectives of this review were to (1) synthesize the scientific advances published to date, (2) identify unresolved technical problems regarding human application, and (3) identify more effective ways for the scientific community to transfer their findings to clinicians.

**Methods:** This scoping review considered articles published between 2009 and 2019 that were identified through searching PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar. Arksey and O'Malley's five-step framework was used to delimit and direct the initial search results, from which we established the following research questions: (1) What do authors of current research say about human application? (2) What necessary technical improvements are identified in the research? (3) On which issues do the authors agree? and (4) What future research priorities emerge in the studies? We used the Cohen kappa statistic to validate the interrater reliability.

**Results:** The 13 articles included in the review demonstrated the feasibility of cartilage bioprinting in live animal studies. Some investigators are already considering short-term human experimentation, although technical limitations still need to be resolved. Both the use and manufacturing process of stem cells need to be standardized, and a consensus is needed regarding the composition of hydrogels. Using on-site printing strategies and predesigned implants may allow techniques to adapt to multiple situations. In addition, the predictive capacity of implant behavior may lead to optimal results.

**Conclusions:** Cartilage bioprinting for surgical applications is nearing its initial use in humans. Current research suggests that surgeons will soon be able to replace damaged tissue with bioprinted material.

(*JMIR Form Res* 2019;3(3):e15017) doi:[10.2196/15017](https://doi.org/10.2196/15017)

**KEYWORDS**

cartilage 3D printing; knowledge; tissue engineering; surgery; cartilage repair; chondrogenesis; cartilage biomaterials

## Introduction

Cartilage is a specialized connective tissue devoid of nerves, blood, and lymph vessels. It has flexible characteristics and consists of an abundant extracellular matrix and chondrocytes. Articular cartilage lesions do not heal spontaneously and lead to impaired function, progressive disability, and decreased quality of life [1]. Traumatic and degenerative cartilage injuries represent one of the most challenging and frustrating clinical scenarios.

Medical specialties have a long history of adopting new solutions for patient problems, including new techniques to repair or replace damaged tissue, such as total joint replacement by orthopedic surgeons, cornea replacement in ophthalmology, and repairing malformations or congenital absence of the ear (ie, microtia) [2]. Repairing or replacing damaged or absent cartilage structures, such as the ear or nose, presents a significant challenge in reconstructive plastic surgery; in these cases, a clinically conceivable procedure needs to be created, because current procedures often involve multiple surgeries [3] and complications, such as infections, tissue necrosis, pain, and the risk of an undesirable result [4].

Bioprinting technology (ie, three-dimensional [3D]) is a new approach that allows the regeneration of cartilaginous structures using cartilaginous cells in a biocompatible environment. The 3D shape of the bioprinting product can be exact, which is very important in nasal septum or external ear reconstruction [5].

Tissue engineering and regenerative medicine are life science fields that use the principles of tissue engineering to regenerate damaged structures or create new ones [6]. Better understanding of how to optimize patient care can improve outcomes and quality of life, allowing more efficient use of health resources. Results of previous research [7,8] suggest that the most logical next step is to examine surgeons' responses to this new therapeutic possibility. Reviewing, analyzing, and categorizing the different research activities in this new field [9] will help define the scope and depth of future research and identify gaps in critical knowledge [10]. This review synthesizes published studies on bioprinted cartilage to accomplish the following: (1) identify the current state of cartilage bioprinting, (2) identify the technical issues associated with human application, and (3) highlight the need to extend the advanced knowledge to clinicians.

## Methods

### Overview

Previous literature in this field lacks specificity; therefore, a scoping study methodology was chosen to correctly identify information gaps and precisely illustrate future research needs. The scoping review system creates a map of the published literature to explore the methodological and empirical differences in various knowledge areas.

## Study Design

### Overview

A scoping review methodology was chosen because it is more exploratory and less methodological than systematic reviews; this was essential to meet the study objectives. The research strategy was modified according to Arksey and O'Malley's [11] methodological framework, which proposes a five-stage transparent process for replicating research strategies to increase the reliability of the results. The first stage clarifies and links the study purpose and the research questions; stage two balances feasibility with the breadth of the research process; stage three includes study selection; stage four involves mapping the data; and stage five summarizes the findings.

### Clarifying and Linking the Purpose to Research Questions

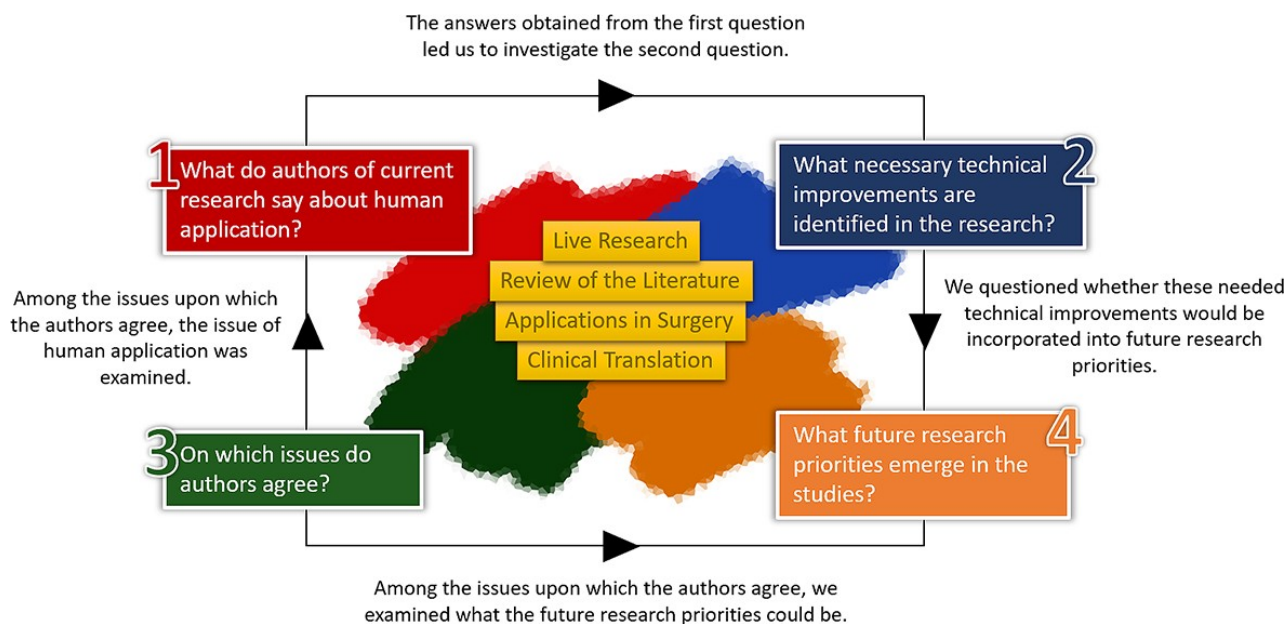
This study aimed to identify the current status of cartilage bioprinting and the associated influence on clinical use, as well as to subsequently improve the information that reaches surgeons. The following research questions guided the search:

1. What do authors of current research say about human application?
2. What necessary technical improvements are identified in the research?
3. On which issues do authors agree?
4. What future research priorities emerge in the studies?

After determining the research questions, we developed a conceptual framework to define and map the key concepts of bioprinted cartilage and to identify research gaps that may hinder using bioprinting techniques in human applications (see [Figure 1](#)). The conceptual framework guided both the analysis and the systematic presentation of the summarized data. The four research questions comprised the main branches of the framework, and the extracted data were categorized into four blocks, which answer our research questions.

### Balancing Viability With the Breadth of the Process

The bibliographic search was conducted between January and March 2019 and included Scopus, Web of Science, and PubMed databases. Choosing the correct key terms was critical to facilitating maximum coverage of the related research literature [12]. We used Medical Subject Headings (MeSH) terminology to increase search sensitivity: "bioprinting" AND "surgery" AND "cartilage" OR "surgical procedures." We also examined each article's reference list and conducted additional Google Scholar searches on research terms available in the gray literature. This expanded the search by adding the following terms: #bioprinting, #articular cartilage, #tissue engineering, #cartilage, #stem cells, #scaffolding, #biofabrication, #cartilage regeneration, #surgery, #transplantation, #cartilage tissue engineering, and #clinical translation.

**Figure 1.** Conceptual framework of the scoping review.

### Study Selection

Bioprinted cartilage technology has changed in recent years; consequently, only a limited number of articles, some of which were already in the authors' bibliography archives, were included. Scoping reviews [13] are used to map underlying concepts; therefore, as in other types of knowledge synthesis [14], it is essential to define the methods. In 2015, the Joanna Briggs Institute published the methodological guidelines [15] for presenting a broad view of the evidence, regardless of study quality; clarifying key concepts; and identifying gaps [16]. This methodology involves incorporating a checklist to increase method transparency, judge validity and reliability, and adequately handle the search [17]. Among the existing forms of presentation, we focused on the revised and expanded Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses-Rapid Reviews (PRISMA-RR) [18]. Figure 2 illustrates the transparency of the article selection.

The electronic database search, the Internet hand search, and the archive database search identified 418 articles; 275 were excluded because the main concepts of our search were only cited in the context of this work. A total of 81 duplicates were also excluded as well as 31 articles due to exclusion criteria (see Table 1). Interrater agreement was analyzed for the remaining 31 articles using the Cohen kappa statistic [19-21], which indicated a moderate level of agreement among our evaluators and yielded a total of 13 articles for analysis.

### Extracting and Charting the Results

Kok and Schuit [22] proposed a method to map research contributions to improve the impact of research on the population's health. The method focuses on producing anticipatory processes and extending, disseminating, and using knowledge. The articles selected for analysis through evaluator agreement were all published between 2016 and 2019.

The collected articles were organized by author, title, year, country, and type of article (see Table 2). The selected articles originated from the United States (4/13, 31%) [23-26], China (2/13, 15%) [27,28], Korea (2/13, 15%) [29,30], Sweden (2/13, 15%) [31,32], Australia (2/13, 15%) [33,34], and Canada (1/13, 8%) [35].

### Reporting the Findings

The articles were classified by following types of study design:

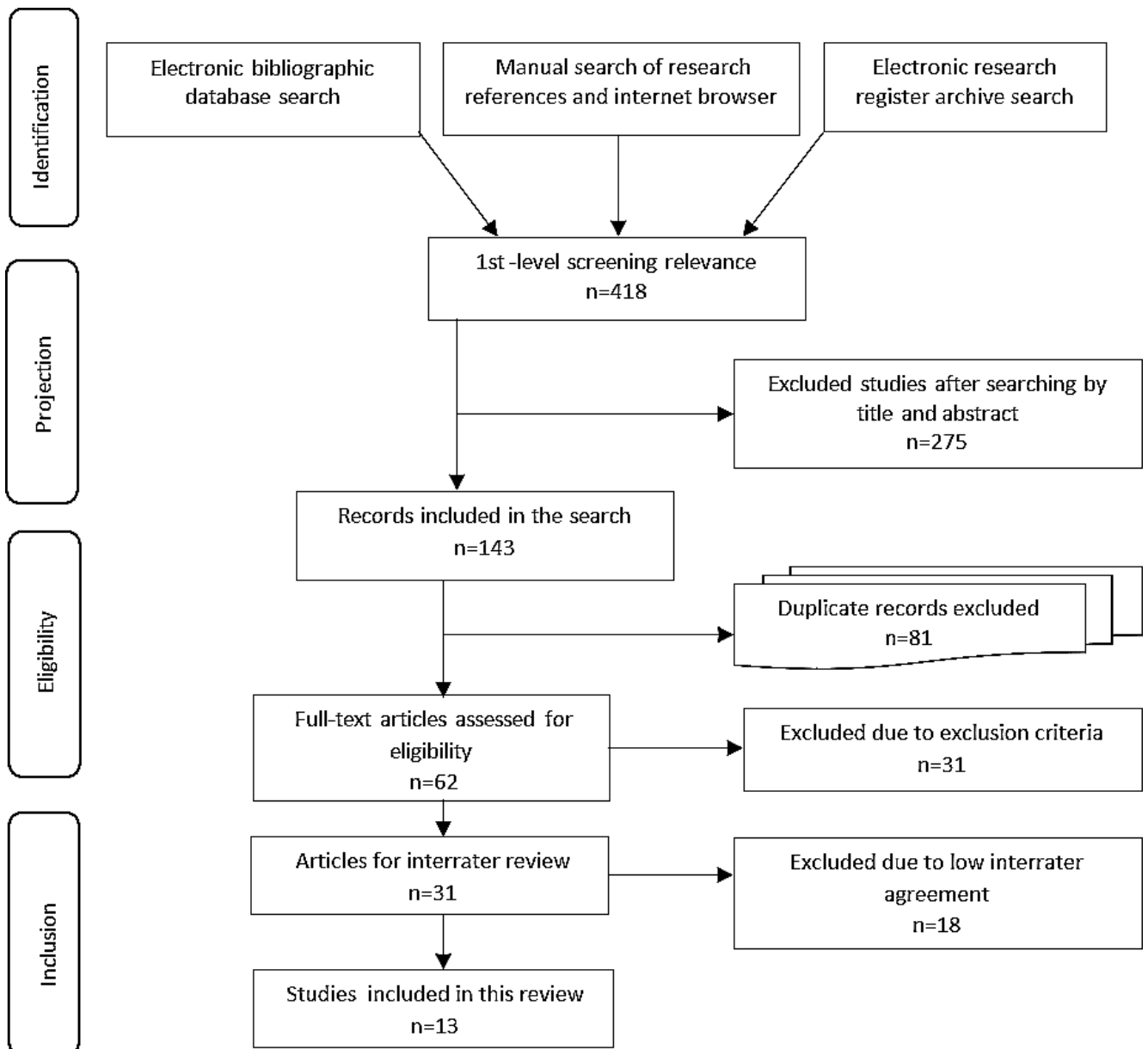
1. Live research (ie, carried out on animals).
2. Literature reviews.
3. Surgical applications.
4. Clinical translation (ie, a review methodology focused on clinical application).

We also referenced the summarized information of each article for future interpretations.

### Availability of Data and Materials

The data used and analyzed in this study are available from the primary author upon reasonable request.

Figure 2. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) flow diagram for the scoping review process.



Criteria	Inclusion criteria	Exclusion criteria
Language	English	Non-English
Year of publication	2009-2019	Before 2009
Peer reviewed	Yes	No
Study design	Original research In vivo study Literature revision Description of surgical procedures	Clinical trials in phase I/II Studies conducted in the laboratory environment
Ethical permission	Obtained	Not obtained

**Table 2.** Selected articles.

Authors	Title	Year	Country	Type of article
Di Bella et al [34]	In situ handheld three-dimensional bioprinting for cartilage regeneration	2018	Australia	Live research
Onofrillo et al [33]	Biofabrication of human articular cartilage: A path towards the development of a clinical treatment	2018	Australia	Live research
You et al [35]	Homogeneous hydroxyapatite/alginate composite hydrogel promotes calcified cartilage matrix deposition with potential for three-dimensional bioprinting	2019	Canada	Live research
Apelgren et al [31]	Skin grafting on 3D bioprinted cartilage constructs in vivo	2018	Sweden	Live research
Wu et al [25]	Three-dimensional bioprinting of articular cartilage: A systematic review	2018	United States	Literature review
Dhawan et al [26]	Three-dimensional bioprinting for bone and cartilage restoration in orthopaedic surgery	2019	United States	Literature review
Leberfinger et al [24]	Concise review: Bioprinting of stem cells for transplantable tissue fabrication	2017	United States	Literature review
Apelgren et al [30]	Chondrocytes and stem cells in 3D-bioprinted structures create human cartilage in vivo	2017	Korea	Surgical application
Yi et al [29]	Three-dimensional printing of a patient-specific engineered nasal cartilage for augmentative rhinoplasty	2019	Korea	Surgical application
Kaye [32]	A 3-dimensional bioprinted tracheal segment implant pilot study: Rabbit tracheal resection with graft implantation	2019	Sweden	Surgical application
Li [27]	In situ repair of bone and cartilage defects using 3D scanning and 3D printing	2017	China	Surgical application
Boushell [23]	Current strategies for integrative cartilage repair	2017	United States	Surgical application
Liu et al [28]	Recent progress in cartilage tissue engineering: Our experience and future directions	2017	China	Clinical translation

## Results

### Overview

Table 2 lists the articles included in this review. All reviewed studies contributed to understanding the complexity of applying cartilage bioprinting in humans. Table 3 summarizes the authors' contributions regarding the first research question. This grouping allowed us to identify the approach according to the lines of research. The articles included in the group of in vivo studies emphasized the applied aspects of technology development, such as the elements that constituted the process (eg, bioink and its composition, replicability and cell viability, and the bioprinter), as well as bioprinting intervention strategies that included the use of a Biopen (ie, a manual bioprinter) with preclinical results in large animals. This is the strategy closest to human experimentation, according to the authors who used it.

### Clinical Translation

Questions that arise from the studies cover a wide range of possibilities. Key elements for clinical translation included scalability and lesion characteristics, such as different lesion geometries and measurements. Insights from surgical application

studies included problems specific to orthopedic, plastic, and otorhinolaryngology surgery. To progress toward human application, each surgical strategy must overcome these application-specific challenges. In addition, Boushell et al [23] opened debate on the scaffold versus cellular approaches. Li et al's [27] translational study provided specific reading aimed at clinical professionals to establish synergies with basic research. Its goal was to reach surgical professionals not directly involved in the research.

Table 4 details the technical improvements identified in the studies that were necessary to continue progressing toward human application. In general, they involve two concepts: cellular sources and biomaterials, including scaffolds and hydrogels. Onofrillo [33], Apelgren et al [31], and Leberfinger [24] prioritized the need to develop protocols for obtaining cells; they also recognized that, despite variable sources, all cells must maintain chondrogenic capacity, not cause morbidity at the donor site, expand easily in the culture without losing phenotype, and support the mechanical load in the joint case. Di Bella et al [34], You et al [35], and Wu et al [25] presented disparate technical aspects that should be improved, since they followed different research paths. However, they all identified necessary biomaterial and scaffolding improvements, although the types of recommended improvements did not coincide.



**Table 3.** Authors' perspectives about current research for human application.

Type of article, authors, year	Details and authors' perspectives
<b>Live research</b>	
Di Bella et al, 2018 [34]	Authors used the Biopen manual printing system in the operating room for implanting cartilage directly into the bed of a lesion. They suggested that this system would improve the possibility of use in humans because it facilitates in situ implant creation, and they have demonstrated clinical efficacy and safety in large animals. They have not detected intraoperative or perioperative complications. The preliminary data obtained on the safety and stability of the in vivo characteristics of the implanted cartilage suggest that use of the technique in humans may not be far off.
Onofrillo et al, 2018 [33]	Authors used the Biopen system and contributed to defining a possible clinical bioprinting protocol for application in humans. They studied the cell viability and characteristics of bioinks to ensure that the created cartilaginous tissue was similar to native tissue. They concluded that their discoveries allow customized repair of cartilaginous lesions in humans.
You et al, 2019 [35]	Authors studied hydrogel composition to improve the printing and dispersion of particles in situ. They reported that their investigations represent a step toward implantation in humans because they improved the mimesis with the osteochondral junction.
Apelgren et al, 2018 [31]	Authors in this mouse study investigated implanting skin-coated chondrocytes for application in auricular reconstructive surgeries. They suggested that for human surgery applications, it is necessary to show that the reconstruction procedure is clinically conceivable and replicable. The results increased the clinical potential in humans.
<b>Literature reviews</b>	
Wu et al, 2018 [25]	Authors demonstrated that articular cartilage bioprinting is a tissue engineering strategy that has potential translational value.
Dhawan et al, 2019 [26]	Authors reported scalability, geometric, and lesion measurement problems that may pose barriers to human application. They suggested the use of tomographic images for the design of the implant and its accuracy.
Leberfinger et al, 2017 [24]	Authors analyzed the essential elements of the bioprinting process, the different cellular sources, the bioink, and the implants with and without scaffolding. They conducted a cost-effectiveness study to evaluate the feasibility of clinical translation.
<b>Surgical applications</b>	
Apelgren et al, 2017 [30]	Authors studied the creation of cartilage with human chondrocytes in vivo; they also quantified the chondrogenic potential in combination with mesenchymal stem cells in bioprinting constructions implanted in mice for their application in plastic surgery.
Yi et al, 2019 [29]	Authors established a procedure based on a 3D computer-aided model to generate a customized nasal implant design. They reported that computer design is necessary for creating human implants.
Kaye et al, 2019 [32]	In their pilot study, authors investigated the feasibility of introducing a functional in vivo tracheal replacement in rabbits.
Li et al, 2017 [27]	Authors conducted a study to improve the cartilage defect imaging in orthopedic surgery for implementation in humans; they concluded that it is necessary to optimize the imaging process.
Boushell et al, 2016 [23]	Authors defended the use of scaffolding versus the cellular approach in human applications for orthopedic surgery. They noted that scaffolding requires fewer chondrocytes and that the functional mechanical properties of the tissue are more easily achieved by scaffolding.
<b>Clinical translation</b>	
Liu et al, 2017 [28]	Authors identified key aspects in clinical translation for human use in orthopedic surgery: (1) integration with subchondral bone for correct load distribution, (2) ensure the coincidence in the mechanical properties between the native cartilage and the implant to avoid the degradation caused by the tensional disparity, (3) guarantee resistance under deformations and movements, and (4) recapitulate different zonal architecture to achieve the structure-function relationship of the native cartilage.



**Table 4.** Needed improvements in the technical aspects.

Type of article, authors, year	Needed improvements
<b>Live research</b>	
Di Bella et al, 2018 [34]	The chemical characteristics of the biomaterial need to be improved to ensure adhesion of the implant in depth and thickness at the site of the injury.
Onofrillo et al, 2018 [33]	The ideal cell type for cartilage regeneration is still a matter of debate, as it has to be ensured that the cells obtained have a proven chondrogenic capacity, do not cause morbidity in the donor site, and are easily expandable in the culture without losing their phenotype.
You et al, 2019 [35]	The properties of hydrogels must be improved. The authors' findings show the promise of alginate/hydroxyapatite hydrogel printed on 3D scaffolds with a porous structure for calcified and bioprinted cartilage formation.
Apelgren et al, 2018 [31]	A model of bioprinted cartilage for an atrium has the potential to have a very elaborate form; however, authors state that they still need to obtain an adequate skin coverage that allows for highlighting of these high-resolution forms in the in vivo application.
<b>Literature reviews</b>	
Wu et al, 2018 [25]	The mechanical strength in bioprinting without scaffolding should be further investigated, along with the toxicity in the implanted cells. For the authors, bioprinting without scaffolding offers many possibilities for the future since it reaches a relatively high initial cell density without the inclusion of biomaterials; this translates into more space for extracellular matrix deposition as well as facilitating better cell-cell interaction, generating biomimetics, preserving cellular functionality, and eliminating tissue biodegradation.
Dhawan et al, 2019 [26]	The protocolization of technological manufacturing strategies of bioprinted cartilage needs improvement in order to allow its scalability. This technology would have the ability to manufacture tissues in clinically relevant volumes and address defects of different sizes and geometries.
Leberfinger et al, 2017 [24]	To ensure the clinical safety of obtained cells, necessary manufacturing facilities must be created for processing, including isolation facilities in hospitals, to facilitate the transition toward clinical use. Among the cellular sources that could be used, the authors point out embryonic stem cells, induced pluripotent cells, and adult stem cells from bone marrow and adipose tissue.
<b>Surgical applications</b>	
Apelgren et al, 2017 [30]	A significant challenge in reconstructive plastic surgery is the approach that allows the regeneration of cartilage structures using autologous cells dispersed in biocompatible scaffolds. Several problems associated with this method have not yet been investigated or resolved, including load-bearing capacities, shear strength, elastic characteristics, and resistance to degeneration.
Yi et al, 2019 [29]	In patients who require a nasal implant, the postoperative characteristics of the skin that will cover the implant must be improved to ensure that it is not affected by the external pressure generated later, nor by the degradation of the biomaterials in the long term. The authors propose a pre- and postoperative control algorithm that calculates all the variables.
Kaye et al, 2019 [32]	In their in vivo study of the implantation of a trachea seeded with cells, authors detected the need to cover the implant with a membrane to avoid inflammatory reactions and stenosis of the light when applied in humans. These findings are essential for the future of reconstruction and implantation of tracheal grafts.
Li et al, 2017 [27]	It is necessary to visualize the cartilaginous defect with computed tomography, synthesize suitable biomaterials, and print hydrogels in a personalized way in a short time. The use of a specific bioprinter to carry out this process is necessary to achieve the objective of personalized implants in situ through bioprinting.
Boushell et al, 2016 [23]	The characterization, optimization, and standardization of models in large animals will be critical for the next phase of the investigation for cartilage repair. In addition to the development of better culture models, more research is needed to fully understand the long-term maintenance and homeostasis interface of the integration strategies to ensure the success of the procedure.
<b>Clinical translation</b>	
Liu et al, 2017 [28]	Improving collaboration between materials scientists and experts from other fields related to tissue engineering is of vital importance to obtain hydrogels with balanced mechanical properties, electrical conductivity, degradation rate, biocompatibility, and chondro-inducing properties.

73

The surgical application studies focused on certain surgical approaches and identified specific technical improvements needed to obtain better results; improvements included an algorithm to ensure that the nasal implant is not degraded or subjected to excessive long-term pressure [29]; a process to guarantee the characteristics of the skin of the ear in plastic surgery [31]; and in otorhinolaryngology, the use of a membrane

trachea coating and image processing to optimize surgical results [36].

Table 5 reflects those aspects that were identified as recurrent among the different groups. An elaborate synthesis of the elements shared across the studies was completed. Analyzing these recurring elements allowed us to understand the group positions and identify the main shared aspects.

**Table 5.** Issues upon which the authors agreed.

Type of article, authors, year	Issues
<b>Live research</b>	
Di Bella et al, 2018 [34]	Once tested on animals, it is necessary to design a strategy to detect whether the implant has been kept in situ in order to move on to human trials.
Onofrillo et al, 2018 [33]	To guarantee stability in situ, a gradient of osteogenic and chondrogenic growth factors should be added to the hydrogel to promote selective tissue differentiation that would allow the formation of bone and cartilage, acquiring the complete osteochondral unit.
You et al, 2019 [35]	To ensure that the skin regeneration characteristics obtained in mice can be extrapolated to humans, they will need to perform the same experiment on large animals with regenerative capacities more similar to humans.
Apelgren et al, 2018 [31]	To ensure cell viability and optimal measurement of the implant to preserve atrial features, large animals must be investigated.
All authors	Common opinion: the next steps are to expand the research on large animals and to prolong the monitoring time to confirm the preliminary results of cell viability, in situ conservation of the implanted tissue, maintenance of the mechanical characteristics, and long-term lateral integration.
<b>Literature reviews</b>	
Wu et al, 2018 [25]	Advances so far have allowed the replication of the anatomical structures, the biological function, and the mechanical properties of the implant; however, it is necessary to continue analyzing the viability and the autoimmune response of the implanted cells before the various stimuli to which they are subjected in the living organism are activated.
Dhawan et al, 2019 [26]	These specific designs for the patient must be protocolized, not only concerning the geometry of the implant but also at the anatomical level of defect.
Leberfinger et al, 2017 [24]	The authors have found that the lack of standardized and efficient differentiation protocols of stem cells leads to variable results among groups of researchers.
All authors	Common opinion: the authors consider it essential to protocolize cell differentiation and to ensure viability, chondrogenic differentiation, scalability, and control of autoimmune reactions for implantation in humans.
<b>Surgical applications</b>	
Apelgren et al, 2017 [30]	It is necessary to extend the control period in experimental animals to assess stability and long-term integration in order to ensure the absence of malignancy.
Yi et al, 2019 [29]	It is necessary to ensure the long-term maintenance of the implant shape in large constructions and to control the central hypoxia of the implant; this would avoid an insufficient supply of oxygen and nutrients to the cells through the hydrogel that allows its diffusion.
Kaye et al, 2019 [32]	When an ideal tracheal replacement graft is constructed, the ability to fully integrate in vivo depends on its immunogenicity and its ability to promote revascularization. Also, any tracheal replacement graft must be a mechanical and functional complement similar to the native trachea.
Li et al, 2017 [27]	It is necessary to establish a methodology for in situ printing mediated by images for personalized implants. The proportion of balanced hydrogel between the speed of printing and the maintenance of cell viability must be considered as an indispensable part of the bioprinting. The structural characteristics and zonal organization of normal articular cartilage should be considered.
Boushell et al, 2016 [23]	Further exploration of appropriate culture models is required to obtain tissue integrity and prevent ectopic calcifications. A long-term solution for the treatment of full-thickness cartilage defects must be developed.
All authors	Common opinion: long-term evaluation is essential to ensure the maintenance of the form, the mechanical and functional resistance of the implant, as well as vascularization. A clinically relevant methodology must be established.

74

Table 6 reflects the lines that suggest prioritizing diverse groups. These were derived from the specific research studies, and therefore there was no shared opinion. At a general level, however, more research on manufacturing strategies to establish

the role of scaffolding and accelerate integration of native and newly formed cartilage is required. Finally, when the technology is available to humans, the results obtained from bioprinted cartilage should be compared to the traditional gold standard.

**Table 6.** Future research priorities proposed by the authors.

Type of article, authors, year	Future research priorities
<b>Live research</b>	
Di Bella et al, 2018 [34]	Authors propose the use of the Biopen for its ease of use, which does not require prior training by the surgeon. They highlight the need for more trials to evaluate the biomechanical characteristics of cartilage.
Onofrillo et al, 2018 [33]	Authors propose studying the phenotype, cell migration, matrix deposition, proteolytic activity, and the rate of degradation of the construct; they propose this in order to evaluate and correlate with the formation of new cartilage and to better understand the interaction between human adipose-derived stem cells and the gelatin methacrylate/hyaluronic methacrylate cross-linked hydrogel.
You et al, 2019 [35]	Authors propose that the combination of alginate/hydroxyapatite should be considered a critical component for the regeneration of the osteochondral interface of the skeletal joints.
Apelgren et al, 2018 [31]	Authors propose a methodology capable of evaluating the in vivo proliferation of chondrocytes, alone and in a combination with mesenchymal cells. They suggest that their technique is viable in that it maintains the proliferative capacity of cartilage over time.
<b>Literature reviews</b>	
Wu et al, 2018 [25]	Authors propose studying the mechanical forces that are applied to the knee and that a semiconfined compression is a good way to mimic the native mechanical environment in future studies. Thus, it will be possible to study how the mechanical stimuli regulate the cell activities in the bioprinted constructs.
Dhawan et al, 2019 [26]	Authors propose that when the technology is available for humans and once bioprinted cartilage implants are obtained, they can be compared with the traditional gold standard.
Leberfinger et al, 2017 [24]	Authors recommend carefully studying the growth factors that are part of the biomaterials before proceeding to standardize the bioprinting and implantation of the graft.
<b>Surgical applications</b>	
Apelgren et al, 2017 [30]	Authors propose exploring other cellular sources from in vivo studies to compare before standardizing the bioprinting process. Stem cells derived from adipose tissue that could support chondrogenesis are proposed. They propose lengthening the study time in vivo to confirm the stability of the cartilage shape, elastic characteristics, and integrity.
Yi et al, 2019 [29]	Authors propose investigating algorithms for implant applications in other types of tissues, since they argue for the high versatility of the technology; the availability of various extracellular matrix materials of the tissue; and the pluripotency of the human adipose-derived stem cells. This contributes to the structural accuracy of the nas75al cartilage, and the hydrogel provides a favorable environment for chondrogenic differentiation and the formation of neocartilage
Kaye et al, 2019 [32]	Authors propose that for uses of cartilage bioprinting where the implant should not be integrated (eg, the trachea), the study of separating membranes that allow the implanted organ to remain isolated is recommended.
Li et al, 2017 [27]	Authors propose the use of bioprinting with assistance from a scanned image for significant segmental defects of long bones and open chondral lesions. The technique allows a dual approach to cartilage and bone.
Boushell et al, 2016 [23]	Authors propose new strategies of clinical management based on research with personalized scaffolds combined with chemotactic factors; these would give rise to a stable, functional repair with good long-term results.
<b>Clinical translation</b>	
Liu et al, 2017 [28]	Authors propose elaboration of a guide of Good Manufacturing Practice that allows the complete production of cartilaginous grafts on a large scale. Most of the new developments in engineering of cartilage tissue have not yet translated into measurable improvements for clinicians.

75

## Discussion

### Principal Findings

In recent years, there has been an increase in the annual publication of articles on cartilage bioprinting, contributing to the knowledge and management of this process. The methodology adopted in this review allowed us to analyze 13 articles and present systematically summarized data. No clinical trials in humans have been identified to date. Tests with large animals presented some challenges and suggested possible strategies [37]. In this context, the reviewed articles provided polyhedral visions to the problem and proposed lines of research to progress toward human application. Identifying four groups

based on research characteristics allowed us to establish synergies, understand confluences across studies, and highlight specific problems that surfaced as well as potential problems that may emerge as the field advances.

The Biopen [33,34] is the technique most likely to be applied in humans in the short term. The Biopen arose out of a collaboration between researchers at the University of Wollongong-based Australian Research Council Centre of Excellence for Electromaterials Science and orthopedic surgeons at St. Vincent's Hospital in Melbourne. The Biopen technique is based on a small bioprinter that is easy to handle and is loaded with biological inks composed of stem cells inside a biopolymer, which in turn is protected by a second layer of hydrogel. The

exchange of injectors allows different cells to be deposited at different concentrations on the surface to be repaired and, thus, recreates the zonal anatomy of native cartilage. It is then solidified by an ultraviolet light embedded in the pen. It is an attractive proposition for surgeons since its use does not require a long learning curve. The Biopen allows precise positioning of cells and biomaterials, rapid placement at the defect site, and minimal manipulation by the surgeon. Other authors advocate the predesign rather than in situ design of the implant: Yi et al [29], Apelgren et al [31], Li et al [36], Kaye et al [32], and Boushell et al [23]. These five studies focus on surgical applications in plastic surgery, otorhinolaryngology, and orthopedics.

The characteristics of these approaches make it difficult to use on-site technologies, while the preoperative design of the implants is necessary. In Kaye et al's study [32], tracheal substitution started from a decellularized extracellular matrix trachea and subsequently seeded cells. Currently, in situ application of the technique appears to be restricted to joint injuries, despite being in a more advanced state of research. The image-mediated design, with algorithms such as those proposed by Yi et al [29], allows an implant, as similar as possible, while allowing for preoperative assessment of pressure and skin growth effects in plastic surgery implants. For Li et al [36] and Yi et al [29], the use of images is a line that must be exploited to ensure functional transplants with preservation capacity in both nasal and orthopedic applications. The Biopen technique would make it possible to ignore image studies, which contain a certain margin of error. This is evident in both Li et al's [36] and Yi et al's [29] studies, where they recommended technical improvements for obtaining and processing previous images to guarantee the implant design and facilitate optimal implantation.

Both impression approaches face a series of challenges, including maintenance of the implant form, cell viability, and mechanical resistance. The interface between the implant and adjoining native tissues also needs to be addressed. Form maintenance encompasses different strategies, such as the use of desecralized structures, as described by Kaye et al [32] with tracheal implants.

Scaffolds can contribute rigidity and mechanical resistance to the implant. In scaffolding, a structure with synthetic biopolymers provides mechanical support to maintain shape and load, while hydrogel provides a biological environment for regeneration of bioprinted cartilage [5]. Boushell et al [23] advocated the use of scaffolds insofar as they require a lower cellular concentration and facilitate the mechanical properties of the implant, which seems to adopt better mechanical-functional behaviors. On the other hand, Biopen techniques do not require a classic scaffold; however, they should guarantee both peri- and postoperative safety, functionality, and nondegradation of the construct, while scaffolds must ensure lateral integration of the implant. There is debate about the usefulness of scaffolds in orthopedic surgery. To date, lateral integration of the implant has not been confirmed with enough clarity.

Implant integration and fixation are aspects that can affect all the analyzed proposals. Correct integration and fixation of the

neocartilage requires geometric measures of the osteochondral lesion's total volume. Resistance to implanted cartilage degradation should be guaranteed in the long term, whether or not scaffolding is used. Wu et al [25] proposed semiconfined compression as an excellent way to mimic the native mechanical environment in future studies, facilitating research on how mechanical stimuli regulate cell activities in bioprinted constructs.

The risk of inflammation or the contraction or deformation of the implanted tissue, either with or without a scaffold, affecting the end result should not be overlooked. Kaye et al's [32] work highlighted this difficulty in tracheal surgery; Yi et al [29] advocated greater precision in the algorithm to ensure that there is no modification of the postoperative nasal implant related to external causes. Postoperative cellular viability, such as maintaining cellular replication over time, must be analyzed by methods such as those proposed by Apelgren et al [30]. To date, the Biopen technique has not provided long-term viability results in large animals.

The hydrogels used must respond to a variety of biological needs, ensuring balanced mechanical properties, electrical conductivity, degradation rate, biocompatibility, and chondro-inducing properties [27]. Specific equilibria can be found in the speed of printing and the maintenance of cell viability [36]. In plastic surgery and otorhinolaryngology, they must also allow the correct irrigation of the tissue to avoid situations of hypoxia. The combination of biomaterials, such as alginate/hydroxyapatite [35] or a cross-linked gelatin methacrylate/hyaluronic methacrylate [33], should be considered a critical component for regeneration of the

76

osteochondral interface in orthopedic surgery.

The cellular source of the implants is the last element of debate. There are two issues: cellular origin and cell treatment. The cells can be obtained from adult tissue-derived stem cells (ie, fat cells, bone marrow, and others), mesenchymal stem cells, autologous chondrocytes, and induced pluripotent cells. Researchers used two types of cells in the reviewed works: mesenchymal stem cells and stem cells derived from adipocytes. Cells extracted from the patient encounter extraction problems, but the chondrogenic capacity facilitates cellular processing and regulatory requirements, which are much higher with stem cells. Standardizing all steps in the process (eg, cell differentiation, the composition of the hydrogels, and the speed of printing) is necessary to enable translation to humans [27].

### Identified Gaps

Although approaches differ depending on the study type and the application, a series of gaps and challenges were identified that were shared across studies, although there are differences in the ease of resolution, functional technique, and surgical strategies:

1. Optimum integration with the host subchondral bone and cartilage must be achieved.
2. The biological, biomechanical, and degradation properties of the bioprinted cartilage must be ensured.

3. A systematic manufacturing process must be developed and implant preservation, cellular sources, and the role of scaffolds must be optimized.
4. Clinical safety related to the effects of implants on native tissues must be examined.

## Challenges

### Overview

Surgical challenges similar to allogeneic organ transplants, including cellular ischemia and size adjustment, will persist. According to Li et al [36], the size match can be planned before surgery with computed tomography and computer-aided design images [38]. The implanted tissue must be composed of biocompatible materials that are integrated into the native cells, allowing growth and preventing an immune response. Ethical dilemmas and regulatory problems are also likely to arise as this technology advances.

### Ethical Dilemmas

To avoid an immune response in current transplants and lifelong treatment, adult stem cells offer the ability to produce autologous tissue that prevents the need for immunosuppressive therapy [24]. Support and biocompatible biological components must have a low inflammatory response to prevent the appearance of macrophages [39]. Even small changes in the chemical, physical (ie, structure and degradation), and mechanical properties of bioprinting materials can affect the integrity and biocompatibility of the structural component and, ultimately, the performance after it is implanted [40].

Two crucial nonclinical challenges will also affect implementation of this technology: regulation and costs. The reviewed studies focused primarily on specific technical aspects, except for the Leberfinger et al study [24], which investigated cost relationships. In addition, Liu et al [27] suggested a need for useful practice manuals to facilitate both the translation and regulation of the techniques.

### Regulation

Currently, when cells are modified and combined with a scaffold that provides physical support for the growth of new tissue, they are regulated as biological products in the United States and as advanced therapy drugs in the European Union (EU) [41]. The regulatory aspects that align development of these combined products lack clarity, both in the EU and in the United States. There is also uncertainty regarding the potential impact of current proposals to amend the EU directive on medical products [42].

### Costs

One concern associated with personalized regenerative medicine is the uncertainty regarding the cost of obtained tissues [40]. Costs associated with cell acquisition and processing, scaffold manufacturing, bioreactor maturation, surgical implantation, and postoperative care are also likely to be substantial, but it is not clear how they will compare with the current cost of

transplants [43]. As with any new scientific advance, costs will probably decrease as technology evolves and becomes more efficient.

### Implications for Future Research

Bioprinting technologies are unique in that they allow a certain pattern of multiple cell types and materials to recreate the native structure of cartilage [44]. Future studies should evaluate other sources of multipotent stem cells, such as stem cells derived from adipose tissue or from mesenchymal or other cells, to support chondrogenesis. These stem cells can be easy to collect, and some studies report that they have substantial proliferative potential [30].

Collectively, the analyzed studies demonstrate the feasibility of cartilage engineering and underscore the need for a continuous biological barrier between the neo-cartilage and the bone region. It is likely that the biphasic design alone is not sufficient to achieve consistent and functional cartilage, as well as formation and integration into the subchondral bone [30]. Peripheral distribution in the matrix formation, as well as correct orientation of the collagen fibers and mechanical resistance to tension, are vital elements in cartilage tissue engineering [33]. Although in vivo testing has been conducted in large animals, before progressing to human trials it is necessary to specify and resolve the detected gaps to establish the necessary physical and biomechanical characteristics, address potential implant degradation, and ensure transverse integration of the graft in the host.

### Strengths and Limitations

One limitation is the heterogeneity of the selected articles. Evaluating the methodological quality of the included studies was not within the scope of this review, which aimed to identify and synthesize the key concepts in cartilage bioprinting research. There may be additional relevant works that were not identified by the search strategy used in this review.

This concise review presented the evolving technology of cartilage bioprinting and its main components, with a particular focus on clinical translation. This work contributes a summary and update of current research in this area, which can be made available to clinicians to facilitate a better understanding of this new technology.

### Conclusions

Human applications for bioprinted cartilage are likely to emerge in the near future. Advanced research on bioprinted cartilage can become a spearhead for adapting the technology to bioprint other types of tissue. On-site printing strategies and predesigned models can adapt to different situations. In addition, as imaging technology advances, processing implants and identifying the predictive capacity of implant behavior will allow better results. Regulation of the technology across different countries and cost-effectiveness of the technique will also need to be addressed in future studies.



## Acknowledgments

We thank Luis Fernández-Luque for his contributions to clarity and structure and Francesc Lopez Seguí for his advice.

## Authors' Contributions

ASV conducted the study and data analysis with MY. BS and FGC contributed to the writing and editing of the manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript.

## Conflicts of Interest

None declared.

## References

- Chen D, Shen J, Zhao W, Wang T, Han L, Hamilton JL, et al. Osteoarthritis: Toward a comprehensive understanding of pathological mechanism. *Bone Res* 2017;5:16044 [FREE Full text] [doi: [10.1038/boneres.2016.44](https://doi.org/10.1038/boneres.2016.44)] [Medline: [28149655](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28149655/)]
- Frenzel H. Hearing rehabilitation in congenital middle ear malformation. *Adv Otorhinolaryngol* 2018;81:32-42. [doi: [10.1159/000485525](https://doi.org/10.1159/000485525)] [Medline: [29794426](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29794426/)]
- Firmin F, Marchac A. A novel algorithm for autologous ear reconstruction. *Semin Plast Surg* 2011 Nov;25(4):257-264 [FREE Full text] [doi: [10.1055/s-0031-1288917](https://doi.org/10.1055/s-0031-1288917)] [Medline: [23115531](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23115531/)]
- Zopf DA, Iams W, Kim JC, Baker SR, Moyer JS. Full-thickness skin graft overlying a separately harvested auricular cartilage graft for nasal alar reconstruction. *JAMA Facial Plast Surg* 2013 Mar 01;15(2):131-134. [doi: [10.1001/2013.jamafacial.25](https://doi.org/10.1001/2013.jamafacial.25)] [Medline: [23519340](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23519340/)]
- Kang HW, Yoo JJ, Atala A. Bioprinted scaffolds for cartilage tissue engineering. *Methods Mol Biol* 2015 Nov;1340(4):161-169 [FREE Full text] [doi: [10.1007/978-1-4939-2938-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2938-2_11)] [Medline: [26445837](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26445837/)]
- 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 [FREE Full text] [doi: [10.1155/2018/2495848](https://doi.org/10.1155/2018/2495848)] [Medline: [30154861](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30154861/)]
- Salvador Vergés À, Fernández-Luque L, López Seguí F, Yildirim M, Salvador-Mata B, García Cuyàs F. Orthopedic surgeons' perspectives on the decision-making process for the use of bioprinter cartilage grafts: Web-based survey. *Interact J Med Res* 2019 May 15;8(2):e14028 [FREE Full text] [doi: [10.2196/14028](https://doi.org/10.2196/14028)] [Medline: [31094326](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31094326/)]
- Salvador Vergés À, Fernández-Luque L, Yildirim M, Salvador-Mata B, Garcia Cuyàs F. Perspectives of orthopedic surgeons on the clinical use of bioprinted cartilage: Qualitative study. *JMIR Biomed Eng* 2019 Feb 28;4(1):e12148. [doi: [10.2196/12148](https://doi.org/10.2196/12148)]
- Moher D, Tetzlaff J, Tricco AC, Sampson M, Altman DG. Epidemiology and reporting characteristics of systematic reviews. *PLoS Med* 2007 Mar 27;4(3):e78 [FREE Full text] [doi: [10.1371/journal.pmed.0040078](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040078)] [Medline: [17388659](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17388659/)]
- Lang ES, Wyer PC, Haynes RB. Knowledge translation: Closing the evidence-to-practice gap. *Ann Emerg Med* 2007 Mar;49(3):355-363. [doi: [10.1016/j.annemergmed.2006.08.022](https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2006.08.022)] [Medline: [17084943](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17084943/)]
- Arksey H, O'Malley L. Scoping studies: Towards a methodological framework. *Int J Soc Res Methodol* 2005 Feb;8(1):19-32 [FREE Full text] [doi: [10.1080/1364557032000119616](https://doi.org/10.1080/1364557032000119616)]
- Jenkins M. Evaluation of methodological search filters: A review. *Health Info Libr J* 2004 Sep;21(3):148-163. [doi: [10.1111/j.1471-1842.2004.00511.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-1842.2004.00511.x)] [Medline: [15318913](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15318913/)]
- Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien K, Colquhoun H, Kastner M, et al. A scoping review on the conduct and reporting of scoping reviews. *BMC Med Res Methodol* 2016 Feb 09;16:15. [doi: [10.1186/s12874-016-0116-4](https://doi.org/10.1186/s12874-016-0116-4)] [Medline: [26857112](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26857112/)]
- Munn Z, Peters MDJ, Stern C, Tufanaru C, McArthur A, Aromataris E. Systematic review or scoping review? Guidance for authors when choosing between a systematic or scoping review approach. *BMC Med Res Methodol* 2018 Nov 19;18(1):143 [FREE Full text] [doi: [10.1186/s12874-018-0611-x](https://doi.org/10.1186/s12874-018-0611-x)] [Medline: [30453902](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30453902/)]
- Peters M, Godfrey C, Khalil H, McInerney P, Parker D, Soares C. Guidance for conducting systematic scoping reviews. *Int J Evid Based Healthc* 2015 Sep;13(3):141-146. [doi: [10.1097/XEB.000000000000050](https://doi.org/10.1097/XEB.000000000000050)] [Medline: [26134548](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26134548/)]
- Evensen AE, Sanson-Fisher R, D'Este C, Fitzgerald M. Trends in publications regarding evidence-practice gaps: A literature review. *Implement Sci* 2010 Feb 03;5:11 [FREE Full text] [doi: [10.1186/1748-5908-5-11](https://doi.org/10.1186/1748-5908-5-11)] [Medline: [20181079](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20181079/)]
- Daudt HM, van Mossel C, Scott SJ. Enhancing the scoping study methodology: A large, inter-professional team's experience with Arksey and O'Malley's framework. *BMC Med Res Methodol* 2013 Mar 23;13:48 [FREE Full text] [doi: [10.1186/1471-2288-13-48](https://doi.org/10.1186/1471-2288-13-48)] [Medline: [23522333](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23522333/)]
- Stevens A, Garritty C, Hersi UK, Moher D. Developing PRISMA-RR, A Reporting Guideline for Rapid Reviews of Primary Studies (Protocol). Oxford, UK: EQUATOR Network; 2018 Feb. URL: <http://www.equator-network.org/wp-content/uploads/2018/02/PRISMA-RR-protocol.pdf> [accessed 2019-08-21]
- McHugh ML. Interrater reliability: The kappa statistic. *Biochem Med (Zagreb)* 2012;276-282. [doi: [10.11613/BM.2012.031](https://doi.org/10.11613/BM.2012.031)]
- Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977 Mar;33(1):159. [doi: [10.2307/2529310](https://doi.org/10.2307/2529310)]
- Fleiss JL. *The Design and Analysis of Clinical Experiments*. New York, NY: John Wiley & Sons; 1986.

22. Kok M, Schuit A. Contribution mapping: A method for mapping the contribution of research to enhance its impact. *Health Res Policy Syst* 2012 Jul 02;10:21 [FREE Full text] [doi: [10.1186/1478-4505-10-21](https://doi.org/10.1186/1478-4505-10-21)] [Medline: [22748169](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22748169/)]
23. Boushell MK, Hung CT, Hunziker EB, Strauss EJ, Lu HH. Current strategies for integrative cartilage repair. *Connect Tissue Res* 2017 Sep 06;58(5):393-406. [doi: [10.1080/03008207.2016.1231180](https://doi.org/10.1080/03008207.2016.1231180)] [Medline: [27599801](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27599801/)]
24. Leberfing AN, Ravnicek DJ, Dhawan A, Ozbolat IT. Concise review: Bioprinting of stem cells for transplantable tissue fabrication. *Stem Cells Transl Med* 2017 Oct 24;6(10):1940-1948 [FREE Full text] [doi: [10.1002/sctm.17-0148](https://doi.org/10.1002/sctm.17-0148)] [Medline: [28836738](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28836738/)]
25. Wu Y, Kennedy P, Bonazza N, Yu Y, Dhawan A, Ozbolat I. Three-dimensional bioprinting of articular cartilage: A systematic review. *Cartilage* 2018 Oct 29:1947603518809410. [doi: [10.1177/1947603518809410](https://doi.org/10.1177/1947603518809410)] [Medline: [30373384](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30373384/)]
26. Dhawan A, Kennedy PM, Rizk EB, Ozbolat IT. Three-dimensional bioprinting for bone and cartilage restoration in orthopaedic surgery. *J Am Acad Orthop Surg* 2019 Mar 01;27(5):e215-e226. [doi: [10.5435/JAAOS-D-17-00632](https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-17-00632)] [Medline: [30371527](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30371527/)]
27. Li L, Yu F, Shi J, Shen S, Teng H, Yang J, et al. In situ repair of bone and cartilage defects using 3D scanning and 3D printing. *Sci Rep* 2017 Aug 25;7(1):9416 [FREE Full text] [doi: [10.1038/s41598-017-10060-3](https://doi.org/10.1038/s41598-017-10060-3)] [Medline: [28842703](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28842703/)]
28. Liu Y, Zhou G, Cao Y. Recent progress in cartilage tissue engineering: Our experience and future directions. *Eng* 2017 Feb;3(1):28-35. [doi: [10.1016/J.ENG.2017.01.010](https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.01.010)]
29. Yi H, Choi Y, Jung JW, Jang J, Song T, Chae S, et al. Three-dimensional printing of a patient-specific engineered nasal cartilage for augmentative rhinoplasty. *J Tissue Eng* 2019 Jan 16;10:2041731418824797 [FREE Full text] [doi: [10.1177/2041731418824797](https://doi.org/10.1177/2041731418824797)] [Medline: [30728937](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30728937/)]
30. Apelgren P, Amoroso M, Lindahl A, Brantsing C, Rotter N, Gatenholm P, et al. Chondrocytes and stem cells in 3D-bioprinted structures create human cartilage in vivo. *PLoS One* 2017 Dec 13;12(12):e0189428 [FREE Full text] [doi: [10.1371/journal.pone.0189428](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189428)] [Medline: [29236765](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29236765/)]
31. Apelgren P, Amoroso M, Säljö K, Lindahl A, Brantsing C, Stridh Orrhult L, et al. Skin grafting on 3D bioprinted cartilage constructs in vivo. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2018 Sep;6(9):e1930 [FREE Full text] [doi: [10.1097/GOX.0000000000001930](https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000001930)] [Medline: [30349794](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30349794/)]
32. Kaye R, Goldstein T, Grande DA, Zeltsman D, Smith LP. A 3-dimensional bioprinted tracheal segment implant pilot study: Rabbit tracheal resection with graft implantation. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2019 Feb;117:175-178. [doi: [10.1016/j.ijporl.2018.11.010](https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2018.11.010)] [Medline: [30579077](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30579077/)]
33. Onofriello C, Duchi S, O'Connell CD, Blanchard R, O'Connor AJ, Scott M, et al. Biofabrication of human articular cartilage: A path towards the development of a clinical treatment. *Biofabrication* 2018 Aug 21;10(4):045006. [doi: [10.1088/1758-5090/aad8d9](https://doi.org/10.1088/1758-5090/aad8d9)] [Medline: [30088479](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30088479/)]
34. Di Bella C, Duchi S, O'Connell CD, Blanchard R, Augustine C, Yue Z, et al. In situ handheld three-dimensional bioprinting for cartilage regeneration. *J Tissue Eng Regen Med* 2018 Mar 25;12(3):611-621. [doi: [10.1002/term.2476](https://doi.org/10.1002/term.2476)] [Medline: [28512850](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28512850/)]
35. You F, Chen X, Cooper DML, Chang T, Eames BF. Homogeneous hydroxyapatite/alginate composite hydrogel promotes calcified cartilage matrix deposition with potential for three-dimensional bioprinting. *Biofabrication* 2018 Dec 27;11(1):015015 [FREE Full text] [doi: [10.1088/1758-5090/aaf44a](https://doi.org/10.1088/1758-5090/aaf44a)] [Medline: [30524110](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30524110/)]
36. Li L, Yu F, Shi J, Shen S, Teng H, Yang J, et al. In situ repair of bone and cartilage defects using 3D scanning and 3D printing. *Sci Rep* 2017 Aug 25;7(1):9416 [FREE Full text] [doi: [10.1038/s41598-017-10060-3](https://doi.org/10.1038/s41598-017-10060-3)] [Medline: [28842703](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28842703/)]
37. Roseti L, Cavallo C, Desando G, Parisi V, Petretta M, Bartolotti I, et al. Three-dimensional bioprinting of cartilage by the use of stem cells: A strategy to improve regeneration. *Materials (Basel)* 2018 Sep 17;11(9) [FREE Full text] [doi: [10.3390/ma11091749](https://doi.org/10.3390/ma11091749)] [Medline: [30227656](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30227656/)]
38. Ravnicek DJ, Leberfing AN, Koduru SV, Hospodiuk M, Moncal KK, Datta P, et al. Transplantation of bioprinted tissues and organs: Technical and clinical challenges and future perspectives. *Ann Surg* 2017 Jul;266(1):48-58. [doi: [10.1097/SLA.0000000000002141](https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000002141)] [Medline: [28594678](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28594678/)]
39. Kzhyshkowska J, Gudima A, Riabov V, Dollinger C, Lavallo P, Vrana NE. Macrophage responses to implants: Prospects for personalized medicine. *J Leukoc Biol* 2015 Dec 13;98(6):953-962. [doi: [10.1189/jlb.5VMR0415-166R](https://doi.org/10.1189/jlb.5VMR0415-166R)] [Medline: [26168797](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26168797/)]
40. Pink J. Medical Device and Diagnostic Industry (MD+DI). 2015 Mar 06. Risks of additive manufacturing: A product safety perspective URL: <https://www.mddionline.com/risks-additive-manufacturing-product-safety-perspective> [accessed 2019-08-21]
41. Hourd P, Medcalf N, Segal J, Williams DJ. A 3D bioprinting exemplar of the consequences of the regulatory requirements on customized processes. *Regen Med* 2015 Oct;10(7):863-883. [doi: [10.2217/rme.15.52](https://doi.org/10.2217/rme.15.52)] [Medline: [26565684](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26565684/)]
42. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human Use. Brussels, Belgium: European Commission; 2012 Nov 16. URL: [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir\\_2001\\_83\\_consol\\_2012/dir\\_2001\\_83\\_cons\\_2012\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2001_83_consol_2012/dir_2001_83_cons_2012_en.pdf) [accessed 2019-08-21]
43. von Zur-Mühlen B, Wintzell V, Levine A, Rosenlund M, Kilany S, Nordling S, et al. Healthcare resource use, cost, and sick leave following kidney transplantation in Sweden: A population-based, 5-year, retrospective study of outcomes: COIN. *Ann Transplant* 2018 Dec 14;23:852-866 [FREE Full text] [doi: [10.12659/AOT.911843](https://doi.org/10.12659/AOT.911843)] [Medline: [30546003](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30546003/)]

44. Nguyen D, Hägg DA, Forsman A, Ekholm J, Nimkingratana P, Brantsing C, et al. Cartilage tissue engineering by the 3D bioprinting of iPS cells in a nanocellulose/alginate bioink. *Sci Rep* 2017 Apr 06;7(1):658. [doi: [10.1038/s41598-017-00690-y](https://doi.org/10.1038/s41598-017-00690-y)] [Medline: [28386058](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28386058/)]

## Abbreviations

**3D:** three-dimensional

**EU:** European Union

**MeSH:** Medical Subject Headings

**PRISMA-RR:** Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses-Rapid Reviews

*Edited by G Eysenbach; submitted 12.06.19; peer-reviewed by JA Sánchez Margallo, T Jiang; comments to author 04.07.19; revised version received 05.07.19; accepted 21.07.19; published 25.08.19.*

*Please cite as:*

Salvador Vergés À, Yildirim M, Salvador B, Garcia Cuyas F

*Trends in Scientific Reports on Cartilage Bioprinting: Scoping Review*

*JMIR Form Res* 2019;3(3):e15017

URL: <http://formative.jmir.org/2019/3/e15017/>

doi: [10.2196/15017](https://doi.org/10.2196/15017)

PMID:

©Àngels Salvador Vergés, Meltem Yildirim, Bertran Salvador, Francesc Garcia Cuyas. Originally published in JMIR Formative Research (<http://formative.jmir.org>), 25.08.2019. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work, first published in JMIR Formative Research, is properly cited. The complete bibliographic information, a link to the original publication on <http://formative.jmir.org>, as well as this copyright and license information must be included.



---

*Capítol 4:  
Perspectives of Orthopedic Surgeons  
on the Clinical Use of Bioprinted  
Cartilage: Qualitative Study*

---

**P2**



Original Paper

# Perspectives of Orthopedic Surgeons on the Clinical Use of Bioprinted Cartilage: Qualitative Study

Àngels Salvador Verges<sup>1</sup>, MD; Luis Fernández-Luque<sup>2</sup>, PhD; Meltem Yildirim<sup>3</sup>, PhD; Bertran Salvador-Mata<sup>4</sup>, BTech; Francesc Garcia Cuyàs<sup>5</sup>, MD, PhD

<sup>1</sup>Digital Care Research Group, Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Qatar Computing Research Institute, Hamad Bin Khalifa University, Doha, Qatar

<sup>3</sup>Research Group on Methodology, Methods, Models and Outcomes of Health and Social Sciences, Centre for Health and Social Care Research, Faculty of Health Science and Welfare, Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

<sup>4</sup>Scientific Communication, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain

<sup>5</sup>ICT and Health, Catalan Society of Digital Health, Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

**Corresponding Author:**

Àngels Salvador Verges, MD

Digital Care Research Group

Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya

11, Magi Casanovas

Barcelona, 08870

Spain

Phone: 34 630887995

Email: [angels.salvador@uvic.cat](mailto:angels.salvador@uvic.cat)

## Abstract

**Background:** Over the past 60 years, no technique used for treating cartilage disorders has been completely successful. Bioprinting provides a highly anticipated, novel alternative solution to this problem. However, identifying barriers to this new technology is crucial in order to overcome them when bioprinting reaches the implementation stage. This kind of research has been declared essential because clinical efficacy and safety studies alone do not always lead to successful implementation.

**Objective:** This qualitative study aimed to explore the stance of orthopedic surgeons on the use of bioprinted cartilage grafts for cartilaginous lesions. The study sought to summarize and classify the barriers and facilitators of this technique and to identify the key factors for successful implementation of bioprinted cartilage in routine clinical practice.

**Methods:** A qualitative thematic analysis method was used to evaluate data obtained from semistructured interviews and from focus groups. Data were collected between June 2017 and February 2018. Interviews focused on the collection of expert opinions on bioprinted cartilage.

**Results:** The perceived barriers to the adoption of this technology were (1) awareness of a lack of information on the status and possibilities of this technology, (2) uncertainty regarding compliance with current health care regulations and policies, and (3) demands for clinical evidence. The facilitators were (1) lack of surgical alternatives, (2) the perception that research is the basis of the current health system, and (3) the hope of offering a better quality of life to patients.

**Conclusions:** The results of this study are preliminary in nature and cannot be generalized without a broader group of participants. However, the key factors identified provide a frame of reference to help understand the challenges of bioprinted cartilage and help facilitate the transition toward its clinical use. These findings will also provide information for use at multidisciplinary meetings in scientific societies; create bridges between researchers, orthopedic surgeons, and regulators; and open a debate on the funding of this technique and the business model that needs to be developed.

(JMIR Biomed Eng 2019;4(1):e12148) doi: [10.2196/12148](https://doi.org/10.2196/12148)

**KEYWORDS**

bioprinting; orthopedic surgeons; qualitative research; cartilage; expert testimony

## Introduction

### Background

Traumatic cartilage lesions and arthritis are two of the most prevalent chronic diseases worldwide. According to data from the Global Burden of Disease Study [1], the number of people suffering from disorders caused by such diseases has increased from 140 million in 1990 to 242 million in 2013. Cartilage is a highly hydrated and specialized tissue providing a low-friction surface and resistance to erosion and diarthrodial joint load, allowing for effective articular movements. Unfortunately, the function and structure of cartilage are often damaged by trauma or ageing, adding to the fact that cartilage has a low capacity to self-heal.

Treatment of these diseases is still a challenge, and an effective solution remains to be found. These defects or lesions can last for years and can lead to arthritis [2]. Current repair techniques for cartilage lesions can be divided into two main groups: bone marrow stimulation and transplantation techniques [3,4].

The potential of regenerative medicine and tissue engineering is now recognized worldwide. These new techniques are responsible for “shifting the paradigm in health care from symptomatic treatment in the 20th century to curative treatment in the 21st century” [5-7]. Currently, three-dimensional (3D) printing is used for several applications in the medical field, for example, in the printing of patient-specific osteotomy guides. Other surgical specialties use 3D printing to study the disease pathology in a patient and practice with a 3D-printed model before surgery [8].

Bioprinting refers to the use of 3D printing to combine cells, growth factors, and biomaterials to create tissues and organs mimicking the features of their natural counterparts [9]. Bioprinting generally uses the extrusion-based method, which consists of the layer-by-layer deposition of cells through bio-ink, creating a structure similar to the natural tissue that can be used in tissue engineering and medicine. Bioprinting, which emerged in 2004 with the use of additive manufacturing, combines cells, gels, and several biocompatible elements in a single scaffold, which can replace injured tissue with a complex structure that contains several components, including structural and cellular constituents. The external shape and internal architecture can be modeled based on clinical images. Ideally, cartilage creations aimed to fill cartilage defects should be similar to the extracellular matrix to keep cells in their place and preserve a space for the tissue that will grow there [10]. Levato et al published that although the most suitable types of cells for bioprinting are well known, more research needs to be conducted regarding zonal organization of cartilage [11]. There is also the need to study the complex mechanical behavior of cartilage under compression, as a result of sliding and shear [12].

However, barriers and challenges for implementing a new technology must not be underestimated, and it is essential that they are addressed in advance to guarantee the widespread application of bioprinting once it has reached its maturity.

Research focused on this has been highlighted as crucial, since clinical efficiency and safety do not always lead to successful implementation. A recent editorial [13] encouraged implementation research at the beginning of development.

### Objectives

This qualitative study aimed to explore the stance of orthopedic surgeons on the use of bioprinted cartilage grafts for cartilaginous lesions. We sought to classify the barriers and facilitators of this new technology and identify key factors that need to be considered for successful implementation of bioprinted cartilage in routine clinical practice.

## Methods

### Study Design

The applied design consisted of a hybrid inductive and deductive thematic analysis, which allowed for interpreting gross data extracted from in-depth, semistructured interviews with orthopedic surgeons. This methodology was chosen to best reflect the perspective of interviewees.

### Inclusion Criteria

For inclusion, orthopedic surgeons had to (1) have more than 5 years of experience in the field, (2) be currently working in a hospital, and (3) be actively performing surgery. No contacted participants were excluded.

### Ethical Compliance

All participants were volunteers and agreed to participate in the interview or focus group. All were provided with the Ethics Research Committee document and signed the informed consent form. Authorization by the University Research Committee of University of Vic – Central of Catalonia (Spain) was granted (record number 28/2017).

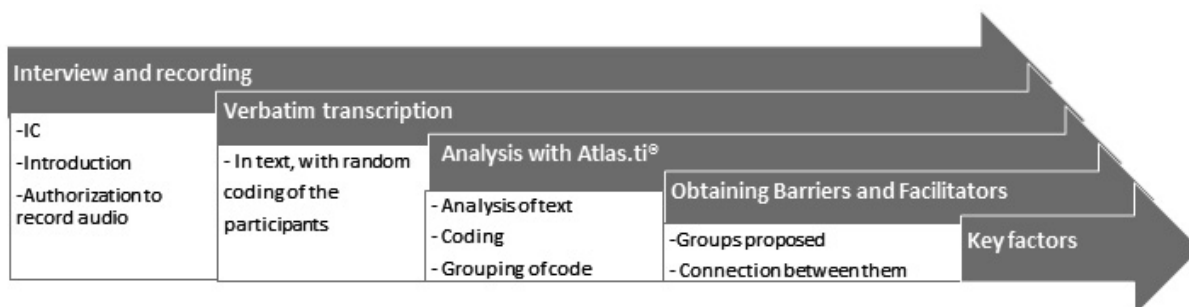
All participants were informed in advance about the nature of the project, risks, advantages, and alternatives and their rights as research subjects. Measures were taken to ensure the data collected remained confidential; participants' safety and privacy were protected during and after the study.

### Participant Selection

All participants were contacted via email, signed the informed consent form, and authorized the recording of the interview. Participants consisted of 18 orthopedic surgeons, ages 35-67. The group included 15 men and 3 women. Six were heads of units and 12 were specialists.

### Interview Structure for Data Generation

In 2001, Patton [14] created a list of 6 question types that could be formulated based on behavior or experience, opinion or values, feelings, knowledge, and perception; those questions aimed to obtain demographic or background data. Our guideline included the following themes: 3D printing, bioprinted cartilage, cell origin, current needs, rejection, expectations, and suggestions.

**Figure 1.** Flowchart of the interview process. IC: informed consent.

The interviews began by exploring the participants' knowledge regarding the medical applications of 3D printing and bioprinted cartilage. Questions on the use of stem cells were an important element of the interview, as much research is currently being conducted on mesenchymal cells obtained from umbilical cord tissue, adipose tissue, and bone marrow. The use of induced pluripotent stem (iPS) cells was also explored.

Questions related to current needs were aimed to corroborate the lack of efficiency in existing surgical techniques and the importance of research to find new practices. Questions on the expectations and reluctance of surgeons regarding the use of bioprinted cartilage sought to understand reasons for and against usage if the opportunity arose. The final section of the interview allowed for them to analyze the current situation and talk about future possibilities.

The interviews were always done with the same system (see the flowchart in [Figure 1](#)).

### Recording the Interviews

The interviews and focus group discussions were conducted between June 2017 and February 2018. To protect the identity of all participants, each participant was codified to a randomly generated number that was then used in all study documentation. Their information was kept in a password-protected virtual folder of the university. Interviews were recorded digitally and transferred to the computer, where they were saved with the interviewee number and date of the recording. Informed consent forms were also stored at the university.

A single interview was conducted for each of the 18 participants, with the introduction providing context for the interview. The shortest and longest interviews were 25 minutes, 7 seconds and 43 minutes, 11 seconds, respectively. In total, we recorded 10 hours and 18 minutes of interviews.

Most interviews were conducted in the workplace of the interviewee, except for 4 participants who chose to have the interview in a coffee shop.

### Recording the Focus Groups

Two focus groups were put together, and participant privacy was guaranteed in the same way as for the interviews. The first group consisted of 8 people, and the recording lasted 45 minutes,

23 seconds. The second group consisted of 5 people, and the recording lasted 74 minutes, 49 seconds.

### Global Data Analysis

To ensure thematic integrity, this study used only data obtained from orthopedic surgeons. This analysis aimed to generate a list of relevant concepts that could be extrapolated and categorized. This leads to an inductive approach where topics have been identified by contextual information.

The integrity of the analysis was ensured by the directives established by Shenton [15], which included iterative questioning in data collection dialogues and the construction of an "audit trail," among others. The iterative process of grouping and subgrouping questions and answers led to a series of abstract constructions that were used to create a model to understand the context.

### Inductive and Deductive Analysis of the Data

The analysis used mixed elements of inductive and deductive methods to interpret the gross data [16] and explore the attitude and experiences of the orthopedic surgeons interviewed. The flexibility of the approach helped analyze qualitative data from the interviews. The approach was useful in this study due to its large quantity of data.

Codification was reached through discussion and consent. Three researchers continued their discussion until consensus was reached regarding categorization and subcategorization of topics.

Braun and Clarke's [17] methodology, which identifies, analyzes, and describes reporting patterns, was used as a basis for thematic analysis. Due to the exploratory approach, this practical method was thought to fit the needs of the study perfectly. The process of thematic analysis is developed through 6 phases [18]. Phase 1 is becoming familiar with the data; Phase 2 is generating initial codes; Phase 3 is searching for themes and depuration of codes; Phase 4 is reviewing themes and finding those that are important either for reiteration or relevance to the research question; Phase 5 is defining and naming themes; and Phase 6 is producing the report.

Issues regarding trustworthiness were approached as described by Shenton [15], who provides a description of research, collection, and analysis design. The strategies used to ensure

honesty in the interviews include encouragement to be candid and the assurance of the voluntary nature of the interview and the right to withdraw at any chosen moment. Transferability was accomplished by providing contextual in-depth information on the study and the role of the researcher. The researcher guaranteed confidentiality [19]. For data analysis and figure generation, ATLAS.ti version 8.2.34 was used.

## Results

The analysis of the interviews and focus groups is presented in Table 1 with the aim of describing the current stance of orthopedic surgeons on cartilage grafting. The Table 1 list is what ATLAS.ti denominates as a “frequency count.” It represents the number of times these concepts were identified in the texts. Each point was given a code denoting different levels of classification and abstraction, which were later linked to the established categories.

Within the discursive pattern of clinicians, two argumentative groups were identified, which were classified as facilitators and barriers. From these two groups of codes, the most relevant were selected to establish the key factors that will provide a general perspective on the stance of orthopedic surgeons.

## Barriers

The barriers consist of the arguments and opinions put forward by the orthopedic surgeons that reflect the perceived challenges or the lack of information with regards to adopting the technology. Figure 2 shows the links between several components generated by ATLAS.ti. It shows the groupings and connections between the codes.

### Lack of Information

The first barrier to be identified, which was coded as “lack of information,” had an impact on the following aspects.

### Cell Therapy

Orthopedic surgeons admitted their lack of knowledge regarding the acquisition and cell origin of chondrocytes. The participants showed great reluctance regarding the origin of the cells. Furthermore, if cell therapy implied the manipulation of unknown-origin cells, their stance was of total rejection. However, the level of acceptance was considerably higher if they knew the cells originated from the patient, even if they knew that they had to be manipulated (numbers in parentheses after quotes correspond to interviewee identity).

*These constructors imply cell manipulation. [#D 13]*

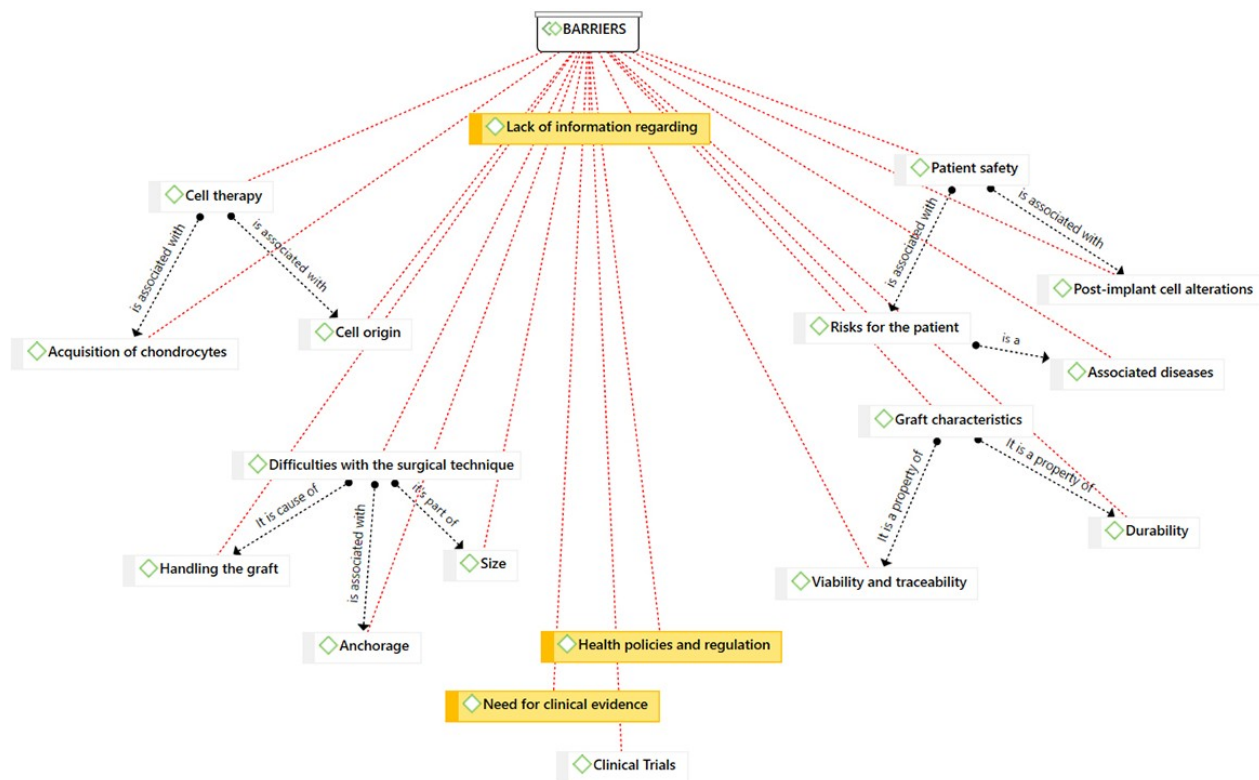
*We don't know if bone marrow or adipocyte is better, it seems like bone marrow could be useful, but it's not so clear. [#23]*

**Table 1.** Collected concepts and translation to numbers and codes.

Concepts	n
Need for clinical trials	34
Implantation techniques	28
Viability and traceability of the graft	27
Characteristics of the cartilaginous tissue	25
Small lesions (focal defects and osteochondritis)	24
Durability	14
Safety	14
It's the future	13
Costs	13
Cell therapies	12
Need to wait for clinical results	12
Cell types	12
Current techniques	11
Uncertainty regarding the future	10
Regulation	10
Stem cells	8
Technical difficulties in some articulations	8
Cell viability	8
Teratogenesis	7
Biocompatibility	7



Figure 2. Diagram of the links between several study components.



The better-known stem cell origins were mesenchymal, adipose, umbilical cord, and bone marrow as they are currently being used in other types of therapies.

*I think mesenchymal cells are the way to go. [#23]*

*There is a huge quantity of umbilical cord stored at the blood and tissue bank...Of umbilical cord cells, of adipose cells, cells of peripheral blood, from the skin; we can obtain cells from many places. [#5181]*

However, when trying to get the participants to discuss the topic in more detail, they appeared confused, especially when discussing iPS cells, which they were not aware of or did not fully understand.

*The safety of iPS is not clear; there is an infinite number of complications—you can ask Yamanaka or Arnold Caplan. [#23]*

**Patient Safety**

All interviewees raised concerns regarding issues related to patient security, the graft, and associated diseases. With regards to the patient and the graft, the concerns focused on teratogenesis and the genetic predisposition of the cells in the graft, as well as the long-term behavior of the graft. Participants also showed a concern regarding graft implantation in patients with severe associated diseases, even though this fear does not have scientific merit.

*Two types of safety: Safety for the patients' lives, of course, and safety in knowing that the graft will grow into cartilage, that you know for certain that this thing will create cartilage. [#2341]*

*Three certainties: One, that these cells behave as we expect them to behave, like cartilaginous cells with*

*no marginalization at all; two, that these cells are viable in the long term; and third, durability. If I am to implant cartilage, I'll want it to last. [#204]*

**Difficulties With the Surgical Technique**

Participants anticipated difficulties with regards to the shape of the graft, as they were unsure if the printing process could comply with the exact measurements provided by doctors. They also cited the place of injury as a possible difficulty.

*Again, there's the problem of the three-dimensional structure of the cartilage. [#2341]*

*Not all places are the same. For example, the knee: I think it's viable to insert it on the articular surface of the tibial plateau...Another thing is how it would anchor to the bone, right? But technically I don't see a difficulty here. Now then, it's another thing to insert it on the hip bone, between the cotyloid cavity and the femoral head. [#6]*

The lack of knowledge regarding the shape and manipulation of the graft, together with its characteristics led to a third kind of uncertainty, which we see as a barrier related to the surgical difficulties. Similarly, not being able to visualize the graft as part of cartilage that would adapt to the host left participants doubtful as to whether the graft would be able to anchor itself and stay in place.

*Ideally, this graft would reproduce the defect exactly. [#D 13]*

*I would use it now, for young people with osteochondritis of the talus or the knee, where you have a two- or three-millimeter. [#5690]*

*The size is a factor with the cartilage will it stay in place? [#2901]*

*How will you fix it there? How? How does it stay there? [#2341]*

*Another thing I worry about is that this tissue that we insert stays anchored. [#6]*

**Graft Characteristics**

Regarding graft characteristics, the main factors mentioned were viability, durability, integration with the host, and mechanical characteristics of cartilage. For example, participants doubted that the graft would become functional cartilage or develop chondrogenic hypertrophy, which is what happens with current techniques such as the matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI) procedure.

*Needs to have all the characteristics of the original cartilage. [#6]*

*We need proof that long term there will still be cartilage and not fibrous tissue. [#2901]*

*Needs to behave biologically like the host's cartilage. We're talking about live cells, right? [#204]*

Orthopedic surgeons also questioned the viability and durability of the graft. They were unaware that the aim of the graft is to become integrated to the native cartilage and that the graft's behavior would mimic the patient's native cartilage.

*How long will it last? [#6099]*

*And the viability of these cells, and their possible side effects. [#1753]*

*Then, what I understand that these cells are viable themselves, it's not that they need to be invaded by the periphery, but that they are viable and live by themselves. [#5181]*

**Health Policies and Regulation**

Bioprinting, like any other product of tissue engineering will have to comply with the current Good Manufacturing Practice regulations enforced by the Food and Drug Administration and/or the European Medicines Agency.

The clinicians stated that they felt there would be a timeframe in which health policies will not be able to provide an effective answer to their questions, which would be problematic for all practitioners using them.

*Who will guarantee the manufacturing process until its arrival in the operating room? [#2083]*

*It's a legal aspect within the framework of drugs, implants, of techniques. We need to see this technique, legally the European guidelines on the use of tissues and cells. [#4821]*

**Need for Clinical Evidence**

As with any scientific innovation, orthopedic surgeons demanded hard clinical evidence be available before they would use bioprinted cartilage. In most cases, this demand materializes as clinical trials and independent clinical research. However, this may be a barrier since clinical trials are not scheduled to take place in the imminent future.

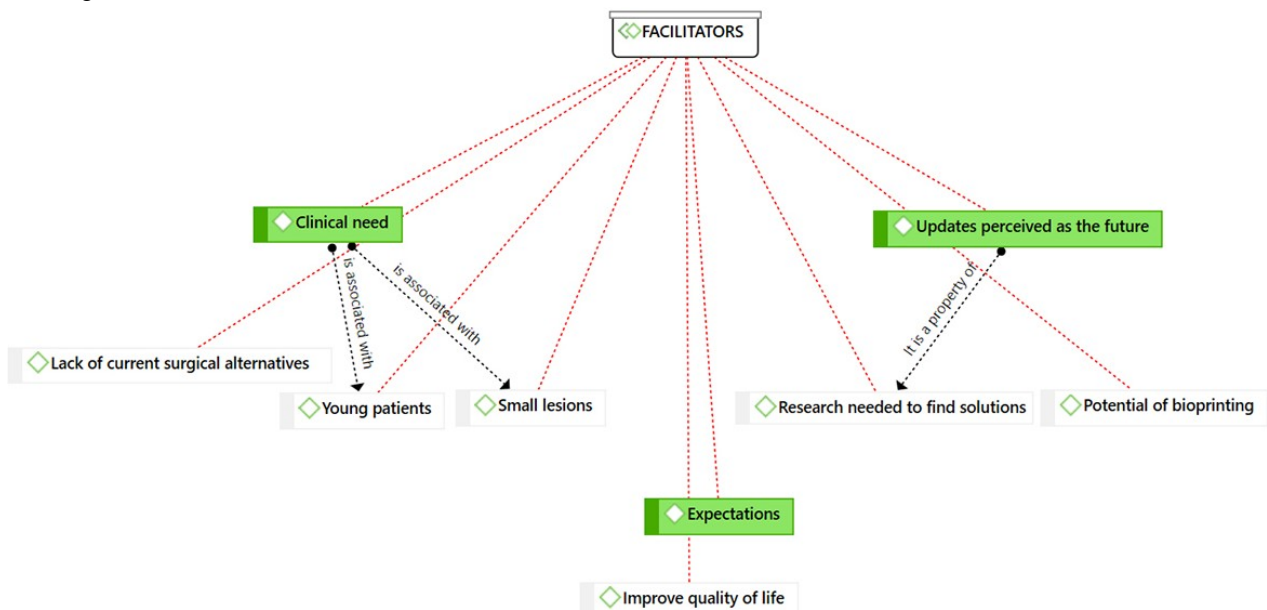
*I want more evidence, that is to say, scientific studies that support their efficacy; independent scientific studies. [#2901]*

*Basically, that there are appropriate clinical trials. [#204]*

**Facilitators**

Facilitators include all entities that encouraged orthopedic surgeons to be more open to new surgical possibilities to improve the lives of patients. In this group, three themes were identified that were essential to the clinicians to catalyze implementation of cartilage grafts (Figure 3).

Figure 3. Diagram of the codes obtained as facilitators.





### **Clinical Need**

Given that current surgical techniques are not able to provide a definitive solution, orthopedic surgeons are open to innovative techniques that can fill a surgical need. However, as they were not aware of the possibilities bioprinting would bring to field, most of the interviewees stated that research into finding new solutions was critical. Several arguments emphasize this need:

*Especially as we don't have anything that works for these patients right now...if it lasts, say, 40 years, I'd say it's marvelous. [#2901]*

*Nowadays this is something that doesn't have any solution, so of all the things I've heard about maybe this very innovative technique works since no other offer is effective. [#2083]*

*If this works, it's very promising. [#23]*

In this way, the main facilitator identified was the lack of current alternatives, as was to be expected.

Taking this into consideration, orthopedic surgeons, despite the barriers mentioned, are open to this new technology.

We also identified the type of patients that surgeons would be willing to consider treating with bioprinted cartilage implementations. Younger patients were perceived to be better candidates, as they are susceptible to high-risk sports injuries, which often become chronic and difficult to solve in the long term.

*That is, with young people with partial cartilage lesions, I see it very clearly; with bigger lesions, I am less optimistic [#23]*

*I see it as a solution to young people's pathologies, athletes, that have damage due to chondral lesions and which can happen at any age, but they hinder young people's activity. [#6]*

Additionally, we identified the specific characteristic within this population that significantly improved the acceptance of bioprinting technology, namely the size of the lesion. Orthopedic surgeons were distinctly in favor of using grafts in small lesions (1 or 2 cm at most), in order to accelerate integration with the host. However, they did not show the same certainty with larger lesions.

*I can see it being used with partial cartilage lesions. [#2901]*

*If the lesions are small, and the joints are not loaded. [#6356]*

### **Perception of Bioprinting as a Future Treatment**

Clinicians agreed that medicine depends on constant research to find solutions to unresolved problems. In other words, they

perceived scientific research as a positive entity. Another argument identified the perception of bioprinting as a future solution, with participants being optimistic about graft bioprinting.

*It is a future solution to important problems for orthopedic surgeons. [#6346]*

*When we talk about the medicine of the future, which is not so far away now, to be able to reproduce the tissue of the patient. [#204]*

### **Expectations**

Faced with an unresolved clinical need and the perception that bioprinting could be a solution in the future, orthopedic surgeons expect to hear about the benefits of this technique. Biocompatibility is not only a favorable factor but is essential to surgical practice. Many current techniques already have these characteristics, and therefore clinicians demand that future solutions meet or exceed these standards.

*To find a three-dimensional structure that holds the cells, that holds what they must have, and that this three-dimensional structure is biocompatible, degradable, and easy to manipulate. [#2341]*

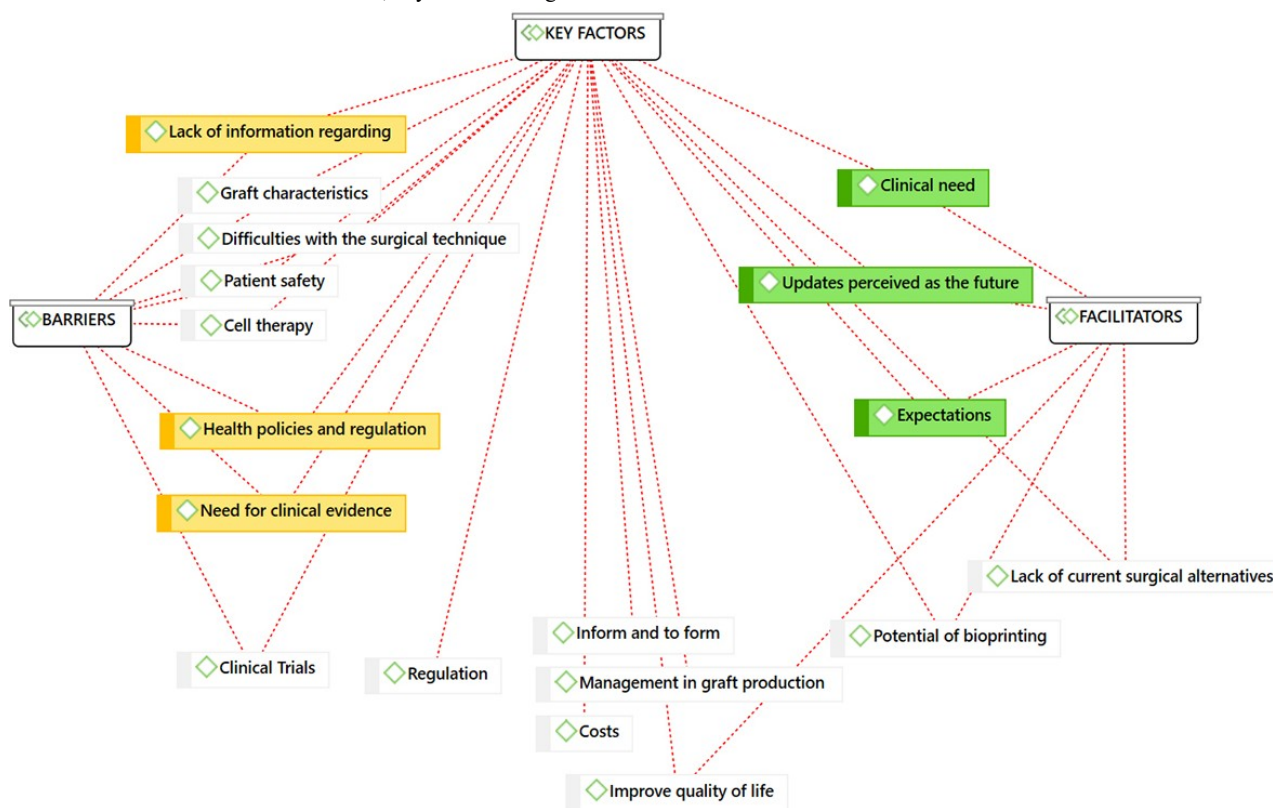
At the same time, participants emphasized that this technique had the ability to improve patients' quality of life significantly, either by alleviating their pain, improving their mobility, or by preventing lesions from developing into arthritis in younger patients. If these were to be accomplished with the new technology, surgeons expect the need for total prosthesis to diminish significantly.

### **Key Factors**

Where barriers and facilitators meet, key factors emerge. Key factors function as the theoretical framework for the perspectives of orthopedic surgeons on bioprinted cartilage. In general, their belief is grounded on clinical need and expectations for effective solutions. Despite this, a reluctance to adopt the technology was detected among the interviewees, with reasons ranging from (conscious and unconscious) lack of information to clinical demands. [Figure 4](#) offers a complex concept map, which is the first attempt to represent the stance of clinicians with an aim to help direct future research.

Apart from the elements present in both barriers and facilitators, two more factors were considered key factors and coded as such. They included costs and the identity of companies that would manage the product. It is impossible to address these uncertainties now; hence, they could not be labeled as either facilitators or barriers, only as relevant factors that need to be addressed.

Figure 4. Where barriers and facilitators meet, key factors emerge.



## Discussion

### Principal Considerations

As has been proven in a previous bibliographical review [20,21], the research and acquisition of bioprinted cartilage is still in a premature state. Other researchers have already highlighted that despite the growing number of solutions coming from tissue engineering that are being transitioned to clinical use, the success of considerably sized scaffoldings with personalized geometries is still a significant challenge. Therapies based on mesenchymal stem cells (MSC), despite having been successful in renovating the cartilage and alleviating pain, have not provided enough evidence on original hyaline cartilage restoration that would improve osteoarthritis in the long term.

The goal of this research is to understand how trauma surgeons perceive this situation and define main barriers and facilitators to develop strategies favoring the future implementation of bioprinted cartilage. The data collected and organized into either barriers or facilitators as detailed in our results will help future discussions focus on the most fundamental aspects of this technology.

One of the main needs identified is improving communication with orthopedic surgeons, particularly regarding 3D printing. The lack of knowledge was evident in two ways: conscious and unconscious. Of the two, the latter will be more difficult to address, as it requires further research to better identify the knowledge gaps. When conscious of their lack of knowledge, clinicians have no problem asking questions. However, the lack of knowledge was unconsciously displayed when assumptions were made regarding terms, techniques, or solutions leading to

misinterpretation and confusion. To lead and conduct successful translational research, it is necessary to study and solve problems transversally. An unconscious deficit of knowledge was driven by reading publications or listening to conversations that dealt with cell therapy in a generic and unscientific manner. Thus, the lack of background knowledge was significant, resulting in misperceptions and unfounded reluctance in adopting the technology.

Furthermore, we discovered a lack of knowledge on current applications of 3D printing in medicine, with many of the interviewees having no knowledge of this facet. To address this issue, organization of specific multidisciplinary seminars to discuss the current applications of 3D printing in medicine should be undertaken. This could contribute to orthopedic surgeons becoming more proactive in the implementation of bioprinted cartilage grafts.

In parallel, efforts should be made to help promote an understanding of the fundamentals of cell therapy. This issue was identified as an unconscious knowledge gap. This was also observed in the case of gene therapy for cancer treatment [22]; participants were aware of the treatment but had no deep understanding of it. This was evident from the fact that they used cartilaginous cells provided by laboratories [23] but were reluctant to consider using bioprinted cartilage made of unknown-origin cells, or other cell therapies.

These findings highlight the evident need to develop formative strategies. These strategies would need to be based initially on the fundamentals of cell therapy, escalating toward the future possibilities this technology could offer. Thus, new channels of communication could be created in the medical community.

While it is important for surgeons to have basic knowledge regarding the future applications of cartilage grafting, it is equally important for researchers to recognize and acknowledge the practical needs of clinicians and strive to meet their expectations. Some of the factors that caused the orthopedic surgeons concern included issues such as viability, traceability, and durability. Tissue and skin banks for allografts have established their reliability by ensuring traceability and establishing manipulation standards. Orthopedic surgeons now demand the same degree of reliability from bioprinted cartilage [24].

In addition to the characteristics of the graft, this study has identified important factors that would help direct research in the initial stages. First, by focusing research on specific lesions, such as 1 or 2 cm lesions found in the knee or the ankle, clinicians would have access to a site that is easier to access and operate on. Second, younger patients should be established as the primary recipients of the graft, with the aim of avoiding long-term joint deterioration.

Another issue detected during this study was concern regarding the business model for producing bioprinted grafts. Orthopedic surgeons feared it may not align with current production models. This situation, coded as a key factor, is one of the main issues identified as a barrier in the implementation of this technique.

By analyzing the stance of orthopedic surgeons, at least two possible lines of action can be suggested. If production was handled by private companies, the main demands from surgeons would be for the pieces to be individually customized, with a short production-delivery timeframe. In this instance, the biosafety and tissue traceability could be controlled. Another issue that would need addressing is the cost of the graft. This model would also need to address the patent issue and comply with the ethical requirements and, more importantly, with the current regulations and legislation. The Spanish company Regemat is an example of this. They use Hoffa's fat pad and chondrocytes as described by Lopez Ruiz [25] and induced differentiation of autologous MSC to develop and commercialize cartilage.

Another possibility would be to establish public centers, possibly in a public-private collaboration model, that would have the human and technical resources necessary to produce their own 3D bioprinted pieces. The foundations for such a model already exist in hospitals where 3D printers are already in use. As mentioned above, these hospitals have trained staff who are already competent in the use of 3D printers for a wide variety of uses ranging from the printing of fractures, surgical planning, and creating customized guides for the patient. This system, which would be integrated into hospitals, would allow for constant communication between the medical and technical

teams. The hospital as a meeting point ensures that as the technology becomes widely used, more potential applications will be detected, thereby improving the learning curve for both sides—the medical team exploring new and better applications for the technique and the engineering team designing context-specific solutions. This solution would mean bioprinting is the next logical step, born from the growing needs of all medical specialties.

Cell therapy has stirred a debate within the scientific community. Cell therapy can be individually customized, is expensive and innovative, and might help bring a change in health regulation and health care policies. Our research has shown that the demands for scientific evidence for bioprinting will be more stringent than what was required for previous techniques. This is the case of platelet-rich plasma, which has been used by doctors for more than 20 years despite the lack of evidence for its effectiveness [26], with information on clinical trial outcomes having only recently been published [27].

Communication, not only among medical professionals, but among policy makers and health care authorities, is essential to start a debate to define the level and form of evidence required. In this manner, one of the main barriers highlighted by orthopedic surgeons, namely the need for clinical trials, could be surmounted.

### Limitations

This study needs to be interpreted in the context of its limitations. There are inherent limitations to the number of participants and the number of focus groups. Only the data extracted from the orthopedic surgeons' interaction it is legitimate; however, it is their opinion that focuses the research in this context.

### Conclusions

These study results are preliminary in nature and therefore they cannot be generalized without a broader demographic. However, the preliminary literature review confirms the lack of research on clinical applications of bioprinted cartilage. Orthopedic surgeons are willing to accept that this new technology has the potential to solve a clinical need and to recognize bioprinting as the technology of the future. However, clear scientific evidence is required before bioprinted cartilage can be used and a debate regarding the optimal business model will be necessary.

We also believe it is necessary to develop a communication strategy and a forum for multidisciplinary discussion to discuss the need for regulation and define the necessary scientific evidence that is required to promote the acceptance of grafts as a viable therapeutic option. From our perspective, this study serves as a first step in the clinical translation of bioprinting cartilage research.

### Acknowledgments

We would like to thank all participants in the interviews and focus group; Professor Juan Muñoz from the Social Psychology Department of the University Autonomy of Barcelona for his help with the methodology and the analysis; and Marina Mustieles for her help in the translation of this text.

## Authors' Contributions

The first author completed the field work and the analysis of the data obtained. The other authors contributed to the content, writing, and editing of the manuscript. All the authors read and approved the final version of the manuscript.

## Conflicts of Interest

None declared.

## References

1. Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015 Aug 22;386(9995):743-800 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1016/S0140-6736\(15\)60692-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60692-4)] [Medline: [26063472](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26063472/)]
2. O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1998 Dec;80(12):1795-1812. [Medline: [9875939](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9875939/)]
3. Maurer J, Grotejohann B, Jenkner C, Schneider C, Flury T, Tassoni A, et al. A Registry for Evaluation of Efficiency and Safety of Surgical Treatment of Cartilage Defects: The German Cartilage Registry (KnorpelRegister DGOU). *JMIR Res Protoc* 2016 Jun 29;5(2):e122 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.2196/resprot.5895](https://doi.org/10.2196/resprot.5895)] [Medline: [27357998](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27357998/)]
4. Gomoll AH, Farr J, Gillogly SD, Kercher JS, Minas T. Surgical management of articular cartilage defects of the knee. *J Bone Joint Surg Am* 2010 Oct 20;92(14):2470-2490. [Medline: [20962200](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20962200/)]
5. Jessop ZM, Al-Sabah A, Francis WR, Whitaker IS. Transforming healthcare through regenerative medicine. *BMC Med* 2016 Dec 10;14(1):115 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/s12916-016-0669-4](https://doi.org/10.1186/s12916-016-0669-4)] [Medline: [27510095](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27510095/)]
6. Jessop ZM, Javed M, Otto IA, Combella EJ, Morgan S, Breugem CC, et al. Combining regenerative medicine strategies to provide durable reconstructive options: auricular cartilage tissue engineering. *Stem Cell Res Ther* 2016 Jan 28;7:19 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/s13287-015-0273-0](https://doi.org/10.1186/s13287-015-0273-0)] [Medline: [26822227](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26822227/)]
7. O'Dowd A. Peers call for UK to harness "enormous" potential of regenerative medicine. *BMJ* 2013 Jul 01;347:f4248. [doi: [10.1136/bmj.f4248](https://doi.org/10.1136/bmj.f4248)] [Medline: [23818565](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23818565/)]
8. Bizzotto N, Tami I, Santucci A, Adani R, Poggi P, Romani D, et al. 3D Printed replica of articular fractures for surgical planning and patient consent: a two years multi-centric experience. *3D Print Med* 2015;2(1):2 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/s41205-016-0006-8](https://doi.org/10.1186/s41205-016-0006-8)] [Medline: [30050974](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30050974/)]
9. Gu BK, Choi DJ, Park SJ, Kim MS, Kang CM, Kim CH. 3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications. *Biomater Res* 2016;20:12 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/s40824-016-0058-2](https://doi.org/10.1186/s40824-016-0058-2)] [Medline: [27114828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27114828/)]
10. Chen JL, Duan L, Zhu W, Xiong J, Wang D. Extracellular matrix production in vitro in cartilage tissue engineering. *J Transl Med* 2014 Apr 05;12:88 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/1479-5876-12-88](https://doi.org/10.1186/1479-5876-12-88)] [Medline: [24708713](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24708713/)]
11. Levato R, Visser J, Planell J, Engel E, Malda J, Mateos-Timoneda M. Biofabrication of tissue constructs by 3D bioprinting of cell-laden microcarriers. *Biofabrication* 2014 Sep;6(3):035020. [doi: [10.1088/1758-5082/6/3/035020](https://doi.org/10.1088/1758-5082/6/3/035020)] [Medline: [25048797](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25048797/)]
12. Mohan Pandey P, Venkata Reddy N, Dhande S. Slicing procedures in layered manufacturing: a review. *Rapid Prototyping Journal* 2003 Dec;9(5):274-288 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1108/13552540310502185](https://doi.org/10.1108/13552540310502185)]
13. Peters DH, Adam T, Alonge O, Agyepong IA, Tran N. Implementation research: what it is and how to do it. *BMJ* 2013 Nov 20;347:f6753. [doi: [10.1136/bmj.f6753](https://doi.org/10.1136/bmj.f6753)] [Medline: [24259324](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24259324/)]
14. Patton MQ. *Qualitative Research & Evaluation Methods*. 3rd ed. Thousand Oaks, CA: Sage Publications, Inc; 2001.
15. Shenton A. Strategies for ensuring trustworthiness in qualitative research projects. *EFI* 2004 Jul 19;22(2):63-75. [doi: [10.3233/EFI-2004-22201](https://doi.org/10.3233/EFI-2004-22201)]
16. Fereday J, Muir-Cochrane E. Demonstrating Rigor Using Thematic Analysis: A Hybrid Approach of Inductive and Deductive Coding and Theme Development. *International Journal of Qualitative Methods* 2016 Nov 29;5(1):80-92 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1177/160940690600500107](https://doi.org/10.1177/160940690600500107)]
17. Braun V, Clarke V. Using thematic analysis in psychology. *Qualitative Research in Psychology* 2006 Jan;3(2):77-101. [doi: [10.1191/1478088706qp063oa](https://doi.org/10.1191/1478088706qp063oa)]
18. Carroll E, Coetzer R. Identity, grief and self-awareness after traumatic brain injury. *Neuropsychol Rehabil* 2011 Jun;21(3):289-305. [doi: [10.1080/09602011.2011.555972](https://doi.org/10.1080/09602011.2011.555972)] [Medline: [21391119](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21391119/)]
19. Malterud K. Qualitative research: standards, challenges, and guidelines. *Lancet* 2001 Aug 11;358(9280):483-488. [doi: [10.1016/S0140-6736\(01\)05627-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05627-6)] [Medline: [11513933](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11513933/)]
20. Roseti L, Cavallo C, Desando G, Parisi V, Petretta M, Bartolotti I, et al. Three-Dimensional Bioprinting of Cartilage by the Use of Stem Cells: A Strategy to Improve Regeneration. *Materials (Basel)* 2018 Sep 17;11(9) [[FREE Full text](#)] [doi: [10.3390/ma11091749](https://doi.org/10.3390/ma11091749)] [Medline: [30227656](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30227656/)]
21. Xiongfa J, Hao Z, Liming Z, Jun X. Recent advances in 3D bioprinting for the regeneration of functional cartilage. *Regen Med* 2018 Dec;13(1):73-87. [doi: [10.2217/rme-2017-0106](https://doi.org/10.2217/rme-2017-0106)] [Medline: [29350587](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29350587/)]
22. Wirth T, Ylä-Herttuala S. Gene Therapy Used in Cancer Treatment. *Biomedicines* 2014 Apr 08;2(2):149-162 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.3390/biomedicines2020149](https://doi.org/10.3390/biomedicines2020149)] [Medline: [28548065](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28548065/)]



23. Guillén-García P, Rodríguez-Iñigo E, Aráuz S, Guillén-Vicente M, Guillén-Vicente I, Caballero-Santos R, et al. Nuestra experiencia con la técnica de implante de condrocitos autólogos para el tratamiento de lesiones condrales: resultados de 50 pacientes a 2 años de seguimiento. *Revista Española de Artroscopia y Cirugía Articular* 2015 Dec;22(3):120-125 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1016/j.reaca.2015.10.002](https://doi.org/10.1016/j.reaca.2015.10.002)]
24. Martínez-Flores F, Sandoval-Zamora H, Machuca-Rodríguez C, Barrera-López A, García-Cavazos R, Madinaveitia-Villanueva J. [Skin and tissue bank: Operational model for the recovery and preservation of tissues and skin allografts]. *Cir Cir* 2016;84(1):85-92 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1016/j.circir.2015.06.021](https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.06.021)] [Medline: [26259741](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26259741/)]
25. López-Ruiz E, Perán M, Cobo-Molinos J, Jiménez G, Picón M, Bustamante M, et al. Chondrocytes extract from patients with osteoarthritis induces chondrogenesis in infrapatellar fat pad-derived stem cells. *Osteoarthritis Cartilage* 2013 Jan;21(1):246-258 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1016/j.joca.2012.10.007](https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.10.007)] [Medline: [23085560](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23085560/)]
26. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(4):529-535. [Medline: [10453668](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10453668/)]
27. Gamal AY, Abdel Ghaffar KA, Algezwy OA. Crevicular Fluid Growth Factors Release Profile Following the Use of Platelet-Rich Fibrin and Plasma Rich Growth Factors in Treating Periodontal Intra-bony Defects: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol* 2016 Dec;87(6):654-662. [doi: [10.1902/jop.2016.150314](https://doi.org/10.1902/jop.2016.150314)] [Medline: [26876351](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26876351/)]

## Abbreviations

**iPS:** induced pluripotent stem

**MSC:** mesenchymal stem cells

*Edited by G Eysenbach; submitted 08.09.18; peer-reviewed by V Giordano, P Haubruck, M Soto, C Basch; comments to author 30.01.19; revised version received 11.02.19; accepted 17.02.19; published 28.02.19*

*Please cite as:*

Salvador Verges À, Fernández-Luque L, Yildirim M, Salvador-Mata B, Garcia Cuyàs F  
*Perspectives of Orthopedic Surgeons on the Clinical Use of Bioprinted Cartilage: Qualitative Study*

*JMIR Biomed Eng* 2019;4(1):e12148

URL: <http://biomedeng.jmir.org/2019/1/e12148/>

doi: [10.2196/12148](https://doi.org/10.2196/12148)

PMID:

©Àngels Salvador Verges, Luis Fernández-Luque, Meltem Yildirim, Bertran Salvador-Mata, Francesc Garcia Cuyàs. Originally published in *JMIR Biomedical Engineering* (<http://biomedeng.jmir.org>), 28.02.2019. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work, first published in *JMIR Biomedical Engineering*, is properly cited. The complete bibliographic information, a link to the original publication on <http://biomedeng.jmir.org/>, as well as this copyright and license information must be included.



---

*Capítol 5:  
Orthopedic Surgeons' Perspectives on the  
Decision-Making Process for Use of  
Bioprinter Cartilage Grafts: Web-Based  
Survey*

---

**P3**





Original Paper

# Orthopedic Surgeons' Perspectives on the Decision-Making Process for Use of Bioprinter Cartilage Grafts: Web-Based Survey

Àngels Salvador Verges<sup>1</sup>, MD; Luis Fernández-Luque<sup>2</sup>, PhD; Francesc López Seguí<sup>3</sup>, MSc; Meltem Yildirim<sup>4</sup>, PhD; Bertran Salvador-Mata<sup>5</sup>, MSc; Francesc García Cuyàs<sup>6</sup>, MD, PhD

<sup>1</sup>Digital Care Research Group, Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Qatar Computing Research Institute, Hamad bin Khalifa University, Qatar, Qatar

<sup>3</sup>Catalan Agency for Health Information, TIC Salut Social, Barcelona, Spain

<sup>4</sup>Centre for Health and Social Care Research, Faculty of Health Science and Welfare, Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya, Vic, Spain

<sup>5</sup>University Pompeu Fabra, Barcelona, Spain

<sup>6</sup>ICT and Health, Catalan Society of Digital Health, Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya, Barcelona, Spain

**Corresponding Author:**

Àngels Salvador Verges, MD

Digital Care Research Group

Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya

11, Magi Casanovas

Barcelona, 08870

Spain

Phone: 34 630887995

Email: [angels.salvador@uvic.cat](mailto:angels.salvador@uvic.cat)

## Abstract

**Background:** Traumatic and degenerative lesions in the cartilage are one of the most difficult and frustrating types of injuries for orthopedic surgeons and patients. Future developments in medical science, regenerative medicine, and materials science may allow the repair of human body parts using 3D bioprinting techniques and serve as a basis for new therapies for tissue and organ regeneration. One future possibility is the treatment of joint cartilage defects with in vivo 3D printing from biological/biocompatible materials to produce a suitable cell attachment and proliferation environment in the damaged site and employ the natural recovery potential of the body. This study focuses on the perspectives of orthopedic surgeons regarding the key factors/determinants and perceived clinical value of a new therapeutic option.

**Objective:** This study aimed to determine the knowledge and expectations of orthopedic surgeons regarding the clinical use of bioprinted cartilage.

**Methods:** The survey, conducted anonymously and self-managed, was sent to orthopedic surgeons from the Catalan Society of Orthopedic and Traumatology Surgery. In accordance with the method devised by Eysenbach, the Checklist for Reporting Results of Internet E-Surveys was used to analyze the results. The following factors were taken into consideration: the type and origin of the information received; its relevance; the level of acceptance of new technologies; and how the technology is related to age, years, and place of experience in the field.

**Results:** Of the 86 orthopedic surgeons included, 36 believed the age of the patient was a restriction, 53 believed the size of the lesion should be between 1 and 2 cm to be considered for this type of technology, and 51 believed that the graft should last more than 5 years. Surgeons over 50 years of age (38/86, 44%) gave more importance to clinical evidence as compared to surgeons from the other age groups.

**Conclusions:** The perspective of orthopedic surgeons depends highly on the information they receive and whether it is specialized and consistent, as this will condition their acceptance and implementation of the bioprinted cartilage.

*(Interact J Med Res 2019;8(2):e14028)* doi:[10.2196/14028](https://doi.org/10.2196/14028)

**KEYWORDS**

orthopedic surgeons; online survey; 3D bioprinting; cartilage; graft

## Introduction

### Background

The cartilage is a specialized connective tissue that does not contain nerves, blood, or lymphatic vessels and is formed by the differentiation of mesenchymal cells. It is flexible and composed mainly of extracellular matrix that contains chondrocytes. Defects on the articular cartilage do not heal spontaneously and tend to develop into osteoarthritis, which in turn alters the articular function and can cause disability and progressive loss of quality of life [1]. The exact incidence of symptomatic lesions of cartilage in the general population is unknown. In some large epidemiological studies, cartilage lesions have been observed in 5%-11% of diagnostic arthroscopies in predominantly young adults with joint pain [2]. However, injuries are often focal chondropathies, resulting in matching injuries on the opposing surface such as in meniscus or ligament injuries to the knee. They are also related to misalignments of the axis articulating load. Two types of techniques are used for the treatment of symptomatic lesions of cartilage: the reconstructive techniques have been in use since the 1950s and the regenerative techniques are newly introduced in tissue engineering [3]. Current surgical procedures [4] such as microfracture surgery, mosaicplasty, and allografting have limited efficacy [5], and none of them are significantly more successful than the others [6]. More innovative surgical treatments from the past few years, including autologous chondrocyte implantation and matrix-induced autologous chondrocyte implantation [7], which require a previous surgery to obtain the cells, have markedly improved the outcomes of chondral defect treatments [8] but often, the resulting repairing tissue is of low performance, and surgery only delays the onset of degeneration and osteoarthritis [8].

The development of regenerative medicine and tissue engineering-oriented techniques may contribute to the knowledge of the field of joint injuries. This, in turn, could lead to better articular disease treatment techniques and resolve the clinical problem of healing critical size articular osteochondral defects [9].

The key elements of tissue engineering are tissue-forming cells, structural scaffolds, and signaling molecules, the combination and application of which result in a functional tissue construct to promote tissue healing and regeneration [10]. Tissue engineering strategies typically aim to homogeneously distribute biological factors such as cells and growth factors throughout a biomaterial matrix [11].

Autologous chondrocytes could be an obvious choice for regeneration of articular cartilage injuries. However, traditional treatments based on chondrocytes have identified several drawbacks of such chondrocytes: (1) they have a low rate of proliferation; (2) although it is easy to isolate them, the number of obtainable cartilage cells is limited; and (3) there are implications for morbidity of the donor site. Consequently, the use of other cell types for different tissue engineering applications such as stem cells [12] (embryonic, mesenchymal, cord blood stem cells, obtained from adult tissue, or induced pluripotent stem cells [13]) are the future for treatment.

Regenerative medicine [14] and tissue engineering [15] are current approaches aimed to solve these problems. These new possibilities could drive the paradigm shift from symptomatic treatment [16] in the 20th century to healing treatment of the 21st century [17,18].

Bioprinting [19], defined as a real-time disposition of structural biomaterials and live cells to create tissues and organs that imitate the characteristics of the injured tissue/organ, is moving forward very quickly, but because the process of obtaining tissues by using this technique depends on many factors, several technological needs must be met beforehand.

In an animal study, Di Bella and collaborators [20] used a 3D printer of a hand *in situ*. 3D printing, an innovative bioprinting technology, allowed the surgeon to use tissue engineering techniques at the time and place of need, using the hand-held printer Biopen. This instrument, with separate cartridges for each biomaterial, allows the surgeon to set the different layers right on the cartilage. Furthermore, it does not require a computed tomography scan, as the surgeon can use the Biopen directly where it is needed [21]. No studies in humans have been published, but according to the authors, it will not take long for the results to be obtained. As researchers develop bioprinted grafts, the knowledge of clinician priorities will facilitate their refinement and implementation.

Implementation research [22] seeks to resolve a wide range of issues found in the process of clinical application. The goal is to understand how and why the researchers' new suggestions are understood in the clinical sphere and find the best approaches to develop them [23]. In previous research [24] focusing on orthopedic surgeons, the information aspect was highlighted. Therefore, this study will focus on the information received, with the aim of understanding the surgeons' process of decision-making and to identify their expectations regarding the ideal bioprinted cartilage graft.

### Aim

This study aims to understand how orthopedic surgeons make clinical decisions and to assess their knowledge and opinion on this topic as well as their needs concerning the bioprinted cartilage graft.

Two main goals were set: (1) to obtain a better understanding of the orthopedic surgeons' decision-making process, and, by using this knowledge, to understand which factors would drive surgeons to use the graft on the treatment of cartilage lesions and (2) to identify surgeons' expectations regarding the use of grafts and the key factors to be addressed for surgeons to consider implantation of such grafts on a patient. Hence, the overall purpose was to define the ideal scenario and characteristics of the graft for successful implantation.

## Methods

### Contextualization of Research and Ethical Approval

This survey and its questions were defined in the context of both a previous qualitative study [24] about the barriers and facilitators in the clinical use of bioprinted cartilage, which had derived conclusions from semistructured interviews and focus

groups with orthopedic surgeons, and a literature review. Both these approaches helped identify the most pressing issues, on which this survey was focused.

Approval was obtained from the Committee of University Research from a University of Vic - University Central of Catalonia (registration number 28/2017).

Participants of the study were informed that the survey was anonymous and notified about the average completion time, and all information mentioned in the survey was credited to its source. The results were stored on a university-owned website, with private access for the authors.

### Survey Design

Before the final version of the survey was sent, a trial version was sent to 17 orthopedic surgeons to ensure that both the subject and the instructions were understood and to measure the average time for completion. After the results were obtained, some changes were introduced in the survey: questions that asked to rate agreement were scored on 10 possible scores instead of 5 possible scores, adding more options; the writing of the questions and answers was edited; and more specific questions were added.

The final questionnaire, with 25 self-managed questions, allowed identification of the decision-making patterns of orthopedic surgeons. The constituent elements of the questionnaire are configured in five domains: (1) demographic questions, (2) information and knowledge of 3D printing, (3) knowledge about the graft's qualities, (4) knowledge about the expectations for this new technology, and (5) scientific evidence and clinical trials.

### Sample Population

The Col·legi de Metges de Barcelona (the Medical Association of Barcelona) has 1081 currently active orthopedic surgeons registered, including 906 men (83.8%) and 175 women (16.2%). Of the members, a total of 849 also belong to the Catalan Society of Orthopedic and Traumatology Surgery (SCCOT), which is a nonmandatory affiliation. An email was written to all SCCOT surgeons, asking them to participate in the study, with a survey link. Of these, 72 emails were returned to the sender (the email address was wrong), and 777 orthopedic surgeons received the email.

In Spain, orthopedic surgeons can develop their work in the public and private sector at the same time. The specialization in sports orthopedics is not separately regulated. Because the survey was anonymous, we could not determine how many of the respondents were from the academic field.

The survey was voluntary, had no incentives, consisted of only one page, and allowed for review of the answers before sending. Answers could be easily obtained and homogenized, as they were in the same order, level, and presentation within all instances, which reduced the error margin and facilitated data retrieval.

The response rate was 11% (86/777). The average time to completion was 15.43 minutes. The survey was kept active until a sufficient number of answers were collected.

The calculation of the size of the finite sample was obtained using the Murray and Larry [25] formula. Configured with a margin of error of 10%, a confidence level of 95%, and a population of 777, the resulting sample size was 85.57 people.

### Statistical Analysis

IBM SPSS Statistics software for Windows, version 21.0 (IBM Corp, Armonk, New York), was used to analyze the answers of the survey. The Kolmogorov-Smirnov test was used to evaluate the homogeneity of the data. A descriptive analysis with the distribution of frequencies, averages, and SDs was conducted. A comparative analysis was conducted using the Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney *U* test, and Chi-squared distribution. The results have been presented following the Checklist for Reporting Results of Internet E-Surveys [26].

## Results

The results have been categorized into two blocks: the information that affects the decision-making process of orthopedic surgeons and the qualities that a graft should ideally have, to be implanted in patients.

### Demographic Data

Participants were first asked about their gender, age, experience, and type of hospital where they practiced surgery (Table 1).

Hospitals in Spain can be classified as low, medium, or high complexity depending on the type of technology they used and the type of medical assistance they offer. Research and teaching are conducted at medium- and high-complexity hospitals.

### Information Linked to the Decision-Making Process of Surgeons

The main aspect of implementation research is evaluating and determining the level of information specialists need to acquire in order to implement the new technology. To obtain a better understanding of the information orthopedic surgeons depend upon to make decisions, answers have been classified by type and origin of the information, relevance, level of acceptance of new technologies, and how the technology is related to age, place, and years of experience.

### Information Received

Participants were asked if they had received any type of information related to new medical applications and 3D printing (Table 2).

Almost 70% of the surveyed participants reported that they have received information related to new medical applications and 3D printing via any medium. They considered themselves updated in the medical applications of new technologies as per their own perception.

**Table 1.** Demographic data of the participants (N=86).

Demographic	Number of surgeons (%)
<b>Gender</b>	
Women	32 (37)
Men	54 (63)
<b>Age</b>	
<40 years	27 (31)
40-50 years	14 (16)
>50 years	45 (52)
<b>Years practicing medicine</b>	
5-15 years	33 (38)
15-30 years	28 (33)
>30 years	25 (29)
<b>Performing surgical activity</b>	
Yes	80 (93)
No	6 (7)
<b>Work placement</b>	
Hospital of low complexity	16 (19)
Hospital of medium complexity	34 (40)
Hospital of high complexity	36 (42)

**Table 2.** Information received and new technologies updates.

Source of information	Value
<b>Have you received any kind of information, through any means, about the latest progress on 3D printing? n (%)</b>	
Yes	60 (70)
No	26 (30)
<b>Do you consider yourself up to date regarding new 3D printing technologies emerging in the medical field?</b>	
Reported scores (range)	2-10
Mean (SD) score	6.88 (1.66)

## Information Relevance

From the previous question, the relevance of the information was analyzed. Relevance was determined by the effect information had in making surgeons feel more and better informed.

To evaluate the relevance, the source of information was analyzed. We analyzed whether those who had received information (by any medium; n=60) considered themselves better informed than the rest and whether those who had received information from specialized companies (n=20) had more knowledge than those who had not received any such information (Table 3).

Crossing the two variables from the previous Table 3 showed that participants who received information by any means considered themselves more knowledgeable ( $P=.001$ ) than those who had not received any kind of information. Of the former,

those who had received information from companies who are developing these technologies perceived their knowledge to be higher than that of the rest ( $P=.006$ ). In addition, participants informed by specialized companies showed higher self-perceived knowledge (mean 6.95, SD 1.76) than those who received information via other sources (mean 6.27, SD 1.99).

Regarding the bioprinted cartilage graft specifically, participants who received information on the medical application of 3D printing (n=60) and considered themselves informed (mean 6.27, SD 1.99) were asked how specific and from which source the information they had received on bioprinted cartilage was (Table 4).

Of the 60 participants who received general information on 3D printing, only 27 (45%) knew about bioprinted cartilage, and the information had been acquired from their colleagues (18%) or the scientific literature (27%).

**Table 3.** Level of self-perceived knowledge on 3D printing in relation to the information received (N=86).

Source of information	Number of surgeons (%)	Mean (SD)	Z <sup>a</sup>	P value
<b>Have you received any kind of information, through any means, about the latest progress on 3D printing?</b>			<b>-3.225</b>	<b>.001<sup>b</sup></b>
Yes	60 (70)	6.27 (1.99)		
No	26 (30)	4.69 (1.73)		
<b>Have you been informed by a specialist company about 3D technology?</b>			<b>-2.746</b>	<b>.006<sup>b</sup></b>
Yes	20 (23)	6.95 (1.76)		
No	66 (77)	5.44 (2)		

<sup>a</sup>Mann-Whitney *U* Test.<sup>b</sup>*P*<.01.**Table 4.** Means of learning about bioprinted cartilage among participants who received information on 3D printing (Question: If you have received any 3D printing information regarding bioprinted cartilage, through which channel was it? N=60).

Means of learning	Number of surgeons (%)
Through other colleagues	11 (18)
I read a lot of new research	16 (27)
I read a little new research	2 (3)
I have no information about it	30 (50)
I'm not interested in it	1 (2)

**Table 5.** Surgeons' acceptance of the use of bioprinted cartilage grafts for their patients, according to the source of information (Question: If the researchers/biotech industry could give us a cartilage graft made with bioprinting, would you think about the convenience of using it in your patients? N=86).

Source of information	Number of surgeons (%)	Mean (SD)	Z <sup>a</sup>	P value
<b>Have you been informed by a specialized company about 3D technology?</b>			<b>-2.254</b>	<b>.02<sup>b</sup></b>
Yes	20 (23)	8.40 (1.53)		
No	66 (77)	7.53 (1.69)		
<b>Have you received information, through any means, about the latest progress on 3D printing?</b>			<b>2.736</b>	<b>.75<sup>b</sup></b>
Yes	60 (70)	7.65 (2.38)		
No	26 (30)	7.92 (1.41)		

<sup>a</sup>Mann-Whitney *U* test.<sup>b</sup>*P*<.05.

### Level of Acceptance of New Technologies

To determine if there was a relationship between the relevance of the information received and the acceptance of new technologies, we analyzed the acceptance level of the bioprinted cartilage graft among participants who had higher self-perceived knowledge (20/86) and had received the information from specialized 3D companies (Table 5).

Regarding the perception or ease of acceptance of the bioprinted cartilage graft, there was a significant difference between participants who were informed by specialized companies and those who were not (*P*=.02). The more information the participants had, the higher was the level of acceptance. Of those

who had not received any specific information, no significant conclusion could be deducted (*P*=.08).

### Relation to Demographic Data

To define if the process of decision-making by orthopedic surgeons could be linked to their demographic data, three variables were analyzed: age, years of experience, and place of experience (Table 6).

Considering self-perceived knowledge, the only difference identified was in the age of the participants. Participants aged over 50 years (38/86) considered themselves to be significantly more informed on new technologies than those of other age groups (*P*=.05). No differences were observed regarding the place and years of experience.



**Table 6.** Influence of demographic data of orthopedic surgeons on the knowledge of new technologies (Do you consider yourself up to date regarding new technologies emerging in the medical field? N=86).

Demographic	Number of surgeons (%)	Mean (SD)	$\chi^2$ <sup>a</sup>	P value
<b>Age</b>			<b>3.6</b>	<b>.05<sup>b</sup></b>
<40 years	28 (33)	6.5 (1.79)		
40-50 years	20 (23)	7.2 (1.85)		
>50 years	38 (44)	7 (1.45)		
<b>Years practicing medicine</b>			<b>3.5</b>	<b>.18</b>
5-15 years	33 (38)	6.42 (1.88)		
15-30 years	28 (33)	7.14 (1.55)		
>30 years	25 (29)	7.2 (1.38)		
<b>Work placement</b>			<b>0.07</b>	<b>.96</b>
Hospital of low complexity	16 (19)	6.94 (1.48)		
Hospital of medium complexity	34 (40)	6.91 (1.65)		
Hospital of high complexity	36 (42)	6.83 (1.79)		

<sup>a</sup>Kruskal Wallis test.

<sup>b</sup> $P < .05$ .

### Analysis of the Qualities of the Archetypal Bioprinted Cartilage Graft

The second goal of this study was to identify the qualities of the ideal cartilage graft for application by the orthopedic surgeons in relation to patient characteristics, type of lesion, and perceived difficulties of their use.

#### Factors Determining the Ideal Graft

The essential characteristics of the bioprinted graft that were analyzed to identify the suitable age of the patient for the implantation, ideal size of the lesion, and duration of the graft. Participants were also asked to choose the most relevant of five suggested qualities (Table 7).

Regarding the age of the patient, 50% of the participants would not implant the graft on patients aged over 70 years, whereas 42% of them did not consider age to be a delimitating factor. Most of them (62%) considered the ideal size of the injury to be between 1 and 2 cm for implantation of a bioprinted cartilage graft. However, 27 (31%) of participants would consider such grafts for lesions over 3 cm. Almost all participants would reject a graft that lasted less than a year. Moreover, 51 of them (59%) said they would not recommend the graft to the patient unless it lasted more than 5 years.

Of the suggested qualities, the two most often selected (78%) were duration of the graft and patient safety (no side effects to general health). One less-often selected quality was ease of implantation, only considered by 50% of the participants.

#### Perceived Difficulties

The link between the perception in relation to the difficulties and the type of hospital was examined to determine if perceived difficulties were related to surgeons' place of work or whether it was the individual perception of the orthopedic surgeon (Table 8).

Table 8 shows the number of answers depending on the type of hospital and the percentage that each subpopulation represents in relation to the type of hospital.

The main difficulties considered by orthopedics in low-complexity hospitals were outcome uncertainty (ie, lack of clinical trials that prove successful outcomes) and authorization issues by the hospital management. In medium-complexity hospitals, surgeons shared these worries, although to a lesser extent. In high-complexity hospitals, however, the main issue was patient safety, followed by outcome uncertainty.

**Table 7.** Determining factors of the archetype graft (N=86).

Factor	Number of surgeons (%)
<b>To what extent do you consider the patient's age to be a limitation in the use of bioprinted cartilage?</b>	
I do not see any age limitation	36 (42)
Under 20 years of age	7 (8)
Over 70 years of age	43 (50)
<b>To what extent do you consider the size of the cartilage injury to be a limitation?</b>	
<1 cm	6 (7)
1-2 cm	53 (62)
>3 cm	27 (31)
<b>What minimum duration would the implant need to have for you to recommend it to your patients?</b>	
<1 year	6 (7)
1-5 years	29 (34)
>5 years	51 (59)
<b>What are the most significant variables that you ask for in a bioprinted cartilage, before deciding to use it on your patients? (multiple choices possible)</b>	
Durability in time	67 (78)
Safety for the patient	67 (78)
Good clinical results	58 (67)
Affordable price	54 (63)
Reliable evidence	55 (64)
Ease of surgical implementation	43 (50)

**Table 8.** Perceived difficulties with bioprinted cartilage according to place of work (What problems/difficulties do you perceive for its use/work placement? Multiple choices possible)

Difficulty	Number of surgeons (%)	Number of surgeons in hospitals of low complexity <sup>a</sup> (%)	Number of surgeons in hospitals of medium complexity <sup>b</sup> (%)	Number of surgeons in hospitals of high complexity <sup>c</sup> (%)
Uncertainty in results	61 (71)	11 (18)	23 (38)	27 (44)
Authorization by the hospital	50 (58)	11 (22)	16 (32)	23 (46)
Patient safety	46 (53)	10 (22)	16 (35)	30 (65)
Hard to handle	38 (44)	6 (16)	15 (39)	17 (45)
Waiting time	37 (43)	8 (22)	13 (35)	16 (43)
Surgical difficulties	31 (36)	7 (23)	9 (29)	15 (48)

<sup>a</sup>16 surgeons were from hospitals of low complexity (19% of the 86 participants).

<sup>b</sup>34 surgeons were from hospitals of medium complexity (40% of the 86 participants).

<sup>c</sup>36 surgeons were from hospitals of high complexity (42% of the 86 participants).

### Relevant Variables To Use

Once the qualities of the graft were defined, their consequences on the patient's life were highlighted, from pain reduction to improvement in the quality of life (everyday life satisfaction).

Participants were also asked about the need for clinical trials. These data were crossed with the source of information, via any medium or specialized companies, and with the age of the surgeon, as it was previously observed that it was the only relevant demographic variable (Table 9) [23].

**Table 9.** Correlation of variables for the use of a bioprinting cartilage, the need for clinical trials, and age of surgeons.

Variable	Number of surgeons (%)	Mean (SD)	Z <sup>a</sup>	P value
<b>To what extent do you consider the alleviation of the patient's pain one of the main characteristics of the new implant?</b>				
<b>Have you been informed by a specialized company about 3D technology?</b>				
Yes	20 (23)	8.9 (9.96)	-0.435	.66
No	66 (77)	8.44 (1.83)		
<b>To what extent do you think that this technology could have beneficial effects and/or a positive impact on the quality of life of patients?</b>				
<b>Have you received information, through any means, on the latest progress in 3D printing?</b>				
Yes	60 (70)	7.53 (1.67)	2.244	.03 <sup>b</sup>
No	26 (30)	8.27 (1.25)		
<b>Have you been informed by a specialized company about 3D technology?</b>				
Yes	20 (23)	8.45 (1.07)	2.237	.03 <sup>b</sup>
No	66 (77)	7.60 (1.63)		
<b>To what extent do you think evidence of clinical trials is needed to be able to implement the bioprinting cartilage in daily clinical use?</b>				
<b>Have you received information, through any means, about the latest progress in 3D printing?</b>				
Yes	60 (70)	8.78 (1.71)	-0.5	.62
No	26 (30)	8.77 (1.53)		
<b>Age</b>				
<40 years	28 (33)	8.65 (1.87)	9.825	.007 <sup>c</sup>
40-50 years	20 (23)	8.35 (1.18)		
>50 years	38 (44)	9.16 (1.58)		

<sup>a</sup>Mann-Whitney *U* test.

<sup>b</sup>*P*<.05.

<sup>c</sup>*P*<.01.

No significant differences were observed in terms of the importance of pain reduction, which was considered by all participants as a necessary requisite. Surgeons who had received information via any medium were more pessimistic regarding the positive effects or positive impact the bioprinted cartilage graft could have on the patients' quality of life (*P*=.03). Surgeons who had received information via specialized companies were more optimistic than the rest (*P*=.03).

Most of the participants highlighted the need for clinical trials, irrespective of the source of information. When the need for clinical trials and the age of the surgeons were crossed, it was clear (*P*=.007) that the age group >50 years in surgeons considered scientific evidence through clinical trials to be most necessary.

## Discussion

### Recent Research

There are a few studies published on the perspective of orthopedic surgeons on the bioprinting cartilage, since it is not yet on the market, but there is research on 3D printed medical implants [27]. This study presents an overview of the characteristics that implants should have as well as surgeons' knowledge of the decision-making process and their expectations and requirements, a thorough understanding of which is necessary to facilitate implementation of the new technology.

This technological adoption requires a proactive role, both from the point of view of orthopedic surgeons and health policies, since it will represent a change in the decision-making process of surgeons and the coverage of health benefits [28].

Recent studies represent a significant advance in the clinical translation of human cartilage and the appropriate surgical procedure. The focus of the research is on the biofabrication of biomaterials that maintain the biocompatibility and biodegradability of the original cartilage while increasing the efficiency of cell growth [29]. Mohanraj et al [30] suggested that the presence of an inflammatory environment is more likely to jeopardize the in vivo success of repairers of cartilage derived from mesenchymal stem cells. Using these cells, Yamasaki et al [31] examined the regeneration of articular cartilage and subchondral bone in artificial corpses.

Although researchers are moving forward in all fields of cartilage bioprinting, we have not been able to find working groups publishing the issues of implementation, and therefore, knowledge of orthopedic surgeons on this topic is scarce.

In our previous research [24], which identified the barriers and facilitators for the bioprinted cartilage use and this new approach, we validated the conclusion that orthopedic surgeons should receive information of higher quality from reliable sources, thus enabling the implementation of the bioprinted



cartilage, and that researchers should consider what surgeons believe the cartilage graft should be like.

### Implications and Explanation of the Findings

The results of this study show that the information received impacts the decision-making process of orthopedic surgeons in a complex and diverse way, as it depends on several variables: the type and origin of the information and its relevance to their demographic data. Previous research [24] found that the amount and quality of the information received was one of the main barriers for the implementation of new technologies. The sample analyzed here shows that orthopedic surgeons lack the specific knowledge of 3D printing as applied to cartilage (Table 4), where 50% of the survey participants who admit to being informed in an unspecific way have almost zero knowledge about it. In contrast, the 20 participants who had been informed by specialized companies considered themselves both better informed and more accepting of new technologies.

Therefore, it could be argued that specialized companies should work closely with orthopedic surgeons to help them acquire more specialized knowledge [32], as shown in Table 3. Another interesting fact is that specifically informed surgeons are more optimistic about the benefits and positive impact of the bioprinted cartilage graft on the quality of life of patients. The origin of the information impacts the level of acceptance and expectations of new technologies, both of which are required for ensuring a wider and easier implementation [33] and are key factors in finding a possible solution to osteoarthritis and improving the life of patients (Table 9). The only variable that is significantly linked to the level of up-to-date knowledge among surgeons is their age: Surgeons aged over 50 years considered themselves better informed. Quite often, the extrapolation of clinical studies to the real world is obstructed by the lack of knowledge of a key factor—the people who will have to implement it.

The second set of goals was to analyze the factors that would provide the ideal context and qualities of an archetypal bioprinted cartilage graft as well as factors perceived as difficulties. The characteristics listed on the survey were size of the lesion, duration of the graft, and age of the patient (Table 7), although more characteristics could possibly have been added. The ideal lesion size preferred by most surgeons was between 1 and 2 cm. A long durability was the most required quality in a graft, which was at least 5 years by 59% of the participants. It could be assumed that if the intervention were proven to be simple and noninvasive, this requisite would not be as important. Since this information is not available, orthopedic surgeons expect a long duration for grafts, predicting possible future reinterventions. The age of the patient presents some debate, as 50% believe that age over 70 years in patients is a limitation, whereas 42% do not consider age a factor. This could be explained by the increased life expectancy of over 70 years in the population. Further research could determine if this difference is a consequence of uncertainty or if it could change with time and experience (Table 7). Surprisingly, 43 of the 86 surgeons believed that the ease of implantation of the graft was not a decisive factor for its use.

For the perceived difficulties in the use of the bioprinted cartilage graft (Table 8), six options were provided, two of which—outcome uncertainty and patient safety—were emphasized by surgeons. Logically, surgeons need positive results from clinical trials in patients before using this technique. As the other answer suggested, issues regarding the implantation and manipulation of the graft were less important, and although they were mentioned in some cases (as the technique is not known yet), they were rated well below the other issues. It is important to highlight this difficulty from the surgeons' viewpoint: They try to offer solutions to the perceived difficulties but are not able to visualize the graft. Orthopedic surgeons are constantly learning and using new surgical techniques, and they are used to the learning curve. Therefore, as long as there is clinical evidence of the effectiveness of a technique, surgical difficulties are not a deterrent, because surgeons believe they will learn the technique in time.

It was expected that other difficulties linked to practical aspects, such as the hospital management's authorization to use the technique and the wait time for the graft, would be linked to the type of hospital. Therefore, in medium-complexity hospitals, authorization is less problematic than either of the two abovementioned aspects: There is not as much bureaucracy involved in medium-complexity hospitals as in a high-complexity hospital, and new technologies are more easily accepted than they are in smaller hospitals. Finally, the need for clinical trials is one of the main difficulties for implementation of the technique (Table 9), as almost all survey participants required clinical evidence (the average, in every case, was higher than 8 on a scale of 0-10). A significant finding was that surgeons who asked for more evidence were aged over 50 years, probably ranked higher in the hospital structure, and had both greater responsibility and more decision-making power.

### Strengths and Limitations

The present study should be interpreted in the context of its limitations. The initial proposal planned to cover the entirety of the Spanish territory, through the Spanish Society of Orthopedic and Traumatology Surgery and the Spanish Society of the Knee, and English-speaking specialists through the International Cartilage Research Society, but it was not possible to receive authorization from these societies to send the survey. Our coverage of only a small population is a big limitation, as is the low response rate. In addition, there could be a bias, since the participants who answered the survey were probably more interested in the application of new technologies. Finally, the Chi-squared test might provide inexact results when the values input are small.

### Conclusions, Recommendations, and Future Directions

The process of decision-making is based on precise information of quality, provided by companies specializing in the medical application of 3D printing. This variable seems essential to the acceptance of new technologies. The ideal graft, as described by surgeons, could provide important insight to researchers, at least in the initial stages of development, to satisfy the expectations of surgeons. Implementation research should focus on two variables: ensuring communication flows from researchers to surgeons and ensuring that the opinions of

orthopedic surgeons regarding the qualities and issues of the grafts reach researchers, which would help them implement the bioprinted cartilage graft with success.

## Acknowledgments

We thank the Catalan Society of Orthopedic and Traumatology Surgery, and specially its President, Pere Torner, for the help provided to distribute the survey. We also thank Ismael Cerdà for reviewing the survey and Marina Mustieles for her help in the translation of this text.

This study has not been funded by any institution or organization.

## Authors' Contributions

ASV conducted the study and data analysis with the help of MY and FLS. The other authors contributed to the writing and editing of the manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript.

## Conflicts of Interest

None declared.

## References

1. Marks R. Osteoarthritis and Articular Cartilage: Biomechanics and Novel Treatment Paradigms. *AAR* 2014;03(04):297-309 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.4236/aar.2014.34039](https://doi.org/10.4236/aar.2014.34039)]
2. Steinwachs MR, Engebretsen L, Brophy RH. Scientific Evidence Base for Cartilage Injury and Repair in the Athlete. *Cartilage* 2012 Jan;3(1 Suppl):11S-17S [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1177/1947603511415841](https://doi.org/10.1177/1947603511415841)] [Medline: [PMID: 26069601](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26069601/)]
3. Mardones R, Jofré CM, Minguell JJ. Cell Therapy and Tissue Engineering Approaches for Cartilage Repair and/or Regeneration. *Int J Stem Cells* 2015 May;8(1):48-53 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.15283/ijsc.2015.8.1.48](https://doi.org/10.15283/ijsc.2015.8.1.48)] [Medline: [26019754](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26019754/)]
4. Ozmeriç A, Alemdaroğlu KB, Aydoğan NH. Treatment for cartilage injuries of the knee with a new treatment algorithm. *World J Orthop* 2014 Nov 18;5(5):677-684 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.5312/wjo.v5.i5.677](https://doi.org/10.5312/wjo.v5.i5.677)] [Medline: [25405097](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25405097/)]
5. Tetteh ES, Bajaj S, Ghodadra NS, Cole BJ. The Basic science and surgical treatment options for articular cartilage injuries of the knee. *J Orthop Sports Phys Ther* 2012 Mar;42(3):243-253 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.2519/jospt.2012.3673](https://doi.org/10.2519/jospt.2012.3673)] [Medline: [22383075](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22383075/)]
6. Farr J, Cole B, Dhawan A, Kercher J, Sherman S. Clinical cartilage restoration: evolution and overview. *Clin Orthop Relat Res* 2011 Oct;469(10):2696-2705 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1007/s11999-010-1764-z](https://doi.org/10.1007/s11999-010-1764-z)] [Medline: [21240578](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21240578/)]
7. Kon E, Filardo G, Di Martino A, Marcacci M. ACI and MACI. *J Knee Surg* 2012 Mar;25(1):17-22. [Medline: [22624243](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22624243/)]
8. Bernhard JC, Vunjak-Novakovic G. Should we use cells, biomaterials, or tissue engineering for cartilage regeneration? *Stem Cell Res Ther* 2016 Apr 18;7(1) [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/s13287-016-0314-3](https://doi.org/10.1186/s13287-016-0314-3)]
9. Knutsen G, Isaksen V, Johansen O, Drogset JO, Grøntvedt T, Engebretsen L, et al. A randomized trial comparing autologous chondrocyte implantation with microfracture. Findings at five years. *J Bone Joint Surg Am* 2007 Oct;89(10):2105-2112. [doi: [10.2106/JBJS.G.00003](https://doi.org/10.2106/JBJS.G.00003)] [Medline: [17908884](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17908884/)]
10. Murphy S, Atala A. Regenerative medicine technology: on-a-chip applications for disease modelling, drug discovery and personalized medicine. Boca Raton, FL: CRC Press; Dec 13, 2016:428.
11. Jiang Y, Lin H, Tuan R. Overview: State of the Art Future Prospectives for Cartilage Repair. Cham, Switzerland: Springer; 2017.
12. Lipskas J, Deep K, Yao W. Robotic-Assisted 3D Bio-printing for Repairing Bone and Cartilage Defects through a Minimally Invasive Approach. *Sci Rep* 2019 Mar 06;9(1):3746 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1038/s41598-019-38972-2](https://doi.org/10.1038/s41598-019-38972-2)] [Medline: [30842477](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30842477/)]
13. Guzzo RM, Scanlon V, Sanjay A, Xu R, Drissi H. Establishment of human cell type-specific iPS cells with enhanced chondrogenic potential. *Stem Cell Rev* 2014 Dec;10(6):820-829. [doi: [10.1007/s12015-014-9538-8](https://doi.org/10.1007/s12015-014-9538-8)] [Medline: [24958240](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24958240/)]
14. Jiang T, Kai D, Liu S, Huang X, Heng S, Zhao J, et al. Mechanically cartilage-mimicking poly(PCL-PTHF urethane)/collagen nanofibers induce chondrogenesis by blocking NF-kappa B signaling pathway. *Biomaterials* 2018 Sep;178:281-292 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1016/j.biomaterials.2018.06.023](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.06.023)] [Medline: [29945065](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29945065/)]
15. Deng Y, Kuiper J. Functional 3D Tissue Engineering Scaffolds, Materials, Technologies, and Applications. Sawston, United Kingdom: Woodhead Publishing; 2017.
16. Jessop ZM, Al-Sabah A, Francis WR, Whitaker IS. Transforming healthcare through regenerative medicine. *BMC Med* 2016 Dec 10;14(1):115 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/s12916-016-0669-4](https://doi.org/10.1186/s12916-016-0669-4)] [Medline: [27510095](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27510095/)]
17. Jessop ZM, Javed M, Otto IA, Combella EJ, Morgan S, Breugem CC, et al. Combining regenerative medicine strategies to provide durable reconstructive options: auricular cartilage tissue engineering. *Stem Cell Res Ther* 2016 Jan 28;7:19. [doi: [10.1186/s13287-015-0273-0](https://doi.org/10.1186/s13287-015-0273-0)] [Medline: [26822227](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26822227/)]

18. O'Dowd A. Peers call for UK to harness. *BMJ* 2013 Jul 01;347:f4248 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1136/bmj.f4248](https://doi.org/10.1136/bmj.f4248)] [Medline: [23818565](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23818565/)]
19. Gu BK, Choi DJ, Park SJ, Kim MS, Kang CM, Kim C. 3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications. *Biomater Res* 2016 Apr 25;20(1):12 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/s40824-016-0058-2](https://doi.org/10.1186/s40824-016-0058-2)] [Medline: [27114828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27114828/)]
20. Di Bella C, Duchi S, O'Connell CD, Blanchard R, Augustine C, Yue Z, et al. In situ handheld three-dimensional bioprinting for cartilage regeneration. *J Tissue Eng Regen Med* 2018 Mar;12(3):611-621 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1002/term.2476](https://doi.org/10.1002/term.2476)] [Medline: [28512850](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28512850/)]
21. Onofrillo C, Duchi S, O'Connell CD, Blanchard R, O'Connor AJ, Scott M, et al. Biofabrication of human articular cartilage: a path towards the development of a clinical treatment. *Biofabrication* 2018 Dec 21;10(4):045006. [doi: [10.1088/1758-5090/aad8d9](https://doi.org/10.1088/1758-5090/aad8d9)] [Medline: [30088479](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30088479/)]
22. Lobb R, Colditz GA. Implementation science and its application to population health. *Annu Rev Public Health* 2013;34:235-251 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1146/annurev-publhealth-031912-114444](https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031912-114444)] [Medline: [23297655](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23297655/)]
23. Peters DH, Adam T, Alonge O, Agyepong IA, Tran N. Implementation research: what it is and how to do it. *BMJ* 2013 Nov 20;347:f6753 [[FREE Full text](#)] [Medline: [24259324](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24259324/)]
24. Salvador Verges A, Fernández-Luque L, Yildirim M, Salvador-Mata B, García Cuyàs F. Perspectives of Orthopedic Surgeons on the Clinical Use of Bioprinted Cartilage: Qualitative Study. *JMIR Biomed Eng* 2019 Feb 28;4(1):e12148 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.2196/12148](https://doi.org/10.2196/12148)]
25. Spiegel M, Stephens L. In: Mc Graw Hill , editor. *Schaum's outline of theory and problems of statistics*. New York: McGraw-Hill; 2007.
26. Eysenbach G. Improving the quality of Web surveys: the Checklist for Reporting Results of Internet E-Surveys (CHERRIES). *J Med Internet Res* 2004 Sep 29;6(3):e34 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.2196/jmir.6.3.e34](https://doi.org/10.2196/jmir.6.3.e34)] [Medline: [15471760](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15471760/)]
27. Belvedere C, Siegler S, Fortunato A, Caravaggi P, Liverani E, Durante S, et al. A new comprehensive procedure for custom-made total ankle replacements: Medical imaging joint modeling prosthesis design, and 3D Printing. *J Orthop Res* 2019 Mar;37(3):760-768. [doi: [10.1002/jor.24198](https://doi.org/10.1002/jor.24198)] [Medline: [30537247](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30537247/)]
28. Woltz S, Krijnen P, Pieterse A, Schipper I. Surgeons' perspective on shared decision making in trauma surgery. A national survey. *Patient Educ Couns* 2018 Dec;101(10):1748-1752. [doi: [10.1016/j.pec.2018.06.002](https://doi.org/10.1016/j.pec.2018.06.002)] [Medline: [29908865](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29908865/)]
29. Saroia J, Yanen W, Wei Q, Zhang K, Lu T, Zhang B. A review on biocompatibility nature of hydrogels with 3D printing techniques, tissue engineering application and its future prospective. *Bio-des Manuf* 2018 Nov 23;1(4):265-279. [doi: [10.1007/s42242-018-0029-7](https://doi.org/10.1007/s42242-018-0029-7)]
30. Mohanraj B, Huang A, Yeger-McKeever M, Schmidt MJ, Dodge GR, Mauck R. Chondrocyte and mesenchymal stem cell derived engineered cartilage exhibits differential sensitivity to pro-inflammatory cytokines. *J Orthop Res* 2018 Nov-Dec 01;36(11):2901-2910. [doi: [10.1002/jor.24061](https://doi.org/10.1002/jor.24061)] [Medline: [29809295](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29809295/)]
31. Yamasaki A, Kunitomi Y, Murata D, Sunaga T, Kuramoto T, Sogawa T, et al. Osteochondral regeneration using constructs of mesenchymal stem cells made by bio three-dimensional printing in mini-pigs. *J Orthop Res* 2018 Dec 17:17. [doi: [10.1002/jor.24206](https://doi.org/10.1002/jor.24206)] [Medline: [30561041](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30561041/)]
32. Davies P, Walker AE, Grimshaw JM. A systematic review of the use of theory in the design of guideline dissemination and implementation strategies and interpretation of the results of rigorous evaluations. *Implement Sci* 2010 Dec 05;5:14 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1186/1748-5908-5-14](https://doi.org/10.1186/1748-5908-5-14)] [Medline: [20181130](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20181130/)]
33. Zhou G, Jiang H, Yin Z, Liu Y, Zhang Q, Zhang C, et al. In Vitro Regeneration of Patient-specific Ear-shaped Cartilage and Its First Clinical Application for Auricular Reconstruction. *EBioMedicine* 2018 Feb 01;28:287-302 [[FREE Full text](#)] [doi: [10.1016/j.ebiom.2018.01.011](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.01.011)] [Medline: [29396297](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29396297/)]

107

## Abbreviations

**SCCOT:** Catalan Society of Orthopedic and Traumatology Surgery

*Edited by G Eysenbach; submitted 15.03.19; peer-reviewed by C Di Bella, S Prasad, T Jiang; comments to author 03.04.19; revised version received 16.04.19; accepted 02.05.19; published 13.05.19*

### *Please cite as:*

Salvador Verges Á, Fernández-Luque L, López Seguí F, Yildirim M, Salvador-Mata B, García Cuyàs F  
*Orthopedic Surgeons' Perspectives on the Decision-Making Process for Use of Bioprinter Cartilage Grafts: Web-Based Survey*  
*Interact J Med Res* 2019;8(2):e14028  
 URL: <http://www.i-jmr.org/2019/2/e14028/>  
 doi: [10.2196/14028](https://doi.org/10.2196/14028)  
 PMID:

©Àngels Salvador Verges, Luis Fernández-Luque, Francesc López Seguí, Meltem Yildirim, Bertran Salvador-Mata, Francesc García Cuyàs. Originally published in the Interactive Journal of Medical Research (<http://www.i-jmr.org/>), 13.05.2019. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work, first published in the Interactive Journal of Medical Research, is properly cited. The complete bibliographic information, a link to the original publication on <http://www.i-jmr.org/>, as well as this copyright and license information must be included.

---

*Capítol 6:*

---



## 1. Respostes a les preguntes d'investigació

Pregunta de recerca 1: **RQ1:** Quines són les publicacions que ajuden a entendre aquesta possibilitat?

### *Resposta a la pregunta de recerca 1: RRQ1*

Hem identificat tres tipus genèrics de publicacions a la literatura consultada:

- Les investigacions de cartílag articular realitzada en animals, molt propera a les dels humans.
- Les que es fan per aclarir temes complementaris de cirurgia, com per exemple les aplicacions de cartílags no articulars (tràquea, orella, nas).
- Les que s'estan fent als laboratoris *in vitro* per trobar les millors característiques tant en tipus cel·lular com els hidrogels a utilitzar per a obtenir el producte resultant de cartílag bioimprès.

Totes elles aporten un punt de vista en la polièdrica qüestió de la bioimpressió del cartílag, i diversos punts a tenir en compte per a l'aplicació amb èxit de la tècnica.

Pregunta de recerca 2: **RQ2:** Quins són els reptes de futur que tenen actualment els investigadors?

### *Resposta a la pregunta de recerca 2: RRQ2*

- Les característiques químiques del biomaterial, per assegurar una adherència de l'implant en profunditat i espessor en el lloc de la lesió.
- La millora de la col·laboració entre els científics de materials i experts d'altres camps relacionats amb l'enginyeria de teixits és de vital importància per obtenir hidrogels amb propietats equilibrades mecàniques, conductivitat elèctrica, la velocitat de degradació, biocompatibilitat i propietats condro-inductores.
- La resistència mecànica en bioimpressions sense bastides i la determinació de les millors concentracions cel·lulars.
- Seguir amb el debat sobre els tipus de cèl·lula ideal per a la regeneració del cartílag, ja que cal assegurar-se que les cèl·lules obtingudes tinguin una capacitat condrogènica provada, que no causin morbiditat a la zona donant i que siguin fàcilment ampliables en el cultiu sense perdre el fenotip.
- La protocol·lització de les estratègies de fabricació, per permetre l'escalabilitat.
- Garantir la seguretat clínica del processament cel·lular.

111

Pregunta de recerca 3: **RQ3:** Què opinen i quines expectatives tenen els cirurgians respecte al cartílag bioimprès?

### *Resposta a la pregunta de recerca 3: RRQ3*

- Els cirurgians ortopèdics estan disposats a acceptar que aquesta nova tecnologia té el potencial per resoldre una necessitat clínica i reconeixen la bioimpressió com una tecnologia pel futur.

- Perquè aquesta possibilitat tingui futur creuen imprescindible tenir evidència científica clara abans d'utilitzar-la en els seus pacients.
- L'empelt ideal, descrit pels cirurgians, podria proporcionar informació important als investigadors, almenys en les etapes inicials de desenvolupament, per satisfer les expectatives dels cirurgians.
- Les expectatives respecte als empelts són en relació a la mida de la lesió (no més de 3 cm.) i a l'edat del pacient (no abans dels 18 ni després dels 70 anys).

Pregunta de recerca 4: **RQ4:** És suficient la informació que tenen sobre aquesta nova possibilitat?

*Resposta a la pregunta de recerca 4: RRQ4*

- La perspectiva dels cirurgians ortopèdics depèn de la informació que reben i si és especialitzada i consistent, ja que això condicionarà la seva acceptació i aplicació del cartílag bioimprès.

Pregunta de recerca 5: **RQ5:** De quina qualitat és la informació que reben els cirurgians per poder prendre decisions informades?

*Resposta a la pregunta de recerca 5: RRQ5*

- El procés de presa de decisions es basa en informació precisa i de qualitat.

## 2. Respostes als objectius

<b>General</b>	L'objectiu principal d'aquesta tesi és establir un punt inicial del coneixement disponible sobre el cartílag bioimprès i, alhora, aprofundir i intervenir en el procés de translació d'aquest coneixement als clínics, tot aportant algunes possibilitats per a la correcta implementació.	El contingut d'aquesta recerca és un resum estructurat del coneixement disponible, vist des de diferents perspectives, perquè els interessats en la bioimpresió del cartílag puguin obtenir una visió general i puguin prendre decisions respecte a la seva implementació. La millor manera de fer la transferència, és abordar el tema de com fer arribar la informació als clínics de les investigacions en curs.
<b>Específics</b>	1. Sintetitzar els avenços científics publicats fins a la data.	S'ha obtingut la pauta del que s'està publicant i els camps on s'està portant a terme més investigació.
	2. Identificar problemes tècnics no resolts en relació amb l'aplicació humana.	Estan identificats uns quants problemes que caldrà solucionar-los abans que es pugui aplicar als humans.
	3. Resumir i classificar les barreres i els facilitadors d'aquesta nova possibilitat i determinar els factors clau que caldria tenir en compte per a la implementació reeixida del cartílag bioimprès en la pràctica clínica habitual.	Enumerem les dubtes i les preguntes que es fan respecte al cartílag bioimprès i com acceptarien la possible implementació d'aquesta alternativa a la seva pràctica clínica habitual.
	4. Determinar els coneixements i les expectatives dels cirurgians ortopèdics sobre l'ús clínic del cartílag bioimprès.	S'ha avaluat que els coneixements que tenen els cirurgians ortopèdics respecte a aquesta tecnologia seran determinants per a la seva aplicació, quan arribi el moment.
	5. Explorar la postura dels cirurgians ortopèdics sobre l'ús d'empelts de cartíl·lages bioimpresos per les lesions cartilaginoses.	Els cirurgians, conscients de la manca de tècniques actuals per solucionar les lesions de cartílag, estan expectants a noves possibilitats.
	6. Resumir les característiques que hauria de tenir l'empelt de cartílag bioimprès, sota la percepció dels clínics.	Amb la informació disponible que tenen en aquests moments els cirurgians ortopèdics, donen la seva opinió sobre com voldrien que fos, i en quines circumstàncies el posarien.
	7. Explorar les maneres més efectives per a la transferència d'informació als cirurgians.	La millor manera de fer la transferència és abordar el tema de, com fer arribar la informació als clínics de les investigacions en curs.



### 3. Conclusions finals de la tesi

La impressió tridimensional és una tecnologia revolucionària, que ja està portant canvis importants al món. La bioimpressió permetrà una innovació disruptiva en l'enginyeria de teixits.

Aquesta tesi ha analitzat de forma exhaustiva el procés de construcció d'empelts de cartílag, posant l'accent en la translació als clínics. El resultat de la recerca han sigut tres articles publicats, que il·lustren aquest procés des de tres vessants: la recerca d'abast, la qualitativa i la quantitativa, que s'han portat a terme per abordar-lo.

S'estableixen les següents conclusions:

#### *C1 Sobre la bioimpressió de cartílag :*

- A priori, presenta pocs riscos en comparació amb els enormes beneficis potencials.
- No està encara disponible per l'aplicació clínica, si bé s'estan portant a terme moltes investigacions que proposen arribar-hi en un espai curt de temps.
- Caldrà protocol·litzar les estratègies de fabricació per permetre l'escalabilitat.
- Serà imprescindible garantir la seguretat clínica del processament cel·lular.

#### *C2 Respecte els cirurgians ortopèdics:*

- Es mostren oberts a aquesta tecnologia com a possible solució a la seva necessitat clínica, tot i que en general s'aprecia un desconeixement de les darreres innovacions.
- El posicionament dels cirurgians davant de l'empelt de cartílag depèn de la informació que reben. Quan aquesta és especialitzada i consistent, es mostren més proclius a acceptar aquesta tecnologia.
- El procés de presa de decisions és excel·lent quan la informació és precisa i de qualitat.
- Requereixen evidència científica per la seva aplicació en humans abans de poder ser utilitzada en la pràctica clínica.
- Pels cirurgians, l'empelt ideal ha de disposar de característiques específiques.

113

#### *C3 Quines seran les necessitats legals, ètiques dels investigadors:*

- Un altre problema detectat va ser la preocupació pel model de negoci per produir empelts bioimpresos. Els cirurgians ortopèdics temen que no es pugui alinear amb els models de producció actuals. Aquesta situació, codificada com a factor clau, és un dels principals problemes identificats com a barrera en la implementació d'aquesta tècnica.
- Una altra possibilitat seria establir centres públics, possiblement en un model de col·laboració públic-privat, que tinguessin els recursos humans i tècnics necessaris per produir les seves pròpies peces bioimpreses en 3D.

Les bases d'aquest model ja existeixen als hospitals on ja es fan servir les impressores 3D. Com s'ha esmentat anteriorment, aquests hospitals disposen de personal format que ja té competències en l'ús d'impressores 3D per a una àmplia varietat d'aplicacions que van des de la impressió de models de fractures, la planificació quirúrgica i la creació de guies personalitzades per al pacient.

Aquest sistema, que seria integrat als hospitals, permetria una comunicació constant entre els equips mèdics i tècnics. L'hospital com a punt de trobada garanteix que, a mesura que s'utilitzi la tecnologia, es detectaran més aplicacions potencials.

Això permetria una millora en la corba d'aprenentatge per a ambdues parts: l'equip mèdic que explora aplicacions noves i millors per a la tècnica i l'equip d'enginyeria que dissenya solucions específiques del context. Aquesta solució significaria que la bioimpresió és el següent pas lògic, nascut de les necessitats creixents de totes les especialitats mèdiques.

#### **4. Limitacions**

S'han de considerar les limitacions que conté aquesta tesi, pel context on ha estat realitzada. Per tant, les conclusions extrems no es poden extrapolar a tots els països i/o contextos, per alguns dels motius que s'esmenten a continuació:

En l'anàlisi qualitativa, les limitacions són inherents al nombre de participants i al nombre de grups de discussió. Només les dades extrems de les interaccions dels cirurgians ortopèdics són legítimes; no obstant això, és la seva opinió la que centra la recerca en aquest context.

En l'estudi quantitatiu, encara que es va plantejar per utilitzar-lo en un context nacional i internacional, no es va obtenir l'autorització per fer-ho. Per tant, l'enquesta cobreix només una petita població, en part a causa de la baixa taxa de resposta. També s'ha de considerar que podria haver-hi biaixos, ja que els participants que van respondre eren probablement els que estaven més interessats en l'aplicació de les noves tecnologies.

114

#### **5. Implicacions per a futures investigacions**

A la vista dels resultats obtinguts de l'estat actual en aquest camp, els estudis futurs haurien d'identificar les restriccions tecnològiques, les regulacions per països, els drets de propietat intel·lectual i els aspectes ètics relacionats amb la bioimpresió. Les tecnologies de bioimpresió són úniques, ja que permeten un determinat patró de múltiples tipus de cèl·lules i materials per recrear l'estructura nativa del cartílag. S'haurien d'avaluar altres fonts de cèl·lules mare multi potents per donar suport a la condrogènesi.

Un dels punts a tenir en compte és l'estabilitat de les cèl·lules abans de l'ús. És important destacar que els assajos clínics actuals han demostrat que la teràpia de MSC és segura. La seguretat ha estat demostrada a través d'una recent revisió sistemàtica i una metaanàlisi d'un total de 1012 participants que van rebre teràpia MSC intravascular per a una varietat de símptomes clínics, incloent l'ictus isquèmic, la malaltia de Crohn, la miocardiopatia i la cardiopatia isquèmica.<sup>147,148</sup>

En el cas dels iPSCs, el risc de formació de teratomes és el problema més gran que no es pot passar per alt. Per tant, són necessaris esforços (és a dir, una diferenciació o purificació completa) per evitar aquest risc.

Col·lectivament, els estudis analitzats demostren la viabilitat de l'enginyeria del cartílag i subratllen la necessitat d'una barrera biològica contínua entre el neocartílag i la regió òssia. És probable que el disseny bifàsic no sigui suficient per aconseguir un cartílag consistent i funcional i la seva formació i integració a l'os subcondral. La distribució perifèrica de la formació de matrius, així com l'orientació correcta de les fibres de col·lagen i la resistència mecànica a la tensió, són elements vitals en l'enginyeria de teixits del cartílag. Tot i que s'han dut a terme proves in vivo en animals de grans dimensions, cal especificar i resoldre els buits detectats per establir les característiques físiques i biomecàniques necessàries, fer front a la possible degradació dels implants i assegurar la integració transversal de l'empelt en l'hoste.

Analitzant la postura dels cirurgians ortopèdics, es poden suggerir almenys dues línies d'acció possibles. La construcció de l'empelt en els mateixos hospitals o bé, si la producció està en mans d'empreses privades, les principals demandes dels cirurgians serien la personalització individualitzada dels implants, amb un termini de lliurament curt. En aquest cas, es podrien controlar la bio-seguretat i la traçabilitat dels teixits. Aquest model també hauria de tractar el tema de la patent i complir els requisits ètics i, el que és més important, amb la normativa i la legislació vigents.

La companyia espanyola Regemat n'és un exemple. Utilitzen el greix de Hoffa, tal com el descriu López Ruiz<sup>151</sup> i inclouen la diferenciació del MSC autòleg per desenvolupar i comercialitzar el cartílag.



---

## *Apèndix*

---



## Llistat de figures

Pag.

<b>Fig. 1</b>	<i>Disseny de la recerca</i>	25
<b>Fig. 2</b>	<i>Estratègia de contextualització de les etapes de la investigació. Extret de: Woolley C M. Meeting the Mixed Methods Challenge of Integration in a Sociological Study of Structure and Agency. Journal of Mixed Methods Research 2009; 3(1):7-25</i>	26
<b>Fig. 3</b>	<i>Representació esquemàtica d'una articulació sinovial.</i>	29
<b>Fig. 4</b>	<i>Cèl·lules aïllades activen el metabolisme i segregació de components de la matriu. Vega JA, Salvador A. Ciencias Básicas: Cartilago. Documento de conferencia. 2000 DOI: 10.13140/2.1.4448.3842</i>	31
<b>Fig. 5</b>	<i>5a La mesura i la forma de les cèl·lules: a prop de la superfície articular, les cèl·lules són petites i aplanades horitzontalment; amb una profunditat creixent, es tornen més grans, més rodones i, en última instància (prop de la frontera d'invasió vascular), de forma irregular. En el cartílag articular adult, els condrocits s'organitzen en diferents columnes verticals i zones horitzontals (superficial / tangencial, de transició, superior i inferior radial, i calcificades). Imatge de (Osteoarthritis and Cartilage 2007 15, 403-413DOI: 10.1016/j.joca.2006.09.010) 5b. Organització del cartílag articular normal. Les zones superficials, mitjanes i profundes i la seva matriu extracel·lular es divideixen mitjançant diferents seccions.</i>	31
<b>Fig. 6</b>	<i>Imatge de microscopi electrònic de transmissió. A) S'observa un condrocit envoltat de la matriu extracel·lular (MEC), en el qual s'aprecien zones de matriu pericel·lular (MPC) i de matriu territorial (MT). B) Càpsula pericel·lular a major augment. Imatges A i B modificades de: Wilusz, R.E., J. Sanchez-Adams, and F. Guilak, The structure and function of the pericellular matrix of articular cartilage. Matrix Biol, 2014; 39: 25-32.</i>	32
<b>Fig. 7</b>	<i>Esquema de les capes del cartílag articular.</i>	36
<b>Fig. 8</b>	<i>Esquema que resumeix l'organització macromolecular del cartílag articular madur. El teixit consta de quatre zones diferents: superficials (SZ); mitja (MZ), profunda (DZ), i una zona de matriu de cartílag calcificada (CZ), per sota del qual es troba l'os subcondral (SB). Cada zona és diferent en termes de la seva morfologia cel·lular (panell esquerre), l'organització de la fibra de col·lagen (panell central) i la composició bioquímica de la seva matriu extracel·lular (MEC) (panell dret). Els components de matriu de cada zona del cartílag es presenten com a esquemes moleculars. Imatge extreta de Anthony J. Hayes, et als. Macromolecular Organization and In Vitro Growth Characteristics of Scaffold-free Neocartilage Grafts. J Histochem Cytochem, 2007; 55(8):853-66.</i>	37
<b>Fig. 9</b>	<i>Diagrama esquemàtic per mostrar el canvi en l'estructura del cartílag (A) en profunditat, (B) l'estructura superficial "leaf like" i (C) un condron. Imatge de: Mansfield JC, et als.. The micromechanics of the superficial zone of articular cartilage. Osteoarthritis Cartil. 2015;23(10):1806-16.</i>	38
<b>Fig. 10</b>	<i>Telemetria: traçat de la línia de Mikulicz (línia maluc-genoll-turmell), que connecta el centre del cap femoral amb el centre de la cúpula astragalina. En una extremitat normo alineada aquesta línia es trobar entre els dos mal·lèols. En aquest cas es tracta d'un genoll en desviació en varo.</i>	39
<b>Fig. 11</b>	<i>Imatges d'artroskòpia de lesions del cartílag articular que il·lustren la classificació per graus d'Outerbridge</i>	40
<b>Fig. 12</b>	<i>Perforacions fins os subcondral amb broca o kischner. Gao et all's. Disease Models &amp; Mechanisms. 2018; 11.</i>	41
<b>Fig. 13</b>	<i>Tècnica de Wagner. Wagner, H.: Traitement opératoire de l'ostéochondrite disséquante cause de l'arthrite déformante du genou. Rev. Chir. Orthop. 1964;50:335-352.</i>	42
<b>Fig. 14</b>	<i>Tècnica de Mosaicoplàstia. Imatge del servei de COT Hospital Plató. 2009.</i>	42
<b>Fig. 15</b>	<i>Autogreffe osteo-cartilagineuse rotule-condyle. Navés J. 12º Congrès International de Chirurgie Orthopédique. Tel Aviv,1972 ; Pag. 980.</i>	42
<b>Fig. 16</b>	<i>Imatge dos anys després de la col·locació del cilindre sintètic TruFit. Paul Hindle P.et all's. Autologous osteochondral mosaicplasty or TruFitTM plugs for cartilage repair. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 43</i>	43
<b>Fig. 17</b>	<i>Mini-hemi-artroplàstia . Navés J, Puig M, Salvador A. 1976</i>	43
<b>Fig. 18</b>	<i>Descripció esquemàtica de MACI de: (1) Artroskòpia inicial amb avaluació del cartílag lesionat i de la collita d'una biòpsia de cartílag de gruix complet; (2) la biòpsia s'envia en un recipient estèril i refredat al laboratori de cultiu cel·lular; (3) el cartílag és digerit enzimàticament; (4) l'expansió dels condrocits en el cultiu monocapa durant aproximadament quatre setmanes; (5) les cèl·lules se sembren a la bastida uns dies abans de la implantació; (6) l'implant d'enginyeria es torna al cirurgià en un recipient estèril; (7) una cirurgia definitiva amb desbridament del cartílag lesionat seguit d'una implantació MACI, que s'ajusta a la mida del defecte i s'encola amb una capa fina de fibrina. Imatge de Jacobi et al. Sports Medicine, arthroscopy, rehabilitation, therapy &amp; technology 2011; 3:10 (1).</i>	44
<b>Fig. 19</b>	<i>Tècnica de MACI, des del defecte irregular del cartílag, es col·loca la matriu sense sutura. Autologous Chondrocyte implantation, simplified. Imatge de: Gursoy S, et als. Factors Influencing the Results in Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Implantation: A 2 - 5 Year Follow-Up Study. J Clin Med Res. 2019;11 (2):137-44.</i>	45

<b>Fig. 20</b>	<i>Il·lustració dels enfocaments clínicament provats per a la restauració del teixit cartilaginós. Medvedeva, E. V et al's. Repair of Damaged Articular Cartilage: Current Approaches and Future Directions. International journal of molecular sciences. 2018; 19 (8), 2366.</i>	45
<b>Fig. 21</b>	<i>Triada de l'enginyeria de teixits</i>	46
<b>Fig. 22</b>	<i>L'enginyeria de teixits incorpora molts factors crítics que inclouen cèl·lules, bastides, factors bioactius i estímuls físics per reunir construccions biomimètiques dissenyades per teixits per reemplaçar els teixits danyats en humans. Imatge de: Zhang, L., Hu, J., &amp; Athanasiou, K. A. (2009). The role of tissue engineering in articular cartilage repair and regeneration. Critical reviews in biomedical engineering, 37 (1-2), 1–57.</i>	47
<b>Fig. 23</b>	<i>Els iPSC es poden generar artificialment reprogramant les cèl·lules pròpies del pacient i també es poden diferenciar en diversos llinatges. Nam Y, Rim YA, Lee J, Ju JH. Current Therapeutic Strategies for Stem Cell-Based Cartilage Regeneration. Stem Cells Int 2018:1–20.</i>	50
<b>Fig. 24</b>	<i>Taula de l'evolució de la impressió 3D en el temps.</i>	54
<b>Fig. 25</b>	<i>(a) Diagrama de l'arbre de les diferents tècniques de bioimpressió en 3D i (b) Il·lustracions simplificades de tècniques típiques de bioimpressió per a la regeneració de teixits / òrgans. Extret de: Cui, H., et als. (2017). 3D Bioprinting for Organ Regeneration. Advanced healthcare materials, 6 (1), 10.1002/adhm.201601118.</i>	57
<b>Fig. 26</b>	<i>Procés d'obtenció de teixits humans per a ús clínic/investigació. Imatge de: B. Miranda et al. Med. Clin (Barc.). 2012;138 (8):338–34130</i>	63



## Abreviatures

ACI	Autòleg Condròcits Implantació
MACI	Matriu Autòleg Condròcits Implantació
MEC	Matriu extra cel·lular
OD	Osteocondritis Dissecans
ESCs	Embryonic stem cells
MSCs	Mesenchymal stem cells
iPSCs	Induced pluripotent stem cells
HLA	Human leukocyte antigen
PEG	Poly-ethylene glycol
PLGA	Poly-Lactide-co-glycolide
PLLA	Poly L-lactic acid
BMPs	Bone Morphogenetic Proteins
FGFb	Basic fibroblast growth factor
3D	Impressió en 3 dimensions
DICON	Digital Imaging and Communications in Medicine
STL	Standard Triangle Language
FMD	Fused Deposition Modeling
ITOP	Integrated Tissue Organ Printer
CAD	Computer-Aided Design
PCL	Policaprolactona
GMPs	Good Manufacturing Practices
hMSC	Human Mesenchymal Stem Cells
QMS	Quality Management System
IC	Consentiment Informat
CBMPs	Medicaments basats en cèl·lules humanes
ATMPs	Medicaments de teràpia avançada
EMA	Agència Europea de Medicaments



## Referències

1. Goldring MB, Goldring SR. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2010 ;1192(1):230–7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20392241>
2. Shiomi, T. Nishii, S. Tamura, H. Tanaka, K. Murase, H. Yoshikawa, N. Sugano. Influence of medial meniscectomy on stress distribution of the femoral cartilage in porcine knees: a 3D reconstructed T2 mapping study. *Osteoarthr Cartil.* 2012;Volume 20,(11):1383–90. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S106345841200903X>
3. Wylde V, Dieppe P, Hewlett S, Learmonth ID. Total knee replacement: Is it really an effective procedure for all? 2007;14(6):417–23. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968016007000713>
4. Vos T, Abajobir AA, Abate KH, Abbafati C, Abbas KM, Abd-Allah F, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2017;390(10100):1211–59. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673617321542>
5. Niemeyer P, Porichis S, Salzmann G, Südkamp NP. What Patients Expect About Autologous Chondrocyte Implantation (ACI) for Treatment of Cartilage Defects at the Knee Joint. *Cartilage.* 2012;3(1):13–9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26069615>
6. Zhang Z, Zhong X, Ji H, Tang Z, Bai J, Yao M, et al. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation for the treatment of chondral defects of the knees in Chinese patients. *Drug Des Devel Ther.* 2014;8:2439. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25525334>
7. Pässler HH. [Microfracture for treatment of cartilage defects]. *Zentralbl Chir* [Internet]. 2000 ;125(6):500–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10919242>
8. Mao, A. S., & Mooney, D. J. Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2015;112(47):14452–14459. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4664309/>
9. Howard, D., BATTERY, L. D., Shakesheff, K. M., & Roberts, S. J. Tissue engineering: strategies, stem cells and scaffolds. *Journal of anatomy*,2008; 213(1): 66–72. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2475566/>
10. Walker, J. Cartilage of Human Joints and Related Structures. In J. Zachazewski, D. Magee & W. Quillenm (Eds.), *Athletic Injuries and Rehabilitation* 1996 : pp. 120-151. [http://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584\(04\)00259-6/fulltext](http://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584(04)00259-6/fulltext)
11. Leeson, T.S., et al., *Texto, atlas de histología.* 1996, México: Interamericana, McGraw-Hill. XIV, p 741.
12. Pérez T. Las células madre o progenitoras. *Biotechnol. Madrid.* 2011;35:20. [https://www.fbbva.es/microsites/salud\\_cardio/mult/fbbva\\_libroCorazon\\_cap35.pdf](https://www.fbbva.es/microsites/salud_cardio/mult/fbbva_libroCorazon_cap35.pdf)
13. Akkiraju, H., & Nohe, A. (2015). Role of Chondrocytes in Cartilage Formation, Progression of Osteoarthritis and Cartilage Regeneration. *Journal of developmental biology*, 3(4), 177–192. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4916494/>
14. Brody, L T. *Knee Osteoarthritis: Clinical Connections to Articular Cartilage Structure and Function, Physical Therapy in Sports.* 2015); 16(4):301-316 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466853X14001060>
15. Kreis, T. and R. Vale, *Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins.* Second edition ed. 1999, Oxford: Oxford University Press. XIX, 568 p.
16. Gartner, L.P., et al., *Texto atlas de histología.* 3ª ed. 2007, México: McGraw-Hill Interamericana. XI, 574 p.
17. Junqueira, L.C. and J. Carneiro, *Histología básica: texto y atlas.* 12ª® ed. 2015, Buenos Aires; Madrid. Panamericana. 537 p.
18. Ushiki, T., *Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding*

- from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol*, 2002. 65(2):p. 109-26  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/aohc/65/2/65\\_2\\_109/pdf/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/aohc/65/2/65_2_109/pdf/-char/en)
19. Kreis, T. and R. Vale, Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins. Second edition ed. 1999, Oxford: Oxford University Press. XIX, 568 p.
  20. Bella J., Hulmes DJS (2017) Fibrillar Collagens. A: Parry D., Squire J. (eds) *proteines fibroses: estruturas i mecanismes*. *Subcellular Biochemistry*, vol 82. Springer, Cham.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0_14)
  21. Kessler MW, Grande DA. Tissue engineering and cartilage. *Organogenesis*. 2008;4(1):28–32. doi:10.4161/org.611623.
  22. Cremer, M.A., E.F. Rosloniec, and A.H. Kang, The cartilage collagens: a review of their structure, organization, and role in the pathogenesis of experimental arthritis in animals and in human rheumatic disease. *J Mol Med (Berl)*, 1998. 76(3-4): p. 275-88.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s001090050217>
  23. Eyre DR, Weis MA, Wu JJ. Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework?. *Eur Cell Mater* 2006;12:57–63. <http://www.ecmjournal.org/papers/vol012/pdf/v012a07.pdf>
  24. Linn, F.C. and L. Sokoloff, Movement and Composition of Interstitial Fluid of Cartilage. *Arthritis Rheum*, 1965. 8: p. 481-94.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/art.1780080402>
  25. Kowitzsch, A., G. Zhou, and T. Groth, Medical Application of Glycosaminoglycans - A Review. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/term.2398>
  26. Halper, J., *Proteoglycans and diseases of soft tissues*. *Adv Exp Med Biol*, 2014.802: p. 49-58.  
[https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-94-007-7893-1\\_4](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-94-007-7893-1_4)
  27. Tabasum, S., et al., Glycoproteins functionalized natural and synthetic polymers for prospective biomedical applications: A review. *Int J Biol Macromol*, 2017.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016314659>
  28. Holmes MWA, Bayliss MT, Muir H. Hyaluronic acid in human articular cartilage. Age-related changes in content and size. *Biochem J* 1988;250:435-441.  
<http://www.biochemj.org/content/250/2/435>
  29. Schmidt TA, Gastelum NS, Nguyen QT, Schumacher BL, Sah RL. Boundary lubrication of articular cartilage: role of synovial fluid constituents. *Arthritis Rheum* 2007;56(3):882–91.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.22446>
  30. Daniel M. Boundary cartilage lubrication: review of current concepts [review]. *Wien Med Wochenschr* 2014;164(5–6):88–94. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10354-013-0240-2>
  31. Ruano-Gil D, Nardi-Villardaga J, Teixidor-Johé A, Embryonal Hypermobility and Articular Development. *Cells Tissues Organs* 1985;123:90-92. <https://doi.org/10.1159/000146045>
  32. Swann, D.A., et al., The molecular structure and lubricating activity of lubricin isolated from bovine and human synovial fluids. *Biochem J*, 1985. 225(1): p.195-201.  
<http://www.biochemj.org/content/225/1/195.abstract>
  33. Sophia Fox, A.J., A. Bedi, and S.A. Rodeo, The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports Health*, 2009. 1(6): p.461-8.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3445147/>
  34. Iap Gwynn, et al., Novel aspects to the structure of rabbit articular cartilage. *Eur Cell Mater*, 2002. 4: p. 18-29. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14562249>
  35. Ateshian, G.A., et al., Finite deformation biphasic material properties of bovine articular cartilage from confined compression experiments. *J Biomech*, 1997. 30(11-12): p. 1157-64.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021929097856060?via%3Dihub>
  36. McKibbin B, Holdsworth FW. The nutrition of immature joint cartilage in the lamb. *J Bone Jt Surg Br*. 1966;48:793–803. <https://online.boneandjoint.org.uk/doi/abs/10.1302/0301-620x.48b4.793>
  37. Mow, V.C., M.H. Holmes, and W.M. Lai, Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review. *J Biomech*, 1984. 17(5): p. 377-94.

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021929084900319?via%3Dihub>
38. Maroudas A, Bullough P, Swanson SAV, Freeman MAR. The permeability of articular cartilage. *J Bone Joint Surg. (Br)* 1968 ;50 : 166-177.   
<https://online.boneandjoint.org.uk/doi/pdf/10.1302/0301-620X.50B1.166>
  39. Fisher AGT. A contribution to the pathology and etiology of osteo-arthritis: with observations upon the principles underlying its surgical treatment. *British J Surg.* 1922; 10: 52-80.   
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bjs.1800103709>
  40. Neogi T. Clinical significance of bone changes in osteoarthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis [Internet].* 2012; 4(4):259–67. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3403249/>
  41. Kerin AJ, Wisnom MR, Adams MA. The compressive strength of articular cartilage. *Proc Inst Mech Eng Part H J Eng Med* 1998 ;212(4):273–80.   
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9769695>
  42. Boschetti F, Pennati G, Gervaso F, Peretti GM, Dubini G. Biomechanical properties of human articular cartilage under compressive loads. *Biorheology.* 2004;41(3–4):159–66.   
<https://www.researchgate.net/publication/8412366>
  43. Lu XL, Mow VC. Biomechanics of articular cartilage and determination of material properties. *Medicine and Science in Sports and Exercise.* 2008; 40 p. 193–9. <http://www.acsm-msse.org>
  44. Ficat P. Artrosis post-contusion del cartílago rotuliano. Estudio experimental y clínico. Madrid. *Artrosis: Fundación MAPFRE* 1985; 20: 21-34
  45. Tomatsu T, Takeuchi N, Takahashi K, Kimura N. Experimentally produced fractures of articular cartilage and bone. The effects of shear forces on the pig knee. *J Bone Joint Surg. (Br)* 1992; 74: 457-462.   
<https://pdfs.semanticscholar.org/32a1/db3298b7d7aca77566c4eaa07989186be8b7.pdf>
  46. Steinwachs MR, Engebretsen L, Brophy RH. Scientific Evidence Base for Cartilage Injury and Repair in the Athlete. *Cartilage.* 2012 Jan; 3(1 Suppl): 11S–17S.   
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4297168/>
  47. Johnson LL. Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathologic perspective: present status. *Arthroscopy* 1986;2(1):54-69.   
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749806386800123>
  48. Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK. Microfracture to treat full- thickness chondral defects: surgical technique, rehabilitation, and outcomes. *J Knee Surg* 2002; 15: 170-6 .
  49. Orth O, Madry H. Cartilage Repair: Arthroscopic Microfractures. Book. ESSKA 2016 189 *Arthroscopy: Basic to Advanced.* [https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-662-49376-2\\_16](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-662-49376-2_16)
  50. Steinwachs MR, Engebretsen L, Brophy RH. Scientific Evidence Base for Cartilage Injury and Repair in the Athlete. *Cartilage.* 2012 Jan; 3(1 Suppl): 11S–17S.   
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4297168/>
  51. Ripoll PL, de Prado M, Vaquero J. Injertos osteocondrales autólogos en mosaico como tratamiento de las lesiones focales del cartílago de la rodilla. *444 Rev Ortop Traumatol* 2002;5:444-450   
[http://www.ripollydeprado.com/uploaded/pdf/injertos\\_ostecondrales\\_autologos\\_en\\_mosaico.pdf](http://www.ripollydeprado.com/uploaded/pdf/injertos_ostecondrales_autologos_en_mosaico.pdf)
  52. Bentley G, Biant L. C, Vijayan S, Macmull S, Skinner J. A, Carrington R W J . Minimum ten-year results of a prospective randomised study of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for symptomatic articular cartilage lesions of the knee. *J Bone Joint Surg Br.* 2012 ; 94 :504–9. <https://online.boneandjoint.org.uk/doi/full/10.1302/0301-620X.94B4.27495>
  53. Sandro G, Buda R, Cavall M, Ruffilli A, Pagliuzzi G, Deianiria L, Neri S, Vannini F. Bipolar Fresh Total Osteochondral Allograft : Why, Where, When : AAOS Exhibit Selection. *Journal of Bone & Joint Surgery–American Volume:2014;96 (8):65.*   
[https://journals.lww.com/jbisjournal/Citation/2014/04160/Bipolar\\_Fresh\\_Total\\_Osteochondral\\_Allograft%20Why.17.aspx](https://journals.lww.com/jbisjournal/Citation/2014/04160/Bipolar_Fresh_Total_Osteochondral_Allograft%20Why.17.aspx)

54. Oka M, Chang Y-S, Nakamura T, Ushio K, Toguchida J, GU H-Q Synthetic osteochondral replacement of the femoral articular surface. *J Bone Joint Surg Br* 1997 79(6) :1003-7. <https://pdfs.semanticscholar.org/e91c/c2c12f2dd30da8b674ad58983b7437044226.pdf>
55. Hindle p, Hendry JL, Keating JF. Autologous osteochondral mosaicplasty or TruFit™ plugs for cartilage repair. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00167-013-2493-0>
56. Navés J. Autogreffe osteocartilagineuse rotule-condyle. 12<sup>e</sup> Congrès International de Chirurgie Orthopédique. Tel Aviv, 1980, 1972.
57. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isafsson O, Peterson L. Treatment of Deep Cartilage Defects in the Knee with Autologous Chondrocyte Transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331:889-895. [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199410063311401?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199410063311401?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov)
58. Naito K. Chondrogenic potential of a free autogenous periosteal graft for biological resurfacing over a half-thickness defect in a joint surface: an experimental study. *Nippon Seikeifeka Gakkai Zasshi.* 1995; 69(9):767-75. <http://europepmc.org/abstract/med/8530891>
59. Bruns J, Kersten P, Weiss A, Silbermann M, Lierse W. The in vitro influence of different culture conditions on the potential of sheep rib perichondrium to form hyaline-like cartilage. *Virchows Arch.* 1994; 424(2): 169-75. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00193497>
60. Gille J, Behrens P, Volpi P, de Girolamo L, Reiss E, Zoch W, Anders S. Outcome of autologous matrix induced chondrogenesis (AMIC) in cartilage knee surgery: data of the AMIC Registry. *Arch Orthop Trauma Surg* 2013; 133:87-93. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00402-012-1621-5>
61. Henderson IJ, Tuy B, Connell D, Oakes B, Hettwer WH. Prospective clinical study of autologous chondrocyte implantation and correlation with MRI at three and 12 months. *J Bone Joint Surg [Br]* 2003;85- B:1060-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14516048>
62. Oussedik S, Tsitskaris K, Parker D. Treatment of articular cartilage lesions of the knee by microfracture or autologous chondrocyte implantation: a systematic review. 2015; 31(4):732–744. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25660008>
63. Zelman A, "Tissue Engineering: A Fundamentally New Concept in Health Care", internal discussion memo, first draft, Sept. 22, 1987
64. Wolter JR, Meyer RF, "Sessile Macrophages Forming Clear Endothelium-like Membrane on Inside of Successful Keratoprosthesis", *Trans Am Ophthalmol Soc* 1984;82:187-202. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1298663/>
65. Skalak R, notes from Panel Meeting on Tissue Engineering , Oct. 28, 1987.
66. "A Proposal to the National Science Foundation for An Engineering Research Center at UCSD, CENTER FOR THE ENGINEERING OF LIVING TISSUES", UCSD #865023, courtesy of Y.C. Fung, August 23, 2001. <https://www.nsf.gov/pubs/2004/nsf0450/development.htm>
67. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of Deep Cartilage Defects in the Knee with Autologous Chondrocyte Transplantation. *N Engl J Med.* 1994;331(14):889–95. <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199410063311401>
68. Partap S, et al. *Scaffolds & Surfaces* T.C. Lee, P. Niederer (Eds.), Basic Engineering for Medics and Biologists, An ESEM Primer on Engineering for Medicine, 152, IOS Press, Nieuwe Hemweg (2010), p. 187
69. O'Brien FJ. *Biomaterials & scaffolds for tissue engineering* [Internet]. Vol. 14, Materials Today. Elsevier; 2011 p. 88–95. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136970211170058X>
70. Ikada Y. Challenges in tissue engineering. Vol. 3, *Journal of the Royal Society Interface.* 2006. p. 589–601. <http://www.royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsif.2006.0124>
71. Tallheden T, Bengtsson C, Brantsing C, Sjögren-Jansson E, Carlsson L, Peterson L, Brittberg M, Lindahl A. Proliferation and differentiation potential of chondrocytes from osteoarthritic patients. *Arthritis Res. Ther.* 2005;7(3):R560-8.

- [https://www.researchgate.net/publication/7842582\\_Proliferation\\_and\\_differentiation\\_potential\\_of\\_chondrocytes\\_from\\_osteoarthritic\\_patients](https://www.researchgate.net/publication/7842582_Proliferation_and_differentiation_potential_of_chondrocytes_from_osteoarthritic_patients)
72. Barbero A, Grogan S, Schäfer D, Heberer M, Mainil-Varlet P, Martin I. Age related changes in human articular chondrocyte yield, proliferation and post-expansion chondrogenic capacity. *Osteoarthritis Cartilage* 2004;12, 476–484. <https://core.ac.uk/download/pdf/81941002.pdf>
  73. Benya PD, Padilla SR, Nimni ME. (1978). Independent regulation of collagen types by chondrocytes during the loss of differentiated function in culture. *Cell* 15, 1313–1321. [https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674\(78\)90056-9.pdf?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F0092867478900569%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674(78)90056-9.pdf?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F0092867478900569%3Fshowall%3Dtrue)
  74. Almeida H V, Cunniffe GM, Vinardell T, Buckley CT, O’Brien FJ, and Kelly DJ. Coupling Freshly Isolated CD44+ Infrapatellar Fat Pad-Derived Stromal Cells with a TGF-β3 Eluting Cartilage ECM-Derived Scaffold as a Single-Stage Strategy for Promoting Chondrogenesis. *Adv. Healthc. Mater.* 2015; 4(7): 1043–1053. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25656563>
  75. Veiga A, Aran B, Rodríguez I, Raya A, Izpisua C. Banc de Línies Cel·lulars. Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona. <https://metode.cat/revistes-metode/monografics/cel·lules-mare-embrionaries-i-medicina-regenerativa.html>
  76. Winslow T, Kibiuk L. Stem cell information. National Institutes of health.2001. <https://stemcells.nih.gov/info/2001report/chapter4.htm#Slack>
  77. Luo L, He Y, Wang X, et al. Potential Roles of Dental Pulp Stem Cells in Neural Regeneration and Repair. *Stem Cells Int.* 2018;2018:1731289. Published 2018 May 7. doi:10.1155/2018/1731289
  78. Pizzute T, Lynch K, Pei M. Impact of tissue-specific stem cells on lineage-specific differentiation: a focus on the musculoskeletal system. *Stem Cell Rev.* 2015;11(1):119–132. doi:10.1007/s12015-014-9546-8
  79. Y. Jang, H. Jung, and J. H. Ju, “Chondrogenic differentiation induction of adipose-derived stem cells by centrifugal gravity,” *Journal of Visualized Experiments*, vol. 120, 2017. <https://www.jove.com/video/54934/chondrogenic-differentiation-induction-adipose-derived-stem-cells>
  80. Y. Nam, Y. A. Rim, S. M. Jung, and J. H. Ju, “Cord blood cell-derived iPSCs as a new candidate for chondrogenic differentiation and cartilage regeneration,” *Stem Cell Research & Therapy*, vol. 8, no. 1, p. 16, 2017. <https://link.springer.com/article/10.1186/s13287-017-0477-6>
  81. do Amaral RJFC, Almeida HV, Kelly DJ, O’Brien FJ, Kearney CJ. Infrapatellar Fat Pad Stem Cells: From Developmental Biology to Cell Therapy. *Stem Cells Int.* 2017;2017:6843727. doi:10.1155/2017/6843727
  82. Z. Li, X. Tian, Y. Yuan et al., “Effect of cell culture using chitosan membranes on stemness marker genes in mesenchymal stem cells,” *Molecular Medicine Reports*, vol. 7, no. 6, pp.1945–1949, 2013. <https://www.spandidos-publications.com/mmr/7/6/1945>
  83. Inui A, Iwakura T, Reddi A. Human Stem Cells and Articular Cartilage Regeneration. *Cells* [Internet]. 2012 5;1(4):994–1009. <http://www.mdpi.com/2073-4409/1/4/994/>
  84. Yu JY, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* (80- ) [Internet]. 2007;318(5858):1917–20. <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1151526>
  85. Mesallati T, Buckley CT, Kelly DJ. Engineering articular cartilage-like grafts by self-assembly of infrapatellar fat pad-derived stem cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2014; 111(8): 1686–1698. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25097913>
  86. Aasen T, Raya A, Barrero MJ, Garreta E , Consiglio A, Gonzalez F, Vassena R, Bilić J, Pekarik V, Tiscornia G, Edel M, Boué S, Izpisua Belmonte JC. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nat Biotechnol.* 2008;26(11):1276-84. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18931654>
  87. Okita K, Yamakawa T, Matsumura Y, Sato Y, Amano N, Watanabe A, Goshima N, Yamanaka S. An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem



- cells from cord blood and peripheral blood cells. *Stem Cells*. 2012;31 (3):458–466.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/stem.1293/full>
88. Djelloul M, Collin A, Goldwurm S, Meyer M, Lagarkova M, Kiselev S, Koistinaho J, Roybon L. Creation of a library of induced pluripotent stem cells from Parkinsonian patients. *Npj ParkinsonDisease* 2016; (2) 16009. <https://www.nature.com/articles/npjparkd20169>
  89. Revilla A, González C, Iriondo A, Fernández B, Prieto C, Marín C, Liste I. Current advances in the generation of human iPS cells: implications in cell-based regenerative medicine. *J Tissue Eng Regen Med*. 2016; 10(11):893–907. <http://doi.wiley.com/10.1002/term.2021>
  90. Wüst S, Müller R, Hofmann S. Controlled Positioning of Cells in Biomaterials-Approaches Towards 3D Tissue Printing. *J Funct Biomater*. 2011;2(3):119–154. <https://www.mdpi.com/2079-4983/2/3/119>
  91. Hubka KM, Dahlin RL, Meretoja VV, Kasper FK, Mikos AG. Enhancing chondrogenic phenotype for cartilage tissue engineering : monoculture and coculture of articular chondrocytes and mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014;20(6):641–654. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4241977/>
  92. Tsai MC, Hung KC, Hung SC, Hsu SH. Evaluation of biodegradable elastic scaffolds made of anionic polyurethane for cartilage tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015; 125: 34-44. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Evaluation+of+biodegradable+elastic+scaffolds+made+of+anionic+polyurethane+for+cartilage+tissue+engineering>.
  93. Drury JL, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications. *Biomaterials* 2004; 24(4): 4337–4351. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961203003405>
  94. Goldring MB, Tsuchimochi K, Ijiri K. The control of chondrogenesis. *J. Cell. Biochem*. 2005; 97(1):33–44. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcb.20652>
  95. Iwakura, T., Sakata, R., and Reddi, a H. (2013). Induction of chondrogenesis and expression of superficial zone protein in synovial explants with TGF-β1 and BMP-7. *Tissue Eng. Part A* 19, 2638–2644. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3856935/>
  96. Hull CW. Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography. US20150183168A1(Google Patents, 1986). <https://www.google.com/patents/us4575330>
  97. PolyJet Technology. Precision 3D printing in a wide range of materials. <http://www.stratasys.com/3d-printers/technologies/polyjet-technology>
  98. Ozbolat IT. The Bioink. In *3D Bioprinting. Fundamentals, Principles and Applications* 2017; pp. 41–92. ISBN 978-0-12-803010-3
  99. Mironov V , Reis N , Derby B. Review: bioprinting a beginning. *Tissue Eng*. 2006 ; 12(4) : 631-634. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16674278>
  100. Jammalamadaka U, Tappa K. Recent Advances in Biomaterials for 3D Printing and Tissue Engineering. *J Funct Biomater*. 2018;9(1):22. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5872108/>
  101. Chang CC, Boland ED, Williams SK, Hoying JB. Direct-write bioprinting three-dimensional biohybrid systems for future regenerative therapies. *J Biomed Mater Res. - Part B Appl Biomater*. 2011;98 B(1): 160–170. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3772543/>
  102. Blaeser A, Duarte Campos DF, Puster U, Richtering W, Stevens MM, Fischer H. Controlling Shear Stress in 3D Bioprinting is a Key Factor to Balance Printing Resolution and Stem Cell Integrity. *Adv Healthc Mater*. 2016;5(3): 326–333. <https://spiral.imperial.ac.uk:8443/bitstream/10044/1/58493/3/Blaeser-AdvHealthcMater-2015-accepted.pdf>
  103. Hockaday, L., Kang, K., Colangelo, N., Cheung, P., Duan, B., Malone, E., Wu, L., Girardi, N., Bonassar, L., Lipson, H, Chu CC, Butcher JT. Rapid 3D printing of anatomically accurate and mechanically heterogeneous aortic valve hydrogel scaffolds. *Biofabrication* 2012;4 (3):035005. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22914604>
  104. Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*. 2014; 32: 773-785.



- <http://www.nature.com/nbt/journal/v32/n8/full/nbt.2958.html?foxtrotcallback=true>
105. Holmes B, Zhu W, Li J, Lee JD, Zhang LG. Development of Novel Three-Dimensional Printed Scaffolds for Osteochondral Regeneration *Tissue Eng., Part A*. 2015;21:403. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4292864/>
  106. Skardal A, Atala A. Biomaterials for integration with 3-D bioprinting. *Ann Biomed Eng*. 2015 Mar;43(3):730-46. doi: 10.1007/s10439-014-1207-1. Epub 2014 Dec 5. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10439-014-1207-1>
  107. Gasperini L, Maniglio D, Motta A, Migliaresi C. An Electrohydrodynamic Bioprinter for Alginate Hydrogels Containing Living Cells. *Tissue Eng., Part C*. 2015; 21 : 123. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2014.0149>
  108. Khalil J, Nam, Sun W. "Multi-nozzle deposition for construction of 3D biopolymer tissue scaffolds", *Rapid Prototyping Journal*, 2005;11(1): 9-17 <https://doi.org/10.1108/13552540510573347>
  109. Landers R, Hubner U, Schmelzeisen R, Mulhaupt R. Rapid prototyping of scaffolds derived from thermoreversible hydrogels and tailored for applications in tissue engineering. *Biomaterials*. 2002; 23 : 4437 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961202001394>
  110. Derakhshanfar, S., Mbeleck, R., Xu, K., Zhang, X., Zhong, W., & Xing, M. (2018). 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioactive materials*, 3(2), 144–156. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5935777/>
  111. Skoog SA, Goering PL, Narayan RJ. Stereolithography in tissue engineering. *Journal Mater. Sci. Mater. Med*. 2014; 25 : 845. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-013-5107-y>
  112. Kang H-W, Lee SJ, Ko IK, Kengla C, Yoo JJ, Atala A. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2016;(12);34(3):312–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26878319>
  113. Cui, H., Nowicki, M., Fisher, J. P., & Zhang, L. G. (2017). 3D Bioprinting for Organ Regeneration. *Advanced healthcare materials*, 6(1), 10.1002/adhm.201601118. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5313259/>
  114. Pham D, Dimov SS. *Rapid Manufacturing: The Technologies and Applications of Rapid Prototyping and Rapid Tooling*. London : Springer , 2001 . ISBN 978-1-4471-0703-3
  115. Hourd P, Medcalf N, Segal J, Williams D. A 3D bioprinting exemplar of the consequences of the regulatory requirements on customized processes. *Regenerative Medicine* 10;7 Special report 2015. <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/rme.15.52>
  115. Di Iorio E, Ferrari S, Fasolo A, Böhm E, Ponzin D, Barbaro V: Techniques for culture and assessment of limbal stem cell grafts. *Ocul Surf* 2010; 8: 146–153. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1542012412702252>
  116. McMahon AD, Conway DI, Macdonald TM, McInnes GT: The unintended consequences of clinical trials regulations. *PLoS Med* 2009; 3:e1000131. <http://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1000131>
  117. Thirumala S, Goebel W, Woods EJ: Manufacturing and banking of mesenchymal stem cells. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2013; 13 (5): 673–691. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/14712598.2013.763925>
  118. Philippi, J.A.; Miller, E.; Weiss, L.; Huard, J.; Waggoner, A.; Campbell, P. Microenvironments engineered by inkjet bioprinting spatially direct adult stem cells toward muscle- and bone-like subpopulations. *Stem Cells* 2009;26(1): 127–134. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1634/stemcells.2007-0520/full>
  119. Polchow B, Kebbel K, Schmiedeknecht G, Reichardt A, Henrich W, Hetzer R, Lueders C: Cryopreservation of human vascular umbilical cord cells under good manufacturing practice conditions for future cell banks. *J Transl Med* 2012; 10:98. <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-10-98>

120. McMahon AD, Conway DI, Macdonald TM, McInnes GT: The unintended consequences of clinical trials regulations. *PLoS Med* 2009; 3:e1000131. <http://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1000131>
121. Thirumala S, Goebel W, Woods EJ: Manufacturing and banking of mesenchymal stem cells. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2013; 13 (5): 673–691. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/14712598.2013.763925>
122. Philippi, J.A.; Miller, E.; Weiss, L.; Huard, J.; Waggoner, A.; Campbell, P. Microenvironments engineered by inkjet bioprinting spatially direct adult stem cells toward muscle- and bone-like subpopulations. *Stem Cells* 2009;26(1): 127–134. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1634/stemcells.2007-0520/full>
123. Polchow B, Kebbel K, Schmiedeknecht G, Reichardt A, Henrich W, Hetzer R, Lueders C: Cryopreservation of human vascular umbilical cord cells under good manufacturing practice conditions for future cell banks. *J Transl Med* 2012; 10:98. <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-10-98>
124. Ilic N, Savic S, Siegel E, Atkinson K, Tasic L: Examination of the regulatory frameworks applicable to biologic drugs (including stem cells and their progeny) in Europe, the U.S., and Australia: part I a method of manual documentary analysis. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1(12): 898– 908. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23283551>
125. Human Tissue Act 2004. Chapter 30. Regulation of stem cell research in the United Kingdom. [http://www.legislation.gov.uk/ukpga/2004/30/pdfs/ukpga\\_20040030\\_en.pdf](http://www.legislation.gov.uk/ukpga/2004/30/pdfs/ukpga_20040030_en.pdf)
126. Ridgway AA. The regulation of cell therapy products in Canada. *Biologicals*. 2015;43(5):406-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2015.05.013>
127. Biologics and Genetic Therapies Directorate. Government of Canada. 2019/01/04. <https://www.canada.ca/en/health-canada/corporate/about-health-canada/branches-agencies/health-products-food-branch/biologics-genetic-therapies-directorate.html>
128. Innovative drug, medical equipment, regenerative medicine product practicalization promotion business. Project on promotion of practical use of innovative products [in Japanese]. [http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/iyakuhin/kakushin/](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/iyakuhin/kakushin/)
129. Brooks M. FDA Clears Novel Scaffold for Knee Cartilage Repair. 2016.
130. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and the council of 6 November 2001 on the community code relating to medicinal products for human use. *Official Journal L-311,28/11/2004* : 67-128. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/directive-2001/83/ec-european-parliament-council-6-november-2001-community-code-relating-medicinal-products-human-use\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/directive-2001/83/ec-european-parliament-council-6-november-2001-community-code-relating-medicinal-products-human-use_en.pdf)
131. Lucas-Samuel S, Ferry N, Trouvin JH. Overview of the Regulatory Oversight Implemented by the French Regulatory Authorities for the Clinical Investigation of Gene Therapy and Cell Therapy Products *Adv Exp Med Biol*. 2015;871:73-85. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26374213>
132. Galli M C, Sebastian M. (Ed.) *Regulatory Aspects of Gene Therapy and Cell Therapy Products: A Global Perspective*. Book 2015. ISBN 978-3-319-18618-4
133. Marti A. Requirements for Clinical Trials with Gene Therapy and Transplant Products in Switzerland. *Adv Exp Med Biol*. 2015;871:131-45. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26374216>
134. *Organs, Tissues and Cells. Safety, Quality and Ethical Matters Concerning Procurement, Storage and Transplantation*. Council of Europe Convention, Resolutions, Recommendations and Reports 2nd Edition. Council of Europe, 2012. <https://dondorganes-centre.fr/wp-content/uploads/Organs-Tissues-and-Cells.pdf>
135. Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the council. 13 /11/2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32007R1394&rid=1>
136. European Treaty Series - No. 186. 2002. Additional Protocol to the Convention on Human

- Rights and Biomedicine concerning Transplantation of Organs and Tissues of Human Origin.  
<https://rm.coe.int/1680081562>
137. Ley 1/2011, de 1 de junio, de la Ciencia, la Tecnología y la Innovación. BOE 131 Ref. BOE-A-2011-9617. <https://www.boe.es/buscar/pdf/2011/BOE-A-2011-9617-consolidado.pdf>
  138. Ley 14/2007 de 13 de julio de Investigación Biomédica. BOE BOE-A-2007-12945 04/07/2007. <https://www.boe.es/eli/es/l/2007/07/03/14/con>
  139. Miranda B, Rodríguez C, Vilarrodona A, Trías E. Donación de órganos, tejidos y células de personas fallecidas: mas allá de la finalidad terapéutica. *Medicina Clínica*, 2012;138(8):338–342. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025775311000996>
  140. Casaroli-Marano RP, Tabera J, Vilarrodona A, Trias E. Regulatory issues in cell-based therapy for clinical purposes. *Dev Ophthalmol* 2014;53:189–200. <http://www.karger.com?doi=10.1159/000357766>
  141. Guide to safety and quality assurance for organs, tissues and cells. Strasbourg, Council of Europe Publishing. 2nd edition. 2004. ISBN 92-871-5518-6. [http://www.coe.int/t/dg3/health/Source/GuideSecurity2\\_en.pdf](http://www.coe.int/t/dg3/health/Source/GuideSecurity2_en.pdf)
  142. Guidance for Industry: Regulation of human cells, tissues, and cellular and tissue-based products (HCT/Ps) – small entity compliance guide. The Food and Drug Administration. 2007. <https://www.fda.gov/media/70689/download>
  143. Guideline on human cell-based medicinal products. Committee for Medicinal Product for Human Use. European Medicines Agency. 2008. London 21/05/2008 Doc. Ref. EMEA/CHMP/410869/2006. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC50003894.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC50003894.pdf)
  144. Thirumala S, Goebel W, Woods EJ. Manufacturing and banking of mesenchymal stem cells. *Expert Opin Biol Ther* 2013; 13: 673–691. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14712598.2013.763925>
  145. Thirumala S, Goebel WS, Woods EJ. Clinical grade adult stem cell banking. *organogenesis* 2009; 5: 143–154. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/org.5.3.9811>
  146. Li P, Faulkner, A, 3D bioprinting regulations: a UK/EU perspective. *European Journal of Risk Regulation*. 2017; 8(2): 441-447. [http://sro.sussex.ac.uk/id/eprint/67156/1/Bioprinting\\_EJRR\\_submission\\_Final.pdf](http://sro.sussex.ac.uk/id/eprint/67156/1/Bioprinting_EJRR_submission_Final.pdf)
  147. Pink J. Risks of Additive Manufacturing: a Product Safety Perspective. *European Medical Device Technology*. 2015. <https://www.mddionline.com/risks-additive-manufacturing-product-safety-perspective>
  148. Callahan D. *Encyclopedia of Bioethics*, 3rd edition, 2004;1: 278–287. Macmillan, New York. <http://course.sdu.edu.cn/G2S/eWebEditor/uploadfile/20120826203920004.pdf>.
  149. De Vries R, Turner L, Orfali K, Bosk C. The view from here: Bioethics and the social science. *Sociology of Health & Illness*. 2006;28:665–667. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1467-9566.2006.00535.x>
  150. Baker HB, McQuilling JP, King NM. Ethical considerations in tissue engineering research: Case studies in translation. *Methods*. 2016 Apr ; 99 :135-44. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4869966/>
  151. López-Ruiz E, Perán M, Cobo-Molinos J, Jiménez G, Picón M, Bustamante M, et al. Chondrocytes extract from patients with osteoarthritis induces chondrogenesis in infrapatellar fat pad-derived stem cells. *Osteoarthr Cartil*. 2013;21(1):246–58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23085560>



---

## *Annexes*

---





UNIVERSITAT DE VIC UNIVERSITAT CENTRAL  
DE CATALUNYA

## DICTAMEN DEL COMITÈ D' ÈTICA DE RECERCA UNIVERSITAT DE VIC - UNIVERSITAT CENTRAL DE CATALUNYA

El Comitè d'ètica de recerca de la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya, en la seva reunió del dia 9 de juny de 2017, després de l'avaluació realitzada de la proposta amb expedient 28/2017, titulada "Cartílag bioimprès: Estudi i abordatge del mare clínic, ètic i legislatiu per utilitzar-lo en l'àmbit quirúrgic", d'Àngels Salvador Vergés i tenint en compte la documentació presentada i els aspectes que es detallen a continuació:

	Adequat	Dubtós	Incorrecte	No s'escau
Justificació de l' estudi	X			
Definició de l'objecte de l'estudi	X			
Implicacions ètiques en disseny, metodologia i finalment	X			
Competència de l' investigador i del grup	X			
Explicitació de les implicacions ètiques del projecte	X			
Disseny metodològic	X			
Finançament				X

135

I quan escaigui :

	Adequat	Dubtós	Incorrecte	No s'escau
Obtenció del consentiment informat i altres informes necessaris	X			
Informació sobre l'adequació de les instal·lacions i instruments requerits	X			
Compromís de confidencialitat	X			

Es resol emetre el següent dictamen com a:<sup>1</sup>

Favorable<sup>2</sup> X  
Favorable condicionat  
Desfavorable

<sup>1</sup> Qualsevol modificació o incidència que afecti al desenvolupament del projecte (finalitat, persones de l'equip, etc.), s' haurà de notificar al CER UVic-UCC per tal de tornar a valorar el projecte .

*Tot s els membres del CER UVic-UCC es comprometen a garantir la confidencialitat de la informació a la que tenen accés en el desenvolupament de les seves funcions. Es garanteix així el tractament adequat de la documentació rebuda per a la avaluació de protocols i de la identitat de /s subjectes que participen en /es propostes que s' avaluïn.*

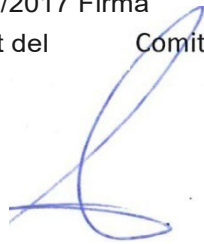
Observacions:

El projecte es correcte tant des del punt de vista ètic com metodològic. Tanmateix es recomana:

- Especificar com es reclutarà la mostra, i quins seran els criteris d'inclusió i exclusió.
- Explicar en el full d'informació de consentiment informat com es realitzarà la gravació d'imatges dels grups focals, i informar que les dades es guardaran seguint els requeriments de la llei de protecció de dades, i que seran custodiades per la UVic-UCC, per tal de garantir la seva seguretat.
- Clarificar en el full d'informació de consentiment informat si les dades de la recerca seran codificades o anonimitzades.
- Simplificar el redactat del full d'informació del consentiment informat per fer-lo més comprensible.

Data: 12/06/2017 Firma

El president del Comitè:



**U** UNIVERSITAT DE VIC  
UNIVERSITAT CENTRAL DE  
CATALUNYA  
Vicerectorat de Recerca i Professorat

136

---

<sup>2</sup> Un dictamen favorable comporta per l'investigador principal les següents obligacions:

- a) Presentar, si escau, el projecte a convocatòries externes (competitives o no) amb els mateixos elements essencials que han estat avaluats favorablement pel CER.
- b) Desenvolupar, si escau, el projecte amb els mateixos elements essencials que han estat avaluats favorablement pel CER.
- c) Presentar una memòria justificativa de compleció del projecte a la seva finalització, incloent un resum de màxim 5000 caràcters i tots els documents que es consideri necessari fer arribar al CER. Aquest material es conservarà als arxius de la UVIC-UCC per a futures revisions.

*Tots els membres del CER UVIC-UCC es comprometen a garantir la confidencialitat de la informació a la que tenen accés en el desenvolupament de /es seves funcions. Es garanteix així el tractament adequat de la documentació rebuda per a la valuació de protocols i de la identitat dels subjectes que participen en /es propostes que s'avaluin*



## Informació pels participants



La investigadora Dra. Àngels Salvador Vergés dirigida pel Dr. Francesc Garcia Cuyàs, D. Luis Fernández Luque i D. Raimon Milà Villarroel, estem duent a terme el projecte d'investigació: **Cartílag bioimprès: Estudi i abordatge del marc clínic, ètic i legislatiu per utilitzar-lo en l'àmbit quirúrgic.**

El projecte té com a finalitat conèixer l'estat de la bioimpressió del cartílag i identificar aquells factors que ens permetin definir quins seran els requeriments dels diferents usuaris, pel seu ús clínic. Assenyalant criteris i estudiant amb exhaustivitat totes les qüestions de seguretat, posar sobre la taula quins seran els factors que podrien tenir un major impacte en el seu ús, a la pràctica clínica diària en els serveis de COT segons les apreciacions obtingudes de tots els agents implicats en les observacions.

La metodologia a emprar serà la investigació qualitativa que és el desenvolupament de conceptes que ens ajudin a comprendre els fenòmens socials, prestant la deguda atenció als significats i significants, experiències i opinions de tots els participants. S'utilitzaran les enquestes en profunditat, els focus grup (reunions d'experts per debatre els temes d'interès per la recerca) i les enquestes on-line.

En aquest context li demanem col·laboració per conèixer la seva opinió i quins són els pros i contres que hi posaria pel seu ús clínic; ja que vostè compleix els criteris d'inclusió: persona del món sanitari, de l'empresa de bioimpressió o especialistes en lleis sanitàries o en bioètica.

Aquesta col·laboració implica participar en una, o en les dues fases d'aquesta investigació, la primera entrevistes en profunditat i la segona en forma de focus grup. I depenent de quina sigui la fase, les seves respostes seran enregistrades en un arxiu de veu o gravades en vídeo. Les enquestes on-line no estaran vinculades a cap nom ni correu electrònic.

Les dades que s'obtinguin de la seva participació, seguiran tots els requeriments de la llei de protecció de dades, i no s'utilitzaran amb un altre fi diferent de l'explicitat en aquesta investigació. Aquestes dades quedaran protegides mitjançant la creació de dos fitxers desvinculats amb substitució dels noms per codis aleatoris, i únicament podran tenir-hi accés les persones que faran el tractament de les dades, i es conservaran únicament durant el temps que sigui imprescindible.

Tots els participants tindran assignat un codi que no permetrà vincular directament al participant amb les respostes donades, com a garantia de confidencialitat. Les dades seran custodiades per la Universitat en una base de dades amb accés restringit només als investigadors del projecte.

Ens posem a la seva disposició per resoldre qualsevol dubte que la mateixa hagi suscitat. [angels.salvador@uvic.cat](mailto:angels.salvador@uvic.cat)

## Consentiment informat

Jo, ....., major d'edat, amb DNI .....,  
actuant en nom i interès propi

### **DECLARO QUE:**

*He rebut informació sobre el projecte: **Cartílag bioimprès: Estudi i abordatge del marc clínic, ètic i legislatiu per utilitzar-lo en l'àmbit quirúrgic**, del que se m'ha lliurat el full informatiu annex a aquest consentiment i pel qual es sol·licita la meva participació. He entès el seu significat, se m'han aclarit els dubtes i m'han estat exposades les accions que es deriven del mateix. Se m'ha informat de tots els aspectes relacionats amb la confidencialitat i protecció de les dades dels participants en el projecte.*

*La meva col·laboració en el projecte és totalment voluntària i tinc dret a retirar-me del mateix en qualsevol moment, revocant el present consentiment, sense que aquesta retirada pugui influir negativament en la meva persona en cap cas. En cas de retirada, tinc dret a què les meves dades identificatives siguin cancel·lades del fitxer de l'estudi.*

*Per tot això,*

**DONO EL MEU CONSENTIMENT A:**

138

- 1. Participar en el projecte: **Cartílag bioimprès: Estudi i abordatge del marc clínic, ètic i legislatiu per utilitzar-lo en l'àmbit quirúrgic****
- 2. Que la Dra. Àngels Salvador Vergés com la investigadora, pugui tractar les meves dades en els termes i abast necessari per a la recerca, seguin tots els requeriments de la llei de protecció de dades, i que en cap cas es difondran de manera que es puguin vincular a les meves dades identificatives i que únicament es conservaran durant el temps que sigui necessari per complir les funcions del projecte.*

*Barcelona, a ..... de de 2017*

[SIGNATURA PARTICIPANT]

[SIGNATURA IP]



# Cartílag bioimprès : Factors clau percebuts pels clínics per utilitzar-lo en l'àmbit quirúrgic.

Aquest qüestionari anònim té com a objectiu analitzar la seva opinió sobre aquesta nova possibilitat tecnològica, i està dissenyat com a part important de la recerca inclosa a la meua tesi doctoral.

Actualment, les lesions del cartílag articular no estan ben resoltes en cirurgia, i és per això que ens proposem explorar una nova possibilitat pel seu tractament.

El cartílag bioimprès és teixit cartilaginós imprès a partir de cèl·lules cartilaginoses amb la distribució de totes les capes, i les mateixes característiques que el teixit natiu, obtingut amb les mides exactes de la lesió mitjançant les mesures obtingudes per TAC.

Requereix 5' contestar-lo.

Àngels Salvador Vergés. Traumatòleg. Doctorand en UVIC-UCC. [angels.salvador@uvic.cat](mailto:angels.salvador@uvic.cat)

Més informació sobre el tema:

<http://sahlgrenska.gu.se/english/research/news-events/news-article/success-in-the-3d-bioprinting-of-cartilage.cid1438435>

<http://online.liebertpub.com/doi/pdfplus/10.1089/ten.TEB.2016.0316>

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095>

## 1. Sexe

- Dona
- Home

## 2. Edat

- menys de 35
- entre 35 i 60
- més de 60

## 3. Anys d'exercici

- de 5-15
- de 15-30
- més de 30

## 4. Realitza activitat quirúrgica

- Sí
- No

## 5. Lloc d'exercici

- Hospital 3r nivell
- Hospital 2n nivell
- Hospital 1r nivell

## 6. Li sembla que està suficientment actualitzat en les noves tecnologies que estan sorgint en medicina?

*On 1 és gens i 10 suficientment*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

7. Ha rebut informació per qualsevol mitjà dels nous avenços sobre la impressió 3D?

*On 1 és cap i 10 molta*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

8. Quin nivell de coneixement té de la impressió 3D?

*On 1 és cap coneixement i 10 bon coneixement*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

9. Alguna companyia farmacèutica o empresa d'aparells mèdics li ha presentat aquesta tecnologia?

- Sí
- No

10. Si ha rebut alguna informació sobre la impressió 3D referint-se al cartílag bioimprès, com li ha arribat?

*Marcar solament una resposta*

- Llegeixo habitualment el que publiquen els investigadors
- Segueixo poc les publicacions científiques
- Per altres companys
- No tinc informació al respecte
- No m'interessa

140

11. Es vostè optimista en matèria de recerca, innovació i implementació de noves tecnologies?

*On 1 és gens optimista i 10 és molt optimista*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

12. Actualment es fan servir moltes altres tècniques (entre elles, ACI i MACI) per la reparació del cartílag utilitzant cèl·lules cartilaginoses, extretes prèviament del mateix pacient. Si existís una altra font de cèl·lules sense haver de fer la cirurgia prèvia d'extracció, les tindria en compte?

*On 1 és gens probable i 10 molt probablement*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

13. Quines expectatives clíniques té sobre un nou mètode per obtenir cartílag imprès amb tecnologia 3D (bioimpressores) per utilitzar en lesions de cartílag?

*On 1 és cap i 10 és moltes*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

14. La sang de cordó, les cèl·lules adiposes o les cèl·lules pluripotencials induïdes (iPSC) provinents de teràpia cel·lular poden ser font de condrocits. Creu que podrien ser opcions adequades per a usar en les lesions condral?

*On 1 és gens adequat i 10 molt adequat*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

15. Li veu aplicabilitat clínica al cartílag bioimprès en un futur?

*On 1 és cap i 10 és molta*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

16. Davant aquesta nova possibilitat terapèutica, quin grau li atorgaria a la preservació de la seguretat del pacient com principal requisit?

*On 1 és baix i 10 és molt alt*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

17. Si l'implant tingués una durada limitada, quin temps consideraria vostè com mínim per recomanar-ho als seus pacients?

*Escriui amb la números durada mínima d'anys*

18. En quin grau pensa que la mida de la lesió del cartílag és una limitació?

*On 1 és cap i 10 és totalment limitant*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

19. Pensa que l'edat del pacient podria ser una limitació per a la implantació de cartílag bioimprès?

*Resposta múltiple*

- No li veig cap limitació per edat
- No li posaria a menors de 20 anys
- No li posaria a majors de 70 anys

20. En quin grau pensa que el problema d'alleujar el dolor al pacient ha de ser una de les característiques del nou implant?

*On 1 és poc important i 10 és molt important*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

21. Quines serien les variables més significatives, que li demanaria a aquesta peça de cartílag bioimprès per decidir-se a utilitzar-la amb els seus pacients?

*Escollir 3 ítems. Marcar per ordre de preferència*

- Durabilitat
- Seguretat
- Resultats clínics
- Cost assequible
- Equitat
- Evidència contrastada
- Facilitat d'implantació

22. En quin grau creu que aquesta tecnologia podria tenir efectes beneficiosos i/o un impacte positiu en la qualitat de vida dels pacients?

*On 1 és poc impacte i 10 és molt impacte*

1      2      3      4      5      6      7      8      9      10

23. Quins problemes/dificultats percep vostè pel seu ús?

- Que sigui difícil de manipular
- Relacionats amb l'autorització de l'hospital
- Dificultats quirúrgiques
- El temps d'espera de l'implant per part del subministrador
- Inseguretat en els resultats
- Totes
- Cap

24. En quin grau està d'acord amb aquesta afirmació? Per poder implementar en la clínica diària el cartílag bioimprès seria imprescindible comptar amb una evidència clara en els resultats d'assajos clínics.

*On 1 és gens d'acord i 10 és molt d'acord*

1      2      3      4      5      6      7      8      9      10

25. Li estic molt agraïda, per haver completat aquest qüestionari. Si vol afegir algun comentari sobre el qüestionari o sobre el tema de la bioimpressió de cartílag, pot escriure-ho a continuació.

26. Li agradaria compartir informació sobre aquesta nova possibilitat?

*Si la resposta és sí, pot enviar-me un correu electrònic a: [angels.salvador@uvic.cat](mailto:angels.salvador@uvic.cat)*

- Sí
- No