

мр Јелена Миловановић, дипл.инж.маш.

**ПРИМЕНА АДИТИВНИХ ТЕХНОЛОГИЈА У ИЗРАДИ
АНАТОМСКИ ПРИЛАГОЂЕНИХ СКАФОЛДА ЗА
РЕКОНСТРУКЦИЈУ КОШТАНОГ ТКИВА**

Докторска дисертација

Ментор:

др Мирослав Трајановић, ред. проф.

Машински факултет Ниш

Катедра за производно-информационе технологије и менаџмент

УНИВЕРЗИТЕТ У НИШУ



МАШИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Ниш, новембар 2013.

Jelena Milovanovic, M.Sc., Dipl.-Ing.

**Application of Additive Technologies in Fabrication of
Anatomical Custom Made Scaffolds for Bone Tissue
Reconstruction**

Doctoral dissertation

Mentor:

Prof. Dr. Miroslav Trajanovic
Faculty of Mechanical Engineering
Department for Production Engineering and Management

UNIVERSITY OF NIŠ



FACULTY OF MECHANICAL
ENGINEERING

Niš, November 2013.

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
IDENTIFICATION PAGE OF DOCTORAL DISSERTATION

Име и презиме аутора / Author's first name and family name	Јелена Миловановић Jelena Milovanović
Наслов / Title	Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног тквива Application of Additive Technologies in Fabrication of Anatomical Custom Made (Shaped) Scaffolds for Bone Tissue Reconstruction
Број страница / Number of pages	274
Број слика / Number of figures	133
Број табела / Number of tables	42
Број библиографских јединица / Number of bibliographic units	286
Установа и место где је рад израђен / Institution and place where the dissertation is completed	Машински факултет Универзитета у Нишу Faculty of Mechanical Engineering - University of Niš
Научна област (УДК)/UDC	621.9
Ментор / Mentor	др Мирослав Трајановић, ред. проф. dr Miroslav Trajanović, professor
Чланови Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације / Dissertation Committee Members	др Милорад Митковић, ред. проф. dr Milorad Mitković, professor др Стево Најман, ред. проф. dr Stevo Najman, professor др Ненад Грујовић, ред. проф. dr Nenad Grujović, professor др Миодраг Манић, ред. проф. dr Miodrag Manić, professor

Захвалност аутора

Текст који је пред вама представља синтезу вишегодишњих теоријских и експерименталних истраживања из области адитивних технологија и њихове примене у биомедицинском инжењерингу. Ова дисертација представља један од резултата пројекта (ид. бр. III 41017) и зато се овим путем захваљујем Министарству науке и технолошког развоја Владе Републике Србије које је финансирало реализацију овог пројекта.

Овом приликом желим посебно да се захвалим свом ментору проф. др Мирославу Трајановићу на указаном поверењу, усмеравању, безрезервној подршци и сугестијама током свих ових година истраживачког рада.

Такође велику захвалност дугујем проф. др Миодрагу Манићу на драгоценим саветима, корисним сугестијама као и на учешћу у оцени ове дисертације.

Велика ми је част имати проф. др Милорада Митковића у Комисији за оцену и одбрану докторске дисертације и овим путем му се најсрдачније захваљујем на указаном поверењу, на корисним саветима и консултацијама из области ортопедије и учешћу у оцени ове дисертације.

Велику захвалност дугујем и проф. др Стеви Најману без чијег залагања, помоћи, консултација из области биолошких наука као и руковођења експериментом не би било ни реализације пилот експеримента а самим тим ни испитивања биолошких својстава скафолда.

Захваљујем се овом приликом и проф. др Ненаду Грујовићу на учешћу у оцени ове дисертације.

Користим прилику да се захвалим и проф. др Стојанки Арсић на свесрдној помоћи и консултацијама из области анатомије.

Најискреније се захваљујем др Милошу Стојковићу на конструктивним консултацијама и драгоценом помоћи током реализације овог истраживања.

Такође се захваљујем и колегама др Николи Корунковићу, Николи Витковићу и Милану Трифуновићу на помоћу у изради ове дисертације.

Обзиром да у нашој земљи не постоје RP машине на којима је могуће било изградити узорке скафолда и да израда истих захтева велика финансијска улагања желим посебно да се захвалим људима из компанија које производе ове RP машине, који су показали интересовање за сарадњу у овој области и без чије добре воље, помоћи, савета и разумевања не би ни дошло до реализације експерименталног дела овог рада. То су првенствено Mr Patrik Ohldin из компаније Arcam, Mr Peter Rosker, Mr Michael Jan Galba, Mrs Terese Reischle и г-дин Зоран Маренић из EOS GmbH - Electro Optical Systems и Dipl. Chem. Carlos Carvalho из EnvisioTEC GmbH.

Желим такође да се захвалим проф. др Драгану Ускоковићу из Института техничких наука САНУ на сарадњи и помоћи у обезбеђивању биоразградивог материјала, без кога не би била могућа израда и тестирање биоразградивих скафолда.

Захваљујем се и целокупном особљу виваријума Медицинског факултета у Нишу и сарадницима пројекта са биологије и ортопедије на учествовању у реализацији и обради резултата пилот експеримента.

Посебну захвалност дугујем родитељима и породици на разумевању, стрпљењу и подршци коју су ми пружали свих ових година.

Ова дисертација представља део пројекта под називом: „Виртуални модел коштано зглобног система и његова примена у претклиничкој и клиничкој пракси.“ (ид.бр. III 41017) чију је реализацију финансирало Министарство науке и технолошког развоја Владе Републике Србије у оквиру програма Интегралних интердисциплинарних истраживања. Предмет и садржај истраживања једног дела овог пројекта се налази у самој основи ове дисертације. Уједно, ова дисертација је предвиђена да буде један од формалних резултата пројекта.

САДРЖАЈ

СТРУКТУРА РАДА	14
1 УВОД	16
2 ОПШТЕ ОСОБИНЕ КОШТАНОГ (КОСТНОГ) СИСТЕМА	18
2.1 Општа остеологија.....	18
2.1.1 Облик костију.....	19
2.1.2 Хрскавица и кост.....	21
2.1.3 Хрскавичаво ткиво.....	21
2.1.4 Коштано ткиво.....	22
2.1.5 Структура кости.....	27
2.2 Осификација костију.....	31
2.2.1 Интрамембранско окоштавање.....	31
2.2.2 Ендохондрално окоштавање.....	32
2.3 Ремоделирање кости.....	35
3 ПРЕГЛЕД САВРЕМЕНИХ ИСТРАЖИВАЊА У ОБЛАСТИ	38
3.1 Основни принципи инжењеринга ткива и појам скафолда.....	38
3.1.1 Дизајн (архитектура) скафолда.....	40
3.1.2 Захтеви везани за дизајн (архитектуру) скафолда.....	40
3.1.3 Преглед концепата дизајна (архитектуре) скафолда.....	43
3.2 Биоматеријали за израду скафолда.....	59
3.2.1 Материјали који се користе за израду металних скафолда и њихова ограничења.....	61
3.2.2 Биокомпатибилност комерцијално доступних металних скафолда.....	67
3.2.3 Синтетички и природни биоматеријали који се користе у инжењерингу ткива.....	86
3.3 Технологије израде скафолда.....	107
3.3.1 Најчешће коришћене конвенционалне технологије за израду скафолда.....	108
3.3.2 Адитивне технологије и значај могућности контроле архитектуре порозних имплантата.....	118
4 (ANTI-LABYRINTH) - ANATOMICALLY SHAPED LATTICED SCAFFOLD-АНАТОМСКИ ПРИЛАГОЂЕНИ СКАФОЛДИ ((AL)-ASLS)	152
4.1 Дизајн концепт <i>анатомски прилагођеног скафолда (ASLS)</i>	153
4.1.1 Пример: Варијантна решења дизајна ASLS за потколенице кунића.....	161
4.1.2 Апликација.....	166
4.1.3 Имплантација.....	167

4.1.4 Материјал ASLS.....	167
4.2 Анализа напонско-деформационог стања у ASLS применом метода коначних елемената(МКЕ).....	168
5 ПОТЕНЦИЈАЛНЕ ТЕХНОЛОГИЈЕ ЗА ИЗРАДУ ASLS	174
5.1 Опис и карактеристике изабраних АТ.....	174
5.1.1 3D биоплотер	174
5.1.2 DMLS.....	179
5.1.3 ЕВМ технологија	182
5.2 Израда експерименталних узорака ASLS изабраним технологијама.....	187
5.2.1 Израда експерименталних узорака ASLS на 3D биоплотеру.....	187
5.2.2 Израда експерименталних узорака ASLS DMLS технологијом.....	194
5.2.3 Израда експерименталних узорака ASLS ЕВМ технологијом	197
5.3 Оцена технолоичности Конструкције ASLS и упоредна анализа применљивости изабраних АТ у изради ASLS	198
5.3.1 3D биоплотер	199
5.3.2 DMLS.....	199
5.3.3 ЕВМ.....	200
5.3.4 Технолоичност ASLS и применљивост коришћених АТ	200
5.3.5 Препоруке за развој адекватне АТ за израду ASLS	215
6 ЗАКЉУЧАК.....	217
7 ЛИТЕРАТУРА	222
8 ПРИЛОГ	248
8.1 Циљеви експеримента.....	248
8.2 Материјал и методе за поставку експеримента	249
8.2.1 Извођење експеримента	252
8.2.2 Хистолошка анализа имплантата и околног ткива кости	258
9 СПИСАК СЛИКА.....	265
10 СПИСАК ТАБЕЛА.....	270
ПРЕГЛЕД СКРАЋЕНИЦА.....	272

РЕЗИМЕ

Инжењеринг коштаног ткива скоро по правилу подразумева употребу тзв. скафолда од којих се очекује да остваре улогу вештачког (високо-порозног) екстрацелуларног матрикса, односно да омогући несметан раст ћелија и ефикасан опоравак ткива оштећеног услед повреде или болести. У погледу конструкције, скафолди најчешће представљају решеткасте, потпорне структуре од вештачких и биокомпатибилних материјала које, пре свега, пружају неопходну механичку подршку насељавању ћелија у процесу реконструкције ткива. Друга, исто толико важна, функција коју скафолди треба да остварују је омогућавање неометане реинервације и реваскуларизације новонасталог ткива као и њихове комуникације (повезивање, срастање) са околним сродним ткивом. Имајући у виду велику важност скафолда у процесу реконструкције (хуманог коштаног) ткива, истраживање посвећено развоју оптималних варијанти дизајна скафолда као и технологија њихове израде представљају круцијална питања којима се посвећује велика пажња у области инжењеринга ткива (ТЕ).

Иако је до сада развијен већи број концепата дизајна скафолда намењених реконструкцији коштаног ткива, постоји још много изазова које треба превазићи у циљу оптимизације њиховог дизајна. То подразумева задовољење различитих захтева који често могу бити и опречни. Потребно је истовремено остварити велику пропустљивост конструкције и биоадхезивност елемената структуре скафолда. Такође, потребно је да скафолд буде биоразградив, а да уједно пружа могућност прилагођавања механичких карактеристика конструкције конкретним случајевима оптерећења. Коначно, очекује се да скафолди буду геометријски конзистентни анатомским облицима конкретног пацијента, а да се при том омогући једноставност фиксације и имплантације као и да постоји релативно једноставан технолошки поступак израде.

Посебан изазов у вези са скафолдима се односи на изналажење одговарајућег технолошког поступка израде, што је у фокусу истраживања ове дисертације. Скафолди су се годинама израђивали конвенционалним технологијама. Међутим, конвенционалне технологије су показале неколико недостатака као што су: немогућност прецизног контролисања геометрије и величине пора, просторног распореда и повезаности пора, као и немогућност израде унутрашњих канала скафолда. Веома значајан проблем при изради скафолда конвенционалним технологијама је, такође, присуство остатака органских растварача због њихове токсичности и канцерогености.

Као алтернатива конвенционалним технологијама појавиле су се адитивне технологије (АТ). АТ омогућавају аутоматску израду комплексних детаља скафолда, слој по слој, на основу САД података добијених уз помоћ медицинских снимака пацијента (СТ). Предност коришћења АТ у изради скафолда

подразумева могућност израде анатомски прилагођених скафолда, могућност израде комплексних геометрија и постизање високе тачности детаља и могућност контроле величине и распореда пора као и целокупне унутрашње архитектуре скафолда.

Нове могућности израде, које су донеле АТ, подстакле су појаву нових приступа у пројектовању унутрашње архитектуре ових структура. У покушају да се дође до модела скафолда коштаног ткива (намењеног телу *других* костију) који у највећој могућој мери одговара захтевима ТЕ, тим Лабораторије за интелигентне производне системе, ангажован у истраживању на пројекту III41017, предложио је оригинални концепт конструкције скафолда, *(Anti-Labyrinth) Anatomically Shaped Latticed Scaffold-анатомски прилагођен (обликован) решеткасти скафолд-ASLS*, у виду чврсте и максимално прозачне потпорне просторне решетке састављене од једноставних и међусобно повезаних гредица. Овај дизајн концепт одбацује приступ по коме се настоји да се имитира спонгиозни део кости тзв. концепт лавиринта пора. Детаљни опис дизајн концепта ASLS је приказан у првом делу дисертације.

Провера успешности концепта спроведена је израдом модела и експерименталних узорака анатомски прилагођених скафолда ASLS за дефекат критичне величине (у максималним границама 10×8 mm) који је изазван на проксималном делу дијафизе експерименталне животиње- кунића.

Геометријска сложеност дизајна ASLS као и мале димензије експерименталних узорака захтевали су примену АТ. С тим у вези, *главни циљ истраживачког рада ове дисертације био је испитивање могућности коришћења АТ за израду анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива на примеру израде ASLS.*

Након детаљне анализе кандидоване су три АТ (3D биоплотер, DMLS и EBM) које су потенцијално биле у стању да израде овако сложене форме попут ASLS. Прве две су коришћене за израду трајних ASLS од Ti-легура (Ti6Al4V и Ti64), док је 3D биоплотер изабран, као једина комерцијално доступна АТ развијена да плотује биоразградиве материјале и биолошке ћелије, за израду привремених (биоразградивих) ASLS од хидроксиапатита (HA).

У ту сврху израђени су узорци ASLS изабраним АТ и спроведена детаљна анализа технолошких поступака израде истих изабраним АТ који су показали предности и недостатке сваке од коришћених АТ у изради овакве класе коштаных скафолда.

Ови узорци ASLS су такође коришћени у експериментима којима се истражују одлике концепта дизајна ASLS са аспекта имплантације *in vivo*. У оквиру овог пилот експеримента изазван је дефекат и имплантирана ASLS у тибију кунића са циљем испитивања биолошких и механичких својстава ASLS карактеристичних

за коштани скафолд. Овим се отвара нови простор за даља био-медицинска истраживања од којих се очекује да, у позитивном сценарију, доведу до решења за унапређење опоравка оштећеног коштаног ткива.

Битан резултат истраживања представља и дефинисање критеријумске матрице за оцену применљивости АТ у изради скафолда коштаног ткива као и израда *калкулатора* за оцену применљивости процеса. Резултати су показали да ЕВМ представља тренутно оптималан избор за израду металних скафолда. DMLS је у поменутој упоредној анализи применљивости одмах иза ЕВМ и може да подржи израду сложене форме ASLS, али са нешто слабијим перформансама. Ипак, у овом тренутку развоја, ЕВМ и DMLS не могу бити коришћени за израду привремених ASLS, тј. ASLS од биоразградивих материјала.

Неоспорна предност 3D биоплота, у односу на друге технологије је могућност плотовања биоразградивих материјала, па чак и непосредног наношења живих ћелија. Међутим главни недостатак ове технологије је њена немогућност употребе (у актуелном тренутку развоја технологије) за израду сложене форме ASLS.

Такође, критеријумска матрица за оцену применљивости АТ и калкулатор за оцену применљивости ТП могу бити примењени за упоредне анализе технолошких поступака израде сличних форми постојећим и будућим АТ, мењањем одговарајућих параметара и њихових вредности дефинисаних за конкретан случај.

Кључне речи: адитивне технологије–АТ, скафолди, ASLS, ЕВМ, DMLS, 3D Bioplotter

ABSTRACT

Tissue engineering almost always involves the use of so-called scaffolds, which are expected to perform the role of an artificial (highly porous) extracellular matrix that is to provide a proper and sufficiently rapid cell growth and efficient reconstruction of tissue that has been damaged by injury or disease. In terms of structure, scaffolds are usually artificial lattice-like support structures of biocompatible materials which primarily provide the necessary mechanical support to the cells seeding in the process of tissue reconstruction. The second, equally important function that scaffolds should generate is to provide a smooth reinnervation and revascularization of new tissue and their communication (connection, ingrowth) related to the surrounding tissue. Bearing in mind the great importance of the scaffold in the process of (human bone) tissue reconstruction, the research into the development of an optimal design variant of a scaffold and technologies for scaffold manufacturing are crucial issues that have received much attention in tissue engineering (TE).

Although a number of design concepts of scaffolds aimed at bone tissue reconstruction have been developed, there are still challenges to overcome in an effort to optimize the scaffold design. This implies satisfying different groups of requirements that can often be opposite. It is necessary to simultaneously achieve a high permeability of structure and a high level of bio-adhesiveness of the scaffold structure elements. Also, it is preferable for the scaffold to be biodegradable, and to provide the ability of adjusting the mechanical properties of a structure to specific load cases. Finally, scaffolds are expected to be geometrically consistent with patient-specific anatomical forms, while still being easy to fixate and implant, with a relatively simple technological process for their manufacturing.

A particular challenge regarding scaffolds is related to finding an appropriate manufacturing process, which is the focus of the research in this dissertation. When it comes to the fabrication of scaffolds, they used to be fabricated by conventional methods for many years. However conventional methods showed several limitations such as the inability to precisely control pore size, pore geometry, pore interconnectivity, spatial distribution of pores and construction of internal channels within the scaffold. A significant problem of conventional manufacturing processes is also the presence of organic solvent residues due to their toxicity and carcinogenicity .

As an alternative to conventional scaffold fabrication methods, additive manufacturing technologies (AT) have emerged. AT enable the automatic construction of complex scaffold features, layer-by-layer, according to computer-aided design (CAD) data obtained from patient's medical scans (CT). Advantages of using AT processes in scaffold manufacturing include customization of the products to meet the individual needs (anatomical custom made scaffolds), ability to create complex geometries and high

accuracy features, and possibility to control pore size and distribution of pores and the entire internal architecture of scaffold.

New possibilities of scaffold manufacturing, brought on by AT, have encouraged the emergence of new approaches to the design of the internal architecture of these structures.

In an attempt to reach a bone tissue scaffold that meets the TE requirements to the greatest possible extent, the team of the Laboratory for Intelligent Production Systems, engaged in the research on the project III41017, proposed the original concept of the scaffold design (structure) in the form of a solid and maximally permeable 3D latticed support structure - (Anti-Labyrinth) Anatomically Shaped Latticed Scaffold- ASLS, which consists of simple and interconnected struts. This design concept rejects the approach which tries to imitate the trabecular bone structure, the so-called labyrinthine concept. A detailed description of ASLS design concept is shown in the first part of the thesis.

The success of the concept was verified by creating the models and manufacturing experimental samples of anatomical custom made scaffolds ASLS for the critical size defect (maximum size 10×8 mm) made on the proximal tibial diaphysis of experimental animals - rabbits.

The geometric complexity of the ASLS design and the small size of the experimental samples required the application of AT. In this context, the main objective of this dissertation was to investigate the application of AT in the fabrication of anatomical custom made scaffolds for bone tissue reconstruction on the example of ASLS.

After a detailed analysis, three AT were selected (3D bioplotter, DMLS and EBM) that were potentially capable of making such complex forms like ASLS. The first two were used to make permanent ASLS of Ti-alloys (Ti6Al4V and Ti64), while 3D bioplotter was chosen as the only commercially available AT developed to plot biodegradable materials and biological cells, for making temporary (biodegradable) ASLS of hydroxyapatite (HA).

For this purpose, ASLS samples were fabricated using the selected AT and a detailed analysis of the technological methods of making these samples by using the selected AT was conducted, and it showed the advantages and disadvantages of each of the AT used in the manufacturing of this class of bone scaffolds.

These ASLS samples were also used in experiments that explored the features of the design concept ASLS from the point of implantation in vivo. In this pilot experiment, a defect was caused and ASLS was implanted in the tibia of a rabbit in order to examine the biological and mechanical properties ASLS which were characteristic for the bone scaffold. This opens new opportunities for further bio-medical research, which is expected to, in a positive scenario, lead to solutions for improving the recovery of bone tissue.

An important result of the research is the definition of the criterial matrix for the assessment of AT applicability for bone tissue scaffold manufacturing and process applicability calculator. The results showed that EBM is currently the optimal choice for manufacturing of such metallic scaffolds. According to the mentioned comparative analysis of applicability, DMLS is just behind EBM and can support the development of complex forms ASLS, but with slightly lower performance. However, at this point of development, EBM and DMLS cannot be used to create temporary ASLS, i.e. from biodegradable materials.

The indisputable advantage of 3D bioplotter, compared to other technologies, is the ability to plot biodegradable materials, and even cells. However, the main drawback of this technology is that it cannot be used (at the current moment of development) to make complex forms ASLS.

Also, the criterial matrix for the assessment of AT applicability and process applicability calculator can be applied for comparative analyses of manufacturing processes for making similar shapes with the existing and future AT, changing the relevant parameters and their values defined for a particular case.

Key words: additive technologies – AT, scaffolds, ASLS, EBM, DMLS, 3D Bioplotter

СТРУКТУРА РАДА

Прво поглавље представља увод у дисертацију. Оно уводи у област биоинжењеринга дефиницијом појмова инжењеринга ткива (ТЕ) и скафолда као и објашњењем значаја скафолда у процесу опоравка трауматизованог коштаног ткива. У оквиру увода се даје и кратак осврт на проблеме који се јављају при изради скафолда, мотивацију и предмет докторске дисертације.

Друго поглавље обухвата упознавање са општим особинама коштаног система уз посебан осврт на структуру кости, осификацију кости као и процес ремоделирања. Ово поглавље се даје ради лакшег разумевања текста од стране немедицинских читалаца.

Треће поглавље доноси *преглед стања истраживања у области*. С обзиром на мултидисциплинарност истраживања, преглед стања истраживања је обухватио више области. Прва обухвата истраживања у области инжењеринга коштаног ткива са посебним акцентом на значај питања дизајна скафолда, као и преглед и анализу постојећих концепата дизајна (архитектуре) скафолда.

Друга област је везана за биоматеријале који се користе за израду скафолда и то како металне (неразградиве) тако и биоразградиве биоматеријале, њихове карактеристике, предности, недостатке, покушаје примене у ТЕ као и анализу потенцијала тј. могућности примене одговарајућих биоматеријала у изради скафолда у инжењерингу коштаног ткива.

Трећа област обухвата истраживања везана за технологије израде скафолда (конвенционалне и адитивне- АТ) као и предности и недостатке примене истих.

Следи **четврто поглавље** које се састоји из 2 дела. У првом делу је представљен оригинални дизајн концепт анатомски прилагођеног скафолда, варијантна решења дизајна анатомски прилагођеног скафолда за потколенице кунића као и апликација истог.

У другом делу, дата је анализа напонско деформационог стања у напред представљеном скафолду, применим метода коначних елемената.

Пето поглавље представља главни предмет истраживања и обухвата 3 целине. Прва целина почиње избором потенцијалних адитивних технологија за израду узорака ASLS. Након тога следи детаљан принцип рада, карактеристике машина и биоматеријала за сваку од изабраних адитивних технологија, појединачно.

Друга целина даје детаљан опис експеримента тј. технолошких процеса израде узорака ASLS сваком од изабраних АТ.

Трећа целина обухвата анализу технологичности скафолда и применљивости адитивних технолошких поступака за израду скафолда кроз израду критеријумске матрице за оцену применљивости коришћених АТ и израду апликације тј. квантитативног калкулатора за процену применљивости примењених процеса.

Шесто поглавље доноси *завршно разматрање резултата и закључак.*

Следи листа коришћене **литературе** и **прилог** у коме су дати резултати пилот испитивања својстава титанијумске мрежице ASLS у функцији коштаног скафолда на моделу репарације повреде тибиије кунућа.

На крају је дата је **листа слика, табела** и **листа скраћеница.**

1 УВОД

Инжењеринг ткива - ТЕ (енг. tissue engineering) као део биоинжењеринга, се развио као мултидисциплинарна област која користи принципе и методе инжењеринга и природних наука ради фундаменталног разумевања и развоја биолошких замена, тј. супституената појединих ткива у циљу обнављања, замене, одржавања и побољшања функција ткива или органа. Посматрајући структуру ткива (која се састоје од екстрацелуларног матрикса - ЕСМ и једног или чешће, више типова ћелија), дошло се на идеју да се покуша са формирањем потпорних структура, тзв. скафолда (енг. tissue scaffolds, просторних потпорних решетки или матрица ткива), које би биле пројектоване тако да имитирају потпорну структуру ткива или ЕСМ и да служе као подршка/потпора формирању ткива у простору.

Проблем израде скафолда који би у потпуности задовољили потребе конкретних пацијената показао се веома комплексним. Веома сложени захтеви које би ове структуре морале да задовоље су били предмет истраживања и анализе, потврде и доказивања током дугог низа година.

Досадашња истраживања су показала да конвенционалне методе које су се годинама користиле за израду скафолда нису у могућности да обезбеде потребну контролу унутрашње архитектуре скафолда, а самим тим ни да у довољној мери утичу на величину, међуповезаност и просторни распоред пора, што је доводило до формирања структура које су имале незадовољавајућа механичка својства (чврстоћу, жилавост...) и униформност, односно анизотропност трабекуларног ткива (распореда и величине трабекула, односно шупљина између њих).

Развој CAD (енг. Computer Aided Design), а касније и адитивних производних технологија - АТ¹ пружили су могућност израде комплексних 3D структура код којих је могуће контролисати унутрашњу архитектуру и последично величину и распоред пора, порозност, анизотропију и друге битне особине. Са њима су се појавили и различити приступи пројектовању унутрашње архитектуре ових структура као и нове могућности за њихову израду.

¹ Под адитивним технологијама (АТ) или RP се подразумева читав низ релативно нових адитивних технолошких поступака који омогућавају израду комплексних физичких објеката користећи као улаз 3D дигитални CAD геометријски модел.

Проналажење задовољавајућег дизајна и поступака израде ових структура је један од приоритета актуелног истраживања у области ТЕ. Из ове чињенице се рађа и мотивација за интензивна истраживања која се баве дизајном скафолда коштаног ткива као и проналажењем адекватног технолошког процеса израде истих обзиром да до сада пројектоване, израђене и тестиране структуре ипак у потпуности не задовољавају све параметре који би омогућили њихову клиничку примену.

Појавом ових технологија пружила се могућност пројектовања и израде потпуно нове класе анатомски прилагођених скафолда који се моделирају спрам захтева конкретног пацијента. Овде се *прилагођеност* скафолда сагледава у три нивоа: анатомска, хистолошка и биолошка прилагођеност. Водећи се чињеницом да је у имплантологији присутна све већа потреба за израдом и уградњом овакве врсте имплантата прилагођених пацијенту, тим истраживача Лабораторије за интелигентне производне системе, ангажованог у истраживању на пројекту III41017, конципирао је оригиналан дизајн концепт (концепт конструкције) потпорне просторне решетке (скафолда) за раст и опоравак коштаног ткива, који управо инсистира на испуњењу свих аспеката пролагођености скафолда, а који ће бити представљен у првом делу дисертације.

Обзиром да је са друге стране један од највећих изазова истраживања реконструкције кости дефинисање технологије израде анатомски прилагођених скафолда, управо ће то бити предмет истраживања ове дисертације у ужем смислу.

У дисертацији ће посебна пажња бити посвећена спровођењу детаљне анализе (или истраживања) могућности примене адитивних технолошких поступака у изради овако конструисаних анатомски прилагођених решеткастих скафолда.

Тестирање функционалности ових конструкција је спроведено на примеру пројектованог и израђеног анатомски прилагођеног скафолда за патолошки измењени део на проксималном делу дијафизе тибије експерименталне животиње - кунића.

2 ОПШТЕ ОСОБИНЕ КОШТАНОГ (КОСТНОГ) СИСТЕМА

2.1 ОПШТА ОСТЕОЛОГИЈА

Остеологија је наука која проучава коштани систем као једну од компоненти тзв. остео-арто-мускулаторног система, задуженог за кретање. Скелет човека дели се на осовински (skeleton axiale) и придружени (skeleton appendiculare). Аксијални скелет гради 80 костију, а чине га: лобања (cranium), кичмени стуб (columna vertebralis), грудна кост (sternum) и ребра (costae). Апендикуларни скелет је састављен од 126 костију, а чине га: кости горњег уда (ossa membri superioris) и кости доњег екстремитета (ossa membri inferioris) (таб. 1).

Табела 1. Кости скелета

Тип скелета		Број костију
Skeleton axiale	Cranium + ossicula auditus	23+6= 29
	Columna vertebralis	26
	Sternum et costae	25
		80
Skeleton appendiculare	Ossa membri superioris	64
	Ossa membri inferioris	62
		126
Skeleton axiale + Skeleton appendiculare		206

Скелет човека укључује и друге структуре које нису коштане (мишићи, лигаменти, периост, хрскавица) а које се одстрањују када се кости припремају за проучавање. Иако су кости које се проучавају у лабораторијским условима беживотне и суве, због одстрањења органских материја с њих, кости су у телу живи органи, који се старењем значајно мењају. Као и други органи и кости имају крвне судове и живце и могу оболети.

Кости различитих људи показују анатомске варијације. Оне се разликују у зависности од старости, пола, физичких особина, здравља, исхране, расе и различитих генетских и ендокриних фактора (Gray, 1918), (Mihalj & Obradović, 2006).

2.1.1 ОБЛИК КОСТИЈУ

Према облику кости се деле на : дуге, кратке, пљоснате, неправилне, пнеуматске и сезамоидне (сл. 1).

Дуге кости (*ossa longa*) имају нарочито изражену једну димензију – дужину, која је знатно израженија од осталих двеју – ширине и дебљине. Налазе се у саставу горњих и доњих екстремитета и својом дужином условљавају брзину и снагу покрета. Код дугих костију разликује се средишњи део, дијафиза (*diaphysis*) и два крајка (*epiphysis proximalis et distalis*). Дијафиза је издужен и тањи део кости, који се назива још и тело (*corpus*) а крајци су задебљања у која се дијафиза наставља на једном и другом крају. Између дијафизе и епифизе налази се метафиза (*metaphysis*) која је значајан део кости, јер најинтензивније расте. Кости доручја (*ossa metacarpi*), кости доножја (*ossa metatarsi*) и кости прстију (*ossa digitorum*) су мали примери дугих костију с дугим телом и само једном епифизом, тј. задебљалим крајком који се зове глава (*caput*).

Кратке кости (*ossa brevia*) су оне код којих се ни једна димензија нарочито не истиче. Налазе се на завршецима екстремитета, а у саставу костију ручја (*ossa carpi*) и костију ножја (*ossa tarsi*). Ради лакшег описа посебно односа према околини, кратке кости се често упоређују са коцком, па се на њима разликује шест страна. Ове кости појединачно имају малу покретљивост, али заједнички остварују већу амплитуду покрета одређеног дела тела него када би тај део тела имао само једну кост.

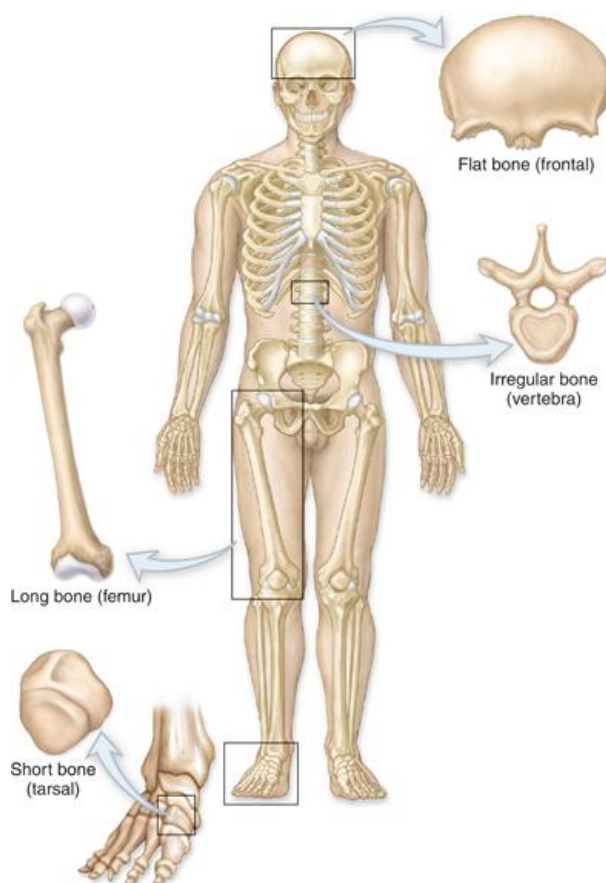
Пљоснате кости (*ossa plana*) су оне кости у којима је једна димензија (дебљина) знатно мања од друге две (ширине и дужине). Неке пљоснате кости имају заштитну улогу пошто учествују у изградњи зидова шупљина у којима су нежни органи (нпр. зидови лобањске шупљине у којој лежи мозак), или су потпора за органе који су претешки за своје слабе везе (карличне кости), или својим великим површинама служе као чврст ослонац за припој мишића (нпр. лопатица). Грађа пљоснатих костију је карактеристична: танак слој збијеног коштаног ткива облаже њихову спољну (*lamina externa*) и унутрашњу површину (*lamina interna*), између којих се налази слој сунђерастог ткива, који се код костију крова лобање назива диплое (*diploe*). Пљоснате кости су: *os occipitale*, *os parietale*, *os frontale*, *os nasale*, *os lacrimale*, *vomer*, *scapula*, *os coxae*, *sternum*, *costae*.

Неправилне кости (*ossa irregularia*) немају ниједно својство на основу које би се могле сврстати у неку од предходних група. У ову групу спадају кости лица (*viscerocranium*) и кичмени пршљенови (*vertebrae*).

Пнеуматичне кости (*ossa pneumatica*) садрже шупљине испуњене ваздухом, као на пример мастоидни наставак слепоочне кости чије се шупљине испуњене ваздухом називају мастоидне ћелије (*cellulae mastoideae*) или параназални

синуси (sinus parnasales) који представљају пнеуматичке продужетке носне шупљине у околним костима: чеоној (sinus frontalis), горњој вилици (sinus maxillaris), клинастој (sinus sphenoidalis) и ситастој (cellulae ethmoidales). Шупљине мастоидног наставка су обложене слузокожом која представља продужетак слузокоже бубне дупље, док слузокожа носне дупље улази у одговарајућу синусну шупљину и облаже њене коштане зидове.

Сезамоидне кости (ossa sesamoidea) обликом подећају на семе сусама. Оне се развијају у тетивама неких мишића. Њихова улога је, вероватно, да смање трење мишићне тетиве о коштану подлогу. Сезмоидне кости се најчешће налазе у пределу зглобова. У нози, највећа стална сезмоидна кост је чашица (patella) која се развија у тетиви m quadriceps femoris-a. Веома су променљиве у погледу броја, димензија и положаја. На плантарној страни стопала, у пределу зглоба између прве кости доножја (os metatarsale) и базе првог чланка палца (phalanx proximalis) налазе се две, готово сталне сезамоидне кости (унутрашња је већа) које се развијају у тетиви кратког прегибача палца (m flexor hallucis brevis).



Слика 1. Облик костију

2.1.2 ХРСКАВИЦА И КОСТ

Хрскавичаво и коштано ткиво су специјализована потпорна везивна ткива. Према имају различите физичке структурне и функционалне карактеристике, хрскавица и кост имају низ заједничких својстава. Обе врсте ткива на својој површини поседују мирујуће ћелије, а у дубини зреле ћелије "заробљене" у чврстој међућелијској супстанци коју саме стварају. Физичка и функционална својства ових ткива нису толико заснована на карактеристикама њихових ћелија колико на карактеристикама екстрацелуларног матрикса (ЕСМ).

Хрскавичаво и коштано ткиво формирају скелет људског тела. За време развоја и раста људског организма скелет трпи промене праћене заменом хрскавичастог ткива коштаном. Већи део скелета ембриона изграђен је од хрскавичастог ткива. Током фетусног и постнаталног периода хрскавичаво ткиво се постепено замењује коштаном (енхондрална осификација) и тај процес се завршава престанком раста. Код одраслих особа хрскавица се задржава само на окрајцима костију тзв. зглобна хрскавица.

2.1.3 ХРСКАВИЧАВО ТКИВО

Хрскавица је аваскуларно потпорно везивно ткиво изграђено од ћелија-хондроцита и специјализованог екстрацелуларног матрикса. По конзистенцији, хрскавичаво ткиво се налази између густог везивног и коштаног ткива. Оно је, уједно, и чврсто и еластично због чега се ефикасно супротставља силама компресије. Известан степен савитљивости хрскавици обезбеђује колаген, еластин и вода, док је њена чврстина последица електростатичких веза које се успостављају између колагених влаканаца и протеогликана основне супстанце. Дифузију супстанци кроз хрскавичаво ткиво омогућава висока концентрација воде у ЕСМ.

Основна улога хрскавице је у пружању потпоре меким ткивима. Поред тога, зглобне хрскавице служе као амортизери који штите кости од механичких напрезања. Уједно, ове хрскавице олакшавају зглобне покрете тако што својим глатким површинама омогућавају сучељеним костима да клизе једна преко друге уз минимално трење. И најзад, хрскавица је неопходна за развој и раст дугих костију у пренаталном и постнаталном периоду.

Хрскавица не садржи крвне и лимфне судове, као ни нервна влакна. Њене ћелије исхрањују се дифузијом кисеоника и хранљивих материја из околног везивног ткива (перихондријум) или, у случају зглобне хрскавице, дифузијом из синовијалне течности и крвних судова кости. Због отежане исхране дебљина хрскавичавог ткива је лимитирана а хондроцити имају ниску метаболичку активност.

У људском телу постоји три типа хрскавица: хијалина, еластична и фиброзна хрскавица. Разлике међу њима везане су првенствено за врсту и количину влакана садржаних у ЕСМ-у. Хијалина хрскавица садржи влаканаца изграђена од колагена тип II, еластична хрскавица поред колагених влаканаца садржи и мрежу еластичних влакана, док у фиброзној хрсканици доминирају влакна сачињена од колагена тип I.

2.1.4 КОШТАНО ТКИВО

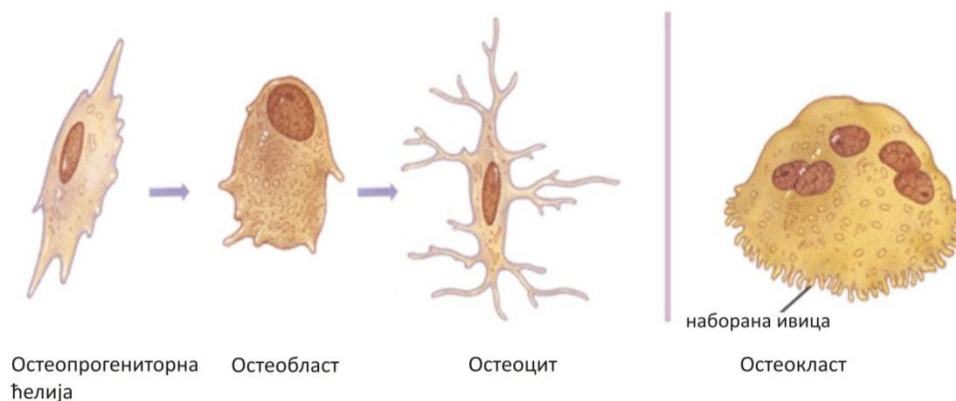
Коштано ткиво је потпорно везивно ткиво са минерализованим (калцификованим) међућелијским матриксом који му омогућава да поседује знатну чврстоћу због које је могуће да се за њега везују мишићи, односно њихове тетиве (Currey, 2002) (Gray, 1918) (Anđelković, Somer, Avramović, Milenkova, Kostovska, & A., 2001). Сачињено је од органског и неорганског материјала. Тврдоћу му даје калцијум фосфат исталожен у форми кристала хидроксиапатита а чврстоћу колагена влакна у која су ови кристали инкорпорирани. У случају деминерализације кост задржава облик а постаје савитљива као тетива. Са друге стране, уклањањем органског супстрата кост постаје крта и лако ломљива. У људском телу су само глеђ и дентин тврђи од кости, а једино хрскавица боље подноси механичка напрезања.

Коштано ткиво има низ значајних функција. Кости пружају потпору телу и заједно са мишићима омогућавају кретање. Уједно кости штите виталне органе у лобањској и грудној дупљи, као и коштану срж у којој се одвија хематопоеза. Коштано ткиво је динамички уравнотежен резервоар јона калцијума и фосфора који се, по потреби, могу депоновати или мобилисати из костију у циљу одржавања константне концентрације у крви.

Спољашњу структуру кости облаже слој густог везивног ткива периост а унутрашњу ендост. У овим коштаном омотачима налазе се остеогене ћелије. Унутар коштаног ткива постоје шупљине (лакуне) у којима су смештене зреле коштане ћелије остеоцити. Минерализовану међућелијску супстанцу пресецају бројни узани каналићи (canaliculi ossei) који спајају оближње лакуне. Преко ових каналића комуницирају суседни остеоцити. На површини коштаног ткива налазе се ћелије које стварају (остеобласти) и уклањају (остеокласти) коштани матрикс.

2.1.4.1 ЋЕЛИЈЕ КОШТАНОГ ТКИВА

У функционалном смислу коштаном ткиву припадају четири типа ћелија: **остеопрогениторне ћелије, остеобласти, остеоцити и остеокласти** (сл. 2 и сл. 3).



Copyright Mc Graw- Hill Company

Слика 2. Типови коштаних ћелија

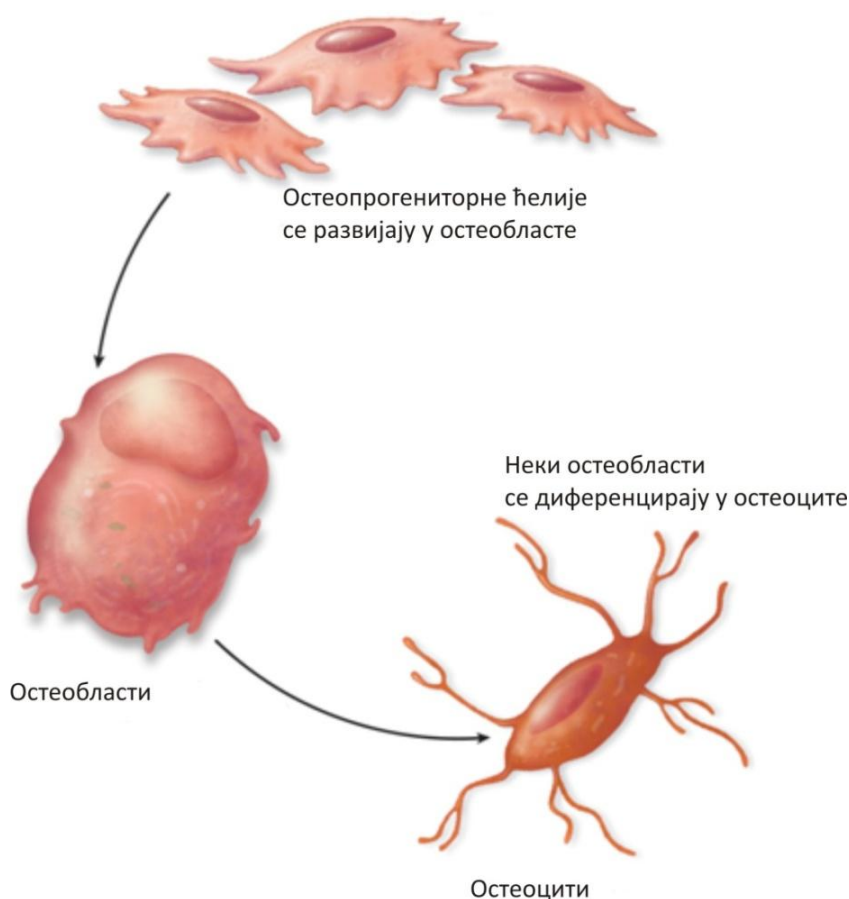
Уобичајено је да се остеопрогениторне ћелије, остеобласти и остеоцити третирају као посебни ћелијски типови иако представљају исту врсту ћелије која се налази у различитим фазама зрелости и активности. Остеокласти и по пореклу и по функцији припадају посебној ћелијској линији.

Остеопрогениторне (остеогене) ћелије су мирујуће коштане ћелије присутне у ендосту и унутрашњем слоју периоста. Оне облажу спољашњу површину кости и све веће шупљине унутар ње (сржна шупљина, Хаверсови и Фолкманови канали). Ћелије су вретенастог облика, њихово једро је спљоштено а органеле су оскудне, изузев релативно бројних слободних рибозома. Настају од мезенхимских ћелија а поседују способност деобе и диферентовања у активне коштане ћелије остеобласте. Уколико је концентрација кисеоника у њиховом окружењу ниска, остеогене ћелије могу се диференцирати у младе хрскавичаве ћелије хондробласте.

Остеобласти су младе коштане ћелије одговорне за стварање и минерализовање екстрацелуларног матрикса костију. Неминерализовани коштани матрикс зове се остеоид. Остеобласти синтетишу све састојке остеоида (колаген тип 1, протеогликане, гликопротеине), као и матриксне везикуле у остеоид (види екстрацелуларни матрикс). По многим својствима остеобласти наликују хондробластима. Смештени су на површини коштаног ткива и распоређени су у низу попут ћелија једнослојног епитела. Остеоид излучују углавном према постојећем коштаном ткиву, ређе у осталим правцима. Када се потпуно окруже излученим остеоидом, остеобласти постају остеоцити.

У току активне синтезе матрикса, остеобласти су овалне или полигоналне, поларизоване ћелије са дугачким продужецима (филоподијама) на страни окренутој ка коштаном ткиву и кратким микроресицама на супротној страни.

Остеоцити су зреле, непокретне коштане ћелије "заробљене" у чврстој међућелијској супстанци. Слично хондроцитима и остеоцити се налазе у лакунима. У свакој лакуну налази се по један остеоцит. Милиметар кубни коштаног ткива садржи око 25000 лакун са остеоцитима. Лакуне су међусобно повезане узаним каналићима (canaliculi ossei) у којима су смештени продужеци остеоцита (филоподије). Филоподијама се суседни остеоцити додирују и међусобно комуницирају преко пукотинастих веза (нексуса). Како калцификовани матрикс коштаног ткива спречава дифузију метаболита, остеоцити се преко нексуса снабдевају хранљивим материјама и ослобађају распадних продуката метаболизма. На овај начин може се исхранити по двадесетак ћелија у низу. Између плазмалеме остеоцита и зида лакуне, односно коштаних каналића, налази се узани периостеоцитни простор, испуњен ванћелијском течношћу. Процењује се да периостеоцитни простори свих костију људског тела скупа садрже и до 1,3 литара течности преко које се размењују јони калцијума између остеоцита и минерализованог коштаног матрикса.



Copyright Mc Graw- Hill Company

Слика 3. Коштане ћелије

У поређењу са остеобластима, остеоцити су ситније ћелије. На уздужном пресеку имају изглед коштице шљиве са чије површине полазе бројни узани, дуги и релативно прави продужеци.

Остеоцити имају ограничену моћ синтезе и ресорпције екстрацелуларног матрикса. Сматра се да зреле коштане ћелије могу да модификују екстрацелуларни матрикс балансирањем између синтетске и ресорптивне активности. У случају њихове смрти коштани матрикс се ресорбује.

Остеокласти су крупне вишеједарне ћелије које ресорбују коштано ткиво. Имају пречник око 150 μm и садрже 5-50 једара. Настају фузијом већег броја моноцита или макрофага. Сходно пореклу и функцији сврставају се у мононуклеусни фагоцитни систем, иако се од осталих ћелија поменутог система разликују по великом броју једара.

Остеокласти се налазе на површини коштаног ткива и то на местима где се кост разграђује. Ерозивним дејством они праве плитка улегнућа на површини кости тзв. Хаушипове лакуне. Активне ћелије су поларизоване и на њима се разликују два одељка плазмалеме: одељак којим су у контакту са коштаном ткивом и одељак плазмалеме који није у вези са коштаном матриксом. Ван периода активности остеокласти губе поларизованост, добијају амебоидну форму и крећу се ка оним деловима кости где постоји потреба за разградњом. На површини окренутој ка коштаном ткиву активирани остеокласти поседују неправилне, често разгранате и анастомозоване цитоплазматичне изданке између којих се увлаче дубоки усеци. Ова површина ћелије описује се као наборана ивица (енг. ruffled border). Остали део површине остеокласта је релативно гладак и садржи ретке продужетке, сличне микроресицама. Између наборане ивице и кости постоји узани субостеокласни простор. Дејством остеокласта у овом простору ствара се специфична, кисела микросредина (катаболички лонац) која погодује деминерализацији кости и разградњи њених органских компоненти. На граници између наборане ивице и осталог дела ћелијске површине налази се регион остеокласта који се зове светла зона. Плазмалема светле боје лепи се за кост и на тај начин затвара и изолује субостеокласни простор од околног ткива. Остеокласт се причвршћује за кост посредством интегрина који се везују са специфичним гликопротеинима коштаног матрикса (коштани сијалопротеин, остеонектин). Светла зона не садржи органеле, већ мноштво актинских филамената који помажу интегринима да одрже контакт са коштаном матриксом.

Екстрацелуларни матрикс коштаног ткива-ЕСМ

Од укупне масе коштаног матрикса око 35% отпада на органски део и воду, а 65% на неоргански садржај. Органске компоненте коштаног матрикса синтетишу углавном остеобласти. Новостворени матрикс је у почетку

неминерализован и означава се као остеоид. Остеоид се таложи на површини постојећег минерализованог матрикса, одакле и делују остеобласти. Највећи део органског садржаја коштаног матрикса (око 90%) чине колагена влакна. Остатак чини основна супстанца богата гликопротеинима и протеогликанима.

Колагена влакна изграђена су од колагена тип 1 чији су молекули попречно повезани бројним ковалентним везама, што није случај са истим типом влакана присутним у неким ткивима.

Из коштаног ткива изоловано је неколико специфичних гликопротеина (остеокалцин, коштани сијалопротеин, остеоонектин и остеоопонтин) који нису присутни у другим ткивима која садрже колаген тип 1, због чега им се придаје значај у минерализацији коштаног матрикса.

Од неорганског садржаја кости највећи део отпада на јоне калцијума и фосфора који граде кристале хидроксиапатита, мада у ЕСМ-у има и аморфног калцијум фосфата као и јона магнезијума, натријума, калијума, бикарбоната и цитрата. Кристали хидроксиапатита имају изглед плочица димензија 40x25x2nm и могу се посматрати на ЕМ.

Кристали се уграђују у колагена влакна претежно у пукотинастим регионима влаканаца (између молекула тропо колагена). Око њих се налази слој воде и јона, назван хидратациона љуштура, који олакшава размену јона између кристала и ткивне течности.

Периост и ендост

Спољашњу површину кости облаже слој везивног ткива периост. Спољашњи слој периоста састоји се од колагених влакана, фибробласта и крвних судова, а унутрашњи слој садржи остеопрогениторне ћелије. Колагена влакна периоста оријентисана су паралелно са површином кости, мада се једним делом, нарочито на местима где се причвршћују лигаменти и тетиве, под оштрим углом заривају у матрикс и повезују са колагеним влакнима матрикса. Ова влакна зову се Шарпејева влакна. Ендост облаже унутрашње шупљине кости и знатно је тањи од периоста. Колагена влакна у ендосту нису нарочито заступљена те његов главни садржај чини један слој остеопрогениторних ћелија.

Периост и ендост имају нутритивну улогу. Уједно, ови омотачи служе као извор нових коштаних ћелија и њихов значај је нарочито изражен код коштаних прелома. При хируршким интервенцијама на костима важно је очувати интегритет периоста и ендоста.

2.1.5 СТРУКТУРА КОСТИ

Према времену односно редоследу настанка кост се може поделити на примарну (незрелу) и секундарну (зрелу кост). Ове две врсте кости разликују се по организацији ћелија и колагених влакана. Примарна кост назива се влакнаста (фиброзна) а секундарна ламеларна (Currey, 2002) (Gray, 1918) (Anđelković, Somer, Avramović, Milenkova, Kostovska, & A., 2001).

Примарна кост

Примарну кост формира коштано ткиво које се појављује у току ембрионалног развоја или у току зарастања коштаног прелома. Примарна кост је привремена; активношћу остеокласта она се постепено ресорбује и замењује зрелом (секундарном) кости. Код одраслих особа примарна кост перзистира само у близини шавова пљоснатих костију лобање, у зубним алвеолама, коштаном лавиринту и на местима припоја неких тетива за кост.

У поређењу са зрелом кости, незрела кост садржи више ћелија и основне супстанце, а мање минерала по јединици запремине коштаног ткива. Поред тога упадљива је и разлика у распореду колагених влакана и остеоцита. Код незреле кости влакна се пружају у свим правцима, без неког правила, а остеоцити су распоређени равномерно, без одређене оријентације.

Секундарна кост

Секундарна (зрела кост) чини највећи део скелета одраслих кичмењака. Уколико се кост пресече попречно и посматра голим оком, на њој се могу уочити два региона. Један регион је хомоген (компактан), без упадљивих шупљина, па се означава као компактна кост, док је други регион кости прожет бројним шупљинама које јој дају сунђераст изглед и зове се спонгиозна кост (сл. 4).



Слика 4. Компактна и спонгиозна кост

Међутим, када се посматрају под микроскопом, код оба облика зреле кости запажају се колагена влакна организована у форми ламела. Зато се за зрелу кост користи и назив ламеларна кост. Ипак у начину организације ламела између компактне и спонгиозне кости постоје разлике.

Разлике између кортикалне и спонгиозне кости су и структуралне и функционалне и ако су настале из истих станица и истих елемената матрикса. Структурална разлика постоји у количини калцификоване кости: 80-90% компактне кости је калцификовано, док је код трабекуларне кости калцификовано свега 15-25% док остатак волумена чини коштана срж. Функционалне различитости су последица структуралних и обрнуто. Кортикална кост испуњава углавном механичку и протективну функцију, а спонгиозна метаболичку и механичку функцију.

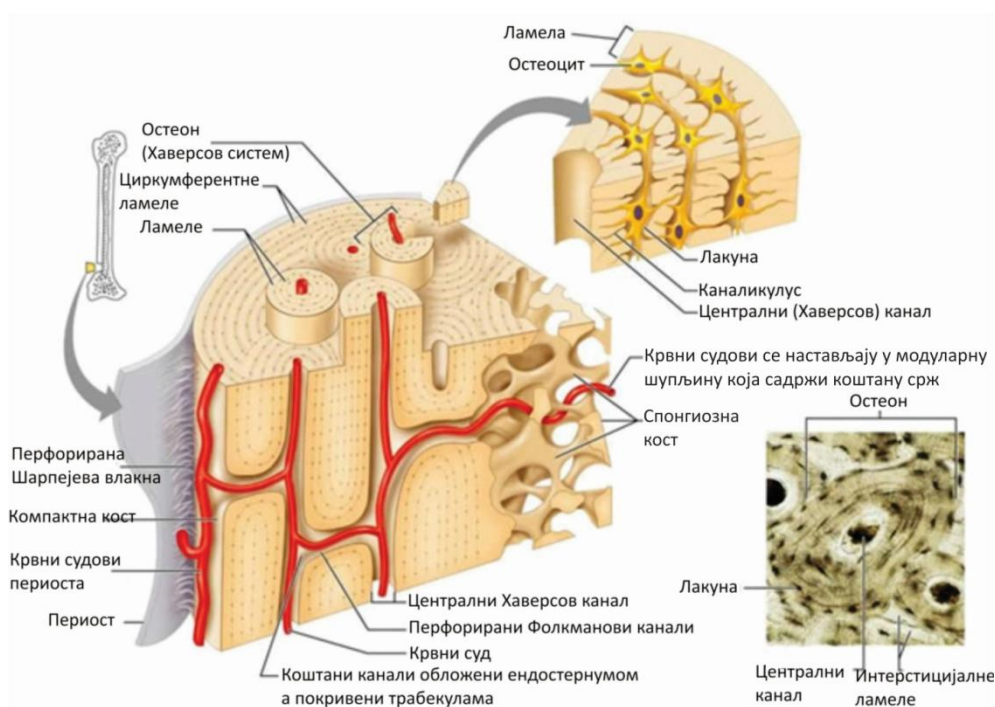
Компактна кост (кортикална кост) представља око 80% скелетне масе. Она садржи четири врсте ламела, у чијем распореду се запажа изразита законитост и прецизност. Ламеле су дебеле 3-7 μ m. Саграђене су од паралелно распоређених колагених влакана утопљених у минерализовану хелијску супстанцу. Лакуне са зрелим коштаном хелијама смештене су обично између ламела, ретко унутар самих ламела (сл. 5).

Основна морфолошка и функционална јединица компактне кости је остеон или Хаверсов систем (сл. 5). Остеон има изглед цилиндра у чијем центру се налази васкуларни или Хаверсов канал. Хаверсов канал обложен је ендостом и садржи крвне судове, нервна влакна, растресито везиво, остеопрогениторне хелије, остеобласте и остеокласте. Канал је широк 20-100 μ m, зависно од степена зрелости остеона. У дугим костима Хаверсови канали усмерени су паралелно са дужом осовином кости и често се гранају и анастомозују. Око васкуларног канала налази се 4-20 концентричних ламела које се могу описати као скуп цилиндара различитог пречника, при чему су мањи цилиндри углављени у веће. Унутар сваке ламеле правац пружања колагених влакана је паралелан, истосмеран и благо спиралан, али се од ламеле до ламеле разликује, тако да су влакна у две суседне ламеле међусобно постављена приближно под правим углом. Заправо колагена влакна од ламеле до ламеле наизменично образују левогире и десногире спирале. Верује се да овакав распоред колагених влакана доприноси физичким својствима коштаног ткива и омогућава да кост боље пружа отпор силама увијања и на тај начин чува централни канал који садржи крвне судове и нервна влакна.

Између ламела, ређе и у њима, налазе се лакуне са остеоцитима. У свакој лакуни лежи по један остеоцит. Суседне ламеле повезане су узаним каналићима (canaliculi ossei) кроз које остеоцити пружају пипке (филоподије) и успостављају комуникантне везе са остеоцитима из оближњих лакуна. Остеоцити смештени

између прве и друге ламеле пружају продужетке према крвном суду Хаверсовог канала, одакле црпе кисеоник и хранљиве материје директно или посредством остеобласта. Преузете метаболите они једним делом користе за сопствене потребе а другим делом прослеђују остеоцитима следеће ламеле. На тај начин трансцелуларном дифузијом нутрицијената сви остеоцити једног остеона исхрањују се из истог крвног суда. Око спољашње концентричне ламеле налази се цемент – слој калцификованог екстрацелуларног матрикса са мало колагених влакана. У цементу нема коштаних каналића, што значи да остеоцити два блиска остеона не комуницирају. Остеони у формирању имају мали број ламела и шири Хаверсов канал будући да Хаверсов систем настаје постепеним слагањем ламела од периферије ка центру. Код потпуно оформљеног остеона последња настала ламела је она која лежи непосредно уз канал.

Остеони нису потпуно изоловане целине. Напротив Хаверсови канали повезани су са периостом, ендостом и међусобно преко косих и попречних Фолкманових канала. За разлику од Хаверсових, Фолкманови канали нису окружени ламелама. Наиме они пролазе кроз ламеле, носећи са периосне и ендосне површине кости крвне судове и живце намењене Хаверсовом систему.



Copyright 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Слика 5. Структура кости

Кост је динамичка структура у којој током читавог живота, а нарочито у периоду раста, долази до ремоделирања – истовременог стварања и разарања коштаног матрикса. Другим речима стари остеоци пропадају и појављују се нови. Стога простор између суседних остеоци испуњавају неправилно постављене коштане ламеле које немају никакву везу са крвним судовима. То су интерстицијске (неправилне) ламеле и оне представљају остатке Хаверсових ламела од делимично ресорбованих старих остеоци. Непосредно испод периоста налазе се паралелно распоређене спољашње циркумферентне ламеле а око модулларне шупљине кости распоређене су унутрашње циркумферентне ламеле. Спољашњих циркумферентних ламела има више од унутрашњих и на неким местима кроз њих пролазе Шарпејева влакна (сл. 5).

Компактна кост има мали степен ремоделовања и високу отпорност према савијању и увијању.

Спонгиозна кост (трабекуларна кост) изгледа као тродимензионална решетка састављена од коштаних гредица (трабекула) и стубића унутар кортикалне љуштуре које ограничавају узане просторе испуњене коштаном сржи. Изгледа лоше организована у односу на компактну кост и нема остеоци. Трабекуле су поређане дуж положаја притиска и показују изразито укрштено гранање. Њихова дебљина зависи од броја ламела које улазе у њихов састав и креће се од 50-300µm у пречнику. Трабекуле су грађене од неколико слојева ћелија и садрже неправилно аранжирани ламеле и остеоците међусобно повезане каналикулусима. Трабекуле су најчешће танке тако да се остеоцити у њима исхрањују дифузијом супстанци из коштане сржи. Због тога спонгиозно коштаног ткиво нема Хаверсових ни Фолкманових канала, осим у екстремно дебелим трабекулама. Заузимају већу површину али чине само мали део укупне скелетне масе.

Спонгиозна кост је много порознија са порозношћу која се креће од 50% до 90%, мање је густине и неотпорнија је од компактне кости.

Око 90% скелета одраслог човека чини компактна кост док остатак око 10% отпада на спонгиозну кост. Средиште епифиза дугих костију у потпуности гради спонгиозна кост, док компактна кост формира узани слој непосредно испод зглобне хрскавице. Насупрот епифизама дијафизе скоро у целости изграђује компактна кост изузев танког слоја који окружује сржну шупљину (cavum medullare). Код кратких костију средиште је изграђено од спонгиозне а површина од компактне коштане супстанце. Пљоснате лобањске кости имају три слоја: спољашњи и унутрашњи компактни а средишњи слој (diploe) је сунђераст. Коштана срж налази се у централној сржној шупљини дијафиза дугих костију, као и у ситним шупљинама спонгиозне кости.

2.2 ОСИФИКАЦИЈА КОСТИЈУ

Кости људског тела настају на два начина. Мањи део скелета настаје процесом које се назива интрамембранско окоштавање, а већи део процесом енхондралног окоштавања. Оваква подела указује само на механизам иницирања процеса окоштавања: код интрамембранске осификације кост се формира посредством претходног хрскавичавог модела. У оба случаја најпре настаје примарна (незрела) кост коју касније замењује секундарна (зрела) кост. Механизам којим је процес осификације инициран нема битнијег утицаја на дефинитивну структуру и обликовање кости.

Раст костију је праћен стварањем и заменом незреле кости зрелом (ламеларном). И након престанка раста у зрелој кости се континуирано одвијају два процеса са супротним ефектом: стварање новог и разградња постојећег коштаног ткива, тзв. преобликовање или ремоделирање кости. Ипак код одраслих особа ремоделирање кости је око 200 пута спорије у поређењу са динамиком тог процеса код деце у периоду раста.

2.2.1 ИНТРАМЕМБРАНСКО ОКОШТАВАЊЕ

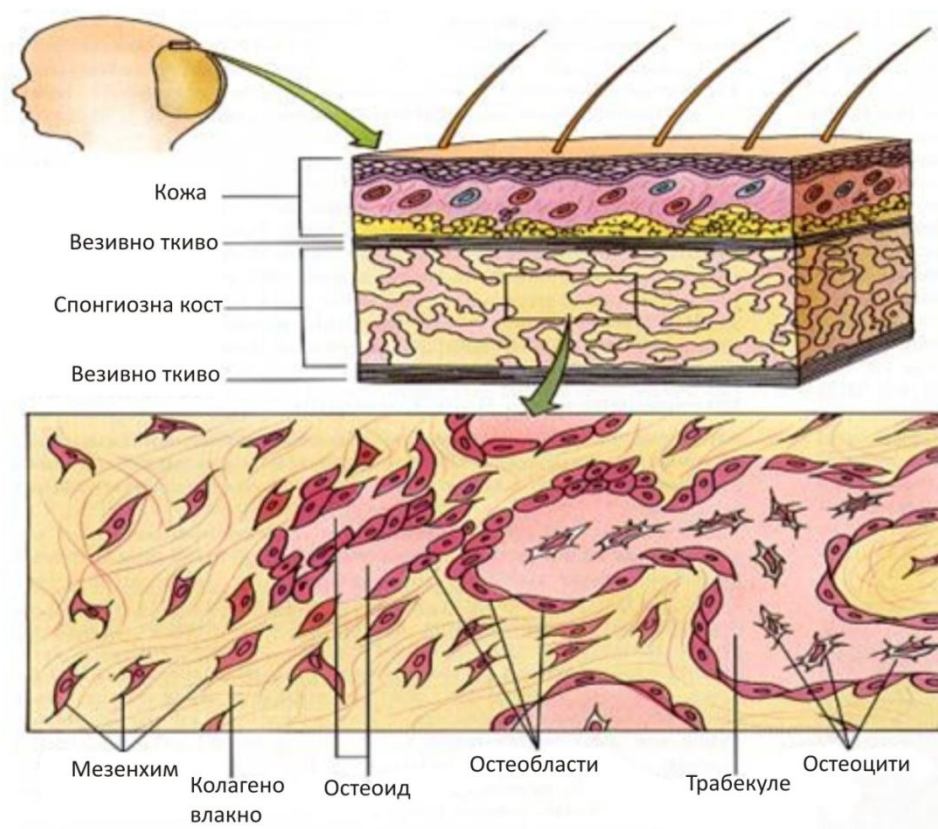
Интрамембранска осификација (сл. 6) може се означити и као директна осификација, јер коштано ткиво настаје директно из мезенхима, без учешћа хијалинске хрскавице. На овај начин настаје већина пљоснатих костију: кости крова лобање, лица, кључњаче. Исто тако, овим механизмом окоштавања расту кратке а дебљају дуге кости.

Први наговештаји почетка интрамембранског окоштавања јављају се у осмој недељи развоја. У овом периоду у добро прокрвљеном мезенхиму појављују се спљоштене акумулације мезенхимских ћелија, налик на мембрану (отуда назив интрамембранска осификација). Звездасте мезенхимске ћелије унутар мембране почињу интензивно да се умножавају, групишу и заобљавају и могу се сматрати младим коштаним ћелијама тј. остеобластима. Активношћу остеобласта ствара се органски матрикс (остеоид) у виду острвца и тај део мезенхима постаје **примарни осификациони центар**. Од њега се радијално шире траке остеоида у облику гредица (трабекула), раздвојене мезенхимом. Колагена влакна у трабекулама распоређена су насумице. Остеоид се постепено минерализује, а ћелије унутар трабекула трансформишу се у остеоците. На површини гредица запажају се остеобласти и остеокласти који обликују тек настале коштане трабекуле, док се друге анастомизују и задебљавају градећи спонгиозну кост. Од мезенхима између коштаних гредица настаје коштана срж.

На површини примарне кости из окружујућег мезенхима ствара се слој густог везивног ткива- периост. Овај везивни омотач садржи остеопрогениторне ћелије

које представљају непресушни извор нових остеобласта који, са своје стране, обезбеђују апозицијски раст и дефинитивно уобличавање кости.

Трабекуларна кост шири се радијално, од центра ка периферији. Велике лобањске кости имају неколико центара осификације који се спајају у јединствену кост. У чеаној и слепоочној кости осификациони центри фузионишу се после рођења; теменци (фонтанеле) код новорођене деце представљају неокштало везивно ткиво.



Слика 6. Интрамембранско окоштавање

Касније се поједине коштане гредице стапају градећи компактну кост.

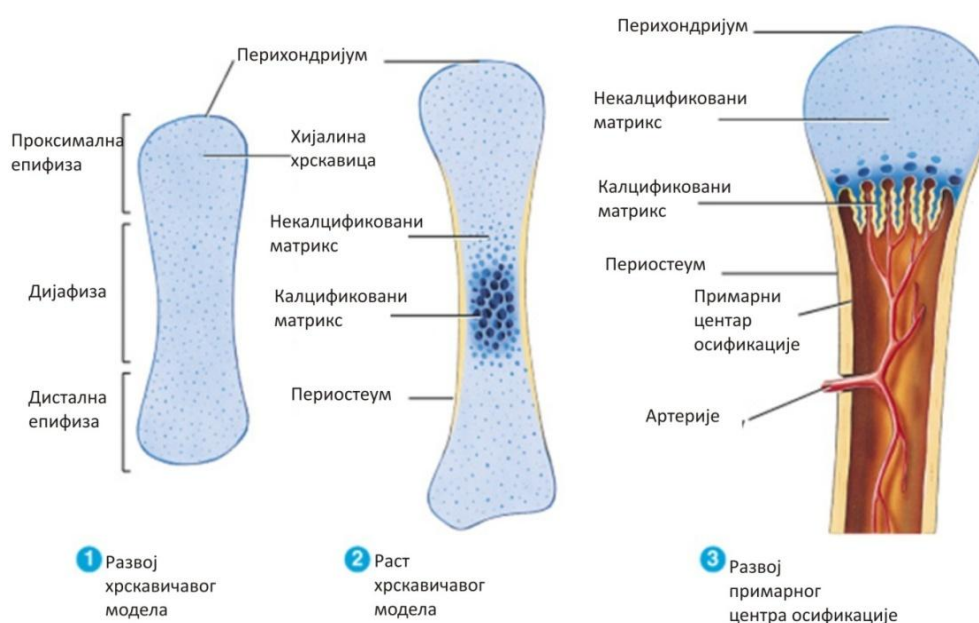
2.2.2 ЕНДОХОНДРАЛНО ОКОШТАВАЊЕ

Већина костију људског тела настаје енхондралном осификацијом. Овај процес одвија се у две фазе. У првој фази ствара се минијатурни скелет, сачињен од хијалине хрскавице а у другој фази хрскавичав скелет се готово у потпуности уклања и на његово место се депонује коштано ткиво. Отуда се овакав начин окоштавања може назвати индиректно окоштавање. Овим механизмом

окоштавања настају кости базе лобање, кичменог стуба, карлице и кости екстремитета.

Хрскавичави скелет по свом облику наликује будућој кости и зове се хрскавичави модел који окоштава појавом примарних а затим и секундарних осификационих центара.

Енхондрално окоштавање почиње у 12. недељи развоја и траје све док траје човеков раст. Подручје у дијафизи у коме почиње окоштавање назива се **примарни (дијафизни) центар осификације** (сл. 7).



Copyright 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

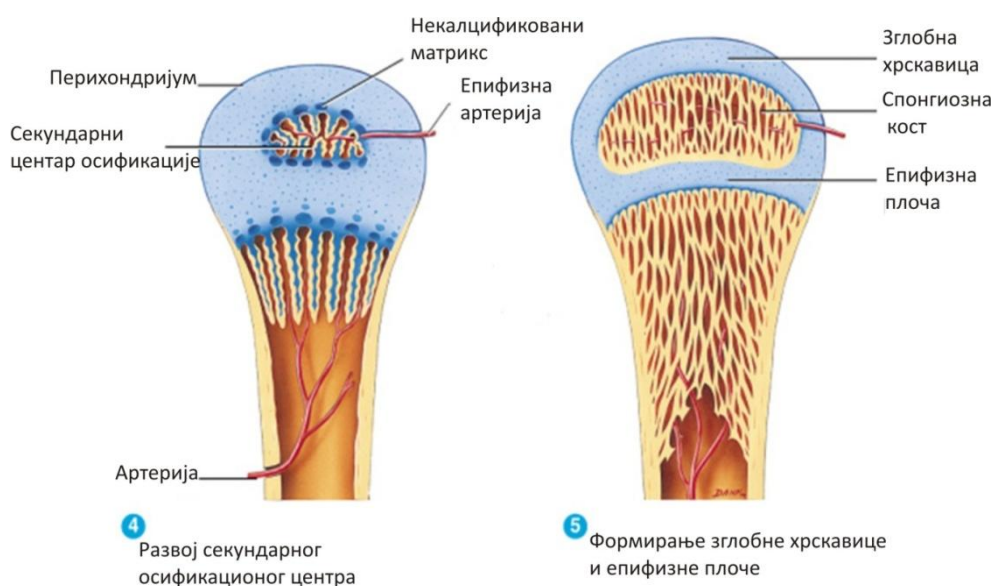
Слика 7. Енхондрално окоштавање -развој примарног центра осификације

Из примарног осификационог центра окоштавање се шири према епифизама а претходи му ширење коштане манжетне са површине хрскавичавог модела. Тако читава дијафиза окошта. Из њеног средишта делују остеокласти који ресорбију новонастало коштаног ткиво проширујући сржну шупљину (cavum medullare). Сржна шупљина издужује се и шири оним темпом којим напредује процес окоштавања. Када се читава дијафиза претходног хрскавичавог модела замени коштаном ткивом, окоштавање се зауставља на граници између дијафизе и епифизе. У тој фази енхондралне осификације дијафиза је грађена од коштаног а епифизе од хрскавичавог ткива. Окоштавање епифиза почиње касније, односно убрзо после рођења. Изузетак су дистална епифиза фемура и проксимална епифиза тибие, које већ у доба рођења имају центар осификације, што представља доказ донесености плода. У истој кости окоштавање не почиње

истовремено у обе епифизе, али без обзира на време појављивања сваки почетак окоштавања у епифизи означава се као **секундарни (епифизни) центар осификације**. Енхондрално окоштавање у епифизама има сличан ток као у дијафизи. Пошто зглобна хрскавица нема перихондријум, на епифизној површини се не ствара коштана манжетна. Окоштавање почиње у средишту епифизе тако што хрскавичаве ћелије хипертрофишу и дегенеришу а хрскавичави матрикс минерализује.

Даљи ток осификације је исти као у дијафизи, с том разликом што се коштаном ткиво шири радијално. У епифизама се не ствара сржна шупљина, већ се развија спонгиозна кост. Она је у почетку незрела али се касније замењује зрелом ламеларном кости. У шупљинама између коштаних трабекула налази се остеогено везиво од кога настаје коштана срж. Окоштавање никада не захвата читаву епифизу, већ на њеној површини трајно остаје слој хијалине хрскавице дебљине 0.2-6 mm-тзв. зглобна хрскавица.

На граници између епифизе и дијафизе заостаје појас хрскавичавог ткива које се назива епифизна хрскавица или епифизна плоча (плоча раста) (сл. 8).



Copyright 2006 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Слика 8. Развој секундарног центра осификације и формирање зглобне хрскавице и епифизне плоче

У епифизној плочи, кроз читав период раста, умножавају се хондроцити који активно стварају хрскавичаво ткиво а оно се ресорбује и замењује коштаном ткивом. На тај начин кост расте у дужину а епифизна плоча увек задржава приближно исту дебљину.

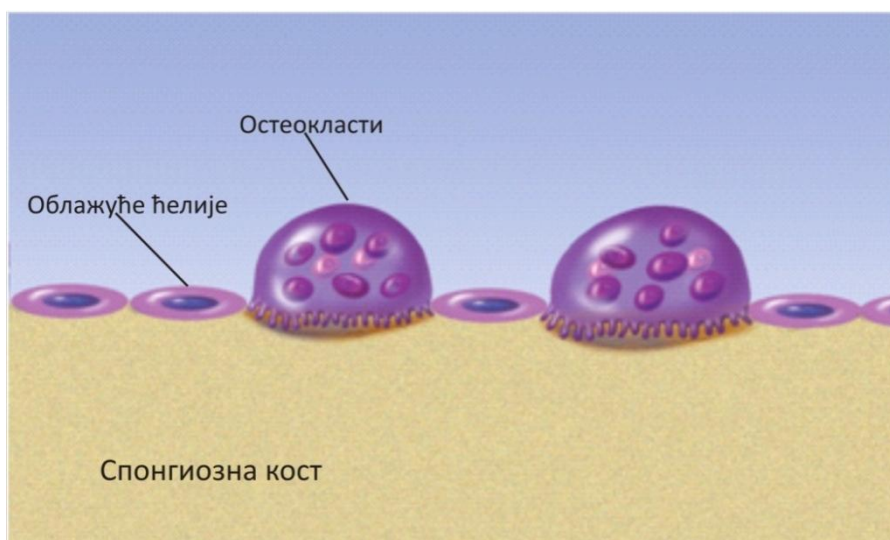
2.3 РЕМОДЕЛИРАЊЕ КОСТИ

Ремоделирање кости укључује два процеса: процес ресорпције (разградње) и процес формирања (стварања) кости које подразумевају активност остеобласта и остеокласта (Gray, 1918). Разградња старог и стварање новог коштаног матрикса (чиме се омогућава стално обнављање и одржавање коштаног ткива) одвија се током читавог живота. За процес ремоделирања неопходно је учешће:

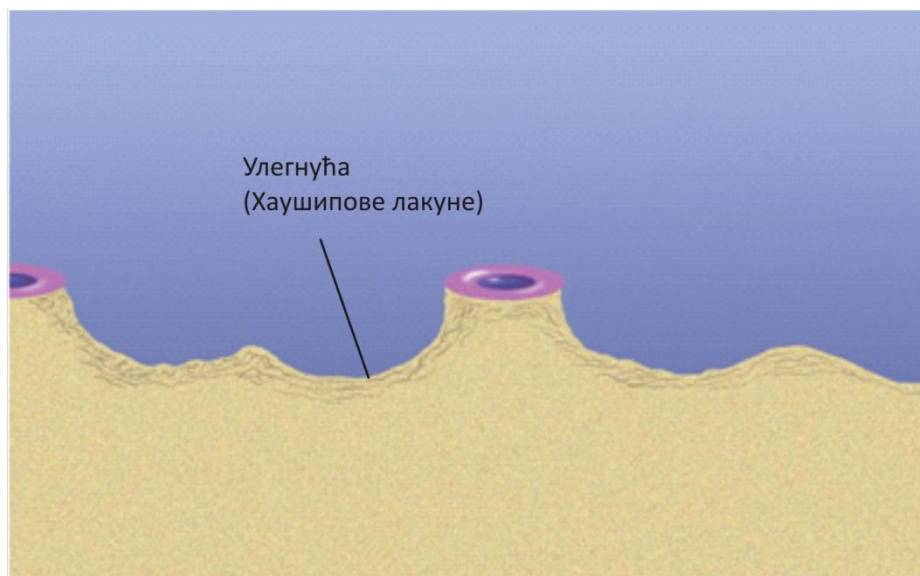
- остеобласта
- остеокласта
- коштаног матрикса
- хормона: паратхормона, калцитонина
- различитих фактора раста
- цитокина.

Обично, разградња и формирање костију су у равнотежи и одржавају чврстоћу и интегритет скелета.

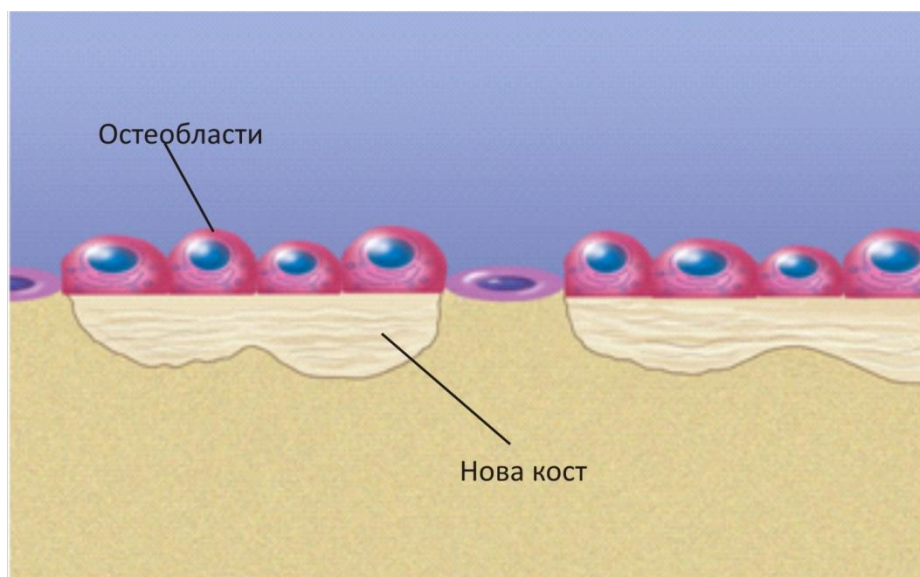
Ремоделирање костију се дешава кроз фазе које се циклично смењују. Остеобласти, првобитно неактивни, се синтетски активирају и стварају факторе који изазивају настанак прво преостеокласта а затим и њихово удруживање у остеокласте. Остеокласти разарају коштани матрикс (сл. 9) стварајући удубљења (лакуне) на његовој површини (сл. 10) које се попуњавају активношћу остеобласта и ћелија са остеогеном способношћу (сл. 11).



Слика 9. Почетак процеса ресорпције деловањем остеокласта на површину трабекуларне кости који еродирају минерал и матрикс

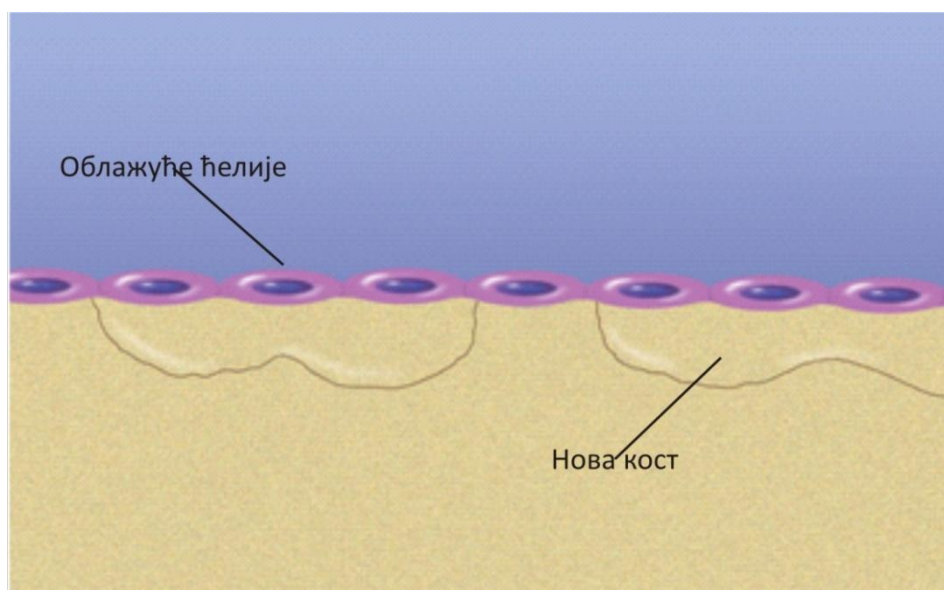


Слика 10. Процес ресорпције је завршен стварањем плитких улегнућа на површини кости тзв. Хаушипових лакуна



Слика 11. Почетак процеса формирања кости: Остеобласти обнављају површину и испуњавају еродирана улегнућа новом кости која се након тога минерализује тј. калцификује

Након калцификације кости процес ремоделирања је завршен (сл. 12).



Слика 12. Површина кости је обновљена и покривена слојем заштитних коштаних ћелија које се називају облажуће (lining) ћелије. Нова кост је калцификована и процес ремоделирања је завршен

Након тога следи опет неактиван период који је истовремено почетак новог циклуса ремоделирања. Код човека један циклус траје око 3 месеца.

3 ПРЕГЛЕД САВРЕМЕНИХ ИСТРАЖИВАЊА У ОБЛАСТИ

Мултидисциплинарност истраживања у оквиру дисертације подразумевала је преглед стања истраживања у више области и то:

- истраживања везана за постојеће концепте дизајна скафолда,
- истраживања везана за биоматеријале које се користе за израду скафолда и
- истраживања везана за технологије израде скафолда.

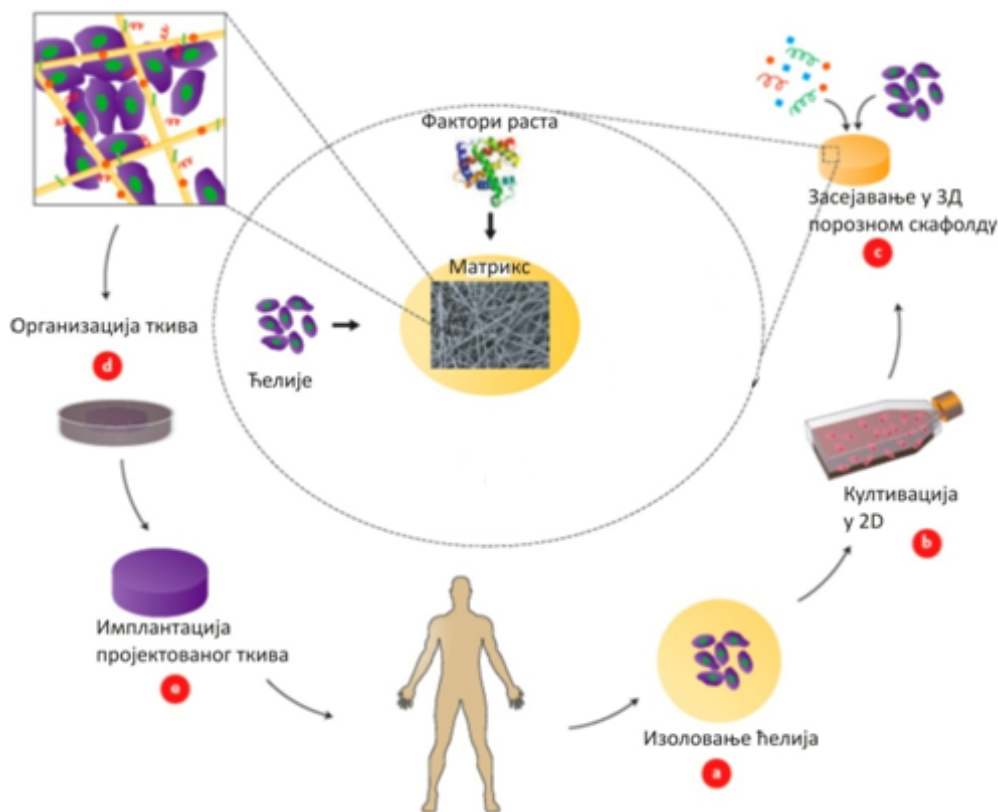
3.1 ОСНОВНИ ПРИНЦИПИ ИНЖЕЊЕРИНГА ТКИВА И ПОЈАМ СКАФОЛДА

Као што је већ поменуто ТЕ је мултидисциплинарна област која примењује принципе инжењеринга и природних наука у правцу развоја супституената за обнову, замену, одржавање или побољшање функције ткива или органа.

У основи, ТЕ покушава да опонаша (имитира) особине природног ткива. Због тога је, да би се оптимизовао развој функционалних биолошких супституената, неопходно фундаментално разумевање природног стања и окружења специфичног ткива. Биолошка ткива се у основи састоје из ћелија и ЕСМ. Ћелије изграђују ткива али не могу да функционишу без система сигнала и ЕСМ. Сигнални систем је под контролом гена који се у различитим условима и деловањем околине укључују или искључују. Сигнални молекули у међућелијској комуникацији зову се цитокини. Према томе, у различитим условима микрооколине ћелије функционисаће различити цитокински системи. Молекулски сигнали су регулатори ћелијских функција и процеса као што су узастопна деоба (пролиферација²), диференцијација, причвршћивање, миграција и сл. ЕСМ је мрежаста структура у екстрацелуларном простору која подржава причвршћивање ћелија, потпомаже пролиферацију и миграцију ћелија. Вештачке структуре које имитирају ЕСМ и подржавају формирање ткива у 3D називају се скафолди или матрице ткива. Они играју веома важну улогу у ТЕ.

² Умножавање неких састојака ћелијског ткива

Поступак ТЕ почиње изоловањем ћелија домаћина (пацијента) или донора. Након изоловања ћелије се узгајају *in vitro* и касније убацују у скафолд. Коначно се скафолд, засејан ћелијама, имплантира *in vivo* у пацијента или експерименталну животињу (сл. 13).



Слика 13. Пример уобичајеног концепта инжењеринга ткива

Многи аспекти овог процеса могу да утичу на стабилност и функционалност израђене 3D конструкције скафолда. Изолација ћелија и *in vitro* узгајање ћелија захтева оптималне услове обраде и средине (pH, температура, састав). Свака врста ткива захтева посебне услове што подразумева разумевање специфичног природног биолошког окружења *in vivo* ради обезбеђивања оптимизације узгајања ћелија *in vitro*.

Један од приступа за вођење тј. контролу понашања ћелија лежи у архитектури скафолда. Скафолд би требало да омогући формирање ткива у 3D форми омогућавајући добро пријањање ћелија, пролиферацију и организацију као и добро снабдевање хранљивим састојцима и одстрањивање штетних продуката отпада метаболизма из ћелија. Пројектовање добро функционалне конструкције захтева оптимизацију ових аспеката у случају специфичне примене.

3.1.1 ДИЗАЈН (АРХИТЕКТУРА) СКАФОЛДА

У оквиру ТЕ незаобилазни предмет проучавања као и тема расправе многих истраживачких тимова је питање дизајна тј. архитектуре скафолда као 3D конструкције која служи као привремена подршка изолованим ћелијама да прерасту у ново ткиво. Постоје различити приступи овом проблему који ће касније бити детаљније обрађени. Несумљиво је да архитектура скафолда у великој мери одређује функционалност конструкције. Иако крајњи захтеви зависе од специфичне намене скафолда, велики број научника се слаже у томе да би одређене опште карактеристике и захтеве требало улагласити и узети у обзир приликом пројектовања скафолда. При пројектовању скафолда такође треба имати у виду одговарајуће биолошке и механичке захтеве које он треба да испуни. У даљем тексту биће наведени неки од захтева које су на основу досадашњих истраживања и приступа сублимирали одређени тимови истраживача (Paremburg, 2009).

3.1.2 ЗАХТЕВИ ВЕЗАНИ ЗА ДИЗАЈН (АРХИТЕКТУРУ) СКАФОЛДА

3.1.2.1 БИОЛОШКИ ЗАХТЕВИ

Биокомпатибилност - материјал скафолда мора бити нетоксичан, да омогућава пријањање ћелија, пролиферацију и диференцијацију - да спечава одбацивање скафолда и инфламаторну реакцију.

Биоразградивост (ако се не ради о металним скафолдима) - стопа биоразградивости - материјал скафолда се мора разграђивати у нетоксичне продукте, прилагодљиве динамици регенерације ткива. Стопа разградивости скафолда мора бити компатибилна са стопом раста ткива тако да крајњи продукти садрже само природно ткиво. Материјал скафолда се мора разграђивати заједно са регенерацијом ткива и ремоделирањем ЕСМ-а у мање нетоксичне супстанце без утицаја на функцију околног ткива.

Поспешивање везивања, пријањање ћелија, организацију и пролиферацију - што је витално за контролу раста ћелија и диференцијацију.

Добре особине транспорта - да обезбеди довољан транспорт хранљивих материја ка ћелијама и одвођење продуката отпада од њих. Да би то обезбедио скафолд мора имати високу порозност са добром повезаношћу пора али са друге стране и довољну чврстоћу која подразумева оптимизацију порозности.

Лаку повезаност са васкуларним системом домаћина - да би обезбедио добро снабдевање хранљивим материјама након имплантације скафолд мора бити повезан са природним системом за снабдевање хранљивим састојцима.

Одговарајућу порозност - макро и микроструктура пора и облика, високу међуповезаност структура пора и велику површину да би се обезбедила висока густина ћелија и поспешила неоваскуларизација. Велики број пора може повећати васкуларизацију, док је мањи пречник пора пожељнији за обезбеђивање већег односа површине по маси. Типично захтевана порозност је око 90% са величином пора у опсегу 20 μm до 250 μm . Оптимална величина пора за регенерацију кости је од 100 μm до 250 μm .

Подстицање формирања ЕСМ унапређењем функције ћелија.

Способност да носе биомолекуларне сигнале као што су фактори раста.

3.1.2.2 МЕХАНИЧКИ И ФИЗИЧКИ ЗАХТЕВИ

Довољну чврстоћу и крутост - како би поднео оптерећења у околини ткива домаћина.

Одговарајућу затезну чврстоћу - која треба да буде слична тј. упоредива са чврстоћом ткива *in vivo* на месту имплантације.

Лаку стерилизацију - било излагањем високим температурама или потапањем у агенс за стерилизацију.

Одговарајуће карактеристике површине - топографија површине у скафолду побољшава организацију ткива, што даље води до побољшања функције ткива.

Дакле, неопходно је да су скафолди високо порозни, прилагођени ћелијама и да подстичу раст и регенерацију ткива у 3D структурама. Обзиром да структура коштаног ткива варира у зависности од његовог положаја у телу, архитектура скафолда и избор одговарајућих биоматеријала зависе такође од анатомске локације дефекта као и механичких оптерећења присутних на том месту. У идеалном случају, скафолд би требало да буде довољно порозан да подржи продирање ћелије, урастање ткива, брзу васкуларизацију и испоруку хранљивих материја. Штавише, скафолди треба да буду пројектовани тако да формирање нове кости у анатомски релевантним облицима и њихова кинетика деградације буду такви да скафолд задржи своје физичке (механичке) карактеристике најмање 6 месеци (за *in vitro* и *in vivo* регенерацију ткива) (Hutmacher, 2000; Karageorgiou & Kaplan, 2005). Важни параметри дизајна скафолда дати су у таб. 2.

Табела 2. Параметри дизајна скафолда у инжењерингу коштаног ткива

Параметри	Захтеви
Порозност	Максимално могућа без угрожавања механичких карактеристика
Величина пора	200–400 μm
Структура пора	Међусобно повезане поре
<i>Механичке карактеристике спонгиозне кости</i>	
Затезање и притисак	Чврстоћа: 5–10 МПа
	Модул еластичности: 50–100 МПа
<i>Механичке карактеристике компактне (кортикалне) кости</i>	
Затезање	Чврстоћа: 50–150 МПа
	Модул еластичности: 12–20 GPa
Притисак	Чврстоћа: 130–220 МПа
	Модул еластичности: 12–20 GPa
	Ударна жилавост: 6–8 МПа $\sqrt{\text{m}}$
<i>Карактеристике деградације (разградње)</i>	
Време деградације	Мора бити прилагођено да би одговарало одговарајућој примени код пацијента
Механизам деградације (разградње)	Запреминско растварање у медијуму
Биокомпатибилност	Нема хроничне упале
Стерилизација	Стерилизацијом се не мењају карактеристике материјала

Дизајн високо порозних скафолда узима у обзир њихова механичка својства и структурни интегритет, који су временски зависни. На пример, утврђено је да се притисна чврстоћа код хидроксиапатитних скафолда повећава од ~ 10 до ~ 30 МПа због урастања ткива *in vivo* (Tamaï, et al., 2002). Овај податак доводи до закључка да можда неће бити потребно да почетна механичка чврстоћа скафолда буде једнака чврстоћи кости, јер ће узгајане ћелије на скафолду *in vitro* створити биокомпозите и значајно повећати чврстоћу истог.

Још један фактор који утиче на дизајн скафолда је потреба за васкуларизацијом и ангиогенезом у конструкцији (Sedrakyán, Zhou, Perin, Leach, Mooney, & Kim, 2006). *In vitro* инжењерски приступи се суочавају са проблемом критичне дебљине, у току регенерације ткива у одсуству праве васкуларизације (Radišić & Vunjak-Novaković, 2005). Дифузне баријере које су присутне у *in vitro* условима могу постати штетне у *in vivo* условима због недостатка васкуларизације. Када се пројектована конструкција ткива смести у тело, васкуларизација постаје кључно питање за даље ремоделирање у *in vivo* окружењу.

Дакле, ангиогенеза је суштински корак у колонизацији макропорозних биоматеријала у току осеоинтеграције. Капилари доносе остеопрогениторне ћелије и хранљиве састојке који су потребне за њихов раст. Они транспортују

нарочито бројне ангиогенезне факторе раста (Henno, Lambotte, Glez, Guigand, Lancien, & Cathelineau, 2003).

Истраживања су показала да су главни критични фактори који утичу на формирање костију величина пора и међуповезаност пора скафолда. Величина пора се односи на *in vivo* урастање коштаног ткива, омогућавајући миграцију и пролиферацију остеобласта и мезенхимских ћелија и акумуляцију матрикса у празном простору (Mastrogiacomo, et al., 2006). Међуповезаност пора обезбеђује канал за дистрибуцију и миграцију ћелија омогућавајући ефикасно *in vivo* формирање крвних судова. Непотпуна међуповезаност пора би могла ограничити и успорити нормалну функцију крвних судова. Мала величина пора може ометати адхезију ћелија и урастање кости. Васкуларизација кости, поред снабдевања хранљивим састојцима битним за опстанак ткива, такође игра кључну улогу у координисању активности костних ћелија и њиховој миграцији за формирање нових костију (Oudadesse, Derrien, & Lucas-Girot, 2005).

Неколико студија је истраживало минималне величине пора потребних за регенерацију минерализоване кости. Минимални захтев за величину пора је око 100 μm због величине ћелија, миграције и транспорта. Међутим, величина пора >300 μm се препоручује због побољшана стопе раста нове кости и формирања крвних судова (Karageorgiou & Kaplan, 2005; Gittings, Turner, & Miles, 2005). Са друге стране нека истраживања су показала да величине пора у опсегу од 300-500 μm поспешују васкуларизацију и транспорт масе хранљивих састојака и продуката отпада, а скафолди одржававају добар механички интегритет током *in vitro* узгајања и *in vivo* трансплантације (Rezwan, Chen, Blaker, & Voccaccini, 2006).

Подједнако је важно знати да скафолди у ТЕ морају да имају побољшане биолошке функције. Дакле, укључивање фактора раста, као што су фактори раста костију (BGF), васкуларни фактора раста (VGF) или специфичне пептидне секвенце унутар скафолда или на њиховој површини се сматра као део интегралног дизајна скафолда. Штавише, да би се побољшало причвршћивање и раст ћелија, површина гредица скафолда "мора да буде претходно обрађена" (процес који се зове функционализација површине) (Chen, Rezwan, Armitage, Nazhat, & Voccaccini, 2006). Пројектовање површинских карактеристика скафолда је важан корак да се постигну успешне *in vitro* и *in vivo* апликације.

3.1.3 ПРЕГЛЕД КОНЦЕПАТА ДИЗАЈНА (АРХИТЕКТУРЕ) СКАФОЛДА

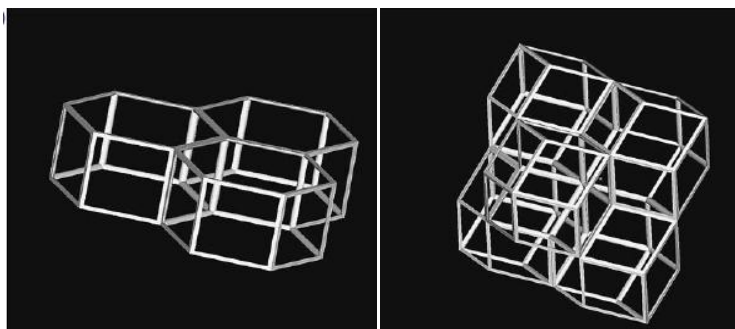
Постоји низ покушаја од стране истраживача да се направи дизајн скафолда са контролисаном унутрашњом архитектуром, што је омогућено тек појавом CAD и AT. Један од приступа који је често коришћен подразумева бирање јединичне

ћелије са унапред дефинисаном унутрашњом структуром из библиотеке јединичних ћелија. Архитектура скафолда се добија спајањем геометрије добијене понављањем изабране јединичне ћелије у три правца до величине имплантата и геометрије имплантата добијене уз помоћ метода реверзног моделирања применом одговарајућих Булових операција. У неким студијама, уместо унапред дефинисаних библиотека јединичних ћелија, тополошка оптимизација је коришћена у циљу пројектовања јединичних ћелија који уклапају различите механичке особине костију са датим ограничењима у порозности. Постоје и други специфични приступи међу којима су најкарактеристичнији приказани у овом прегледу.

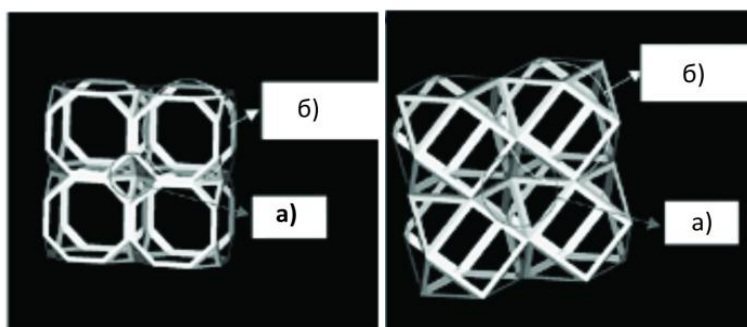
3.1.3.1 ДИЗАЈН ЗАСНОВАН НА ЈЕДИНИЧНИМ ЋЕЛИЈАМА (UNIT CELL BASED DESIGN)

(Chua C., Leong, Cheah, & Chua, 2003; Chua C., Leong, Cheah, & Chua, 2003) су анализирали погодност различитих полиедарних облика за употребу као јединичне ћелије скафолда. Само отворене ћелијске структуре код којих ћелије чине само ивице и ћелије повезане преко отворених страна су се показале погодним за израду порозних конструкција скафолда.

Елиминисани су пшполиедри са било којим од следећих карактеристика: 1.Они који само могу да се правилно понављају у 3D простору спајањем темена или ивица, 2. Полиедри који имају велики број малих страна. Укупно 11 полиедарних облика је одабрано и накнадно подељено у две категорије: ћелије које могу да попуњавају простор без остављања празнине (сл. 14) и ћелије које могу да попуњавају простор остављајући празнине (сл. 15).

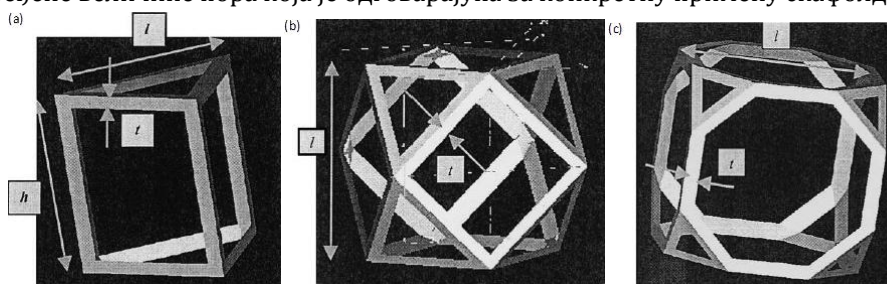


Слика 14. Примери ћелија које попуњавају простор без остављања празнине; лево: три шестоугаоне призме; десно: пет ромбичних додекаедара



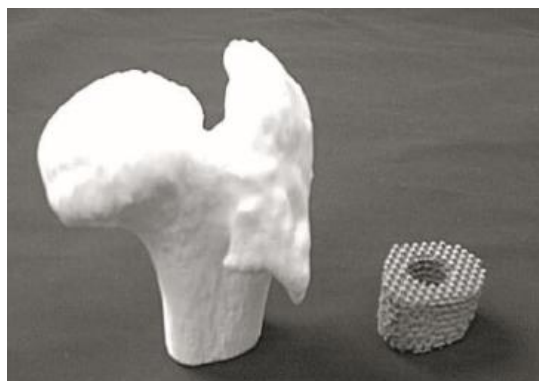
Слика 15. Примери ћелија које попуњавају простор остављајући празнине; лево: четири зарубљене коцке, десно: четири кубоктаедра а) празнина, б) простор испуњен ћелијама

Изабрани полиедрални облици (сл. 16) су моделирани у ProEngineer-у тако да се променом минималног броја димензија јединичне ћелије могу скалирати до одређене величине пора која је одговарајућа за конкретну примену скафолда.



Слика 16. а) тространа призма, б) кубоктаедар (категирија 1), в) зарубљена коцка (категирија 2)

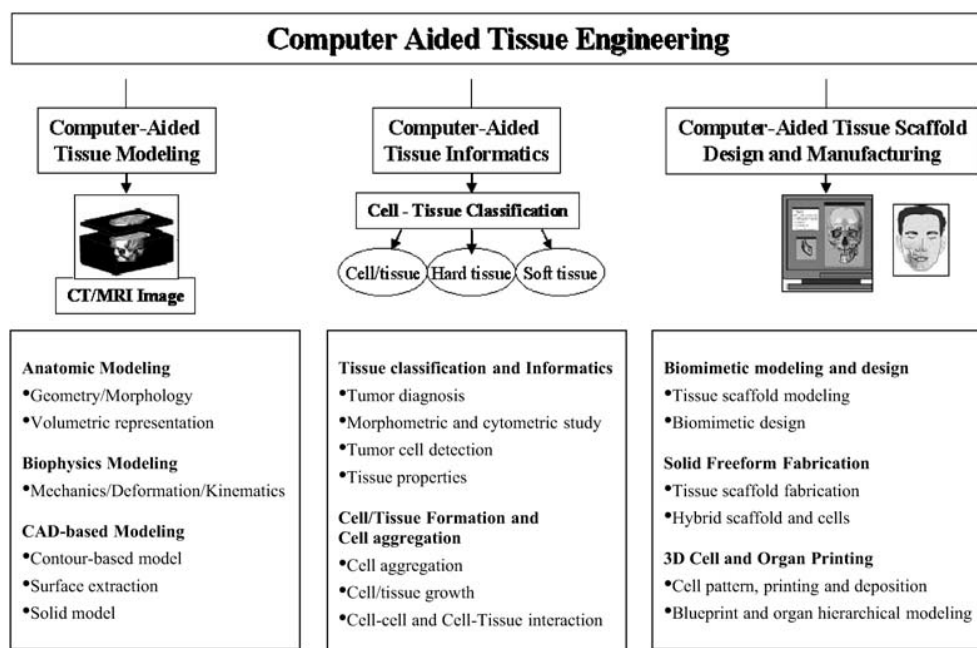
Креирана параметарска библиотека јединичних ћелија скафолда пружа могућност одређивања параметарских вредности као што су величина пора, однос површине и укупне запремине ћелија и порозности. Модел скафолда се генерише бирањем одговарајуће јединичне ћелије из библиотеке (зависно од порозности, односа површине и запремине и захтеваних механичких карактеристика), променом величине и аутоматским састављањем (склапањем) пратећи профил површине одговарајућег ткива (органа). Да би се верификовао концепт и развијени алгоритам за аутоматску израду скафолда, израђени су скалирани модели јединичних ћелија и скафолди са различитим дебљинама гредица, од PA (polyamide), коришћењем технологије селективног ласерског синтеровања (SLS). Сви потребни кораци су имплементирани кроз систем који је назван CASTS (енг. Computer Aided System for Tissue Scaffolds) (Naing, Chua, Leong, & Wang, 2005). Алгоритам CASTS-а омогућава аутоматско генерисање ТЕ структуре која је погодна за специфичну примену. Ради провере система, генерисан је и израђен пацијенту прилагођен скафолд (сл. 17).



Слика 17. Сегмент фемура (лево) и израђен прилагођен скафолд (десно)

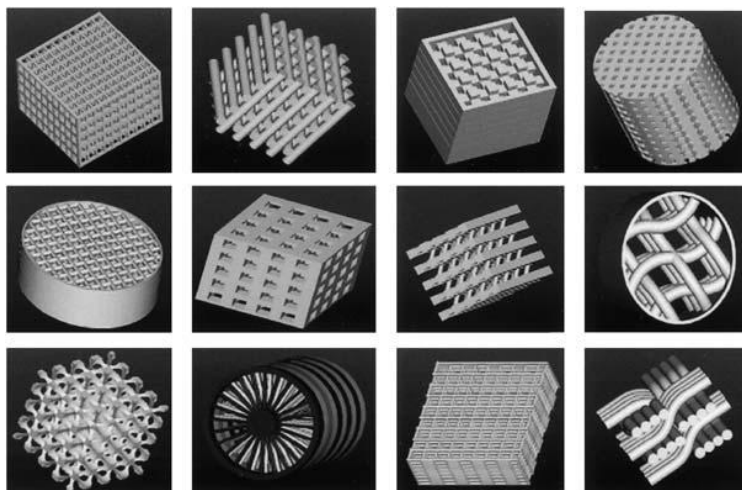
Резултати тестирања су показали да се уз помоћ библиотеке скафолда и алгорита, коришћењем SLS технологије, могу израдити одрживи скафолди са конзистентном и поновљивом микроархитектуром. Међутим ови скафолди нису коришћени у *in vitro* или *in vivo* тестирањима.

(Sun, Darling, Starly, & Nam, 2004; Sun, Starly, Darling, & Gomez, 2004; Temenoff & Mikos, 2000; Sun, Starly, Nam, & Darling, 2005; Lal & Sun, 2004) су представили нови приступ за биомиметички дизајн (дизајн по узору на природу) скафолда за тврда ткива који су назвали CATE (енг. Computer Aided Tissue Engineering) чији је преглед дат на сл. 18. CATE приступ почиње аквизицијом сликовних података (СТ/MRI) погођеног тј. посматраног ткива праћеном 3D реконструкцијом анатомске структуре користећи адекватан медицински софтвер за обраду сликовних података. Следећи корак подразумева креирање јединичних ћелија коштаног скафолда (за тврда ткива) помоћу одговарајућег CAD софтвера. Механичке карактеристике јединичних ћелија ових скафолда се одређују коришћењем FEA и упоређивањем са механичким карактеристикама области ткива коју треба заменити. Јединичне ћелије са одговарајућим механичким карактеристикама се бирају као јединичне ћелије кандидати за генерисање скафолда. Ове ћелије се затим подвргавају процесу евалуације према њиховој унутрашњој архитектури и захтеваној биолошкој намени.



Слика 18. САТЕ приступ

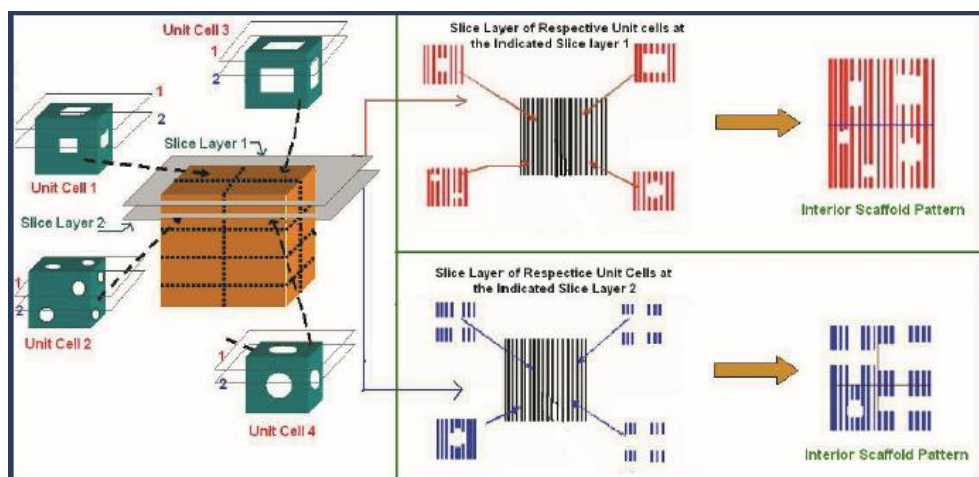
Скафолди се креирају спајањем селектованих јединичних ћелија (сл. 19) и реконструисаног 3D модела ткива коришћењем одговарајућих Булових операција.



Слика 19. Примери пројектованих јединичних ћелија скафолда

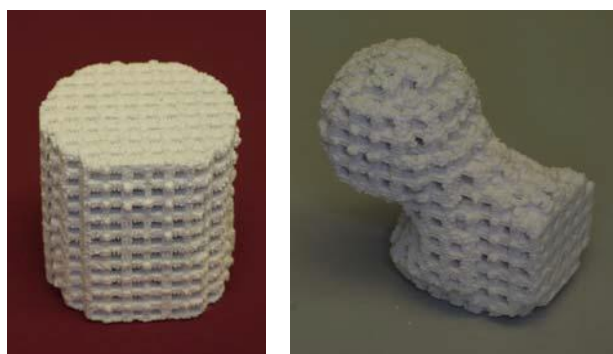
Полазећи од тврдње да изразито комплексну структуру, која настаје комбинавањем већег броја јединичних ћелија различите архитектуре, није могуће прецизно представити коришћењем расположивих CAD система, (Starly,

Lau, Sun, Lau, & Bradbury, 2004) су развили нови приступ, Internal Architecture Design (IAD), за генерисање инструкција за планирање процеса за израду биомиметички пројектованих скафолда (сл. 20). Овај приступ омогућава генерисање инструкција за планирање процеса без креирања комплексних CAD модела скафолда.



Слика 20. Методологија IAD

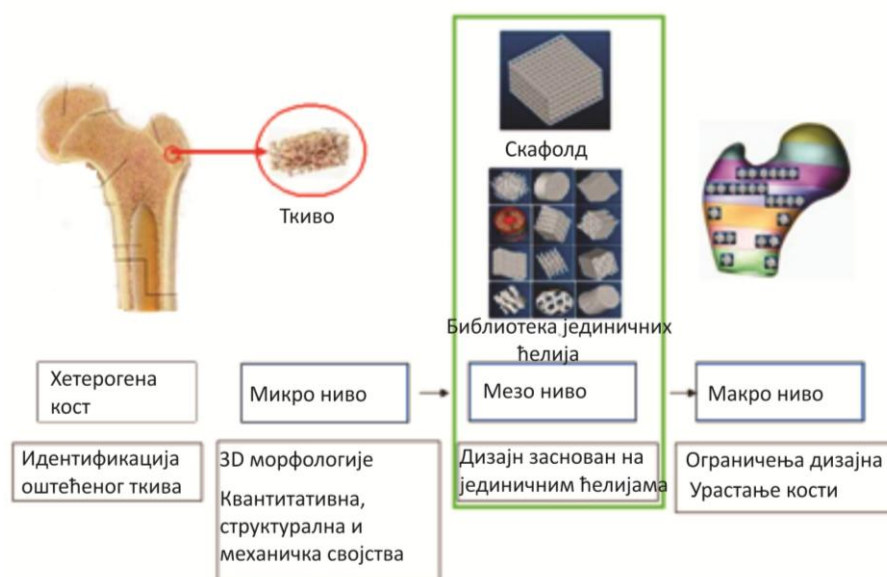
Алгоритам је тестиран на неколико једноставних и сложених модела. Скафолди су израђени коришћењем TheriForm машине (адаптирана технологија 3D штампања- ZDP) од глинице (сл. 21).



Слика 21. Израђени модели

Главни недостатак овог приступа је немогућност добре визуелизације и то нарочито скафолда са комплексном унутрашњом архитектуром. То је због тога што овај приступ подразумева имплицитно представљање CAD модела код кога су јединичне ћелије различитих архитектура распоређене у простору.

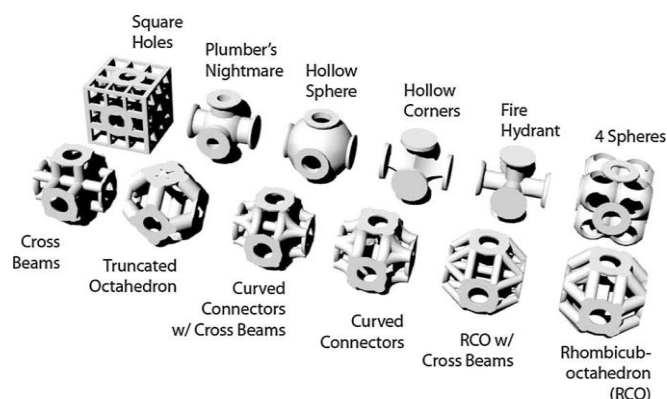
(Gomez, 2007) је развила нови метод који подразумева вишенивојско биомиметичко моделирање базирано на јединичним ћелијама (сл. 22).



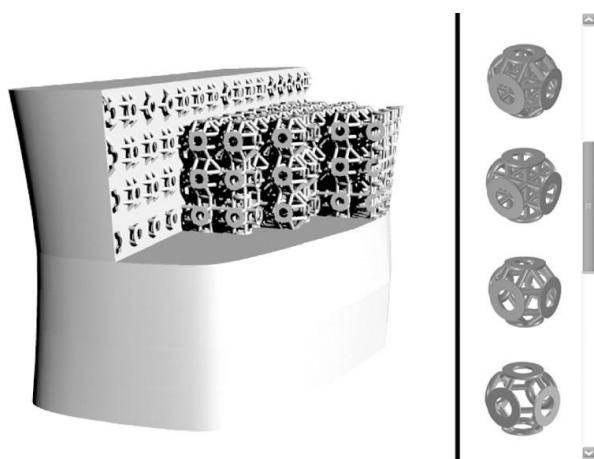
Слика 22. Вишенивојско моделирање кости

Она уводи мезо скалу (ниво) као везу између микро и макро скале (нивоа) како би се приликом пројектовања укључили захтеви и микро и макро нивоа. Истраживање такође уводи јединичну ћелију као платформу (основу) за пројектовање на мезо нивоу. За сваку јединичну ћелију су дефинисани параметри који се односе на геометријска, структурна, механичка, транспортна и биолошка својства (информатика јединичне ћелије), као и рачунарске и инжењерске приступе потребне за процену ових својстава (Gomez, Shokoufandeh, & Sun, 2007). Избор и распоређивање јединичних ћелија у скафолду се врше на основу података које даје информатика јединичне ћелије. На овај начин формирана је платформа код које се промене приликом пројектовања било на микро или макро нивоу рефлектују на остале нивое, формирајући на тај начин континуум између нивоа.

(Wettergreen, Bucklen, Yuksel, & Liebschner, 2005) су креирали библиотеку микроархитектура (сл. 23) за примену у САТЕ, чијим се склапањем могу креирати скафолди са комплексном унутрашњом архитектуром (сл. 24).



Слика 23. Библиотека регуларних полиедара



Слика 24. Коришћење библиотеке градивних блокова тј. јединичних ћелија и њихово распоређивање на адекватним локацијама (у зависности од захтева) за израду једног сложеног модела као што је тело пршљена

Ове микроархитектуре бивају састављене у складу са карактеристикама тока перфузије (порозности, пропустљивости) и механичким особинама (крутост, чврстоћа), који су дефинисани од стране пројектаната, а према анатомској локацији и одговарајућој примени.

Према ауторима постоје два приступа које треба узети у обзир приликом израде примитива скафолда. Први је метод јединичне коцке (енг. Unit Cube Method) који подразумева креирање различитих облика скафолда уз помоћ целог опсега независних променљивих дизајна. Други је интерфејс метод који се користи у ситуацијама када је облик примитива непознат, али су интерфејс и контактни углови суседних примитива познати. Аутори су се фокусирали на први метод.

Представљене су две библиотеке и то: 1) аналитички добијена библиотека правилних полиедара и 2) изведена (имитирајући грађу ткива), библиотека

трабекуларне кости. Направљен је скафолд тела пршљена коришћењем аналитички добијене библиотеке.

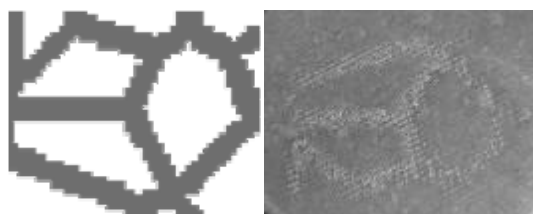
3.1.3.2 ДИЗАЈН ЗАСНОВАН НА СЛИКОВНИМ ПОДАЦИМА (IMAGE-BASED DESIGN)

(Fang, Starly, Shokufandeh, Regli, & Sun, 2005) су развили рачунаром потпомогнут приступ моделирању који подразумева симулирање структуре кости на макроскопском и микроскопском нивоу. Опонашање на макроскопском нивоу (спољашњост кости) подразумева коришћење дигиталне слике кости пацијента ниске резолуције. Сlike високе резолуције микроструктуре кости се користе за предвиђање корелационе функције, микроструктурне дескриптор функције и опис саме микроструктуре са циљем описивања природне тј. случајне (насумичне) микроструктуре кости. Алгоритам развијен од стране аутора омогућава реконструкцију вишенивојског воксел модела кости (сл. 25).



Слика 25. Микроскопски, макроскопски и вишенивојски воксел модел кости

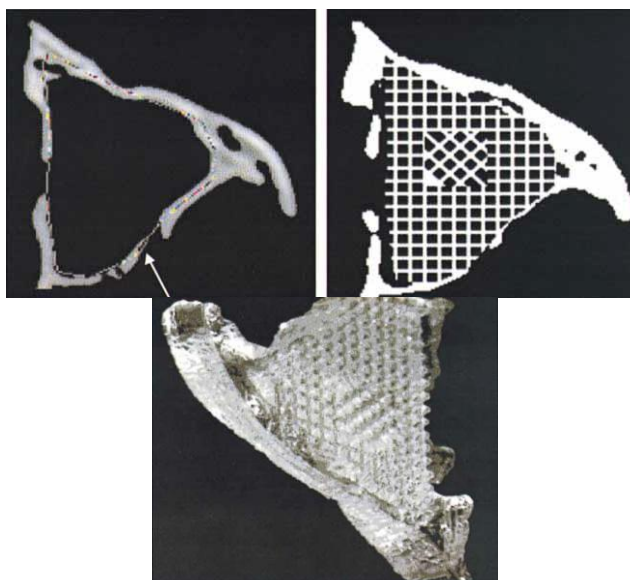
Ради потврђивања концепта аутори су на основу једноставног воксел модела израдили узорак на самостално пројектованом Direct Fabrication Inkjet Plotter систему (сл. 26).



Слика 26. Једноставан воксел модел (лево); Израђен Na-Alginate узорак на основу воксел модела (десно)

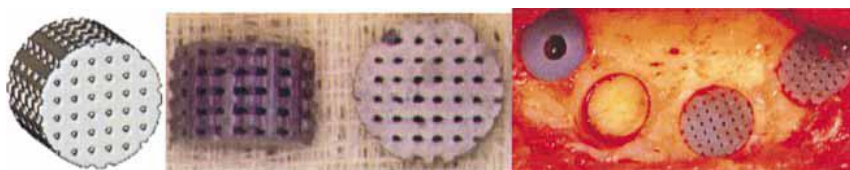
(Hollister, Levy, Chu, Halloran, & Feinberg, 2000) су презентовали метод који користи дизајн заснован на сликовним подацима за креирање пацијенту прилагођених краниофацијалних скафолда помоћу података са СТ или MRI снимка. За генерисање унутрашње архитектуре скафолда се користи оптимизација хомогенизацијом базираном на сликама код које се унутар јединичне коцке врши подешавање воксела на 0 за празан простор и 1 за материјал. Коришћењем математичких формула могу се, у оквиру јединичне коцке, креирати ентитети попут цилиндара, сфера итд. Понављањем коцке, уз

помоћ софтвера развијеног од стране аутора, се генерише унутрашња архитектура скафолда. Коришћењем софтвера за обраду слике и подешавањем густина пуног и празног воксела код слике дефектног подручја, слике унутрашње архитектуре и празног простора, могуће је комбиновати слику дефектног подручја са сликом унутрашње архитектуре. Овај приступ је тестиран кроз израду скафолда за кондиле темпоромандибуларног зглоба (ТМЈ) прасића и пода орбите од епокси смоле коришћењем стереолитографије (SLA) (сл. 27).



Слика 27. Израђени скафолд пода орбите

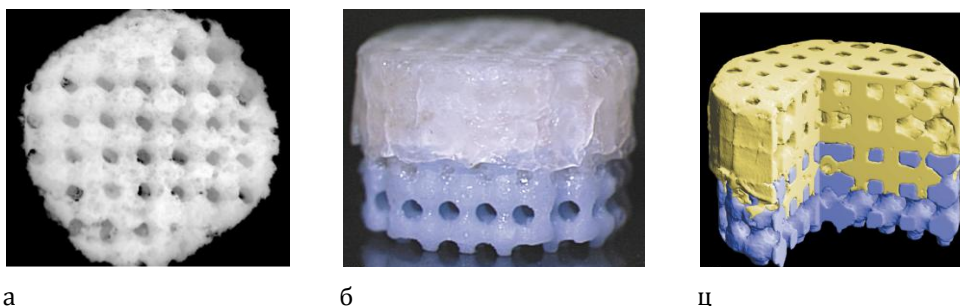
Такође су израђене архитектуре скафолда (8 mm) цилиндричних облика, од хидроксиапатита (НА) и тестиране *in vivo* (сл. 28).



Слика 28. Пројектовани скафолд као цилиндар са ортогоналним порама, израђен скафолд од НА; имплантација истог у мандибулу прасића

(Taboas, Maddox, Krebsbach, & Hollister, 2003) су са аспекта дизајна дошли на идеју да комбинују локалну и глобалну порозност. Глобална порозна архитектура и спољашњост скафолда се израђују уз помоћ *image-based design* метода развијеног од стране (Hollister, Levy, Chu, Halloran, & Feinberg, 2000). Локална порозна архитектура се израђује коришћењем конвенционалних технологија. У циљу превазилажења ограничења директних адитивних технологија (АТ) израде и искоришћења предности израде локалних пора, они су

развили индиректну АТ израде која је компатибилна са методом пројектовања на бази сликовних података. Ради потврђивања оваквог приступа израђени су скафолди од различитих материјала коришћењем различитих индиректних АТ. Показало се да скафолди са оваквим дизајном могу имати широку примену у ТЕ. Преко глобалних пора је могуће повећати дифузију хранљивих супстанци до ћелија засађених у локалним порима. Исте могу служити и као канали преко којих ће се вршити урастање крвних судова. Аутори су израдили скафолде са пројектованим глобалним порима $\geq 100\mu\text{m}$ и архитектуром локалних пора са детаљима од 10-100 μm . Израђени су порозни дискретни композити који укључују синтеровану керамику (НА), полимере (PLA-Poly(lactic acid); PGA-Poly(glycolic acid) и комбинације једних и других у једном скафолду (сл. 29).



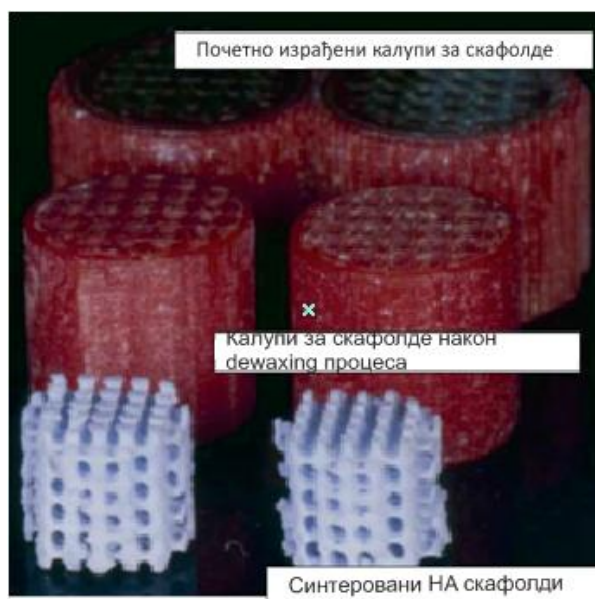
Слика 29. а) Глобално и локално порозан PLA скафолд израђен техником *salt leaching*, 8 mm пречник 8 mm висина; б) бифазни PLA/НА керамички (врх=PLA, жут=PLA, плав=НА); в) μCT бифазног скафолда са одстрањеним делом да би се демонстрирало спајање обе фазе. PLA је у директном контакту са НА

Као пример како се ови скафолди могу користити у инжењерингу ткива, пројектован је PLA/НА композит за употребу код ортотопског дефекта. Израђена је реплика микроскопске структуре људске трабекуларне кости коришћењем развијених АТ.

3.1.3.3 ТОПОЛОШКА ОПТИМИЗАЦИЈА

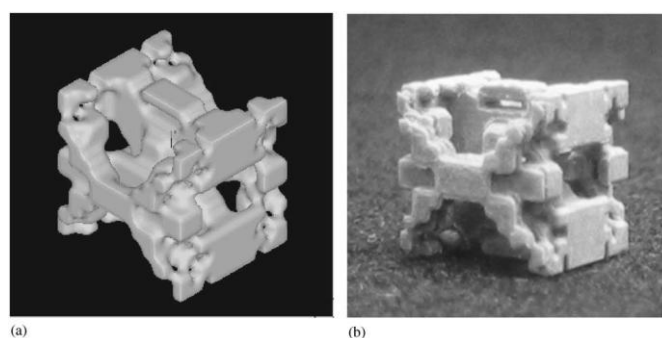
(Hollister, Maddox, & Taboas, 2002) су презентовали *Image-Based Homogenization Optimization* (оптимизација хомогенизацијом базирана на сликама) приступ који у комбинацији са АТ, омогућава креирање скафолда, при чему и скафолд као и евентуално реконструисано ткиво имају крутост која одговара крутости ткива домаћина, док у исто време задовољава ограничења везана за порозност скафолда, материјал и израду. Теорија хомогенизације је коришћена за израчунавање односа између микроструктуре скафолда и ефективне крутости. Овај приступ узима у обзир ограничен број параметара дизајна (Hollister, Taboas, Schek, Lin, & Chu, 2005).

У циљу тестирања концепта израђени су калупи који су коришћени за израду скафолда ливењем (сл. 30).



Слика 30. Скафолди израђени на Solidscape Model Maker 2

У даљем раду су (Lin, Kikuchi, & Hollister, 2004) представили алгоритам тополошке оптимизације базиране на хомогенизацији (енг. homogenization-based topology optimization) као резултат развијене оптимизационе шеме засноване на сликовним подацима за 3D унутрашњу архитектуру скафолда. Ова шема дозвољава креирање унутрашње архитектуре скафолда која поседује жељена еластична својства и порозност у исто време. Овај приступ има значајне предности над приступом ограничене оптимизације (Hollister, Maddox, & Taboas, 2002). Он нуди шире могућности дизајна и могућност остваривања различитих особина материјала и порозности прилагођавањем микроструктуре са различитим биокompatibilним материјалима. Ради тестирања концепта пројектоване су и израђене микроструктуре кондила фемура, кристе илијаке и пресећег мандибуларног кондила коришћењем 3D Ink Jet Printing (сл. 31).

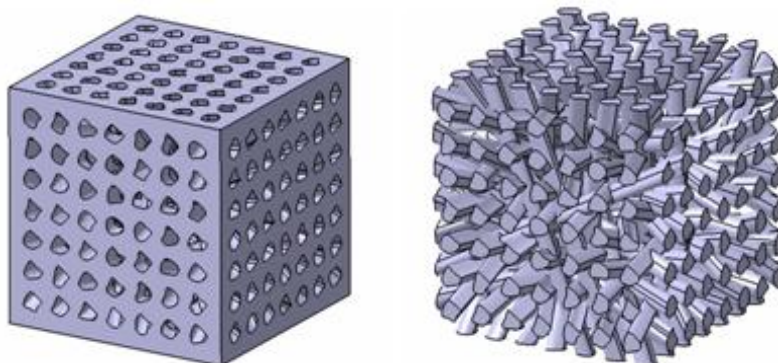


Слика 31. Пројектована микроструктура људског дисталног фемура:
а) STL модел, б) прототип израђен уз помоћ 3D Ink Jet Printing,
Sanders Model Maker 2, 10 mm × 10 mm × 10 mm)

У (Hollister & Lin, 2007) коришћене су директна техника и техника тополошке оптимизације за креирање архитектура скафолда, са циљем идентификације оних чија је крутост у великој мери у оквиру теоретских граница ефективне крутости и ради одређивања који опсеци еластичних и пермеабилних својстава могу бити покривени овим техникама.

3.1.3.4 СПЕЦИФИЧНИ ПРИСТУПИ

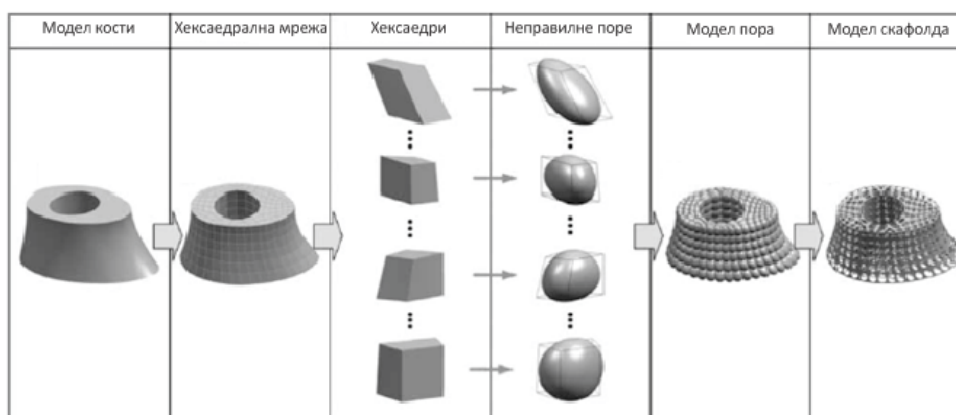
(Ramin & Harris, 2006; Ramin & Harris, 2009) су предложили методологију аутоматизованог дизајна (пројектовања) која комбинује употребу објектно оријентисаног програмирања и CAD софтвера, чиме се омогућава брзо креирање великог броја различитих геометријских елемената. Ова методологија дозвољава брз дизајн и интеграцију комплексне мреже канала унутар скафолда одређених сетом (скупом) параметара који се могу мењати у софтверу како би се добиле жељене карактеристике дефинисане унутрашњом архитектуром ткива омогућавајући на тај начин флексибилност у дизајну. Пет скафолда у облику коцке, са међусобно повезаним каналима пора који се крећу од 200 - 800 μ m у пречнику, направљено је коришћењем ове методологије (сл. 32).



Слика 32. лево) скафолд; десно) теоретски регенерисана кост

Овај метод примарно узима у обзир биолошке захтеве и не укључује израчунавање механичких карактеристика скафолда. Такође нема прецизну калкулацију величине пора, параметара везаних за порозност и међуповезаност пора.

(Cai & Xi, 2009) су представили приступ заснован на морфолошки контролисаном моделирању за конструисање ТЕ коштаних скафолда (сл. 33). Главна предност овог приступа је могућност да се креирају скафолди са различитим порама неправилног облика коришћењем функције облика коначног елемента.



Слика 33. Моделирање коштаног скафолда (Булова разлика)

Облик пора је контролисан од стране јединичних запремина добијених дељењем модела. Хексаедар је изабран као јединична запремина и контролни полиедар. Аутори уводе основну јединицу за прављење пора која представља јединицу која се може мапирати у разне јединице пора неправилног облика и изабрали су сферу чија су два каја одсечена, као основну јединицу за креирање пора. Изопараметарска трансформација је коришћена за мапирање основне јединице у произвољну јединицу (пору неправилног облика). Слика 34 приказује модел коштаног скафолда који је израђен овим методом.



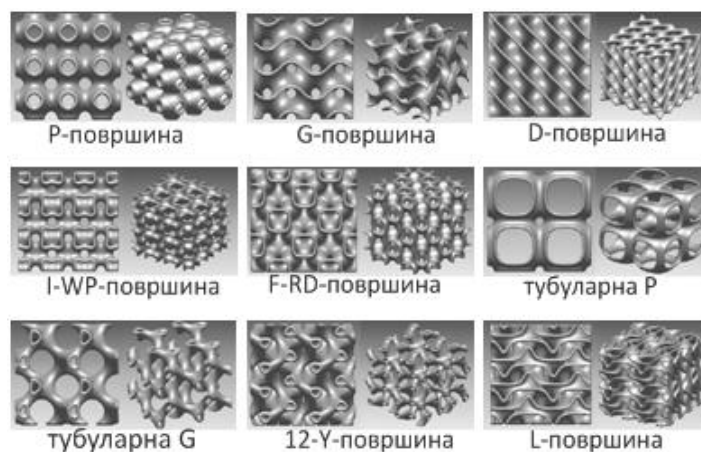
Слика 34. Израђен модел коштаног скафолда

Овај метод је коришћен за моделирање порозне трабекуларне кости. У будућем раду аутори планирају да истраже како да моделирају Хаверсове и Фолкманове канале у компактној кости.

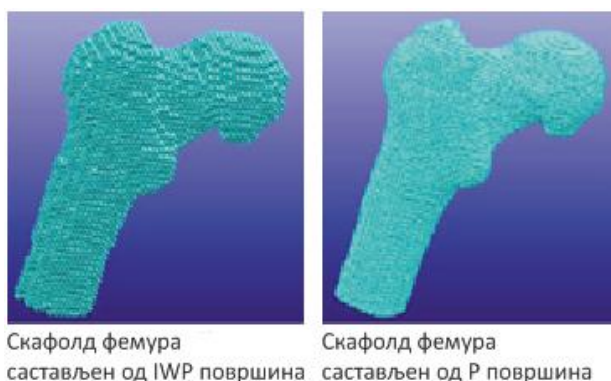
(Lal & Sun, 2004) су развили приступ за креирање тродимензионалне структуре скафолда који је базиран на CAD моделирању по моделу паковања који користи микросфере. Приступ укључује и геометријско тј. CAD моделирање. У оквиру геометријског моделирања је, на основу SEM (Scanning Electron Microscope) слика

синтетизованог графта кости, креиран основни модел паковања који користи микросфере. Број микросфера у претпостављеном основном моделу паковања је одређен на основу одговарајућег математичког прорачуна. Разматрана су два екстремна случаја паковања микросфера и то: паковање минималне густине (максималне порозности и ћелија затворене структуре кости) и паковање максималне густине (минималне порозности и ћелија отворене структуре кости). За ове случајеве паковања је одређен број микросфера. Пошто се права кост састоји од ћелија отворених и затворених структура, број микросфера у синтетизованом графту кости (комбинација оба случаја паковања) је израчунат коришћењем статистичког приступа. За дефинисан пречник микросфера се може предвидети величина пора. Такође је спроведена параметарска студија о утицају пречника микросфере на број микросфера у графту и величину пора.

(Yoo, 2011) је предложио нови метод за моделирање који користи троструко периодичне минималне површи (енг. Triply Periodic Minimal Surfaces-(TPMS)) као основни елемент за креирање пора у 3D скафолдима са циљем превазилажења ограничења по питању геометрије елемента за креирање пора (јединичне ћелије). TPMS су од посебног интереса јер њихова структура јако наликује физичким структурама тј. природи. Главни допринос ових аутора је у томе што су TPMS употребили за израду елемената за креирање пора. Приказ различитих примера солид модела за типичан TPMS дати су на сл. 35 док су различити модели коштаных скафолда израђени коришћењем TPMS метода приказани на сл. 36.



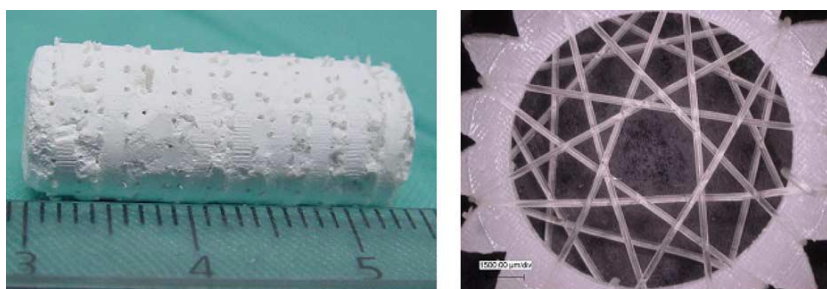
Слика 35. Различити примери солид модела за типичан TPMS



Слика 36. Различити модели коштаних скафолда

(Lian, Li, Tang, & Zhang, 2006) су представили нову концентричну микроструктуру вештачке кости. 3D концентрична архитектура се добија ређањем низа 2D концентричних структура које имају исти математички модел. 2D структуре могу имати различите структуралне шаблоне који се добијају променом параметара модела. Међу улазним параметрима налазе се и порозност, висина и полупречник вештачке кости. Развијен је посебан софтвер за конструисање концентричних архитектура (власкнастих структура). Овако конструисане и израђене структуре се убацују у CPC (Calcium Phosphate Cement) да би се израдила влакнима ојачана вештачка кост са контролисаном унутрашњом архитектуром и жељеном порозношћу. Такође је потврђено да ова ресорбујућа влакна, убачена у вештачку кост, могу обезбедити краткорочну чврстоћу и могу се разградити знатно брже од HA остављајући макропоре погодне за урастање кости.

Цилиндрични скафолди са CPC влакнима, висине 23 mm и пречника 10 mm су израђени коришћењем индиректне AT (сл. 37).



Слика 37. Скафолд са СРС влакнима и унутрашња 2D концентрична структура влакана

3.1.3.5 ЈЕДНОСТАВАН ДИЗАЈН

Велики број аутора је приликом дизајнирања скафолда користио правилне геометријске ентитете. Мењањем димензија и распореда ентитета утврђује се утицај истих на функцију скафолда у *in vitro* или *in vivo* условима. За овакав тип дизајна је израђен највећи број експерименталних узорака коришћењем различитих АТ.

3.2 БИОМАТЕРИЈАЛИ ЗА ИЗРАДУ СКАФОЛДА

Основни захтеви за биоматеријале који се користе за израду скафолда су њихова биокомпатибилност и одговарајућа површинска својства у корист причвршћивања ћелија, пролиферације и диференцијације.

Зависно од варијације у механичким својствима, која се захтевају код меких или тврдих ткива, користе се различите класе биоматеријала.

За израду скафолда за мека ткива (скелетни мишићи, кардиоваскуларни субституенти) користи се широк опсег различитих полимера. Са друге стране, за скафолде који се користе као замена за тврда ткива користе се одређене врсте полимера, керамике и метали. Често коришћени биоматеријали потичу од широког спектра природних као и вештачких извора. Преглед најчешће коришћених материјала у инжењерингу меких ткива дат је у табели 3.

Табела 3. Материјали који се најчешће користе у инжењерингу меких ткива

Порекло	Полимер(фамилија)
Природно	Collagen/колаген компонента ECM, Fibrin/фибрин, Gelatin/гелатин, (PHB)Poly(hydroxybutyrate)/поли(хидроксибутират), (PS)Polysaccharides/полисахариди и то најчешће Hyaluronic acid/хијалуронска киселина, Chitosan/хитосан, Starch/скроб и Alginates/алгинати

Порекло	Полимер(фамилија)
Синтетичко	Poly(esters)/полиестери и то најчешће Poly (α -hydroxy acids)/поли(α хидрокси киселине): Poly(lactic acid) (PLA) полилактична киселина и poly(glycolic acid) (PGA) полигликолна киселина , Poly(ϵ -caprolactones)/поли ϵ -капролактани, Poly(propylene fumarates) (PPF) поли(пропилен фумарати), Poly(anhydrides)/полианхидриди, Poly(orthoesters)/полиортоестри

Израда скафолда за тврда ткива обухвата различите класе материјала: полимере, керамику, композите и метале. У табели 4 су дати материјали који се интензивно користе за израду тврдых ткива у инжењерингу ткива, поред полимера који су дати у табели изнад.

Табела 4. Материјали који се најчешће користе у инжењерингу тврдых ткива

Класа материјала	Тип
Crystalline ceramics (Кристална керамика)	HA који је најчешће у употреби обзиром да је неорганска компонента природне кости
	Tricalcium phosphate(TCP)/трикалцијум фосфат
	Calcium metaphosphate/калцијум метафосфат
Amorphous glasses (Аморфна стакла)	Silica Bio-glass /биостакло
Композити	Hydroxyapatite/poly(ϵ -caprolactone), chitosan, и/или collagen (хидроксиапатит/ поли(ϵ -капролактан)/хитозан и/или колаген); Titanium/calcium phosphate (титанијум/калцијум фосфат), polyvinyl alcohol (поливинил алкохол), и/или бор: PLA, TCP, silica, и/или ceramic (полилактична киселина, трикалцијум фосфат, силицијум и/или керамика)
Метали	Stainless steel (нерђајући челик) Titanium (титанијум) и његове легуре

Често сами полимери немају потребну механичку чврстоћу, што се може побољшати додавањем појачања која резултирају стварањем композита.

Овим комбиновањем две или више класа материјала побољшавају се механичка својства, слично принципу који се примењује код ко- полимера.

3.2.1 МАТЕРИЈАЛИ КОЈИ СЕ КОРИСТЕ ЗА ИЗРАДУ МЕТАЛНИХ СКАФОЛДА И ЊИХОВА ОГРАНИЧЕЊА

До сада постоји неколико биокомпатибилних металних материјала који се користе као материјали за имплантацију у денталној и ортопедској хирургији за потребе репарације оштећених костију или ради обезбеђивања подршке у лечењу костију или коштаних дефеката. Стандардни хируршки материјали за имплантацију су од нерђајућег челика 316 L (ASTM F138), легура на бази кобалта (углавном ASTM F75, и ASTM F799) и легура титанијума (Ti-6Al-4V (ASTM F67 и F136)). Међутим, главна мана металних биоматеријала је недостатак биолошког препознавања њихове површине од стране организма. Да би се превазишло ово ограничење, превлачење површине материјала или модификација површине представља један од могућих начина начин да се сачувају механичка својства биокомпатибилних метала и побољша површинска биокомпатибилност. Друго ограничење текућих металних биоматеријала је могуће ослобађање токсичних метала јона и/или честица кроз корозију и хабање, што може да доведе до инфламаторних и алергијских реакција организма, које смањују биокомпатибилност и изазвају пропадање ткива (Jacobs, et al., 1998). Правилан третман површине материјала може да помогне да се избегне овај проблем и да омогући директну везу са ткивом.

С друге стране, у зависности од особина конкретног материјала, сваки материјал има различите обрадне захтеве и поседује различит степен обрадивости штотреба узети у обзир при изради скафолда.

3.2.1.1 ТАНТАЛ

„Трабекуларни метал“ је посебна врста порозног материјала који је развила фирма Zimmer. То је биоматеријал чија је структура најсличнија структури спонгиозне (трабекуларне) кости (Ristić, Popović, Adamović, & Devedžić, 2010). Целуларна структура трабекуларног метала приближава се физичким и механичким особинама кости више него било који други синтетички материјал. Јединствена, високопорозна, трабекуларна конфигурација обезбеђује брзу и издашну инфилтрацију коштаног ткива. Кристална микротекстура трабекуларног метала је кондуктивна за директну апозицију коштаног ткива. Тантал од којег се прави трабекуларни метал има јачину и отпорност на корозију уз изврсну биокомпатибилност и као такав се успешно примењује у хирургији више од 50 година (као плоче за краниопластику (неурохирургија) или за делове пејсмејкера (кардиохирургија). Порозни тантал је биоматеријал са јединственим скупом физичких и механичких својстава. Он има висок степен порозности (> 80%) са потпуно повезаним порима за обезбеђивање сигурног и брзог урастања костију (Bobyn, J.D.; Stackpool, G.J.; Hacking, S.A.; Tanzer, M.; Krygier, J.J., 1999). Поред тога, он има модул еластичности сличан кости. Порозни тантал

је структурни материјал који има довољну чврстоћу да може да се примени у апликацијама на деловима које трпе оптерећења и представља алтернативни метал за примарну и ревизиону тоталну артропластику колена (ТКА) са неколико јединствених карактеристика. Бобин и сарадници (Bobyn, J.D.; Stackpool, G.J.; Hacking, S.A.; Tanzer, M.; Krygier, J.J., 1999; Bobyn, Toh, Hacking, Tanzer, & Krygier, 1999) су изнели основне научне податке који дају подршку за коришћење овог трабекуларног метала, састављеног од угљеничне подлоге, који садржи елементарни тантал депонован на површини. Овај трабекуларни метал је показао добру биокомпатибилност у неколико животињских модела (Bobyn, Toh, Hacking, Tanzer, & Krygier, 1999) (Bobyn, J.D.; Stackpool, G.J.; Hacking, S.A.; Tanzer, M.; Krygier, J.J., 1999; Hacking, Bobyn, Toh, Tanzer, & Krygier, 2000). Студије су показале значајано урастање кортикалне кости између трабекуларне мреже, као и висок ниво раста костију у самом скафолду. Почетна стабилност трабекуларног метала је такође виша него код стандардних материјала, као што је CoCr. Поред тога, овај нови материјал нуди бољу остеокондукцију од осталих технологија које се користе за биолошке фиксације. Иако је порозан тантал у раним фазама развоја, први клинички подаци (Adams, Zobitz, Reach, An, & Lewallen, 2005; Zou, Li, Büngrer, Egund, Lind, & Büngrer, 2004; Meneghini, Lewallen, & Hanssen, 2008) и претклиничке студије (Vehof, Spauwen, & Jansen, 2000; Hartman, Vehof, Spauwen, & Jansen, 2005; van den Dolder, Farber, Spauwen, & Jansen, 2005; Kroese-Deutman, Vehof, Spauwen, Stoelinga, & Jansen, 2008; Sargeant, Oppenheimer, Dunand, & Stupp, 2008) подржавају његову употребу као алтернативу традиционалним материјалима који се користе за ортопедске имплантате.

3.2.1.2 МАГНЕЗИЈУМ

Магнезијум представља перспективан биоматеријал за замену делова костију због одличних карактеристика, као што су ниска енергија јонизације и одговарајућа јачина, добра биокомпатибилност и биолошка разградивост. Отворене ћелијске структуре пене магнезијума омогућавају брзу интеграцију са костима домаћина и обезбеђују простор за одржавање стабилне прокрвљености и урастање новог ткива костију .

Употреба магнезијума и његових легура за хируршке апликације је од посебног интереса. Ове легуре имају велики потенцијал и показало се да су у потпуности биоресорбујуге, биоразградиве, имају механичке особине компатиблине са костима, не изазивају упалне или системске реакције, остеокондуктивне су, подстичу раст костију и имају улогу у причвршћивању тј. везивању ћелија (Staiger, Huadmai, & Dias, 2006). Све ове чињенице указују на то да Mg има значајан потенцијал као биоматеријал који се може користити за уградњу у делове који су изложени оптерећењима. Неоспорно, постоји интерес за коришћење овог материјала за биомедицинске апликације, нпр. за коронарне стентове (Heublein, Rohde, Kaese, Niemeyer, Hartung, & Haverich, 2003; Erbel, et al.,

2007), а од недавно, научници су се концентрисали на примену ретких магнезијумових легура са церијумом, неодимијумом и празеодијумом за инструменте за фиксацију костију (Witte, Kaese, Switzer, Meyer-Lindenberg, Wirth, & Windhag, 2005) у ортопедским апликацијама. Недавно су израђене Mg-Ca легуре које су процењиване *in vitro* и *in vivo*, као биоразградив биоматеријал за ортопедске апликације (Li, Gu, Lou, & Zheng, 2008). Са друге стране, постојећа забринутост због токсичности раствореног Mg је умањена резултатима истраживања која су показала да се вишак магнезијума ефикасно излучује из тела преко урина (Saris, Mervaala, Karppanen, Khawaja, & Lewenstam, 2000). Међутим проблем и даље постоји у погледу употребе чистог магнезијума обзиром да је стопа разлагања тј. растварања Mg у физиолошким условима велика, што потенцијално доводи до вишка Mg у организму. У циљу решавања овог проблема предложен је знатан број потенцијалних праваца за контролу брзине корозије; као што су керамичко облагање (Li, Gao, & Wang, 2004), титанијумско облагање, или кроз употребу Mg легура, укључујући A331, A391, BE43, LAE442 и Mg-Mn-Zn легура (Witte, Kaese, Switzer, Meyer-Lindenberg, Wirth, & Windhag, 2005; Zhang, Xu, Yu, & Pan, 2009)]. Mg, као биоматеријал, и његове легуре је неопходно детаљније истраживати јер досадашња истраживања показују обећавајуће резултате у погледу могућности њихове примене за апликације регенерације трабекуларне кости.

3.2.1.3 ТИТАНИЈУМ И ЛЕГУРЕ ТИТАНИЈУМА

Титанијум је изузетно реактиван елемент, који се у земљиној кори налази у виду стабилног оксида, што само потврђује чињеницу да је метални титанијум и кисеоник тешко раздвојити. Из тог разлога титанијум је тек крајем четврте деценије прошлог века ушао у комерцијалну употребу у САД. Иако је титанијум у медицинске сврхе почео да се употребљава знатно касније него други метални биокомпатибилни материјали, његова употреба у медицинске сврхе убрзо је значајно увећана захваљујући његовим изузетним својствима као што су: релативно висока специфична чврстоћа, низак модул еластичности, велика биокомпатибилност, изузетно низак ниво токсичности, али и лошије триболошке карактеристике, поготово када се упореди са нерђајућим челицима и Co-Cr легурама. Утврђено је да се титанијум добро подноси и да је скоро инертан материјал у људском телу. У оптималној ситуацији титанијум је способан за осеоинтеграцију са кости (Davies, 2007). На површини титанијума образује се веома стабилан пасивизирајући заштитни оксидни филм TiO₂ који му обезбеђује супериорну биокомпатибилност. Чак и ако се пасивни слој оштети, он се одмах обнови. У случају титанијума, природа оксидног филма који штити субстрат метала од корозије је од посебног значаја као и његова физичко-хемијска својства. Легуре титанијума показују супериорну биокомпатибилност у односу на нерђајући челик и Cr-Co легуре.

Крајем XX и почетком XXI века, у биомедицинском инжењерству најчешће су се користили комерцијално чист (CP) титанијум и легура Ti-6Al-4V.

Комерцијално чист титанијум, који се популарно обележава као CP титанијум, одликује се једнофазном α микроструктуром. Титанијум CP може садржавати изузетно ниску количину гвожђа, азота и кисеоника, док је укупан садржај осталих елемената обавезно нижи од 0,7%. Због незнатних, али строго дефинисаних разлика у саставу, CP титанијум се производи у четири основна квалитета, који се обележавају бројевима од 1 до 4. Са порастом броја расте и вредност затезне чврстоће којом се одликују ти квалитети. У односу на легуре титанијума, чист титанијум се карактерише повећаном отпорношћу према корозији, док се α легуре титанијума одликују бољом отпорношћу према повишеним температурама и бољом заварљивошћу од β легура, при чему им је чврстоћа и могућност обликовања нижа.

Комерцијално чист титанијум се пре свега користи се у стоматологији за израду денталних имплантата, мада се користи и у ортопедији у виду жичаних мрежица, које служе као порозне превлаке синтероване на површини вештачких зглобова израђених од легура титанијума. Титанијум-алуминијум-ванадијум легуре Ti-6Al-4V и Ti-6Al-4VELI (ASTM F136, ASTM F1108 и ASTM F1472) имају боље механичке особине од комерцијално чистог титанијума (CP Ti) (ASTM F67) и сматрају се најприкладнијим биокompatibilним металним материјалима због њихове одличне комбинације механичких карактеристика, отпорности према корозији и биокompatibilности. Међутим, вредност њихових модула еластичности ипак је значајно виша од вредности модула еластичности људске кости.

Поред тога, постоји и забринутост код уградње дугорочних имплантата од титанијумских легура због ванадијума који постоји у њиховом саставу а који је токсичан у елементарном стању, па се из тог разлога интензивно ради на развоју нових легура које садрже елементе који не би били токсични за људски организам. За развој нових биокompatibilних легура титанијума, изузетно је значајно и да се постигну ниже вредности модула еластичности.

Основна идеја у развоју нових легура за примену у медицини је, стога, да се ванадијум и алуминијум замене ниобијумом, танталом и цирконијумом, не би ли се на тај начин избегле евентуалне негативне карактеристике до сада широко примењиване Ti-6Al-4V легуре, јер се показало да је токсичност поменутих елемената изузетно ниска.

Ови проблеми су довели до развоја нових бета титанијумских легура са нетоксичним легирајућим елементима као што су Ta, Nb, Zr (Okazaki, 2001). Остале, тренутно доступне, легуре титанијума садрже ASTM F1295 (кована Ti-6Al7Nb легура), ASTM F1713 (кована Ti-13Nb-13Zr легура), ASTM F1813 (кована

Ti-12Mo-6Zr-2Fe легура) и ASTM F2066 (кована Ti- 15Mo легура) и Ti-5Al-2.5Fe (ISO 5832-10). Даље унапређење биокомпатибилности и нижи модули су постигнути увођењем друге генерације ортопедских легура титанијума укључујући Ti-15Mo-5Zr-3Al, Ti-15Zr-4Nb-2Ta-0.2Pd, Ti-12Mo-6Zr-2Fe, Ti-15Mo-3Nb-3O и Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr. Ова нова генерација Ti легура је тренутно у процесу развоја и истраживања и неће још увек бити комерцијализована. Генерално, порозан титанијум и све поменуте легуре титанијума показују добру биокомпатибилност. Упркос великим достигнућима у изради структура у ТЕ у оралној и максилофацијалној хирургији, тренутни златни стандард за санирање дефеката на локацијама које су изложене оптерећењима попут доње вилице, максиле и краниофацијалне реконструкције остаје титанијумска мрежа и титанијум 3D скафолди. С друге стране, Ti и његове легуре нису феромагнетне и не проузрокују штету пацијенту у јединици MRI. Титанијумова осеоинтеграција се може потенцијално побољшати пуњењем скафолда са одређеним факторима раста. У апликацијама, као што су краниофацијалне реконструкције кости или код периимплантних дефеката, повећана регенерација кости, често се постиже испоруком TGF- β и BMP-2 преко титанијумског скафолда (Alam, et al., 2007; Jansen, et al., 2005). Ови фактори раста су способни да изазову одређене ћелијске одговоре који доводе до брзог формирања новог ткива. Матичне ћелије су такође гајене у *in vitro* условима на титанијум скафолдима (Zhang, Walboomers, van Kuppevelt, Daamen, Bian, & Jansen, 2006) у циљу повећања производње минералног ЕСМ на ћелијама / конструицији скафолда.

Релативно ниска тврдоћа легура титанијума, међутим, утиче на њихову слабу отпорност на хабање, па се ове легуре без претходне додатне површинске обраде, као што је јонска имплементација, не могу користити за израду зглобних површина.

3.2.1.4 ЛЕГУРА НИКЛ- ТИТАНИЈУМ - НИТИНОЛ

Нитинол је једна од најперспективнијих титанијумских легура која је нашла примену у разним апликацијама обзиром да поседује мешавину нових својства у односу на постојеће (чак и у порозној фази) као што су ефекат памћења облика (енг. Shape Memory Effect (SME)), побољшану биокомпатибилност и супереластичност (Prymaka, et al., 2005; Greiner, Oppenheimer, & Dunand, 2005). Пошто су модул еластичности нитинол пене (~ 2,3GPa) и притисна чврстоћа (~ 208MPa) врло блиски кости, као и због његове добре биокомпатибилности порозни NiTi су коришћени у изради интрамедуларних клинова и кичмених интервертебралних спрасера у лечењу сколиозе (Tarnita, Tarnita, Bizdoaca, Mîndrila, & Vasilescu, 2009). Опсежна *in vivo* испитивања и претклиничка испитивања указују на то да је нитинол изразито биокомпатибилан, више од нерђајућег челика (Tarnita, Tarnita, Bizdoaca, Mîndrila, & Vasilescu, 2009; Assad, Chernyshov, Leroux, & Rivard, 2002). Штавише, установљена је добра

биокомпатибилност на површинама модификованим нитинолом (Michiardi, Aparicio, Planell, & Gil, 2006). Показана биокомпатибилност нитинола, његове физичке особине и SME, сугеришу да ова легура може да понуди значајан допринос у области ортопедије. Овај допринос односи се првенствено на потенцијалну могућност креирања скафолда који могу да мењају облик након имплантације због SME нитинола, који се може покренути на температури људског тела. Међутим, постоји проблем могуће алергије и токсичности легура NiTi везаних са отпуштањем Ni јона. Забринутост због токсичности и потенцијалне канцерогености Ni је ограничила употребу NiTi легуре у Европи и САД. У циљу превазилажења овог проблема, спроводи се модификација површине NiTi методама попут третмана оксидацијом (Michiardi, Aparicio, Planell, & Gil, 2006) ради добијања површине без Ni као и неколико алтернативних Ni ослобођених меморијских легура, углавном заснованих на Nb које су тренутно у фази развоја, иако ће њихов дугорочни биолошки учинак морати тек да се процењује у будућности (Suzuki, et al., 2006)

3.2.1.5 ХИБРИДНИ МАТЕРИЈАЛИ

Хибридни материјали су они у којима је више од једне класе материјала укључено у скафолд. Данас постоји много различитих врста комбинација материјала које се углавном користе у вештачким зглобовима и имплантатима за кости. Многе комбинације материјала и модификација површина имају за циљ да стимулишу специфичне одговоре на молекуларном нивоу. Синергистична комбинација две врсте материјала може произвести нове структуре које поседују нова својства.

Уобичајене комбинације материјала су синтетички полимери са био-керамиком и синтетички / природни полимери са металима. Нови метал-керамика-полимер хибридни материјали такође су предложени за израду скафолда на местима која су изложена оптерећењима. У многим клиничким случајевима, композитни скафолди се могу показати неопходним за реконструкцију структурних болести и коштаних дефеката. Ипак, захтеве везане за механичке карактеристике при реконструкцији тврдог ткива тешко је задовољити користећи порозни полимер / керамички композит. Посебно, скафолди базирани на HA или TCP могу бити веома крути, крти и могу имати различите особине вискоеластичности у односу на кост (Giesen, Lamerigts, Verdonschot, Buma, Schreurs, & Huiskes, 1999). Да би се осигурао механички интегритет, тестиране су хибридне структуре од порозне Ti/TCP керамике и хелија које су показале боља остеогенска својства у поређењу са скафолдима од чистог Ti, након имплантације у козе (Li, et al., 2007).

Порозни Ti се обично комбинује са коштаном индуктивним материјалима или хелијама, што даје остеоиндуктивна својства која доводе до брзог оздрављења кости.

3.2.2 БИОКОМПАТИБИЛНОСТ КОМЕРЦИЈАЛНО ДОСТУПНИХ МЕТАЛНИХ СКАФОЛДА

3.2.2.1 ТАНТАЛ

Ефикасност ТЕ конструкција од тантала је детаљно тестирана у претклиничким и клиничким испитивањима. Табеле 5 и 6 показују резултате неких претклиничких и клиничких испитивања у којима су коришћени порозни скафолди од тантала.

Табела 5. Претклиничка испитивања употребе скафолда од Та.

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Zhang, Ahn, Fitzpatrick, Heiner, Poggie, & Brown, 1999)	Имплантација порозних скафолда од Та у кортикалну говеђу кост са циљем да се испитају карактеристике трења на контактним површинама.	Коефицијент трења порозног Та био је већи и од коефицијента трења кортикалне као и од коефицијента трабекуларне тј. спонгиозне кости.	Порозни скафолд од Та испољава велики коефицијент трења.
(Boby, J.D.; Stackpool, G.J.; Hacking, S.A.; Tanzer, M.; Krygier, J.J., 1999)	Имплантација порозних Та скафолда употребом транскортикалног псећег модела.	У опсегу од 16. до 52. недеље просечан степен урастања костију креће се од 63% до 80%.	Конструкција од тантала омогућава обимно урастање костију показујући високу чврстоћу фиксирања у свим периодима имплантације.
(Boby, Toh, Hacking, Tanzer, & Krygier, 1999)	Имплантација порозних Та компонентата у фемуре паса.	Хистолошки је потврђено да имплантати имају стабилну кост-имплантат везу након 6 месеци.	Та компоненте показују адекватну порозну структуру која омогућава урастање костију.
(Hacking, Boby, Toh, Tanzer, & Krygier, 2000)	Поткожна имплантација порозног Та скафолда у леђни мишић пса.	Урастање влакнастог(фиброзног) ткива и крвних судова прогресивно се повећава током првих 8 недеља, након чега ово повећање опада.	Унутар структуре Та скафолда примећено је нормално урастање влакнастог ткива, као и велика чврстоћа везивања.
(Rahbek, Kold, Zippor, Overgard, & Soballe, 2005)	Имплантација порозног Та у зглобове колена паса на 8 недеља. Вршено је недељно убризгавање полиетилен (PE) честица у колена да би се одредио миграциони отпор PE честица.	Порозни Та показује супериорније урастање костију, више коштане сржи, мање влакнастог ткива и мање су миграције PE честица у поређењу са Ti над којим је извршено пескарење стакленим куглицама.	Порозни Та показао је миграциони отпор PE честица и супериорније формирање костију.
(Adams, Zobitz, Reach, An, & Lewallen, 2005)	Имплантација цилиндричних типлова од порозног Та (корпорација	Хистологија је показала коштану урастање већ након 4 недеље, моторичка	Порозни Та послужио је као помоћно средство за

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
	Zimmer, смештена у Варшави, Индијана) у дефект који је креиран на споју карпалних костију паса.	тестирања су показала статистички значајно повећање чврстоће конструкције током времена.	стабилизацију костију шапе код псећег модела.
(Zou, Li, Bünger, Egund, Lind, & Bünger, 2004)	Имплантација порозних чврстих делова од Та, порозних Та прстенова (Hedrocel®) пуњених аутографтом и као контролу кавез од угљеничких влакана у свињски модел лумбалне интеркорпоралне фузије (ALIF).	Коштано урастање уочено је после 3 месеца од имплантације и то без значајних разлика између порозног Та, порозног Та прстена и кавеза од угљеничких влакана.	Радиографски и хистолошки приказ порозног Та прстена био је еквивалентан угљеничним влакнима у свињском ALIF моделу.
(Tanzer, Kantor, & Bobyn, 2001)	Билатерална имплантација порозних Та интермедуларних цилиндричних шипки (средња величина пора 430 mm, запремина порозности је 75-80%) у улну пса. Једна нога је била третирана ултразвуком, док је друга служила за контролу.	Коштано урастање је уочено у обе ноге. Међутим, 119% више урастања је постигнуто у нози са ултразвучним третманом у поређењу са контролном ногом на другој страни тела.	Не-инвазивни ултразвук ниског интензитета може да омогући поуздан, сигуран и јефтин модалитет за повећање коштаног урастања код бесцементних артропластика .

Табела 6. Клиничка испитивања употребе скафолда од Та

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Meneghini, Lewallen, & Hanssen, 2008)	Имплантација порозних метафизеалних конуса од Та (део корпорације Zimmer, Implex у САД) код 15 пацијената са потпуном заменом колена (просечна старост 68.1 год.).	Просек клиничких бодова Knee Society побољшао се са 54 преоперативних поена до 85 поена након 34 месеца. Сви конуси показали су постојање осеоинтеграције са реактивном коштаном трабекулацијом у тачкама контакта са тибијом.	Порозни танталови метафизеални конуси ефективно омогућавају структурну потпору имплантантима тибије из овог испитивања.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Иspoљена својства
(Long & Scuderi, 2009)	Имплантација порозних танталових метафизеалних конуса (део корпорације Zimmer, Implex у САД) у 16 пацијената са тоталном артропластиком колена (ТКА).	У 2 случаја дошло је до повратне инфекције. Осталих 14 случајева је функционисало добро током периода од 31-ог месеца (у просеку).	Показало се да су порозни конуси добро фиксирани и да су са стабилним урастањем кости. Порозни конуси су боље решење од постављања велике количине мртвих костију или великих металних додатака у дефект.
(Nadeau, Séguin, Theodoropoulos, & Harvey, 2007)	Имплантација порозних Та клинова (Zimmer, Варшава, Индијана) у 15 пацијената (просечне старости 42 године) са остеонекротичним куковима у III и IV Steinberg фази.	Постоперативна успешност након 12 месеци је била 77.8%, док је укупна успешност износила 44.5%. У просеку, пацијенти су побољшали своје Harris-ове резултате кука за 21.7 поен.	Декомпресија језгра са порозним Та показала је охрабрујућу успешност код пацијената са напредним фазама остеонекрозе, али су потребна даља испитивања већих размера.
(Tsao, et al., 2005)	Имплантација порозних Та клинова (Zimmer, Варшава, Индијана) у 98 пацијената (просечне старости 43 године) са раним фазама Steinberg-ове остеонекрозе кука.	Harris-ова просечна оцена кука <i>all stage II</i> фазе је 63 преоперативно, а након 4 године повећала се на 83. Стопа преживљавања је 72.5% након 48 месеци.	Иницијална стабилност постигнута је са навојем на крајевима скафолда, то је смањило еластичне модуле, и абнормалне напоне у самој околини кости.
(Durham, McComb, & Levy, 2003)	Имплантација Та мреже за репарацију великих (>25 cm ²) краниалних дефеката у 8 пацијената (1.5 до 35 год.). Разлози за краниопластику укључују краниалне дефекте од трауме, абнормални раст влакнастог ткива, заражене коштане режњеве и тумор.	2/8 краниопластика је инфицирано и морале су да буду уклоњене након 1 и 3 месеца постоперативно.	Тантал мреже се користе са НА цементом, фиксирају се са Ti плочицама да би се обезбедила унутрашња структурална потпора и повећала стабилност конструкције.
(Shuler, Rooks, & J.R., 2007)	Имплантација порозних Та клинова (Zimmer, Варшава, Индијана) у 24 пацијента (просечне старости 43.2 године) са раним фазама остеонекрозе кука.	Стопа преживљавања је 86% (3 имплантата нису успела) у просеку од 39 месеци. Сви преживели су оцењени Harris-овим системом бодовања за кук и то 14% као добри и 72% одлични.	Порозни Та је безбедна опција за очување главе фемура. Наставак истраживања је неопходан да би се дугорочно одредила успешност клиничке процедуре.

НА-хидроксиапатит

Значајни претклинички резултати на експерименталним животињама коришћењем комерцијално доступних Та скафолда довели су до развоја даљих апликација порозног Та (код тоталне артропластике кука, спиналне фузије, структурне подршка остеонекрози и тумором захваћених лезија, максиларној хирургији, итд.). Подаци добијени из ових експеримената су

од непроцењивог значаја који су довели до напретка клиничких испитивања. Већина ових краткорочних клиничких студија показала је обећавајуће повољне резултате, али су за будућа истраживања неопходне дугорочно студије. Данас, *in vivo* испитивања порозног тантала (Trabecular metal™) пролазе III и IV фазу клиничких испитивања.

3.2.2.2 МАГНЕЗИЈУМ

Магнезијум и легуре магнезијума имају сличне механичке особине са природном кости, али је њихова висока осетљивост на корозију ограничила њихову примену у ортопедији. У случају биоразградивих скафолда, пожељно је да материјали скафолда буду биоразградиви у потпуности после одговарајућег периода у људском телу. Важан метод који може да успори стопу деградације тј. разградивости магнезијума је модификација површине. Неке методе модификације површина су развијене за порозне Mg конструкције у циљу контролисања брзине разградивости, као и ради побољшања биокомпатибилности (Geng, et al., 2009; Witte, et al., 2007). Примери претклиничких испитивања употребе скафолда од Mg дати су у табели 7.

Табела 7. Претклиничка испитивања употребе скафолда од магнезијума.

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Reifenrath, et al., 2005)	Имплантација отворених порозних скафолда од магнезијумове легуре AZ91 (величина пора је 10-1000 μm , порозност је 72-76%) у медијално кондило колена зеца.	Примећена су остеокондуктивна својства у ободу, међутим, материјал не индукује стварање субхондралне кости која је неопходна за остеохондралну репарацију дефекта.	AZ91 скафолд је брзо деградабилни (разградиви) материјал који не може у довољној мери да замени субхондралну кост током првих 12 недеља опоравка хрскавице.
(Witte, et al., 2006)	Имплантација отворених порозних скафолда од магнезијумове легуре AZ91 (величина пора је 10-1000 μm , порозност је 72-76%) у хрскавицу чашице колена зеца.	Примећено је формирање нове кости на ободу разградивог скафолда.	Брз процес разградивости скафолда не утиче негативно на околно ткиво хрскавице.
(Witte, Ulrich, Rudert, & Willbold, 2007)	Имплантација отворених порозних скафолда од магнезијумове легуре AZ91D (величина пора је 10-1000 μm , порозност је 72-76%) у дистални фемур кондила зечева ради процене инфламаторне тј. упалне реакције.	Након 3 месеца скафолди се у великој мери разграђују и већина магнезијумове легуре нестане не изазивајући никакву штету на суседним ткивима.	Примећена је добра биокомпатибилност са одговарајућом упалном реакцијом домаћина.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Witte, Ulrich, Palm, & Willbold, 2007)	Имплантација отворених порозних скафолда од магнезијумове легуре AZ91D (величина пора је 10-1000 μm , порозност је 72-76%) у кондила колена зечева ради процене ремоделирања костију око имплантата .	Примећена је зрелија структура кости и виши BV/TV на ткиву који окружује скафолде од магнезијума у поређењу са контролном кости, која је била аутологна кост.	Брзо разграђујући скафолд од магнезијума индукован продуженим коштаном ремоделирањем око имплантата показује добру биокompatibilност.

BV/TV – Коштана запремина по запремини ткива

За сада су само *in vitro* (Geng, et al., 2009; Witte, et al., 2007) и претклиничке студије, на животињским моделима, предложиле коришћење Mg скафолда као разградивих скафолда у апликацијама репарације коштаног дефеката. Подаци о *in vivo* понашању порозног магнезијума на претклиничким нивоу су и даље веома оскудни. Табела 7 приказује податке добијене из неких претклиничких студија у којима се користи магнезијум или конструкције на бази легура магнезијума.

3.2.2.3 ТИТАНИЈУМ

Порозан титанијум и легуре титанијума су показале да поседују одличне механичке особине као трајни ортопедски имплантати на местима која су изложена оптерећењима (Mitkovic, Milenkovic, Micic, Mladenovic, & Mitkovic, 2012). Многе научне претклиничке и клиничке студије подржавају коришћење Ti скафолда. Титанијумска мрежа влакана је користан скафолд материјал који се даље испитује као клиничко средство у реконструктивној хирургији костију. *In vitro*, титанијумска мрежа влакана делује као скафолд за адхезију и остеоblasну диференцијацију прогениторних ћелија (van den Dolder & Jansen, 2007). *In vivo*, Ti се показао као остеокондуктиван, демонстрирајући охрабрујуће резултате (van den Dolder, Farber, Sprauwen, & Jansen, 2005).

Студије описане у табели 8, спроведене на клинички релевантним великим животињским моделима, обезбеђују податке који демонстрирају безбедност и изводљивост употребе титанијумских скафолда у лечењу коштаног дефеката, док су у табели 9 приказани случајеви клиничке примене титанијумских скафолда.

Табела 8. Претклиничка испитивања употребе скафолда од Ti

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Matsuzaka, et al., 2005)	Имплантација порозног Ti скафолда произведеног space holder техником (величина пора 200-500 μm , 78% порозности) са и без BMP-2 имобилизације у фемур пацова.	Две недеље након имплантације ново коштано ткиво је формирано око скафолда са и без BMP-2 имобилизације.	Ti порозни скафолд са BMP-2 може да произведе ново коштано ткиво у раној фази и може бити користан за репарацију коштаног дефеката.
(Ponader, et al., 2010)	Имплантација порозног Ti6Al4V скафолда произведеног селективним топљењем снопом електрона (SEBM) (величина пора 450 μm , порозност 61,3%) у дефекат фронталног дела лобање домаћих свиња.	Урастање костију (\approx 46%) је постигнуто после 60 дана и регенерација структуре кости у спољашњем региону скафолда била је мерљива са првобитном кости.	Скафолд показује адекватну архитектуру која дозвољава урастање кости и одличне механичке карактеристике.
(Li, et al., 2007)	Имплантација порозног Ti6Al4V скафолда израђеног 3D депоновањем влакана (3DF) (величина пора 160-680 μm , 39-68% порозности) у задњи лумбални део кичме коза.	Урастање костију се прогресивно повећава током првих девет недеља након чега овај ниво повећања опада.	Архитектура скафолда се може лако контролисати и мењати порозност и величина пора и уочава се позитиван ефекат на формирање нове кости.
(Bottino, Coelho, Henriques, Higa, Bressiani, & Bressiani, 2009)	Имплантација металургијом праха (P/M) произведеног Ti13Nb13Zr порозног узорка (величина пора 50-100 μm , 30% порозност) у тибију зеца за 8 недеља.	Посматран је затворен контакт кост-имплантат међутим, због недостатка отворених као и међусобно повезаних унутрашњих пора урастање костију није примећено.	Порозни Ti13Nb13Zr произведени P/M са металним хидридима су нецитотоксични али расподела структуре и пора није била одговарајућа за урастање костију.
(Chang, Gu, Kobayashi, & Oka, 1998)	Имплантација влакнасте мреже произведене синтеровањем и плазма спреј прскањем (вел. пора 200-400 μm , 56-60% порозност) у дефекте фемура код паса.	Примећено је обилно коштано урастање што је резултирало потпуном интеграцијом овог композитног имплантата и кости домаћина.	Скафолди са 3D отвореном структуром пора су довели до комплетне осеоинтеграције.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Lopez-Heredia, Sohler, Gaillard, & Quillard, 2008)	Имплантација скафолда израђеног АТ (величина пора 800 и 1200 μm , 60% порозности) у феморалну епифизу зечева.	Примењено је коштано урастање ($\approx 24\%$) након 3 недеље без разлике између две величине пора. ВИС је око 30%.	АТ Тi скафолди поседују одличне механичке и биолошке карактеристике.
(Takemoto, et al., 2007)	Имплантација порозног Тi са биоактивним титанијумским слојем произведеним помоћу срасег методе (средња величина пора 303 μm , 50% порозност) у предњи лумбални део кичме паса.	Интеркорпорална фузија је потврђена код свих пет паса. Хистолошка процена је показала велику количину ново-формиране кости са ткивом налик коштаном сржи у биоактивним скафолдима.	Биоактивне базе и термичка обрада ефикасно побољшава коштано-везивање и способност повезивања порозног Тi скафолда.
(Pinto-Faria, Carvalho, Borges-Felipucci, Wen, Sennerby, & Salata, 2008)	Имплантација порозних Тi сунђерастих шипки израђених space holder методом (величина пора 200 ~ 500 μm , 80% порозност) за санирање коштаних дефеката у раменој кости (humerus) псећег модела. Као контрола су коришћене НА грануле.	НА грануле дају више коштане формације него Тi пена након 2 и 4 месеца од имплантације. Међутим, Тi пена доводи до боље расподеле раста кости.	Тi пена, која има структуру налик сунђеру, показује добру биокompatибилност и њеном применом је дошло до побољшања реконструкције дужине кости у поређењу са контролним местима која су испуњена НА гранулама.
(Walboomers & Jansen, 2005)	Имплантација скафолда у облику шупље, цилиндричне и влаканасте мреже, пуњеног и не пуњеног COLLOSS®-ом у леђни део тела миша.	Након 12 недеља од имплантације контролом скафолда очигледно је стварање коштаног ткива у готово свим узорцима.	COLLOSS®-ом пуњени скафолди показују коштано-индуктивна својства. Формирање ткива коштане сржи је приметно у готово свим узорцима.

RBM: Коштана срж пацова; ВИС: Контакт коштаног имплантата; НА: Хидроксиапатит; COLLOSS®: Производ садржи говеђи екстрацелуларни матрикс

Табела 9. Клиничка испитивања употребе титанијумских скафолда.

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(van Jonbergen, Spruit, Anderson, & Pavlov, 2005)	Имплантација титанијума SynCage C (Synthes, Oberdorf, Швајцарска) испуњеног аутогеним коштаном графтом код 71 пацијента (23 до 76 год.) са обољењем вратних пршљенова и цервикалном (вратном) спиналном стенозом.	Срастање је постигнуто након 6 месеци код свих пацијената; међутим, код 10 кавеза (код сваког другог пацијента) се јавља слегање.	Код овог титанијумског кавеза забележен је узнемирујући феномен слегања. Кавез је Модификован. дизајн кавеза је унапређен и проширена је доња контактна површина, тако да се може очекивати да се смањи слегање.
(Eck, Bridwell, Ungacta, Lapp, Lenke, & Daniel, 2000)	Имплантација Ti мрежастих кавеза у 66 одраслих пацијената (старости 20-81 год.) са сагиталним деформитетима. Кавези су убачени у предњи стуб током постериорне инструментације и фузије.	Није примећена слабост кавеза, а ни екструзија. Просечно сегментно побољшање лордозе са кавезним имплантатом је 11° са губитком корекције мање од 1° након 2 године.	Структурни, мрежасте кавези од Ti имплантирани у предњи део кичменог стуба функционисали су адекватно да одрже сагиталне корекције и добијене су ретке радиографске компликације.
(Kuttenberger & Hardt, 2001)	Имплантација ласерски перфориране Ti микро-мреже (Howmedica Leibinger GmbH & Co., Немачка) у 20 пацијената (старости 22-78 год.) са дефектима у краниофацијалном и/или орбито етмоидалном региону.	Нису примећене инфекције рана, изложеност или губитак мреже. Дугорочна стабилност реконструкције је била одлична (у периоду од наредних 8 година).	Ренгенски снимци и подаци са СТ-а су показали да је остварена стабилна 3D реконструкција комплексних анатомских структура код свих третираних пацијената.
(Bystedt & L., 2009)	Имплантација порозних титанијумских гранула (Natix TM, Tigran Tech. AB, Шведска) у 16 пацијената (55 до 83 год.) са потребном аугментацијом дна синуса.	1 пацијент је имао постоперативну синусну инфекцију. Постоперативна радиографија није показала знаке миграције гранула.	Показало се да Ti грануле добро функционишу као материјали за аугментацију пода тј. дна синуса. Потребне су биопсије ради потврде коштаног урастања.
(Jaquiéry, Aeppli, Cornelius, Palmowsky, Kunz, & Hammer, 2007)	Имплантација Ti мрежица, од којих су неке пуњене аутогеним коштаном графтом у 26 пацијената (13 до 82 год.) са малим и средњим орбиталним дефектима (кат. I, II и III).	Постоперативно, 91% пацијената има нормалан вид и тачност реконструкције је постигнута у II категорији дефеката.	Ti мрежице обезбеђују стабилност и могу да буду потпора орбиталном садржају, спречавајући ризик од секундарне ендофталмије.

CAD/CAM: Рачунарски подржано пројектовање/ рачунарски-подржана производња

Резултати ових претклиничких истраживања потврђују да је зарастање кости могуће помоћу биохемијски-модификованих Ti скафолда, посебно коришћењем фактора раста и остеопрогениторних ћелија. Међутим, процена потенцијала за коришћење ових биохемијски модификованих Ti скафолда за клиничке примене у будућности лежи у способности истраживача да покажу одличне дугорочне резултате. Клинички се цилиндричне Ti мреже користе са постојано добрим резултатима за реконструкције великог дефекта предњег стуба одраслих пацијената. Имплантација синтетичких кавеза у предњи стуб изгледа да пружа тренутну ефикасну стабилност сегмента, корекцију деформитета сагиталне равни и враћа ослонац предњег делу кичме са биомеханичке тачке гледишта. Ови кавези обезбеђују задовољавајућу аксијалну носивост, а уситњен аутографт може да се користи за попуњавање унутрашњости кавеза (Eck, Bridwell, Ungacta, Lapp, Lenke, & Daniel, 2000). Табела 9 приказује резултате неких клиничких студија у којима се користе порозни Ti скафолди за репарацију и реконструкцију тврдих ткива тј. кости. Ипак дугорочни периоди праћења и већи узорак тј. број пацијената су потребни да би се добиле поуздане клиничке стопе успеха примене Ti.

3.2.2.4 НИКЛ-ТИТАНИЈУМ ЛЕГУРЕ (НИТИНОЛ)

Порозни Нитинол (PNT) се користи у максилофацијалним и неким ортопедским операцијама у Русији и Кини око 15 година (Dai & Chu, 1996). PNT је побудио интересовање и у патологији међупршљеног диска као коштани скафолд интеркорпоралне фузије (Likibi, Chabot, Assad, & Rivard, 2008). Међутим, до сада је спроведено недовољно претклиничких испитивања на животињским моделима и клиничких испитивања за боље разумевање биолошких перформанси PNT. Неопходна су даља истраживања ради бољег разумевања биолошког учинка PNT. Табела 10 показује неке претклиничке студије спроведене са порозним NiTi као материјалом за скафолде. Већина клиничких студија која користи NiTi мреже је ограничена на поље торакалне и кардиоваскуларне хирургије где NiTi налази примену, посебно у самоширећим металним стентовима.

Табела 10. Претклиничка испитивања употребе NiTi скафолда.

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Ayers, Simske, Bateman, Petkus, Sachdeva, & Gyunter, 1999)	Имплантација NiTi порозног скафолда произведеног SHS-ом (вел. пора 353, 218 и 179 μm , порозност 43, 54 и 51%) у дефекте лобања код зечева.	Урастање костију је примећено код три врсте имплантата.	Показује се да коришћене величине пора не утичу на урастање костију у хрскавичавом периоду урастања костију.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Иspoљена својства
(Kujala, Ryhänen, Danilov, & Tuukkanen, 2003)	Имплантација NiTi порозног скафолда произведеног SHS-ом (вел. пора 259 и 505 μm , порозност 66 и 47%) у феморалне дефекте код зечева.	Примеђено је урастање костију, порозност од 66% показала је најбољи кост-имплантат контакт.	Скафолд омогућава урастање костију, иако је у неким случајевима примеђена фиброза унутар порозне структуре.
(Simske & Sachdeva, 1995)	Имплантација NiTi порозног скафолда произведеног SHS-ом (вел. пора $\approx 300 \mu\text{m}$, $\approx 50\%$ порозности) у дефекте лобања код зечева.	Примеђен је контакт костију са околним ткивом лобање и урастање костију.	Порозни NiTi показао је веће урастање целе кости од коралног HA после 12 недеља од имплантације.
(Shishkovsky, Volova, Kuznetsov, Morozov, & Parkin, 2008)	Имплантација порозног NiTi скафолда израђеног SLS-ом и SHS-ом (наноструктурирани зидови у опсегу 1460-460 nm) у кост десне лопатице код пацова.	Нису примеђене нежељене реакције ткива, хистолошки узорци су показали да не постоје докази ресорпције кости лобање у близини скафолда.	Порозност и површинска хемија пројектоване су са комбинацијом SLS-SHS. Процес је погодан за биоинтеграцију.
(Zhu, Yang, Chen, Li, & Cui, 2008)	Имплантација порозних NiTi скафолда направљених синтерованем праха (средња величина пора је 130 μm , порозност 45%) дуж дужине осе фемура зечева.	Хистолошке секције су показале да су остеообласти били у директном контакту са порозним NiTi без посредства влакнастог (фиброзног) ткива. Урастање кости је такође примеђено у унутрашњости скафолда.	Добар контакт кост-имплантат добијен је у порозном NiTi. Порозна NiTi легура показала је бољу остеокондуктивност и осеоинтеграцију од пуне легуре.
(Rhalmi, Odin, Assad, Tabrizian, Rivard, & L.H., 1999)	Имплантација порозних NiTi блокова (запремине 5×3×3 mm, опсег величина пора 400 μm < \varnothing < 900 μm) у тибије и леђне мишиће код зечева.	Мишићно ткиво је изложено танком, чврстом, пријањајућем и влакнастом (фиброзном) омотачу чија влакна продиру у поре имплантата. Коштано ткиво показује добро оздрављење. Било је присутно ремоделирање кости које се карактерише специфичним остеокластним и остеобластним активностима у кортексу.	Примеђена је добра биокompatibilност и прихватање порозних NiTi и код мишићног и коштаног ткива. Резултати одлично кореспондирају са проценом културе ћелија in vitro.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Rhalmi, Charette, Assad, Coillard, & Rivard, 2007)	Имплантација порозних NiTi IFD (произведених од стране BiortheX Inc., Канада; величина пора $230 \pm 130 \mu\text{m}$, порозност $65 \pm 10\%$) у спинални канал спољашње тврде можданице на лумбалном нивоу L2-L3 код зечева.	У контакту са спољашњом тврдом можданицом NiTi изазива упалну реакцију сличну оној са Ti. Запаљење је ограничено на епидурални простор и затим је смањено са акутног на благо хронично након 1. године.	Толеранција NiTi од стране осетљивих ткива као што је спољашња тврда можданица током распона од 1. године након имплантације демонстрирала је безбедност NiTi и његов потенцијал за коришћење као IFD.
(Wu, et al., 2008)	Имплантација хидротермички третираних 3D порозних NiTi скафолда произведених од стране CFHIP у фемуре зечева. Добијена је хијерархијски порозна наноструктура спољашњег слоја биоактивног титаната.	Коштано ткиво може лако да расте у унутрашњим порама скафолда и направи добар контакт са изложеним површинама скафолда.	Добијена спољашња наноструктура олакшава биоминерализацију и потпомаже таложење костима сличног апатита и пролиферацију остеобласта.

SHS: Самостално-преносна високо-температурна синтеза; SLS: Селективно ласерско синтеровање; IFD: Уређај за интеркорпоралну фузију; CF-HIP: Capsule free-топло изостатичко пресовање

Табела 11 приказује резултате два специфична клиничка испитивања у којима се користи порозан нитинол. Прва студија користи порозан супереластичан проширив кавез од нитинола који се може уобличи у било који облик и вратити у првобитни облик, након растеређења (Wang, Chai, Wang, Zhou, Zhang, & Chen, 2009). Друга студија одговара области ендопротетике средишњег дела лица. PNT конструкције су коришћене у реконструкцији средишњег дела лица код 129 пацијената са охрабрујућим резултатима (Arsenova, Sysolyatin, & Gunther, 2005). Међутим, неопходан је наставак праћења да би се утврдио клинички дугорочан успех ових PNT конструкција.

Табела 11. Клиничка испитивања употребе NiTi скафолда

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Wang, Chai, Wang, Zhou, Zhang, & Chen, 2009)	Имплантација порозних, супереластичних кавеза од NiTi у 62 пацијента (21 до 61 год.) са тоталном арттропластиком кука (ТНА).	Укупна стопа преживљавања је 82.7% (67/81 кукова) без даљег лечења. Од 81-ог кука, 14 (17.3%) су имала болове са упропашћеним главама фемура, што је резултирало потребом за (ТНА).	Супереластични кавез обезбеђује структурну потпору субхондралној кости у некротичној глави фемура, такође још и смањује даљу тенденцију пропадања ONFH и помаже да се поврати контура артикуларне површине пропале главе фемура.

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Иspoљена својства
(Arsenova, Sysolyatin, & Gunther, 2005)	Имплантација порозног NiTi скафолда засићеног коштаном сржи у дефекте костију у области средишњег дела лица (укључујући нос и коштане структуре које су са њим повезане) у 129 пацијента (74 ендопротезе) доњег зида очне дупље, 26 ендопротеза зидова максиларног синуса), 12 ендопротеза потпорних структура носа, 3 у зигоматичном региону (zygomoorbital).	Истраживања спроведена после 180 дана од имплантације открила су да је већи део пора попуњен са коштаном ткивом, количина калцијума у порам је била слична оној из коштаног ткива. Позитивни резултати ендопротеза постигнути су код 123 пацијента.	PNT структуре поседују добру интеграцију са структурама ткива, потребно је и даље проучавати могућности њихове употребе у реконструктивној хирургији фацијалног дела лобање и темпоромандибуларног зглоба (TMJ).

ONFH: Остеонекроза главе фемура; PNT: порозни нитинол

3.2.2.5 ХИБРИДНЕ КОНСТРУКЦИЈЕ

Циљ једног броја актуелних стратегија је да покушају да побољшају остеокондуктивност кроз промене у површинској топографији (нпр. храпавост, порозне површине), као и биолошким средствима да манипулишу типовима ћелија које расту на површини. Друге стратегије користе скафолде као средства за локалну испоруку биоактивних премаза (матрикс адхезионих молекула или фактор раста, као што су BMP) који могу да постигну остеокондукцију нове кости унутар површине скафолда. Калцијум фосфат (Ca-P) керамике су успешно предложене као замена за кости због њихове хемијске сличности са коштаном минералом. Хибридне конструкције Ti или Ta / остеогене ћелије, Ti или Ta / Ca-P керамике, и Ti или Ta / фактори раста су показали веома добре остеогенетске особине у поређењу са не-модификованим Ti или не-модификованим Ta, сугеришући да модификација површина Ti и Ta игра важну улогу у инжењерингу коштаног ткива. У случају Ca-P обложених скафолда примећен је *in vivo* физичко-хемијски и кристалографски континуитет између калцијум фосфатом обложене спољашње површине и новог минерализованог слоја (Habibovich, et al., 2005). Ова минерализована контактна површина обезбеђује физичко-хемијску и механичку кохезију између скафолда и кости домаћина. Табеле 12 и 13 показују нека претклиничка испитивања која су спроведена на различитим животињским моделима који користе хибридне Ti и Ta конструкције респективно. У области TE, пресађивање RGD (аргинин-аспартат-глицин киселина) пептида је фокус пажње (Sargeant, et al., 2008; Kroese-Deutman, van den Dolder, Spauwen, & Jansen, 2005; Sargeant, Oppenheimer, Dunand, & Stupp, 2008). Њихово присуство на

површини биоматеријала побољшава адхезију ћелија. Имобилизација биоактивних молекула као што су BMP-2 у површину металног биоматеријала доводи до диференцијације ћелија и побољшава осеоинтеграцију (Peng, Bian, Liang, & Xu, 2008). На основу обећавајућих резултата добијених из претклиничких студија, почела су пажљиво одабрана и контролисана клиничких испитивања са rhBMP-2 (Boden, Zdeblick, Sandhu, & Heim, 2000). Ti скафолди су такође нашли примену као системи за испоруку система за трансформацију фактора раста β -1 (TGF- β 1) (Vehof, Haus, Ruijter, Sprauwen, & Jansen, 2002). С друге стране, прилагођавање основне микро и нано топографије је паметан начин да се активирју и прилагоде одређене ћелијске функције. Овај приступ је покушао (Wu, et al., 2008) користећи порозан NiTi и (Takemoto, et al., 2007) користећи порозан Ti. Комбиновани ефекат топографије и биохемијских сигнала коришћењем коштано стимулишућих агенаса је један од праваца ка побољшању биокомпатибилности.

Табела 12. Претклиничка испитивања употребе скафолда од титанијум-керамике, титанијум-полимера или скафолда од титанијума испуњеног ћелијама

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Zhang & Zou, 2009)	Имплантирација порозног Ti са превлаком Si-NA, израђеног синтерованем влакана (величина пора 150-600 μ m, порозност 67%) у фемуре зечева.	Висока стопа коштаног урастања примећена је унутар међусобно повезане 3D структуре пора.	Si-NA превлачење значајно побољшава површинску биоактивност порозног Ti. Постојање јона силицијума може бити узрок побољшане биоактивности.
(Peng, Bian, Liang, & Xu, 2008)	Имплантирација порозног скафолда са NA превлаком, направљеног премодификованим синтерованем и термичком обрадом са BMP-2 и хијалуронском киселином, у фемуре зечева.	Примећено је коштано урастање NA, превучени Ti скафолди постижу нижу осеоинтеграцију од BMP-2 групе.	Ti скафолди са NA превлаком и са BMP-2 и хијалуронском киселином показују добар ефекат код репарације коштаных дефеката.
(Lopez-Heredia, Sohler, Gaillard, & Quillard, 2008)	Имплантирација Ti скафолда са CaP превлаком, израђеног RP технологијом (величина пора 1000 μ m, порозност 50%) у леђну поткожну кесицу пацова.	Након 4 недеље од поткожне имплантирације примећен је минерализован колаген, али не и зрела кост.	Архитектура скафолда може лако да се превуче са CaP, према <i>in vitro</i> процени са RBMC ћелијама превлака је утицала на побољшање биокомпатибилности.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Sargeant, et al., 2008)	Имплантација Ti6Al4V пене произведене помоћу HIPing процеса (величина пора 165 μm , порозност 52%) чија порозност је испуњена матриksom нановлакна пептид амфилима (PA) у фемурални дефект пацова.	PA-Ti хибридне конструкције показују коштану урастање и новоформирану кост око и унутар имплантата који је у великој мери минерализован после 4 недеље од имплантације.	Попуњавањем порозног дела скафолда PA, коштанa минерализација кости је успешно изазвана.
(Sikavitsas, van den Dolder, Bancroft, Jansen, & Mikos, 2003)	Имплантација композитног скафолда у облику влакнасте мреже од Ti испуњеног стромалним ћелијама коштане сржи и остеобластима (влакно $\varnothing 45 \mu\text{m}$, порозност > 86%) у дефекте калварије код пацова.	Примењено је урастање костију. Највећи % формирања кости добијен је у скафолдима испуњеним ћелијама (64%).	Остеоиндуктивност и велика коштанa регенерација постигнута су захваљујући пуњењу ћелијама.
(Vehof, Spauwen, & Jansen, 2000)	Имплантација Ti влакнасте мреже са CaP превлаком (величина пора 250 μm , порозност 86%) испуњене са остеогеним ћелијама у леђа пацова.	Ни у једној мрежи са и без CaP превлаке није примењено формирање кости након 6 недеља. После 8 недеља примењено је формирање кости код мрежа са CaP превлаком.	Комбинација Ti мреже са остеогеним ћелијама може изазвати формирање коштаног ткива, CaP има делотворно дејство на стварање костију.
(Habibovich, et al., 2005)	Имплантација порозног Ti6Al4V и Ti6Al4V са OCP превлаком, произведених техником <i>positive replica</i> (величина пора 400-1300 μm , порозност $79 \pm 5\%$) у леђне и мишиће бутне кости коза.	Ti6Al4V са OCP превлаком показао је веће коштану урастање и ектопично стварање кости од Ti6Al4V без превлаке.	OCP поседује висок остеоиндуктивни потенцијал. Превлаку је потпуно заменила новоформирана кост после 12 недеља.
(Hartman, Vehof, Spauwen, & Jansen, 2005)	Имплантација влакнасте мреже од Ti испуњене RBM ћелијама (влакно $\varnothing 50 \mu\text{m}$, порозност 86%) и порозног CaP у леђни мишић пацова.	Након 6 недеља пронађено је ограничено коштану урастање унутар Ti влакнасте мреже испуњене ћелијама. CaP група показала је веће коштану урастање.	CaP испуњен RBM ћелијама је много остеоиндуктивнији од Ti влакнасте мреже испуњене RBM ћелијама.
(Kroese-Deutman, van den Dolder, Spauwen, & Jansen, 2005)	Имплантација Ti влакнастих мрежа испуњених RGD (влакно $\varnothing 45 \mu\text{m}$, порозност > 86%) у кранијум зечева.	RGD-Ti скафолди показују веће коштану формирање и урастање.	RGD у комбинацији са Ti влакнастом мрежом ствара позитиван ефекат на формирање костију.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(van den Dolder, Farber, Spauwen, & Jansen, 2005)	Имплантација Ti влакнасте мреже испуњене RBM стромалним ћелијама (величина пора 250 μ m, порозност 86%) у кранијалне дефекте пацова.	RBM ћелије побољшавају почетно формирање кости, сједињавање кости лобање и кости унутар Ti влакнасте мреже догодило се само у скафолдима испуњеним ћелијама.	Компатибилност Ti влакнасте мреже испуњене ћелијама са кости је одлична.
(Vehof, Haus, Ruijter, Spauwen, & Jansen, 2002)	Имплантација Ti влакнасте мреже испуњене трансформационим фактором раста β -1 (величина пора 250 μ m, порозност 86%) са и без Ca-P превлака, у кранијалне дефекте зечева.	Примећено је коштану урастање у влакнасту мрежу, међутим, продирање унутар порозне мреже је ограничено.	У Ti-TGF- β -1 примећен је непосредан коштани контакт и кост је изгледала гушћа од оне у Ti-CaP и Ti скафолду.
(Kroese-Deutman, Vehof, Spauwen, Stoelinga, & Jansen, 2008)	Имплантација Ti влакнасте мреже (влакно \emptyset 45 μ m, порозност > 86%) испуњене крвном плазмом која је обогаћена тромбоцитима (PRP) у сегментни радијални дефект зеца.	Урастање кости је примећено након 12 недеља. Новоформирана кост је у директном контакту са Ti површином.	Ti скафолд испуњен са PRP испољава повољно дејство за стварање костију.
(Sargeant, Oppenheimer, Dunand, & Stupp, 2008)	Резултати in vivo експеримената о колонизацији мишијих остеобласних ћелија на Ti пени пептид амфифила која садржи фосфорне остатке и RGDS епитопе.	Биоактивност и велика ћелијска биокompatibilност је постигнута у RGDS модификованој конструкцији.	Концентрација RGDS епитопа која је коришћена у мрежи нановлакна показала је значајну ћелијску миграцију у хибриду, полиферијацију и диференцијацију у остеобласте.
(Chen, et al., 2007)	Имплантација остеобласних прекурсорних ћелија у композитни Ti скафолд са коралном мрежом у леђа мишева.	Коштано урастање је примећено након 2 месеца. Новоформирана кост се добро интегрисала у Ti мрежу.	Композитни скафолд од Ti са коралном мрежом са остеобласним прекурсорним ћелијама је ефикасно средство за пројектовање сегментних костију, обраду жељеног облика и постизање потребне механичке чврстоће.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Иspoљена својства
(de Peppo, et al., 2012)	Засејавање скафолда израђених ЕВМ технологијом од (ср-Ti) и Ti6Al4V hES-MPs ћелијама и праћење њиховог понашања.	Убрзо након засејавања формирао се густ слој hES-MPs ћелија чврсто припијених за површине скафолда. Материјали нису показали негативан утицај на понашање hES-MPs ћелија.	Скафолди су подржали причвршћивање и раст ћелија. Ово истраживање је показало да овакве потпорне конструкције израђене ЕВМ технологијом показују потенцијал да поспеше формирање кости и побољшају интеграцију скафолда у клиничким условима. Потребна су in vivo испитивања.

НА: Хидроксиапатит; Si-НА: Силиконска замена хидроксиапатита; ОСП: Октакалцијум фосфат; RBM: Коштана срж пацова; СаР: Калцијум фосфат; RGD: Arginyl-glycyl-aspartyl peptide; RGDS: Arg-gly-Asp-Ser синтетички пептид.

Табела 13. Претклиничка испитивања употребе хибридних Та скафолда.

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Иspoљена својства
(Gordon, et al., 2005)	Та порозни скафолди узгајани у in vivo са хондроцитима паса и емуа у статичком и динамичком окружењу.	Хистолошки налази су открили да је ткиво густо насељено са мезенхимским ћелијама које наликују хондроцитима. Делови који су узгајани у динамичким биореакторима су обложени хрскавичним матриксом.	Та порозни скафолд је испољио дејство хондропротектора.
(Bobyn, Hacking, Krygier, Harvey, Little, & Tanzer, 2005)	Имплантирација порозног цилиндричног Та (Implex Co.), (просечна вел. пора 430 µm, порозност је 75%) у интрамедуларни канал улне код паса праћена са интравенозном дозом золедронске киселине.	Еностоза је формирана у порам скафолда у обе групе; међутим, еностоза је већа у золедронској групи.	Група са третманом золедронске киселине има веће формирање нове кости.
(Barrère, et al., 2003)	Имплантирација порозних Та скафолда са и без ОСП превлаке (просечна вел. пора 430 µm, порозност 75%) у леђни мишић коза.	Након 12 недеља у скафолдима са ОСП превлаком примећено је коштано формирање у средишту имплантата.	ОСП превлака стимулише раст кости без интервенције фиброзног ткива.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Иspoљена својства
(Barrère, van der Valk, Dalmeijer, de Groot, & Layrolle, 2003)	Имплантација порозних Та скафолда са ВСА превлаком (просечна вел.пора 430 µm, порозност 75%) у дијафизу фемура код коза.	У скафолдима са превлаком апозиција кости се постепено повећава са временом имплантације и ВИС је значајно већи у скафолдима са ВСА превлаком (30% после 12 недеља).	ВСА превлаке побољшавају коштану интеграцију у односу на скафолде без превлака.
(Lima, et al., 2008)	Порозни Та скафолд засађен хондроцитима за регенерацију артикуларне хрскавице.	Остеохондралне конструкције развиле су градијент екстрацелуларног таложења и развијен Јунгов модул је у опсегу природне хрскавице.	Постигнуте су остеоохондралне конструкције са особинама природне хрскавице када је примењем Та скафолд уместо девитализоване трабекуларне кости.
(Reinholz, et al., 2005)	Покосница зечева је смештена у порозне Та скафолде, која је узгајана под хондрогеним условима.	Израштај налик хијалинској хрскавици је примењен на површини скафолда.	Примећене механичке особине су сличне као и код нормалне хрскавице зеца.
(Zou, Li, Zou, Mygind, Lind, & C, 2007)	Имплантација порозних Та прстенова испуњених нуклеинским ћелијама у гелу на бази хијалурирске киселине и rhBMP-2, у предњи лумбални део кичменог стуба по моделу (ALIF) код свиња.	Хистолошки преглед узорака лумбалне кичме са гелом хијалурирске киселине показује зрелију кост у централном делу отвора на порозном Та прстену.	Нуклеинске ћелије у гелу хијалурирске киселине показују већу формацију коштане сржи у централном делу отвора порозног Та прстена од collagraft траке са rhBMP-2.
(Sidhu, Prochnow, Schmitt, Fischgrund, Weisbrode, & Herkowitz, 2001)	Имплантација порозних Та скафолда (Hedrocel®) (просечна величина пора 500-600 µm, порозност 75-80%) модификоване са rhBMP-2 у вратни део кичменог стуба коза.	Коштано урастање је примењено у rhBMP-2 модификованом скафолду (12.5%) у односу на (2.5%) добијено у немодификованом скафолду.	Модификација са rhBMP-2 омогућила је остеоиндукцију у Та скафолду.
(Li, Zou, Woo, Ding, Lind, & Bünger, 2005)	Имплантација кавеза од угљеничних влакана са Та превлаком испуњеног Colloss®-ом у лумбални део кичме свиња.	Проценом клиничким µСТ-ом формирање нове кости може јасно да се уочи унутар кавеза.	Одлична биокompatibilност приказана помоћу µСТ слика, на којим је кост у директном и обилном контакту са кавезом који има Та превлаку.

ОСР:Октакалцијум фосфат; ВСА: налик кости угљенични апатит; ВИС: Кост- имплантат контакт ; rhBMP-2: Рекомбинантни морфогенски протеин људске кости-2; COLLOSS@: Подукт говеђег екстрацелуларног матрикса који садржи природне BMPs; μ СТ: Микрокомпјутеризована томорафија; Еностоза: раст кости унутар коштаног кавитета или на унутрашњој страни пљоснате кости

Табела 14 приказује податке добијене из неких клиничких студија у којима су коришћене хибридне Ti конструкције. Иако различити приступи, који се користе у инжењерингу коштаног ткива, резултују повећањем коштане формације и даље је недовољно дугорочних података који могу да расветле колико дуго ће ова де novo кост моћи да се одржи. Формално испитивање ових клиничких случајева је у току. Штавише, постоје бројни изазови које треба превазићи у транзицији из претклиничких студија на експерименталним животињама ка клиничким испитивањима на људима.

Да би се омогућило поређење између различитих претклиничких студија и њихових исхода, неопходно је да животињски модели и методе којима се процењују постигнути резултати постану стандардизовани, како би се остварила акумулација поузданих података који би довели до развоја интелигентних конструкција. Осим тога треба имати у виду да су код већине студија, код којих су се користили скафолди испуњени ћелијама, коришћене ћелије младих животиња па чак и фетусног порекла, а не ћелије старијих пацијената. Стога, посебна истраживања ће бити потребна да се утврди да ли се резултати могу проширити на људе и користити у клиничким ситуацијама за лечење дефеката људских костију.

Табела 14. Клиничка испитивања употребе скафолда од титанијум-керамике, титанијум-полимера, скафолда испуњеног ћелијама или скафолда од титанијума испуњеног аутологим коштаном графтом

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Regnér, Carlsson, Kärholm, & Herberts, 1998)	Имплантација MOSS Ti мрежастих кавеза (DePuy Acromed, Raynham, MA) испуњених коралним HA и деминерализованим матриксом кости у 50 пацијената (28 до 72 год.).	Постигнута је солидна стопа фузије од 96%. Целокупна просечна бол је опала за 60%. Укупно 70% од свих пацијената или се вратило послу или својим кућним активностима 8 месеци након операције.	Комбинација мрежастих кавеза од Ti, коралног HA и деминерализованог матрикса кости је ефикасна код предње интеркорпоралне фузије (ALIF) лумбалног дела кичме.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Thalgott, Xiongsheng, & Giuffre, 2003)	Имплантација цилиндричних мрежастих кавеза од Ti (DePuy Acromed, Raynham, MA) испуњеним локалним коштаном графтом у 26 не мијелопатских пацијента (34 до 81 год.).	Након 64 месеца 80.7% имало је одличне или добре исходе, стварајући стопу фузије од 100%. Сви кавези су остали нетакнути без доказа о пропадању кавеза.	Ti мрежасте кавезе испуњени локалним коштаном графтом и са предњом превлаком су ефективни за реконструкцију врата након корпектомије и представљају алтернативу за коришћење фибуларног алографта.
(Thongtrangan, Balabhadra, Le, Park, & Kim, 2003)	Имплантација проширујућег кавеза од Ti у тело пршљена испуњеног аутографтом, алографтом и калцијум фосфатом у 15 пацијената (30 до 79 год.).	Дефекти кичменог стуба могу се реконструисати без значајних компликација након просечно праћеног времена од 12.6 месеци.	Ti кавез омогућава додатна средства за постизање смањења кифотичних деформитета и стабилизацију након ресекције тумора.
(Niu, Chen, Lai, Fu, & Chen, 2005)	Имплантација вратног кичменог кавеза од легуре Ti (IGORTM, Central Medical Tech., Тајван) испуњеног гранулама TCP (Osteograft-S, Kyocera Co., Јапан) у 54 пацијента (35 до 66 год.).	87% пацијената показало је задовољавајуће клиничке резултате након 3 године праћења. Успешна фузија је постигнута у 90.5% оперисаних дискова.	Порозни кавез са превлаком од легуре Ti омогућава адекватну механичку стабилност у простору диска и одличне резултате фузије без слегања диска.
(Chuang, et al., 2006)	Имплантација мрежастих кавеза од Ti (TMCs) (Mos Miami, UK) испуњених аутологом коштаном графтом и triosite (калцијум фосфатном керамиком) у 15 пацијената (19 до 69 год.).	11 пацијената је искусило побољшања клиничко неурологичних симптома, код 3 пацијента се ништа није променило, а 1. пацијенту се стање погоршало.	Клинички резултати истраживања су прихватљиви. TMCs обезбеђује прихватљив начин за реконструкцију предњег кичменог стуба након корпектомије.
(Boden, Zdeblick, Sandhu, & Heim, 2000)	Имплантација кавеза од Ti за интеркорпоралну фузију, испуњених rhBMP-2/колагеном у 14 пацијента са првим нивоом лумбалне дегенеративне болести диска.	Сви пацијенти из rhBMP-2 групе достигли су правилну интеркорпоралну фузију након 24 месеца, док се код 2 од 3 пацијента третираних аутогеним коштаном графтом проценила фузија.	Откривено је да се јавља много стабилнија артродеза код пацијената са кавезима испуњеним са rhBMP-2 у односу на контролне са аутогеним коштаном графтом.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Аутор	Животињски модел и локација уградње	Клинички резултати	Испољена својства
(Regnér, Carlsson, Kärholm, & Herberts, 1998)	Имплантирација влакнасте мреже од Ti смештене испод површине тибијалне протезе са и без превлаке од HA/TCP у 36 пацијената са тоталном артропластиком колена.	Након 2 године, HA/TCP компоненте тибије приказују мањи антериорно-постериорни тилт и мања слегања.	HA/TCP превлака испод површине компоненте тибије побољшала је стабилност и квалитет контакта између компоненте тибије и кости.
(Hibi, Yamada, Ueda, & Endo, 2006)	Имплантирација једне мрежасте Ti плоче (Stryker, Kalamazoo, MI) пројектованог ткива са тромбоцитно обогаћеном плазмом и аутологом основом мезенхималних ћелија у алвеоларној пукотини остеопластике код 9-годишњег женског пацијента.	TEOM регенерисана кост у алвеоларном расцепу.	Ti скафолд омогућио је круто место без ремећења прокрвљености, али потребно га је уклонити пре ницања зуба.

rhBMP-2: Рекомбинантни морфогенски протеин људске кости 2 ; HA: Хидроксиапатит; TCP: Трикалцијум фосфат; TEOM: TE остеогени материјал;

3.2.3 СИНТЕТИЧКИ И ПРИРОДНИ БИОМАТЕРИЈАЛИ КОЈИ СЕ КОРИСТЕ У ИНЖЕЊЕРИНГУ ТКИВА

Важан корак у изради успешних скафолда је избор одговарајућих биоматеријала (Chu & Liu, 2008). Како је напред већ поменуто, матрикс природне кости се састоји од биолошке керамике (природног апатита) и биолошког полимера. Карбонатни хидроксиапатит $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ чини готово две трећине тежине кости. Неорганска компонента обезбеђује притисну чврстоћу кости. Влакна колагена, која чине једну трећину тежине кости, су жилава и флексибилна и на тај начин толеришу истезање, увијање и савијање. Није изненађујуће да су полимери, керамика или композити изабрани за реконструкцију и регенерацију кости (Hench & Wilson, An Introduction to Bioceramics, 1993). Они могу бити синтетички или природни.

Табела 15 приказује листу синтетичких и природних биоматеријала за израду скафолда који су најчешће истраживани због регенерације кости, од којих су неки афирмисани и клинички применљиви.

Табела 15. Листа обећавајућих биоматеријала за израду скафолда за регенерацију кости

Биоматеријали	Скраћеница	Примена
Керамика		
Calcium phosphates/калцијум фосфати	CaP	
Hydroxyapatite /хидроксиапатит	HA	дентална
Tricalcium phosphate/трикалцијум фосфат	TCP	носачи лекова
Biphasic calcium phosphate/бифазни калцијум фосфати: HA и TCP	BCP	скафолди
Bioactive glasses/биоактивна стакла		дентална
Bioglass /биостакло		носачи лекова
Phosphate glasses/фосфатна стакла		скафолди
Bioactive Glass-Ceramics /биоактивне стакло керамике	A/W	дентална
Apatite-Wollastonite (апатит/воластонит)		носачи лекова
Ceravital		скафолди
Полимери		
Синтетички деградабилни полимери		
Запремински деградабилни полимери		шавови
Aliphatic polyester / алифатични полиестер		дентална
Poly(lactic acid) / поли (лактид)	PLA	ортопедска
Poly(d-lactic acid) / поли (D-лактид)	PDLA	носачи лекова
Poly(l-lactic acid)/ поли (L-лактид)	PLLA	скафолди
Poly(d,l-lactic acid) /поли (DL-лактида)	PDLLA	
Poly(glycolic acid)/полигликолна киселина	PGA	
Poly(lactic-co-glycolic acid) /поли(лактид ко гликоид)	PLGA	
Poly(ε-caprolactone)/поли(ε-капролактона)	PCL	
Poly(hydroxyalkanoate)/поли хидрокси алканоати	PHA	
Poly(3- or 4-hydroxybutyrate)/полихидрокси бутирати	PHB	
Poly(3-hydroxyoctanoate)	PHO	
Poly(3-hydroxyvalerate)/поли(3-хидрокси валерати)	PHV	
Polydioxanone/полидиоксанон		
Poly(propylene fumarate)/поли(пропилен фумарати)	PPF	
Surface bioerodible polymers/површински биоеродирајући полимери		носачи лекова
Poly(ortho esters)/поли(орто-естри)	POE	

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Биоматеријали	Скраћеница	Примена
Poly(anhydrides)/поли(анхидриди)		
Poly(phosphazene)/полифосфазени	PPHOS	
<i>Natural degradable polymers/ природни деградабилни/разградиви полимери</i>		
Polysaccharides /полисахариди		
Hyaluronan /хијалурон	HyA	
Alginate/алгинат		
Chitosan /хитосан		
Proteins /протеини		
Collagen /колаген		
Fibrin /фибрин		

У овом делу се даје преглед биокомпатибилности, биодеградабилности (биоразградивости) и механичка својства ових материјала скафолда, које представљају најзначајније тј. кључне факторе које треба размотрити при изради скафолда за регенерацију кости. Треба истаћи једну важну тенденцију код постојећих биоматеријала скафолда а то је да механички јаки материјали (у кристалној структури) имају тенденцију да буду биоинертни, док су биоразградиви материјали (у аморфној структури), генерално, механички слаби.

3.2.3.1 БИОКЕРАМИКЕ КАЛЦИЈУМ ФОСФАТИ

Биокомпатибилност

Будући да скоро две трећине тежине кости чини хидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, чини се логично коришћење ове керамике као главне компоненте материјала за израду скафолда у инжењерингу коштаног ткива. Заправо, HA и њему сродни калцијум фосфати (на пример, β -трикалцијум фосфат [β -TCP]) су се интензивно истраживали (Hench & Wilson, 1993; Yamamuro, Hench, & Wilson, 1990) и још увек се истражују у разним комбинацијама за примену у ове сврхе. Као што се очекивало, калцијум фосфати имају одличну биокомпатибилност, због њихове блиске хемијске и кристалне сличности са минералом кости (Jagcho, 1981; Stojkovic M, 2010). Иако нису показали остеоиндуктивну способност, они свакако поседују остеокондуктивна својства као и изузетну способност да се везују директно за кост (Driskell, Hassler, & McCoy, 1973; Hollinger & Battistone, 1986; Ignjatović N., 2013). Велики број *in vivo* и *in vitro* експеримената показао је да калцијум фосфати, без обзира на форму (групно, премаз, у праху или порозни) и фазу у којој се налазе (кристална или аморфна), увек поспешују причвршћивање, диференцијацију и пролиферацију

ћелија (као што су остеобласти и мезенхимске ћелије), са НА као најбољим међу овим материјалима скафолда.

Иако је одличан биолошки учинак НА и сродних калцијум фосфата документован, спора биодеградација (биоразградња) њихових кристалних фаза и слаба механичка чврстоћа њихових аморфних стања ограничава њихову примену у инжењерингу новог коштаног ткива, посебно на местима које захтевају већу носивост.

Деградација (Разградивост)

Типично, кристални калцијум фосфати имају дуго време деградације (разградње) *in vivo*, често реда године (Lanza, Langer, & Vacanti, 2000). Стопа разлагања синтетичких НА зависи од врсте и концентрације пуферисаних или непуферисаних раствора, рН раствора, степен засићења раствора, односа чврстог дела и раствора, суспензије у раствору, као и састава и кристалности НА. У случају кристалног НА, степен микро и макро порозности, дефект у структури, као и количина и врста других фаза показују такође значајан утицај (Legeros & LeGeros, 1993). Кристални НА показује најспорију стопу деградације у поређењу са другим калцијум фосфатима. Стопа разградње опада следећим редоследом (Chu & Liu, 2008): Аморфни НА > сви остали фосфати калцијума (нпр. TCP)>> кристални НА.

Механичке карактеристике

Својства синтетичких калцијум фосфата значајно варирају са њиховом кристалношћу, величином зрна, порозношћу и саставом (на пример, недостатак калцијума). У принципу, механичке особине синтетичких калцијум фосфата се значајно смањују са повећањем садржаја аморфне фазе, микропорозности и величином зрна. Висока кристалност, ниска порозност и мала величина зрна имају тенденцију да дају већу крутост, већу притисну и затезну чврстоћу и већу жилавост (Legeros & LeGeros, 1993; Kokubo, 1999). Утврђено је да су савојна чврстоћа и жилавост НА много мањи у сувим условима него у влажним условима (de Groot, Lein, Wolke, & de Bliet-Hogervost, 1990). Механичка својстава НА и сродних калцијум фосфата, као и кости, дати су у табели 16 НА и сродни калцијум фосфати показују одличну биокомпатибилност и остеокондуктивност. Међутим, ови материјали су слабо разградиви у случају кристалних структура и њихове аморфне копије су механички исувише крте да би се користиле за израду високопорозних скафолда у ТЕ.

Табела 16. (Chu & Liu, 2008) Поређење механичких карактеристика калцијум фосфата и људске кости

Материјал	Притисна чврстоћа (MPa)	Затезна чврстоћа (MPa)	Еластични модули (GPa)	Жилавост (MPa \sqrt{m})
Керамике				
Калцијум фосфати	20–900	30–200	30–103	<1.0
Хидроксиапатит	>400	~40	~100	~1.0
Кортикална кост	130–180 (220)	50–151	12–18(20)	6–8

3.2.3.2 БИОКЕРАМИКЕ БИОАКТИВНА СИЛИКАТНА СТАКЛА

Биокомпатибилност

Већ крајем шездесетих година, Hench и његове колеге открили су да одређена силикатна стакла имају одличну биокомпатибилност, као и способност везивања кости (Hench, Splinter, & Allen, 1971). Кроз међувезе и ћелијски посредоване реакције, биоактивно стакло развија калцијумом-дефицитаран, карбонатни калцијум фосфатни површински слој који омогућава да се хемијски веже за кост домаћина. Ова способност везивања кости се назива "биоактивност" и повезана је са формирањем карбонатног хидроксиапатитног слоја на површини стакла у току уграђивања или када је у контакту са биолошким флуидима. Биоактивност није искључиво власништво биоактивних силикатних стакала. НА и сродни калцијум фосфати такође показују одличне способности за везивање кости, као што је већ поменуто напред. Способност материјала да формира биолошку међувезу са околним ткивом је критична за избегавање губљења структуре скафолда *in vivo*. Биоактивна стакла такође подржавају активност ензима (Lobel & Hench, 1998), васкуларизацију, негују приањање остеобласта, раст и диференцијацију. Биоактивна стакла такође подстичу диференцијацију мезенхимских ћелија у остеобласте (Roether, Gough, Vossaccini, Hench, Maquet, & Jérôme, 2002) и обезбеђују остеокондуктивност (Oonishi, et al., 1997).

Установљено је да силицијум игра кључну улогу у минерализацији кости и активацији гена, што је довело до замене калцијума силицијумом у синтетичким НА. Истраживања *in vivo* су показала да је урастање кости у силицијумом замењеним гранулама хидроксиапатита значајно веће него у чистом НА (Botelho, et al., 2006).

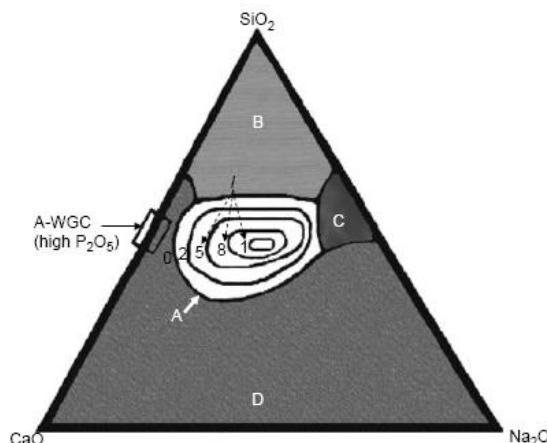
Поменуте предности чине 45S5 биостакло веома успешним материјалом у клиничким апликацијама. У скорије време биоактивна стакла су скренула пажњу као обећавајући материјали за израду скафолда у ТЕ (Yuan, de Bruijn, Zhang, van Blitterswijk, & de Groot, 2001; Jones & Hench, 2003). Слично калцијум фосфатима,

примена биостакала, посебно у ТЕ, је наишла на препреку услед конфликта између својстава биоразградивости и механичке постојаности.

Биоразградивост

Основни састојци већине биоактивних стакала су SiO_2 , Na_2O , CaO , и P_2O_5 . Познато 45S5 биостакло садржи 45% SiO_2 , 24,5% Na_2O , 24,4% CaO , и 6% P_2O_5 , тежинских процената. Биореактивност материјала је зависна од састава.

(Hench & Andersson, Bioactive glasses, 1999) су систематски проучавали низ стакала у четворокомпонентним системима са 6 % теж. садржајем P_2O_5 . Овај рад је сажет у тернарном SiO_2 - Na_2O - CaO дијаграму приказаном на сл. 38. У региону А, стакла су биоактивна и везују се за кости. У региону В стакла су скоро инертна када се имплантирају. У региону С стакла се ресорбују у року од 10-30 дана у ткиву. У региону D стакла нису технички применљива.



Слика 38. Зависност састава биоактивних стакала и стакло-керамике са могућношћу везивања за кости и мека ткива

Кључна предност биоактивних стакала која их чини обећавајућим материјалима за скафолде је могућност контроле распона хемијских својстава и тиме стопе биоресорпције. Структуре и хемија стакала, нарочито сол-гел (**chemical solution deposition**) изведена стакла (Hench L. L., 1997), могу бити прилагођени на молекуларном нивоу варирањем било састава или термичке обраде. Могуће је пројектовати стакла са деградационим својствима прилагођеним одређеној апликацији у инжењерингу коштаног ткива.

Механичка својства

Основни недостатак биоактивних стакала је њихова ниска жилавост (таб. 17), због њихове аморфне структуре.

Табела 17. Механичке карактеристике хидроксиапатита, 45S5 биостакла, стакло керамике, и људске кортикалне кости

Материјал	Притисна чврстоћа (MPa)	Затезна чврстоћа (MPa)	Модул еластичности (GPa)	Жилавост (MPa \sqrt{m})
Керамика				
Биостакло 45S5	500	42	35	0.5-1
A-W(апатит-воластонит)	1080	215 (савијање)	118	2.0
Parent glass of A-W	NA	72 (савијање)	NA	0.8
Bioverit I	500	140-180 (сав.)	70-90	1.2-2.1
Кортикална кост	130-180	50-151	12-18 (20)	6-8

Дакле, многи истраживачи су синтеровали биоактивна стакла на њиховим температурама кристализације у циљу побољшања механичких перформанси ових материјала. Међутим, пријављено је да кристализација биоактивних стакла смањује ниво биоактивности, па чак и претвара биоактивно стакло у инертни материјал (Li, Yang, Zhang, & Kokubo, 1992). Ово је један од недостатака који ограничава примену биоактивних стакла као материјала за израду скафолда, обзиром да се пуна кристализација јавља пре значајног повећања густине након термичке обраде (тј. синтеровања). Обимно синтеровање је неопходно ради повећања густине гредица скафолда, које би иначе биле састављене од лабаво пакованих честица и чиниле структуру превише кртом.

(Chen & Vossaccini, 2006) су дали извештај о фази трансформације из механички чврсте кристалне фазе у фазу биоразградивог аморфног калцијум фосфата у 45S5 скафолдима. Ова фаза транзиције, која се одвија у биолошком окружењу на телесној температури, врши спрегу два захтевана својства (механичке чврстоће и биоразградивости) у скафолду.

NA, сродни калцијум фосфати и биоактивна стакла показују добру биокомпатибилност и остеокондуктивност. Међутим, мана ових материјала, изузев 45S5 биостакло-керамике, је што механички јак скафолд мора да се постигне кроз кристализацију, која отежава биодеградацију ових материјала.

3.2.3.3 БИОКЕРАМИКЕ СТАКЛО КЕРАМИКЕ

Стакла се могу ојачати формирањем кристалних честица у матрици стакла током термичке обраде у одговарајућем региону стакло кристал њеног фазног дијаграма. Резултанта стакло-керамика обично показује боља механичка својства од обе компоненте појединачно: стакла и синтероване кристалне керамике (нпр. синтерованог NA). Постоји много биомедицинских стакло-керамика на располагању за репарацију оштећених костију. Међу њима су се апатит-воластонит (AW), Церавитал и Биоверит стакло-керамике интензивно

истраживале (Hench & Wilson, 1993; Yamamuro, Hench, & Wilson, 1990). 45S5 је показао велики потенцијал, као материјал за израду скафолда у ТЕ.

3.2.3.3.1 БИОСТАКЛО 45S5

Године 2005. (Chen, Thompson, & Vossaccini, 2006) су израдили 3D високо порозне, механички компетентне, биоактивне, биоразградиве скафолде, први пут, коришћењем репликационе технике, помоћу 45S5 биостакла у праху. Под оптималним условима синтеровања (1000°C/h), формирају се кристали $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$, који дају скафолдима највећу могућу притисну и савојну чврстоћу за ову пенасту структуру. Важно откриће у овом раду је то да механички јака кристална фаза $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$, може да се трансформише у аморфну калцијум фосфатну фазу, након потапања у симулирану телесну течност (SBF) за 28 дана и да кинетика трансформације може бити прилагођена тако што се контролише кристалност синтерованог 45S5 биостакла. Ово је показало да је израда биоактивног и биодеграбилног скафолда, са добрим механичким особинама, могућа коришћењем овог материјала (Chen & Vossaccini, 2006). У ову групу материјала спадају и AW, Cervital и Bioverit стакло керамике.

3.2.3.4 ПРИРОДНИ БИОПОЛИМЕРИ

Многа истраживања се баве природним полимерима као што су деминерализовани коштани ЕСМ, прочишћени колаген и хитозан у циљу њихове примене у ТЕ. Теоретски, они не би требало да изазивају реакцију када се имплантирају јер пружају природни супстрат за везивање ћелија, пролиферацију и диференцијацију у њиховом природном стању. Из тих разлога природни полимери имају велики потенцијал као подлога у ТЕ (Seal, Oterob, & Panitch, 2001). Табела 18 даје преглед одређених природних полимера, њихово порекло, као и најчешћу примену. Међу њима, најшире су истраживани колаген и хитозан.

Табела 18. Листа природних полимера, порекло и примене

Полимери	Порекло	Примена
Колаген	Тетиве и лигаменти	Вишеструке примене, укључујући инжењеринг коштаног ткива
Колаген - Glucosaminoglycan (GAG)/Гликозаминогликан (alginate)-алгинат copolymers- кополимери		Вештачки графтови за замену коже
Албумин	У крви	Транспортни протеин коришћен за облагање у циљу формирања тромборезистентне површине

Хијалуринска киселина	у ЕСМ/у свих виших животиња	Важан полазни материјал за припрему нових биокompatибилних и биоразградивих полимера који имају примену у испоруци медикамената и ТЕ
Фибрин	Ослобађа се из крвне плазме	Вишеструке примене, укључујући инжењеринг коштаног ткива
Хитосан	Љуштуре морских рачића и краба	Вишеструке примене, укључујући инжењеринг коштаног ткива

3.2.3.4.1 КОЛАГЕН И НА ЕСМ ЗАСНОВАНИ МАТЕРИЈАЛИ

Најчешће коришћен природни полимер је структурни протеин колагена. Биоматеријали изведени из ЕСМ-а су колаген и други природни структурни и функционални протеини. Природни полимери се морају модификовати и стерилисати пре клиничке употребе. Све методе стабилизације и стерилизације могу умерено или битно да промене степен *in vivo* деградације и механичка и физичка својства природних полимера.

3.2.3.4.2 ХИТОЗАН

Употреба хитозана у инжењерингу коштаног ткива се истраживала у великом обиму (Brown & Hoffman, 2002). Ово је делом због очигледних остеокондуктивних својстава хитозана. Мезенхимске матичне ћелије узгајане у присуству хитозана показале су повећану диференцијацију остеобласта у поређењу са ћелијама које су узгајане у одсуству хитозана. Такође се спекулисало да хитозан побољшава остеокондуктивност *in vivo*, груписањем фактора раста у подручју погођеног дела.

3.2.3.5 СИНТЕТИЧКИ ПОЛИМЕРИ

Иако природни полимери поседују горе наведене предности, њихове лоше механичке особине и променљиве физичке карактеристике у зависности од различитих извора матричних протеина ометају њихов напредак по питању широке примене у ТЕ. Присутни су такође имуногенски проблеми повезани са увођењем страних колагена (Lanza, Langer, & Vacanti, 2000) у ткиво. Због тога је у задње време много пажње посвећено истраживању синтетичких полимера. Синтетички полимери имају висок потенцијал у ТЕ не само због њихових одличних карактеристика обраде, већ и због њихове предности по питању биодеграбилности и биокompatибилности (Lanza, Langer, & Vacanti, 2000; Middleton & Tipton, 2000). Они поседују предвидиве и поновљиве механичке и физичке карактеристике (нпр. затезну чврстоћу, модул еластичности и стопу разградивости) и могу бити произведени са великом прецизношћу. Иако синтетички полимери имају одређене недостатке, као што су могућност упорног изазивања упалних реакција, урушавање и немогућност да се интегришу са

ткивом домаћина, они могу бити благовремено замењени *in vivo* природним конструкцијама изграђеним од стране ћелија које су засађене у њима. Широко је прихваћено да би идеална замена за кост у ТЕ требало да буде синтетички скафолд, који је биокompatибилан и обезбеђује причвршћивање ћелија, пролиферацију и матурацију тј. сазревање, има механичке особине које одговарају онима које има ткиво на месту имплантације и деградира са динамиком раста ткива. Табела 19 приказује листу изабраних синтетичких, биокompatибилних и биоразградивих полимера који се интензивно истражују као материјали за скафолде у ТЕ. Колагена влакана типа I ће бити укључена у поређење.

Табела 19. Физичке карактеристике синтетичких, биокомпатибилних и биоразградивих полимера истраживаних као материјала за израду скафолда

Полимери	Температура топљења, T_m (°C)	Тачка стаклене транзиције, T_g (°C)	Време деградације (месеци)	Затезна или притисна * чврстоћа (MPa)	Модули (GPa)	Издужење (%)
<i>Запремински деградабилни и полимери</i>						
PDLLA	аморфни	55-60	12-16	Pellet: 35-150*	филм или диск: 1.9-2.4	Pellet: 0.5-8.0
				филм или диск: 29-35		филм или диск 5.0-6.0
PLLA	173-178	60-65	>24	Pellet: 40-120	филм или диск: 1.2-3.0	Pellet: 2.0-10.0
				филм или диск: 28-50		филм или диск 2.0-6.0
				влакно: 870-2300	влакно: 10-16	
						влакно: 12-26
PGA	225-230	35-40	6-12	влакно: 340-920	влакно: 7-14	влакно: 15-25
PLGA	аморфни	45-55	прилагодљив	41.4-55.2	1.4-2.8	3-10

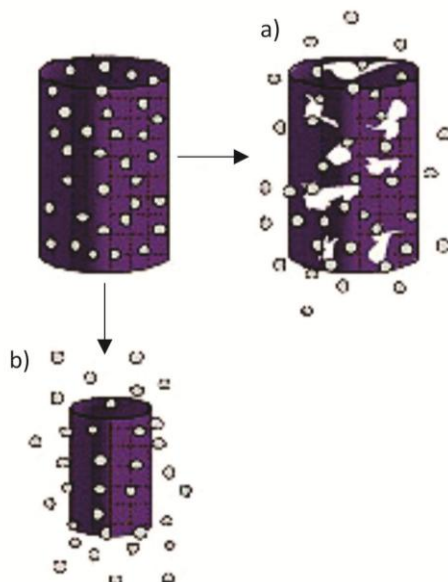
Полимери	Температура топљења, T_m (°C)	Тачка стаклене транзиције, T_g (°C)	Време деградације (месеци)	Затезна или притисна * чврстоћа (MPa)	Модули (GPa)	Издужење (%)
PPF			запремински	2-30*		
PCL	58	-72	запремински			700
<i>Полимери са биодеродирајућом</i>						
Полианхидриди	150-200		површински	25-27	0.14-1.4	
				30-40*		
Полиортоестри	30-100		површински	4-16*	2.5-4.4	
Полифосфазени	-66-50	242	површински			
<i>Тип I колаген</i>			запремински	неумрежено влакно: 0.91-7.2	неумрежено влакно: $1.8-46 \times 10^{-3}$	неумрежено влакно: 24.1-68.0
				умрежено влакно: 46.8-68.8	умрежено влакно: 0.383-0.766	умрежено влакно: 11.6-15.6

3.2.3.5.1 ЗАПРЕМИНСКИ (BULK) БИОРАЗГРАДИВИ ПОЛИМЕРИ

Засићени поли- α -Хидроксиестери (PLA, PGA, и PCL).

Биоразградиви синтетички полимери који се најчешће користе за 3D скафолде у ТЕ су поли (α -хидрокси киселине), укључујући и поли (млечне киселине) (PLA) и поли (гликолне киселине) (PGA), као и поли (млечни-ко-гликоид) (PLGA) кополимери. PLA постоји у три облика: L-PLA (PLLA), D-PLA (PDLA) и рацемска смеша D, L-PLA (PDLLA).

Запремински полимери су популарни из више разлога, међу којима се издвајају биокомпатибилност и биодеградабилност. Ови материјали имају хемијска својства које дозвољавају хидролитичку деградацију кроз де-естерификацију. Након завршетка процеса деградације, мономерне компоненте сваког полимера се уклањају природним путем. Тело већ садржи високо регулаторне механизме за потпуно уклањање мономерних компоненти млечне киселине и гликолне киселине. Због овог својства, PLA и PGA се користе у производима као што су разградиви шавови и одобрени су од стране FDU (Seal, Oterob, & Panitch, 2001). Остала значајна својства ових полимера су њихова добра обрадивост, њихова способност да показују широк спектар стопа деградације, физичке, механичке и друге особине, које се могу постићи коришћењем PLA и PGA разних молекулских маса и њихових кополимера. Међутим, ови полимери пролазе кроз **булк (запреминску) ерозију** (сл. 39) у контакту са телесним течностима што може да доведе до преране деградације скафолда.



Слика 39. а) Запреминска ерозија и б) површинска ерозија

Са слике 39 се види да приликом запреминске ерозије вода продира у унутрашњост полимера и врши деградацију по целој запремини (а не само по површини).

Поред тога, нагло ослобађање тих киселих деградационих производа може да изазове јак упални одговор (Bergsma, Rosema, Bos, & de Bruijin, 1993). У принципу, PGA деградира брже него PLA, као што је наведено у табели 19. Њихове стопе деградације опадају према следећем редоследу: PGA > PDLLA > PLLA - смањење стопе деградације

Табела 19 такође приказује механичка својства колагена типа I, који је главна органска компонента ЕСМ-а у кости. Чврстоћа и растегљивост (нпр. мах истезања) код PLA и PGA се могу поредити са онима код колагених влакана типа I.

PDLLA је детаљно истраживан као биомедицински материјал за облагање (превлачење) због одличних карактеристика у односу на површину имплантата (Seal, Oterob, & Panitch, 2001; Gollwitzer, Ibrahim, Meyer, Mittelmeier, Busch, & Stemberger, 2003). Поред високе механичке стабилности (Schmidmaier, Wildemann, Stemberger, Haas, & Raschke, 2001), PDLLA такође показује одличну биокомпатибилност *in vivo* и добар остеоиндуктивни потенцијал (Schmidmaier, Wildemann, Bail, Lucke, Fuchs, & Stemberger, 2001). PDLLA ниске молекуларне тежине може да се комбинује са медикаментима као што су фактори раста (Schmidmaier, Wildemann, Bail, Lucke, Fuchs, & Stemberger, 2001), антибиотици (Gollwitzer H. , Ibrahim, Meyer, Mittelmeier, Busch, & Stemberger, 2003), или инхибитори тромбина (Hergmann, и други, 1999) да би се успоставио локално дејствујући систем за испоруку медикамената. Он се због ових пожељних карактеристика, у последње време, интензивно истражује као материјал за израду скафолда у ТЕ.

Изразито порозни 3D скафолди од PDLLA и PLGA испуњени биостаклом су израђени од стране (Roether, Gough, Vossaccini, Hensch, Maquet, & Jérôme, 2002). Од тада се велики број публикација појавило на ову тему, (Rezwan, Chen, Blaker, & Vossaccini, 2006). Порозне PDLA пене и биостаклом-испуњене PDLLA композитне пене су произведене, користећи технику Thermally Induced Phase Separation (TIPS) (Maquet, Vossaccini, Pravata, Notingher, & Jerome, 2003) (Maquet, Vossaccini, Pravata, Notingher, & Jerome, 2004). Биостаклом испуњене PDLLA композитне пене испољавају високу биоактивност, што се оцењује формирањем HA на површини гредица након потапања у SBF (симулирану телесну течност) (Blaker, Gough, Maquet, Notingher I, & Vossaccini, 2003). Такође је доказано да пене поспешују миграцију, адхезију, ширење и одрживост MG-63 ћелија (Verrier, Blaker, Maquet, Hensch, & Vossaccini, 2004). Поли (ϵ -капролактон) (PCL) је такође важан члан породице алифатичних полиестера. Он је коришћен као ефикасан

систем за испоруку лекова, који се такође користи за побољшање коштаног урастања и регенерацију ткива при лечењу коштаних дефеката (Pitt, Gratzel, & Kimmel, 1981). Установљено је да је деградација PCL система велике молекулске масе (50.000) изузетно спора (захтева 3 године за потпуно уклањање из тела домаћина).

Поли хидрокси алканоати (PНВ, PНВУ, Р4НВ, PНВННх, PНО)

Поли хидрокси алканоати (PНА), други тип полиестера, такође су предложени за коришћење у ТЕ због могућности контролисања биоразградивости и високе биокомпатибилности (Chen & Wu, 2005). Они су такође алифатични полиестери који настају активношћу микроорганизама у условима неуравнотеженог раста (Li, Du, & Chang, 2005).

Они су генерално биоразградиви (преко хидролизе) и термообрадиви, што их чини погодним биоматеријалима за примену у медицинским уређајима и ТЕ. Током протеклих година, PНА, посебно поли-3-хидрокси бутират (PНВ), кополимери 3-хидрокси бутирата и 3-хидрокси валерата (PНВУ), 4-поли хидрокси бутират (P4НВ), кополимери 3-хидрокси бутирата и 3-хидрокси хексаноат (PНВННх) и поли 3-хидрокси октаноат (PНО) (Chen & Wu, 2005; Doi, Kitamura, & Abe, 1995) су се показали погодним за ТЕ.

У зависности од захтева различитих апликација, PНА полимери могу да буду помешани, површински модификовани или да се комбинују са другим полимерима, ензимима или неорганичким материјалима да би додатно прилагодили своја механичка својства или биокомпатибилност. Мешањем неколико PНА драматично се мењају њихова својства и биокомпатибилност (Chen & Wu, 2005; Doi, Kitamura, & Abe, 1995).

PНВ је од посебног интереса за примену у апликацијама везаним за коштану ткиво због тога што је показано да је одговор ткива одговарајући и нема доказа о хроничним нежељеним упалним реакцијама након имплантације у периоду до 12 месеци (Doi, Kitamura, & Abe, 1995). Кост се формира у близини материјала и касније постаје веома организована, где до 80% површине имплантата лежи у директној апозицији према новој кости. Материјали нису показали доказе о знатном структурном нарушавању *in vivo* током имплантационог периода (Doyle, Tanner, & Bonfield, 1991). Ипак, недостатак неких полимера PНА је њихова ограничена доступност и утросак времена за поступак екстракције из бактеријских култура за добијање потребних количина материјала (Chen & Wu, 2005; Verma, Bhatia, Valappil, & Roy, 2002).

Полипропилен фумарат

Поли (пропилен фумарат) (PPF) је незасићени линеарни полиестер. Слично PLA и PGA, производи хидролитичке деградације PPF (тј. пропилен гликол и фумарична киселине) су биокompatibilни и одмах се уклањају из тела. Механичка својства и време деградације композита може бити контролисано варирањем молекуларне тежине PPF-а. Дакле, очување двоструких веза и контрола молекулске масе током PPF синтезе су критична питања. Предлаже се коришћење PPF као материјала за скафолде за вођену регенерацију ткива, често као део убаченог композита за замену кости, па се користи као подлога за узгајање остеообласта (Peter, и други, 2000).

3.2.3.5.1 ПОЛИМЕРИ СА БИОЕРОДИРАЈУЋОМ ПОВРШИНОМ

То је породица хидрофобних полимера који пролазе хетерогени процес хидролизе, који је потврђен на међу вези (интерфејсу) полимер-вода. Ово својство се назива површинско еродирање (разједање) за разлику од запреминске деградације. Ови полимери се интензивно истражују као носачи за испоруку лекова. Површинска ерозија нуди три кључне предности у односу на запреминску деградацију када се користи као материјал за израду скафолда: (1) задржавање механичког интегритета за време трајања уређаја, захваљујући одржавању односа масе и запремине, (2) минимални токсични ефекти (тј. локалне киселости), због ниже растворљивости и концентрације производа деградације, и (3) значајно битно побољшано урастање кости у порозне скафолде, захваљујући порасту величине пора, са напредовањем ерозије (Shastri, Zelikin, & Hildgen, 2002).

Поли (анхидриди)

Поли (1,3-бис-Р-карбокси фенокси пропан анхидрид) (Domb & Langer, Poly(1,3-bis-p-carboxyphenoxyp propane anhydride), 1999) и поли (анхидрид димер ерука киселине) (Domb & Langer, 1999) су биодеградабилни полимери за контролисану испоруку лекова у облику имплантата или уградиве микросфере. Студије на зечевима су показале да се остеокомпатибилност поли (анхидрида) који пролазе очвршћавање помоћу светлости може поредити са PLA и да имплантирати од поли (анхидрида) показују побољшану интеграцију са околним костима у односу на PLA.

Поли (орто-естри)

Поли (орто-естри) (POE) скафолди су обложени (превучени) са умреженим киселим гелатином ради побољшања карактеристика површине за причвршћивање ћелија. Прелиминарни *in vitro* и *in vivo* резултати откривају да POE нису показали упалне процесе и имају мало или нимало утицаја на

формирање костију, док PLA изазвају хроничне упалне одговоре и спречавају формирање костију (Solheim, Sudmann, Bang, & Sudmann, 2000; Andriano, Gurny, & Heller, 2002).

Полифосфазени

Ови полимери су потенцијални биоеродирајући материјали са могућношћу контролисања деградације, за устаљену испоруку медикамената за терапеутску употребу и регенерацију кости (Laurencin, et al., 1996). Њихов широк спектар хидролитичких својства омогућава примену у биолошком окружењу без ослобађање штетних производа деградације у физиолошким концентрацијама.

3.2.3.6 БИОКОМПОЗИТИ

Са становишта науке о материјалима, један тип материјала не обезбеђује увек механичка и хемијска својства потребна за одређену апликацију. У овим случајевима, композитни материјали, пројектовани да комбинују предности обе компоненте, могу бити право решење.

Док масовно ослобађање киселих производа деградације код полимера може да изазове запаљенске (упалне) реакције (Bergsma, Rosema, Bos, & de Bruijn, 1993), основна деградација калцијум фосфата или биоактивних стакала би амортизовала киселе нуспроизводе полимера и могла на тај начин помоћи да се избегне формирање неповољне средине за ћелије, због смањења рН вредности. Механички, биокерамике су много јаче од полимера и играју кључну улогу у пружању механичке стабилности конструкције пре синтезе матрикса нове кости од стране ћелија. Међутим, керамике и стакла су веома крти због њихове унутрашње кртости и осетљивости на пукотине. Да би искористиле своје предности и минимизирале своје недостатке, керамике и материјали се комбинују са разним биополимерима ради формирања композитних биоматеријала за коштаноу регенерацију.

У принципу, сви ови синтетички композити имају добру биокompatibilност. (Kikuchi, Tanaka, Kouyama, & Takakuda, 1999) су комбиновали TCP са PLA ради формирања полимер-керамика композита, за које је утврђено да поседују остеокондуктивност β -TCP и разградивост PLA. Истраживачки тим (Devin, Attawia, & Laurencin CT, 1996) синтетисано је порозне скафолде који садрже и PLGA и HA, који су показали да комбинују разградивост од PLGA са биоактивношћу од HA, неговање ћелијске пролиферације и диференцијације, као и формирање минерала. Слично томе, код композита биоактивног стакла и PLA је примећено да се формирају слојеви калцијум фосфата на површини и подржавају брз и обилан раст људских остеобласта и остеобластима сличних ћелија када се узгајају *in vitro* (Maquet, Voccaccini, Pravata, Notingher, & Jerome, 2003; Maquet, Voccaccini, Pravata, Notingher, & Jerome, 2004; Blaker, Gough, Maquet,

Notingher I, & Boccaccini, 2003; Verrier, Blaker, Maquet, Hensch, & Boccaccini, 2004; Zhang, Wang, Hillmeyer, & Francis, 2004; Blaker, Day, Maquet, & Boccaccini, 2004; Blaker, Maquet, Jérôme, Boccaccini, & Nazhat, 2005; Navarro, Ginebra, Planell, Zepetelli, & Ambrosio, 2004; Li & Chang, 2004). У литератури се могу наћи и други примери евалуације различитих синтетичких биокompatibilних композита (Najman, Savic, & Djordjevic, 2004) у циљу њихове примене у ТЕ.

Табела 20 приказује изабране керамика/стакло-полимер композите, који су пројектовани као материјали за скафолде у инжењерингу коштаног ткива и њихова механичка својства.

Табела 20. Биокмозити пројектовани за инжењеринг коштаног ткива

Керамике	Полимери	Процент керамике (%)	Порозност (%)	Величина пора (μm)	Притисна (С), Затезна(Т), Савојна (F) Чврстоћа (МПа)	Модули (МПа)	Жилавост (kJ/m^2)
<i>Композити пуне густине</i>							
НА влакна	PDLLA	2–10.5 (vol.)	Није применљиво		45 (F)	1.75–2.47 $\times 10^3$	
	PLLA	10–70 (wt.)			50–60 (F)	6.4–12.8 $\times 10^3$	
НА	PLGA	40–85 (vol.)			22 (F)	1.1 $\times 10^3$	5.29
	Chitosan	40–85 (vol.)			12 (F)	2.15 $\times 10^3$	0.092
	Chitosan+PLGA	40–85 (vol.)			43 (F)	2.6 $\times 10^3$	9.77
	PPhos	85–95 (wt.)					
	Collagen	50–72 (wt.)					
β -ТСР	PLLA-co-PEH	75 (wt.)			51 (F)	5.18 $\times 10^3$	
	PPF	25 (wt.)			7.5–7.7 (C)	191–134	
A/W	PE	10–50 (vol.)			18–28 (F)	0.9–5.7 $\times 10^3$	
Ca3(CO3)2	PLLA	30 (wt.)			50 (C)	3.5–6 $\times 10^3$	
Људска кортикална кост					50–150 (T); 130–180 (C)	12–18 $\times 10^3$	
<i>Порозни комозити</i>							
Аморфан СаР	PLGA	28–75 (wt.)	75	>100		65	
β -ТСР	Chitosan-Gelatin	10–70 (wt.)		322–355	0.32–0.88 (C)	3.94–10.88	
НА	PLLA	50 (wt.)	85–96	100 \times 300	0.39 (C)	10–14	
	PLGA	60–75 (wt.)	81–91	800–1800	0.07–0.22 (C)	2–7.5	

Керамике	Полимери	Процент керамике (%)	Порозност (%)	Величина пора (μm)	Притисна (C), Затезна (T), Савојна (F) Чврстоћа (MPa)	Модули (MPa)	Жилавост (kJ/m^2)
	PLGA		30-40	110-150		337-1459	
Биостакло	PLGA	75 (wt.)	43	89	0.42 (C)	51	
	PLLA	20-50 (wt.)	77-80	~100	1.5-3.9 (T)	137-260	
	PLGA	0.1-1 (wt.)		50-300			
	PDLLA	5-29 (wt.)	94	~100	0.07-0.08 (C)	0.65-1.2	
Фосфатно стакло A/W	PLA-PDLLA	40 (wt.)	93-97		0.017-0.020 (C)	0.075-0.12	
	PDLLA	20-40 (wt.)	85.5-95.2	98-154			
Људска трабекуларна кост					4-12 (C)	100-500	

Поређење густине композита и кортикалне кости указује на то да највише обећавају синтетички композити са хидроксиапатитним влакнима-ојачаним PLA композитом (Kasaga, Yoshio, Masayuki, & Yoshihiro, 2001), који, међутим, показују вредности механичких карактеристика блиске доњим вредностима кортикалне кости. Други обећавајући композитни скафолди приказани у литератури су они од биостакла и PLLA или PDLLA (Lu, El-Amin, Scott KD, & Laurencin, 2003; Zhang, Wang, Hillmayer, & Francis, 2004; Blaker, Gough, Maquet, Notingher I, & Voccaccini, 2003; Blaker, Maquet, Jérôme, Voccaccini, & Nazhat, 2005). Они имају добро дефинисане порозне структуре, док су у исто време њихове механичке особине близу (али мање од) оних код трабекуларне кости.

За пројектовање идеалног скафолда, који је биоресорбујући, биокомпатибилан, обезбеђује причвршћивање ћелија, пролиферацију и сазревање и који нестаје када се нова кост формира, омогућавајући новој кости да прође адаптацију, неопходан је адекватан избор материјала као што је приказано у табели 21.

Међу биоактивним керамикама и стаклима наведеним у табели 21, биоактивна (силикатна) стакла имају изузетне предности. Способност побољшања васкуларизације, улога силицијума и прилагођена стопа деградације чине биоактивна стакла обећавајућим материјалом у изради скафолда и чине га материјалом избора за неорганске компоненте композитних скафолда. Иако су биоактивна стакла крта, са ниском жилавошћу, она се могу користити у комбинацији са полимерима ради формирања композитних материјала. Способност да се упаре механичка чврстоћа са прилагођеном биодеграбилношћу чини да су 45S5 биостакла у предности над калцијум фосфатима (укључујући HA), као и другим биоактивним стаклима и сродним керамичким стаклима.

Између два типа полимера, запремински деградабилни тип више обећава него група површински-ерозионих, обзиром да је замена са новим коштаним ткивом један од важних критеријума за идеалан материјал за скафолде (таб. 21). Коначно, очигледно је да се композити могу сматрати идеалним материјалом за скафолде у инжењерингу коштаног ткива ако је процес израде погодан за производњу оваквих 3D структура захтеваних величина и облика.

Табела 21. Предност и недостаци синтетичких биоматеријала за скафолде у инжењерингу коштаног ткива

Биоматеријали	Позитивно	Негативно
Калцијум фосфати (HA, TCP, and BPCP)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Одлична биокомпатибилност 2. Подржава активност ћелија 3. Добра остеокондуктивност 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Превише крти у аморфној структури 2. Скоро биоинертни у кристалној фази
Биоактивна стакла и стакло керамика	<ol style="list-style-type: none"> 1. Одлична биокомпатибилност 2. Подржава активност ћелија 3. Добра остеокондуктивност 4. Омогућава васкуларизацију 5. Прилагодива стопа деградације 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Механички крти и слаби у стању стакла 2. Деградирају споро у стању кристалних структура, изузев 45S5 биостакло
Запремински деградабилни полимери (PLA, PGA, PLGA, PPF)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Добра биокомпатибилност 2. Биодеградабилни са широким опсегом стопа деградације 3. Биоресорбујући 4. Добра обрадивост 5. Добра дуктилност 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Упални одговор изазван киселим производима деградације 2. Убрзање стопе деградације изазива колапс скафолда
Полимери са биородирајућом површином (POE, полианхидриди), поли(фосфазени)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Добра биокомпатибилност 2. Задржавање механичког интегритета над деградабилним веком уређаја 3. Значајно повећава урастање кости у порозне скафолде захваљујући повећању величине пора 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Не могу бити потпуно уклоњени од стране новоформираног коштаног ткива
Композити	<ol style="list-style-type: none"> 1. Одлична биокомпатибилност 2. Подржава активност ћелија 3. Добра остеокондуктивност 4. Прилагодљива стопа деградације 5. Побољшане механичке карактеристике 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Технологије израде могу бити комплексне

3.3 ТЕХНОЛОГИЈЕ ИЗРАДЕ СКАФОЛДА

До сада је развијено више различитих технологија које су у могућности да обрадом синтетичких и природних материјала као и метала израђују порозне структуре скафолда. Ове технологије се генерално могу поделити у две категорије и то: конвенционалне и напредне (адитивне технологије). Конвенционалне технологије су технологије ручне (мануалне) израде скафолда док напредне (адитивне технологије) подразумевају аутоматску израду скафолда на основу CAD модела скафолда.

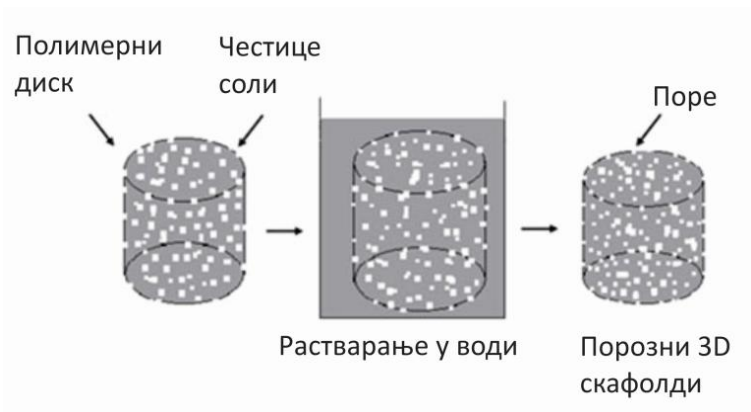
3.3.1 НАЈЧЕШЋЕ КОРИШЋЕНЕ КОНВЕНЦИОНАЛНЕ ТЕХНОЛОГИЈЕ ЗА ИЗРАДУ СКАФОЛДА

Конвенционалне технологије за израду скафолда се међусобно разликују према коришћењу растварача, топлоте, притиска или агенса за прављење пора. Најчешће се користе за израду скафолда за кости и хрскавицу. У наредном тексту биће поменуте најчешће коришћене конвенционалне технологије за израду скафолда.

3.3.1.1 SOLVENT CASTING /PARTICULATE LEACHING (SC-PL)

Ова техника се заснива на једноставном принципу (сл. 40). Полимер као што је PLLA или PLGA се раствара у растварачу, као што је хлороформ или метилен хлорид и меша се са порогеном. Пороген обично чине честице соли калибрисаних величина као што су натриум хлорид, тетрат и цитрат. Растварач се доводи у стање испаравања остављајући за собом полимерну матрицу са уграђеним честицама соли по целој матрици. Пороген се одстрањује потапњем овог композита у воду 2 дана, где се честице соли растварају израђујући порозну структуру. Порозност скафолда се може лако одредити количином и величином кристала соли (Mikos, et al., 1994). Скафолд израђен коришћењем SC/PL технологије се екстензивно користи за различите типове ћелија и нема неке штетне ефекте на новоформирано ткиво. Иако је овај процес јефтин, једноставан и способан да производи скафолде са различитом величином пора, карактерише га слаба контрола над унутрашњом структуром скафолда и има ограничену међуповезаност пора. Због тога су се појавиле модификације ове технологије које су описане у даљем тексту.

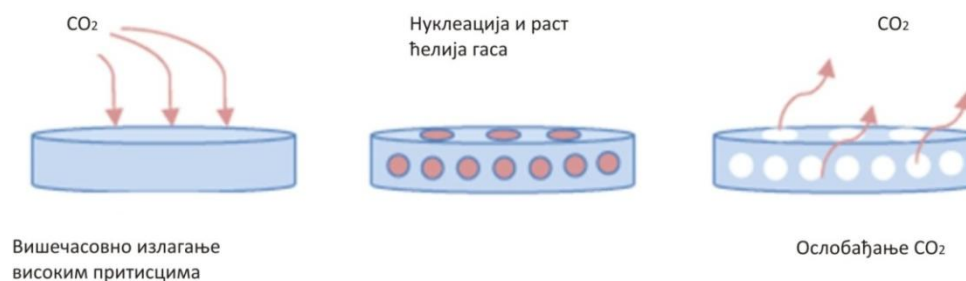
Оно што је заједничко свим овим процедурама је коришћење органских растварача.



Слика 40. Solvent casting /particulate leaching технологија

3.3.1.2 GAS FOAMING

Биоразградив полимер, као што је PLGA, засићује се угљен-диоксидом (CO₂) при високим притисцима на собној температури (Mooney, Baldwin, Suh, Vacanti, & Langer, 1996). Растворљивост гаса у полимеру нагло опада враћањем CO₂ притиска назад на атмосферски ниво. То ствара термодинамичку нестабилност CO₂ и доводи до нуклеације и раста мехурића гаса или ћелија у полимерној матрици. Величина пора се креће у распону од 100 -500µm, а порозност која се може постићи коришћењем ове технологије је до 93% (сл. 41). Највећа предност ове технологије је та што се овакви PLGA скафолди могу израдити без присуства органских растварача и високе температуре.



Слика 41. Gas foaming технологија

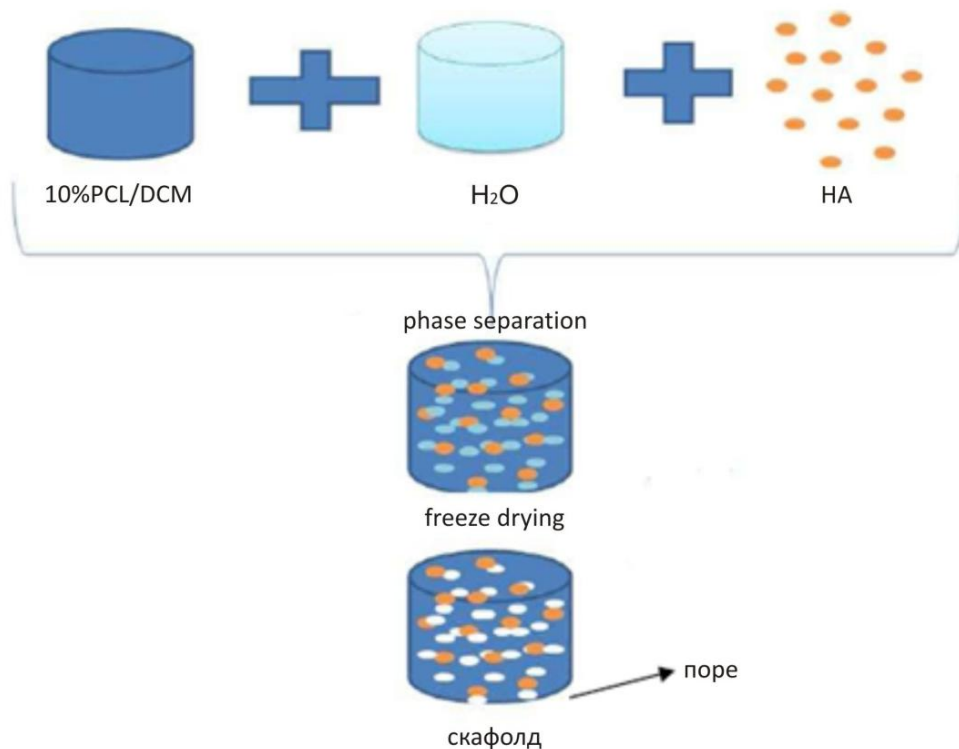
3.3.1.3 FIBRE MESHES /FIBRE BONDING

Влакна, произведена помоћу текстилне технологије, су коришћена за израду нетканих скафолда помоћу PGA и PLLA (Cima, Vacanti, Vacanti, Inger, Mooney, & Langer, 1991). Недостатак структурне стабилности ових нетканих скафолда, често резултира значајним деформацијама услед контракционих сила ћелија које су засађене у њима. То је довело до развоја технологије за везивање влакана које су имале за циљ побољшање механичких својстава скафолда (Mikos, Bao, Cima, Ingber, Vacanti, & Robert, 1993). Ово је постигнуто растварањем PLLA у метилен хлориду и ливењем преко неткане мреже PGA влакана. Везивање влакана настаје током накнадног поступка загревања на температури изнад температуре топљења PGA (Chen, Ushida, & Tateishi, 2002). На крају се PLLA уклања растварањем у метилен хлориду. Овај третман резултира стварањем PGA мреже са влакнима спојеним у местима сучељавања. Ова технологија није најпогоднија за фину контролу порозности. Предност ове технологије је постојање велике површине за коју се причвршћују ћелије и брза дифузија хранљивих састојака која иде у прилог преживљавању ћелија и њиховом расту.

3.3.1.4 PHASE SEPARATION

При овој технологији раствор полимера се дели на две фазе и то полимером богату и полимером сиромашну фазу, излагањем раствора другом немешљивом

растварачу или хлађењем раствора испод бинодуларне криве растворљивости. Растварач се уклања **freeze drying** технологијом (сл. 42). Након уклањања растварача, полимером богата фаза очвршћава. Ова технологија се користи за израду порозне мембране за сепарацију и филтрацију. Међутим, овако израђене поре обично имају пречник од неколико до 10 μm и често нису униформно распоређене, што није погодно за примену у ТЕ.



Слика 42. Phase separation технологија

Променом phase separation услова могу бити постигнуте различите структуре пора. Многа ткива (нерви, тетиве, мишићи, лигаменти) имају цевасто оријентисану или влакнасту архитектуру. Да би се организовала и регенерисала оваква ткива, пожељан је скафолд са високом порозношћу и оријентисаним мноштвом отворених микротубула. У ту сврху развијена је нова phase separation техника за узгајање оријентисаних кристала у облику шипке из полимерног раствора. Након уклањања ових шипки, формира се паралелно мноштво микротубула. Ови оријентисани тубуларни скафолди имају анизотропне механичке карактеристике сличне цевастом и вланастом ткиву и показало се да олакшавају организацију ћелија у оријентисаним ткивима.

3.3.1.5 LIQUID LIQUID PHASE SEPARATION

Биоразградив синтетички полимер се раствара у растопљеном фенолу или нафталину уз могућност додавања биолошки активних молекула раствору, као што је алкална фосфатаза (Lo, Ponticiello, & Leong, 1995). Температура се тада смањује да би се произвела liquid liquid фаза раздвајања и брзо хлади да би се формирале две чврсте фазе. Растварач се уклања сублимацијом да би обезбедио порозним скафолдима биоактивне молекуле инкорпориране у структуру. Објављено је да liquid liquid phase separation води ка изотропним PLA формама са добром повезаношћу међу порима.

3.3.1.6 MELT MOULDING

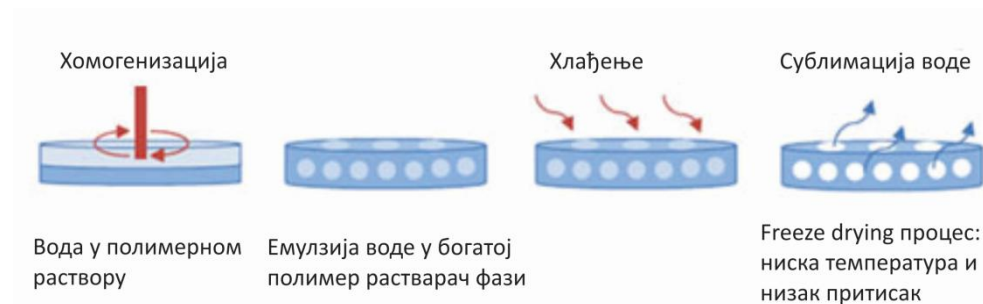
Овај процес подразумева испуњавање тефлон калупа PLGA прахом и гелатин микросферама, специфичног пречника и загревање калупа изнад температуре стаклене транзиције PLGA, уз примену притиска на мешавину (Thompson RC, 1995). Овај третман изазива међусобно везивање PLGA честица. Када се калуп уклони, гелатин компонента се раствара потапањем у воду и скафолд се затим суши. Порозни PLGA скафолди произведени на овај начин преузимају облик калупа. Величина пора се директно контролише пречником микросфера а општа порозност се мења односом полимер/гелатин. Различити облици полимерних скафолда се могу конструисати једноставним мењањем геометрије калупа.

Melt moulding процес је модификован тако да укључи кратка влакна HA. Равномерна дистрибуција HA влакана кроз PLGA скафолд може бити постигнута само коришћењем solvent casting технике да би се припремио композитни материјал од HA влакана, PLGA матрице и гелатина или соли порогена, који се онда користи у melt moulding процесу.

3.3.1.7 EMULSION FREEZE DRYING

Овај процес обухвата додавање ултра чисте воде раствору метилен хлорида са PGA (сл. 43) (Vert, Mauduit, & Li, 1994). Два немешана слоја се затим хомогенизују да би се формирала water in oil емулзија која се сипа у течни азот и суши замрзавањем да би се произвела порозна структура. Добијају се пене (структуре) са порозношћу у распону од 91-95%, просечном величином пора од 13 до 35 μm и добрим међусобним везама између пора. Међутим, пронађени су такође и већи пречници пора од око 200 μm . Ово је једноставан метод који не захтева неку посебну опрему. Нема потребе ни за органским растварачима. Овај метод је измишљен за уградњу протеина у полимерне скафолде. Постоје подаци о примени emulsion freeze drying код природних биополимера, као што је колаген, и то за производњу добро дефинисаних порозних матрица (величина пора и оријентација) базираних на контролисаном расту кристала леда током freeze

drying процеса. Ипак, структуре добијене овим поступком имају лоше механичке карактеристике.



Слика 43. Emulsion freeze drying техника

3.3.1.8 SOLUTION CASTING

Код овог процеса PLGA се раствара у хлороформу а затим се таложи додавањем метанола (Reuber, Yu, & Kolff, 1987; Schmitz & Hollinger, 1988). Деминерализација freeze dried кости може се комбиновати са PLGA, након чега се композитни материјал притиска у калупу и загрева на 45-48°C у року од 24h, да би се креирао скафолд.

3.3.1.9 FREEZE DRYING

Ово је још једна метода за креирање порозних структура. Природни и синтетички полимери (као што је PLGA) се растварају у екстремно хладном растварачу као што је глацијална сирћетна киселина или бензен (Yoon & Fisher, 2009). Комбиновањем овог раствора са водом, формира се емулзија (Hsu, Gresser, Trantolo, Lyons, Gangadharam, & Wise, 1997). Брзим хлађењем ове емулзије формирају се кристали леда састављени од растварача и воде (Hsu, Gresser, Trantolo, Lyons, Gangadharam, & Wise, 1997). Одстрањивањем кристала леда **freeze dryin (FD)** поступком може се формирати високо повезана порозна матрица. Слично овом, колагени скафолди се праве замрзавањем дисперзије или раствора колагена и затим применом поступка **FD**. Замрзавање дисперзије или раствора резултује формирањем кристала леда који присиљавају и скупљају молекуле колагена у интерстицијалне шупљине простора. Кристали леда се затим одстрањују **FD** поступком. Величина пора се може контролисати стопом замрзавања и pH. Већа брзина замрзавања узрокује мање поре. Очвршћавање тј. солидификација у једном правцу је коришћена за креирање хомогене структуре 3D пора. Дехидрација тј. исушивање смрзнутог колагена коришћењем етанола и сушење до критичне тачке се такође користи за прављење колагених скафолда. Ови колагени скафолди се онда повезују или физичким или хемијским средствима да би се смањила растворљивост, стопа разградивости и

антигеничност. Физичко повезивање укључује излагање ултраљубичастим или гама зрацима или DEHYDROTHERMAL (DHT) поступак. Хемијско повезивање се постиже коришћењем бифункционалних агенаса као што је glutaraldehyde (GTA) и hexamethylene diisocyanate или активацијом карбоксилне групе помоћу carbodiimides. Остали природни полимери као што је **chitin** се такође користе за израду скафолда уз помоћ **FD** технике.

Када су у питању метални скафолди, они могу бити произведени на различите начине, коришћењем конвенционалних техника или напредних метода обраде. Избор технике зависи од захтева финалне апликације. Избор материјала за израду скафолда, дизајна, технологије израде и могуће додатне начине модификација њихове површине су важни за успех примене скафолда у регенерацији и стварању нове кости.

У конвенционалне технологије за израду металних скафолда спадају *space-holder method, replication of polymeric sponge, fiber meshes and fiber bonding, self propagating high temperature synthesis (SHS), spark plasma sintering (SPS) или field assisted sintering technique (FAST), gas injection into the metal melt, decomposition of foaming agents, templated vapor deposition и solid-state foaming by expansion of argon-filled pores.*

3.3.1.10 КАРАКТЕРИСТИКЕ И ОГРАНИЧЕЊА ПОСТОЈЕЋИХ СКАФОЛДА ИЗРАЂЕНИХ КОНВЕНЦИОНАЛНИМ ТЕХНОЛОГИЈАМА

Конвенционалне методе за производњу скафолда (Banhart, 2001) су или тешке за примену или неуспешне у производњи порозних конструкција са сложенем структуром које имају уска ограничења у погледу порозности, оптималну величину пора и захтевану механичку чврстоћу.

Неке од битних карактеристика најчешће коришћених конвенционалних технологија за израду скафолда дате су у табели 22.

Табела 22. Карактеристике конвенционалних технологија за израду скафолда

Процес	Материјал	Постигнута величина пора (μm)	Порозност (%)
Fiber bonding	Растворљив	-	<80
Solvent Casting и Particulate Leaching	Растворљив	30-300	20-50
Gas Foaming		5-200	<93
Phase Separation	Растворљив	<200	<97
Membrane Lamination	Растворљив	30-300	<85

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Процес	Материјал	Постигнута величина пора (μm)	Порозност (%)
Melt Moulding	Термопластичан	50-500	<80
Emulsion Freeze Drying	Растворљив	<200	<97

Велики број детаљних истраживања (Sachlos & Czernuszka, 2003) је показао да везивање ћелија за скафолд од синтетичког полимера води до формирања ткива. Међутим, као што је већ напред поменуто, разградњом синтетичких полимера како у *in vitro* тако и *in vivo* условима ослобађају се киселински нуспродукти који изазивају сумњу да микроокружење оваквих скафолда није идеално за раст ткива. Млечна киселина се ослобађа из PLL током разградње, смањујући рН, што даље убрзава стопу разградње услед аутокатализе резултујући високу киселост у ближем окружењу полимера. Овакво окружење може неповољно да утиче на функцију ћелија. Ћелије причвршћене за скафолд се неколико недеља узгајају *in vitro* пре него што ткиво буде спремно за имплантацију. Током овог периода, чак и мале промене рН (6.8-7.5) у микросредини скафолда могу значајно да утичу на експресију маркера остеобластног фенотипа од стране ћелија строме коштане сржи. Треба имати у виду да честице које се ослобађају током распада полимера могу утицати на процес ремоделирања кости заједно са изазивањем упалног одговора и индуковати ресорпцију кости *in vivo*.

Штавише, садашњи синтетички полимери не поседују хемију површина који одговара ћелијама, јер оне *in vivo* напредују на ЕСМ-у састављеном углавном од колагена, еластина, гликопротеина, протеогликана, ламинина и фибронектина. Колаген је главни протеински састојак екстрацелуларног матрикса и препознатљив је ћелијама а уз то је и хемотактичан. Скафолди колагена показују много природнију површину у односу на скафолде синтетичких полимера за примену у ТЕ. Међутим као и остали природни полимери може изазвати одговор имуног система.

Недостаци традиционалних методологија за производњу порозних конструкција укључују дуг производни процес, радно-захтевне процесе, непотпуно уклањање заосталих хемикалија или испарљивих порогених елемената, лошу поновљивост процеса, поре неправилног облика, недовољну повезаност пора и структуре танких зидова.

Конвенционалне технике за израду скафолда нису у могућности тј. нису способне да прецизно контролишу величину пора, њихову геометрију, просторни распоред (дистрибуцију) и конструкцију унутрашњих канала унутар скафолда. Скафолди израђени коришћењем *solvent casting particulate leaching* технике не могу гарантовати међусобну повезаност пора, јер она зависи од тога

да ли су суседне честице соли у контакту. Штавише, слојеви покорице се формирају током испаравања и гомилање честица соли отежава контролисање величине пора. Осим тога, само танки попречни пресеци скафолда се могу изградити услед потешкоћа у уклањању честица соли дубоко у матрици. Код *gas foaming* поступка утврђено је да је само 10-30% пора међусобно повезано. Неткана влакна у мрежи имају лоша механичка својства. Изузимајући **gas foaming** и **melt moulding**, конвенционалне технологије за производњу скафолда користе органске раствараче као што је хлороформ и метилен хлорид да би растворили синтетичке полимере у одређеном стадијуму процеса. Присуство преосталих органских растварача је најзначајнији проблем са којим се суочавају ове технологије, због ризика од токсичности и канцерогености. Конвенционалне технологије производе скафолде који су пенасте структуре. Ћелије се онда засејавају и очекује се њихов раст у скафолду. Међутим, у овом приступу ткиво *in vitro* расте 500µm дубоко од спољашње површине (што се види на његовом попречном пресеку). Ово је вероватно последица ограничене дифузије у пени, што је последица ограничења ширења пене. Пионирске ћелије не могу да мигрирају дубоко у скафолд због мањка хранљивих састојака и кисеоника и недовољног одстрањивања продуката отпада метаболизма. Овај проблем је појачан колонизирањем периферије скафолда ћелијама које онда направе баријеру према унутрашњости скафолда.

Када је у питању производња порозног Ti и његових легура јављају се извесне потешкоће, због изразитог хемијског афинитета течног Ti према атмосферским гасовима као што су кисеоник, водоник и азот, што на крају доводи до значајног смањења еластичности.

Главни недостаци скафолда произведених конвенционалним технологијама се могу свести на следеће (Leong, Cheah, & Chua, 2003):

- **Ручна интервенција**

Све конвенционалне технологије се заснивају на ручно базираним процесима који су захтевни и временски дуги. Већина захтева вишестепену обраду материјала скафолда у циљу добијања жељеног скафолда са одговарајућим карактеристикама. Велико ослањање на корисникове вештине и умеће и искуство често узрокује неконзистентне излазе тј. резултате и лошу репродуктивност.

- **Неконзистентност и нефлексибилне процедуре обраде**

Висока микро и макро структурна неконзистентност и карактеристике материјала могу утицати неповољно на регенерацију ткива. Многе конвенционалне технологије су осетљиве на разне факторе и као такве могу дати резултате који се разликују зависно од примене. Због тога, израђени

скафолди често поседују неконзистентне величине пора, морфологију пора као и порозност унутрашњих површина.

- **Коришћење токсичних органских растварача**

Већина конвенционалних технологија укључује екстензивно коришћење токсичних органских растварача на материјале скафолда у циљу претварања гранула или праха сировог материјала у финални скафолд. Непотпуно уклањање растварача из израђених скафолда, нарочито у дебљим конструкцијама, резултује штетним остацима (талогом) који може негативно да утиче на везане ћелије, убачене биолошки активне агенсе или околно ткиво.

- **Коришћење порогена**

Соли или восак се користе као порогени у неким конвенционалним технологијама за креирање порозних скафолда. Употреба порогена ограничава скафолд на танке мембране са дебљином од 2 mm, да би се обезбедило потпуно уклањање порогена. Честице порогена ухваћене од стране матрице остају унутар скафолда. Такође је тешко спречити гомилање честица порогена и постићи равномерно расејавање порогена. Ови фактори ће резултовати неједнаким густинама пора и морфологијама које имају штетан утицај на својства материјала скафолда.

- **Ограничења облика**

У појединим технологијама за ливење скафолда у форме танких мембрана или за скафолде једноставне униформне геометрије користе се калупи или контејнери. Melt molding техника је због тога ограничена сложеношћу дизајна и конструкције калупа. Иако технологије као што је membrane lamination могу креирати скафолде неправилних облика, сам процес је напоран и захтева доста времена услед ламинације танких слојева мембране. То такође може резултовати ограниченим мрежама међусобно повезаних пора.

У табели 23 дат је преглед предности и недостатака појединих конвенционалних технологија.

Табела 23. Предности и недостаци конвенционалних технологија за израду скафолда у инжењерингу ткива (Leong, Cheah, & Chua, 2003)

Процес	Предности	Недостаци
Fiber Bonding	Једноставан процес, висока порозност, висок однос површина/запремина.	Висока температура за обраду не-аморфног полимера, ограничен асортиман полимера, недостатак механичке чврстоће, проблеми са преосталим растварачем, недостатак контроле над микро-архитектуром.
Phase Separation	Омогућава уградњу биоактивних агенаса, веома порозне структуре.	Недостатак контроле над микро-архитектуром, проблеми са преосталим растварачем, ограничен опсег величина пора.
Solvent Casting и Particulate Leaching	Веома порозне структуре, велики распон величина пора, независна контрола порозности и величине пора, кристалност се може прилагодити.	Ограничена дебљина мембране, недостатак механичке чврстоће, проблеми са преосталим растварачем, преостали порогени.
Membrane Lamination	Контрола макро облика, независна контрола порозности и величине пора.	Недостатак механичке чврстоће, проблеми са преосталим растварачем, досадан и дуготрајан процес, ограничена повезаност пора .
Melt Moulding	Независна контрола порозности и величине пора, контрола макро облика.	Висока температура за обраду не-аморфног полимера, преостали порогени.
Gas Foaming	Процес без високих температура и органских растварача, омогућава уградњу биоактивних агенаса, висока порозност контрола порозности и величине пора, могућност израде већих скафолда.	Непорозна спољашња површина, затворена структура пора, лоша повезаност пора 10-30%
Freeze Drying	Веома порозне структуре, висока интерконекија пора.	Ограничен на мале величине пора.

3.3.2 АДТИВНЕ ТЕХНОЛОГИЈЕ И ЗНАЧАЈ МОГУЋНОСТИ КОНТРОЛЕ АРХИТЕКТУРЕ ПОРОЗНИХ ИМПЛАНТАТА

Обзиром да људско тело снабдева ткиво адекватним концентрацијама кисеоника и хранљивих састојака преко крвних судова, многи скафолди требало да имају неку форму вештачког васкуларног система, присутног унутар њих, како би повећали масу транспорта кисеоника и хранљивих састојака дубоко унутар и омогућили уклањање продуката отпада метаболизма из њих (Sachlos & Czernuszka, 2003). Због тога се јавља потреба за технологијама које су у могућности да оптимизују скафолде.

Адитивне технологије - АТ (RP, SFF или брза производња (RM)), сматрају се одрживом алтернативом за постизање опсежне и детаљне контроле над архитектуром скафолда, обликом и међуповезаношћу пора (Hutmacher, Sittinger, & Risbud, 2004). Брзина и прилагодљивост АТ омогућавају изградњу индивидуалних, пацијенту прилагодљивих скафолда и пружају могућност израде унутрашњих шупљина тј. специјално пројектовање унутрашње структуре. Својствена порозност многих АТ, као што су 3DP и FDM је овде критична за успешну уградњу ћелија у структуру.

АТ се такође могу користити за производњу прототипа калупа за израду скафолда. Овај метод укључује ливење материјала у калуп, а затим уклањање или жртвовање калупа ради добијања коначног скафолда. Други важан захтев односи се на карактеристике површине израђеног скафолда. Топографија површина делова израђених АТ може бити додатно модификована пескарењем, бомбардовањем снопом куглица, електрополирањем, нагризањем киселинама и сл. Искористивши могућности АТ могуће је израдити скафолде за делове који трпе оптерећења, са унапред пројектованом архитектуром и механичким карактеристикама, тако да опонашају својства природне кости и поседују одговарајућу чврстоћу за конкретну примену.

Неке значајне предности које нуде АТ при изради скафолда су :

- **Прилагодљив дизајн**

Директно коришћење CAD модела, као улаза у процес израде скафолда, омогућава реализацију комплексног дизајна скафолда. АТ се лако могу интегрисати са сликовним дијагностичким методама које се користе у медицини (MRI, CT). Тиме је омогућен унос пацијенту-специфичних података и структурних својстава скафолда (неопходних за регенерацију специфичних ткива) у дизајн скафолда, преко CAD-а.

- **Компјутерски управљана производња**

Високе резолуције израде АТ, у спреси са могућношћу дефинисања и управљања појединим параметрима процеса, пружају могућност за стварање веома прецизне архитектуре скафолда (величине пора, облика и међуповезаности). На тај начин се омогућава контрола над механичким карактеристикама, биолошким ефектима и деградационом кинетиком скафолда. Коришћењем САД и АТ, могу се релизовати скафолди са порозношћу од преко 90% и комплетном међусобном повезаношћу пора. Способност да се оптимизује дизајн скафолда ће такође олакшати причвршћивање ћелија, колонизацију и правилно формирање ЕСМ.

- **Анизотропне микроструктуре скафолда**

Употреба САД и АТ пружа потенцијалну могућност кориснику да контролише локализоване морфологије пора и порозност на тај начин да одговарају захтевима различитих типова ћелија у оквиру исте запремине скафолда. Ово се постиже укључивањем различитих контролисаних макроскопских и микроскопских функција дизајна у различитим регионима истог скафолда. Постојање анизотропне архитектуре скафолда има предности у ТЕ апликацијама где је потребно више типова ћелија које су организоване у хијерархијским структурама.

- **Услови обраде**

АТ користе широк спектар обрадних услова који укључују и израду објеката од више различитих материјала, процесе са растварачима, без порогена, на собној температури. Неке АТ омогућавају укључивљење фармацеутских и биолошких агенаса током израде скафолда.

3.3.2.1 РЕЗУЛТАТИ ПОКУШАЈА ПРИМЕНЕ КОРИШЋЕЊА АТ У ИЗРАДИ ПОРОЗНИХ СКАФОЛДА СА ДЕФИНИСАНОМ АРХИТЕКТУРОМ

3.3.2.1.1 МЕТАЛНИ СКАФОЛДИ

До сада је развој у пољу АТ био углавном фокусиран на полимере и керамичке материјале (Leong, Cheah, & Chua, 2003). Међутим, задњих година је неколико истраживања спроведено у циљу да се произведу 3D порозни метални скафолди помоћу АТ. У табели 24 дато је поређење различитих АТ које могу да произведу металне скафолде за чврста ткива. На пример (Li, de Wijn, van Blitterswijk, & de Groot, 2005) користе АТ под називом 3D депозиција влакана (3DF) за израду порозних Ti-6Al-4V скафолда, једноставне геометрије, са потпуно повезаном порозном мрежом и високо контролисаном порозношћу и величином пора. (Curodeau, Sachs, & Caldarise, 2000) су израдили порозне CoCr скафолде које производе уз помоћ калупа од воска или ливењем у кошуљици. (Murr, et al., 2009)

је објавио директну израду не-стохастичких Ti конструкција технологијом топљења млазом електрона (EBM). (Mullen, Stamp, Brooks, Jones, & Sutcliffe, 2009) су израдили порозне Ti конструкције селективним ласером топљењем (SLM). Ова група је такође показала да оптимизоване структуре могу бити произведене са идеалним особинама за апликације урастања костију.

Табела 24. Поређење различитих AT које могу да произведу металне скафолде за чврста ткива

AT	Материјал	Предности	Мане	Реф.
3D штампање (3DP)	Нерђајући челици, CoCr легуре, Ti и његове легуре.	Микропорозност индукована у скафолду, већи асортиман материјала који могу да се користе, брза обрада, независна контрола порозности и величине пора.	Материјал мора да буде у облику праха, прашњава површина, у већини случајева захтева пост-процесирање.	(Curodeau, Sachs, & Caldarise, 2000)
Sacrificial wax template	Ta, Ti и њихове легуре.	Потребно је мање сировина, оригинална својства материјала су добро очувана.	Укључено је више корака.	(Ryan, Pandit, & Apatsidis, 2008; Lopez-Heredia, et al., 2008; Lopez-Heredia, Sohler, Gaillard, & Quillard, 2008)
3D техника таложења тј. депозиције влакана (3DF)	Ti и његове легуре.	Време припреме је смањено, висок квалитет површине и висока димензиона тачност, скупљања.	Материјал мора да буде у облику праха, мала резолуција.	(Li, de Wijn, van Blitterswijk, & de Groot, 2005)
Топљење снопом електрона-EBM	Ti и његове легуре.	Велика брзина, потребно је мање укупног времена.	Скуп процес, низак квалитет површина и ниска димензиона тачност скупљања.	(Murr, et al., 2009; Li, Wang, Zhang, & Li, 2009)
Селективно ласерско топљење –SLM	Нерђајући челици, CoCr легуре, Ti и његове легуре, ватростални метали, високо-температурне легуре.	Велики избор материјала може да се користи у облику праха, не користи везива ни друге агенсе.	Потешкоће при уклањању неповезаног праха из порозне унутрашње структуре, скуп процес.	(Mullen, Stamp, Brooks, Jones, & Sutcliffe, 2009; Vandenbroucke & Kruth, 2007)

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

АТ	Материјал	Предности	Мане	Реф.
Директна депозиција (таложeње) метала (DMD)	Ti и његове легуре	Директно таложeње метала по слојевима без образаца, добра контрола геометрије као и завршна обрада површина.	Материјал мора да буде у облику праха, укључено је више корака,	(Dinda, Song, & Mazumder, 2008)
Ласерска технологија: Laser engineered net shaping (LENS)	Нерђајући челици, CoCr легуре, Ti и његове легуре, ватростални метали, високо температурне легуре.	Смањује време и трошкове улагања које се односе на модуле и калупе.	Материјал мора да буде у облику праха, висока цена материјала.	(Krishna, Bose, & Bandyopadhyay, 2007; Xue, Krishna, Bandyopadhyay, & Bose, 2007)
Селективно ласерско синтерованје (SLS)	Нерђајући челици, Ti и његове легуре.	Када се користе смеше прашкова, прах са ниском тачком топљења се понаша као везиво, може да се добије веома фина резолуција.	Материјал мора да буде у облику праха, прашњава површина, пост-процесирање је потребно да би се повећала коначна густина и побољшала механичка својства.	(Das, Wohlert, Beaman, & Bourell, 1998; Shishkovsky, Volova, Kuznetsov, Morozov, & Parkin, 2008)

Порозни метални скафолди се користе у ТЕ да замене оштећени део тврдих ткива како би ова повратила своју функционалност. Огроман напредак је учињен у развоју металних скафолда помоћу АТ и многи истраживачи и хирурзи верују да су, уместо биоразградивих скафолда, биохемијски-модификовани порозни метални скафолди погоднији у одређеним случајевима за развој имплантата за делове које су изложене оптерећењима. Потребно је такође много напора и истраживања уложити за проналажење адекватне архитектуре тј. дизајна скафолда који би убзао регенерацију ткива, а који би се могао израдити на постојећим или адекватно модификованим RP машинама. До данас, постоји изван број *in vivo* и *in vitro* приступа култивацији ткива за репарацију кости помоћу металних скафолда са макро-порозном структуром. Ипак, дизајн ових скафолда је прилично једноставан и своди се у већини случајева на коришћење јединичних ћелија правилних геометријских форми. Порозне металне структуре су тестиране као пројектоване конструкције коришћењем стратегије на бази ћелија и стратегије на бази фактора раста. Такође је показано да превлачење металних скафолда, са различитим протеинима, као што су колаген, RGD пептид и фибронектин, доводи до убрзане осеоинтеграције и побољшаног формирања

костију *in vivo*. Будући правци истраживања у овој области вероватно ће се фокусирати на ефикасним комбинацијама остеоиндуктивних материјала, остеоиндуктивних фактора раста и приступ регенерације ткива заснованог на ћелијама коришћењем композитних конструкција за регенерацију и репарацију тврдог ткива. Дакле, још увек се чека идеална архитектура скафолда која би дала добре резултате у *in vitro* и *in vivo* тестирањима и коју је могуће савршено контролисати.

3.3.2.1.2 ПОЛИМЕРНИ СКАФОЛДИ

Већ је поменуто да се полимери користе у великој мери као порозни материјали за замену костију и то како за израду трајних тако и за израду биоресорбујућих имплантата (Woesz A. , 2008). Због мале чврстоће нису погодни за коришћење у апликацијама које захтевају велику носивост. Ипак, показало се да је њихова употребна вредност, без сумње велика. Постоје примери производње полимерних скафолда директно уз помоћ FDM, SLS, SLA и биоплотера као и индиректно коришћењем 3DP и BPM.

FDM

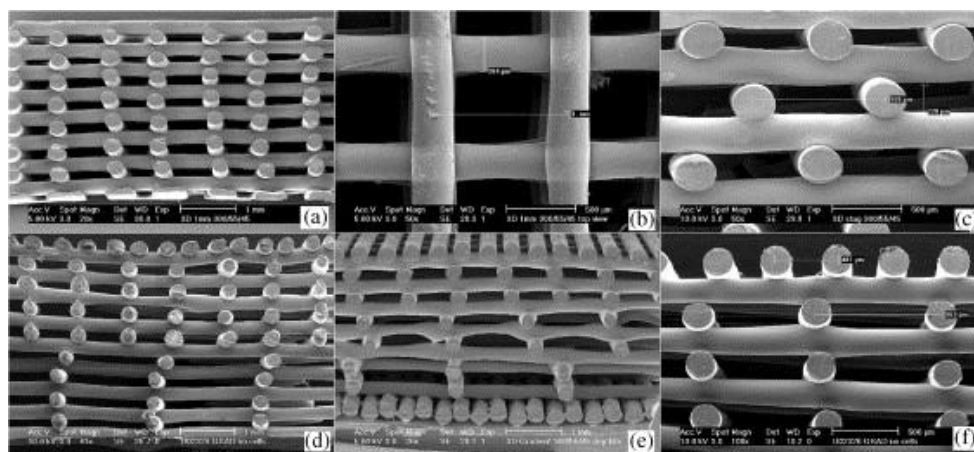
У литератури се могу наћи подаци о коришћењу FDM за производњу порозних замена за кости од PCL, PLLA и поли (етилен гликол)-тетрафталата/поли (бутилен тетрафталат) блок кополимера (PETG/ PBT).

PCL је, као што је већ раније поменуто, полу-кристални полиестер који се деградира тј. разграђује хидролизом своје естер везе у физиолошким условима, као на пример у људском телу. Он се разграђује веома полако, тако да је посебно интересантан за апликације дугорочне примене имплантата. Поседује FDA одобрење за употребу за храну и лекове и користи се за израду уређаја за доставу лекова као и израду скафолда (Kalita S. J., Bose, Vandyopadhyay, & Nosick, 2002). Његова механичка својства (таб. 19) су, у поређењу са другим биополимерима, прилично ниска, као што су и необично ниске његова тачка топљења (око 60°C) и температура стаклене транзиције (око -60°C). Ипак, веома је температурно отпоран, са температуром деградације (разградње) изнад 350°C. Овако висока температурна стабилност је велика предности овог материјала у погледу обрадивости уз помоћ FDM. Ниједан параметар FDM процеса не може утицати на његову молекуларну тежину ни механичка својства. (Сао, Но, & Теох, 2003) су израдили скафолде, уз помоћ ове технологије, са порозношћу од 60-65%, и величином пора између 300 и 580µm. Слични скафолди, са две различите геометрије, су израђени код (Zein, Nutmacher, Tan KC, & Teoh, 2001), и то један са ротацијом од 90° у оријентацији гредица између два суседна слоја, а други са 60° ротације. Добијени су скафолди са порозношћу од 48 и 77% и величином пора

између 160 и 700 μm . Величина хоризонтално оријентисаних пора много је мања од вертикалних пора, због ограничења геометрије FDM машине.

Производни поступак је, у оквиру ограничења машине, високо флексибилан и резултати, како испитивања механичких својстава, тако и одговора ћелија (Hutmacher, Schantz, Zein, Ng, Teoh, & Tan, 2001; Jones, et al., 2004) на скафолде, потврђују могућност коришћења FDM за производњу PCL скафолда за апликације које не захтевају велико оптерећење кости.

(PLLA) је полу-кристалин настао као резултат полимеризације млечне киселине у L облику. PLLA има температуру стаклене транзиције (Tg) између 60-65 $^{\circ}\text{C}$ и температуру топљења између 173-178 $^{\circ}\text{C}$ (таб. 19). Полимеризација мешавине L и D облика млечне киселине доводи до синтезе поли (DL-лактида) (PDLLA) који је аморфан, транспарентан материјал са Tg од 50-60 $^{\circ}\text{C}$. Прилагођавањем односа између два облика PLA, степен кристалности и време разградње у људском телу могу да се мењају до извесне мере (Yang, Leong, Du, & Chua, 2001). PLLA се тренутно користи у великом броју биомедицинских апликација, као што су шавови, медији за дијализу и уређаји за доставу медикамената, али се такође процењује и као материјал за примену у ТЕ. Он има већу чврстоћу и крутост од PCL (делимично због тога што је температура примене у људском телу испод његове температуре стаклене транзиције). Порозност скафолда је око 60% док величина пора варира између 200 и 500 μm . Иако је чврстоћа материјала знатно умањена самим FDM процесом, њихове механичке особине и даље дозвољавају да се користе као скафолди у инжењерингу коштаног ткива (Xiong, Yan, Zhang, & Sun, 2001). PEGT/PBT кополимери различитог састава су коришћени код (Woodfield TB, Malda J, de Wijn, Péters, & van Blitterswijk, 2004) за производњу скафолда са порозношћу и до 88% и величинама пора између 150 μm и 1650 μm (сл. 44).

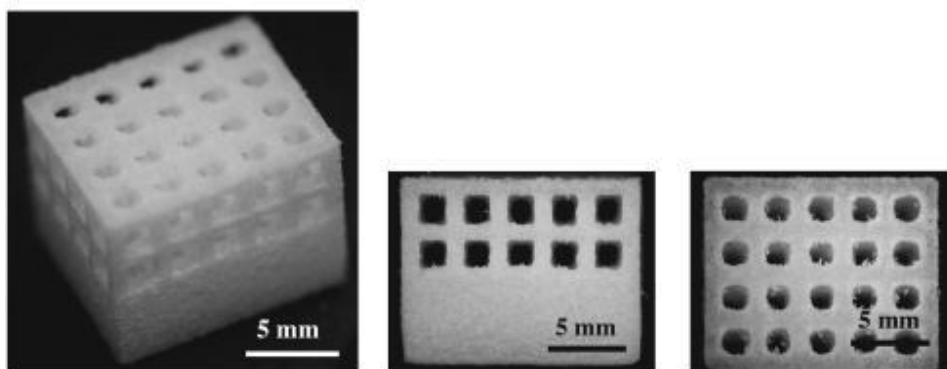


Слика 44. SEM секције FDM скафолда различитих геометрија

Због геометријских ограничења FDM процеса, величина пора у хоризонталном правцу је увек испод 200 μ m. Материјал је биокомпатибилан и биоресорбујући, а његово време разградње као и друга својства, као што је механичка чврстоћа, могу се подешавати у складу са променом састава. Механичка чврстоћа и крутост су, у поређењу са другим биополимерима, ниске, тако да се саветује њихова употреба више у области инжењеринга ткива хрскавице.

SLS

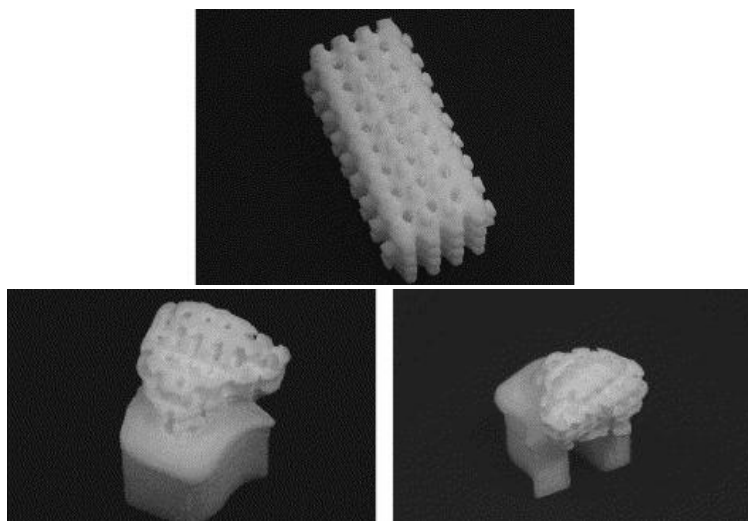
У литератури се могу наћи и примери употребе SLS за производњу порозних скафолда са дефинисаном архитектуром од PCL и PLA. Код (Tan K., et al., 2003) израђени су скафолди од poly ether ether ketone (PEEK)/HA и PCL прашкастих мешавина на конвенционалним SLS машинама. До смањења молекуларне тежине у корелацији са дугорочним третманом на високој температури не долази код PCL, због његове ниске температуре топљења од 60 °C и високе температуре разградње од 350°C. У овој студији, радна коморе машина је задржана на око 50°C, тако да ласер мора да загреје материјал тек нешто изнад ове температуре да би га топио и синтеровао. Неизбежан проблем код SLS технологије је нижа порозност која се креће између 35 и 55%. Величина пора је пројектована тако да буде између 1,75 и 2,5 mm, али није мерена након производње. Геометријска ограничења SLS процеса су много мања него код FDM. Несинтерован прах делује као подршка висећим деловима, а могуће је спољни облик скафолда пројектовати у складу са потребама пацијената. У студијама код људи (Partee, Hollister, & Das, 2006) и свиња представљени су скафолди кондила мандибуле као примери могућности SLS процеса (сл. 45).



Слика 45. Израђени PCL скафолди SLS технологијом

Ниска механичка чврстоћа и крутост PCL сировог материјала, опет, не дозвољава његово коришћење у апликацијама које захтевају велику носивост али термичка стабилност овог материјала чини га погодним за коришћење у SLS процесу. Геометријска слобода SLS процеса, пружа обећавајуће могућности у ТЕ кости и

хрскавице. (Tan K. , et al., 2003) су такође проучавали погодност различитих биополимера за SLS обраду. На комерцијалним SLS машинама су установљене могућности обраде PLLA, PCL и PEEK прахова SLS технологијом са различитим степеном успеха. (Williams, et al., 2005) су произвели и процењивали PCL скафолде за примену у инжењерингу коштаног ткива уз помоћ SLS технологије (сл. 46).

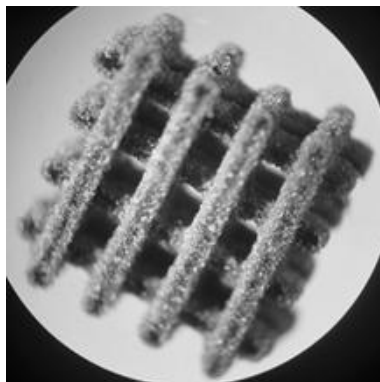


Слика 46. Узорак PCL скафолда и скафолд мандибуларне кондиле свиње произведени SLS технологијом

Произведени PCL скафолди са порозном архитектуром су имали задовољавајуће механичке карактеристике потребне за примену у инжењерингу коштаног ткива. Хистолошка евалуација и μ CT анализа имплантираних скафолда показала је *in vivo* формирање кости. Такође је демонстрирана клиничка примена ове технологије на израђеном прототипу скафолда мандибуларне кондиле на основу стварне свињске кондиле.

Варијација конвенционалног SLS процеса, која избегава потпуно топљење PLA честица (и корелационо смањење молекулске масе) током SLS процеса, дата је у (Antonov, Bagratashvili, Whitaker, Barry, Shakesheff, & Konovalov, 2005). Аутори су покрили површину PLA честица микро честицама угљеника које апсорбују, за разлику од PLA, инфрацрвено ласерско светло, тако да се само површина честица топи, а највећи део остаје и даље релативно неоштећен од топлоте. У овом процесу се носач са прахом не загрева, тако да не долази само до очувања молекулске масе PLA већ је могуће да се температурно-осетљиве биоактивне супстанце унутар честица одрже активним. Аутори називају овај процес SSLS, површинско-селективно ласерско синтеровање. У овом раду су израђени 3D скафолди са дефинисаном архитектуром, али је због великих димензија честица,

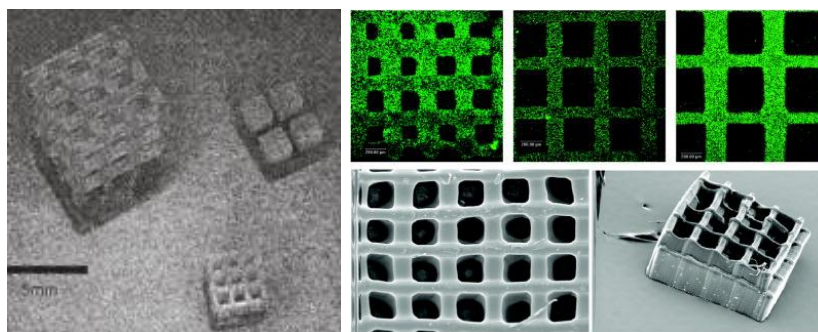
тачност процеса прилично ниска, сл. 47. Поред тога, било би веома тешко уклањање несинтерованог праха у случају да скафолд премаши одређену величину.



Слика 47. Скафолд израђен SSLS процесом

SLA

SLA процес је ограничен, што се тиче директне производње скафолда, у погледу доступности биокompatibilних материјала, чија је полимеризација иницирана од стране фотона. Међутим, има покушаја да се ова технологија користи у такве сврхе. У раду (Marili, Lu, Chen, & Roy, 2005) је приказана производња скафолда од поли (етилен гликол) диметакрилата (PEGDMA), који је помешан са фотоиницијатором, а код (Stampfl, et al., 2004) је испитивана применљивост више полимера растворљивих у води за употребу у SLA процесу (сл. 48). Иако материјали који се за сада користе не дозвољавају примену у апликацијама везаним за замену кости, предности SLA процеса у односу на друге АТ се огледају првенствено у посебно високој резолуцији и прецизности, тако да даља истраживања у том правцу представљају обећавајући изазов.



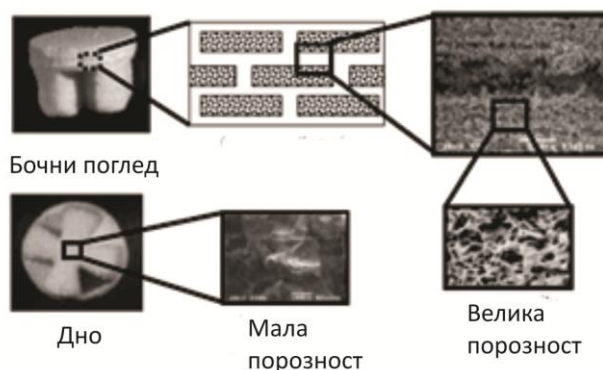
Слика 48. Пробни узорци скафолда израђених SLA технологијом (лево) и слике са конфокалног микроскопа и SEM микрографија израђених SLA скафолда са прецизном израдом унутрашњих канала (десно)

3DP

До сада је велики број истраживача (Kim, et al., 1998; Zeltinger, Sherwood, Graham, Müller, & Griffith, 2001; Lam, Mo, Teoh, & Hutmacher, 2002) израђивао скафолде користећи 3DP технологију и тестирао их у апликацијама везаним за ТЕ. (Kim, et al., 1998) су израдили цилиндричне (8 mm пречник, 7 mm висина) порозне скафолде 3DP технологијом са particulate leaching техником, користећи PLGA прах помешан са честицама соли и одговарајућим органским растварачем, Дестилована вода је коришћена за уклањање честица соли након производње 3DP поступком. Величина пора у скафолду се кретала од 45-150 μ m а порозност је била 60%. In vitro студија са хепатоцитима (НС) показала је успешно причвшћивање великог броја НС на спољним површинама скафолда и унутрашњим каналима. Хистолошка испитивања су такође показала урастања НС у просторе пора.

(Zeltinger, Sherwood, Graham, Müller, & Griffith, 2001) су користили 3DP за израду порозних скафолда у облику диска (пречника 10 mm и висина 2 mm) од (I-PLA) и процењивали перформансе узгајања ћелија на овим скафолдима коришћењем три различита типа ћелија. Произведени скафолди су показали две различите порозности (75% и 90%) и четири различита распона величине пора (<38, 38-63, 63-106 и 106-150 μ m). 3DP је показала потенцијал у производњи прецизних морфологија скафолда који подржавају 3D развој ткива коришћењем различитих типова ћелија. Друга истраживања која су тестирала потенцијал ове технологије за развој ТЕ скафолда укључују истраживања (Sherwood, et al., 2002; Lam, Mo, Teoh, & Hutmacher, 2002). У свим тим истраживањима 3DP је демонстрирала потенцијал за израду скафолда са различитим распонем порозности и дистрибуцијом пора, које су показале успех у даљим студијама узгајања ћелија.

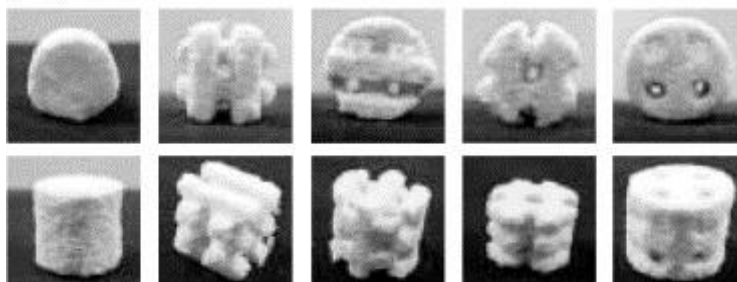
(Sherwood, et al., 2002) је развио остеохондрални скафолд коришћењем TheriForm 3DP процеса (сл. 49).



Слика 49. Скафолд израђен TheriForm 3DP процесом

Састав материјала, порозност, макроархитектура и механичке карактеристике су вариране кроз структуру скафолда. Биохемијске и хистолошке анализе су показале формирање хрскавице у периоду од 6 недеља *in vitro* гајења. Затезна чврстоћа у региону кости је била сличне вредности као и свежа спонгиозна људска кост. Они су закључили да произведени скафолди имају механичке карактеристике потребне за *in vivo* апликације.

(Lam, Mo, Teoh, & Nutmacher, 2002) су произвели скафолде различитог дизајна са различитим величинама пора и међуповезаношћу истих са мешавином комерцијално доступних биоматеријала природног порекла (кукурузни скроб, декстран и желатин) коришћењем 3DP штампача и дестиловане воде као везива (сл. 50). Објавили су да метод инфилтрирања са 6.9ml PLLA-PCL (75:25) кополимерног раствора, сушењем и потапање у воду 10 минута и коначним сушењем на 100°C резултује најбољим физичким карактеристикама скафолда.

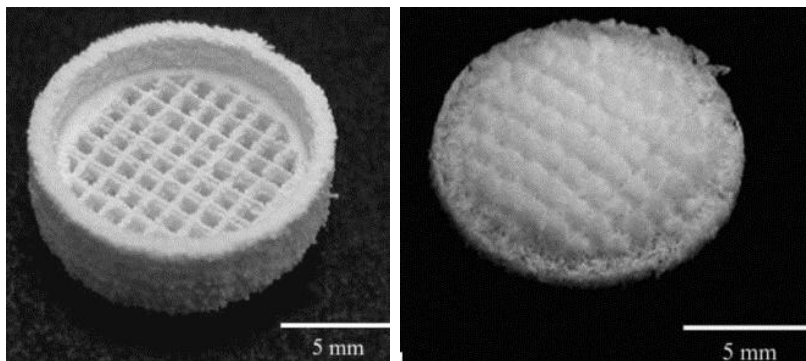


Слика 50. Различити облици скафолда израђени 3DP технологијом од биоматеријала природног порекла

Индиректна производња скафолда

Главни проблем са индиректном производњом полимерних скафолда уз помоћ калупа направљеног коришћењем АТ је уклањање калупа након ливења. Већина материјала који се обрађују на RP машинама је стабилнија на повишеним температурама или у растварачима него са биополимерима са којима они треба да буду испуњени. Аутори (Lee, Dunn, & Y. Wu, 2005) су тако искористили 3D штампање гипса, који се раствара у води после обликовања, за производњу калупа (сл. 51). У овој студији, PLGA је коришћен за испуњавање гипсаних (кречних) калупа произведених на класичој 3DP машини, са дебљином слоја од 100µm и веома малом ширином лествица од 150µm. Сврха овог дизајна је да се добију мали канали у финалном делу који представљају могуће регионе раста за цревне епителне ћелије. Поред канала формираних помоћу калупа, формирање насумичне порозности у PLGA матрици је постигнуто ливењем мешавине полимерног раствора (solvent casting) са сахарозним честицама дефинисане величине, које се касније растварају истовремено са калупом (particulate leaching). Скафолди добијени на тај начин имају двоструку порозност, једну

одређену тим што су негативи гипсаног (кречног) калупа и случајну, дефинисану количином и величином честица сахарозе. Иако изградња гипсаног калупа од ових честица даје површини калупа доста груб изглед, коришћење једноставног, јефтиног и брзог 3DP процеса, који има добру резолуцију и велику слободу на пољу 3D дизајна, за производњу у води растворљивих калупа, изгледа веома охрабрујуће.



Слика 51. Калуп израђен помоћу 3DP технологије(лево) и на основу њега добијен PLGA скафолд

ВРМ

Још једна могућност да се избегне проблем у вези са уклањањем калупа је коришћење ВРМ за производњу калупа од воска, растворљивог у етанолу, који сенкористи у Modelmaker II, Solidscape. Калупи који се производе на овој машини су коришћени за производњу скафолда од колагена (Sachlos, Reis, Ainsley, Derby, & Czernuszka, 2003; Taylor, Sachlos, Dreger, Chester, Czernuszka, & Yacoub, 2006) и PLLA. Иако механичке карактеристике колагена нису погодне код апликација које захтевају велику носивост, а будући да је он главна компонента ЕСМ људског тела, сматра се идеалним кандидатом за ТЕ, када су у питању причвршћивање хелија, морфологија, миграција и диференцијација.

3.3.2.1.3 КЕРАМИЧКИ СКАФОЛДИ

Ниска механичка чврстоћа и крутост, као битна ограничења у погледу примењивости полимерних скафолда за замену костију, превазиђене су коришћењем керамичких скафолда, који такође могу бити, правилним избором материјала, биоресорбујући. Иако велики проблем представља ниска отпорност керамике на лом, ови материјали имају широк спектар примене у инжењерингу коштаног ткива. Покушаји пројектовања архитектуре биокерамике директно помоћу АТ као што су SLS, 3DP и SLA, као и индиректно, са методама као што су SLA, DLP (Direct Light Processing), ВРМ и FDM се могу наћи у литератури.

SLS

(Lee & Barlow, 1993) су први користили SLS технику за производњу керамичких коштаних имплантата од CaP праха. Величина пора овог имплантата је била око 50 μ m и поре су биле добро повезане у целом обиму. Чврстоћа истог имплантата након синтеровања је била 18.6 МПа при густини од 1,4 g/cm³. Касније су (Lee G., Barlow, Fox, C, & Aufdermorte, 1996) проучавали моделе оралних имплантата израђених уз помоћ SLS технологије на зечијим и псећим моделима. Пре и након синтеровања имплантати су инфилтрирани цементним раствором да би се добила жељена густина, структура пора, механичка чврстоћа и на крају жељени Ca/P однос. Величина пора израђених имплантата се кретала до 200 μ m са укупном порозношћу од 30% и притисном чврстоћом од 13,8 МПа. Након 12 недеља од имплантације резултати зечијег модела су показали велики проценат урастања коштаног ткива у имплантате. Резултати добијени код псећег модела након 4 недеље од имплантације су показали одлично интегрисање имплантата са костима домаћина.

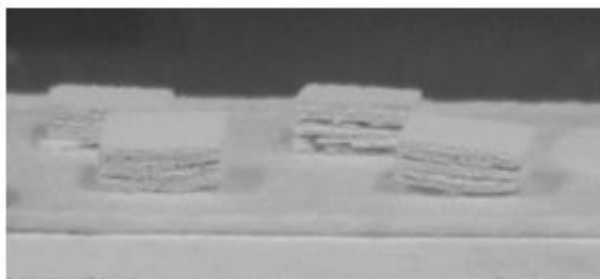
(Goodridge, Dalgarno, & Wood, 2006) приказују израду делова од стакла-керамике базираних на SiO₂ Al₂O₃ P₂O₅ CaO CaF₂ систему. Поступак се састоји у млевењу стакла у прах, његовом мешању са везивним средством од акрилних полимера и синтеровања на експерименталној SLS машини, у циљу проналажења оптималне комбинације снаге и брзине ласера у зависности од садржаја везивног праха. Превелики садржај везивног средства има мана (јер је отежано потпуно уклањање праха које је неопходно због биокompatбилности) и постаје тешко распоређивање праха преко радне платформе, док премало везивног материјала резултује кртим деловима. Током термичке обраде која следи након SLS процеса, везивно средство се уклања и честице стакла се синтерују заједно. Инфилтрацијом помоћу ресорбујућег фосфатног стакла смањује се порозност и повећава механичка чврстоћа синтерованих делова.

У овој студији није коришћена пројектована макро-порозност, али је откривена преостала микро-порозност. Накнадно синтеровање се може користити ради ослобађања од ове микро-порозности, чиме се повећава механичка чврстоћа делова, што може са друге стране неповољно да утиче на урастање кости. Ипак, овај процес је способан за производњу пројектоване макро порозности са порам величине 1-2 mm.

Још један покушај који се може наћи у литератури (Friedel, Travitzky, Niebling, Scheffler, & Greil, 2005) је коришћење керамиком-испуњеног полимерног прекурсора који се додатно полимеризује и очвршћава када се термички обрађује у SLS машини и претвара у керамику у кораку накнадне обраде на веома високим температурама. Polymethylsilsesquioxane, испуњен са SiC (40-60 vol%) и помешан са катализатором се распоређује по радној платформи комерцијалне

SLS машине и загрева различитим снагама ласера са различитим брзинама скенирања. Накнадно загревање и инфилтрација Si доноси потребну густину, чврсте делове, а резолуција процеса омогућава његово коришћење за производњу делова пројектоване макро-порозности погодних за употребу као материјал за замену (реконструкцију) костију. Иако овај процес није био намењен да се користи за медицинске апликације и обрађени материјали нису биоресорбујући, он нуди интересантне могућности у производњи стабилних керамичких имплантата високе чврстоће са пројектованом геометријом и архитектуром.

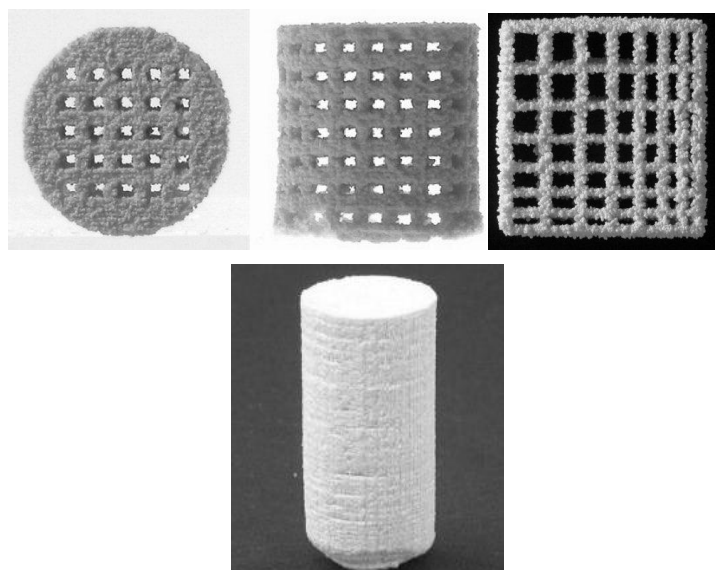
Биоресорбујуће керамике су обрађене код (Lorrison, Dalgarno, & Wood, 2005), где је пријављена употреба SLS технологија за израду делова од апатита-мулит стакло керамике и од HA/фосфата стакло композита (сл. 52). Први је једнофазни материјал. Због ниске брзине израде и трошности израђених делова, који се углавном заснива на слабом везама између два узастопна слоја, овај покушај се сматра неуспешним. Овај други материјал је композит, где је само једна фаза, фосфатно стакло, растопљена у току излагања ласеру, лепећи међусобно честице HA. Увијање појединачних слојева, слаба веза између слојева и веома крт и ломљив материјал (због недовољног квашења HA фосфатним стаклом) су проблеми које тек треба решавати.



Слика 52. Вишеслојне SLS структуре од HA/фосфата стакло композита

3DP

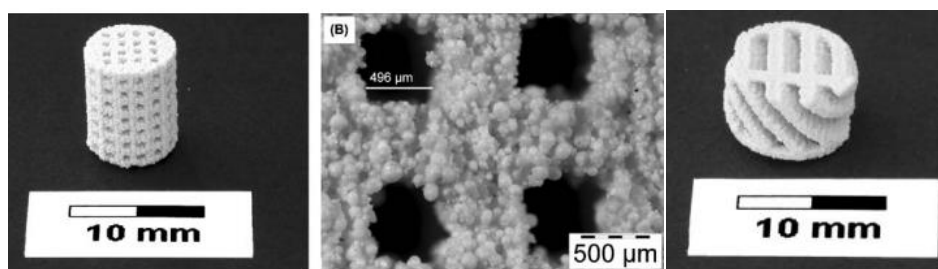
У (Seitz, Rieder, Irsen, Leukers, & Tille, 2005) је описана употреба експерименталних 3DP машина за производњу HA скафолда са дефинисаном архитектуром (сл. 53). У овом процесу честице HA праха су лепљене органским везивним средством, које је пиролизовано током накнадног корака синтеровања. На овај начин су успешно произведени цилиндрични делови са и без макропорозности и пројектована и израђена мрежа за тестирање ради процене успешности процеса.



Слика 53. НА скафолди израђени на 3DP машини и накнадно синтеровани

Минимална дебљина зида штампана у овом процесу је око $330\mu\text{m}$, док је минимална величина пора ограничена релативно великим пречником честица праха што је резултовало тешкоћом уклањања неповезаног праха из уских рупа. Површина делова је била прилично груба, али је, због синтеровања, поступак без оштрих ивица. Затворена микро-порозност са порама величина од $10\text{-}30\mu\text{m}$ је сачувана током синтеровања.

Евалуација тестова на културама ћелија, на структурама сличним онима које су поменуле напред, се може наћи код (Leukers, et al., 2005) (сл. 54).



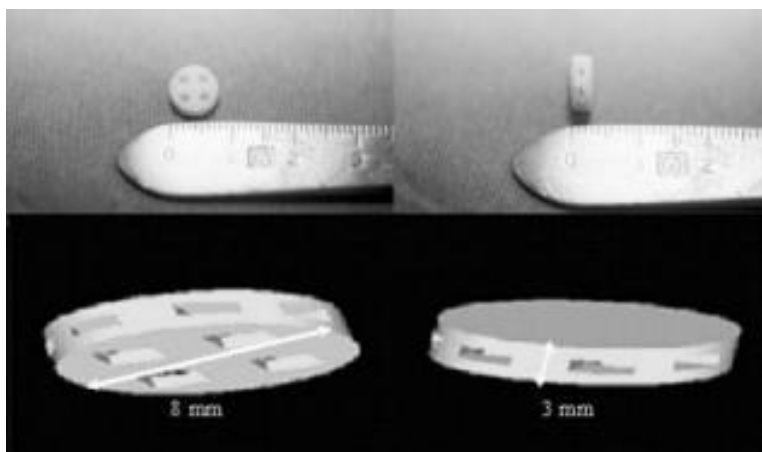
Слика 54. 3DP тест узорци након синтеровања

Резултати показују да МСЗТЗ Е1 мишићих фибробласта расту добро на скафолдима и могу се такође наћи дубоко унутар пора.

Обзиром да неповезан прах делује као подршка висећим слојевима, 3DP је у стању да прави пун 3D дизајн. Величина честица праха, нежељено лепљење

околног праха и проблеми у вези са уклањањем невезаног праха након производње су ограничавајући фактори овог поступка производње. Ипак, први покушаји који се могу наћи у литератури су прилично обећавајући и постигнуте величине пора које се помињу у тим извештајима су у опсегу који је оптималан за урастање ћелија кости.

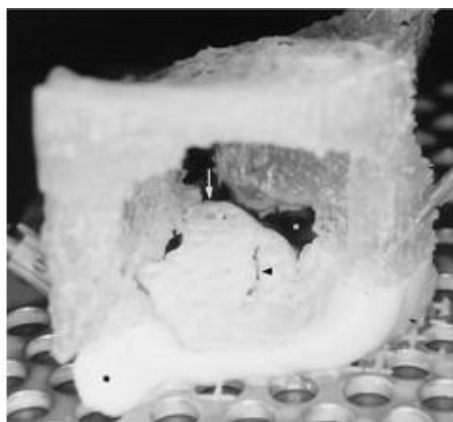
(Roy, L., Ricc, Rekow, Thompson, & Parsons) су израдили порозне PLGA/ β TCP скафолде коришћењем TheriForm RP (сл. 55) и проучавали *in vivo* перформансе за обнову кости. Порозни скафолди са макроскопским каналима су показали значајно већи проценат формирања нове кости у поређењу са скафолдима без канала у моделу калварије зеца у року од 8 недеља. Аутори су истакли да ова студија указује да геометрија скафолда, која је одређена процесом израде, може побољшати способност керамичког материјала да убрза реконструкцију дефеката калварије.



Слика 55. Архитектура и димензије HA скафолда израђених на Theriform машини

SLA

Још један покушај директне производње керамичких скафолда са пројектованом архитектуром коришћењем SLA технологије (сл. 56) се наводи код (Levy, Chu, Halloran, Feinberg, & Hollister, 1997). У овом поступку је коришћена суспензија HA честица у фотосензитивној смоли, која се уклања током накнадног загревања, остављајући керамичке скафолде са микро-порама величине у распону од десетине микрона. Нажалост, у овом раду је осветљено више медицинских аспеката поступка, док детаљи везани за архитектуру, механичку носивост и остале аспекте нису разматрани.



Слика 56. НА скафолд пода орбите убачен на модел леве орбите од акрилног полимера

Индиректне методе

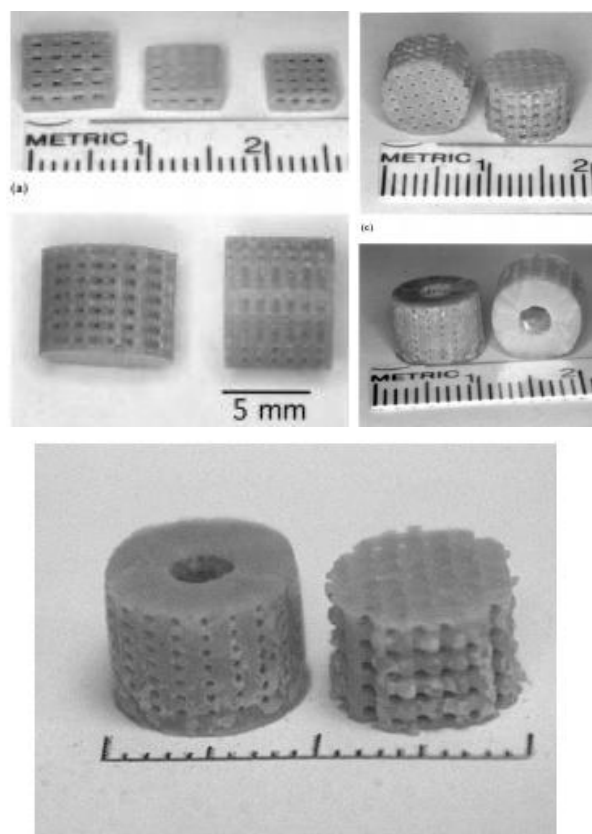
Топлотно уклањање калуца, за разлику од полимерних скафолда, не представља проблем код индиректних метода за производњу керамичких скафолда за реконструкцију дефеката костију. Међутим, коришћење калуца са нижом тачком топљења или уклањање калуца другим средствима осим загревања, као што је растварање, може бити предност (због избегавања пуцања које се може јавити услед несклада у топлотном ширењу између калуца и дела који се израђује). Исти је разлог због чега калуци са нижим крутошћу и чврстоћом, као што су калуци од воска (у односу на калуце од смола) могу бити корисни када је у питању очуваност дела након синтеровања.

Поред тога, могуће је користити било који материјал калуца који може да се уклони на температурама испод жељене температуре синтеровања керамике. Литература даје бројне примере коришћења FDM, SLA, DLP и BPM за индиректну производњу керамичких скафолда у реконструкцији дефеката костију.

(Kalita S., Bose, Bandyopadhyay, & Hosick, 2002) су користили комерцијалну FDM машину за производњу калуца за ливење за израду порозне калцијум алуминат керамике која се користи у инжењерингу коштаног ткива. Цилиндрични калуци, направљени од воска, су инфилтрирани керамичким пастом, након чега следи уклањање везивног средства и синтеровање ради производње скафолда са порозношћу од 29 и 44% и величином пора од 300 μm . Декомпозиција калцијума карбоната током поступка синтеровања изазива резидуалну микро-порозност са порам величине од око 1 μm , што доводи до опште порозности, у зависности од фракције калцијума карбоната у смеси керамичког праха, између 28 и 42%. Механичка испитивања су показала чврстоћу до 25 МПа, што је изнад просечне

чврстоће трабекуларне кости (Keaveny, Morgan, Niebur, & Yeh, 2001). На основу испитивања закључено је да су добијене структуре високо биокомпатибилне.

SLA су користили (Chu, Halloran, Hollister, & Feinberg, 2001; Chu, Hollister, Halloran, Feinberg, & Orton, 2002; Chu, Orton, Hollister, Feinberg, & Halloran, 2002) за производњу калупа за ливење НА пасте, припремљене од комерцијално доступног НА у праху (сл. 57). Различите геометрије калупа и међусобно повезане поре у две и три димензије су пројектоване и ливене са керамичком терморективном пастом. Након синтеровања добијени су (без микро-пора) НА скафолди са порозношћу између 26 и 52% и минималне величине канала од 330 μm .

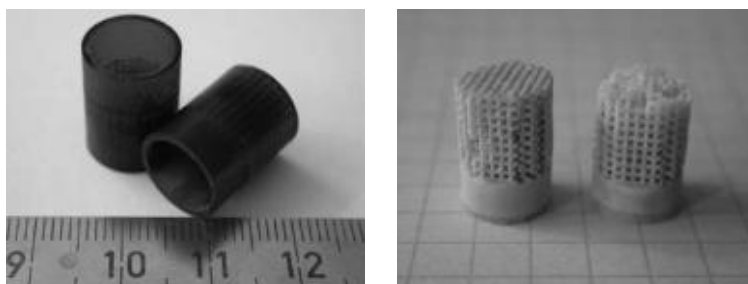


Слика 57. Узорци НА скафолда након синтеровања израђени помоћу SLA калупа

Механичка процена својстава скафолда открила је крт лом на оптерећењима до 30 МПа и крутост око 1,4 GPa. In vivo перформансе структура су оцењене на основу имплантације у хеми-мандибулу Јукатан прасића, где је утврђено формирање костију између оригиналне кости и порозног имплантата након 5 недеља и раст костију у скафолду након 9 недеља. Директна апозиција кости на НА површини је утврђена у свим деловима. Чињеница да је мање формирање

костију приметно у унутрашњем делу скафолда потврђује идеју о важности васкуларизације ради одржања исхране коштаних ћелија које живе унутар структуре.

Јефтинија варијанта SLA се користи у једном пројекту у циљу индиректне производње керамичких скафолда са дефинисаном архитектуром. Коришћен је DLP за производњу калуца за ливење од смоле, испуњених терморективним НА пастама на воденој бази помоћу вакуумског ливења (сл. 58).



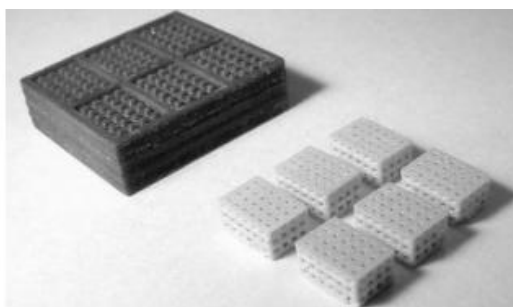
Слика 58. Израђен калуп (лево) и на основу њега НА скафолд (десно)

Први корак у овом индиректном начину производње био је пројектовање објекта помоћу Pro/ Engineer-а. Структуре су се састојале из слојева паралелних гредица са квадратним попречним пресецима. Сваки слој је био окренут 90° у односу на претходни. На овај начин надодато је 20 слојева. Пречник целе структуре био је 10 mm, док су дужина стране једне од гредица и растојање између суседне две биле 500 μm , а висина целе структуре 10 mm. Порозност структуре је била 50%. У овом случају RP машине, а не капацитет пуњења калуца керамичком пастом, су ограничавале димензије гредица. На коришћеним RP машинама постигнута је минимална величина гредица око 300 μm , што је у распону величине трабекула природних материјала кости (Roschger, et al., 2001; Roschger, et al., 2003). Други корак је био испуњавање калуца за ливење у вакууму са терморективном керамичком пастом, смешом која се састоји од воде, керамике у праху, мономера растворљивих у води и агенса за дисперзију. Непосредно пре ливења, катализатор и покретач се умешавају у пасту. Након тога, она се задржава на температури од 60°C , сат времена, у циљу полимеризације мономера и стабилизације дела (Young, Omatete, Janney, & Menchhofer, 1991; Omatete, Janney, & Strehlow, 1991; Ortega, Valenzuela, Scuracchio, & Pandolfelli, 2003; Ortega, Sepulveda, & Pandolfelli, 2002). Тада се температура диже у корацима до 1300°C , што доводи до сушења, топљења калуца од смоле и синтеровања керамичких честица. У циљу процене биокompatбилности скафолда, преостеобластичне ћелије MC3T3-E1 (Kurihara, Ikeda, Hakeda, Tsunoi, Maeda, & Kumegawa, 1984) су засађене на скафолдима у култури и чуване у култури током 2 недеље. Пролиферација ћелија је била изненађујуће брза како на спољашњим тако и на унутрашњим површинама скафолда и оне су се уградиле у самоформирано ткиво

као структура која се састоји од колагена (Chen, Smith, & Ma, 2006; Rimpler, Woesz, Varga, Manjubala, Klaushofer, & Fratzl, 2007; Woesz, et al., 2005)

ВРМ

ВРМ је коришћена (Wilson, et al., 2004) за производњу калупа за НА скафолде са пројектованом порозношћу од око 50% и са квадратним обликом пора величине $400 \times 400 \mu\text{m}$. Као и у многим другим покушајима коришћен је ModelMaker II (ММII) за производњу калупа од воска, сл. 59.



Слика 59. Калуп произведен ВРМ технологијом и израђени НА скафолди

Комерцијално доступан НА у праху се пече и меша у смешу воде, амонијака и дефлокуланта. Непосредно пре пуњења калупа, које се одвија у једноставном вакуумском уређају, додаје се везивно средство. Ливени делови се суше и касније синтерују. Биокompatibilност је процењена култивацијом козјих стромалних ћелије коштане сржи до 7 дана, делимично праћеном субкутаном имплантацијом скафолда у мишеве. Хистолошка евалуација *in vitro* експериментима показала је добро причвршћивање ћелија на спољашњим површинама скафолда, брзо формирање вишеструких слојева и смањивање количине ћелија према центру скафолда. Само мало не-виталних ћелија се могло наћи након 7 дана периода гајења. Хистолошка евалуација имплантираних скафолда је показала потпуно ткивом испуњен скафолд након 4 недеље, а почетак минерализоване формације коштаног ткива МВТ (енг. mineralized bone-like tissue) на површини скафолда након 6 недеља. Сличан покушај употребе ММII се може наћи код (Limpanuphar & Derby, 2002), са мало другачијим саставом пасте и употребом ТСП уместо НА. На овај начин су произведени скафолди са пројектованим величином пора од око $460 \mu\text{m}$ али није објављена биолошка процена скафолда.

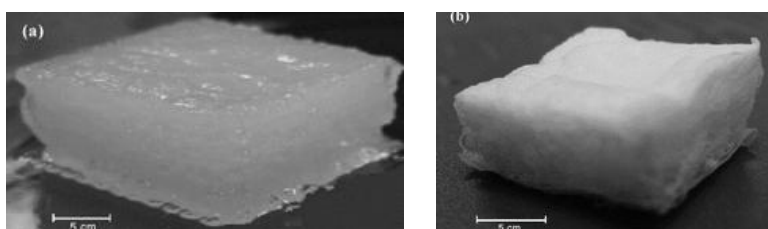
3.3.2.1.4 КОМПОЗИТНИ СКАФОЛДИ

Највећа мана биоресорбујућих полимерних скафолда је њихова ниска механичка чврстоћа, а керамичких скафолда њима својствена кртост. Неки аутори сматрају да се решење за превазилажења ових проблема налази у самој кости, која

комбинује жилавост биополимера колагена са чврстоћом и крутошћу његове минералне компоненте. На тај начин је могуће да се ове карактеристике очувају до изненађујуће високог степена. Сама кост је композит. Иако су инжењерске технике још увек далеко од могућности да копирају начин на који је природа у стању да оптимизује своје структуре, покушавало се и даље се покушава да се имитира структура костију, коришћењем ојачавајуће круте минералне фазе уграђене у чврсту полимерну матрицу. Објављени су покушаји производње таквих материјала и обликовање њихове спољашње и унутрашње архитектуре, директно, коришћењем FDM и SLS. Индиректни метод је поново коришћен уз помоћ BPM.

FDM

Извештај испитивања о употреби FDM за обраду хитозана и хитозан/НА смеше за производњу скафолда са дефинисаном порозношћу може се наћи у (Ang, et al., 2002) сл. 60. Хидрогел од хитозана, НА и сирћетне киселине се распоређује у каду од натријум хидроксида и етанола у циљу формирања хидратисаног гелатинастог талоба. Добијени су композитни скафолди са макро-порама у распону од 200-400 μm након freeze drying процеса. Људски остеоласти су узгајани на овим скафолдима и утврђено је да су остали одрживи и да је извршена пролиферација током периода гајења.



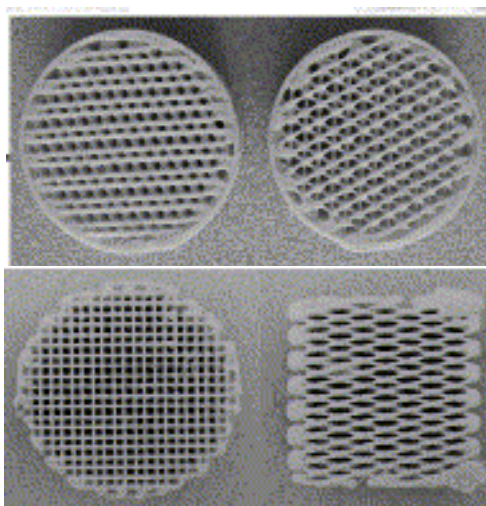
Слика 60. Скафолди од хитозана пре (лево) и након freeze drying процеса

Иако хитозан не пружа довољну чврстоћу за коришћење у апликацијама које захтевају већу носивост чак и када је ојачан тврдом минералном фазом, ово истраживање показује успешан покушај коришћења АТ за обликовање композита од биополимера ојачаних биокерамичким пунилима.

Други извештај о потврди коришћења FDM технологије се може наћи у литератури, где је покушана припрема истискујућег влакна од полипропилена (PP) и ТСП која је на крају била успешна са садржајем честица 20,5% ТСП, сл. 61. Произведени су скафолди различитих геометрија и са порозношћу од 36, 40 и 52%. Поросиметрични графови су показали пикове у распону од 150 -200 μm . Поред тога, уочен је пик у распону испод микрона, што је резултат испаравања помоћних супстанци током израде. Присуство помоћних супстанци је и разлог зашто су при тесту на затезање композитни узорци (непорозни) имали пад

чврстоће и крутости у односу на чисте PP. Притисна чврстоћа порозних узорака је била у распону од 10MPa, што је сасвим слично чврстоћи трабекуларне кости. In vitro карактеризација са OPC1 ћелијама показала је да су матрице нетоксичне и да су ћелије причвршћене за површине скафолда.

PP је биокompatибилан, али не и биоразградив, што је, поред чињенице да укључивање керамичких пунила и адитива смањује механичке карактеристике композита упоређујући их са неојачаним чистин полимером, главна мана ових производа (Kalita S., Bose, Hosick, & Bandyopadhyay, 2003). Ипак, PP је упоредно јак полимер, што омогућава производњу скафолда са порозношћу до 50% и са механичким чврстоћом у распону који одговара трабекуларној кости.



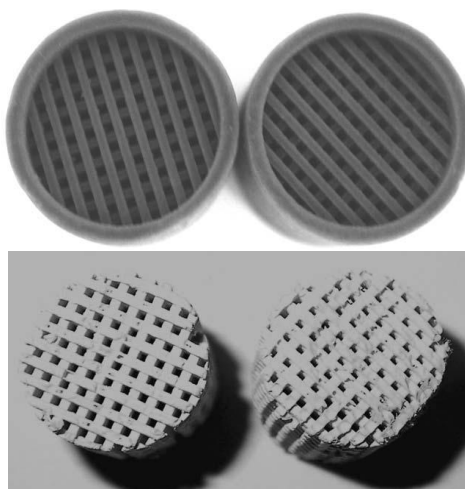
Слика 61. Узорци различитих скафолда израђених FDM технологијом

НА честицама испуњен полиетилен високе густине (HDPE), који је, познат под трговачким називом HAPEX (Tanner, Downes, & Bonfield, 1994) је коришћен у (Hao, Savalani, Zhang, Tanner, & Harris, 2006) и (Friedel, Travitzky, Niebling, Scheffler, & Greil, 2005) за производњу делова помоћу SLS технологије. НА честице и HDPE (са садржајем НА од 30 и 40%) су сједињени у екструдеру и уситњени користећи технику хлађења течним азотом. Након просејавања (да би се добио одговарајући пречник праха честица), прах је убачен и синтерован у експерименталној SLS машини која омогућава прилагођавање праха и брзине скенирања у широком опсегу. Установљена је одговарајућа комбинација брзине скенирања и величине честица праха, што је омогућило производњу кохерентних слојева композита, без разградње полимера. Дебљина једног слоја је изнад 0.5 mm, што већ указује на ограничења у резолуцији због величине честица и карактеристика машине. Основни проблеми у овој студији су раслојавање и велика димензија пора (вероватно услед пуцања полимерних ланаца и испарљивости неких од полимерних материјала).

Сличан покушај је пријављен код (Chua C., Leong, Tan, Wiria, & Cheah, 2004), иако су аутори ове студије користили биоразградив полимер, поливинилалкохол (PVA), уместо HDPE. Физичко мешање је изабрано за производњу смеше праха која садржи до 30% HA, која је синтерована у комерцијалној SLS машини. Резултат овог поступка је производња узорака за тестирања у облику диска са добро дефинисаном микро-порозношћу и добрим структурним интегритетом. Нажалост, нема извештаја о покушају да се обликују компликованије геометрије овим поступком, нити су механичка својства произведеног материјала поменута.

Индиректне методе

Индиректни покушај да се произведу композитни скафолди ливењем у вакууму у калупима од воска, помоћу BPM технологије (сл. 62) се може наћи код (Manjubala, et al., 2005). Model Maker II, Solidscape је коришћен за производњу калупа за ливење са унутрашњом структуром сличном већ поменутој напред у тексту.



Слика 62. Калупи израђени BPM технологијом (горе) и на основу њих израђени хитозан/HA композитни скафолди (доле)

Хитозан раствор је припремљен растварањем хитозана у 1% сирћетној киселини. HA прах је суспендован у ову смешу тако да тежински однос полимера/керамика буде 60/40. Након ливења смеше у калупима у вакууму они се одмах замрзавају на -80°C , и потом третирају са 10% алкохолним натријум хидроксид раствором (који подједнако раствара калупе од воска и кристале леда) и коначно подвргавају freeze drying процесу. Скафолди су задржали облик калупа (сл. 61) али су показали (због поступка freeze drying), изузетану микро-порозност (подаци нису приказани).

Иако ови скафолди нису, због микро-порозности, показали високу чврстоћу или крутост, чињеница да је могуће произвести композитне структуре са

дефинисаном архитектуром је перспективан корак ка стварању будућег ресорбујућег материјала за реконструкцију костију са пројектованом спољашњом и унутрашњом архитектуром.

На основу доступних примера примене АТ за израду порозних скафолда у табелама 25 и 26 дат је преглед материјала који су коришћени у напред наведеним примерима и карактеристике и резултати покушаја примене АТ у изради скафолда за ТЕ.

Табела 25. Материјали који се користе код АТ за израду порозних биоразградивих скафолда у ТЕ

<i>Директне методе</i>	<i>Класа материјала</i>	<i>Материјал</i>	
FDM	полимери	(PCL), (PLLA), poly(ethylene glycol)-terephthalate - poly(buthylene terephthalate) кополимер	
	композити	PCL/(TCP), (PP)/TCP, хитозан/НА, полиетилен PE/НА	
SLS	керамика	TCP/НА,	
	полимер	PCL, PLA	
	композит	(HDPE)/НА, (PVA)/НА	
	керамика	TCP, НА, апатит мулит стакло керамика, НА/фосфат стакло композит	
3DP	керамика	НА	
SLA	полимер	poly(ethylene glycol) dimethacrylate	
Bioplotter	полимер	агар, фибрин/алгинат киселина, гелатин, полиуретан	
<i>Индиректне методе</i>	<i>Класа материјала калупа</i>	<i>Класа материјала скафолда</i>	<i>Материјал скафолда</i>
FDM	полимер	керамика	Калцијум алуминати
3DP	керамика	полимер	PLGA
SLA	смола	керамика	НА
DLP	смола	керамика	НА
BPM	восак	полимер композит керамика	Колаген, PLGA хитозан/НА TCP/НА

Табела 26. Табеларни приказ неких (напред описаних) покушаја примене АТ за израду скафолда од различитих материјала и резултати примене истих

АТ	Материјал	Карактеристике израђених скафолда	Резултати	Референце
ПОЛИМЕРНИ СКАФОЛДИ				
FDM	PCL	Скафолди у облику саћа, величина канала 160-700 μm , пречник филамента 260-370 μm , порозност 48-77%.	Скафолди једноставних, правилних облика, установљена зависност између порозности и механичких карактеристика израђених скафолда, нису спроведена <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> истраживања	(Zein, Hutmacher, Tan KC, & Teoh, 2001)
FDM	PCL	Скафолди једноставне правилне геометрије, поре облика саћа величине 360 \times 430 \times 620 μm , порозност 60%.	Извршена су <i>in vitro</i> испитивања са људским фибробластима, установљено је формирање ткива унутар скафолда након 3-4 недеље.	(Hutmacher, Schantz, Zein, Ng, Teoh, & Tan, 2001)
FDM	PEGТ/PBT кополимери различитог састава.	Величина пора 150-1650 μm , Порозност 70-88%.	Спроведена <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> тестирања на мишу показала су добро причвршћивање говеђих хондроцита и формирање ткива хрскавице, ниска механичка чврстоћа и крутост, погодан за ТЕ хрскавице, потребна даља истраживања. FDM показује потенцијал за примену у ТЕ.	(Woodfield TB, Malda J, de Wijn, Péters, & van Blitterswijk, 2004)
SLS	PEEK/HA и PCL	Узорци израђени у облику диска пречника 12 mm и дебљине 0.5 mm.	Испитана и показана могућност коришћења ових материјала за израду скафолда на стандардним SLS машинама подешавањем одговарајућих параметара, мала порозност, геометријска ограничења мања него код FDM процеса.	(Tan K, et al., 2003)

AT	Материјал	Карактеристике израђених скафолда	Резултати	Референце
SLS	PCL		Представљени оптимални параметри SLS процеса за обраду PCL материјала израдом једноставних облика скафолда за кондиле мандибула код људи и свиња, нису погодни за коришћење у апликацијама које захтевају велику носивост.	(Partee, Hollister, & Das, 2006)
SLS		Цилиндрични порозни скафолд са различитом архитектуром пора, пречника 2.7 mm и висине 25.4 mm, порозност од 63-79%, величина пора од 1.75-2.5 mm.	Хистолошка евалуација и μ СТ анализа имплантираних скафолда показала је in vivo формирање кости. Најмања величина успешно израђених пора је била 1.75 mm.	(Williams, et al., 2005)
SSLS	PCL са микрочестицама угљеника.	Једноставна геометрија скафолда.	Отежано уклањање заосталог праха након синтеровања, лоша тачност израде.	(Antonov, Bagratashvili, Whitaker, Barry, Shakesheff, & Konovalov, 2005)
SLA	Нису биокompatибилни материјали.	Израђени пробни узорци скафолда ради тестирања технологије.	Висока резолуција, прецизност, материјали који нису биокompatибилни.	(Mapili, Lu, Chen, & Roy, 2005) (Stampfl, et al., 2004)
3DP	PLGA са честицама соли и органским растварачем.	Цилиндрични скафолди пречника 8 mm и висине 7 mm, величина пора 45-150 μ m, порозност око 60%.	Сprovedена in vitro студија са HC, добро причвршћивање HC за скафолд и урастање HC у просторе пора.	(Kim, et al., 1998)

AT	Материјал	Карактеристике израђених скафолда	Резултати	Референце
3DP	L-PLA	Порозни скафолди у облику диска (пречника 10 mm и висине 2 mm) и утицај одређених параметара на узгајање ћелија коришћењем три различита типа ћелија. порозност (75% и 90%) и распони величина пора (<38, 38-63, 63-106 и 106-150 μm).	Ова технологија показала потенцијал за израду скафолда са различитим распоном порозности и дистрибуцијом пора и узгајање ћелија на њима.	(Zeltinger, Sherwood, Graham, Müller, & Griffith, 2001)
	Полимер/NaCl или полимер/NaCl/ТСР.	На Theriform машини израђени тест узорци остеоондралног скафолда.	Вршена <i>in vitro</i> тестирања показују да ова технологија има потенцијал за израду структура за реконструкцију дефеката хрковице.	(Sherwood, et al., 2002)
3DP	Полимерни прах на бази скроба (кукурузни скроб, декстран и желатин).	Израђени цилиндрични скафолди различите геометрије, облик пора цилиндричан- пречника 12 mm или квадратни 2.5x2.5 mm.	Утврђиване су механичке и хемијске карактеристике скафолда и показало се да постоји могућност коришћење ових материјала за израду скафолда.	(Lam, Mo, Teoh, & Hutmacher, 2002)
Индиректна израда полимерних скафолда применом AT				
3DP	Материјал калупа: гипс, материјал скафолда PLGA.	Израђени калупи од гипса који се испуњавају PLGA материјалом, дебљина слоја 100 μm , ширина лествица 150 μm .	Могуће је било на овај начин израдити велике поре и fine детаље на комерцијалним 3DP машинама, ови скафолди подржавају раст ћелија.	(Lee, Dunn, & Y. Wu, 2005)

AT	Материјал	Карактеристике израђених скафолда	Резултати	Референце
BPM	Калуп од воска растворљив у етанолу, скафолд од колагена.		Нису погодни за апликације у којима се захтева велика носивост.	(Sachlos & Czernuszka, 2003)
КЕРАМИЧКИ СКАФОЛДИ				
SLS	CaP	Орални имплантати, величина пора до 200 μm , порозност до 30%.	In vivo студије спроведене на зечевима и псима, хистолошка испитивања показала добру биокompatibilност и урастање кости већ након 4 недеље.	(Lee G., Barlow, Fox, C, & Aufdermorte, 1996)
SLS	Апатит мулит стакло керамика $4.5\text{SiO}_2 \cdot 3\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 1.6\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 3\text{CaO} \cdot 2\text{CaF}_2$ и HA/фосфат стакло композит.		Показало се да је коришћење HA/фосфат стакла композита резултовало увијање појединих слојева, слабу везу међу слојевима и веома крт и ломљив материјал, да би се користио у ТЕ неопходно је радити на оптимизацији процеса израде и побољшању механичких карактеристика, други материјал се показао неуспешним.	(Lorrison, Dalgarno, & Wood, 2005)
3DP	HA	Израђени цилиндрични скафолди са унутрашњим каналима до 450 μm и дебљинама зида до 330 μm , на експерименталним машинама, поре величине 10-15 μm .	Успешно израђени скафолди, површина скафолда груба, тешко уклањање заосталог праха, није спроведено биолошко тестирање.	(Seitz, Rieder, Irsen, Leukers, & Tille, 2005)
3DP	HA	Израђене две врсте цилиндричних скафолда.	In vitro тестирања показују да MC3T3 E1 мишијих фибробласта расту добро на скафолдима и могу се такође наћи дубоко унутар пора.	(Leukers, et al., 2005)

AT	Материјал	Карактеристике израђених скафолда	Резултати	Референце
3DP	PLGA са 20% β -TCP	Израђени цилиндрични скафолди са макроскопским каналима за калварију зеца коришћењем TheriForm машине.	Проучаване in vivo перформансе за обнову кости. Скафолди са макроскопским каналима су показали значајно већи проценат формирања нове кости у поређењу са онима без канала у моделу калварије зеца, показало се да геометрија скафолда може побољшати способност керамичког материјала да убрза реконструкцију дефеката калварије.	(Roy, L., Ricc, Rekow, Thompson, & Parsons)
Индиректна израда керамичких скафолда применом AT				
FDM	Материјал калупа: восак, материјал скафолда: калцијум алуминат керамика.	Порозност скафолда од 29-44%, величина пора 300 μ m.	Проучаване су цитотоксичност и пролиферација ћелија у in vitro студијама са модификованим људским остеобластним ћелијама, у прве три недеље од засађивања показало се добро причвршћивање и урастање ћелија у скафолд.	(Kalita, Bose, Bandyopadhyay, & Hosick, 2002)
SLA	Материјал калупа: епокси смола, материјал скафолда: HA.	Израђене различите геометрије калупа уз помоћ SLA и на основу њих већи број узорака HA скафолда са ортогоналним и радијалним каналима, Порозност након синтеровања 26 и 52% и минимална величина канала 330 μ m.	У експериментима in vivo показало се да је значајно боље урастање кости након 9 недеља код скафолда са ортогоналним каналима у односу на оне са радијалним. Показало се да је морфологију регенерисане кости унутар HA скафолда могуће контролисати преко дизајна скафолда.	(Chu, Halloran, Hollister, & Feinberg, 2001) (Chu, Hollister, Halloran, Feinberg, & Orton, 2002) (Chu, Orton, Hollister, Feinberg, & Halloran, 2002)

AT	Материјал	Карактеристике израђених скафолда	Резултати	Референце
BPM	Материјал калупа: восак, материјал скафолда: НА.	Пројектована порозност 50%, квадратни облик пора величине 400x400 μm .	Биокомпатибилност је процењена култивацијом козјих стромалних ћелије коштане сржи до 7 дана, делимично праћеном субкутаном имплантацијом скафолда у мишеве, <i>in vitro</i> експерименти показали добро причвршћивање ћелија за скафолд а <i>in vivo</i> имплантацијом се показало да је скафолд потпуно испуњен ткивом након 4 недеље, а почетак минерализоване формације MBT након 6 недеља.	(Wilson, et al., 2004)
BPM	Материјал калупа: восак, материјал скафолда: порозни TSP и полимер/TSP композит	Израђени калупи на ModelMaker II, на основу њих израђени скафолди са величином пора 460 μm .	Није приказана биолошка процена овако израђених скафолда.	(Limpanuphap & Derby, 2002)
КОМПОЗИТНИ СКАФОЛДИ				
FDM	хитозан и хитозан/НА	Израђени композитни скафолди са макропорама од 200-400 μm са задовољавајућом тачношћу.	Узгајани су људски остеобласти који су остали одрживи и показано је добро причвршћивање ћелија и пролиферација у трећој недељи од засађивања. Овај композит ипак не показује довољну чврстоћу за примену у апликацијама које захтевају велику носивост.	(Ang, et al., 2002)
FDM	PP и TSP	Израђени скафолди различитих архитектура, величине пора 160 μm и порозност 36, 40 и 52%.	OPC1 ћелије су изабране за испитивање пролиферације. Скафолди нису показали токсичност, показало се добро причвршћивање ћелија за скафолде и раст ћелија.	(Kalita S., Bose, Hosick, & Bandyopadhyay, 2003)

AT	Материјал	Карактеристике израђених скафолда	Резултати	Референце
SLS	HDPE ојачан са HA	Узорци рађени на експерименталној SLS машини.	Проблем у овој студији је раслојавање и велика димензија пора.	(Friedel, Travitzky, Niebling, Scheffler, & Greil, 2005)
SLS	PVA и HA	Коришћена комерцијална машина. Узорци у облику диска са добро дефинисаном микро-порозношћу.	Нема покушаја израде сложених геометрија и нема података о механичким карактеристикама овог композита.	(Chua C., Leong, Tan, Wiria, & Cheah, 2004)
Индиректна израда композитних скафолда применом AT				
BPM	Материјал калупа: восак, материјал скафолда хитозан и HA.	Калупи су израђени на ModelMaker II машини BPM технологијом, на основу њих израђени су скафолди једноставних геометрија у циљу испитивања понашања овог композита у in vitro условима и утицаја на пролиферацију ћелија засађених у њима.	У оквиру експеримента in vitro засађене су MC3T3-E1 преостеобластне ћелије у скафолд. Резултати су показали пролиферацију ћелија не само на површини скафолда већ и у микропорама и стварање ЕСМ унутар пора. Ови скафолди нису показали високу чврстоћу и крутост.	(Manjubala, et al., 2005)

3.3.2.2 ПРЕДНОСТИ И НЕДОСТАЦИ АТ ПРИ ИЗРАДИ БИОРАЗГРАДИВИХ СКАФОЛДА

Покушаји примене различитих АТ за израду скафолда од биоразградивих материјала указали су на неке предности и недостатке примене истих.

SLS технологија, на пример, може да израђује скафолде неправилних, комплексних облика од полимера, керамике и металног праха, у циљу прилагођавања комплексним анатомским локацијама, укључујући канале и висеће делове. Још једна важна предност SLS је да постоји минимална опасност контаминације материјала јер је процес без растварача и не захтева никакав секундарни система везива. Међутим, са друге стране, главни недостатак SLS је да је ова техника ограничена на обраду само термички стабилних полимера, јер укључује високе температуре обраде. Поред тога, у многим случајевима величина пора у скафолду зависи од величине честица праха и притиска .

Предност 3DP процеса је релативно велика брзина и способност да се израђују сложене геометрије са висећим деловима и зарезима обзиром да околни неискоришћен прах пружа неопходну подршку. Свестраност и једноставност 3DP омогућава обраду разних прашкастих материјала, укључујући полимере, метале и керамике. Поред тога, 3DP процес се обавља у условима собне температуре, без захтева за термичком обрадом. Дакле, може се вршити обрада температурно осетљивих материјала и биолошких агенаса, као што су ћелије, фактори раста и сл. који могу бити укључени у скафолде без активације ако се користе нетоксични растварачи, као нпр. везива на воденој бази. Једно од важних ограничења технологија на бази праха (3DP, SLS и сл.) укључују тешкоће у уклањању унутрашњег невезаног праха. Такође битна ствар везана за израду скафолда овим технологијама је то да базни биоматеријали захтевају посебно пред-процесирање за 3DP јер нису обично доступни у облику праха (Kim, et al., 1998; Curodeau, Sachs, & Caldarise, 2000). Поред тога, до сада произведени скафолди 3DP технологијом немају задовољавајуће механичке особине. (Zeltinger, Sherwood, Graham, Müller, & Griffith, 2001; Lam, Mo, Teoh, & Hutmacher, 2002; Sherwood, et al., 2002)

FDM технологија је показала обећавајући успех у производњи 3D скафолда у погледу репродукције пора и међуповезаности истих. Међутим FDM захтева предходно формирање филамената тј. влакана специфичних димензија и својстава материјала, када је у питању њихова примена у изради скафолда. Материјали филамента морају бити довољно растегљиви и флексибилни да би се обликовали у филаменте и уз то да обезбеде довољну механичку чврстоћу за утискивање у грејач тј. топиконик. Овај процес је доста напоран и скуп.

Табела 27. Предности и недостаци примене најчешће коришћених АТ у изради скафолда

АТ	Резолуција израде (mm)	Постигнута величина пора	Предности	Ограничења
ZDP	0.1 mm	45–100 mm	Једноставан процес, висока порозност, висок однос површина/запремина, потпуна међуповезаност пора, контрола макро облика, независна контрола порозности и величине пора, широк опсег материјала.	Коришћење органских растварача, недостатак механичке чврстоће, ограничење на мале величине пора.
FDM	0.05 mm	250–1000 mm	Висока порозност, висок однос P/V, потпуна међуповезаност пора, контрола макро облика, независна контрола порозности и вел. пора, добра притисна чврстоћа, без растварача.	Високе температуре обраде, ограничен опсег материјала, неконзистентна отвореност пора у x-, y- и z-правцу, затвореност пора на границама, захтева носеће структуре за нерегуларне облике.
SLS	0.076 mm	45–100 mm	Висока порозност, висок однос P/V, потпуна међуповезаност пора контрола макро облика, независна контрола порозности и величине пора, широк опсег материјала, добра механичка чврстоћа, процес без растварача.	Високе температуре обраде, ограничење на мале величине пора.

Због тога су (да би се избегла комплексност и смањили трошкови израде филамента) развијене технике које користе исте принципе моделирања као и FDM али користе различите поступке за екструдирање материјала као што је спољашњи притисак ваздуха (Woodfield TB, Malda J, de Wijn, Péters, & van Blitterswijk, 2004) или притисак који се обезбеђује окретањем завртња (Wang, Shor, Darling, Khali, Sun, & Guceri, 2004) ради екструдирања полимера. Главни допринос ових система је да материјал скафолда може директно да се топи и екстудира без припреме филамента, што значајно проширује опсег материјала. Међутим и ови други системи имају своје предности и недостатке. На пример систем који врши екструзију полимерног истопа спољашњим притиском гаса је лак за манипулацију и одржавање чистоће. Ипак јавља се проблем мехурића ваздуха у полимерном истопу који могу да заостану заробљени због недостатка одговарајућег мешања. Овај други систем је прилично напоран у смислу одржавања чистоће јер без адекватног чишћења система може доћи до контаминације скафолда. Предност му је то што се полимерни истоп меша темељно и тако се избегава могућност појаве мехурића ваздуха.

SLA је показала задовољавајуће резултате у изради 3D модела. Међутим она такође има и неке недостатке. На пример, ова технологија је у могућности да обрађује само фотополимерне материјале. Због тога, у погледу израде скафолда у ТЕ, постоји само лимитирани избор фотополимерних биоматеријала који имају одговарајућу биодеградабилност и биокомпатибилност, механичку стабилност и остале битне карактеристике које су неопходне при изради скафолда. Често су произведени делови слаби у тренутку уклањања и захтевају накнадну обраду ради додатних очвршћавања (Harris, Newlyn, Hague, & Dickens, 2003). Накнадно очвршћавање и скупљање, након накнадне обраде, узрокују додатне проблеме везане за резолуцију, а израда мањих и комплексних детаља је отежана због абсорпције и расејавања ласерских зрака. Због свих ових детаља SLA има ограничену употребу у пољу биоинжењеринга, а посебно за израду анатомских модела за планирање операција или едукацију.

На основу прегледа досадашњих истраживања везаних за примену АТ у изради скафолда за реконструкцију и регенерацију ткива у ТЕ може се закључити да су до сада израђени скафолди АТ углавном једноставних геометријских облика са различитим распоредом и димензијама унутрашњих канала. Истраживања су се углавном сводила на покушај коришћења одређених биокомпатибилних и биоразградивих материјала, који нису у комерцијалној употреби у оквиру тих технологија, за израду скафолда на класичним или на модификованим, експерименталним RP машинама, као и испитивање њихових механичких карактеристика.

Такође су испитиване могућности контроле тј. мењања унутрашње геометрије скафолда, као и анализа, у *in vitro* или *in vivo* експериментима, утицаја геометрије скафолда на формирање ткива. Резултати ових експеримената се углавном свode на то да одређена технологија има потенцијала за коришћење у ТЕ али да су потребна даља истраживања у правцу проналажења оптималног дизајна скафолда, материјала за израду, технологије или одговарајуће модификације постојећих технологија.

До сада није установљена стандардизована методологија за израду анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива (за којима се све више јавља потреба) због чега се истраживањима у овој области даје посебна пажња у оквиру ТЕ.

4 (ANTI-LABYRINTH) - ANATOMICALLY SHAPED LATTICED SCAFFOLD-АНАТОМСКИ ПРИЛАГОЂЕНИ СКАФОЛДИ ((AL)-ASLS)

И поред несумњиво фасцинантног развоја у области ТЕ од 1990. године до данас, детаљна и свеобухватна анализа концепата конструкције скафолда и производних процеса за њихову израду (*дато у поглављима 3.1.3 и 3.3*) показала је да, и даље, постоје велики изазови које треба савладати у покушају да се створе оптимални скафолди коштаног ткива:

- 1. Максимална могућа пропустљивост и порозност запремине коју формира потпорна решетка скафолда, а која при томе не нарушава постојаност анатомски прилагођеног облика графта током опоравка ткива.** Када се разматра *пропустљивост* скафолда треба имати на уму да је могуће сагледавати одвојено степен потребне *унутрашње пропустљивости (прозрачности)* од степена тзв. контактне пропустљивости (на контакту графта/скафолда и околног ткива). Тежња ка максималној унутрашњој пропусности решетке је од суштинског значаја за несметану мофролошку самореконструкцију уграђеног материјала (унутар запремине графта) и раст ткива (од средине ка ободима). Контактна или ободна пропусност решетке скафолда је, пак, пресудна за повезивање графта и матичног коштаног ткива, али и околног ткива неопходног за раст и опоравак (за олакшан продор нервних завршетака и крвних судова тј. за олакшану инервацију и васкуларизацију графта),
- 2. Максимална биокомпатибилност (и управљива темпирана биоразградивост),**
- 3. Био-хемијска инертност на активне супстанце подстицања раста ткива и био-адхезивност са графтом и околним ткивом,**
- 4. Максимална једноставност фиксације (причвршћивања) скафолда,**
- 5. Захтевана/довољна анатомска саобразност графта са околним матичним коштаном ткивом са којим треба да срасте као и потребна постојаност облика графта током опоравка ткива,**
- 6. Усклађена (конзистентна или акордантна) структурална чврстоћа имплантатног склопа (фиксација – скафолд – графт)³ (сл. 70) са којом**

³ Термин „имплантатни склоп“ се уводи да би се означимо склоп који се састоји од фиксатора, ASLS и графта код механички значајно оптерећених костију или само ASLS и графта који се примењује код механички мање оптерећених костију.

би се обезбедила жељена (и за конкретну кост, конкретног пацијента, прилагођена) еластичност решетке и расподела оптерећења на поједине делове имплантаног склопа. Са таквом решетком би се осигурао потребан механички подстицај за раст и оријентацију ткива (међу-ћелијског матрикса),

7. Висок степен технологичности што подразумева максималну једноставност процеса израде који захтева минималне припремне и накнадне технолошке интервенције, минималну употребу материјала и утрошак времена.

У побројаним изазовима се рађа и мотивација за интензивна истраживања која се баве дизајном скафолда коштаног ткива, нарочито због чињенице да актуелни концепти конструкције скафолда не успевају да остваре поменуте захтеве. У многим варијантним решењима велике порозности, конструкција скафолда се одликује изузетно сложенем микро-геометријом која веома наликује самом коштаном ткиву. Ипак, ова варијантна решења, иако велике прозирности (или порозности) и релативно високог степена био-адхезивности, одликују се „лабиринтском“ конструкцијом која се показала мало-пропусном за саморегенерацију новим ћелијама ткива и раст ткива из графта. Почетно колонизирање сегмената лабиринта ствара чепове на правацима дотока хранљивих материја у средиште графта.

У настојању да створи скафолд коштаног ткива који у највећој могућој мери одговара горе наведеним захтевима, тим Лабораторије за интелигентне производне системе, ангажован у истраживању на пројекту III41017, конципирао је јединствену конструкцију потпорне просторне решетке састављене од једноставних и међусобно повезаних гредица које, инверзно лабиринтском концепту, треба да представљају „носаче“, својеврсне путеве „колонизаторских ћелија“ (осификацијске правце) и васкуларних и нервних елемената.

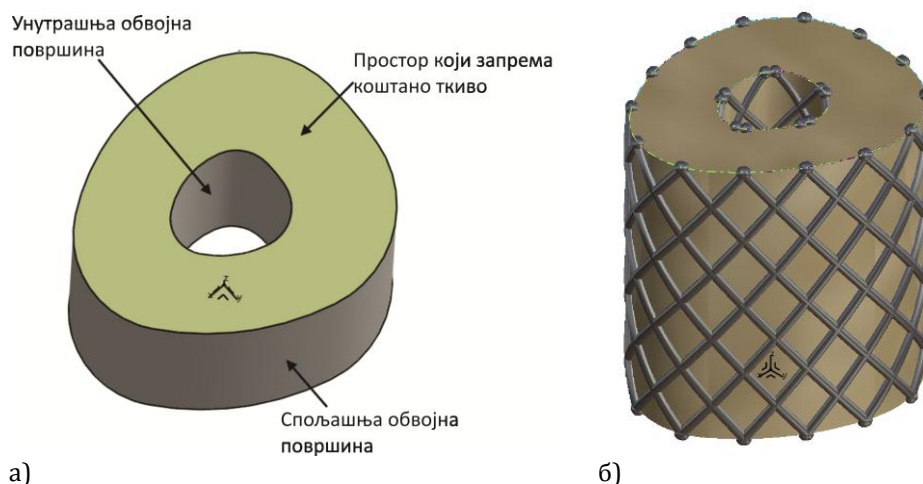
4.1 ДИЗАЈН КОНЦЕПТ АНАТОМСКИ ПРИЛАГОЂЕНОГ СКАФОЛДА (ASLS)

Anti-Labyrinth(VIHOS)-Anatomically Shaped Latticed Scaffold-анатомски прилагођен (обликован) решеткасти скафолд је термин којим се означава оригинални дизајн концепт (концепт конструкције) потпорне просторне решетке за раст и опоравак коштаног ткива. Ради се о концептуалном моделу скафолда који је намењен „ношењу“ и имплантацији коштаног графта, а који се одликује:

1. Високим степеном прозирности (дијафанитета) и пропусности запремине коју формира потпорна решетка;

2. Високим степеном геометријске подударности (конзистенције) са обвојним површинама кости (кортикалних слојева) пацијента, те се из тог разлога и сврстава у тзв. *анатомски прилагођене (обликоване)* скафолде, или, другачије речено, скафолде чија је геометрија конзистентна анатомији дела кости одређеног пацијента;
3. Релативно једноставним дизајном који је лако мењати у циљу оптимизације структуралне чврстоће и еластичности;
4. Могућношћу једноставног причвршћивања (фиксације) и
5. Релативно високим степеном производности (технологичности)– захтева мале припремне и накнадне технолошке интервенције као и мали утрошак скупог материјала.

Структурални дизајн општег модела потпорне решетке ASLS-а намењеног телу дуге кости у основи састоји од два скупа једноставних гредица (сл. 63).

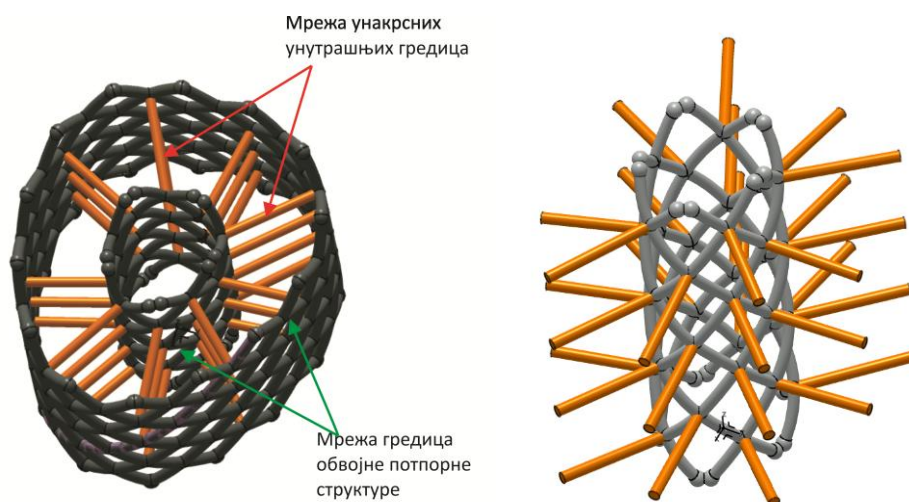


Слика 63. Волумен коштаног ткива исечка дугих костију (а) и први скуп гредица који „следи“ или „прати“ геометрију обвојне површине кости (б)

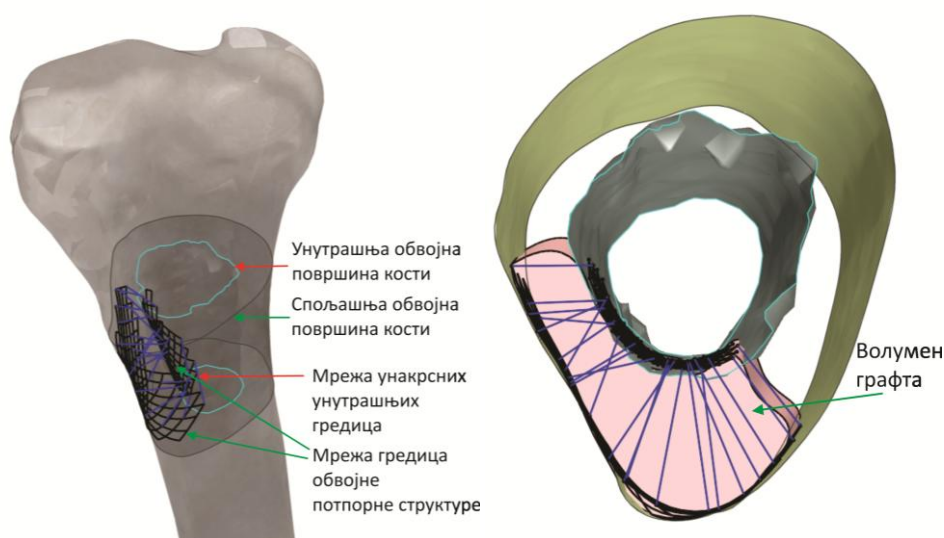
У општем случају, код тела дуге кости, треба уочити да се обвојна површина кости састоји од две површине, спољашње (ка фасцији) и унутрашње (ка медуларној шупљини). Запремина коштаног ткива се налази у простору омеђеног тим двама површинама (сл. 63-6).

На тај начин, овај скуп гредица образује („плете“) две просторне обвојне мрежице, за спољашњу и унутрашњу обвојну површину кости (сл. 63 и сл. 64) тзв. обвојну потпорну структуру (енг. outer structure of wrapping beams), али и потребне пролазе за несметано продирање неуро и васкуларних структура у унутрашњост графта. Други скуп потпорних гредица се пружа у простору спонгиозног дела кости и повезује две обвојне мрежице обезбеђујући захтевану чврстоћу структуре скафолда (сл. 64 и сл. 65). Овај скуп гредица називамо

мрежом унакрсних унутрашњих или попречних гредица (енг. inner structure of cross-linking beams). Мрежа гредица обвојне потпорне структуре је исплетена гушће него мрежа унакрсних унутрашњих гредица .



Слика 64. Мрежа обвојних и унакрсних унутрашњих гредица

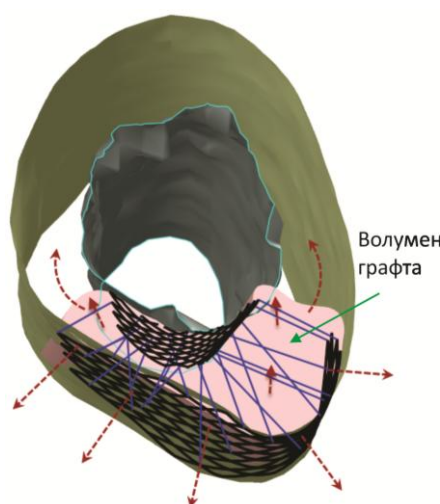


а) Облик обвојних гредица је прилагођен геометрији површине кости конкретног пацијента

б) *ASLS* „гради“ волумен који заузима графт

Слика 65. Структура потпорне решетке *ASLS*: густина обвојних гредица је знатно већа од густине попречних унакрсних гредица

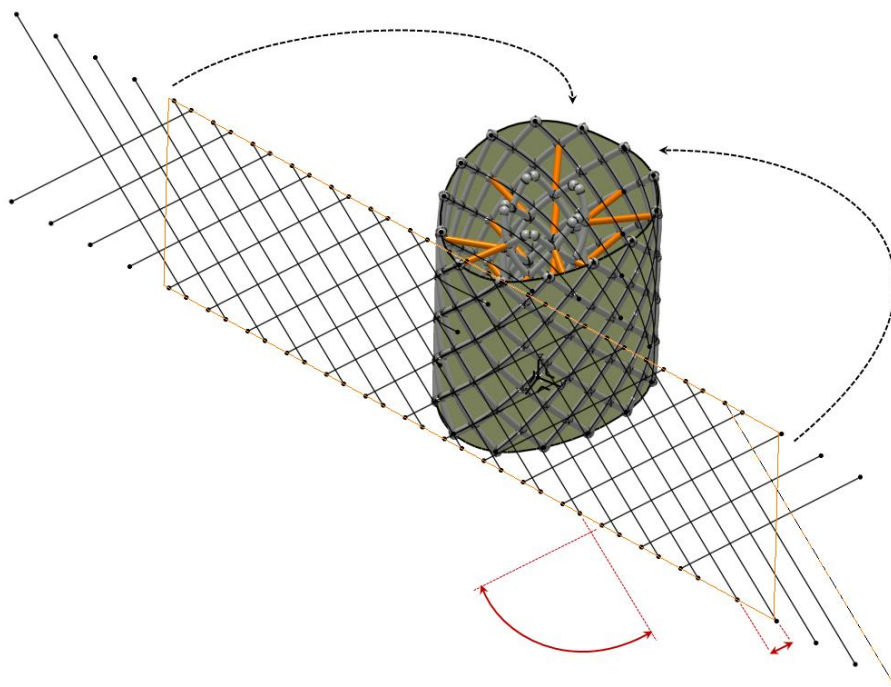
Управо је ова мала густина или мали број унакрсних унутрашњих гредица битна и циљана одлика унутрашње структуре јер се очекује да ће мањи број гредица у унутрашњем простору графта олакшати дубинску реинервацију и реваскуларизацију графта, а самим тим и поспешити и осигурати трансформацију графта у ткиво. Такође, очекује се да „отворен“ простор унутрашњости скафолда не омета трансформацију графта у ткиво и његово повезивање са околним матичним и неоштећеним коштаном и другим ткивом (сл. 66). Коначно, можда и најважније, овакав дизајн унутрашњости скафолда је у складу са концептом геометрије које треба да буде инверзија „порозног лавиринта“. Унутрашње гредице ће представљати носаче ћелијске колонизације, реинервације и реваскуларизације око којих ће ткиво нарастати без баријера (осификацијски *правци*, пошто не можемо да створимо *центре*).



Слика 66. Попречне унакрсне и кортикалне гредице „остављају“ велике контактне површине за интеракцију графта са матичним и околним ткивом

Конструкција општег модела потпорне решетке ASLS-а намењеног телу дугих костију се може једноставно мењати променом параметара геометрије: угла под којим се гредице у обвојној мрежици секу, облика и величине попречног пресека гредица, одстојањем између гредица, постојањем или непостојањем унутрашње обвојне мрежице и др.

Слика 67 приказује CAD метод израде обвојних мрежица укључујући контролу појединих параметара.



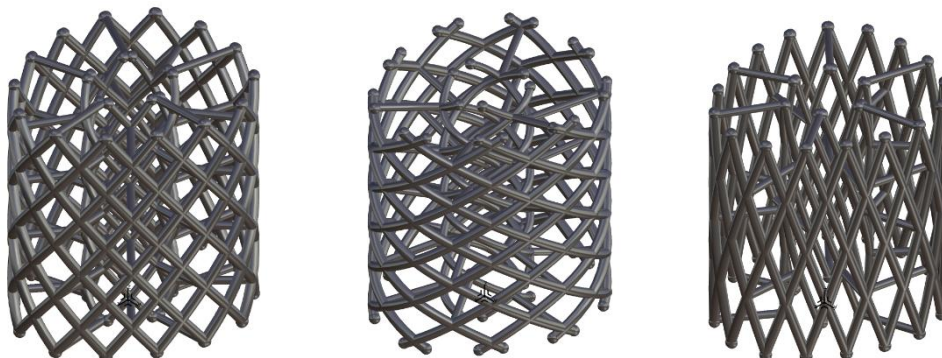
Слика 67. CAD метод израде обвојних мрежица са контролом појединих параметара

Променом ових параметара могуће је вршити оптимизацију конструкције ASLS-а према потребним вредности битних величина као што су прозачност, структурална чврстоћа (Stojkovic, Korunovic, Trajanovic, Milovanovic, Trifunovic, & Vitkovic, 2013) и др. (сл. 68).

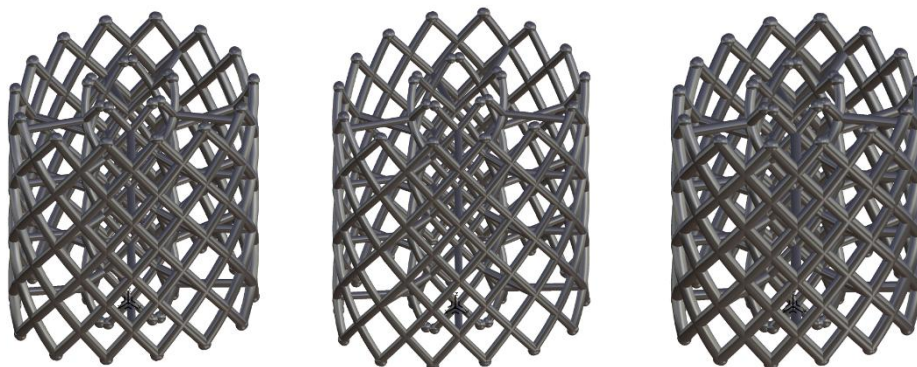
Растојање између гредица



Угао пресека гредица

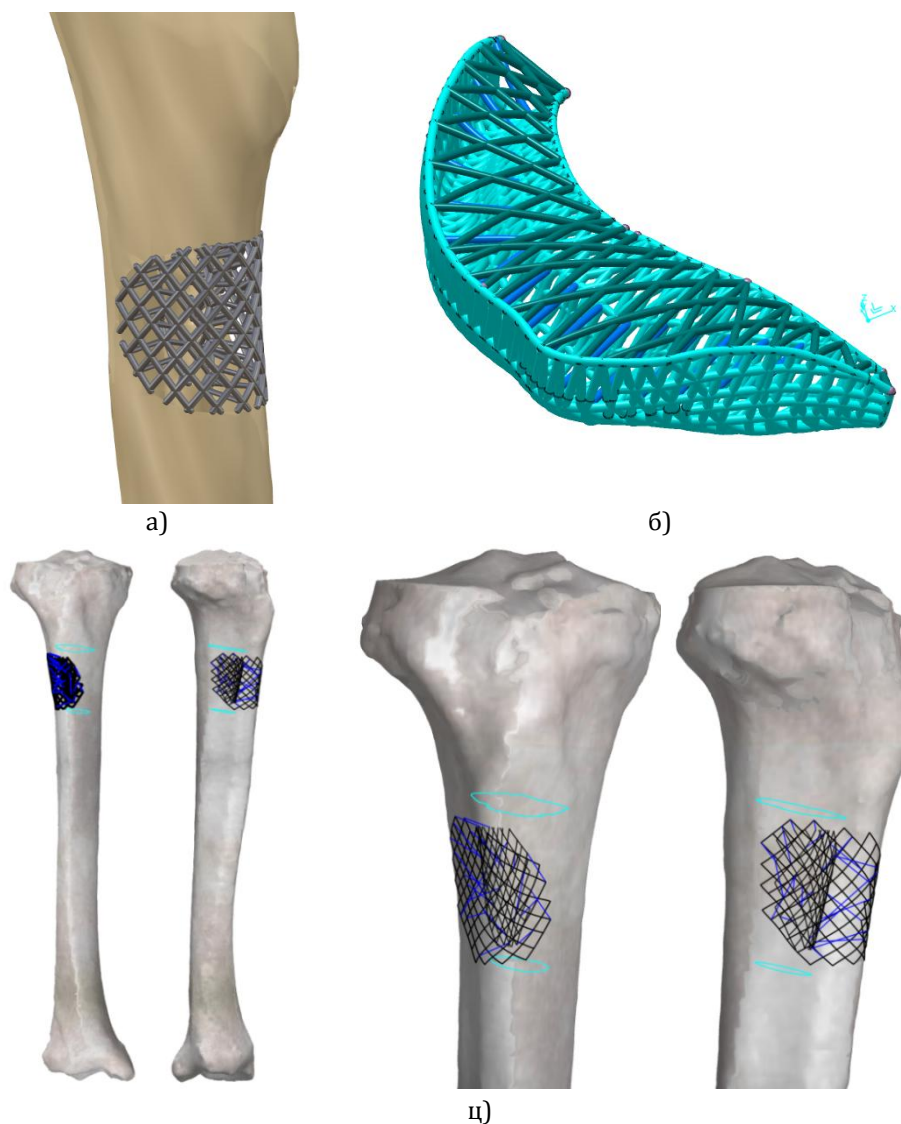


Пречник гредице



Слика 68. Промена параметара ASLS-а у циљу оптимизације конструкције

Такође, овако параметризована геометрија општег модела решетке се може једноставно „пресликати“ на специфичан анатомски облик, односно могуће је обликовати је према анатомији конкретног пацијента / кости (примери „пресликавања“ су дати на слици 69).



Слика 69. Примери пресликаних ASLS на тибију кунића (а) , Acetabular labrum (б) и људску тибију (ц)

С обзиром на то да се ради о дигиталном моделу чији су облик (облик целине решетке и облици детаља као што су попречни пресеци гредица или просторни углови простирања) и димензије у непосредној зависности од тзв. конструктивних параметара, просторни распоред, односно просторне криве пружања обвојних и унакрсних гредица као и облик њиховог попречног пресека

је могуће контролисати и оптимизовати⁴ у зависности од примене. Овако изградњом скафолда прилагођеног анатомији пацијента, и неопходну флексибилност дизајна. На пример, код сложених имплантата код којих постоји захтев за повећаном чврстоћом, као у случајевима прелома кости доњих екстремитета, могуће је једноставно и брзо оптимизовати просторне углове простирања обвојних и унакрсних, унутрашњих гредица као и геометрију њихових попречних пресека тако да структура потпорне решетке са минималним бројем кортикалних и попречних гредица (минимално заузетом запремином) обезбеђује захтевану чврстоћу *ASLS*-у (сл. 70). С обзиром на то да је *ASLS* саставни елемент сложеног имплантата, укупно оптерећење се дели између фиксатора, *ASLS*-а и графта, те према томе сваки од ових елемената треба да се одликује одговарајућим механичким карактеристикама (чврстоћа, жилавост, динамичка издржљивост, еластичност и др.). С тим у вези, треба истаћи да оптимизација конструкције фиксатора и *ASLS*-а спрам циљаних вредности механичких особина треба да осигура да део оптерећења поред фиксатора, преноси и графт како би се обезбедио довољан механички подстицај за активацију спрегнутих пиезо-електричних и био-хемијских механизма за раст ћелија ткива у графту и на његовим границама (сл. 70).



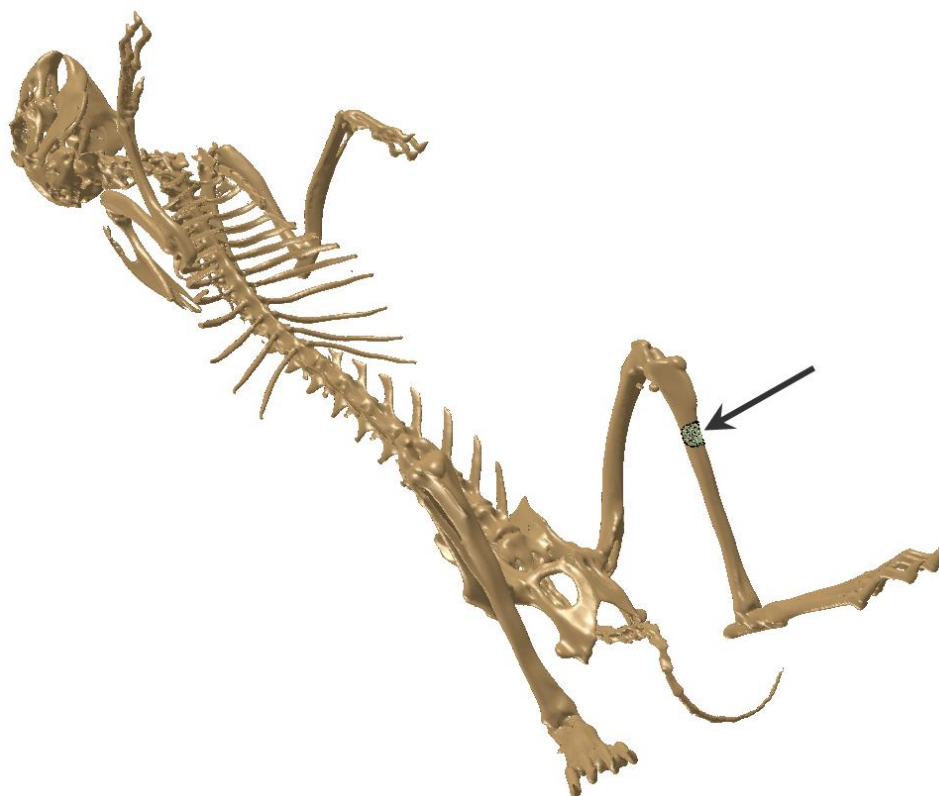
Слика 70. Имплантатни склоп (расподела оптерећења се може контролисати обликом попречног пресека и просторним распоредом гредица (*ASLS*))

⁴ У овоме се отвара читава једна, вероватно, веома неразматрана област истраживања - tissue supporting grids и примена CAE у те сврхе.

Са друге стране, код костију које нису изложене тако великим оптерећењима као у случају фиксних костију лобање, број, односно густина обвојних и унакрсних унутрашњих гредица може бити мањи/а.

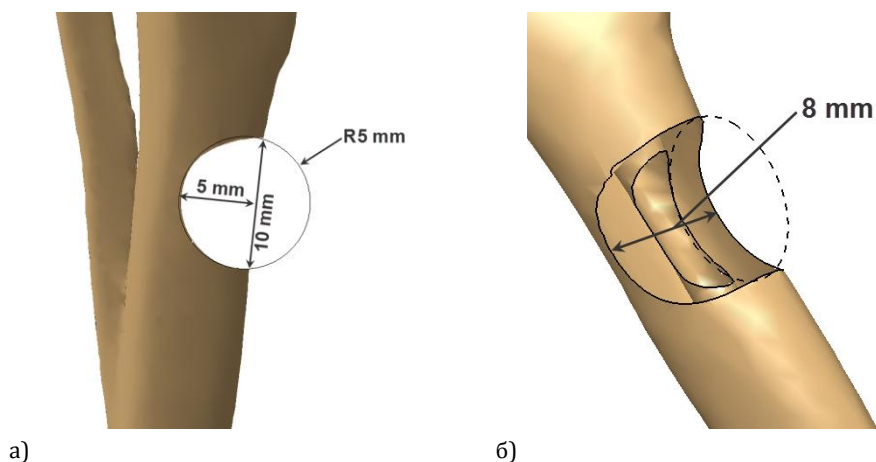
4.1.1 ПРИМЕР: ВАРИЈАНТНА РЕШЕЊА ДИЗАЈНА ASLS ЗА ПОТКОЛЕНИЦЕ КУНИЋА

Пример израђеног решења ASLS који ће послужити за процену успешности дизајн концепта је припремљен за недостајући део кости на проксималном делу дијафизе тибије кунића (сл. 71).



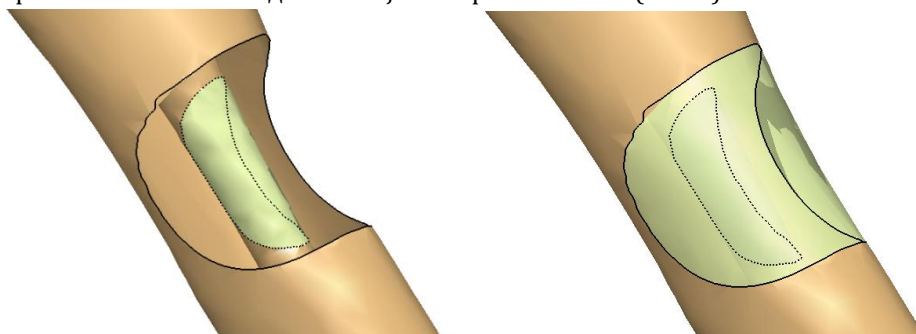
Слика 71. Место трауме

Величина недостајућег дела кости је у максималним границама је 10 × 8 mm (сл. 72) и према садашњим тумачењима у области ортопедије и ТЕ представља велико оштећење потколенице кунића, које се не може самостално опоравити, тј. зарастати.



Слика 72. Величина и облик недостајућег дела кости

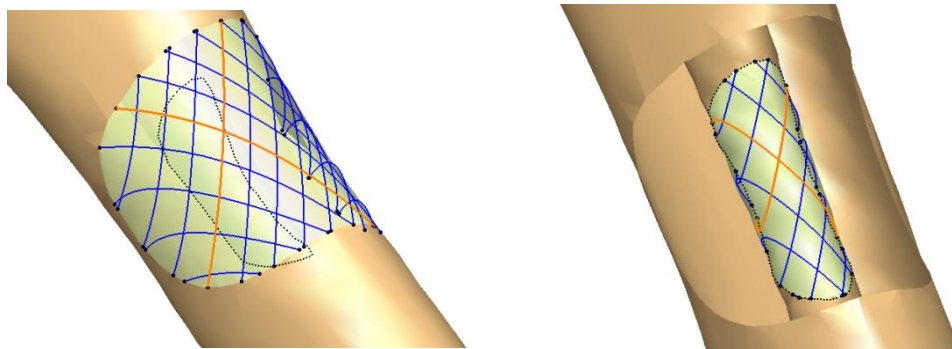
Просторна решетка анатомски прилагођеног скафолда се формира над моделираним „закрпама“ (patch-евима) обвојних површина недостајућег дела кости. Ове „закрпе“ добијају приближни облик недостајућег дела обвојне површине кости „наметањем“ услова тангентног споја новонастале површине и површина неоштећеног дела обвојне површине кости (сл. 73).



Слика 73. „Закрпе“ или Patch-еви обвојне површине кости – геометријске основе за моделирање просторне мреже греда скафолда

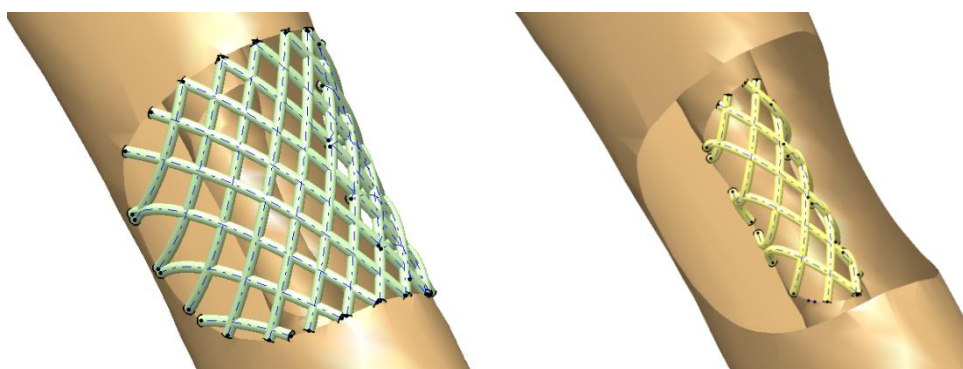
Поменуте закрпе представљају геометријску основу за моделирање мреже просторних кривих које ће потом послужити као водиље за формирање гредица обвојне потпорне структуре скафолда (сл. 74 и сл. 75). Оно што је битно истаћи је да су закрпе у великој, а са становишта ортопедије сасвим довољној мери, геометријски подударне обвојним површинама кости пацијента чиме се обезбеђује захтевана „прилагођеност“ геометрије будућег скафолда анатомији пацијента.

Приликом моделирања мреже просторних кривих могуће је контролисати размак и угао између суседних, односно унакрсних кривих⁵ и тиме касније контролисати структурну чврстоћу као и пропусност решетке (сл. 74).



Слика 74. Мрежа просторних кривих које ће да послуже као водиле за формирање гредица обвојне потпорне структуре скафолда

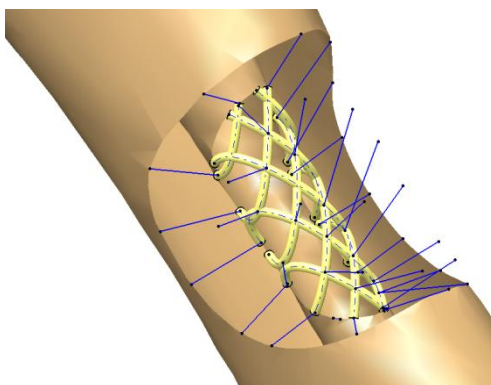
Приликом формирања обвојних гредица скафолда параметри попречног пресека гредица контролишу облик и димензије свих детаља попречних пресека гредица. Управљивост облика и величине попречног пресека има непосредан и суштински утицај на структурну чврстоћу и еластичност скафолда, али и способност држања графта унутар скафолда. Променом облика попречног пресека гредица, додавањем одговарајућих заобљења или оштријих прелаза могуће је утицати на пропусност решетке у оба правца: од унутрашњости скафолда ка спољашњости и обрнуто, што може бити од пресудног значаја за функцију скафолда.



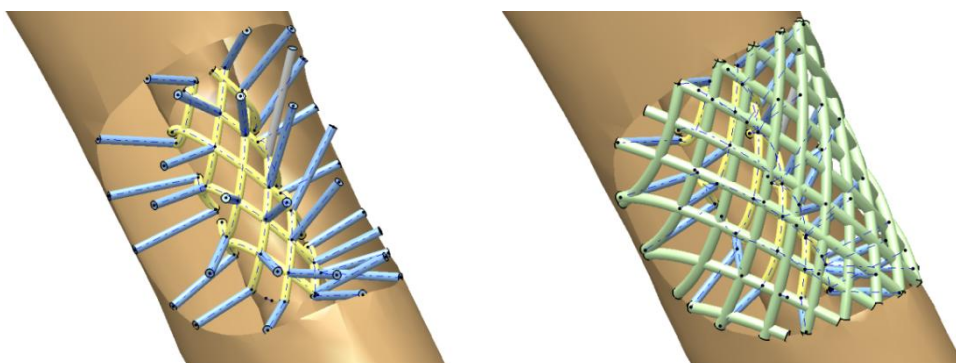
Слика 75. Просторне решетке обвојне потпорне структуре скафолда

⁵ Параметри размака и угла укрштања

Унутрашње, унакрсне потпорне гредице се моделирају на сличан начин, с тим се да у овом случају не користе посебне површине за простирање кривих водиља, већ се криве⁶ водиље формирају као праволинијске везе између појединих чворова (места укрштања гредица) спољашње и унутрашње обвојне решетке (сл. 76 и сл. 77).



Слика 76. Криве које ће да послуже као водиље за формирање унутрашњих унакрсних гредица потпорне структуре скафолда



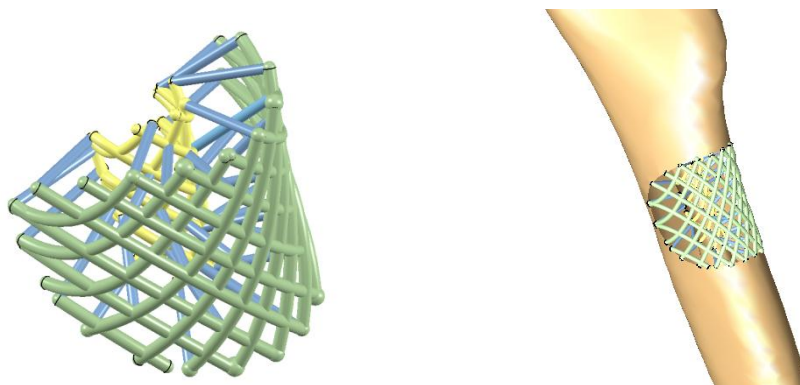
Слика 77. Унутрашње унакрсне гредице скафолда

Избор чворова који ће послужити као упоришне тачке ових кривих, односно гредица, зависи од захтеване структурне чврстоће и еластичности као и од врсте (структуре и житкости) графта и очекиваног кретање масе графта кроз унутрашњост скафолда током пуњења и касније током срастања ткива. У основи, кориснички-дефинисани геометријски модел (енг. user defined geometric feature) скафолда, могуће је променом вредности геометријских параметара веома брзо

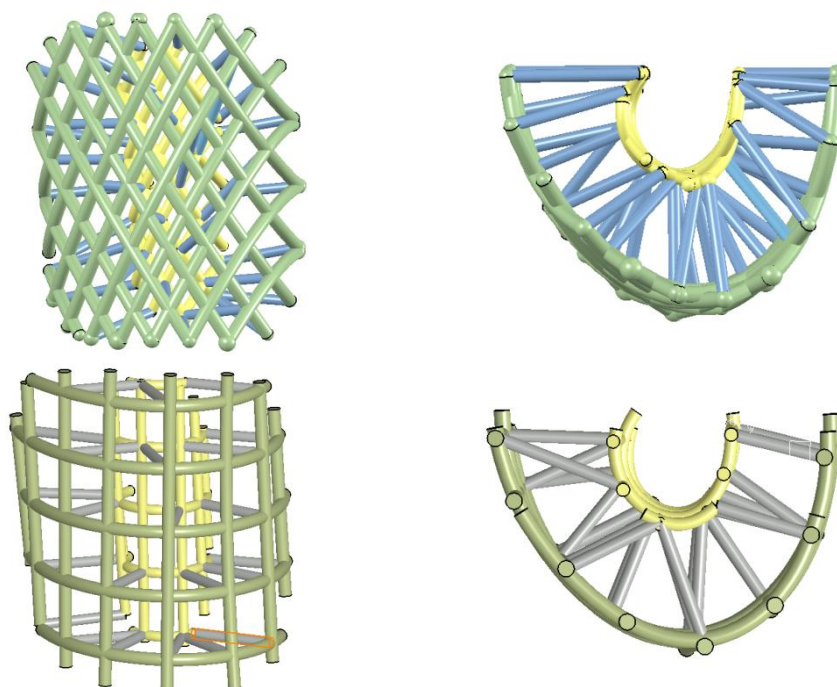
⁶ Ради се о термину који је уврешен у CAD-у: „guiding curve”, а оне могу у специјалном случају бити праве линије.

ремоделирати у неку од геометријских варијанти – члана фамилије геометријски сродних решетки (сл. 78 и сл. 79). На тај начин, овај концепт демонстрира изузетну флексибилност, посебно битну у случајевима потребе за брзом адаптацијом структуралне геометрије спрам апликације (сл. 79).

Геометрија крајева гредица, такође, припада параметарски контролисаној геометрији скафолда с обзиром да у појединим случајевима управо ови делови могу да у знатној мери утичу на имплантабилност и повезљивост скафолда са околним ткивом.

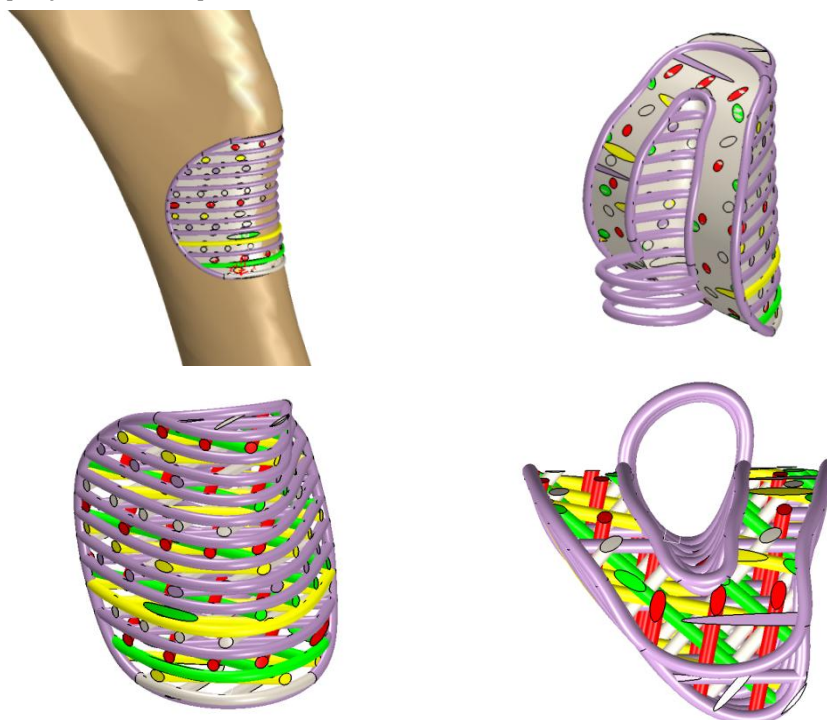


Слика 78. Кориснички-дефинисан модел: општа геометријска варијанта скафолда (кружни попречни пресек)



Слика 79. Промена угла укрштања и величине одстојања између гредица на кортикалној решетки узрокује битно различиту геометрију скафолда

Битно ограничење у погледу дизајна скафолда, односно распореда, облика и величине гредица, потиче и од производности облика. С тим у вези, треба истаћи једну специфичну варијанту геометрије ASLS коју је било неопходно припремити како би се тестирале могућности 3D биоплотера. Ради се о „густо-пакованом“ скафолду где гредице налажу једна на другу (сл. 80). Тиме се у великој мери губи на пропусности скафолда.



Слика 80. Специфична варијанта геометрије ASLS намењена 3D биоплотеру

4.1.2 АПЛИКАЦИЈА

Превасходна намена ASLS је механичко ношење и имплантација графтова коштаног ткива. Током опоравка трауматизованог коштаног ткива, ASLS треба да обезбеди постојаност потребног макро облика графта као и максималну могућу просторну пропустљивост за раст и повезивање матичног коштаног и околног ткива и графта ради што потпунијег и бржег опоравка (сл. 65-б и сл. 66).

Концепт ASLS предвиђа употребу *трајних* и *привремених* ASLS. **Трајне** ASLS су оне које трајно, и након потпуног опоравка матичног ткива, остају уграђене у ткиво. Адекватан пример је ASLS за обнову окрњеног горњег обода чашице кука где је потребно да се трајно унапреде механичке одлике тог морфолошког елемента (чврстоћа, жилавост). **Привремене** ASLS су оне од којих се очекује да, након потпуног опоравка матичног коштаног ткива, буду ресорбоване у матично

ткиво. Пример за ову врсту ASLS може да буде ASLS за убрзани опоравак костију лобање. Оно што је битно уочити као суштинску разлику између ове две врсте ASLS је у њиховој намени: док би *трајне* ASLS пре свега служиле унапређењу механичких одлика појединих делова коштаног ткива који се желе обновити, *привремене* ASLS би биле намењене обнови коштаног ткива до нивоа механичких одлика матичне кости.

Без обзира да ли се ради о тзв. трајним или привременим ASLS, концепт ASLS предвиђа да структура ASLS мора да пружа захтевану механичку чврстоћу, сво време њихове апликације.

У принципу, стратешки императив истраживања на пољу избора материјала за ASLS је да у будућности буду коришћене пре свега *привремене* ASLS. Основни разлог за овакво опредељење је у томе што сваки страни материјал, без обзира на степен његове био-компатибилности и/или био-инертности, временом може да постане извор нарушавања здравља опорављеног или околног ткива.

4.1.3 ИМПЛАНТАЦИЈА

Концепт ASLS предвиђа да приликом имплантације слободни крајеви гредица послуже као упоришне структуре којима се ASLS причвршћује за матично коштаног ткиво. Свеобухватна параметризација геометрије ASLS омогућава да се непосредно пре имплантације, на ефикасан начин изврши прилагођавање геометрије скафолда анатомском облику трауматизованог дела кости за конкретни случај. Прилагођавање геометрије скафолда се такође може вршити и према биомеханичким захтевима имплантације, односно према начину фиксације и очекиваним оптерећењима. Пре саме имплантације, припремљени графт се „убацује“ у запремину коју гради ASLS. Након имплантације ASLS се на адекватан начин причвршћује за матично ткиво (види прилог).

4.1.4 МАТЕРИЈАЛ ASLS

Концепт ASLS предвиђа две класе материјала од којег би се гредице ASLS израђивале:

1. Металне легуре (титанијумске легуре, легуре магнезијума и др.),
2. Био-полимери.

Само по себи је јасно да би металне (превасходно титанијумске) легуре биле намењене изради тзв. *трајних* ASLS, док би био-полимери били намењени изради пре свега *привремених* ASLS.

Поред основних механичких одлика, треба предвидети да материјал ASLS буде у могућности да преноси евентуалне електричне импULSE на графт и околно ткиво

како би раст и опоравак ткива био још потпунији. Тако, на пример, додатним третманом електро-магнетним импулсима (од споља) могли би да буду индуковани електрични импулси у ASLS који би се даље проносили на графт и околно ткиво.

4.2 АНАЛИЗА НАПОНСКО-ДЕФОРМАЦИОНОГ СТАЊА У ASLS ПРИМЕНОМ МЕТОДА КОНАЧНИХ ЕЛЕМЕНАТА (МКЕ)

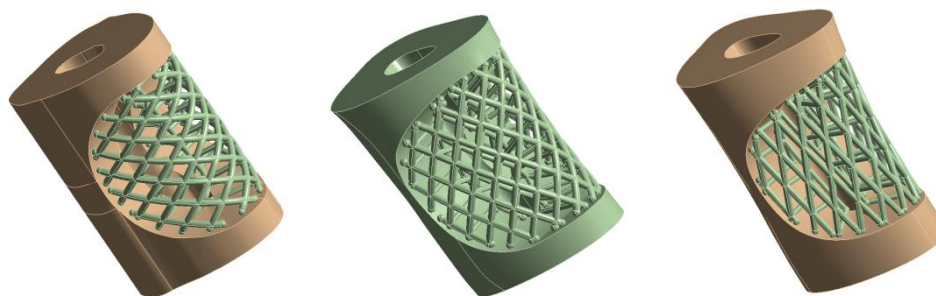
Као што је раније поменуто, ASLS нема за циљ да опонаша трабекуларну структуру кости, већ тежи једноставности дизајна уз задовољење више различитих, често опречних, захтева. Са једне стране захтева се његова максимална пропустљивост, прозачност, биоразградивост и једноставност фиксације, а са друге висок ниво биоадхезије елемената структуре скафолда, геометријске тј. анатомске доследности, хармонизације између чврстоће и еластичности скафолда и околног коштаног ткива, као и висока производност. Осим тога, дизајн скафолда треба да омогући да графт унутар њега буде механички оптерећен тако да се обезбеди оптимална брзина раста нових ћелија ткива.

Један од основних захтева при пројектовању ASLS, односи се на обезбеђење потребне крутости и чврстоће структуре скафолда, тј. усклађивање ових особина са особинама околног коштаног ткива спрам различитих захтева (ортопедских, биомеханичких, биолошких). Да би се проверило да ли се предложени дизајн ASLS одликује потребном флексибилношћу, тј. да ли се поменути захтеви једноставно могу испунити променом главних конструктивних параметара, обављена је параметарска студија. Студија је обухватила низ анализа напонско-деформационог стања склопа сегмента тибије кунућа и ASLS намењеног за вештачки креиран дефект цилиндричног облика на проксималном делу дијафизе тибије кунућа. Експериментом је предвиђено да се дати дефект ствара уклањањем дела дијафизе тибије бургијом пречника 8 mm.

Модел ASLS креиран је методама параметарског пројектовања, према раније описаном поступку у поглављу 4.1. Модел сегмента тибије креиран је на основу полигоналног модела, који је конструисан на бази СТ снимка тибије експерименталне животиње. На моделу кости креиран је цилиндрични рез који прати геометрију скафолда, тако да решетка скафолда додирује површину реза. Механичко понашање материјала датих структура моделирано је као линеарно еластично.

У оквиру студије мењани су угао решетке ASLS, који представља један од основних конструктивних параметара предложеног дизајна, и параметри модела

материјала скафолда - модул еластичности и Поасонов коефицијент. Углу решетке су sukcesивно додељиване три различите, репрезентативне, вредности (сл. 81).



Угао решетке 32°

Угао решетке 52°

Угао решетке 72°

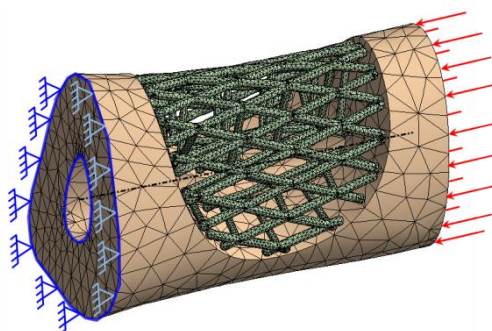
Слика 81. Геометријски модел склопа сегмента тибије кунића и ASLS, за различите вредности угла решетке скафолда

На овај начин креирана су три различита модела за анализу применом метода коначних елемената (МКЕ модела). Сваком од поменутих модела ASLS sukcesивно су мењани параметри модела материјала, тако да представљају типичне вредности за титанијум, хидроксиапатит и магнезијум (табела 28). На тај начин, укупно је креирано девет различитих инстанци ASLS. Еластична својства тибије представљена су модулом еластичности од 2.2×10^4 МПа и Поасоновим коефицијентом од 0,33.

Табела 28. Типичне вредности карактеристика еластичности разматраних материјала

Материјал	Модул еластичности [МПа]	Поасонов коефицијент
титанијум	12×10^4	0,36
хидроксиапатит	10×10^4	0,27
магнезијум	$4,5 \times 10^4$	0,35

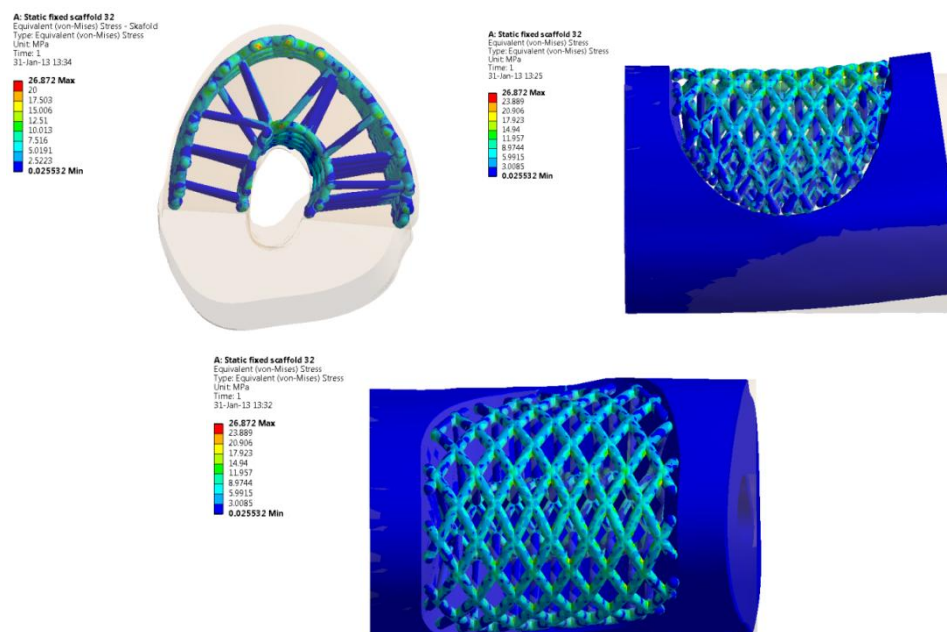
Између модела сегмента тибије и модела ASLS дефинисан је услов контакта без клизања, чиме је апроксимирана фиксација ASLS. На наспрамним површинама сегмента кости, које су добијене одбацивањем остатка тибије, дефинисани су гранични услови којима се симулира дејство аксијалног притиска, тако што је једна од површина укљештена, док на другу делује равномерно распоређена сила интензитета 20 N (сл. 82). Интензитет силе изабран је тако да приближно одговара очекиваном оптерећењу тибије у постоперативној фази. На трима инстанцама описаног модела креирана је мрежа коначних елемената, при чему су коришћени идентични параметри величине и облика мреже.



Слика 82. МКЕ модел склопа сегмента тибије кунућа и ASLS, за угао решетке скафолда од 72° са приказаним граничним условима и оптерећењима. Гранични услови и оптерећења дефинисани су над чеоним површинама

Над креираним МКЕ моделима извршена је статичка структурна анализа, која је за циљ имала сагледавање угиба и еквивалентног напона у склопу ASLS и сегмента тибије. На следећим сликама (сл. 83 – сл. 86) приказани су типични резултати извршених анализа.

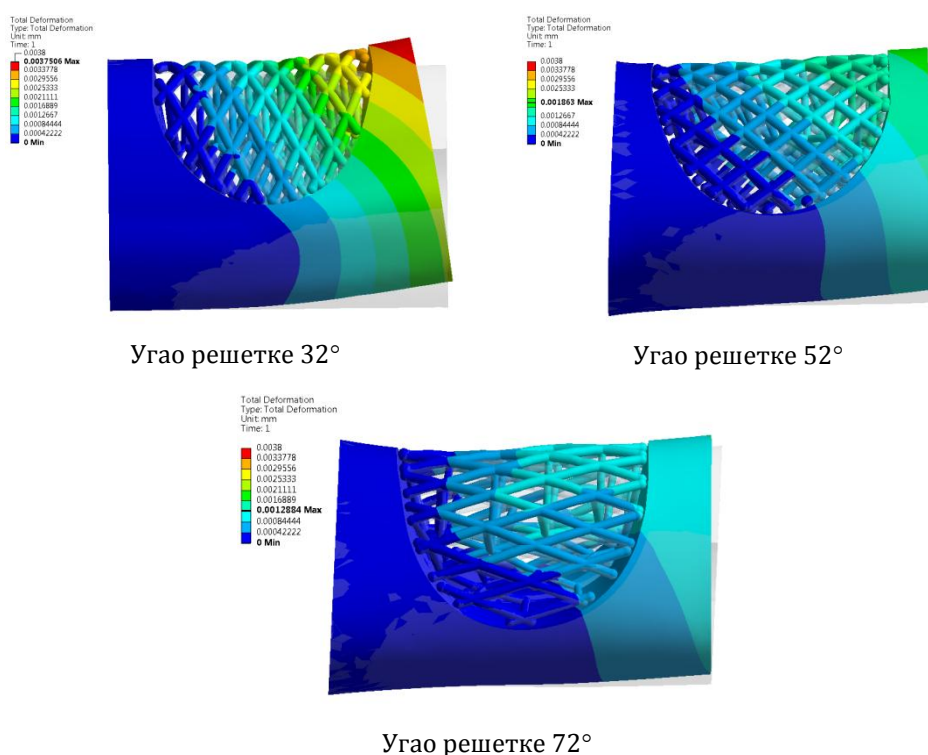
На слици 83 приказан је еквивалентни напон добијен анализом модела са углом решетке скафолда од 32° и параметрима модела материјала који одговарају титанијуму.



Слика 83. Еквивалентни напон на склопу сегмента тибије и ASLS за угао решетке од 32°, приказан на деформисаном облику модела заједно са контуром недеформисаног модела. Ради уочљивости, за приказ померања је коришћена размера од 500:1

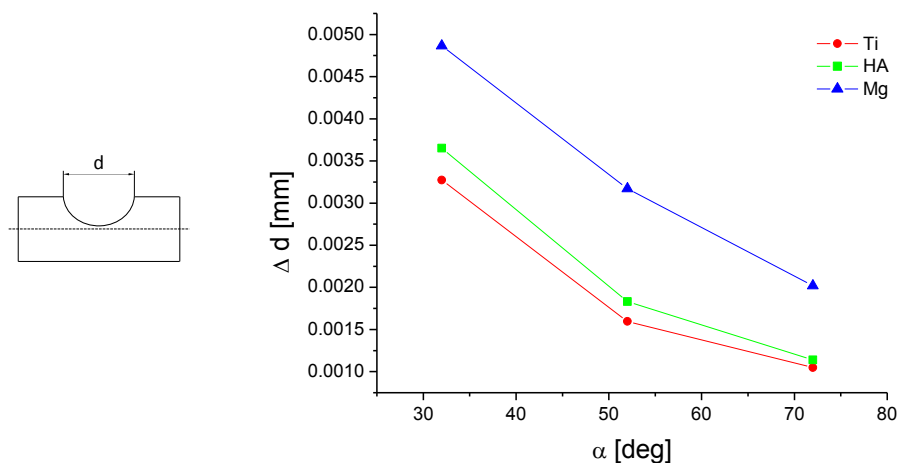
На основу неравномерног деформисања модела, може се закључити да је у овом случају крутост скафолда мања од крутости недостајућег дела кости. Максимални еквивалентни напон на ASLS износи приближно 27 МПа, што је далеко испод границе течења легуре титанијума, која износи 950 МПа.

На слици 84 дат је упоредни приказ поља померања добијен анализом три различита МКЕ модела титанијумске решетке. Приметан је тренд смањења интензитета померања са порастом угла решетке, што је и очекивано с обзиром да већим угловима решетке одговарају мањи углови између гредица решетке и правца дејства силе.



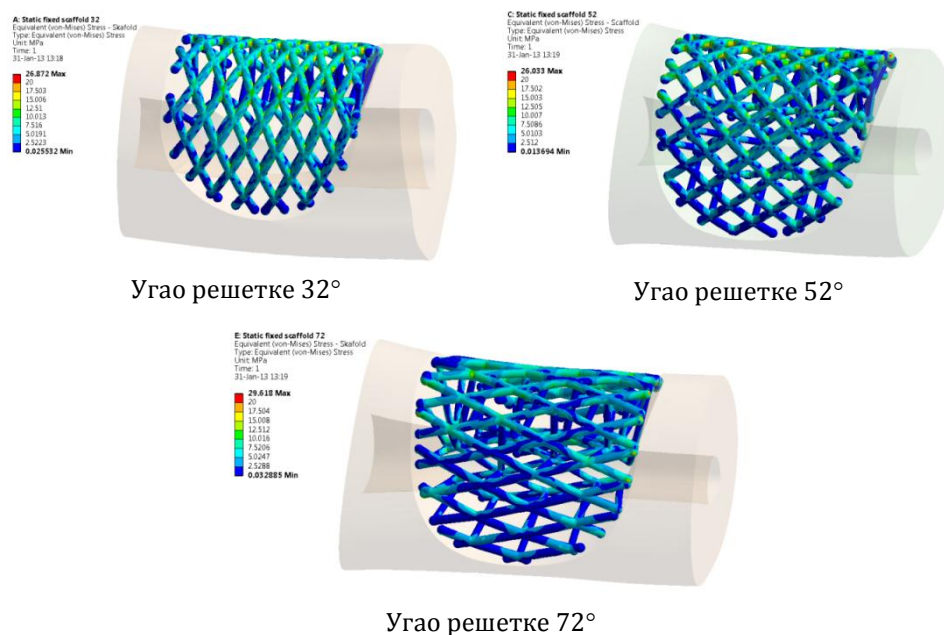
Слика 84. Интензитет померања на склопу ASLS и сегмента тибије, за три различите вредности угла титанијумске решетке

Овај тренд се може лакше уочити када се посматра смањење растојања између екстремних тачака на наспрамним странама дефекта, тј. промена дужине дефекта (сл. 85). Са слике се може сагледати и утицај материјала решетке на смањење дужине дефекта. Очигледно је да са смањењем модула еластичности апсолутна вредност промене дужине дефекта расте. Међутим, функционална зависност промене дужине дефекта од угла решетке постаје све ближа линеарној како се модул еластичности решетке смањује. Ово је последица чињенице да се са смањењем модула еластичности решетке смањује њен удео у ношењу оптерећења, а удео кости повећава.



Слика 85. Смањење дужине дефекта d при дејству аксијалне силе интензитета 20N, у зависности од угла решетке скафолда α , за три различита материјала скафолда

На слици 86 приказано је поље еквивалентног напона на ASLS за три различита угла решетке титанијумског скафолда. У сва три случаја максималне вредности напона далеко су мање од границе течења изабране легуре титанијума (950MPa).



Слика 86. Еквивалентни напон према хипотези Von Mises-a, за три различите вредности угла решетке титанијумског скафолда

Максималне вредности еквивалентног напона за све разматране углове и материјале решетке приказане су у табели 29. За дати интензитет оптерећења, уз избор адекватне легуре, границе течења свих материјала налазе се значајно

изнад напона добијених прорачуном. Стога се може закључити да се свака од разматраних варијанти решетке одликује и задовољавајућом структурном чврстоћом.

Табела 29. Максималне вредности еквивалентног напона на решетки

Максимални еквивалентни напон на решетки [МПа]			
Материјал решетке	Угао решетке		
	32°	52°	72°
титанијум	26.87	26.03	29.62
хидроксиапатит	25.03	25.76	31.53
магнезијум	17.39	20.68	24.21

Приказани резултати анализе напонско-деформационог стања склопа сегмента тибије куниха и ASLS потврђују да је једноставном променом конструктивних параметара и материјала ASLS могуће утицати на крутост његове структуре. Стога се може закључити да је при употреби ове врсте скафолда једноставно извршити хармонизацију његових механичких карактеристика са механичким карактеристикама околног коштаног ткива, спрам различитих захтева (ортопедских, биомеханичких, биолошких). При томе се показало и да је структурна чврстоћа скафолда, за сваку од изабраних вредности конструктивних параметара и параметара материјала, већа од минимално потребне, на основу чега се може претпоставити да исто важи и за друге сличне случајеве примене ASLS.

5 ПОТЕНЦИЈАЛНЕ ТЕХНОЛОГИЈЕ ЗА ИЗРАДУ ASLS

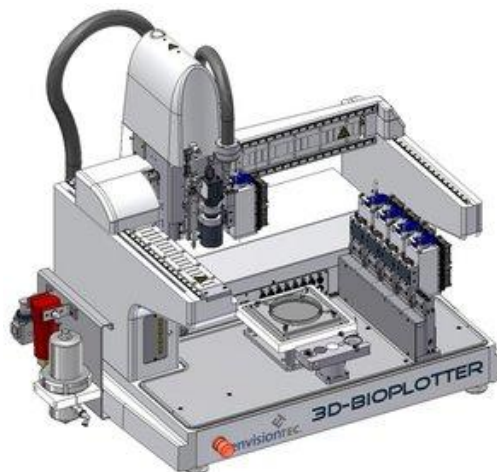
Узимајући у обзир могућности различитих адитивних технологија спрам комплексности геометрије скафолда, доступности одговарајућих биокompatibilних и биоразградивих, комерцијалних материјала које је могуће користити за израду ASLS-а на њима, као и многих других параметара процеса избор адитивних технологија за израду ASLS се свео на 3 потенцијалне технологије:

1. 3D биоplotер,
2. Direct Metal Laser Sintering (DMLS),
3. Electron Beam Melting (EBM).

5.1 ОПИС И КАРАКТЕРИСТИКЕ ИЗАБРАНИХ АТ

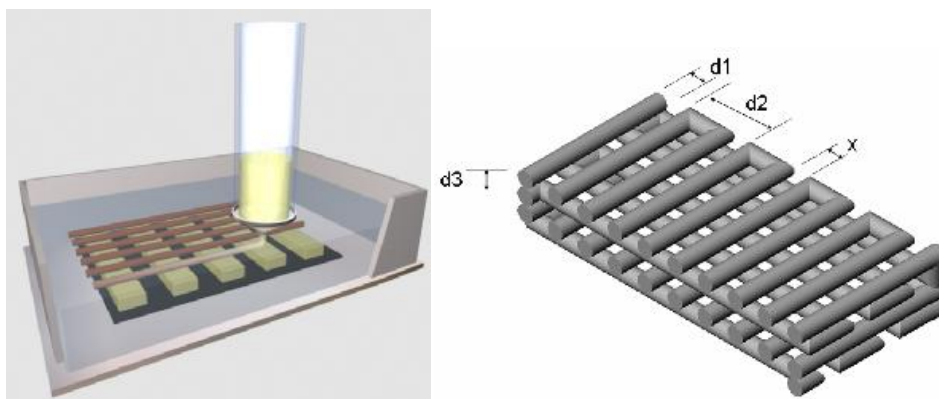
5.1.1 3D БИОПЛОТЕР

Биоплотер се појавио 1999. године као једно од решења за рачунаром подржан ТЕ. Биоплотер је 2.5D контролисана нумеричка машина која представља одређену врсту FDM-а, где се материјал наноси депоновањем пасте из дозера. Ова технологија је настала у Frieberg истраживачком центру, у сарадњи са Envisiontec фирмом, са циљем производње структура скафолда од различитих биохемијских материјала. 3D биоplotер (сл. 87) је пројектован са јединственом способношћу да плотује и биолошке ћелије, што га издваја од осталих постојећих комерцијалних система.



Слика 87. 3D Bioplotter

Најважнија компонента система је диспензер (дозер) који је покретан у сва три правца. Контролом притиска у дозери контролише се количина материјала која се депонује из њега на медијум за плотовање. Објекти се граде наношењем и очвршћавањем нити материјала по слојевима (сл. 88), чија се оријентација може мењати контролом кретања бризгачке.



Слика 88. Шематски приказ процеса 3D биоплотованња, изградња првог слоја (лево); дизајн (пројектовање) порозног 3D скафолда уз помоћ процеса 3D биоплотованња (десно)

Обрада CAD података и процес контроле машине се врши уз помоћ специфичног (CAD/CAM) софтвера.

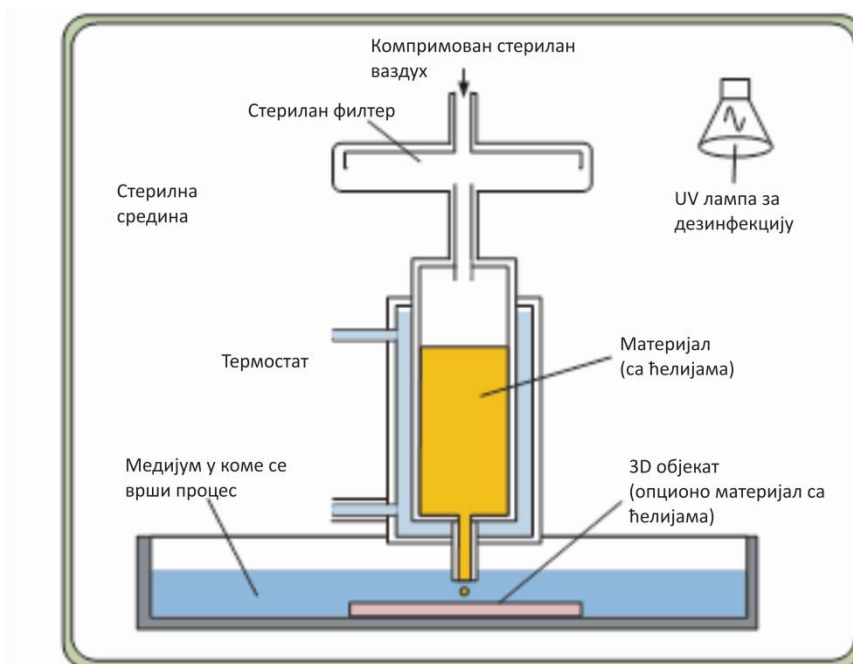
Основне карактеристике овог система су:

- 3-осно позиционирање са системом за аутоматску измену алата,
- 5 различитих кертриџа могу да се користе у току израде истог посла,
- контрола пречника гредица преко повратне информације камере високе резолуције,
- постојање примарног филтера и стерилног филтера,
- висока температура главе за наношење (до 250°C),
- ниска температура главе за наношење (~ 2°C до 70°C),
- систем кертриџа једноставан за употребу и лак за чишћење,
- кориснику прилагођен и интуитиван CAD/CAM пакет.

Спецификације биоплотер система су дате у табели 30.

Процес 3D биоплотованња

Као и код других АТ, улаз у процес је 3D геометријски дигитални модел објекта који се израђује (сл. 89).



Слика 89. Процес 3D биоплотованња

Ови модели се могу добити пројектовањем у било ком комерцијалном 3D CAD софтверу или из података добијених путем различитих сликовно дијагностичких метода. Увоз података се врши помоћу специјализованог CAD CAM софтвера PrimCam.

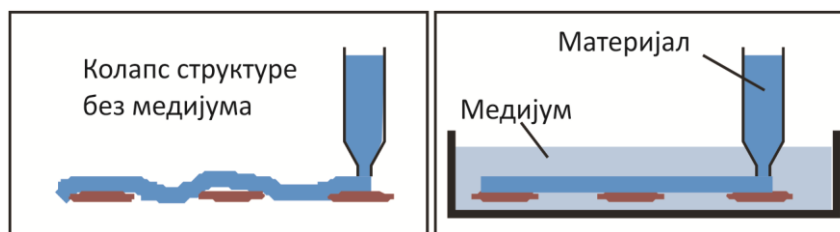
PrimCam је софтвер, дизајниран посебно за овај систем, који омогућава корисницима да калибришу машину и врше контролу процеса. Корисници могу да врше подешавање машине и параметара процеса ручно или аутоматски. Две кључне функције софтвера омогућавају избор путање за наношење објекта у слојевима и симулацију процеса наношења, који се могу проверити пре почетка процеса.

Процес наношења пасте (смеше) започиње преузимањем (шаржирањем) кертриџа⁷ са одговарајућим материјалом и стезањем у систем дозера. Материјал за плотовање се потом истискује кроз малу диспензиону иглу пречника око 80 μm у медијум за плотовање.

Медијум за плотовање има две врло важне улоге у процесу плотовања.

Прва је то што омогућава очвршћавање смеше кроз одређене хемијске реакције, која се остварује у додиру са медијумом за плотовање. Многим материјалима су неопходне супстанце за повећање брзине очвршћавања. Очвршћавање материјала зависи од материјала, медијума и контроле температуре. Контрола температуре је неопходна како би се обезбедило очвршћавање између материјала за плотовање и медијума за плотовање. При очвршћавању загревањем, кертриџи за складиштење се могу загревати до 230 °C док се радна платформа може загревати до 100 °C.

Друго, медијум за плотовање делује силом потиска и има улогу да спречава колапс тј. урушавање структуре скафолда (сл. 90). Обично, када се материјал наноси без медијума, гравитација доводи до колапса скафолда са комплексном (решеткастом) архитектуром (сл. 90). Материјал медијума за плотовање се бира на основу материјала од кога се израђује скафолд.



Слика 90. Процес без и са медијумом за плотовање

Високотемпературне полимерне растопине се могу плотовати на стаклу уз помоћ инертних гасова или ваздуха (сл. 91). Такође, одређен течни медијум за плотовање, густине која се подудара са густинама материјала за плотовање, може бити изабран да обезбеди ослонац слојевима који се израђују, тако да меке гредице остају у правилном положају, уместо да се опусте услед гравитационе силе. То чини ову технологију јединственом, јер омогућава израду 3D скафолда од хидрогелова у директном процесу плотовања, без употребе калуца.

⁷ Овај помоћни захват одговара захвату узимања алата из магацина алата код НУМА.



Слика 91. а) скафолд израђен коришћењем ваздуха као медијума;
б) скафолд израђен коришћењем воде као медијума

Производња или процес наношења може да се обавља у стерилном окружењу када су живе ћелије укључене у материјал за плотовање.

Табела 30. Техничке карактеристике 3D биоплотер система

Модел	Bioplotter
Димензије машине $L \times W \times H$	976 × 623 × 773 mm
Радни простор $X \times Y \times Z$,	300 × 300 × 130 mm
Резолуција у $X/Y/Z$,	0.001 mm
Главе за дозирање наношење	1(2. опционо)
Процес наношења	Притисак током времена
Брзина наношења $X/Y/Z$	0,1-150 mm/s
Млазница за наношење	Стандардна, пречника 0.1-2 mm
Загревање кертрица	Собна температура – 210°C
Тежина	80 kg
Притисак	Систем захтева притисак од 6 bar -8 bar
Минимални пречник гредица	0.100 mm
Резолуција сензора млазнице, z	0.001 mm
Резолуција камере X,Y	0,009 mm/pixel

Материјали

3D биоплотер има најшири избор материјала од било које друге АТ. Материјали који се обрађују на овој машини обухватају природне и термопластичне полимере, реактивне смоле и живе ћелије. Машина може обрађивати полимерне растопе до 250°C (на пример PLLA, PLGA, PCL), силикон, као и већину хидрогелова (колаген, фибрин, алгинате, агарозе). Такође, ћелије могу бити укључене у хидрогелове, што омогућава директно штампање ћелија.

Могуће је коришћење керамичких материјала мешањем керамичких прахова (на пример трикалцијум фосфата или HA) са везивним средством, чиме се стварају

пасте. Синтеровањем финалних делова у пећи, уклања се везивно средство и спајају керамичке честице.

Комбинације материјала су такође могуће (могу се мешати на пр. НА или TCP са PLLA). У случајевима када се прах комбинује са другим материјалом, мора се обезбедити да величина честица буде равномерно мала. Велике честице или конгломерати могу да блокирају танке врхове игала.

5.1.2 DMLS

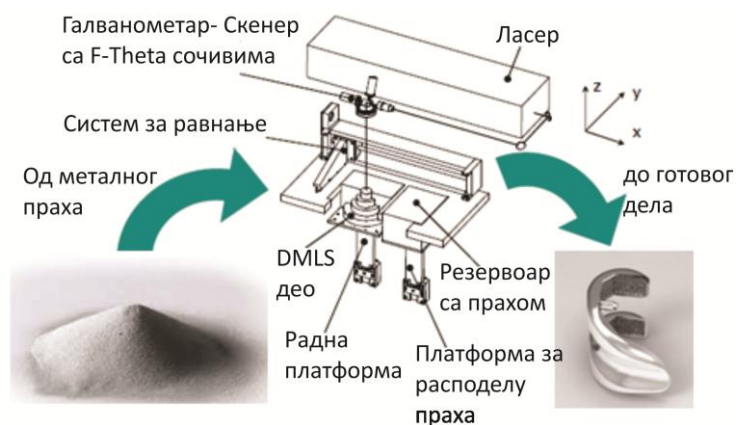
Технологија под називом директно ласерско синтеровање метала (енг. Direct Metal Laser Sintering - DMLS), је развијена од стране EOS компаније. Слично SLS-у, омогућава брзу производњу сложених облика 3D делова директно из металног праха. Метални прах је без везива (код SLS технологије, полимерна везива се мешају са металним прахом, чиме се добија полупроизвод који као такав мора да иде на спаљивање везива у пећима и инфилтрацију бронзом да би се добила пуна густина материјала). У тачкама које одговарају попречном пресеку модела материјал се потпуно топи снопом ласера велике снаге, изграђујући тако део који има својства оригиналног материјала. Овом технологијом се добијају делови са хомогеном структуром, без потребе за секундарним процесом синтеровања и сагоревања у пећи, чиме се знатно скраћује време израде.

Принцип рада DMLS

Процес DMLS почиње на исти начин као и друге технологије за адитивну производњу припремом 3D модела који се у STL формату учитава у DMLS машину. DMLS машина користи снажан Yb ласер на бази оптичких влакана од 200W. Унутар радног простора машине су, платформа за дозирање прашкастог материјала, платформа за израду дела, као и оштрица превлакача система за равнање која служи за подједнаку расподелу новог слоја праха преко радног постоља за израду (сл. 92). При тој расподели, вишак металног праха пада у колектор.

DMLS технологија спаја честице металног праха у физички чврст део помоћу топлотне енергије ласера, топећи га локално, уз помоћ фокусираног ласерског снопа. Делови се изграђују адитивно, слој по слој, користећи слојеве дебљине од 20 -80 μm . Овај процес омогућава израду веома сложених геометрија, директно из 3D CAD модела, потпуно аутоматски. DMLS је процес који омогућава производњу делова са великом тачношћу и резолуцијом детаља, добрим квалитетом површина и одличним механичким својствима.

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива



Слика 92. Шема DMLS процеса

EOSINT M280 (сл. 93) је најновији систем који је тренутно доступан на тржишту, чије се карактеристике могу видети у табели 31.



Слика 93. Систем EOSINT M 280

Табела 31. Техничке карактеристике EOSINTM 280 машине

Најважнији параметри машине	Вредности
Максималне димензије модела који се израђује	250×250×325 mm (укључујући радну платформу)
Брзина израде тј брзина кретања ласерског зрака по површини материјала (зависи од материјала)	2 – 20 mm/s
Дебљина слоја (зависи од материјала)	20 - 100 μm
Тип ласера	Y6 fiber ласер 200 W или 400 W
Прецизна оптика	F-theta-lens, скенер велике брзине
Брзина скенирања (максимална)	7.0 m/s

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

Најважнији параметри машине	Вредности
Променљив пречник снопа	100 - 500 μm
Извор напајања	32 А
Нитроген генератор	Стандардан
Димензије система	2200×1070×2290 mm
Препоручене инсталације	простор 4.8×3.6×2.9 m (B × D × H)
Тежина	1250 kg
Припрема података	
CAD interfejs	STL. опциони конвертер за све стандардне формате

Биокомпатибилни DMLS материјали

Механичке карактеристике EOS материјала које се најчешће користе у биомедицинским апликацијама су дате у табелама 32-35.

Табела 32. EOS Механичке карактеристике материјала CobaltChrome MP1

Механичка својства на 20°C	Типична	Након жарења на 1150°C у трајању од 6 сати
Граница еластичности (Rp 0,2) - у хориз. правцу - у верт. правцу	950 MPa ± 100 MPa 800 MPa ± 100 MPa	600 MPa ± 50 MPa 600 MPa ± 50 MPa
Затезна чврстоћа (Rm) - у хориз.правцу - у верт. правцу	1200 MPa ± 150 MPa 1200 MPa ± 150 MPa	1100 MPa ± 100 MPa 1100 MPa ± 100 MPa
Издужење код лома - у хориз.правцу - у верт. правцу	мин. 8% мин. 8%	мин. 20 % мин. 20 %
Тврдоћа (DIN EN ISO 6508-1)	35 - 45HRC	Тврдоћа (DIN EN ISO 6508-1)
Модул еластичности - у хориз.правцу - у верт. правцу	200±20 GPa 190±20 GPa	200±20 GPa 200±20 GPa

EOS Titanium TiCP је комерцијално чист прах титанијума (99.67% Ti). Овај добро познати метал карактеришу дуктилност, отпор на корозију у комбинацији са ниском специфичном тежином и одлична биокомпатибилност.

Табела 33. Механичке карактеристике материјала EOS Titanium TiCP

Материјал	EOS Titanium TiCP
Граница еластичности (Rp 0,2)	370 МПа ± 10 МПа
Затезна чврстоћа (Rm)	455 МПа ± 10 МПа
Тврдоћа	45 HRC
Издужење код лома	19% ± 1%
Модул еластичности	95G Па ± 10 GPa

Табела 34. Механичке карактеристике EOS Titanium Ti64

Материјал	EOS Titanium Ti64
Граница еластичности (Rp 0,2)	1090 МПа ± 70 МПа
Затезна чврстоћа (Rm)	1180 МПа ± 100 МПа
Тврдоћа	41 HRC – 44 HRC
Издужење код лома	5% ± 3%
Модул еластичности	120 GPa ± 20 GPa

Табела 35. Механичке карактеристике материјала EOS Titanium Ti64 ELI

Материјал	EOS Titanium Ti64 ELI
Граница еластичности (Rp 0,2)	1000 МПа ± 50 МПа
Затезна чврстоћа (Rm)	1100 МПа ± 50 МПа
Тврдоћа	34.5 HRC ± 0.2 HRC
Издужење код лома	11% ± 1%
Модул еластичности	107 GPa ± 5 GPa

Овде је велика пажња посвећена квалитету површине тј. максималном смањењу потребе за додатном обрадом. У складу са тиме израђен је аутоматски систем за третман површина назван *Micro Shot Peening*. У већини случајева калупи израђени DMLS технологијом се могу користити већ након микро сачмарења овим третманом.

2002. године представљен је метални прах који омогућава израду модела са дебљином слоја од 20 μm . Најновија машина која користи ову технологију има могућност подешавања опције селективног ласерског топљења или опције синтеровања, и прва је машина за синтеровање/топљење која користи чврсти ласер.

5.1.3 ЕВМ ТЕХНОЛОГИЈА

ARCAM је развио јединствену АТ за директну производњу делова пуне густине из металног праха. Овом технологијом се израђују делови из слојева, а заснива се на топљењу металног праха уз помоћ енергије електронског снопа (енг. Electron Beam Melting - EBM).

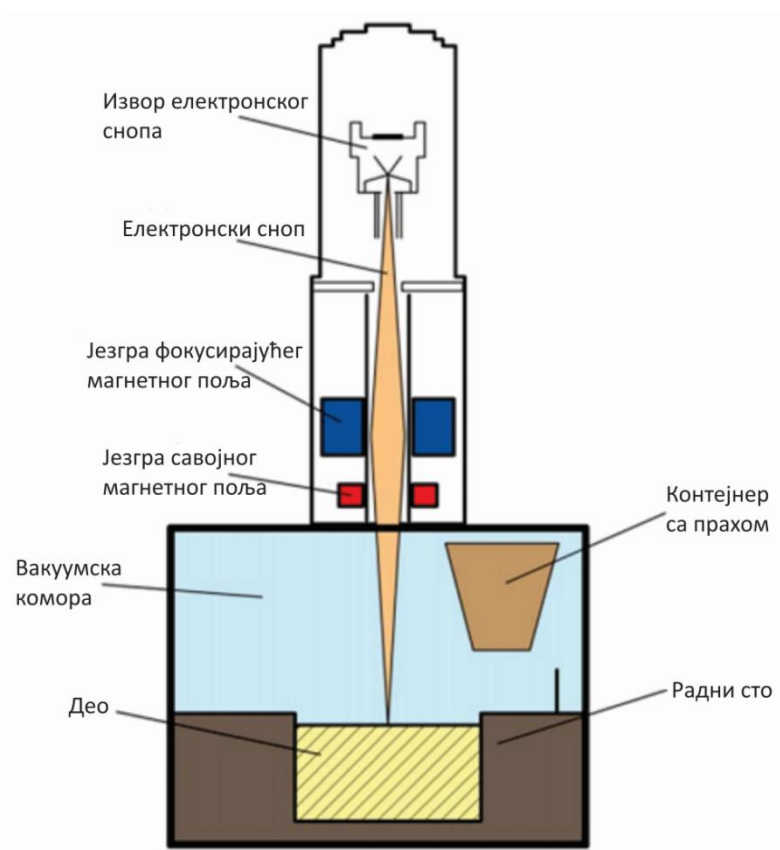
Процес израде

Као и код других АТ и ЕВМ започиње са 3D CAD датотеком објекта који се израђује.

Код ЕВМ процеса електрони се емитују из филамента (нити) волфрама који се загрева на температуру од око 2600°C (сл. 94).

Електрони се затим убрзавају преко аноде до брзине која одговара половини брзине светлости. Систем за усмеравање електронског снопа користи 2 магнетна поља за усмеравање електронског снопа. Једно магнетно поље доводи зрак у фокус, док друго магнетно поље контролише скретање зрака.

Сноп електрона машине се усмерава тако да изшрафира пресек првог слоја. Када сноп високе енергије удари у прах кинетичка енергија се претвара у топлотну и топлота топи прах. Снага се контролише променом количине кретања електрона у снопу и њихове брзине).



Слика 94. ЕВМ процес

Када је први слој завршен, платформа се спушта за дебљину једног слоја и наноси се нови слој металног праха преко њега. Поново, према пресеку, сноп електрона топи други слој. Нови слој металног праха се затим наноси на њега и тако редом. Овај процес се одвија континуирано све док се не истопе сви слојеви и изради цео део. Овако израђени делови се хладе у вакууму или хелијумској атмосфери и чисте од преосталог праха пескарењем уз помоћ истог праха који се користи у процесу израде. На тај начин се уклоњен прах може поново користити, након просејавања, у новом процесу.

Процес топљења се одвија у вакууму (на 10^{-4} , -10^{-5} mbar), што га чини погодним за израду делова од материјала са високим афинитетом према кисеонику, као што је титанијум, чија се својства мењају са порастом садржаја кисеоника, омогућавајући првокласне карактеристике с механичког и хемијског становишта. Вакуум обезбеђује високу чистоћу материјала, што је императив у производњи имплантата, одржава хемијски састав материјала и пружа одличне услове за израду делова од реактивних материјала. Комбинација вакуума и извора енергије велике снаге обезбеђује високу чврстоћу материјала. Велика снага електронског снопа обезбеђује високу стопу таложења и подједнаку расподелу температуре унутар дела, што даје потпуно истопљени метал са одличним механичким и физичким карактеристикама.

Дакле, делови произведени ЕВМ технологијом имају задовољавајући хемијски састав, материјал пуне густине са фином микроструктуром, високу жилавост и добре карактеристике на замор.

Топљени материјал је од чисте легуре (без пунила). ЕВМ процес функционише на повишеној температури, обично између 700 и $1\ 000^{\circ}\text{C}$, производећи делове који су практично без резидуалног напона. Тај аспект даје предност ЕВМ технологије у односу на многе друге АТ код којих је потребна термичка обрада након израде.

Arcam A1 (сл. 95) је систем, који је првенствено намењен медицинској индустрији тј. изради ортопедских имплантата, чије су спецификације дате у табели 36.



Слика 95. Arcam A1 систем

Табела 36. Карактеристике Arcam A1 система

Машина	Arcam A1
Максималне димензије модела који се израђује	200×200×180 mm
Модел/део тачност на 100 mm	+/-0.20 mm
Модел/део тачност на 10 mm	+/-0.13 mm
Квалитет површине (вертикално и хоризонтално)	Ra25/Ra35
Снага снопа	50-3000 W
Величина тачке снопа	0.2 mm - 1 mm
Брзина скенирања	до 8000 m/s
Стопа израде (топљења)	55/80 cm ³ /h (Ti6Al4V)
Број тачака снопа	до 100
Хлађење	Активно
Вакуумски притисак	< 1×10 ⁻⁴ mbar
Систем	1850×900×2200 mm
Тежина	1420 kg
CAD interfejs	STL

Биокомпатибилни ЕВМ материјали

Велика чврстоћа, мали однос тежине и изванредно својство отпора на корозију титанијума и његових легура довело је до широког и разноврсног спектра

успешних апликација које захтевају висок ниво поузданости рада у хирургији и медицини. Механичке карактеристике најчешће коришћених ЕВМ биоматеријала дате су у табелама 37-40.

Табела 37. Механичка својства Arcam Grade 2 титанијум

Материјал	Arcam Grade 2 титанијум типична	Titanium Grade 2 титанијум, захтевана*
Граница еластичности (Rp 0,2)	540 МПа	275 МПа
Затезна чврстоћа (Rm)	570 МПа	345 МПа
Издужење	21%	>20%

*ASTM F67 (Нелегирани титанијум за хируршке имплантатске примене)

Табела 38. Механичка својства легуре титанијума Ti6Al4V

Материјал	Arcam Ti6Al4V	Ti6Al4V * типично захтевана	Ti6Al4V ** захтевана
Напон течења (Rp0,2)	950 МПа	758 МПа	860 МПа
Затезна чврстоћа (Rm)	1020 МПа	860 МПа	930 МПа
Издужење	14%	>8%	>10%
Тврдоћа	33 HRC		
Модул еластичности	120 GPa		

*ASTM F1108 (ливени материјал), **ASTM F1472 (ковани материјал)

Табела 39. Механичка својства легуре титанијума Ti6Al4V ELI

Материјал	Arcam Ti6Al4V ELI*	Ti6Al4V ELI ** захтевана
Напон течења (Rp 0,2)	930 МПа	795 МПа
Затезна чврстоћа (Rm)	970 МПа	860 МПа
Издужење	16%	>10%
Тврдоћа	32 HRC	30 HRC –35 HRC
Модул еластичности	120 GPa	114 GPa

* Типична, ** ASTM F136

Механичка својства материјала, произведеним ЕВМ поступком, су слична кованим и жареним материјалима и боља су од ливених материјала.

Нелегирани, комерцијално чист (CP) титанијум је доступан са четири различита квалитета, 1, 2, 3 и 4 који се дају на основу отпора на корозију, дуктилности и

потребне чврстоће за специфичне апликације. Квалитет 1 има највећу обрадивост, док квалитет 4 има највећу чврстоћу и умерену обрадивост.

Arcam Titanium Grade 2 је доступан у облику праха са величином честица између 45 и 100 μm .

Ti6Al4V је најчешће коришћена легура титанијума. Поседује добру обрадивост и одлична механичка својства.

Ti6Al4V ELI (Grade23) је веома слична легури Ti6Al4V (Grade 5), osim što Ti6Al4V ELI садржи смањен ниво кисеоника, азота, угљеника и гвожђа. ELI је скраћеница за "extra low interstitial" што побољшава дуктилност и жилавост лома.

Што се тиче легура кобалта, ЕВМ технологија се такмичи директно са прецизним ливењем и омогућава производњу сложених делова од легура кобалта.

CoCrMo легуре се користе у медицинској протетици и за израду одређених имплантата. Легуре се посебно користе када су потребни материјали са великом чврстоћом, високо полирани и изузетно отпорни на хабање.

Табела 40. Механичка својства ASTM F75 CoCr легура

Материјал	Агсам, након израде	Агсам након термичке обраде *	ASTM F75-07, захтевана
Напон течења Rp 0,2		560 МПа	450 МПа
Затезна чврстоћа Rm		960 МПа	655 МПа
Тврдоћа	47 HRC	34 HRC	25–35 HRC

5.2 ИЗРАДА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИХ УЗОРАКА ASLS ИЗАБРАНИМ ТЕХНОЛОГИЈАМА

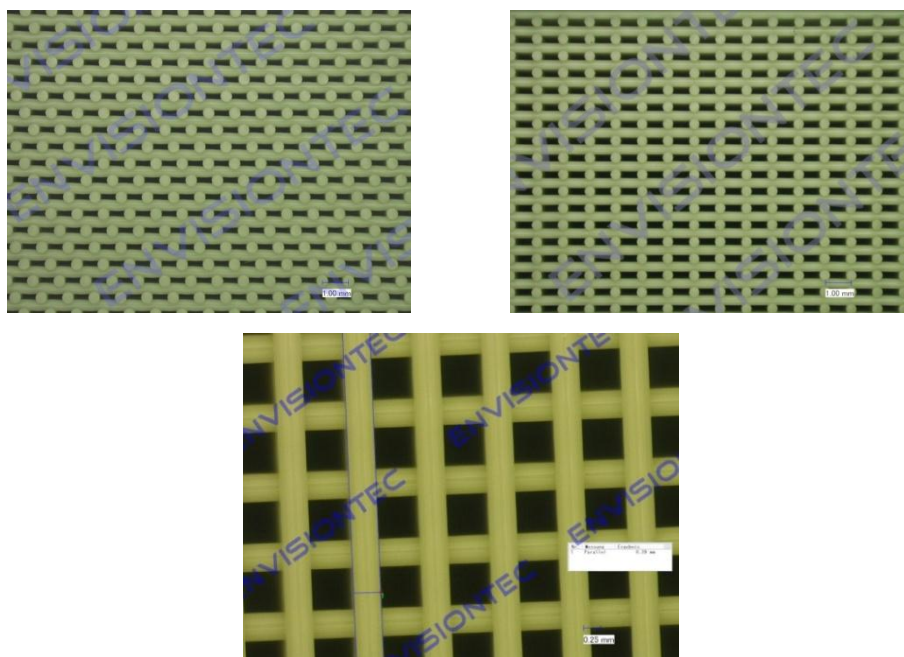
Овај део обухвата опис процеса израде ASLS изабраним АТ (3D биоплотер, DMLS и ЕВМ).

5.2.1 ИЗРАДА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИХ УЗОРАКА ASLS НА 3D БИОПЛОТЕРУ

Процес израде пробних узорака ASLS помоћу биоплотера се показао прилично комплексним. Наиме, успоставило се да је, за разлику од стандардних АТ, 3D биоплотеру потребан STL модел запремине у којој је смештен објекат који се израђује, након чега се, коришћењем параметара дефинисаних у управљачком софтверу, формира сложена унутрашња геометрија. Моделе са пројектованом

унутрашњом архитектуром (са дефинисаним позицијама гредица) ван софтвера машине није могуће учитати у контролни софтвер. Корисник моделира запремину у којој се налази објекат (без унутрашње структуре) и дефинише "правила" за унутрашњи образац, а софтвер 3D-биоплотера аутоматски распоређује гредице по запремини.

Примери стандардних шаблона који се израђују на биоплотеру су приказани на слици 96.

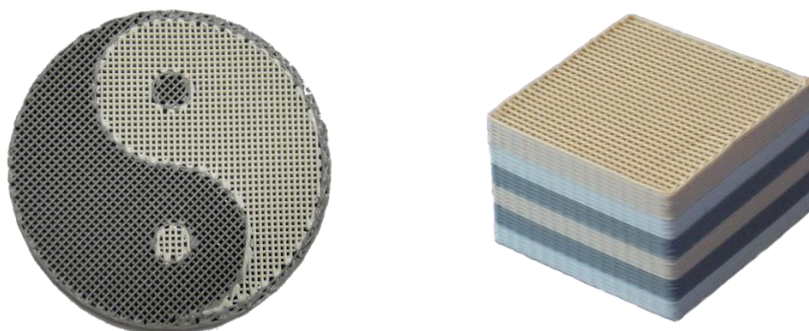


Слика 96. Примери шаблона израђених на биоплотеру

Унутрашњи образац објеката утврђује се у контролном софтверу 3D-биоплотера прилагођавањем следећих параметара:

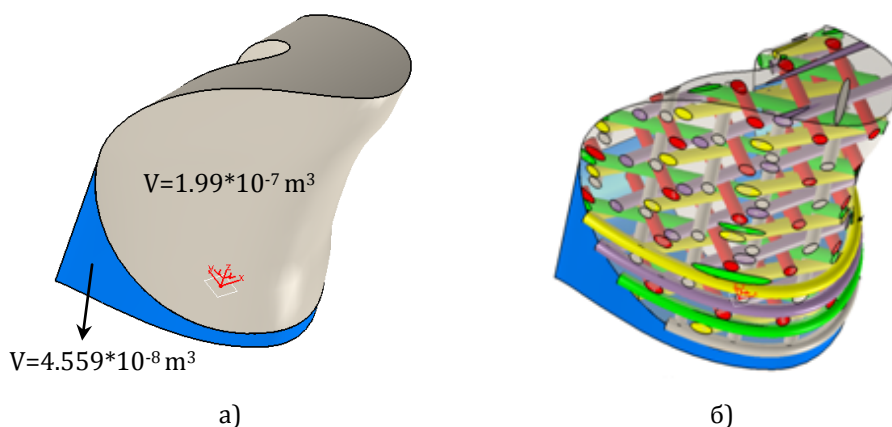
- Удаљеност између центара сваке од гредица,
- Пречник гредица,
- Промена угла из једног слоја ка следећем (уобичајено 90 °, али може бити сложенији),
- Фазни помак како у X тако и у Y правцу (који чини степенасто nanoшење).

Приликом плотовања могуће је користити више различитих материјала (сл. 97).



Слика 97. Могућност коришћења различитих материјала при изради објекта

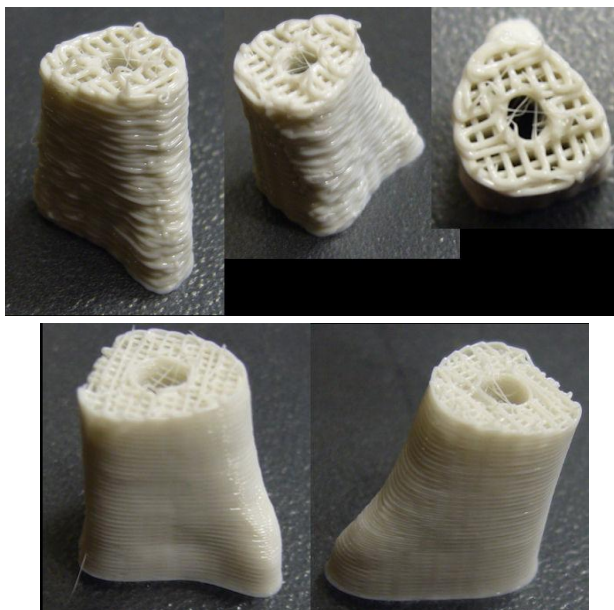
Првобитно замишљено хеликоидно ређање попречних гредица (тј. првобитно пројектовани модел ASLS) сл. 78) је било немогуће израдити на биоплотеру. Показало се неопходним да се прилагоди дизајн ASLS тј. да се изради специфична варијанта геометрије ASLS за израду на биоплотеру (сл. 80).



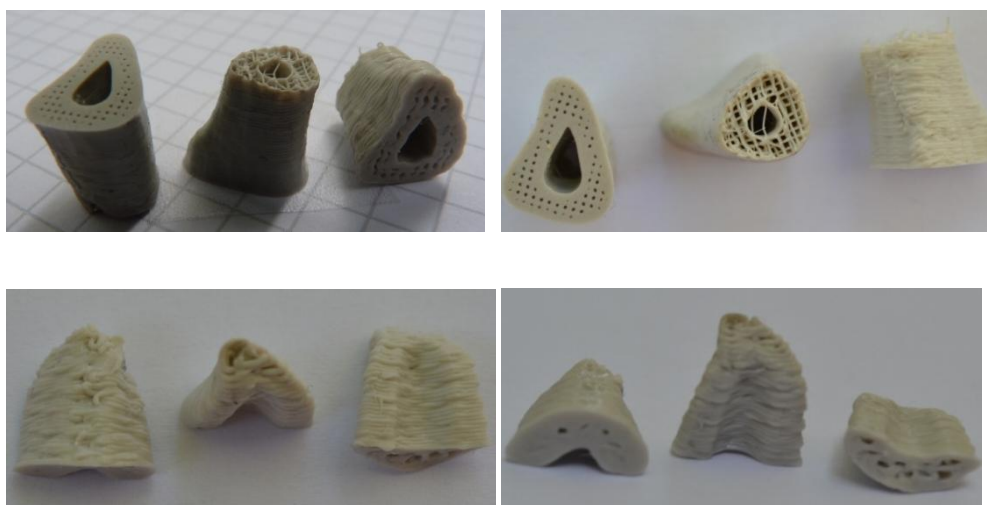
Слика 98. Модел прилагођен захтевима биоплотера

Након тога, због специфичности самог биоплотера потребно је било припремити STL модел пуне запремине коју обухвата овако прилагођен ASLS, сл. 98-а и дефинисати правила за израду унутрашњег обрасца ASLS у контролном софтверу биоплотера.

Први покушаји израде тј. пробни узорци ових варијанти модела који су израђени од силикона на биоплотеру приказани су на сликама 99 и 100.



Слика 99. Први пробни узорци модела израђени од силикона са дебелином слоја од 400 µm (горе) и 200 µm (доле)



Слика 100. Израда пробних узорака скафолда од силикона

Када је у питању иницијална количина материјала која је потребна за израду тест модела, правилних геометријских облика (као што су на пример мали узорци облика коцке (10×10×10 mm) од биокompatибилних прашкастих материјала, показало се да је потребно најмање 20 g материјала, како би имало довољно материјала за тестирање и обраду параметара пре изградње дела.

Количина материјала која је неопходна за израду веома комплексних делова, варира од модела до модела.

Што је мања величина честица, могу се направити мање гредице. За величину честица се препоручује најмање 1/4 потребне величине гредица, што значи да за гредице пречника 200 μm апсолутна максимална величина честица би требало да буде 50 μm . Ограничење у погледу минималне величине честица не постоји у овом процесу.

Када се за израду делова користе керамичке честице, у циљу њихове припреме за процес израде, оне се мешају са одговарајућим везивним средством, на пример са метил целулозом, у пасту која се затим плотује у 3D објекат. Израђен тзв. зелени део се затим термички третира у пећи на око 1000°C или више да би се потпуно уклонило везивно средство и синтеровало керамички материјал. Микро порозност финалног производа дуж гредица, је директно повезана са величином честица објекта, као и са мешавином керамичког праха и везивног средства.

Материјал који је изабран за израду тест узорака ASLS је HA.

Оно што је врло важно и неопходно за успешан процес израде делова је проналажење адекватне комбинације везивног средства за керамички прах. Уједно је овај корак и најзахтевнији и најкомплекснији задатак у целом процесу.

Након дуготрајних испитивања пронађено је везивно средство које пружа добру мешавину материјала (3 wt% поливинил алкохола раствореног у DW (дестилованој води) за 45 минута на 70°C уз чврсто мешање). Веће концентрације везивног средства са HA материјалом су показале стварање превише вискозне пасте са лепљивом текстуром, која се не може обрађивати помоћу 3D биоплотера.

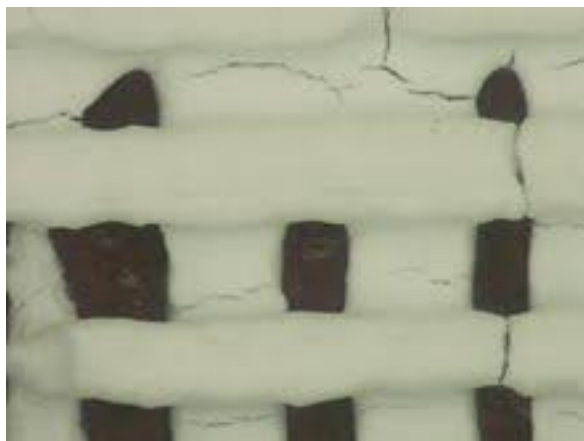
Коришћење 3% мешавине везивног средства са HA материјалом као 50/50% тежинске мешавине дало је добру мешавину пасте. Материјал је просејан кроз метално сито са порама величине 100 μm да се уклоне сви конгломерати.

Тестирано је неколико радних температура материјала за плотовање. Температура од 5°C је била сувише хладна а 27°C је била превише топла. Температура од 10°C је дала добар вискозитет пасте.

Паста са овом мешавином и на овој температури се показала једноставном за коришћење, са веома ретким случајевима зачепљење млазнице. После сушења, на собној температури, узорци направљени од овог материјала су се показали стабилним, што је омогућавало уклањање са платформе и адекватно руковање њима у процесу припреме за синтеровање.

Нажалост, временом, материјал није био довољно стабилан на собној температури. То значи да су се током времена гредице деформисале, урушавале тј. падале на претходне слојеве.

Појавиле су се пукотине на осушеним деловима (сл. 101), које су индикатор скупљања материјала. За превазилажење овог проблема потребна је била нова мешавина 3% поливинил алкохола са 60 или 70% керамике, уместо дотадашњих 50%.



Слика 101. Појава пукотина на осушеним узорцима

Накнадно је припремљено још неколико смеша и израђено на десетине делова коришћењем различитих параметара. На крају се најприхватљивијом показала мешавина од 50% HA 50% PVA раствора (3% у DW).

Порозност у унутрашњости гредица је била веома висока и неопходно ју је било смањити за наставак ове студије. За то је било потребно третирање израђених "зелених делова" у пећи на најмање 1100°C, са веома спорим повећањем и смањењем температуре (најмање 12 сати загревања, 6 сати на 1100°C и најмање 24 сати хлађења).

Приказ узорака које је било могуће израдити од поменуте смеше на биоплотеру дат је на слици 102.



Слика 102. Узорци ASLS израђени на биоплотеру

Добијени узорци показују да је биоплотер није у стању да испрати чак ни геометрију прилагођених, упрошћених модела ASLS.

Иако је неоспорна предност биоплотера могућност коришћења различитих биоразградивих материјала показало се да израда модела сложених форми на њему представља проблем. Наиме немогућност учитавања STL модела скафолда сложене унутрашње архитектуре у биоплотер и ограничене могућности самог софтвера биоплотера у погледу дефинисања унутрашњег обрасца тј. правила за дефинисање унутрашње архитектуре, ограничавају израду скафолда на структуре које престављају само варијанте стандардних шаблона прилично једноставних геометрија. Велики проблем је и избор материјала или комбинације материјала као и одговарајућег везивног средства који би омогућили израду стабилних конструкција. Покушај израде мало сложенијих геометрија и ситних детаља или танких зидова се показао неуспешним.

Може се закључити да се комплексни објекти (слободних форми) и малих димензија не могу израдити на биоплотеру.

За сада је биоплотер једина комерцијална машина која има могућност израде делова од биоразградивих материјала. Као што се могло видети у прегледу истраживања постоје покушаји примене различитих комерцијалних АТ машина за производњу структура, прилично једноставне геометрије, од биоразградивих материјала, међутим то је још увек на нивоу експерименталних истраживања.

На тржишту још увек нема адекватне машине која је у могућности да направи адекватан скафолд од неметалних тј биоразградивих материјала.

5.2.2 ИЗРАДА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИХ УЗОРАКА ASLS DMLS ТЕХНОЛОГИЈОМ

DMLS технологијом су израђени узорци свих пројектованих варијантних решења скафолда (сл. 78 ($V=3.8 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3$), сл. 79 са варијантом где је угао између гредица 90° ($V=2.142 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3$) и сл. 80 ($V=7.1585 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3$)).

Узорци су рађени на најновијој EOSINT M280 машини од Ti легуре EOS Titanium Ti64, са дебљином слоја од 30 μm .

Показало се, да је за сваки од ових модела, неопходна израда носеће структуре и коришћење додатне опреме (brush recoater-a).

Наиме приликом израде структура са комплексном геометријом (које се одликују танким и витким елементима) постоји опасност стварања дефеката. Ту се пре свега мисли на некоректно грађене слојеве и појаве шупљина, као и напрснућа и ломова витких елемената структура. То се дешава у следећим ситуацијама:

1. Током дистрибуције честица, приликом наношења слојева праха, може се десити да честице, чији је пречник већи од дебљине слоја који се наноси, (а којих увек има у малим количинама у запремини праха) загну између рекоатера и солидификованих делова витких гредица. У таквој ситуацији постоји опасност да те честице праха изазову пластичну деформацију гредица или чак и лом
2. У другој ситуацији, приликом повратка рекоатера, може се десити да ове крупније честице, које се нађу на врху или ободу солидификованих гредица буду смакнуте са своје позиције и тиме узрокују појаву шупљина тј. дефеката у слојевима.

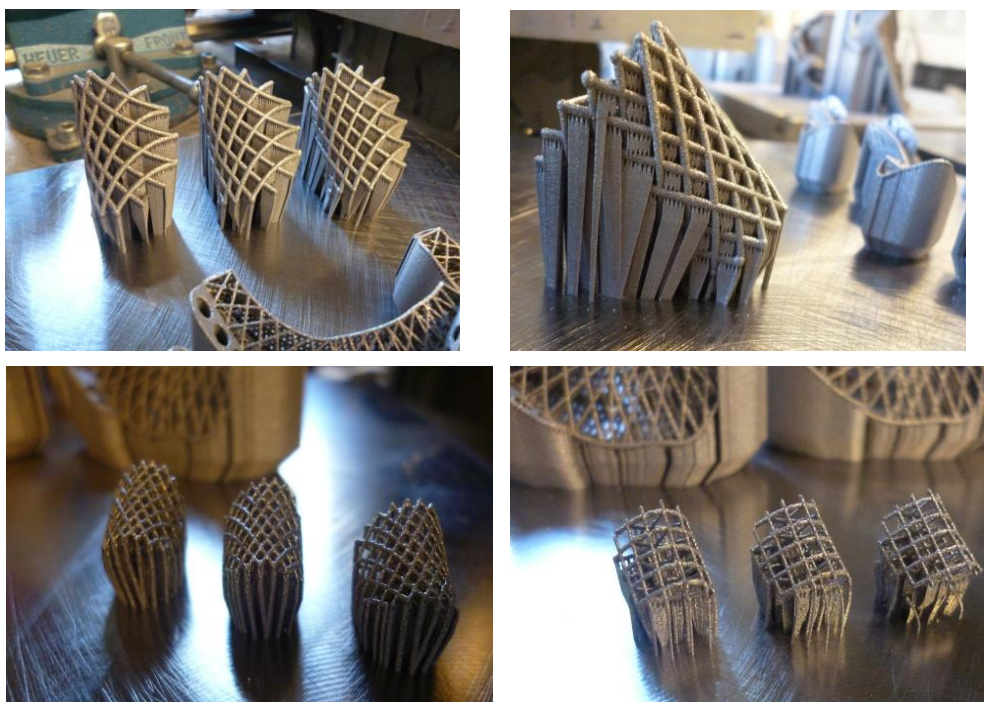
На чврстим деловима овај ефекат је могуће компензовати прилагођавањем параметара путање ласера у циљу добијања узорака пуне густине, али на решеткастим структурама ово прилагођавање није могуће.

Са друге стране (већ је поменуто) неопходно је коришћење додатне опреме тј, brush recoater-a (четкастог превлакача система за равнање праха) за израду ASLS. Коришћен је brush recoater од угљеничних влакана, који је, за разлику од других, погоднији за израду финијих тј. захтевнијих геометрија. Међутим ни код њега није могуће потпуно избећи хабање четки приликом дужег процеса наношења материјала.

Такође је важно напоменути да се код свих оваквих тзв. “soft recoating” технологија не може генерално гарантовати константна дебљина слоја и константна брзина наношења, па би их требало избегавати.

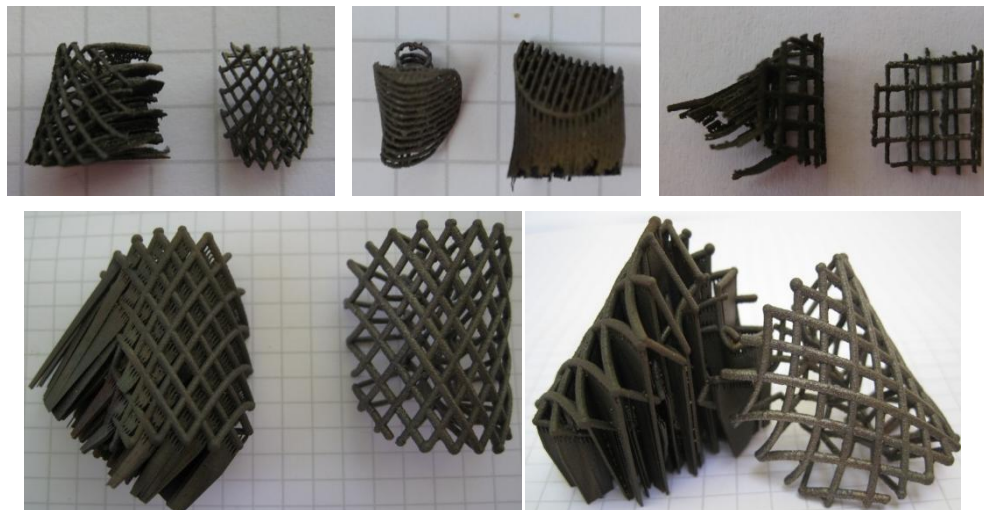
Алтернативно решење које нуде произвођачи система је оријентација елемената решеткасте структуре скафолда уз помоћ специјализованих софтвера за моделирање решеткастих структура према унапред дефинисаним просторним обрасцима. Тиме се смањује могућност појаве дефеката и урушавање структуре. Оваква интервенција, међутим, у потпуности компромитује намеру да се геометрија контролише спрам различитих захтева (ортопедских, механичких, биолошких).

За пробна тестирања су израђени узорци са јачом носећом структуром (сл. 103). Проблем који се јавио након израде истих је било уклањање носеће структуре. Наиме није било могуће уклонити структуру без оштећења ситних детаља на узорцима.



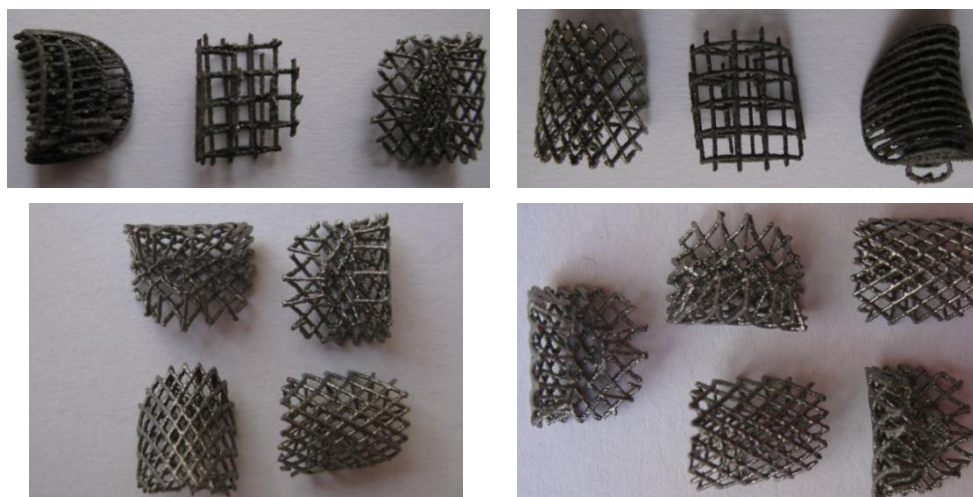
Слика 103. Пробни узорци ASLS са чврсто и јаком носећом структуром

Имајућу у виду недостатке израђених узорака, поново су израђени исти узорци али са значајно мекшом, слабијом носећом структуром (сл. 104).



Слика 104. Узорци различитих варијантних решења ASLS са слабом носећом структуром

Показало се да није било потребно променити количину носеће структуре него само тип експозиције (дужину експозиције) тј. дужине дејства ласерског зрака на материјал. При краћој експозицији структура постаје знатно порознија али ипак довољно чврста да пружа ослонац одређеним деловима у току процеса израде. На овај начин израђене носеће структуре је било могуће без проблема уклонити са израђених узорака (сл.105).



Слика 105. Узорци различитих варијантних решења ASLS након уклањања носеће структуре

Након израде узорака на машини било је неопходно пост-процесирање тј. додатна термичка обрада (каљење) ради ослобађања конструкције ASLS од заосталих напона.

За израду једног узорка ASLS (сл. 105) било је потребно 0.2 g материјала за узорак и додатна количина материјала (0.2 g) за носећу структуру док је време потребно за израду једног узорка 2h. Анализом добијених узорака може се закључити да израђене делове карактерише добар квалитет површина и велика тачност израде.

5.2.3 ИЗРАДА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИХ УЗОРАКА ASLS ЕВМ ТЕХНОЛОГИЈОМ

За израду узорака ASLS (на основу модела приказаног на сл. 78) ЕВМ технологијом (сл. 106), коришћена је легура Titanium Ti6Al4V на Arcam A1 машини.

Количина потребног материјала за израду једног дела је 0.2 g.

Узорци су израђени са дебљином слоја од 70 μm , док је просечно време израде једног дела 1h50'.

Показало се да ни за овако ситне делове, изузетно сложене геометрије, не постоји потреба за пост- процесирањем осим уклањања престалог праха.

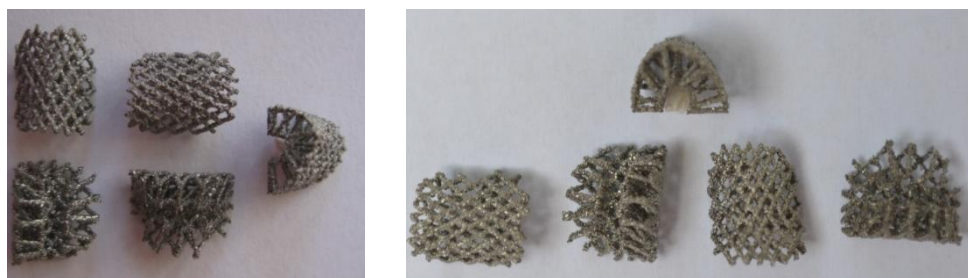
Чињеница да се ЕВМ технологија одвија на повишеној температури од око 650°C за Ti, обезбеђује му неколико предности. Израђени узорци су ослобођени од заосталих напона чиме се елиминише потреба за додатном термичком обрадом. Захваљујући високој температури израђени Ti6Al4V узорци имају такође исправну α/β микроструктуру, што додатно елиминише потребу за накнадном термичком обрадом.

Такође, повишена температура олакшава "одламање" тј. одвајање Ti делова од радне плоче (због разлике у топлотном коефицијенту), тако да није потребно ангажовати EDM ⁸одсецање да би се уклонили израђени делови са радне плоче.

Значајан пропратни ефекат ове високе температуре је да се неистопљени прах, који окружује регион пресека дела који се топи, благо синтерује и тако добија

⁸EDM- Electric Discharge Machining

улогу носеће структуре за део који се израђује. Ове благо синтероване везе се раскидају након завршеног процеса израде делова током чишћења делова, помоћу компресованог ваздуха у систему који се назива Powder Recovery System, након чега се несинтерован прах може поново рециклирати и користити у новом процесу.

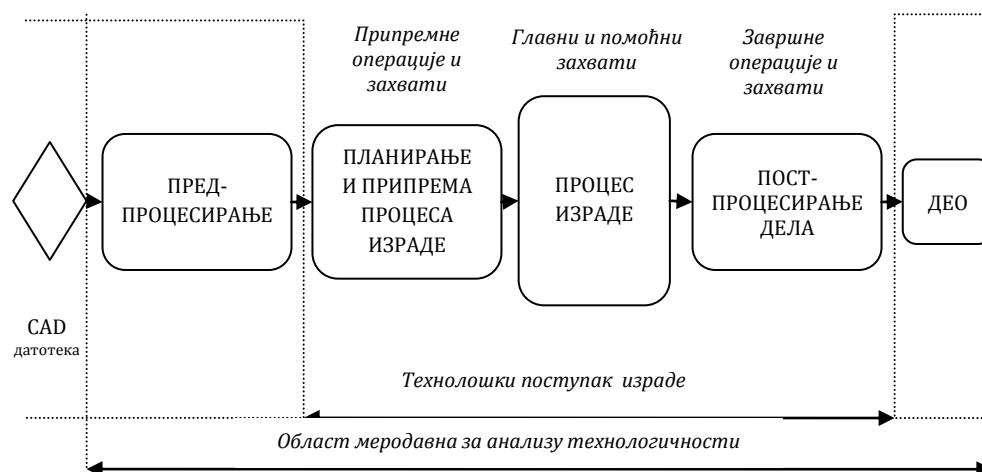


Слика 106. Узорци AL-ASLS израђени EBM технологијом

5.3 ОЦЕНА ТЕХНОЛОГИЧНОСТИ КОНСТРУКЦИЈЕ ASLS И УПОРЕДНА АНАЛИЗА ПРИМЕНЉИВОСТИ ИЗАБРАНИХ АТ У ИЗРАДИ ASLS

У наредном делу биће дата анализа технолоичности конструкције скафолда и упоредна анализа применљивости процеса израде ASLS коришћењем изабраних АТ.

Свеукупни поступак израде скафолда дат је на слици 107.



Слика 107. Схематски приказ технолошког процеса израде ASLS у општем случају

Свака фаза у горе приказаном ТП има своје специфичности за сваку од коришћених АТ.

5.3.1 3D БИОПЛОТЕР

Фаза пред-процесирања CAD датотеке за израду модела на биоплотер машини је захтевна и обухвата:

- прилагођавање CAD датотеке тј. претварање решеткасте структуре скафолда у CAD датотеку запремине коју обухвата 3D скафолд и
- дефинисање правила за израду унутрашњег обрасца распореда решеткастих структура скафолда (види поглавље 5.2.1).

Фаза планирања и припреме процеса израде обухвата:

- оријентацију модела у радном простору машине,
- дефинисање дебљине слоја,
- избор одговарајућег материјала,
- проналажење одговарајуће смеше (види поглавље 5.2.1),
- адекватан избор везива,
- дефинисање и избор супстанци за контролу брзине солидификације,
- избор одговарајуће игле,
- подешавање осталих параметара процеса.

Процес израде ASLS помоћу биоплотера детаљно је описан у поглављу 5.2.1.

Фаза пост-процесирања обухвата:

- синтеровање у пећи на 1000 °C ради уклањања везивног средства, синтеровања керамичког материјала и постизање потребне чврстоће.

5.3.2 DMLS

Фаза пред-процесирања CAD датотеке за израду модела DMLS технологиом обухвата:

- прилагођавање CAD датотеке тј. припрему одговарајућег STL датотеке (подешавање одговарајуће величине тетраедара)

Фаза планирања и припреме процеса израде обухвата:

- оријентацију модела у радном простору машине,
- дефинисање носеће структуре,
- организацију и број делова који се израђују на платформи,
- дефинисање дебљине слоја,
- избор одговарајућег материјала,
- подешавање осталих параметара процеса.

Процес израде ASLS помоћу DMLS детаљно је описан у поглављу 5.2.2.

Фаза пост-процесирања обухвата:

- уклањање носеће структуре,
- каљење,
- по потреби микросачмарење.

5.3.3 EBM

Фаза пред-процесирања CAD датотеке за израду модела на EBM машини обухвата:

- прилагођавање CAD датотеке тј. припрему одговарајуће STL датотеке (подешавање одговарајуће величине тетраедара)

Фаза планирања и припреме процеса израде обухвата:

- оријентацију модела у радном простору машине,
- организацију и број делова који се израђују на платформи,
- дефинисање дебљине слоја,
- избор одговарајућег материјала,
- подешавање осталих параметара процеса везаних за сноп електрона.

Процес израде ASLS помоћу EBM детаљно је описан у поглављу 5.2.3.

Фаза пост-процесирања обухвата:

- уклањање преосталог праха пескарењем или помоћу компресованог ваздуха у Powder Recovery System-у.

5.3.4 ТЕХНОЛОГИЧНОСТ ASLS И ПРИМЕНЉИВОСТ КОРИШЋЕНИХ АТ

Технологичност је по дефиницији мера или погодност одређене конструкције (дела) да буде израђена доступним технолошким поступцима. Код дефиниције технологичности не постоји апсолутна мера. Технологичност је релативан појам и не може бити исказана једнозначном нумеричком величином јер зависи од многих утицајних елемената, међу којима су и услови у којима ће процес бити вођен. Оно што је технологично за један производни систем, за други можда није.

Утврђивање технологичности конструкције се огледа у налажењу одговора на следећа питања (Gupta, Regli, Das, & Nau, 1995):

- Да ли нека конструкција (укључујући облик, димензије, толеранције и квалитет површина) јесте или није израдива,

- Уколико је конструкција израдива, колика је комплексност израде,
- Уколико конструкција није израдива, која својстава конструкције узрокују проблеме у изради (немогућност израде).

Ипак постоји више различитих начина оцењивања и изражавања технологичности (мере технологичности):

Бинарно оцењивање. Ово је најосновнији начин изражавања степена технологичности — он једноставно изражава да ли је дати скуп својстава која се тичу производа могуће израдити или не.

Квалитативно оцењивање. У овом случају, степен технологичности производа у оквиру одређеног технолошког поступка или степен технологичности производа се оцењује описним оценама: слабо, просечно, добро, одлично — израдљив. Понекад је овакво изражавање тешко интерпретирати, а у ситуацијама када конструктор упошљава више алата за утврђивање технологичности, постаје тешко вршити упоређивања утврђених степена технологичности из два или више система да би се добила збирна оцена.

Абстрактно-квантитативно оцењивање. Изражавање степена технологичности производа кроз абстрактно-квантитативно оцењивање се врши додељивањем нумеричких вредности на абстрактној скали. На пример, једна од предложених схема за овакав тип изражавања је да се сваком својству које се тиче производа додели индекс технологичности из опсега вредности од 0 до 1, а затим врши њихово комбиновање у коначну оцену.

Време и трошкови. У општем случају, технологичност производа је мера напора који је неопходно уложити да би се извесни део произвео према конструктивним захтевима. Како се свака технолошка операција одликује временом и трошковима потребним за њено извођење, исти параметри могу бити коришћени као основа за одговарајући систем одређивања степена технологичности. Вредновање технологичности према времену и трошковима може бити једноставно комбиновано у збирну оцену технологичности. Такође, ови параметри презентују стваран увид у тешкоће производње предложеног производа и могу лако бити искоришћени за помоћ у доношењу одлука (да ли да се нешто прави или набави). Ови параметри пак, не могу бити директно од помоћи када је потребно утврдити да ли је конструктор постигао задовољавајући ниво технологичности производа.

У конкретном случају, применом Бинарног оцењивања (табела 41), технологичност конструкције ASLS је разматрана анализом два параметра $D_n(K_n, M_n)$:

- геометрија конструкције (дела) $K=(K1...Kn)$ -варијанте конструктивних решења тј. различите геометрије конструкције ASLS) који показује да ли се облик и димензије конструкције могу постићи доступним технологијама,
- материјал $M=(M1...Mn)$ -који показује да ли је могуће доступним технологијама израдити ASLS од материјала који су од интереса.

Када је у питању геометрија ASLS у анализи технологичности су разматрана два конструктивна решења и то:

- K1- специфична варијанта геометрије ASLS намењена 3D биоплотеру (сл. 80) ради тестирања његових могућности обзиром да није било могуће на њему израдити варијанту K2,
- K2-општа геометријска варијанта ASLS (сл. 78).

У другом делу анализе технологичности разматране су 2 врсте материјала и то:

- биоразградиви (биополимери (HA)-M1 и легуре Mg-M2),
- бикомпатибилни метали (легуре Ti-M3).

За анализу су узете у обзир 3 напред поменуте технологије (3D биоплотер, DMLS и EBM)које су и коришћене за израду ASLS.

Табела 41. Бинарно оцењивање технологичности конструкције ASLS

ВАРИЈАНТНА РЕШЕЊА КОНСТРУКЦИЈЕ СКАФОЛДА		ТЕХНОЛОГИЈЕ		
Ознака конструкције	Ознака материјала	3D БИОПЛОТЕР	DMLS	EBM
K1	M1	1	0	0
K1	M2	0	0	0
K1	M3	0	1	1
K2	M1	0	0	0
K2	M2	0	0	0
K2	M3	0	1	1

Анализа технологичности је показала да предложено конструктивно решење ASLS од биоразградивих материјала није могуће израдити уз помоћ актуелних тј.

доступних система АТ. Са друге стране ASLS од легура T_i се могу без тешкоћа изградити помоћу DMLS и EBM технологије.

Применљивост ТП

За разлику од оцене технологичности, где се разматра које варијантно решење конструкције од више понуђених је могуће изградити применом одређене технологије израде уз постизање/остваривање максималног нивоа захтеваног квалитета и минималног улагања, *оцена применљивости технологије* се заснива на упоређењу различитих технолошких поступака у изради једног конструктивног решења и утврђивању који од ТП омогућава постизање максималног нивоа захтеваног квалитета конструкције уз минимално улагање.

На основу напред наведеног технологичност и применљивост се могу представити следећим функцијама:

Технологичност конструкције:

$T_i = T(\{K_i\}, TP_N)$, где $i = 1, 2, 3 \dots$, K_i - варијантна решења конструкције дела, а TP_N - технолошки поступак израде.

Применљивост ТП:

$P_j = P(\{TP_j\}, K_n)$, где $j = 1, 2, 3 \dots$, TP_j - различити технолошки поступци израде а K_n - варијантно решење конструкције дела.

Начини оцењивања које се користе код одређивања технологичности (више различитих варијантних решења конструкције) могу се примењивати за одређивање применљивости појединих технолошких поступака тј. технологија у изради поједине (специфичне) конструкције.

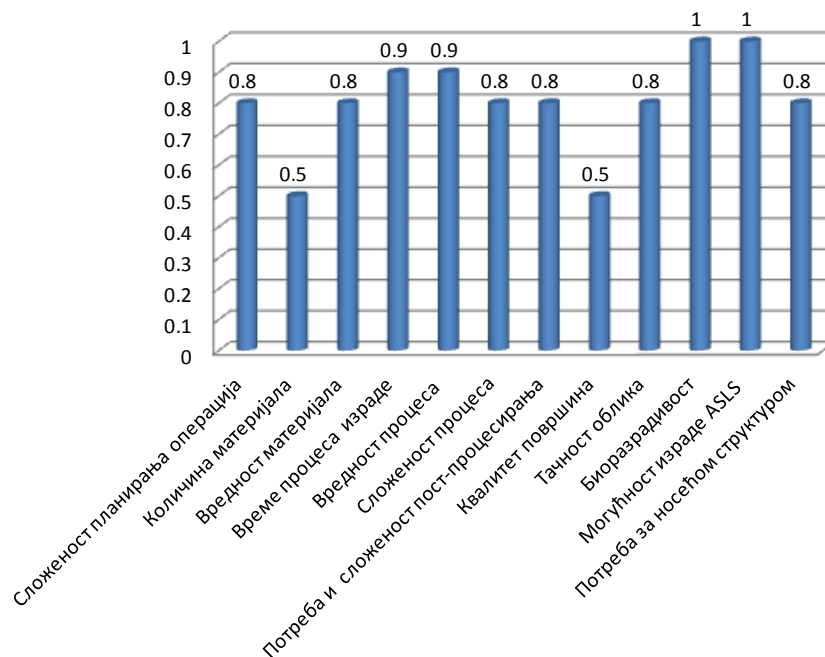
Утврђивање применљивости одређеног ТП се огледа у налажењу одговора на следећа питања:

- Да ли одређени ТП јесте или није применљив за израду неког дела,
- Уколико је ТП применљив, колики је степен применљивости ТП,
- Уколико ТП није применљив, које одлике ТП га чине неприменљивим.

На конкретном примеру израде ASLS, упоредна анализа применљивости процеса израде изабраним АТ спроведена је коришћењем абстрактно-квантитативног оцењивања. Ова анализа започиње избором одговарајућих **величина за**

утврђивање применљивости ТП⁹. Потребно је напоменути да су изабране величине везане за конкретан процес израде ASLS и сличних форми.

Свакој од ових величина је (на основу експертске процене¹⁰) додељена *тежина* којом се одражава *значај* те *величине* за *утврђивање применљивости ТП* у опсегу од $T=(0-1)$, сл. 108.

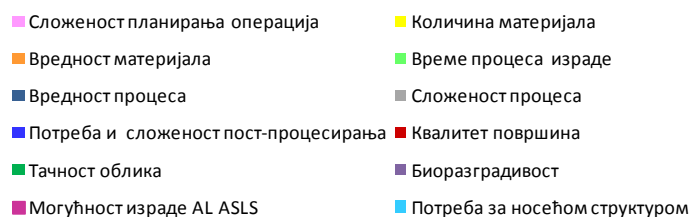


Слика 108. Тежина (значај) величина за утврђивање применљивости ТП

На основу вредности на сл. 108 срачунато је процентуално учешће *значаја* (тежине) сваке од величина за утврђивање применљивости процеса израде ASLS, сл. 109.

⁹ За већину ових величина није потребно дати нека посебна објашњења. Ипак када се рецимо ради о коефицијенту везаном за вредност процеса треба напоменути да је овде узета у обзир стандардна цена машине са периодом амортизације од 5 година и са просечном каматом од 5% од вредности машине. Остале специфичности везане за ове коефицијента дате су у оквиру фуснота у матрици применљивости.

¹⁰ Ове процене су извршене у сарадњи са стручњацима из лабораторија у којима су израђени ASLS узорци изабраним АТ.



Слика 109. Процентуално учешће значаја (тежине) сваке од величина за утврђивање применљивости ТП у оцени применљивости процеса

Треба имати у виду да се вредност значаја (тежине) појединих величина за утврђивање применљивости ТП може мењати спрам одређеног ТП.

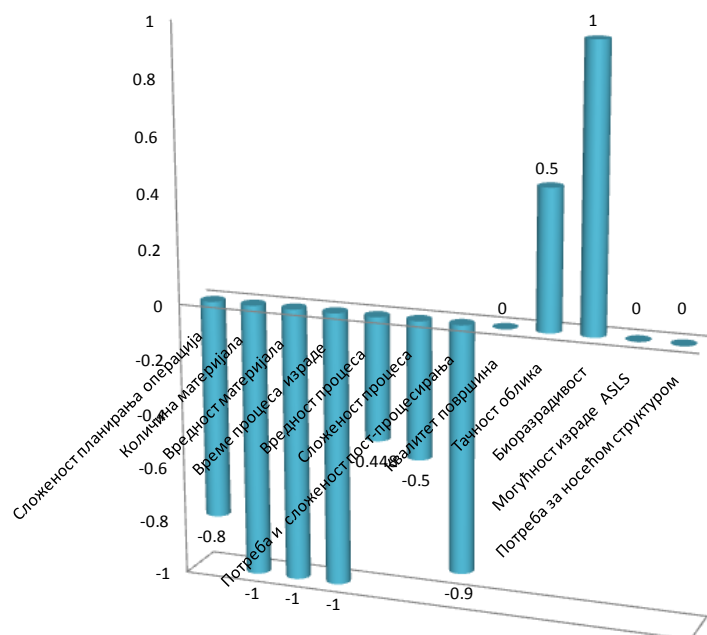
Ради коректности треба истаћи да постоји могућност да се дође у заблуду у вези са значајем појединих величина за утврђивање применљивости ТП. На пример, додавање већег броја величина за утврђивање применљивости ТП неминовно утиче на смањење процентуалног учешћа значаја (тежине) појединих величина за утврђивање применљивости ТП у оцени применљивости процеса. То, међутим, не значи да поједине величине за утврђивање применљивости ТП, које су од пресудне важности за процену применљивости, губе на важности тиме што се процентуално учешће њихове тежине (значаја) смањује.

На основу специфичности сваког од коришћених поступака израде може се дефинисати критеријумска матрица за процену применљивости изабраних адитивних технологија за израду одређене класе анатомски прилагођених скафолда, табела 42.

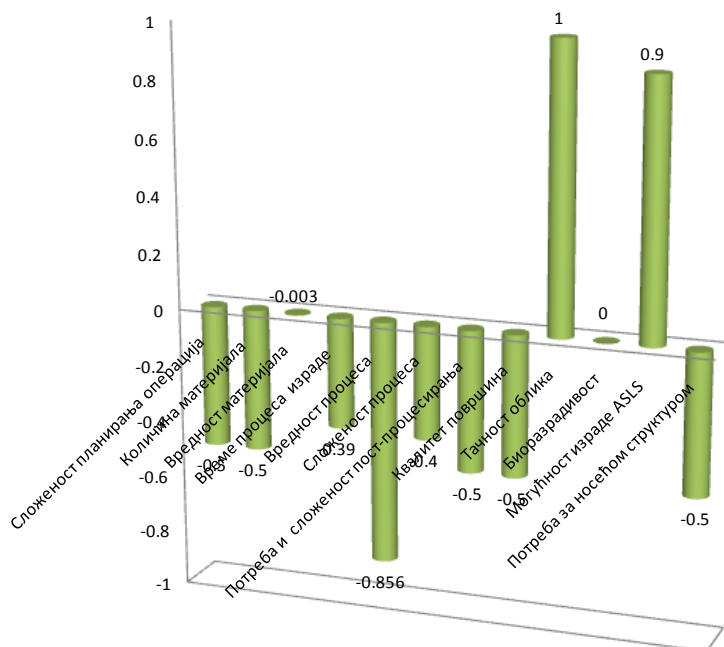
За израду ове матрице је, осим већ изабраних величина за утврђивање применљивости ТП и тежине (Т), за сваки од ових процеса АТ, а на основу абстрактно-квантитативног оцењивања и експертске процене, одређена и вредност (V) сваке од величина од значаја (сл 110-112).

Производ величина: $T \times V$ је вредност која утиче на оцену применљивости, а сума производа $\sum_1^n T \times V$ представља сумарну оцену применљивости технолошког процеса израде ASLS.

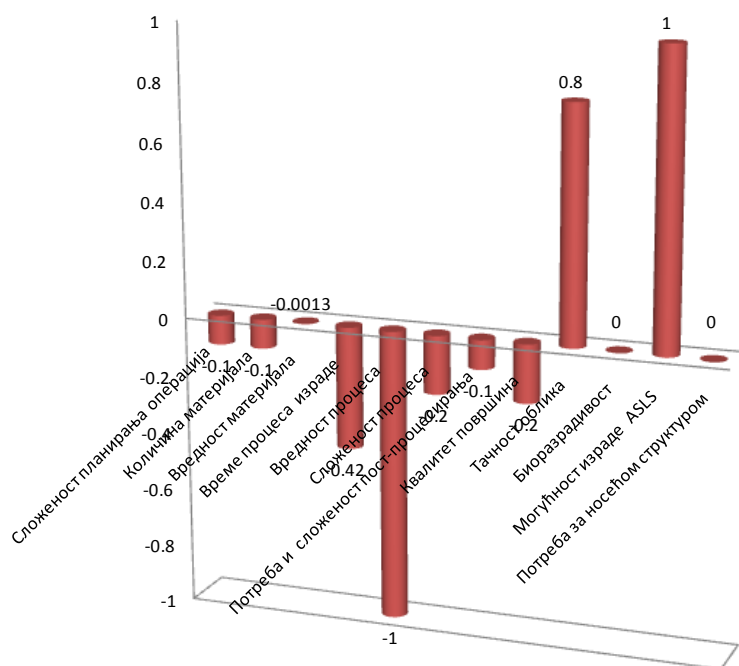
Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива



Слика 110. Вредност величина - V за утврђивање применљивости ТП 3D биоплотера



Слика 111. Вредност величина- V за утврђивање применљивости ТП DMLS



Слика 112. Вредност величина - V за утврђивање применљивости ТП ЕВМ

Обзиром да је вредност доминантног (елиминаторног) коефицијента: *Мogućност израде ASLS* за 3D биоплотер једнака 0, јер није у mogućности да изради овакве слободне форме 3D решетки, то се он, на основу *Бинарног начина оцењивања*, не користи за даља упоређивања. Ипак, вредности добијене за биоплотер приказане су у критеријумској матрици за оцену применљивости у табели 42, у затамљеној колони, како би се стекла реална представа о предностима и недостацима ове технологије као и степену применљивости исте у изради сличних форми, што може посебно бити од значаја у анализи неке будуће технологије за израду анатомски прилагођених скафолда.

Табела 42. Критеријумска матрица за оцену применљивости АТ

Величина од значаја за утврђивање применљивости	T(0,1-1)	DMLS		EBM		3D биоплотер	
		V	T×V	V	T×V	V	T×V
Сложеност планирања операција ¹¹	0,8	-0.5	-0.4	-0.1	-0.08	-0.8	-0.64
Количина материјала	0,5	-0.5	-0.25	-0.1	-0.05	-1	-0.5
Вредност материјала ¹²	0,8	-0.003	-0.0024	-0.0013	-0.00104	-1	-0.8
Време процеса израде ¹³	0,9	-0.39	-0.351	-0.42	-0.378	-1	-0.9

¹¹ Овде су узети у обзир број потребних итерација као и комплексност истих.

¹² Вредност материјала је била највећа за биоплотер (150€/gr) и ту је усвојена максимална вредност величине -1. За остала два Т. П. вредност величине (обзиром да је за сваки Т. П: позната вредност материјала) је утврђена на основу одговарајуће пропорционалности: BP : EBM : DMLS = 1 : 0.0013 : 0.003.

¹³ Најдуже време процеса израде једног узорка скафолда било је за биоплотер (4,72h) тако да је овде вредност величине усвојена -1. За остале Т. П вредност величине установљена на основу пропорционалности: BP:EBM:DMLS= 1:0.42:0.39.

Величина од значаја за утврђивање применљивости	T(0,1-1)	DMLS		EBM		3D биопротер	
		V	T×V	V	T×V	V	T×V
Вредност процеса ¹⁴	0,9	-0.856	-0.7704	-1	-0.9	-0.448	-0.4032
Сложеност процеса ¹⁵	0,8	-0.4	-0.32	-0.2	-0.16	-0.5	-0.40
Потреба и сложеност пост-процесирања	0,8	-0.5	-0.40	-0.1	-0.08	-0.9	-0.72
Квалитет површина ¹⁶	0,5	-0.5	-0.25	-0.2	-0.10	0	0
Тачност облика	0,8	1	0.8	0.8	0.64	0.5	0.40

¹⁴ Процена је извршена према стандардној цени машине са периодом амортизације од 5 година и са просечном каматом од 5%. Обзиром да је вредност процеса за EBM била највећа (105€) у односу на биопротер (47€) и DMLS (89,95€), вредност величине за EBM је усвојено -1 и на основу пропорције су израчунате вредности величине за биопротер и DMLS.

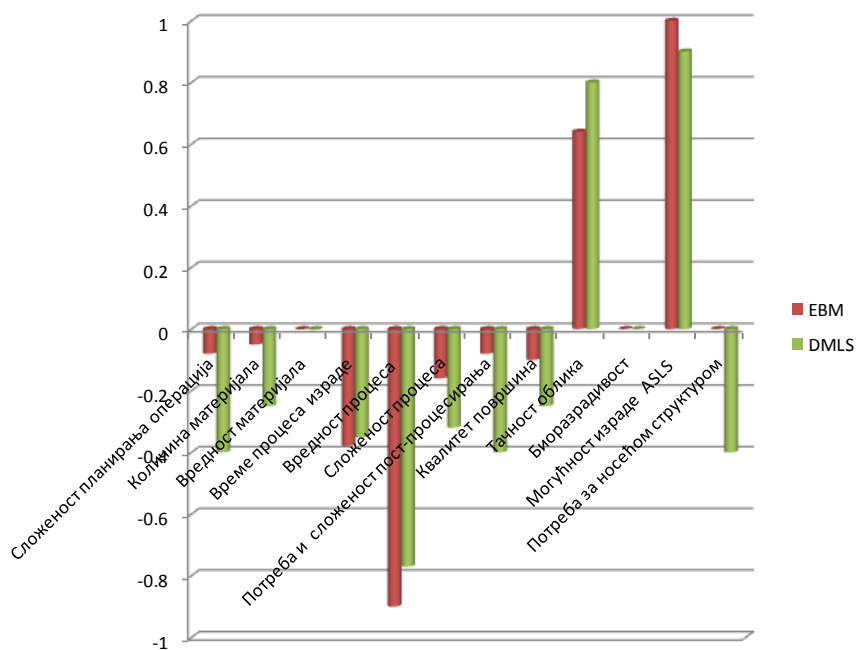
¹⁵ Сложеност процеса обухвата : бр. итерација(прекид рада машине ради репозиције, мењање алата у току рада и сл.), обезбеђење посебних услова (заштитна атмосфера), потреба за додатним уређајима и опремом и сл.

¹⁶ овде треба имати у виду да површинама скафолда одговара грубљи квалитет површине јер се тиме повећава биоадхезивност.

Величина од значаја за утврђивање применљивости	T(0,1-1)	DMLS		EBM		3D биопротер	
		V	T×V	V	T×V	V	T×V
Биоразградивост	1	0	0	0	0	1	1
Могућност израде ASLS	1	0.9	0.9	1	1	0	0
Потреба за носећом структуром	0,8	-0.5	-0.40	0	0	0	0
Σ	-	-	-1.4438	-	-0.1184	-	-

T- тежина или значај величине за утврђивање квалитета; V- вредност величине за утврђивање квалитета.

Упоредна анализа вредности производа $T \times V$ технолошких процеса израде ASLS помоћу DMLS и EBM технологије дата је на дијаграму (слика 113).



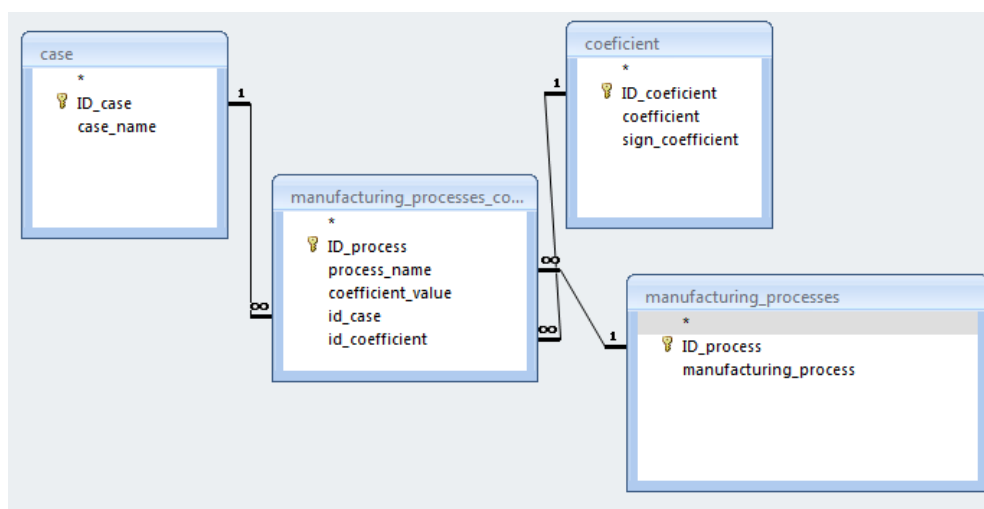
Слика 113. Упоређење вредности $T \times V$ код DMLS и EBM

Највећа вредност $\sum_1^n T \times V$ у критеријумској матрици за оцену применљивости AT показује да EBM технологија има најмање негативних одлика који негативно утичу на применљивост датог поступка тј. најпогоднија је за израду ASLS односно овакве врсте скафолда.

На крају, овако дефинисана критеријумска матрица за оцену применљивости AT послужила је као основа за израду тзв. квантитативног калкулатора за оцену применљивости одређене методе (адитивног технолошког поступка-АТП).

У калкулатор се најпре уноси одговарајући *case* тј. део који се израђује (у конкретном случају ASLS). За њега се затим уносе одговарајући ТП израде ASLS и за сваки од њих: *величине за оцену применљивости одговарајућег ТП*, њихове

тежине (значај) T и вредности V . Сви ови улазни параметри су променљиви ¹⁷ и зависе од конкретног случаја. Калкулатор аутоматски срачунава суме производа $\sum_1^n T \times V$ за сваки коришћен ТП, које представљају сумарне оцене применљивости тих технолошких процеса израде ASLS и на основу добијених вредности даје препоруку најпогодније технологије за израду ASLS или сличних биоформи. Релациона шема базе података која чини овај калкулатор, дата је на слици 114.

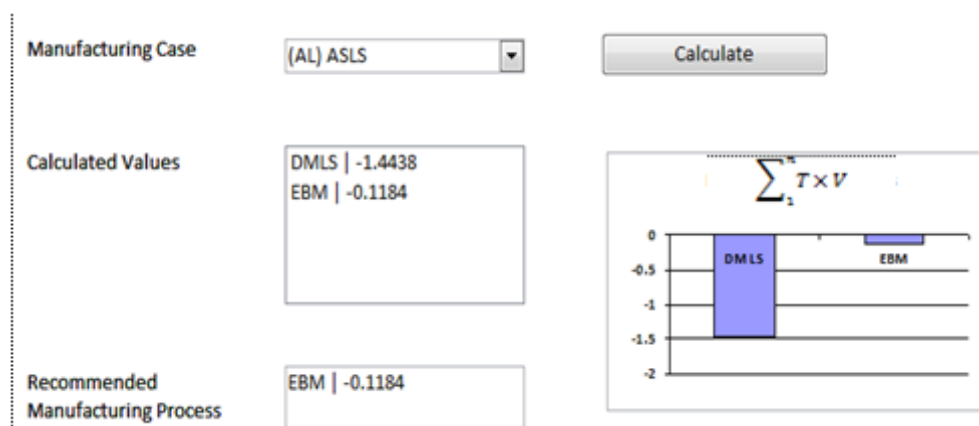


Слика 114. Релациона шема базе података калкулатора

У складу за напред дефинисаним приступом у матрици за утврђивање применљивости ТП, и у калкулатору је елиминаторни коефицијент могућност израде ASLS, што је 3D биоплотер искључило из даљег упоређивања.

Излаз из ове апликације чине укупне оцене применљивости коришћених технолошких поступака у изради ASLS и препорука за применљивији (квалитетнији) технолошки поступак међу њима (сл. 115).

¹⁷ Могу се мењати и додавати нови ТП и величине за оцену применљивости, као и вредности T и V у зависности од дела који се израђује, тј. захтева конкретног случаја. Калкулатор може садржати више различитих *case*-ова.



Слика 115. Приказ оцене применљивости АТ коришћених у изради ASLS

Приоритетни (примарни) критеријум за оцену применљивости ТП

У одређеним случајевима примарни критеријум за оцену применљивости може бити неки од фактора као што су цена израђеног производа или време израде. Тада се треба извршити и додатна оцена применљивости према том примарном критеријуму.

Укључивање и анализа додатног критеријума (ако постоји захтев за њим) као што су време израде и цена израђеног производа приказано је на конкретном примеру израде ASLS.

Време израде ASLS

За анализу применљивости према времену израде потребно је узети у обзир масу израђеног дела и продуктивност (максималну масу солидификованог материјала која се може израдити у јединици времена (по сату)).

Општи образац за израчунавање времена израде био би:

$$T_{vr} = \frac{G}{P}$$

где су T_{vr} - време израде, G - маса израђеног дела, P - продуктивност тј. максимална количина материјала по сату.

Времена израде ASLS коришћењем DMLS и EBM технологија износе:

за DMLS:

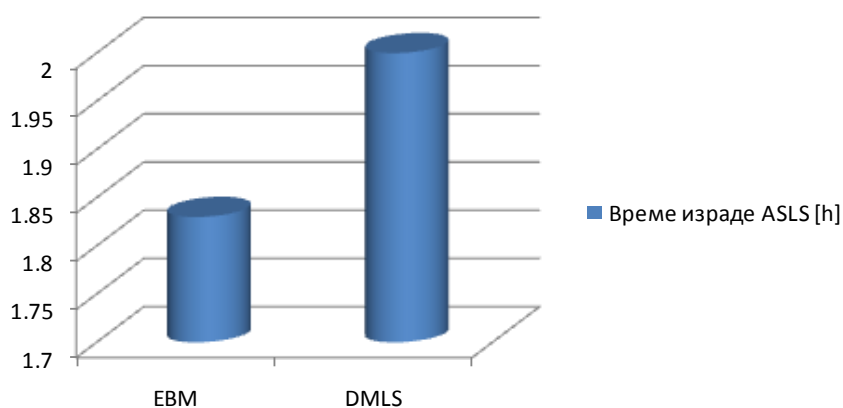
$$T_{vr} = \frac{0.4g}{0.2g/h} = 2h$$

за EBM:

$$T_{vr} = \frac{0.2g}{0.109g/h} = 1.83h = 1h50'$$

Упоредне вредности времена израде ASLS помоћу DMLS и EBM технологије дате су на слици 116.

У овом конкретном случају време израде ASLS EBM технологијом је нешто краће од израде DMLS технологијом.



Слика 116. Упоредна анализа времена израде ASLS код DMLS и EBM технологије

Цена израде ASLS

За анализу према цени израде потребно је упоредити производ времена израде поједине АТ и процењене вредности норме-сата датог система.

Цена израде би се израчунавала по образцу:

$$Cr = T_{vr} \times Ns$$

где су Cr -цена израде, T_{vr} - време израде, Ns ¹⁸- норма сат.

Цене израде ASLS за DMLS и EBM технологију су:

за DMLS :

¹⁸ Податак дат од стране произвођача машина

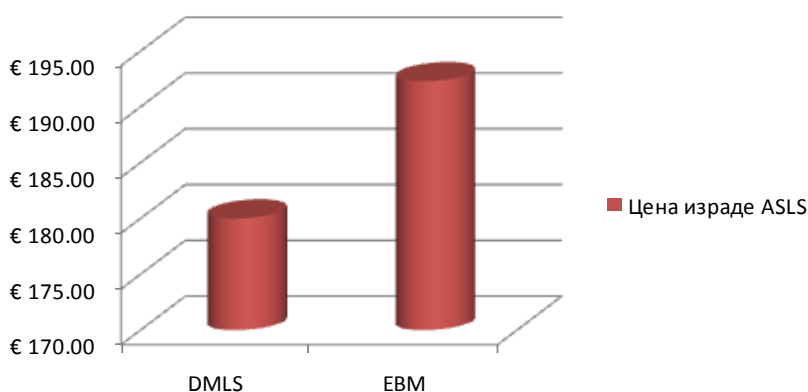
$$Cr = 2h \times 90\text{€/h} = 180\text{€}$$

За EBM:

$$Cr = 1.83h \times 105\text{€/h} = 192.3\text{€}$$

Упоредне вредности цена израде ASLS помоћу DMLS и EBM технологије дате су на слици 117.

Ова анализа показује да је израда ASLS економичнија када се користи DMLS технологија у поређењу са EBM технологијом.



Слика 117. Упоредна анализа цене израде ASLS код DMLS и EBM технологије

5.3.5 ПРЕПОРУКЕ ЗА РАЗВОЈ АДЕКВАТНЕ АТ ЗА ИЗРАДУ ASLS

На основу резултата експеримента и анализе техничности израђених конструкција ASLS као и анализе применљивости АТ за њихову израду могуће је утврдити одређене препоруке за развој нове АТ (RP машине) која би се користила за израду анатомски прилагођених скафолда.

Да би подржала израду делова попут ASLS-а, будућа RP машина би требало да изврши синтезу добрих страна постојећих технологија синтеровања и неке од варијанти FDM и 3DP технологије. Конкретно, то би значило да ова машина треба да:

1. припада фамилији RP машина које су намењене за израду веома малих делова (*микро RP технологија*) комплексне геометрије и танких зидова,
2. има димензије радног простора (250×250×200 mm)
3. користи минималну дебљину материјала (10 μm),¹⁹
4. обезбеђује тачност номиналних мера ±2 μm,
5. има могућност израде детаља (min feature size = 10 μm) ,
6. има брзину израде (50 mm³/min)
7. има уграђен софтвер за претпроцесирање који треба самостално да оптимизује поделу волумена модела на дискретне јединице STL записа како би омогућио потребну тачност као и да омогући аутоматизацију оријентације дела у простору која захтева минималне интервенције у надоградњи дела носећим структурама,
8. нема потребе за неким специфичним условима рада (нпр. употреба водоника или племенитих гасова и инсталација неопходних за рад са њима)
9. подржава израду скафолда од биокompatibilних и биоразградивих материјала чија би се чврстоћа кретала у границама између чврстоће кости(50-150 MPa) и Ti (434 MPa). Овде се првенствено мисли на актуелне и будуће биоразградиве легуре Mg и биополимере.
10. има могућност депозиције живих ћелија,
11. подржава истовремено коришћење више материјала (најмање 2 – нпр. да има више глава тј. екструдера) како би се у оквиру конструкције скафолда језгро могло израђивати од једног материјала а спољашњи слојеви од другог. Тиме би се омогућила темпирана разградња појединих слојева и читавог скафолда,
12. буде инсталирана у клиничким условима,
13. осигура потребан ниво стерилности (неконтаминираности) делова које производи,
14. има минималне захтеве за постпроцесирањем делова (минимализација носеће структуре и потреба за њеним уклањањем, уклањање заосталих делова материјала треба свести на минимум или за деконтаминацију делова од неорганских и токсичних материја).

¹⁹Ово се објашњава потребом да се израде микро скафолди у облику декаhedрона који треба да носе матичне ћелије

6 ЗАКЉУЧАК

Основни циљ докторске дисертације је био испитивање могућности примене адитивних технологија (АТ) за израду скафолда, који представљају незаобилазну карику инжењеринга ткива (ТЕ) у процесу опоравка трауматизованог дела кости.

Геометријска сложеност дизајна ASLS као и мале димензије експерименталних узорака (обзиром да се експерименти односе на делове потколеничне кости кунџа) захтевали су примену адитивних производних технологија. С тим у вези, у дисертацији је спроведено истраживање могућности примене различитих АТ у изради ASLS и то:

- трајних ASLS коришћењем Ti-легура и
- привремених (биоразградивих) ASLS коришћењем биополимера.

Након прегледа и разматрања стања савремених истраживања у области АТ, а узимајући у обзир могућности различитих АТ спрам комплексности геометрије скафолда, доступности одговарајућих биокompatibilних и биоразградивих, комерцијалних материјала које је могуће користити за израду ASLS-а на њима, као и многих других параметара процеса препознате су 3 технологије-кандидати (3D биопротер, DMLS и EBM) које су потенцијално биле у стању да израде оваке форме попут ASLS. Прве две су коришћене за израду трајних ASLS, док је 3D биопротер изабран као једина комерцијално доступна АТ, развијена да плотује биоразградиве материјале и биолошке ћелије.

Садржај истраживања

Спроведено истраживање је обухватило следеће целине:

1. Проучавање и преглед особина коштаног система,
2. Преглед и разматрање стања савремених истраживања у више области:
 - a. инжењеринг коштаног ткива са посебним нагласком на преглед и анализу постојећих концепата дизајна (архитектуре) скафолда,
 - b. материјали за израду скафолда: истраживања могућности примене одговарајућих металних (неразградивих) и биоразградивих биоматеријала у изради скафолда, као и недостатака истих,
 - c. технологије за израду биоразградивих и биокompatibilних скафолда, као и анализа њихових предности и ограничења (конвенционалне и АТ),
3. Разматрање постојећих решења примене АТ у изради скафолда са избором минималног скупа оптималних АТ (кандидата) за израду ASLS,

- a) Припремање узорака за истраживање и експерименте - Моделирање варијантних решења геометрије ASLS за патолошки измењени део на проксималном делу дијафизе тибије кунџа (експерименталне животиње). Иако не припада непосредном скупу активности овог истраживања (посвећеног примени АТ у изради ASLS), у оквиру ове активности је спроведена и прелиминарна анализа напонско-деформационог стања ASLS применом МКЕ како би се показало да је променом конструктивних параметара ASLS могуће мењати еластичне особине његове структуре тако да буду хармонизоване са особинама околног коштаног ткива спрам различитих захтева (ортопедских, механичких, биолошких),
4. Срж саме дисертације свакако представља израда ASLS уз помоћ изабраних АТ:
 - a. Избор материјала - са становишта материјала, за израду ASLS, коришћене су две класе материјала: био-разградиви материјали - *HA*²⁰ и Ti6Al4V и Ti64, чија је употреба већ проверена и одобрена за хумане имплантате,
 - b. Избор одговарајућих RP машина за израду узорака ASLS,
 - c. Дефинисање одговарајућих параметара процеса, Сви детаљи у вези са припремом модела за АТ (пред-процесирањем геометрије модела), као и технолошки параметри система АТ су идентификовани у непосредној комуникацији са стручњацима из лабораторија и погона као и путем непосредног надгледања процеса израде (где год је то било могуће/дозвољено). Такође, све ово се односи и на процес накнадне обраде (пост-процесирање) узорака,
5. Анализа технологичности ASLS и применљивости АТ која обухвата сагледавање свих детаља технолошког поступка (поступак припреме модела, технолошки параметари израде ASLS применом изабране АТ и поступак накнадне обраде). Овај део истраживања садржи:
 - a. Анализу технолошког поступка израде ASLS применом одговарајуће АТ.
 - b. дефинисање критеријумске матрице за процену применљивости коришћених адитивних производних технологија за израду имплантатних склопова (скафолда пре свега).

²⁰ захваљујући сарадњи са Институтом техничких наука САНУ и проф. др Драганом Ускоковићем

- c. израду програмске апликације (квантитативни калкулатор) за оцену тј. одређивање степена применљивости процеса на основу критеријумске матрице.

Резултати истраживања и научни допринос

Израда узорака ASLS поменутих технологијама, као и детаљна анализа технолошких поступака израде истих изабраним АТ, показали су предности и недостатке сваке од коришћених АТ у изради оваквих врста скафолда .

Анализа применљивости кандидованих АТ за израду ASLS и сличних структура, која је спроведена према критеријумској матрици, показала је да EBM представља тренутно оптималан избор за случај трајних скафолда. DMLS је у поменутој упоредној анализи применљивости заузела друго место која као и EBM може да се употреби за израду сложене форме ASLS, али са нешто слабијим перформансама. Ипак, у овом тренутку развоја, EBM и DMLS не могу бити употребљене за израду скафолда од биоразградивог материјала, што представља и највећи недостатак ових АТ.

На другој страни, неоспорна предност 3D биоплотера да плотује биоразградиве материјале, па чак и ћелије, у великој мери је компромитована немогућношћу употребе (у актуелном тренутку развоја технологије) за израду сложене форме ASLS.

Резултат истраживања представља и дефинисање критеријумске матрице за оцену применљивости АТ у изради скафолда коштаног ткива као и израда одговарајуће програмске апликације за аутоматизовано утврђивање оцене применљивости процеса, тзв. *калкулатора* за оцену применљивости процеса. Критеријумска матрица за оцену применљивости АТ и калкулатор за оцену применљивости ТП могу бити примењени за упоредне анализе технолошких поступака израде сличних форми постојећим и будућим АТ, мењањем *величина* за утврђивање применљивости конкретног ТП, њихове *тежине (значаја)* и *вредности* дефинисаних за конкретан случај.

Такође су у раду, на основу резултата експеримента и спроведене анализе технолошкости ASLS и анализа применљивости АТ дате препоруке за развој нове АТ (RP машине) која би се користила за израду анатомски прилагођених скафолда.

Израђени узорци ASLS представљају конкретан материјални резултат истраживања. Значај њиховог постојања је од суштинске важности за целокупан резултат истраживачког пројекта. Ови узорци су коришћени у биомедицинским тестирањима за проверу концепта дизајна ASLS са аспекта имплантације *in vivo*. У ту сврху је спроведен пилот експеримент у коме је изазван дефект нешто већи од ASLS на проксималом делу дијафизе тибије кунџа и имплантирана ASLS са

циљем испитивања биолошких и механичких својстава *ASLS* карактеристичних за коштани скафолд. Прелиминарни резултати овог пилот експеримента су показали да се помоћу скафолда може направити надокнада коштаног ткива у ситуацијама када оно из неког разлога недостаје. Анализа препарата показала је да има остеогенезе у подручју скафолда. (Прелиминарни резултати су дати у прилогу 1 рада). На овај начин, отвара се нови простор за даља био-медицинска истраживања од којих се очекује да, у позитивном сценарију, доведу до решења за унапређење опоравка оштећеног или недостајућег коштаног ткива.

У дисертацији је дат и први научно-систематичан, детаљан и свеобухватан преглед актуелних концепата конструкције скафолда, биоматеријала као и производних процеса за њихову израду који је написан на српском језику и који може бити користан нарочито будућим конструкторима скафолда.

Конечно, треба истаћи и то да спроведено истраживање у оквиру ове дисертације има шири значај који се огледа у томе што се добијени резултати могу применити и искористити у развоју других врста потпорних матрица за коштано, али и мека ткива, као и за развој будућих имплантатних склопова фиксатора и ендопротеза и сложених слободних форми 3D решетки.

Резултати истраживања могу подједнако бити корисни како произвођачима RP машина, конструкторима скафолда, ортопедима тако и пацијентима тј. допринети њиховом бржем и квалитетнијем опоравку.

Недостаји AT и будућа истраживања

Не треба сметнути са ума да тренутне могућности AT показују одређене недостатке у погледу израде скафолда. Главни недостатак који се односи на EBM технологију (као и остале AT) огледа се у немогућности коришћења биоразградивих материјала за израду сложених слободних и биолошких форми и 3D структура (привремених ASLS). Ту се, управо, може наћи мотив за нове правце будућих истраживања:

- Један правац се односи на истраживање могућности адаптације постојећих RP машина или проналажење одговарајућег конструктивног решења нове RP машине(можда и нове AT) која ће подржавати израду сложених слободних форми 3D структура (решетки) од биоразградивих материјала. Када се говори о адаптацији постојећих RP машина треба узети у обзир и унапређење софтвера истих.
- Други правац се односи на истраживање нових биоразградивих материјала које је могуће користити на постојећим машинама. Овде се првенствено мисли на истраживања различитих биокомпатибилних и биоразградивих легура Mg и тестирања могућности њихове примене на неким комерцијалним RP машинама у циљу израде сличних сложених 3D

структура тј. анатомски прилагођених скафолда, за која су заинтересовани и неки од великих светских произвођача RP система.

7 ЛИТЕРАТУРА

- Adams, J., Zobitz, M., Reach, J., An, K., & Lewallen, D. (2005). Canine carpal joint fusion: A model for four-corner arthrodesis using a porous tantalum implant. *The Journal of Hand Surgery*, 30 (6), 1128-1135.
- Alam, S., Ueki, K., Marukawa, K., Ohara, T., Hase, T., Takazakura, D., et al. (2007). Expression of bone morphogenetic protein 2 and fibroblast growth factor 2 during bone regeneration using different implant materials as an onlay bone graft in rabbit mandibles. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics*, 103 (1), 16-26.
- Anđelković, Z., Somer, L. P., Avramović, V., Milenkova, L., Kostovska, N., & A., P. (2001). *Histološka građa organa*. Nis: Bonafides.
- Andriano, K. P., Gurny, R., & Heller, J. (2002). Synthesis of synthetic polymers: Poly(ortho esters). In A. Atala, & R. P. Lanza (Eds.), *Methods of Tissue Engineering* (pp. 619-627). San Diego: Academic Press.
- Ang, T. H., Sultana, F. S., Hutmacher, D. W., Wong, Y. S., Fuh, J. Y., Mo, X. M., et al. (2002). Fabrication of 3D chitosan-hydroxyapatite scaffolds using a robotic dispensing system. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*, 20 (1-2), 35-42.
- Antonov, E. N., Bagratashvili, V. N., Whitaker, M., Barry, J. A., Shakesheff, K. M., & Konovalov, A. (2005). Three-dimensional bioactive and biodegradable scaffolds fabricated by surface-selective laser sintering. *Advanced Materials*, 17 (3), 327-330.
- Arsenova, I., Sysolyatin, P., & Gunther, V. (2005). Midface endoprosthetics with superelastic porous NiTi implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 34 (1), 20.
- Assad, M., Chernyshov, A., Leroux, M., & Rivard, C. (2002). A new porous titanium-nickel alloy: Part 1. Cytotoxicity and genotoxicity evaluation. *Biomedical Materials and Engineering*, 12 (3), 225-237.
- Ayers, R., Simske, S., Bateman, T., Petkus, A., Sachdeva, R., & Gyunter, V. (1999). Effect of nitinol implant porosity on cranial bone ingrowth and apposition after 6 weeks. *Journal of Biomedical Materials Research*, 45 (1), 42-47.
- Banhart, J. (2001). Manufacture, characterization and application of cellular metals and metal foams. *Progress in Materials Science*, 46 (6), 559-632.

Barrère, F., van der Valk, C., Dalmeijer, R., de Groot, K., & Layrolle, P. (2003). Osteointegration of biomimetic apatite coating applied onto dense and porous metal implants in femurs of goats. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 67 (1), 655-665.

Barrère, F., van der Valk, C., Dalmeijer, R., Meijer, G., van Blitterswijk, C., de Groot, K., et al. (2003). Osteogenicity of octacalcium phosphate coatings applied on porous metal implants. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 66 (4), 779-788.

Bergsma, E., Rosema, F., Bos, R., & de Bruijn, W. (1993). Foreign body reactions to resorbable poly(L-lactide) bone plates and screws used for the fixation of unstable zygomatic fractures. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 51 (6), 666-670.

Blaker, J. J., Gough, J. E., Maquet, V., Notingher I, & Boccaccini, A. R. (2003). In vitro evaluation of novel bioactive composites based on Bioglass-filled polylactide foams for bone tissue engineering scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67 (4), 1401-1411.

Blaker, J. J., Maquet, V., Jérôme, R., Boccaccini, A. R., & Nazhat, S. N. (2005). Mechanically anisotropic PDLLA/Bioglass® composite foams as scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 1 (6), 643-652.

Blaker, J. J., Day, R. M., Maquet, V., & Boccaccini, A. R. (2004). Novel bioresorbable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and PLGA/Bioglass((R)) composite tubular foam scaffolds for tissue engineering applications. *Adv Mater Forum II Mater Sci Forum*, 455-456, 415-419.

Bobyn, J. D., Toh, K. K., Hacking, S. A., Tanzer, M., & Krygier, J. J. (1999). The tissue response to porous tantalum acetabular cups: A canine model. *J. Arthroplasty*, 14, 347-354.

Bobyn, J., Hacking, S., Krygier, J., Harvey, E., Little, D., & Tanzer, M. (2005). Zoledronic acid causes enhancement of bone growth in porous implants. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 87 (3), 416-420.

Bobyn, J.D.; Stackpool, G.J.; Hacking, S.A.; Tanzer, M.; Krygier, J.J. (1999). Characteristics of bone ingrowth and interface mechanics of a new porous tantalum biomaterial. *The Journal of Bone & Joint Surgery Br.*, 81B, 907-914.

Boden, S., Zdeblick, T., Sandhu, H., & Heim, S. (2000). The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages. Definitive evidence of osteoinduction in humans: a preliminary report. *Spine*, 25 (3), 376-381.

Botelho, C. M., Brooks, R. A., Best, S. M., Lopes, M. A., Santos, J. D., Rushton N, N., et al. (2006). Human osteoblast response to silicon-substituted hydroxyapatite. *Journal of Biomedical Materials Research* , 79 (3), 723-730.

Bottino, M., Coelho, P., Henriques, V., Higa, O., Bressiani, A., & Bressiani, J. (2009). Processing, characterization, and in vitro/in vivo evaluations of powder metallurgy processed Ti- 13Nb-13Zr alloys. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* , 88 (3), 689-696.

Brown, C. D., & Hoffman, A. S. (2002). Modification of natural polymer: Chitosan. У А. Atala, & R. P. Lanza (Уредници), *Methods of Tissue Engineering*, (стр. 565-574). San Diego: Academic Press.

Bystedt, H., & L., R. (2009). Porous titanium granules used as osteoconductive material for sinus floor augmentation: A clinical pilot study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* , 11 (2), 101-105.

Cai, S., & Xi, J. (2009). Morphology-controllable modeling approach for a porous scaffold structure in tissue engineering. *Virtual and Physical Prototyping* , 4 (3), 149-163.

Cao, T., Ho, K. H., & Teoh, S. H. (2003). Scaffold design and in vitro study of osteochondral coculture in a three-dimensional porous polycaprolactone scaffold fabricated by fused deposition modeling. *Tissue engineering* , 9, S103-S112.

Chang, Y., Gu, H., Kobayashi, M., & Oka, M. (1998). Influence of various surface treatments on histological fixation of titanium implants. *The Journal of Arthroplasty* , 13 (7), 816-825.

Chen, F., Feng, X., Wu, W., Ouyang, H., Gao, Z., Cheng, X., et al. (2007). Segmental bone tissue engineering by seeding osteoblasts precursor cells into titanium mesh-coral composite scaffolds. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* , 36 (9), 822-827.

Chen, G., Ushida, T., & Tateishi, T. (2002). Scaffold Design for Tissue Engineering. *Macromolecular Bioscience* , 2, 67-77.

Chen, G.-Q., & Wu, Q. (2005). The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. *Biomaterials* , 26, 6565-657.

Chen, Q. Z., & Boccaccini, A. R. (2006). Coupling mechanical competence and bioresorbability in bioglass-derived tissue engineering scaffolds. *Advanced Engineering Materials* , 8 (4), 285-289.

- Chen, Q. Z., Rezwan, K., Armitage, D., Nazhat, S. N., & Boccaccini, A. R. (2006). The surface functionalization of 45S5 Bioglass-based glass-ceramic scaffolds and its impact on bioactivity. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17 (11), 979-987.
- Chen, Q. Z., Thompson, I. D., & Boccaccini, A. R. (2006). 45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27 (11), 2414-2425.
- Chen, Q., & Boccaccini, A. R. (2006). Coupling Mechanical Competence and Bioresorbability in Bioglass®-Derived Tissue Engineering Scaffolds. *Advanced Engineering Materials*, 8 (4), 285-289.
- Chen, V. J., Smith, L. A., & Ma, P. X. (2006). Bone regeneration on computer-designed nano-fibrous scaffolds. *Biomaterials*, 27 (21), 3973-3979.
- Chu, P. K., & Liu, X. (Eds.). (2008). *Biomaterials Fabrication and Processing Handbook*. Boca Raton FL: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Chu, T. M., Halloran, J. W., Hollister, S. J., & Feinberg, S. E. (2001). Hydroxyapatite implants with designed internal architecture. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 12 (6), 471-478.
- Chu, T. M., Hollister, S. J., Halloran, J. W., Feinberg, S. E., & Orton, D. G. (2002). Manufacturing and characterization of 3-D hydroxyapatite bone tissue engineering scaffolds. *Reparative Medicine: Growing Tissues and Organs*, 961, 114-117.
- Chu, T. M., Orton, D. G., Hollister, S. J., Feinberg, S. E., & Halloran, J. W. (2002). Mechanical and in vivo performance of hydroxyapatite implants with controlled architectures. *Biomaterials*, 23 (5), 1283-1293.
- Chua, C. K., Leong, K. F., Cheah, C. M., & Chua, S. W. (2003). Development of a tissue engineering scaffold structure library for rapid prototyping. Part 1: Investigation and classification. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 21 (4), 291-301.
- Chua, C. K., Leong, K. F., Tan, K. H., Wiria, F. E., & Cheah, C. M. (2004). Development of tissue scaffolds using selective laser sintering of polyvinyl alcohol/hydroxyapatite biocomposite for craniofacial and joint defects. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15 (10), 1113-1121.
- Chua, C., Leong, K., Cheah, C., & Chua, S. (2003). Development of a tissue engineering scaffold structure library for rapid prototyping. Part 2: Parametric library and assembly program. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 21 (4), 302-312.

Chuang, H., Cho, D., Chang, C., Lee, W., Jung-Chung, C., Lee, H., et al. (2006). Efficacy and safety of the use of titanium mesh cages and anterior cervical plates for interbody fusion after anterior cervical corpectomy. *Surgical Neurology*, 65 (5), 464-471.

Cima, L. G., Vacanti, J. P., Vacanti, C., Inger, D., Mooney, D., & Langer, R. (1991). Tissue engineering by cell transplantation using degradable polymer substrates. *J Biomech EngT ASME*, 113 (2), 143-151.

Curodeau, A., Sachs, E., & Caldarise, S. (2000). Design and fabrication of cast orthopedic implants with freeform surface textures from 3-D printed ceramic shell. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 53 (5), 525-535.

Currey, J. D. (2002). *Bones : structure and mechanics*. Publisher Princeton University Press.

Dai, K., & Chu, Y. (1996). Studies and applications of NiTi shape memory alloys in the medical field in China. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 6 (4), 233-240.

Das, S., Wohler, M., Beaman, J., & Bourell, D. (1998). Producing metals parts with selective laser sintering/hot isostatic pressing. *JOM: The Member Journal of TMS*, 50 (12), 17-20.

Davies, J. (2007). Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials*, 28 (34), 5058-5067.

de Groot, K., Lein, C., Wolke, J., & de Blik-Hogervost, J. (1990). Chemistry of calcium phosphate bioceramics. In T. Yamamuro, L. L. Hench, & J. Wilson (Eds.), *Handbook of Bioactive Ceramics* (pp. 3-16). Boca Raton, FL: CRC Press.

de Peppo, G. M., Palmquist, A., Borchardt, P., Lennerås, M., Hyllner, J., Snis, A., et al. (2012). Free-Form-Fabricated cpTi and Ti6Al4V Porous Scaffolds Support the Growth of Human Embryonic Stem Cell-Derived Mesodermal Progenitors. *The Scientific World Journal*.

Devin, J. E., Attawia, M. A., & Laurencin CT, C. T. (1996). Three-dimensional degradable porous polymer-ceramic matrices for use in bone repair. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 7, 661-669.

Dinda, G., Song, L., & Mazumder, J. (2008). Fabrication of Ti6Al4V scaffolds by direct metal deposition. *Metallurgical and Materials Transactions A*, 39 (12), 2914-2922.

Doi, Y., Kitamura, S., & Abe, H. (1995). Microbial Synthesis and Characterization of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). *Macromolecules*, 28 (14), 4822-4828.

- Domb, A. J., & Langer, R. (1999). Poly(1,3-bis-p-carboxyphenoxypropane anhydride). In J. E. Mark (Ed.), *Polymer Data Handbook* (pp. 303-305). Oxford: Oxford Press.
- Domb, A. J., & Langer, R. (1999). Poly(erucic acid dimmer anhydride). In J. E. Mark (Ed.), *Polymer Data Handbook* (pp. 457-459). Oxford: Oxford Press.
- Doyle, C., Tanner, E. T., & Bonfield, W. (1991). In vitro and in vivo evaluation of polyhydroxybutyrate and of polyhydroxybutyrate reinforced with hydroxyapatite. *Biomaterials*, 841–847.
- Driskell, T. D., Hassler, C. R., & McCoy, L. R. (1973). Significance of Resorbable Bioceramics in the Repair of Bone Defects. *Proceedings of 26th Annual Conference Engineering in Medicine and Biology*, (стр. 199-206).
- Durham, S., McComb, J., & Levy, M. (2003). Correction of large (>25 cm²) cranial defects with “reinforced” hydroxyapatite cement: technique and complications. *Neurosurgery*, 52 (4), 842-845.
- Eck, K., Bridwell, K., Ungacta, F., Lapp, M., Lenke, L., & Daniel, R. (2000). Analysis of titanium mesh cages in adults with minimum two-year follow-up. *The Spine Journal : Official Journal of the North American Spine Society*, 25 (18), 2407-2415.
- Erbel, R., Di Mario, C., Bartunek, J., Bonnier, J., de Bruyne, B., Eberli, F., et al. (2007). Temporary scaffolding of coronary arteries with bioabsorbable magnesium stents: A prospective, non-randomised multicentre trial. *Lancet*, 369, 1869-1875.
- Fang, Z., Starly, B., Shokufandeh, A., Regli, W., & Sun, W. (2005). A Computer-aided Multi-scale Modeling and Direct Fabrication of Bone Structure. *Computer-Aided Design and Applications*, 2 (5), 627-634.
- Friedel, T., Travitzky, N., Niebling, F., Scheffler, M., & Greil, P. (2005). Fabrication of polymer derived ceramic parts by selective laser curing. *Journal of the European Ceramic Society*, 25 (2-3), 193–197.
- Geng, F., Tan, L., Zhang, B., Wu, C., He, Y., Yang, J., et al. (2009). Study on β -TCP coated porous Mg as a bone tissue engineering scaffold material. *Journal of Materials Science & Technology*, 25 (1), 123-129.
- Giesen, E., Lamerigts, N., Verdosnschot, N., Buma, P., Schreurs, B., & Huiskes, R. (1999). Mechanical characteristics of impacted morselised bone grafts used in revision of total hip arthroplasty. *Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume*, 81, 1052-1057.
- Gittings, J. P., Turner, I. G., & Miles, A. W. (2005). Calcium Phosphate Open Porous Scaffold Bioceramics. *Key Engineering Materials*, (Volumes 284 - 286), 349–352.

- Gollwitzer, H., Ibrahim, K., Meyer, H., Mittelmeier, W., Busch, R., & Stemberger, A. (2003). Antibacterial poly(d,l-lactic acid) coating of medical implants using a biodegradable drug delivery technology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , 51 (3), 585-591.
- Gomez, C. (2007). *A unit cell based multi-scale modeling and design approach for tissue engineered scaffolds*, PhD Thesis. Philadelphia, Pennsylvania, USA: Drexel University,.
- Gomez, C., Shokoufandeh, A., & Sun, W. (2007). Unit-cell based design and modeling in tissue engineering applications. *Computer-Aided Design and Applications* , 4 (5), 649-659.
- Goodridge, R. D., Dalgarno, K. W., & Wood, D. J. (2006). Indirect selective laser sintering of an apatite-mullite glass-ceramic for potential use in bone replacement applications. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H-Journal of Engineering in Medicine*, (pp. 57–68).
- Gordon, W., Conzemius, M., Birdsall, E., Wannemuehler, Y., Mallapragada, S., Lewallen, D., et al. (2005). Chondroconductive potential of tantalum trabecular metal. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials* , 75 (2), 229-233.
- Gray, H. (1918). *Anatomy of the Human Body* .
- Greiner, L., Oppenheimer, M., & Dunand, D. (2005). High strength, low stiffness, porous NiTi with superelastic properties. *Acta Biomaterialia* , 1 (6), 705-716.
- Gupta, S. K., Regli, W. C., Das, D., & Nau, D. S. (1995). Automated manufacturability analysis: A survey. *Research in Engineering Design* , 9 (3), 168-190.
- Habibovich, P., Li, J., van der Valk, C., Meijer, G., Layrolle, P., van Blitterswijk, C., et al. (2005). Biological performance of uncoated and octacalcium phosphate-coated Ti6Al4V. *Biomaterials* , 26 (1), 23-36.
- Hacking, S., Bobyn, J., Toh, K., Tanzer, M., & Krygier, J. (2000). Fibrous tissue ingrowth and attachment to porous tantalum. *Journal of Biomedical Materials Research* , 52 (4), 631-638.
- Hao, L., Savalani, M. M., Zhang, Y., Tanner, K. E., & Harris, R. A. (2006). Selective laser sintering of hydroxyapatite reinforced polyethylene composites for bioactive implants and tissue scaffold development. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* , 220 (H4), 521–531.
- Harris, R., Newlyn, H., Hague, R., & Dickens, P. M. (2003). Part shrinkage anomalies from stereolithography injection mould tooling. *International Journal of Machine Tools and Manufacture* , 43, 879–887.

Hartman, E., Vehof, J., Spauwen, P., & Jansen, J. (2005). Ectopic bone formation in rats: the importance of the carrier. *Biomaterials*, 26 (14), 1829-1835.

Hench, L. L. (1997). Sol-gel materials for bioceramic applications. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 2, 604-610.

Hench, L. L., & Andersson, O. (1999). Bioactive glasses. У L. L. Hench, & J. Wilson (Уредници), *An Introduction to Bioceramics* (2nd Edition изд., стр. 41-62). London: World Scientific.

Hench, L. L., & Wilson, J. (1993). *An Introduction to Bioceramics* (2nd Edition изд.). London: World Scientific Publishing Co Pte Ltd (Singapore).

Hench, L. L., Splinter, R. J., & Allen, W. C. (1971). Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research*, 5 (6), 117-141.

Henno, S., Lambotte, J. C., Glez, D., Guigand, M., Lancien, G., & Cathelineau, G. (2003). Characterisation and quantification of angiogenesis in β -tricalcium phosphate implants by immunohistochemistry and transmission electron microscopy. *Biomaterials*, 24 (19), 3173-3181.

Herrmann, R., Schmidmaier, G., Märkl, B., Resch, A., Hähnel, I., Stemberger, A., и други. (1999). Antithrombogenic coating of stents using a biodegradable drug delivery technology. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 82 (1), 51-57.

Heublein, B., Rohde, R., Kaese, V., Niemeyer, M., Hartung, W., & Haverich, A. (2003). Biocorrosion of magnesium alloys: A new principal in cardiovascular implant technology? *Heart*, 89 (6), 651-656.

Hibi, H., Yamada, Y., Ueda, M., & Endo, Y. (2006). Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 35 (6), 551-555.

Hollinger, J. O., & Battistone, G. C. (1986). Biodegradable bone repair materials. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 207, 290-305.

Hollister, S. J., Levy, R. A., Chu, T. M., Halloran, J. W., & Feinberg, S. E. (2000). An image-based approach for designing and manufacturing craniofacial scaffolds. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 29 (1), 67-71.

Hollister, S. J., Maddox, R. D., & Taboas, J. M. (2002). Optimal design and fabrication of scaffolds to mimic tissue properties and satisfy biological constraints. *Biomaterials*, 23 (20), 4095-4103.

Hollister, S. J., Taboas, J. M., Schek, R. M., Lin, C. Y., & Chu, T. M. (2005). Design and fabrication of bone tissue engineering scaffolds. In H. JO, *Bone Tissue Engineering* (pp. 167-192). CRC Press.

Hollister, S., & Lin, C. Y. (2007). Computational design of tissue engineering scaffolds. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 196 (31-32), 2991-2998.

Hsu, Y.-Y., Gresser, J. D., Trantolo, D. J., Lyons, C. M., Gangadharam, P. R., & Wise, D. L. (1997). Effect of polymer foam morphology and density on kinetics of in vitro controlled release of isoniazid from compressed foam matrices. *Journal of Biomedical Materials Research*, 35 (1), 107-116.

Hutmacher, D. W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21 (24), 2529-2543.

Hutmacher, D. W., Schantz, T., Zein, I., Ng, K. W., Teoh, S. H., & Tan, K. C. (2001). Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. *Journal of Biomedical Materials Research*, 55 (2), 203-216.

Hutmacher, D., Sittinger, M., & Risbud, M. (2004). Scaffold-based tissue engineering: Rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems. *Trends in Biotechnology*, 22 (7), 354-362.

Ignjatović N., A. Z. (2013). Nanoparticles of cobalt-substituted hydroxyapatite in regeneration of mandibularosteoporotic bones. *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, 343-354.

Jacobs, J., Skipor, A., Patterson, L., Hallab, N., Paprosky, W., Black, J., et al. (1998). Metal release in patients who have had a primary total hip arthroplasty. *The Journal of Bone & Joint Surgery .Am*, 80 (10), 1447-1458.

Jansen, J., Vehof, J., Ruhe, P., Kroze-Deutman, H., Kuboki, Y., Takita, H., et al. (2005). Growth factors-loaded scaffolds for bone engineering. *Journal of Controlled Release*, 101 (1-3), 127-136.

Jaquiéry, C., Aeppli, C., Cornelius, P., Palmowsky, A., Kunz, C., & Hammer, B. (2007). Reconstruction of orbital wall defects: critical review of 72 patients. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 36 (3), 193-199.

Jarcho, M. (1981). Calcium Phosphate Ceramics as Hard Tissue Prosthetics. *Clinical Orthopaedics & Related Research*, 157, 259-278.

Jones, A. C., Milthorpe, B., Averdunka, H., Limayec, A., Senden, T. J., Sakellarioua, A., et al. (2004). Analysis of 3D bone ingrowth into polymer scaffolds via micro-computed tomography imaging. *Biomaterials*, 25 (20), 4947-4954.

Jones, J. R., & Hench, L. L. (2003). Regeneration of trabecular bone using porous ceramics. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 7 (4-5), 301-307.

Kalita, S. J., Bose, S., Bandyopadhyay, A., & Hosick, H. L. (2002). Porous calcium aluminate ceramics for bone-graft applications. *Journal of Materials Research*, 17 (12), 3042-3049.

Kalita, S. J., Bose, S., Hosick, H. L., & Bandyopadhyay, A. (2003). Development of controlled porosity polymer-ceramic composite scaffolds via fused deposition modeling. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*, 23 (5), 611-620.

Karageorgiou, V., & Kaplan, D. (2005). Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 26 (27), 5474-5491.

Kasaga, T., Yoshio, O., Masayuki, N., & Yoshihiro, A. (2001). Preparation and mechanical properties of polylactide acid composites containing hydroxyapatite fibers. *Biomaterials*, 22, 19-23.

Keaveny, T. M., Morgan, E. F., Niebur, G. L., & Yeh, O. C. (2001). Biomechanics of trabecular bone. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 3, 307-333.

Kikuchi, M., Tanaka, J., Koyama, Y., & Takakuda, K. (1999). Cell culture test of TCP/CPLA composite. *Journal of Biomedical Materials Research*, 48 (2), 108-110.

Kim, S., Utsunomiya, H., Koski, J., Wu, B., Cima, M., Sohn, J., et al. (1998). Survival and function of hepatocytes on a novel three-dimensional synthetic biodegradable polymer scaffold with an intrinsic network of channels. *Annals of Surgery*, 228 (1), 8-13.

Kokubo, T. (1999). У Ј. F. Shackelford (Ур.), *Bioceramics: Applications of Ceramic and Glass Materials in Medicine (Materials Science Forum)* (Т. 293, стр. 65-82). Switzerland: Trans Tech Publications Ltd.

Krishna, B., Bose, S., & Bandyopadhyay, A. (2007). Low stiffness porous Ti structures for load-bearing implants. *Acta biomaterialia*, 3 (6), 997-1006.

Kroese-Deutman, H., van den Dolder, J., Spauwen, P., & Jansen, J. (2005). Influence of RGD loaded titanium implants on bone formation in vivo. *Tissue engineering*, 11 (11-12), 1867-1875.

Kroese-Deutman, H., Vehof, J., Spauwen, P., Stoelinga, P., & Jansen, J. (2008). Orthotopic bone formation in titanium fiber mesh loaded with platelet-rich plasma and placed in

segmental defects. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* , 37 (6), 542-549.

Kujala, S., Ryhänen, J., Danilov, A., & Tuukkanen, J. (2003). Effect of porosity on the osseointegration and bone ingrowth of a weight-bearing-nickel-titanium bone graft substitute. *Biomaterials* , 24 (25), 4691-4697.

Kurihara, N., Ikeda, K., Hakeda, Y., Tsunoi, M., Maeda, N., & Kumegawa, M. (1984). Effect of 1,25-Dihydroxyvitamin-D3 on Alkaline-Phosphatase activity and collagen-synthesis in osteoblastic cells, Clone Mc3t3-E1. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , 119 (2), 767-771.

Kuttenberger, J., & Hardt, N. (2001). Long-term results following reconstruction of craniofacial defects with titanium micro-mesh systems. *Journal of Cranio-Maxillo Facial Surgery* , 29 (2), 75-81.

Lal, P., & Sun, W. (2004). Computer modeling approach for microsphere-packed bone scaffold. *Computer-Aided Design* , 36 (5), 487-497.

Lam, C., Mo, X., Teoh, S., & Hutmacher, D. (2002). Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer. *Materials Science and Engineering* , 20 (1-2), 49-56.

Lanza, R., Langer, R., & Vacanti, J. P. (Eds.). (2000). *Principles of Tissue Engineering Second Edition*. Elsevier Science.

Laurencin, C. T., El-Amin, S. F., Ibim, S. E., Willoughby, D. A., Attawia, M., Allcock, H. R., et al. (1996). A highly porous 3-dimensional polyphosphazene polymer matrix for skeletal tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research* , 30 (2), 133-138.

Lee, G., & Barlow, J. (1993). Selective laser sintering of bioceramic materials for implants. *Proceedings of Solid Freeform Fabrication Symposium*, (pp. 376-380). Austin, TX.

Lee, G., Barlow, J. W., Fox, C. W., & Aufdermorte, T. B. (1996). Biocompatibility of SLS-formed calcium phosphate implants. *Proceedings of Solid Freeform Fabrication Symposium*, (pp. 15-22). Austin, TX.

Lee, M., Dunn, J. C., & Y. Wu, B. M. (2005). Scaffold fabrication by indirect three-dimensional printing. *Biomaterials* , 26 (20), 4281-4289.

Legeros, R. Z., & LeGeros, J. P. (1993). Dense hydroxyapatite. In L. L. Hench, & J. Wilson (Eds.), *An Introduction to Bioceramics* (2nd Edition ed., pp. 139-180). London: World Scientific.

- Leong, K. F., Cheah, C. M., & Chua, C. K. (2003). Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs. *Biomaterials*, 24 (13), 2363 - 2378.
- Leukers, B., Gulkan, H., Irsen, S. H., Milz, S., Tille, C., Schieker, M., et al. (2005). Hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering made by 3D printing. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16 (12), 1121-1124.
- Levy, R. A., Chu, T. M., Halloran, J. W., Feinberg, S. E., & Hollister, S. (1997). CT-generated porous hydroxyapatite orbital floor prosthesis as a prototype bioimplant. *American Journal of Neuroradiology*, 8, 1522-1525.
- Li, H., & Chang, J. (2004). Preparation and characterization of bioactive and biodegradable wollastonite/poly(D,L-lactic acid) composite scaffolds. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15 (10), 1089-1095.
- Li, H., Du, R., & Chang, J. (2005). Fabrication, Characterization, and in vitro Degradation of Composite Scaffolds Based on PHBV and Bioactive Glass. *Journal of Biomaterials Applications*, 20 (2), 137-155.
- Li, H., Zou, X., Woo, C., Ding, M., Lind, M., & Bünger, C. (2005). Lumbar spine fusion with a novel tantalum-coated carbon fibre cage loaded with Colloss®. *European cells & materials*, 10 (3), 64.
- Li, J., de Wijn, J., van Blitterswijk, C., & de Groot, K. (2005). Porous Ti6Al4V scaffolds directly fabricated by 3D fibre deposition technique: Effect of nozzle diameter. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16 (12), 1159-1163.
- Li, J., Habibovic, P., van den Doel, M., Wilson, C., de Wijn, J., van Blitterswijk, C., et al. (2007). Bone ingrowth in porous titanium implants produced by 3D fiber deposition. *Biomaterials*, 28 (18), 2810-2820.
- Li, L., Gao, J., & Wang, Y. (2004). Evaluation of cytotoxicity and corrosion behavior of alkali-heat-treated magnesium in simulated body fluid. *Surface and Coatings Technology*, 185 (1), 92-98.
- Li, P., Yang, Q., Zhang, F., & Kokubo, T. (1992). The effect of residual glassy phase in a bioactive glass-ceramic on the formation of its surface apatite layer in vitro. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 3 (6), 452-456.
- Li, X., Wang, C., Zhang, W., & Li, Y. (2009). Fabrication and characterization of porous Ti6Al4V parts for biomedical applications using electron beam melting process. *Materials Letters*, 63 (3-4), 403-405.

Li, Z., Gu, X., Lou, S., & Zheng, Y. (2008). The development of binary Mg-Ca alloys for use as biodegradable materials within bone. *Biomaterials*, 29 (10), 1329-1344.

Lian, Q., Li, D. C., Tang, Y. P., & Zhang, Y. R. (2006). Computer modeling approach for a novel internal architecture of artificial bone. *Computer-Aided Design*, 38 (5), 507-514.

Likibi, F., Chabot, G., Assad, M., & Rivard, C.-H. (2008). Influence of orthopedic implant structure on adjacent bone density and on stability. *American Journal of Orthopedics*, 37 (4), E78-E83.

Lima, E., Chao, P., Ateshian, G., Bal, B., Cook, J., Vunjak-Novakovic, G., et al. (2008). The effect of devitalized trabecular bone on the formation of osteochondral tissue-engineered. *Biomaterials*, 29 (32), 4292-4299.

Limpanuphap, S., & Derby, B. (2002). Manufacture of biomaterials by a novel printing process. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13 (12), 1163-1166.

Lin, C. Y., Kikuchi, N., & Hollister, S. J. (2004). A novel method for biomaterial scaffold internal architecture design to match bone elastic properties with desired porosity. *Journal of Biomechanics*, 37 (5), 623-636.

Lo, H., Ponticello, M. S., & Leong, K. W. (1995). Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation. *Tissue Eng*, 1 (1), 15-28.

Lobel, K. D., & Hench, L. L. (1998). In vitro adsorption and activity of enzymes on reaction layers of bioactive glass substrate. *Journal of Biomedical Materials Research*, 39, 575-578.

Long, W., & Scuderi, G. (2009). Porous tantalum cones for large metaphyseal tibial defects in revision total knee arthroplasty. *The Journal of Arthroplasty*, 24 (7), 1086-1092.

Lopez-Heredia, M., Goyenvalle, E., Aguado, E., Pilet, P., Leroux, C., Dorget, M., et al. (2008). Bone ingrowth in rapid prototyped porous titanium implants. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 85 (3), 664-673.

Lopez-Heredia, M., Sohier, J., Gaillard, C., & Quillard, S. (2008). Rapid prototyping porous titanium coated with calcium phosphate as a scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 29 (17), 2608-2615.

Lorrison, J. C., Dalgarno, K. W., & Wood, D. J. (2005). Processing of an apatite-mullite glass-ceramic and an hydroxyapatite/phosphate glass composite by selective laser sintering. *Journal of Materials Science*, 16 (8), 775-781.

Lu, H. H., El-Amin, A. F., Scott KD, J. K., & Laurencin, C. T. (2003). Three-dimensional, bioactive, biodegradable, polymer-bioactive glass composite scaffolds with improved

mechanical properties support collagen synthesis and mineralization of human osteoblast-like cells in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research* , 64 (3), 465-474.

Manjubala, I., Woesz, A., Pilz, C., Rumpler, M., Fratzl-Zelman, N., Roschger, P., et al. (2005). Biomimetic mineral-organic composite scaffolds with controlled internal architecture. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* , 16 (12), 1111–1119.

Mapili, G., Lu, Y., Chen, S. C., & Roy, K. (2005). Laser-layered microfabrication of spatially patterned functionalized tissue-engineering scaffolds. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials* , 75B (2), 414–424.

Maquet, V., Boccaccini, A. R., Pravata, L., Notingher, I., & Jerome, R. (2004). Porous poly(α -hydroxyacid)/Bioglass® composite scaffolds for bone tissue engineering. I: Preparation and in vitro characterisation. *Biomaterials* , 25 (18), 4185–4194.

Maquet, V., Boccaccini, A. R., Pravata, L., Notingher, I., & Jerome, R. (2003). Preparation, characterization, and in vitro degradation of bioresorbable and bioactive composites based on Bioglass-filled polylactide foams. *Journal of Biomedical Materials Research* , 66 (2), 335-346.

Mastrogiacomo, M., Scaglione, S., Martinetti, R., Dolcini, L., Beltrame, F., Cancedda, R., et al. (2006). Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics. *Biomaterials* , 27 (17), 3230-3237.

Matsuzaka, K., Yoshinari, M., Kokubu, E., Shiono, M., Yamada, Y., Mabuchi, M., et al. (2005). Bone formation in titanium porous scaffold with immobilization of BMP-2. *Journal of oral tissue engineering* , 2 (2), 60-65.

Meneghini, R., Lewallen, D., & Hanssen, A. (2008). Use of porous tantalum metaphyseal cones for severe tibial bone loss during revision total knee replacement. *The Journal of Bone & Joint Surgery Am* , 90 (1), 78-84.

Michiardi, A., Aparicio, C., Planell, J., & Gil, F. (2006). New oxidation treatment of NiTi shape memory alloys to obtain Ni-free surface and to improve biocompatibility. *Journal of Biomedical Materials Research B* , 77B (2), 249-256.

Middleton, J. C., & Tipton, A. J. (2000). Synthetic biodegradable polymers as orthopaedic devices. *Biomaterials* , 21 (23), 2335–2346.

Mihalj, M., & Obradović, M. (2006). *Opšta osteologija*. Novi Sad: Zmaj.

Mikos, A. G., Bao, Y., Cima, L. G., Ingber, D. E., Vacanti, J. P., & Robert, L. (1993). Preparation of poly (glycolic acid) bonded fibres structures for cell attachment and transplantation. *J Biomed Mater Res* , 27 (2), 183-189.

Mikos, A. G., Thorsen, A. J., Czerwonka, L. A., Bao, Y., Langer, R., Winslow, D. N., et al. (1994). Preparation and characterization of poly(L- lactic acid) foam. *Polymer* , 35 (5), 1068-1077.

Mitkovic, M., Milenkovic, S., Micic, I., Mladenovic, D., & Mitkovic, M. (2012). Results of the femur fractures treated with the new selfdynamisable internal fixator (SIF). *European journal of trauma and emergency surgery : official publication of the European Trauma Society* , 38 (2), 191-200.

Mooney, D. J., Baldwin, D. F., Suh, N. P., Vacanti, J. P., & Langer, R. (1996). Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L-lactic co-glycolic acid) without the use of organic solvents. *Biomaterials* , 17 (14), 1417-1422.

Mullen, L., Stamp, R., Brooks, W., Jones, E., & Sutcliffe, C. (2009). Selective laser melting: A regular unit approach for the manufacture of porous titanium, bone ingrowth constructs, suitable for orthopedic applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-applied Biomaterials* , 89B (2), 325-334.

Murr, L., Esquivel, E., Quinones, S., Gaytan, S., Lopez, M., Martinez, E., et al. (2009). Microstructures and mechanical properties of electron beam-rapid manufactured Ti-6Al-4V biomedical prototypes compared to wrought Ti-6Al-4V. *Materials Characterization* , 60 (2), 96-105.

Nadeau, M., Séguin, C., Theodoropoulos, J., & Harvey, E. (2007). Short term clinical outcome of a porous tantalum implant for the treatment of advanced osteonecrosis of the femoral head. *McGill Journal of Medicine* , 10 (1), 4-10.

Naing, M. W., Chua, C. K., Leong, K. F., & Wang, Y. (2005). Fabrication of customised scaffolds using computer-aided design and rapid prototyping techniques. *Rapid Prototyping Journal* , 11 (4), 249-259.

Najman, S., Savic, V., & Djordjevic, L. (2004). Biological evaluation of hydroxyapatite/poly-L-lactide L-lactide of different molecular weights intraperitoneally implanted into mice. *Bio-medical materials and engineering* , 14 (1), 61-70.

Navarro, M., Ginebra, M. P., Planell, J. A., Zeppetelli, S., & Ambrosio, L. (2004). Development and cell response of a new biodegradable composite scaffold for guided bone regeneration. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* , 15 (4), 419-422.

Niu, C., Chen, L., Lai, P., Fu, T., & Chen, W. (2005). Trapezoidal titanium cage in anterior cervical interbody fusion: A clinical experience. *Chang Gung Medical Journal* , 28 (4), 212-221.

- Okazaki, Y. (2001). New Ti-15Zr-4Nb-4Ta alloy for medical applications. *Solid State & Materials Science*, 5 (1), 45-53.
- Omatete, O. O., Janney, M. A., & Strehlow, R. A. (1991). Gelcasting - a new ceramic forming process. *American Ceramic Society Bulletin*, 70 (10), 1641-1649.
- Oonishi, H., Kushitani, S., Yasukawa, E., Iwaki, H., Hench, L. L., Wilson, J., et al. (1997). Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 334, 316-325.
- Ortega, F. S., Sepulveda, P., & Pandolfelli, V. C. (2002). Monomer systems for the gelcasting of foams. *Journal of the European Ceramic Society*, 22 (9-10), 1395-1401.
- Ortega, F. S., Valenzuela, F. A., Scuracchio, C. H., & Pandolfelli, V. C. (2003). Alternative gelling agents for the gelcasting of ceramic foams. *Journal of the European Ceramic Society*, 23 (1), 75v-80.
- Oudadesse, H., Derrien, A. C., & Lucas-Girot, A. (2005). Statistical experimental design for studies of porosity and compressive strength in composite materials applied as biomaterials. *The European Physical Journal Applied Physics*, 31, 217-223.
- Papenburg, B. J. (2009). *Design strategies for tissue engineering scaffolds*, PhD thesis. University of Twente.
- Partee, B., Hollister, S. J., & Das, S. (2006). Selective laser sintering process optimization for layered manufacturing of CAPA (R) 6501 polycaprolactone bone tissue engineering scaffolds. *Journal of Manufacturing Science and Engineering-Transactions of the ASME*, 128 (2), 531-540.
- Peng, L., Bian, W., Liang, F., & Xu, H. (2008). Implanting hydroxyapatite-coated porous titanium with bone morphogenetic protein-2 and hyaluronic acid into distal femoral metaphysis of rabbits. *Chinese journal of traumatology*, 11 (3), 179-185.
- Peter, S. J., Lu, L., Kim, D. J., Stamatias, G. N., Miller, M. J., Yaszemski, M. J., и други. (2000). Effects of transforming growth factor β 1 released from biodegradable polymer microparticles on marrow stromal osteoblasts cultured on poly(propylene fumarate) substrates. *Journal of Biomedical Materials Research*, 50 (3), 452-462.
- Pinto-Faria, P., Carvalho, A., Borges-Felipucci, D., Wen, C., Sennerby, L., & Salata, L. (2008). Bone formation following implantation of titanium sponge rods into humeral osteonies in dogs: A histological and histomorphometrical study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 12 (1), 72-79.

- Pitt, G. G., Gratzel, M. M., & Kimmel, G. L. (1981). Aliphatic polyesters. 2. The degradation of poly(d,l-lactide), poly(ϵ -caprolactone) and their copolymers in vivo. *Biomaterials*, 2 (4), 215–220.
- Ponader, S., von Wilmowsky, C., Widenmayer, M., Lutz, R., Heinel, P., Körner, C., et al. (2010). In vivo performance of selective electron beam-melted Ti-6Al-4V structures. *92* (1), 56-62.
- Prymaka, O., Bogdanski, D., Köllerb, M., Esenweinb, S., Muhrb, G., Beckmann, F., et al. (2005). Morphological characterization and in vitro biocompatibility of a porous nickel-titanium alloy. *Biomaterials*, 26 (29), 5801-5807.
- Radišić, M., & Vunjak-Novaković, G. (2005). Cardiac tissue engineering. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 70 (3), 541-556.
- Rahbek, O., Kold, S., Zippor, B., Overgard, S., & Soballe, K. (2005). Particle migration and gap healing around trabecular metal implants. *International orthopaedics*, 29 (6), 368-374.
- Ramin, E., & Harris, R. A. (2009). Advanced computer-aided design for bone tissue-engineering scaffolds. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 223 (3), 289-301.
- Ramin, E., & Harris, R. A. (2006). Automated design of tissue engineering scaffolds by advanced CAD. *Proceedings of 17th Solid Freeform Fabrication Symposium*, (pp. 435-449). Austin, Texas, USA.
- Regnér, L., Carlsson, L., Kärrholm, J., & Herberts, P. (1998). Ceramic coating improves tibial component fixation in total knee arthroplasty. *The Journal of Arthroplasty*, 13 (8), 882-889.
- Reifenrath, J., Palm, C., Müller, P., Hauser, H., Crostack, H., Nellesen, J., et al. (2005). Subchondral plate reconstruction by fast degrading magnesium scaffolds influence cartilage repair in osteochondral defects. *Transactions of the 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)*, 30, s 1347.
- Reinholz, G., Fitzsimmons, J., Zobitz, M., An, K.-N., Lewallen, D., Yaszemski, M., et al. (2005). Development of a biologic prosthetic composite for cartilage repair. *Tissue engineering*, 11 (9-10), 1368-1378.
- Reuber, M., Yu, L. S., & Kolff, W. J. (1987). Effect of processing temperature on the properties of polyurethane and comparison of vacuum forming and solution casting to make artificial hearts. *Artif Organs*, 11, 323-323.

Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., & Boccaccini, A. R. (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27 (18), 3413-3431.

Rhalmi, S., Charette, S., Assad, M., Coillard, C., & Rivard, C. (2007). The spinal cord dura mater reaction to nitinol and alloy particles: A 1 year study in rats. *European Spine Journal*, 16 (7), 1063-1072.

Rhalmi, S., Odin, M., Assad, M., Tabrizian, M., Rivard, C., & L.H., Y. (1999). Hard, soft tissue and in vitro cell response to porous nickel-titanium: A biocompatibility evaluation. *Biomedical Materials and Engineering*, 9 (3), 151-162.

Ristić, B., Popović, Z., Adamović, D., & Devedžić, G. (2010). Izbor biomaterijala u ortopedskoj hirurgiji. *Vojnosanitetski pregled*, 67 (10), 847-855.

Roether, J. A., Gough, J. E., Boccaccini, A. R., Hench, L. L., Maquet, V., & Jérôme, R. (2002). Novel bioresorbable and bioactive composites based on bioactive glass and polylactide foams for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13, 1207-1214.

Roschger, P., Grabner, B. M., Rinnerthaler, S., Tesch, W., Kneissel, M., Berzlanovich, A., et al. (2001). Structural development of the mineralized tissue in the human L4 vertebral body. *Journal of Structural Biology*, 136 (2), 126-136.

Roschger, P., Gupta, H. S., Berzlanovich, A., Ittner, G., Dempster, D. W., Fratzl, P., et al. (2003). Constant mineralization density distribution in cancellous human bone. *Bone*, 32 (3), 316-323.

Roy, T. D., L., S. J., Ricc, i. J., Rekow, E., Thompson, V. P., & Parsons, J. R. Performance of degradable composite bone repair products made via three-dimensional fabrication techniques. *2003*, 66 (2), 283-291.

Rumpler, M., Woesz, A., Varga, F., Manjubala, I., Klaushofer, K., & Fratzl, P. (2007). Three-dimensional growth behaviour of osteoblasts on biomimetic hydroxylapatite scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 81A (1), 40-50.

Ryan, G., Pandit, A., & Apatsidis, D. (2008). Porous titanium scaffolds fabricated using a rapid prototyping and powder metallurgy technique. *Biomaterials*, 29 (27), 3625-3635.

Sachlos, E., & Czernuszka, J. T. (2003). Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *European Cells and Materials*, 5 (29-39), 29-40.

Sachlos, E., Reis, N., Ainsley, C., Derby, B., & Czernuszka, J. T. (2003). Novel collagen scaffolds with predefined internal morphology made by solid freeform fabrication. *Biomaterials*, 24 (8), 1487–1497.

Sargeant, T., Guler, M., Oppenheimer, S., Mata, A., Satcher, R., Dunand, D., et al. (2008). Hybrid bone implants: Self-assembly of peptide amphiphile nanofibers within porous titanium. *Biomaterials*, 29 (2), 161-171.

Sargeant, T., Oppenheimer, S., Dunand, D., & Stupp, S. (2008). Titanium foam-bioactive nanofiber hybrids for bone regeneration. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2 (8), 455-462.

Saris, N., Mervaala, E., Karppanen, H., Khawaja, J., & Lewenstam, A. (2000). Magnesium: An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clinica Chimica Acta*, 294 (1-2), 1-26.

Schmidmaier, G., Wildemann, B., Bail, H., Lucke, M., Fuchs, T., & Stemberger, A. (2001). Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1) from a biodegradable poly(D,L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats. *Bone*, 28 (4), 341-350.

Schmidmaier, G., Wildemann, B., Stemberger, A., Haas, N. P., & Raschke, M. (2001). Biodegradable poly(d,l-lactide) coating of implants for continuous release of growth factors. *Journal of Biomedical Materials Research*, 58 (4), 449–455.

Schmitz, J. P., & Hollinger, J. O. (1988). A preliminary study of the osteogenic potential of a biodegradable alloplastic osteoinductive alloimplant. *Clin Orthop*, 237, 245-255.

Scholz, M., Wehmöller, M., Lehmbrock, J., Schmieder, K., Engelhardt, M., Harders, A., et al. (2007). Reconstruction of the temporal contour for traumatic tissue loss using a CAD/CAM-prefabricated titanium implant-case report. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 35 (8), 388-392.

Seal, B. L., Oterob, T. C., & Panitch, A. (2001). Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 34 (4-5), 147-230.

Sedrakyan, S., Zhou, Y. Z., Perin, L., Leach, K., Mooney, D., & Kim, H. T. (2006). Tissue engineering of a small hand phalanx with a porously casted polylactic acid-polyglycolic acid copolymer. *Tissue engineering*, 12 (9), 2675–2683.

Seitz, H., Rieder, W., Irsen, S., Leukers, B., & Tille, C. (2005). Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 74B (2), 782–788.

Shastri, V. P., Zelikin, A., & Hildgen, P. (2002). Synthesis of synthetic polymers: Poly(anhydrides). У А. Atala, & R. P. Lanza (Уредници), *Methods of Tissue Engineering* (стр. 609-617). San Diego: Academic Press.

Sherwood, J. K., Riley, S. L., Palazzolo, R., Brown, S. C., Monkhouse, D. C., Coates, M., et al. (2002). A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair. *Biomaterials*, 23 (24), 4739-4751.

Shishkovsky, I., Volova, L., Kuznetsov, M., Morozov, Y., & Parkin, I. (2008). Porous biocompatible implants and tissue scaffolds synthesized by selective laser sintering from Ti and NiTi. *Journal of Materials Chemistry*, 18 (12), 1309-1317.

Shuler, M., Rooks, M., & J.R., R. (2007). Porous tantalum implant in early osteonecrosis of the hip. *The Journal of Arthroplasty*, 22 (1).

Sidhu, K., Prochnow, T., Schmitt, P., Fischgrund, J., Weisbrode, S., & Herkowitz, H. (2001). Anterior cervical interbody fusion with rhBMP-2 and tantalum in a goat model. *The SpineJournal*, 1 (5), 331-340.

Sikavitsas, V., van den Dolder, J., Bancroft, G., Jansen, J., & Mikos, A. (2003). Influence of the un vitro culture period on the in vivo performance of cell/titanium bone tissue-engineered constructs using a rat cranial critical size defect model. *Journal of biomedical materials research*, 76A (3), 944-951.

Simske, S., & Sachdeva, R. (1995). Cranial bone apposition and ingrowth in a porous nickel-titanium implant. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 29 (4), 527-533.

Solheim, E., Sudmann, B., Bang, G., & Sudmann, E. (2000). Biocompatibility and effect on osteogenesis of poly(orthoester) compared to poly(d,l-lactic acid). *Journal of Biomedical Materials Research*, 49 (2), 257-263.

Staiger, M. P., Huadmai, J., & Dias, G. (2006). Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials*, 27 (9), 1728-1734.

Stampfl, J., Woss, A., Seidler, S., Fouad, H., Pisaipan, A., Schwager, F., et al. (2004). Water soluble, photocurable resins for rapid prototyping applications. *Macromolecular Symposia*, 217, 99-107.

Starly, B., Lau, A., Sun, W., Lau, W., & Bradbury, T. (2004). Biomimetic design and fabrication of interior architecture of tissue scaffolds using solid freeform fabrication,. *Proceedings of 15th Solid Freeform Fabrication Symposium*, (pp. 742-753). Austin, Texas, USA.

- Stojkovic M, M. J. (2010). Reverse modeling and solid free-form fabrication of sternum implant. *Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine* , 33 (3), 243-250.
- Stojkovic, M., Korunovic, N., Trajanovic, M., Milovanovic, J., Trifunovic, M., & Vitkovic, N. (2013). Design study of anatomically shaped lattice scaffolds for the bone tissue recovery. *SEECCM III 3rd South-East European Conference on Computational Mechanics an ECCOMAS and IACM Special Interest Conference*, (p. S2065). Kos.
- Sun, W., Darling, A., Starly, B., & Nam, J. (2004). Computer-aided tissue engineering: overview, scope and challenges. *Biotechnology and Applied Biochemistry* , 39, 29-47.
- Sun, W., Starly, B., Darling, A., & Gomez, C. (2004). Computer-aided tissue engineering: application to biomimetic modelling and design of tissue scaffolds. *Biotechnology and Applied Biochemistry* , 39, 49-58.
- Sun, W., Starly, B., Nam, J., & Darling, A. (2005). Bio-CAD modeling and its applications in computer-aided tissue engineering. *Computer-Aided Design* , 37 (11), 1097-1114.
- Suzuki, A., Kanetaka, H., Shimizu, Y., Tomizuka, R., Hosoda, H., Miyazaki, S., et al. (2006). Orthodontic buccal tooth movement by nickel-free titanium-based shape memory and superelastic alloy wire. *The Angle Orthodontist* , 76 (6), 1041-1046.
- Taboas, J. M., Maddox, R. D., Krebsbach, P. H., & Hollister, S. J. (2003). Indirect solid free form fabrication of local and global porous, biomimetic and composite 3D polymer-ceramic scaffolds. *Biomaterials* , 24 (1), 181-194.
- Takemoto, M., Fujibayashi, S., Neo, M., So, K., Akiyama, N., Matsushita, T., et al. (2007). A porous bioactive titanium implant for spinal interbody fusion: An experimental study using a canine model. *Journal of neurosurgery. Spine.* , 7 (4), 435-443.
- Tamai, N., Myoui, A., Tomita, T., Nakase, T., Tanaka, J., Ochi, T., et al. (2002). Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction in vivo. *Journal of Biomedical Materials Research* , 59 (1), 110-117.
- Tan, K. H., Chua, C. K., Leong, K. F., Cheah, C. M., Cheang, P., Abu Bakar, M. S., et al. (2003). Scaffold development using selective laser sintering of polyetheretherketone-hydroxyapatite biocomposite blends. *Biomaterials* , 24 (18), 3115-3123.
- Tan, K., Chua, C., Leong, K., Cheah, C., Cheang, P., Abu Bakar, M., et al. (2003). Scaffold development using selective laser sintering of polyetheretherketone-hydroxyapatite biocomposite blends. *Biomaterials* , 24 (13), 3115-3123.
- Tanner, K. E., Downes, R. N., & Bonfield, W. (1994). Clinical-applications of hydroxyapatite reinforced materials. *British Ceramic Transactions* , 93 (3), 104-107.

- Tanzer, M., Kantor, S., & Boby, J. (2001). Enhancement of bone growth into porous intramedullary implants using non-invasive low intensity ultrasound. *Journal of Orthopaedic Research*, 19 (2), 195-199.
- Tarnita, D., Tarnita, D., Bîzdoaca, N., Mîndrila, I., & Vasilescu, M. (2009). Properties and medical applications of shape memory alloys. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 50 (1), 15-21.
- Taylor, P. M., Sachlos, E., Dreger, S. A., Chester, A. H., Czernuszka, J. T., & Yacoub, M. H. (2006). Interaction of human valve interstitial cells with collagen matrices manufactured using rapid prototyping. *Biomaterials*, 27 (13), 2733-2737.
- Temenoff, J. S., & Mikos, A. G. (2000). Review: tissue engineering for regeneration of articular cartilage. *Biomaterials*, 21 (5), 431-440.
- Thalgott, J., Xiongsheng, C., & Giuffre, J. (2003). Single stage anterior cervical reconstruction with titanium mesh cages, local bone graft, and anterior plating. *The Spine Journal*, 3 (4), 294-300.
- Thompson RC, Y. M. (1995). Fabrication of biodegradable polymer scaffolds to engineering trabecular bone. *J Biomater Sci-Polym E*, 23-38.
- Thongtrangan, I., Balabhadra, R., Le, H., Park, J., & Kim, D. (2003). Vertebral body replacement with an expandable cage for reconstruction after spinal tumor resection. *Neurosurgical focus*, 15 (5), 1-6.
- Tsao, A., Roberson, J., Christie, M., Dore, D., Heck, D., Robertson, D., et al. (2005). Biomechanical and clinical evaluation of a porous tantalum implant for the treatment of early-stage osteonecrosis. *Journal of Bone and Joint Surgery Am.*, 87, 22-27.
- van den Dolder, J., & Jansen, J. (2007). Titanium fiber mesh: A nondegradable scaffold material. In M. C.-C. Felix Bronner, *Engineering of Functional Skeletal Tissues* (Vol. 3, pp. 69-80). Springer.
- van den Dolder, J., Farber, E., Spauwen, P., & Jansen, J. (2005). Bone reconstruction using titanium fiber mesh combined with rat bone marrow stromal cells. *Biomaterials*, 26 (10), 1829-1835.
- van Jonbergen, H.-P., Spruit, M., Anderson, P., & Pavlov, P. (2005). Anterior cervical interbody fusion with a titanium box cage: Early radiological assessment of fusion and subsidence. *The Spine Journal : Official Journal of the North American Spine Society.*, 5 (6), 645-649.

- Vandenbroucke, B., & Kruth, J.-P. (2007). Selective laser melting of biocompatible metals for rapid manufacturing of medical parts. *Rapid Prototyping Journal*, 13 (4), 196-203.
- Vehof, J., Haus, M., Ruijter, A., Spauwen, P., & Jansen, J. (2002). Bone formation in transforming growth factor beta-I-loaded titanium fiber mesh implants. *Clinical oral implants research*, 13 (1), 94-102.
- Vehof, J., Spauwen, P., & Jansen, J. (2000). Bone formation in calcium-phosphate-coated titanium mesh. *Biomaterials*, 21 (19), 2003-2009.
- Verma, S., Bhatia, Y., Valappil, S. P., & Roy, I. (2002). A possible role of poly-3-hydroxybutyric acid in antibiotic production in *Streptomyces*. *Archives of Microbiology*, 179 (1), 66-69.
- Verrier, S., Blaker, J. J., Maquet, V., Hench, L. L., & Boccaccini, A. R. (2004). PDLA/Bioglass composites for soft-tissue and hard-tissue engineering: an in vitro cell biology assessment. *Biomaterials*, 25 (15), 3013-3021.
- Vert, M., Mauduit, J., & Li, S. (1994). Biodegradation of PLA/GA polymers: increasing complexity. *Biomaterials*, 15 (15), 1209-1213.
- Walboomers, X., & Jansen, J. (2005). Bone tissue induction, using a COLLOSS®-filled titanium fiber mesh-scaffolding material. *Biomaterials*, 26 (23), 4779-4785.
- Wang, F., Shor, L., Darling, A., Khali, I. S., Sun, W., & Guceri, S. (2004). Precision extruding deposition and characterization of cellular poly-epsilon-caprolactone tissue scaffolds. *Rapid Prototyping Journal*, 10 (1), 42-49.
- Wang, Y., Chai, W., Wang, Z.-G., Zhou, Y.-G., Zhang, G.-Q., & Chen, J.-Y. (2009). Superelastic cage implantation. A new technique for treating osteoncosis of the femoral head with middle-term follow-ups. *The Journal of Arthroplasty*, 24 (7), 1006-1014.
- Wettergreen, M. A., Bucklen, B. S., Yuksel, E. S., & Liebschner, M. A. (2005). Creation of a unit block library of architectures for use in assembled scaffold engineering. *Computer-Aided Design*, 37 (11), 1141-1149.
- Williams, J., Adewunmi, A., Schek, R. M., Flanagan, C. L., Krebsbach, P. H., Feinberg, S. E., et al. (2005). Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. *Biomaterials*, 26 (23), 4817-4827.
- Wilson, C. E., de Bruijn, J. D., van Blitterswijk, C. A., Verbout, J., A., Dhert, et al. (2004). Design and fabrication of standardized hydroxyapatite scaffolds with a defined macro-

architecture by rapid prototyping for bone-tissue-engineering research. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* , 68A (1), 123-132.

Witte, F., Feyerabend, F., Maier, P., Fischer, J., Störmer, M., Blawert, C., et al. (2007). Biodegradable magnesium-hydroxyapatite metal matrix composites. *Biomaterials* , 28 (13), 2163-2174.

Witte, F., Kaese, V., Switzer, H., Meyer-Lindenberg, A., Wirth, C., & Windhag, H. (2005). In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials* , 26 (17), 3557-3563.

Witte, F., Reifenrath, J., Müller, P., Crostack, H.-A., Nellesen, J., Bach, F., et al. (2006). Cartilage repair on magnesium scaffolds used as a subchondral bone replacement. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* , 37 (6), 504-508.

Witte, F., Ulrich, H., Palm, C., & Willbold, E. (2007). Biodegradable magnesium scaffolds: Part II: Periimplant bone remodeling. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* , 81 (3), 757-765.

Witte, F., Ulrich, H., Rudert, M., & Willbold, E. (2007). Biodegradable magnesium scaffolds: Part I: Appropriate inflammatory response. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* , 81 (3), 748-756.

Woesz, A. (2008). Rapid Prototyping to Produce Porous Scaffolds with Controlled Architecture for Possible use in Bone Tissue Engineering. У В. Bidanda, & P. Bártolo (Уредници), *Virtual Prototyping & Bio Manufacturing in Medical Applications* (стр. 171-206). Springer.

Woesz, A., Rumpler, M., Manjubala, I., Pilz, C., Varga, F., Stampfl, J., et al. (2005). The influence of the thermal treatment of hydroxyapatite scaffolds on the physical properties and the bone cell ingrowth behaviour. *Materials Research Society Symposium Proceedings*. 874, p. L 7.9.1. San Francisco: Materials Research Society .

Woodfield TB, T. B., Malda J, J., de Wijn, J., Péters, F., & van Blitterswijk, C. A. (2004). Design of porous scaffolds for cartilage tissue engineering using a three-dimensional fiber-deposition technique. *Biomaterials* , 25 (18).

Wu, S., Liu, X., Hu, T., Chu, P., Ho, J., Chan, Y., et al. (2008). A Biomimetic hierarchical scaffold: Natural growth of nanotitanates on three-dimensional microporous Ti based metals. *Nano Letters* , 8 (11), 3803–3808.

Xiong, Z., Yan, Y., Zhang, R., & Sun, L. (2001). Fabrication of porous poly(-lactic acid) scaffolds for bone tissue engineering via precise extrusion. *Scripta Materialia* , 45 (7), 773-779.

Xue, W., Krishna, B., Bandyopadhyay, A., & Bose, S. (2007). Processing and biocompatibility evaluation of laser processed porous titanium. *Acta biomaterialia* , 3 (6), 1007-1018.

Yamamuro, T., Hench, L. L., & Wilson, J. (1990). *Handbook of Bioactive Ceramics* (1st edition изд.). Boca Raton FL: CRC Press.

Yang, S., Leong, K. F., Du, Z., & Chua, C. K. (2001). The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue engineering* , 679-689.

Yoo, D. J. (2011). Computer-aided porous scaffold design for tissue engineering using triply periodic minimal surfaces. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing* , 12 (1), 61-71.

Yoon, D. M., & Fisher, J. P. (2009). *Biomedical Materials*. (R. Narayan, Уп.) Springer.

Young, A. C., Omatete, O. O., Janney, M. A., & Menchhofer, P. A. (1991). Gelcasting of alumina. *Journal of the American Ceramic Society* , 74 (3), 612-618.

Yuan, H., de Bruijn, J. D., Zhang, X., van Blitterswijk, C. A., & de Groot, K. (2001). Bone induction by porous glass ceramic made from Bioglass® (45S5). *Journal of Biomedical Materials Research* , 58 (3), 270-276.

Zein, I., Hutmacher, D. W., Tan KC, K. C., & Teoh, S. H. (2001). Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. *Biomaterials* , 23 (4), 1169-1185.

Zeltinger, J., Sherwood, J., Graham, D., Müller, R., & Griffith, L. (2001). Effect of pore size and void fraction on cellular adhesion, proliferation, and matrix deposition. *Tissue Engineering* , 7 (5), 557-572.

Zhang, E., & Zou, C. (2009). Porous titanium and silicon-substituted hydroxyapatite biomodification prepared by a biomimetic process: characterization and in vivo evaluation. *Acta biomaterialia* , 5 (5), 1732-1741.

Zhang, E., Xu, L., Yu, G., & Pan, F. (2009). In vivo evaluation of biodegradable magnesium alloy bone implant in the first 6 months implantation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* , 90 (3), 882-893.

Zhang, K., Wang, Y., Hillmayer, M. A., & Francis, L. F. (2004). Processing and properties of porous poly(L-lactide)/bioactive glass composites. *Biomaterials* , 25 (13), 2489-2500.

Zhang, W., Walboomers, X., van Kuppevelt, T., Daamen, W., Bian, Z., & Jansen, J. (2006). The performance of human dental pulp stem cells on different three-dimensional scaffolds materials. *Biomaterials* , 2006, 5658-5668.

Zhang, Y., Ahn, P., Fitzpatrick, D., Heiner, A., Poggie, R., & Brown, T. (1999). Interfacial frictional behavior: cancellous bone, cortical bone, and a novel tantalum biomaterial. *Journal of Musculoskeletal Research*, 3 (4), 245-251.

Zhu, S., Yang, X., Chen, M., Li, C., & Cui, Z. (2008). Effect of porous NiTi alloy on bone formation: a comparative investigation with bulk NiTi alloy for 15 weeks in vivo. *Materials Science & Engineering C*, 28 (8), 1271-1275.

Zou, X., Li, H., Büniger, M., Egund, N., Lind, M., & Büniger, C. (2004). Bone ingrowth characteristics of porous tantalum and carbon fiber interbody devices: An experimental study in pigs. *The Spine Journal*, 4 (1), 99-105.

Zou, X., Li, H., Zou, L., Mygind, T., Lind, M., & C, B. (2007). Porous tantalum trabecular metal scaffolds in combination with a novel marrow processing technique to replace autograft. *Advances in experimental medicine and biology*, 585, 197-208.

8 ПРИЛОГ

ПИЛОТ ИСПИТИВАЊЕ СВОЈСТАВА ТИТАНИЈУМСКЕ МРЕЖИЦЕ ASLS У ФУНКЦИЈИ КОШТАНОГ СКАФОЛДА НА МОДЕЛУ РЕПАРАЦИЈЕ ПОВРЕДЕ ТИБИЈЕ КУНИЋА

(део везан за биолошка својства скафолда)

РАДНА ХИПОТЕЗА:

Титанијумска мрежице ASLS поседује механичка и биолошка својства коштаног скафолда.

8.1 ЦИЉЕВИ ЕКСПЕРИМЕНТА

ХИРУРШКИ

Испитивање начина формирања повреде тибије за каснију репарацију (приступ месту, употребу инструмената и прибора).

Испитивање начина постоперативне заштите оперисаног места (типови имобилизације).

БИОЛОШКИ

Испитивање адхезивности и остекондуктивности ASLS после 8 недеља од имплантације.

Испитивање степена остегеног процеса у присуству титанијумске мрежице (ASLS).

Испитивање остеогене активности минералног биоматеријала помешаног са компонентама крви и мезенхимским ћелијама масног ткива унутар титанијумске мрежице (ASLS).

8.2 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ЗА ПОСТАВКУ ЕКСПЕРИМЕНТА

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНЕ ЖИВОТИЊЕ

У експерименту су коришћени кунџи соја чинчила, мушког пола, старости 6 месеци, телесне масе око 3 кг. Животиње су држане на собној температури (20-22°C) у 12 часовном циклусу светла и мрака. Храњене су и појене *ad libitum*.

СКАФОЛД

У експериментима је имплантиран анатомски прилагођен скафолд тј. титанијумска мрежица ASLS направљена методом ЕВМ и DMLS.

МАТЕРИЈАЛ ЗА ИМПЛАНТАЦИЈУ (ПОПУЊАВАЊЕ СКАФОЛДА)

Као материјали за попуњавање скафолда коришћени су биоматеријал (*Bio-Oss*) и аутологни биолошки додаци (компоненте крви и мезенхимске ћелије масног ткива).

Биоматеријал *Bio-Oss* (Geistlich Pharma AG, Switzerland) (сл. 118) је произведен од минералног матрикса говеђе кости. Величина гранула је 0.25-1.0 mm. Намењен је за супституцију кости у оралној, перидонталној и максилофацијалној хирургији.



Слика 118. Комерцијално паковање *Bio-Oss*

АНЕСТЕЗИОЛОШКА И ОПЕРАЦИОНА ПРОЦЕДУРА

Животиње су анестезиране по стандардној процедури Одељења за експерименталну хирургију Медицинског факултета у Нишу. На оперативном месту је обријана длака, а обријано место је потом дезинфиковано Повидон јодом.

Имплантација у костни дефекат вршена је на проксималном делу дијафизе тибије.

Дефекат у кости на проксималном делу дијафизе тибије, помоћу зубарске бушилице SURGIC XT, SG50MS, NSK, JAPAN, је избушен бургијом пречника 2.1 mm. Коначно формиран дефект је димензија већих од димензија мрежице ASLS око 8 mm.

Постоперативни третман кунића је спроведен по процедури Одељења за експерименталну хирургију и виваријума Медицинског факултета

Жртвовање кунића је спроведено по процедури Одељења за експерименталну хирургију и виваријума Медицинског факултета

Цео ток експеримента праћен је фотодокументациом и то: кунића пре захвата, дефекта и његове позиције, испуњавања скафолда смешом, имплантата смештеног на повређено место, затворене ране, спољашње фиксације.

ДИЗАЈН ЕКСПЕРИМЕНТА

На 6 кунића су направљени дефекти тибије истог типа.

На 4 кунића у место дефекта је имплантирана титанијумска мрежица ASLS са аутологим биолошким додацима.

Два кунића су служила као контрола. Код њих су на место дефекта враћени парчићи њихове смрскане кости добијене у поступку формирања дефекта.

Сви експериментални услови за свих 6 кунића били су исти.

Током трајања експеримента свакодневно је праћено здравствено стање животиња.

Током трајања експеримента вршена су СТ снимања тибије.

Након 8 недеља од доношења повреде кунићи су жртвовани и рађене су анализе повређене кости, имплантата и околног ткива.

МЕТОДЕ АНАЛИЗЕ ИМПЛАНТАТА:

- Фотодокументовање експлантације: анестезирани кунић пре експлантације, скидање спољашње фиксације, спољашње место повреде, место повреде на тибији, експлантирани материјал и сл.
- СТ и рендгенски снимак повређеног места након 10 дана и 6 недеља од имплантације.
- Хистолошка анализа имплантата и околног ткива кости.

ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА

Узимани су узорци имплантата са делом околног ткива и фиксирани у 10% формалину са фосфатним буфером. Фиксација је кључна за презервацију ткивне структуре и спречавање ћелијске аутолизе од стране ензима, ћелијске разградње, деградације ткива и протеина. Формалдехид образује унакрсне везе између суседних протеинских ланаца и ћелије чини погодним за бојење. Ткиво са имплантатом је декалцификовано у 10% EDTA како би се уклониле неорганске компоненте из ткива и олакшало сечење ткива за хистолошку и хистохемијску анализу.

ХИСТОХЕМИЈСКА БОЈЕЊА

Фиксирана и декалцификована ткива су даље обрађена према стандардном лабораторијском протоколу. Ткива су дехидратисана постепено од 70% до апсолутног етанола и просветљена у толуолу. Ткива су затим укалупљена у парафинске блокове и сечена (дебљина пресека 3-6 μm) на микротому (LEICA RM2255, Germany). Исечци су стављени у процес депарафинисања који почиње топљењем парафина у термостату на 56°C преко ноћи, а затим се наставља помоћу органских растварача. Пре бојења препарати се хидратишу постепено кроз серију опадајућих концентрација алкохола. Примењено је бојење Harrisovim хематоксилином и еозином (H&E), *Toluidine blue* (TB)-Толуидин плаво и Von Kossa.

Хематоксилин-еозин (HE) је стандардна хистолошка метода бојења која се користи за дефинисање ћелијских структура. Хематоксилин је базна боја која киселе структуре ткива боји плаво, док еозин представља киселу боју и боји у различите нијансе црвене позитивно наелектрисане структуре, као што је цитоплазма.

Толуидин плаво је употребљено за хистохемијско обележавање анјонских гликокоњугата, као што су протеоглици и гликозаминоглици, дајући реакциони продукт у различитим нијансама и интензитетима плаве боје, чиме се маркирају нови делови екстрацелуларног матрикса и грануле мастоцита.

Von Kossa је бојење неорганске компоненте коштаног ткива односно бојење фосфата. Овим бојењем се утврђује степен минерализације коштаном ткиву током остеогеног процеса.

СВЕТЛОСНА МИКРОСКОПИЈА

Морфолошка анализа ткива и ћелија у имплантату и око њега на обојеним хистолошким препаратима вршена је на лабораторијском светлосном микроскопу (Leica DMLS).

8.2.1 ИЗВОЂЕЊЕ ЕКСПЕРИМЕНТА

Експеримент је извођен према горе наведеном плану.

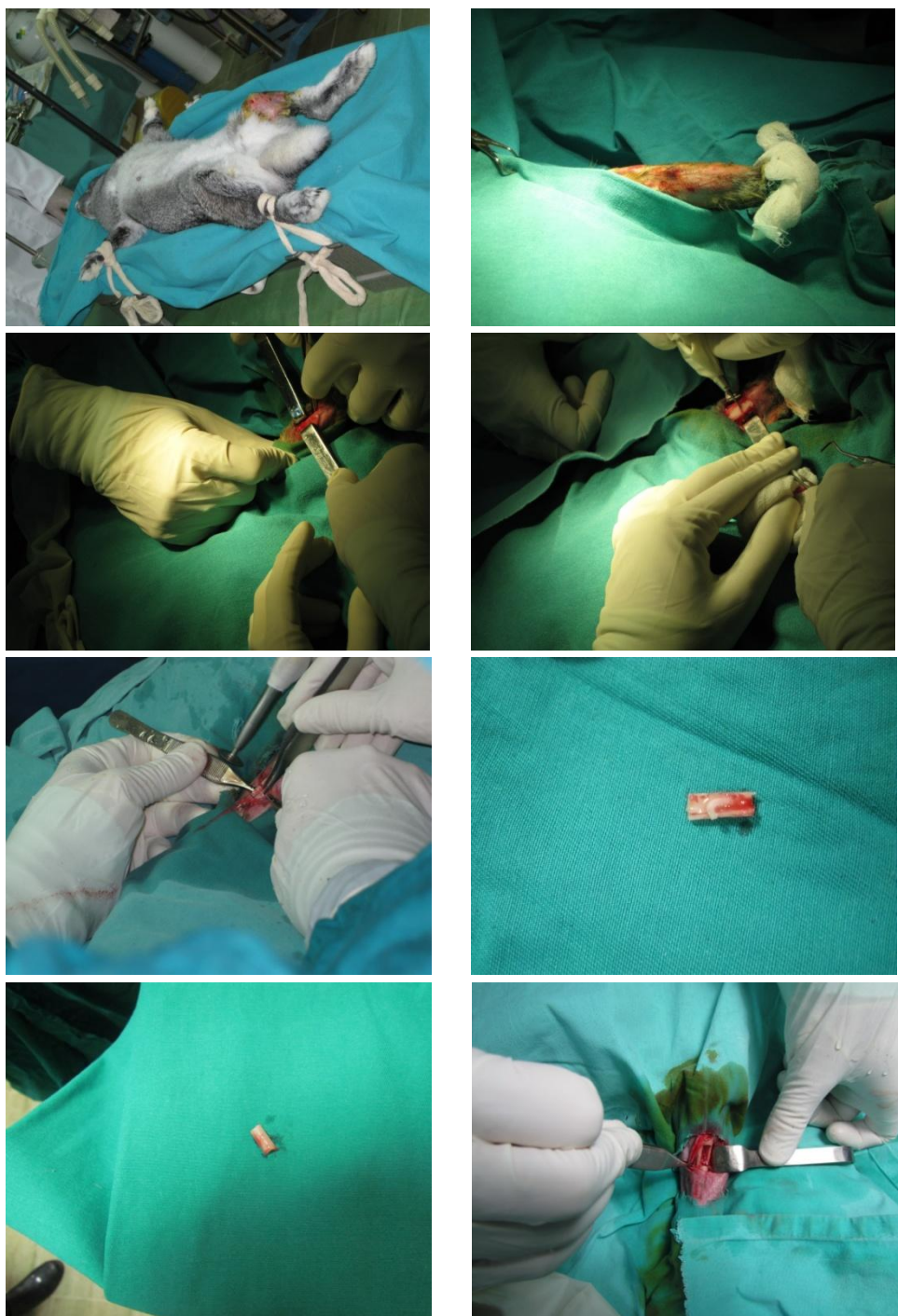
Након анестезије и хируршке припреме кунића за имплантацију по процедури Одељења за експерименталну хирургију Медицинског факултета у Нишу и анализе напред наведених хируршких аспеката и захтева везаних за изазивање дефекта, пласирање скафолда и постоперативну заштиту и имобилизацију оперисаног места на проксималном делу дијафизе тибије кунића формиран је дефекат димензија већих од димензија мрежице ASLS, који спада у дефекте критичне величине код кунића.

Предњим приступом се прилази до места имплантације, спроведе се хемикортикотомија и одстрани део кости. Затим се (како је већ напред поменуто) на припремљено место пласира скафолд који се испуњава материјалом за попуњавање скафолда који се састоји од коштаног заменика *Bio-Oss* и аутологних биолошких додатака тј. компонената крви и мезенхимских ћелија масног ткива. Фиксација скафолда је спроведена са два ресорптивна конца док је зашивање ране изведено уз помоћ шавова по слојевима.

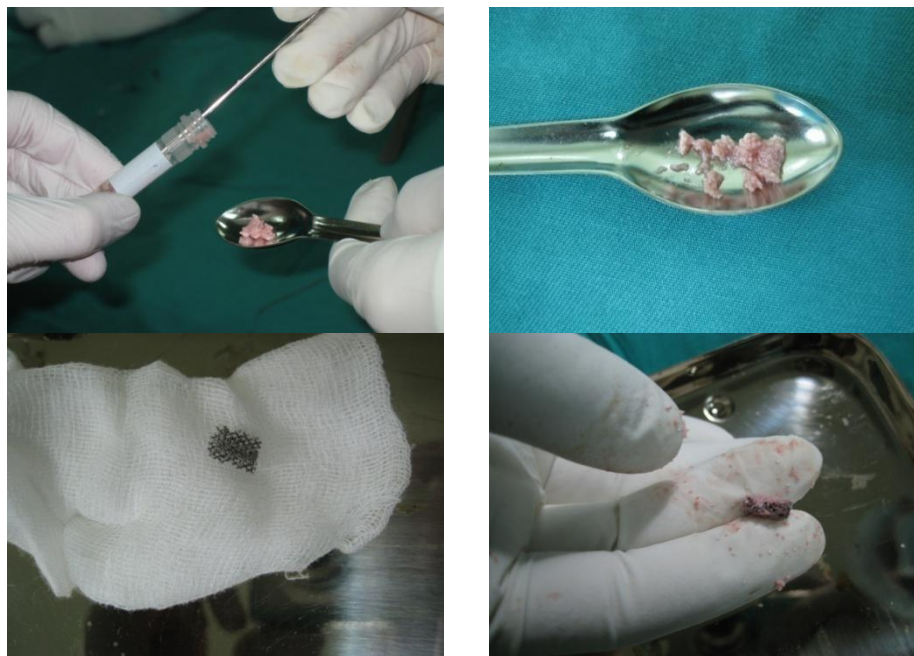
На контролном кунићу спроведена је иста процедура формирања дефекта, али је уместо имплантата у место дефекта враћено одстрањено парче кости. Дефект у овом кунићу је служио за поређење са дефектима у које је имплантиран скафолд.

У експерименту је пробано и више начина постоперативног третмана ноге са дефектом. Разлози за то су биле фрактуре у региону дефекта које су настајале у данима непосредно после обављене операције. Најпре је покушана имобилизација гипсом, затим само завојем, да би на крају било закључено да је, због оптерећења тибије, неопходна спољашња фиксација, која је и спроведена ручно изађеним фиксатором уз помоћ Киришнерових игала и цевчица испуњеним цементом.

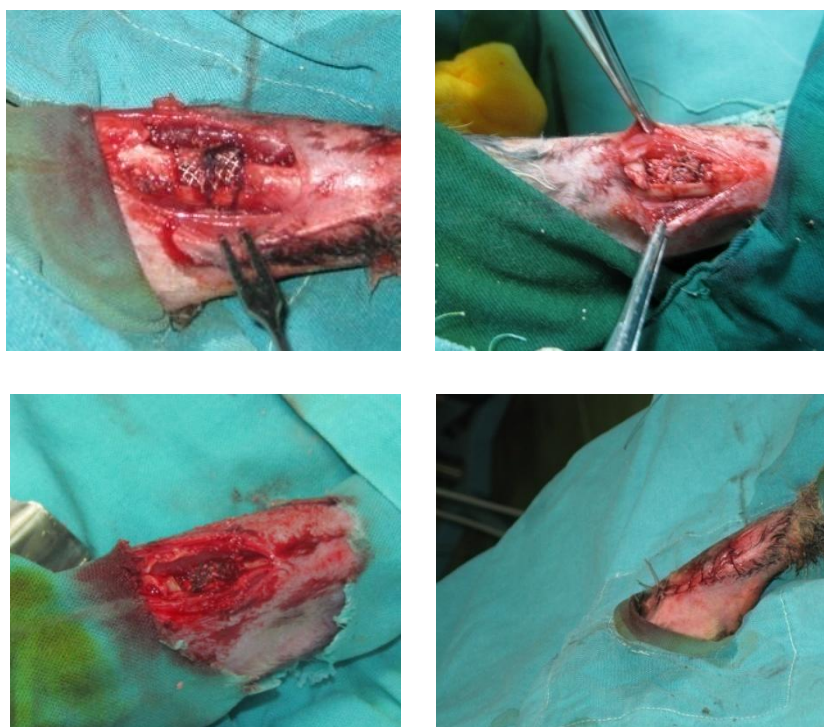
Фотодокументација експеримента по фазама приказана је на сликама 119-122.



Слика 119. Прва фаза експеримента: припрема кунџа, изазивање дефекта одговарајућим хируршким инструментима и острањивање дела кости



Слика 120. Припрема материјала за попуњавање скафолда



Слика 121. Имплантација и фиксација скафолда



Слика 122. Постоперативни третман гипсом (горе лево) и спољашња фиксација ручно прављеним спољашњим фиксатором

СТ и рендгенски снимци урађени су 10 дана и 6 недеља након извршених захвата.

На рендгенским снимцима (сл. 123) и СТ снимцима, након 10 дана, може се уочити да је скафолд лепо пласиран и приметно је задебљање које одговара изгледу новоствореног коштаног ткива. Такође, приметно је да је мрежаста

скафолд деловао стабилизирајуће, јер прелом тибије у региону дефекта изгледа боље код кунића са имплантираним скафолдом него код контролног.



Слика 123. Рендгенски снимак тибије кунића са имплантираним скафолдом (горе) и контролног кунића (доле)

Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за реконструкцију коштаног ткива

На СТ снимцима након 6 недеља (сл. 124) може се уочити да је знатно већа количина и густина калуса, тј. коштана структура је зрелија и формиран је дебљи слој кости на репарисаним дефектима у којима се налазио скафолд. Коштано ткиво је приметно и унутар и око скафолда. Уочава се репозиција кости, прелом је боље срастао и стабилнији је у односу на прелом код контролног кунџа.



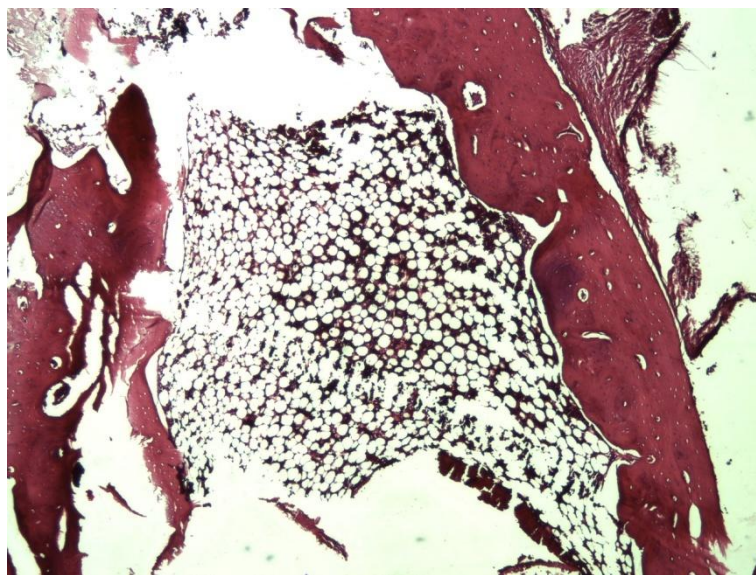
Слика 124. СТ снимци тибије кунџа након 6 недеља од имплантације

Након 8 недеља од формирања дефекта спроведено је жртвовање кунића по процедури Одељења за експерименталну хирургију и виваријума Медицинског факултета.

8.2.2 ХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА ИМПЛАНТАТА И ОКОЛНОГ ТКИВА КОСТИ

Ради упоређења резултата експеримента са структуром здраве кости хистолошка структура здраве кости кунића приказана је на сликама 125 и 126.

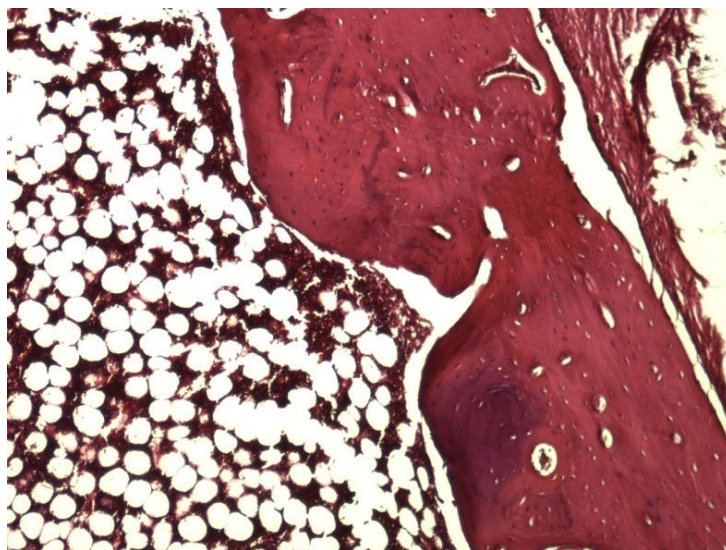
На хистолошком пресеку приказаном на сл. 125 види се здрава кортикална кост са медуларним каналом испуњеним коштаном сржи. Уочава се карактеристичан распоред Хаверзових канала и крвни судови.



Слика 125. Хистолошка структура кости кунића, увећање: x40 (HE)

Слика 126 приказује на већем увећању (x100) хистолошку структуру здраве кортикалне кости и хистолошку грађу коштане сржи у здравој кости.

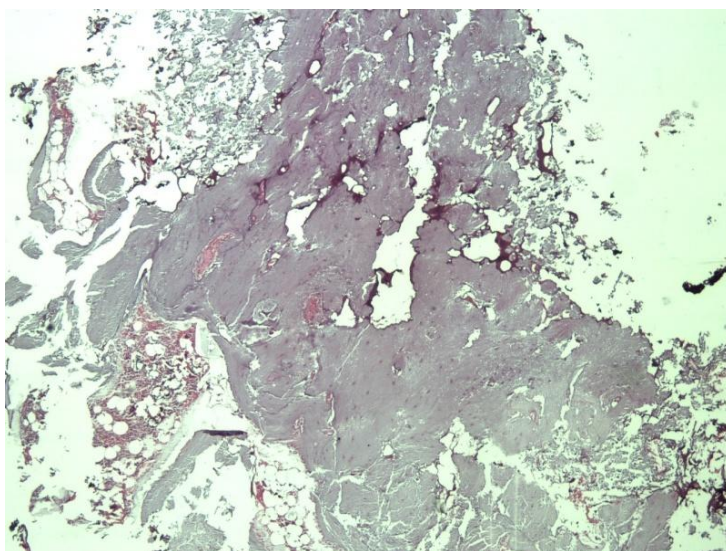
У кортикалној кости се уочавају густе лакуне са остеоцитима, нормално развијен Хаверзов систем, као и разни пресеци крвних судова.



Слика 126. Хистолошка структура здраве кости, увећање: $\times 100$ (HE)

За анализу имплантата унутар ASLS и околног ткива кости коришћене су напред поменуте технике бојења и то : стандардна техника бојења (HE), бојење на остеобласте и коштану срж (ТВ) и бојење на минерални матрикс кости (VK).

Део резултата хистолошке анализе кости контролних кунића коришћених у експерименту је приказан на сликама 127 и 128.

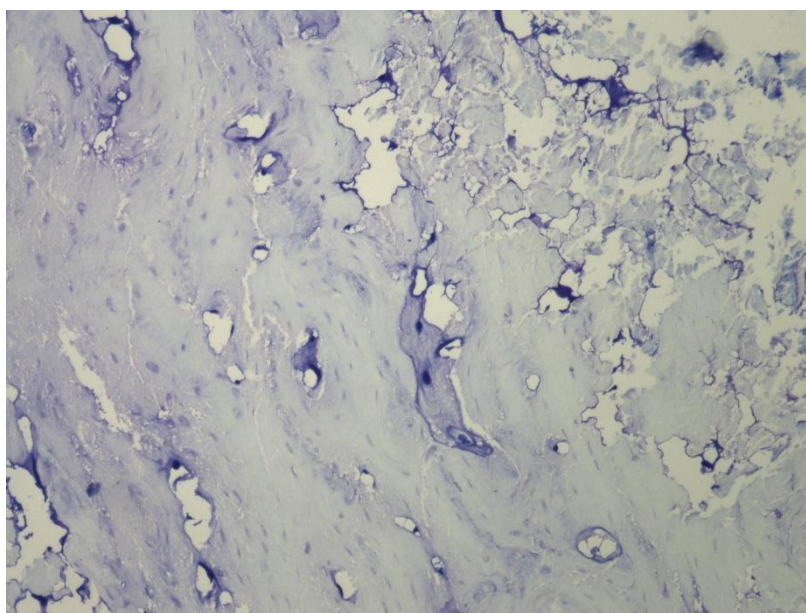


Слика 127. Кост калуса контролног кунића, увећање: $\times 40$ (ТВ)

На слици 127 се види коштано ткиво формирано током 8 недеља на месту дефекта који је служио као контрола.

Овде се могу уочити крупни и ситнији крвни судови, формирано остеоцити, ламеларна кост, али се виде и подручја незрелог коштаног ткива, као и некротизирани кости. Уз формирану кост је и простор испуњен коштаном сржи, богатом хематопоезним ткивом и крвним судовима. Део простора између кости и коштане сржи испуњава везивно ткиво.

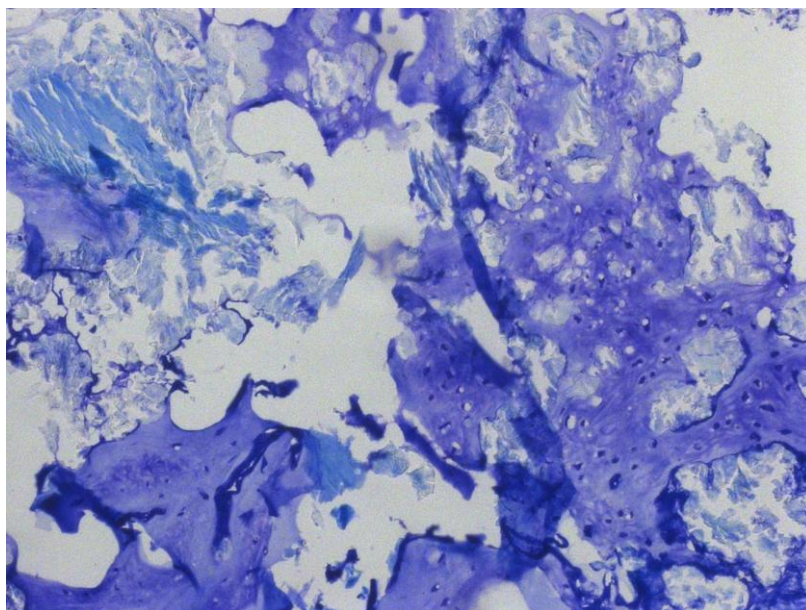
У калусу контролног кунућа (на увећању $\times 100$), (сл. 128) лакуне се слабо уочавају и густина остеоцита изгледа ређа у односу на здраву кост, осим на местима са младом кости у формирању (сл. 128). На ткивним исечцима се види и Хаверзов систем у формирању поред подручја већ зреле ламеларне кости.



Слика 128. Калус на месту дефекта контролног кунућа, увећање: $\times 100$ (ТВ)

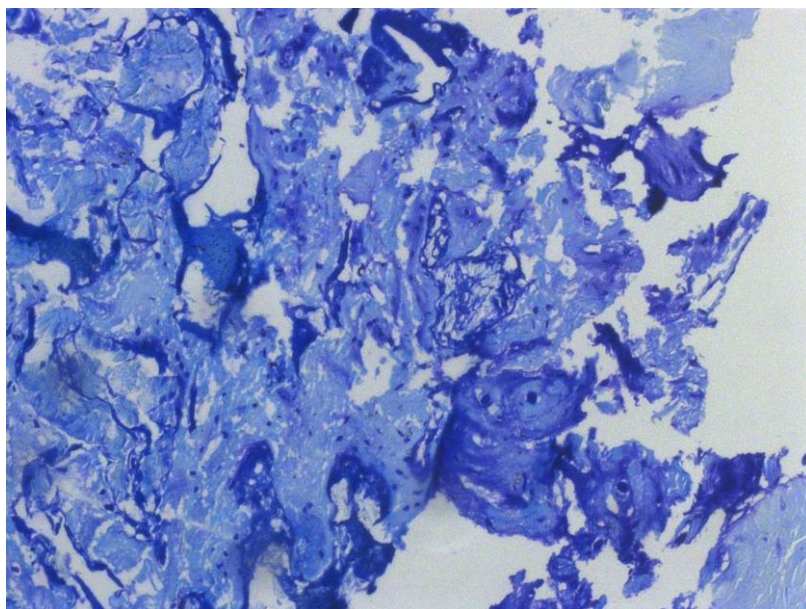
Изглед хистолошке грађе кости кунућа са имплантираним скафолдом ASLS приказана је на сликама 129 и 130.

Слика 129 показује исечак ткива са непосредног окружења имплантираног мрежастог титанијумског скафолда ASLS на месту дефекта у тибиви након 8 недеља. Види се некротизирани ткиво, девителинизирана кост и остаци имплантираног биолошког материјала. На маргинама некротизираних ткива и имплантираног материјала јасно се уочавају зоне новостворене кости, која још нема зрели, ламеларни карактер.



Слика 129. Калус на месту дефекта кунића са имплантираним ASLS, увећање: $\times 200$ (ТВ)

На слици 130 приказан је исечак ткива са непосредног окружења имплантираног мрежастог титанијумског скафолда (ASLS) на месту дефекта у тибији након 8 недеља.

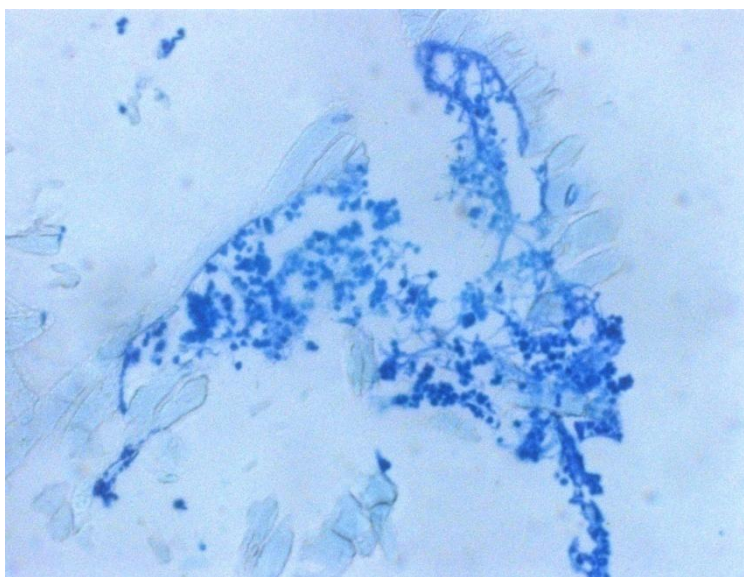


Слика 130. Калус на месту дефекта кунића са имплантираним ASLS, увећање: $\times 200$ (ТВ)

За анализу ткива унутар титанијумске мрежице-ASLS коришћене су све три технике бојења: HE, TB и VK.

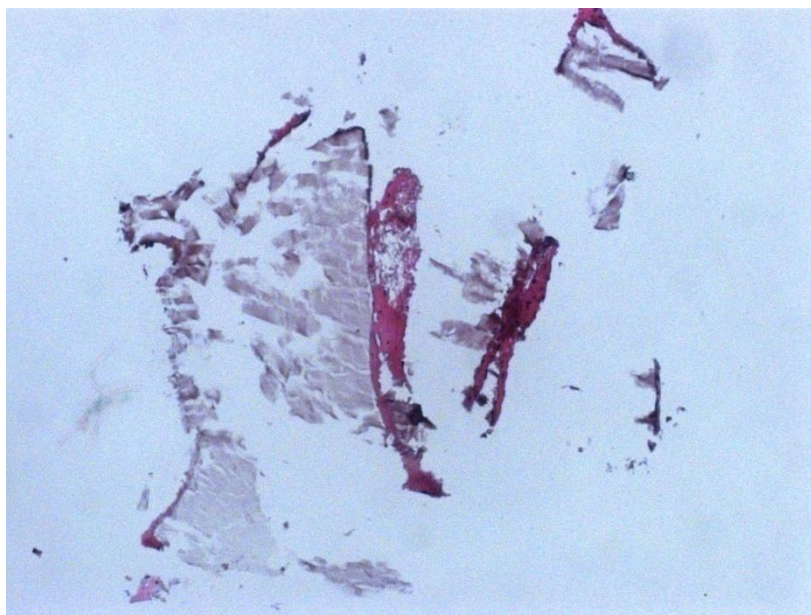
Изглед грађе ткива унутар ASLS приказан је на сликама 131-133.

На слици 131 се виде фрагментни имплантираног минералног супституента кости (*Bio-Oss*) (бледо обојено) и детаљи развијене коштане сржи са различитим ћелијским елементима крвних лоза распоређених у матриксу сржи. На појединим пољима слике је видљиво развијен матрикс уз слабу целуларност.

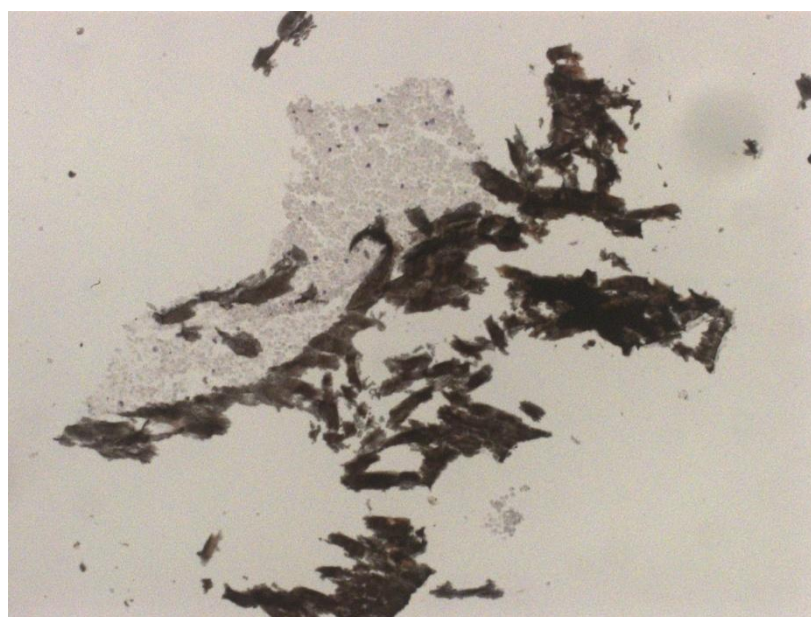


Слика 131. Исечак ткива унутар имплантираног ASLS, увећање: $\times 400$ (TB)

Слика 132 приказује фрагменте имплантата унутар титанијумског скафолда мрежице ASLS са партикулама минералног супституента кости (*Bio-Oss*) (бледо обојено) и коштаном ткивом (црвено обојено) унутар којег је присутна коштане срж. Коштано ткиво је развијено на периферији гранула минералног супституента кости, а структура кости указује на недовршен процес ремоделирања.



Слика 132. Исечак ткива унутар имплантиране титанијумске мрежице ASLS, увећање: x200 (HE)



Слика 133. Исечак ткива унутар имплантиране ASLS титанијумске мрежице, увећање: x200 (VK)

Слика 133 приказује детаље имплантата унутар титанијумске мрежице ASLS са развијеном коштаном срж (бледо обојено) и фрагментима кости (тамно смеђе обојено). Коштана срж на слици изгледа компактно и добро целуларизовано, а добра обојеност на фосфате (Von Kossa бојење) коштаных фрагмената, говори о довршеном процесу минерализације у формирању кости.

На основу анализа хистолошких препарата може се закључити да се: на површини скафолда ствара нова кост што говори у прилог његове остеокомпатибилности и остеокондуктивности у односу на контролне кунџе код којих је аутологна кост графтирана (аутотрансплантирана). Анализе препарата из подручја унутар ASLS показују да долази до процеса формирања коштаног ткива унутар кога је присутна коштана срж, што показује да у овом подручју постоји амбијент за остеогенезу и хематопоезу.

Генерално анализа хистолошких препарата показала је да постоји остеогенеза у подручју унутар и око скафолда.

Аутографтирана кост је нешто боља варијанта за стварање новог ткива (регенерацију) кости на дефекту где недостаје кост него скафолд испуњен биолошким материјалом којег су чинили коштани супституенти и аутологни састојци крви и мезенхимска фракција масног ткива.

Са друге стране радиографски налаз и ткивна густина указују да пласирани скафолд даје механичка својства кости која су супериорнија од графтиране кости.

Овим пилот експериментом дефинитивно је показано да се помоћу скафолда може направити надокнада коштаног ткива у ситуацијама када оно из неког разлога недостаје.

9 СПИСАК СЛИКА

Слика 1. Облик костију	20
Слика 2. Типови коштаних ћелија	23
Слика 3. Коштане ћелије.....	24
Слика 4. Компактна и спонгиозна кост.....	27
Слика 5. Структура кости	29
Слика 6. Интрамембранско окоштавање	32
Слика 7. Ендхондрално окоштавање -развој примарног центра осификације.....	33
Слика 8. Развој секундарног центра осификације и формирање зглобне хрскавице и епифизне плоче.....	34
Слика 9. Почетак процеса ресорпције деловањем остеокласта на површину трабекуларне кости који еродирају минерал и матрикс.....	35
Слика 10. Процес ресорпције је завршен стварањем плитких улегнућа на површини кости тзв. Хаушипових лакуна	36
Слика 11. Почетак процеса формирања кости: Остеобласти обнављају површину и испуњавају еродирана улегнућа новом кости која се након тога минерализује тј. калцификује	36
Слика 12. Површина кости је обновљена и покривена слојем заштитних коштаних ћелија које се називају облажуће (lining) ћелије. Нова кост је калцификована и процес ремоделирања је завршен.....	37
Слика 13. Пример уобичајеног концепта инжењеринга ткива	39
Слика 14. Примери ћелија које попуњавају простор без остављања празнине; лево: три шестоугаоне призме; десно: пет ромбичних додекаедара	44
Слика 15. Примери ћелија који попуњавају простор остављајући празнине; лево: четири зарубљене коцке, десно: четири кубоктаедра а)празнина, б) простор испуњен ћелијама.....	45
Слика 16. а) тространа призма, (b) кубоктаедар (категорија 1), (c) зарубљена коцка (категорија 2).....	45
Слика 17. Сегмент фемура (лево) и израђен прилагођен скафолд (десно).....	46
Слика 18. САТЕ приступ	47
Слика 19. Примери пројектованих јединичних ћелија скафолда.....	47
Слика 20. Методологија IAD	48
Слика 21. Израђени модели	48
Слика 22. Вишенивојско моделирање кости.....	49
Слика 23. Библиотека регуларних полиедара	50
Слика 24. Коришћење библиотеке градивних блокова тј. јединичних ћелија и њихово распоређивање на адекватним локацијама (у зависности од захтева) за израду једног сложеног модела као што је тело пршљена	50
Слика 25. Микроскопски, макроскопски и вишенивојски воксел модел кости	51
Слика 26. Једноставан воксел модел (лево); Израђен Na-Alginate узорак на основу воксел модела (десно).....	51
Слика 27. Израђени скафолд пода орбите.....	52

*Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за
реконструкцију коштаног ткива*

Слика 28. Пројектовани скафолд као цилиндар са ортогоналним порама, израђен скафолд од HA; имплантација истог у мандибулу прасића	52
Слика 29. а) Глобално и локално порозан PLA скафолд израђен техником salt leaching, 8 mm пречник 8 mm висина; б) бифазни PLA/HA керамички (врх=PLA, жут=PLA, плав=HA); в) μ CT бифазног скафолда са одстрањеним делом да би се демонстрирало спајање обе фазе. PLA је у директном контакту са HA	53
Слика 30. Скафолди израђени на Solidscape Model Maker 2	54
Слика 31. Пројектована микроструктура људског дисталног фемура: а) STL модел, б) прототип израђен уз помоћ 3D Ink Jet Printing, Sanders Model Maker 2, 10 mm \times 10 mm \times 10 mm)	54
Слика 32. лево) скафолд; десно) теоретски регенерисана кост	55
Слика 33. Моделирање коштаног скафолда (Булова разлика)	56
Слика 34. Израђен модел коштаног скафолда	56
Слика 35. Различити примери солид модела за типичан TPMS	57
Слика 36. Различити модели коштаних скафолда	58
Слика 37. Скафолд са CPC влакнима и унутрашња 2D концентрична структура влакана	59
Слика 38. Зависност састава биоактивних стакала и стакло-керамике са могућношћу везивања за кости и мека ткива	91
Слика 39. а) Запреминска ерозија и б) површинска ерозија	98
Слика 40. Solvent casting /particulate leaching технологија	108
Слика 41. Gas foaming технологија	109
Слика 42. Phase separation технологија	110
Слика 43. Emulsion freeze drying техника	112
Слика 44. SEM секције FDM скафолда различитих геометрија	123
Слика 45. Израђени PCL скафолди SLS технологијом	124
Слика 46. Узорак PCL скафолда и скафолд мандибуларне кондиле свиње произведени SLS технологијом	125
Слика 47. Скафолд израђен SLS процесом	126
Слика 48. Пробни узорци скафолда израђених SLA технологијом (лево) и слике са конфокалног микроскопа и SEM микрографија израђених SLA скафолда са прецизном израдом унутрашњих канала (десно)	126
Слика 49. Скафолд израђен TheriForm 3DP процесом	127
Слика 50. Различити облици скафолда израђени 3DP технологијом од биоматеријала природног порекла	128
Слика 51. Калуп израђен помоћу 3DP технологије (лево) и на основу њега добијен PLGA скафолд	129
Слика 52. Вишеслојне SLS структуре од HA/фосфата стакло композита	131
Слика 53. HA скафолди израђени на 3DP машини и накнадно синтеровани	132
Слика 54. 3DP тест узорци након синтеровања	132
Слика 55. Архитектура и димензије HA скафолда израђених на Theriform машини	133
Слика 56. HA скафолд пода орбите убачен на модел леве орбите од акрилног полимера	134
Слика 57. Узорци HA скафолда након синтеровања израђени помоћу SLA калупа	135

Слика 58. Израђен калуп (лево) и на основу њега HA скафолд (десно)	136
Слика 59. Калуп произведен BPM технологијом и израђени HA скафолди.....	137
Слика 60. Скафолди од хитозана пре (лево) и након freeze drying процеса.....	138
Слика 61. Узорци различитих скафолда израђених FDM технологијом	139
Слика 62. Калупи израђени BPM технологијом (горе) и на основу њих израђени хитозан/HA композитни скафолди (доле)	140
Слика 63. Волумен коштаног ткива исечка дугих костију (а) и први скуп гредица који „следи“ или „прати“ геометрију обвојне површине кости (б)	154
Слика 64. Мрежа обвојних и унакрсних унутрашњих гредица.....	155
Слика 65. Структура потпорне решетке ASLS: густина обвојних гредица је знатно већа од густине попречних унакрсних гредица.....	155
Слика 66. Попречне унакрсне и кортикалне гредице „остављају“ велике контактне површине за интеракцију графта са матичним и околним ткивом	156
Слика 67. CAD метод израде обвојних мрежица са контролом појединих параметара	157
Слика 68. Промена параметара ASLS-а у циљу оптимизације конструкције	158
Слика 69. Примери пресликаних ASLS на тибију кунића (а), Acetabular labrum (б) и људску тибију (ц)	159
Слика 70. Имплантатни склоп (расподела оптерећења се може контролисати обликом попречног пресека и просторним распоредом гредица (ASLS)).....	160
Слика 71. Место трауме	161
Слика 72. Величина и облик недостајућег дела кости	162
Слика 73. „Закре“ или Patch-еви обвојне површине кости – геометријске основе за моделирање просторне мреже града скафолда	162
Слика 74. Мрежа просторних кривих које ће да послуже као водиле за формирање гредица обвојне потпорне структуре скафолда.....	163
Слика 75. Просторне решетке обвојне потпорне структуре скафолда	163
Слика 76. Криве које ће да послуже као водиле за формирање унутрашњих унакрсних гредица потпорне структуре скафолда	164
Слика 77. Унутрашње унакрсне гредице скафолда	164
Слика 78. Кориснички-дефинисан модел: општа геометријска варијанта скафолда (кружни попречни пресек)	165
Слика 79. Промена угла укрштања и величине одстојања између гредица на кортикалној решетки узрокује битно различиту геометрију скафолда.....	165
Слика 80. Специфична варијанта геометрије ASLS намењена 3D биоплотеру.....	166
Слика 81. Геометријски модел склопа сегмента тибије кунића и ASLS, за различите вредности угла решетке скафолда	169
Слика 82. MKE модел склопа сегмента тибије кунића и ASLS, за угао решетке скафолда од 72° са приказаним граничним условима и оптерећењима. Гранични услови и оптерећења дефинисани су над чеоним површинама.....	170
Слика 83. Еквивалентни напон на склопу сегмента тибије и ASLS за угао решетке од 32°, приказан на деформисаном облику модела заједно са контуром недеформисаног модела. Ради уочљивости, за приказ померања је коришћена размера од 500:1	170
Слика 84. Интензитет померања на склопу ASLS и сегмента тибије, за три различите вредности угла титанијумске решетке	171

Слика 85. Смањење дужине дефекта d при дејству аксијалне силе интензитета $20N$, у зависности од угла решетке скафолда α , за три различита материјала скафолда.....	172
Слика 86. Еквивалентни напон према хипотези Von Mises-а, за три различите вредности угла решетке титанијумског скафолда.....	172
Слика 87. 3D Bioplotter.....	174
Слика 88. Шематски приказ процеса 3D биоплотована, изградња првог слоја (лево); дизајн (пројектовање) порозног 3D скафолда уз помоћ процеса 3D биоплотована (десно)	175
Слика 89. Процес 3D биоплотована	176
Слика 90. Процес без и са медијумом за плотована.....	177
Слика 91. а) скафолд израђен коришћењем ваздуха као медијума; б) скафолд израђен коришћењем воде као медијума	178
Слика 92. Шема DMLS процеса.....	180
Слика 93. Систем EOSINT M 280	180
Слика 94. EBM процес	183
Слика 95. Arcam A1 систем	185
Слика 96. Примери шаблона израђених на биоплотеру	188
Слика 97. Могућност коришћења различитих материјала при изради објекта	189
Слика 98. Модел прилагођен захтевима биоплотера.....	189
Слика 99. Први пробни узорци модела израђени од силикона са дебљином слоја од $400\ \mu m$ (горе) и $200\ \mu m$ (доле)	190
Слика 100. Израда пробних узорака скафолда од силикона	190
Слика 101. Појава пукотина на осушеним узорцима.....	192
Слика 102. Узорци ASLS израђени на биоплотеру	193
Слика 103. Пробни узорци ASLS са чврсто и јаком носећом структуром	195
Слика 104. Узорци различитих варијантних решења ASLS са слабом носећом структуром.....	196
Слика 105. Узорци различитих варијантних решења ASLS након уклањања носеће структуре	196
Слика 106. Узорци AL-ASLS израђени EBM технологијом.....	198
Слика 107. Шематски приказ технолошког процеса израде ASLS у општем случају.....	198
Слика 108. Тежина (значај) величина за утврђивање применљивости ТП	204
Слика 109. Процентуално учешће значаја (тежине) сваке од величина за утврђивање применљивости ТП у оцени применљивости процеса	205
Слика 110. Вредност величина - V за утврђивање применљивости ТП 3D биоплотера.....	206
Слика 111. Вредност величина- V за утврђивање применљивости ТП DMLS.....	206
Слика 112. Вредност величина - V за утврђивање применљивости ТП EBM	207
Слика 113. Упоређење вредности $T \times V$ код DMLS и EBM	211
Слика 114. Релациона шема базе података калкулатора	212
Слика 115. Приказ оцене применљивости AT коришћених у изради ASLS.....	213
Слика 116. Упоредна анализа времена израде ASLS код DMLS и EBM технологије.....	214
Слика 117. Упоредна анализа цене израде ASLS код DMLS и EBM технологије.....	215
Слика 118. Комерцијално паковање Bio-Oss.....	249

*Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за
реконструкцију коштаног ткива*

Слика 119. Прва фаза експеримента: припрема кунића, изазивање дефекта одговарајућим хируршким инструментима и острањивање дела кости.....	253
Слика 120. Припрема материјала за попуњавање скафолда.....	254
Слика 121. Имплантација и фиксација скафолда.....	254
Слика 122. Постоперативни третман гипсом (горе лево) и спољашња фиксација ручно прављеним спољашњим фиксатором.....	255
Слика 123. Рендгенски снимак тибије кунића са имплантираним скафолдом (горе) и контролног кунића (доле).....	256
Слика 124. СТ снимци тибије кунића након 6 недеља од имплантације.....	257
Слика 125. Хистолошка структура кости кунића, увећање: ×40 (HE).....	258
Слика 126. Хистолошка структура здраве кости, увећање: ×100 (HE).....	259
Слика 127. Кост калуса контролног кунића, увећање: ×40 (ТВ).....	259
Слика 128. Калус на месту дефекта контролног кунића, увећање: ×100 (ТВ).....	260
Слика 129. Калус на месту дефекта кунића са имплантираним ASLS, увећање: ×200 (ТВ).....	261
Слика 130. Калус на месту дефекта кунића са имплантираним ASLS, увећање: ×200 (ТВ).....	261
Слика 131. Исечак ткива унутар имплантираног ASLS, увећање: ×400 (ТВ).....	262
Слика 132. Исечак ткива унутар имплантиране титанијумске мрежице ASLS, увећање: ×200 (HE).....	263
Слика 133. Исечак ткива унутар имплантиране ASLS титанијумске мрежице, увећање: ×200 (VK).....	263

10 СПИСАК ТАБЕЛА

Табела 1. Кости скелета	18
Табела 2. Параметри дизајна скафолда у инжењерингу коштаног ткива.....	42
Табела 3. Материјали који се најчешће користе у инжењерингу меких ткива.....	59
Табела 4. Материјали који се најчешће користе у инжењерингу тврдих ткива.....	60
Табела 5. Претклиничка испитивања употребе скафолда од Та.....	67
Табела 6. Клиничка испитивања употребе скафолда од Та.....	68
Табела 7. Претклиничка испитивања употребе скафолда од магнезијума	70
Табела 8. Претклиничка испитивања употребе скафолда од Ti.....	72
Табела 9. Клиничка испитивања употребе титанијумских скафолда.....	74
Табела 10. Претклиничка испитивања употребе NiTi скафолда	75
Табела 11. Клиничка испитивања употребе NiTi скафолда	77
Табела 12. Претклиничка испитивања употребе скафолда од титанијум-керамике, титанијум-полимера или скафолда од титанијума испуњеног ћелијама.....	79
Табела 13. Претклиничка испитивања употребе хибридних Та скафолда	82
Табела 14. Клиничка испитивања употребе скафолда од титанијум-керамике, титанијум-полимера, скафолда испуњеног ћелијама или скафолда од титанијума испуњеног аутологим коштаном графтом	84
Табела 15. Листа обећавајућих биоматеријала за израду скафолда за регенерацију кости	87
Табела 16. (Chu & Liu, 2008) Поређење механичких карактеристика калцијум фосфата и људске кости	90
Табела 17. Механичке карактеристике хидроксиапатита, 45S5 биостакла, стакло керамике, и људске кортикалне кости	92
Табела 18. Листа природних полимера, порекло и примене	93
Табела 19. Физичке карактеристике синтетичких, биокompatibilних и биоразградивих полимера истраживаних као материјала за израду скафолда	96
Табела 20. Биокompatibilности пројектовани за инжењеринг коштаног ткива	104
Табела 21. Предност и недостаци синтетичких биоматеријала за скафолде у инжењерингу коштаног ткива	107
Табела 22. Карактеристике конвенционалних технологија за израду скафолда	113
Табела 23. Предности и недостаци конвенционалних технологија за израду скафолда у инжењерингу ткива (Leong, Cheah, & Chua, 2003)	117
Табела 24. Поређење различитих АТ које могу да произведу металне скафолде за чврста ткива.....	120
Табела 25. Материјали који се користе код АТ за израду порозних биоразградивих скафолда у ТЕ.....	141
Табела 26. Табеларни приказ неких (напред описаних) покушаја примене АТ за израду скафолда од различитих материјала и резултати примене истих	142
Табела 27. Предности и недостаци примене најчешће коришћених АТ у изради скафолда.....	150
Табела 28. Типичне вредности карактеристика еластичности разматраних материјала ...	169

*Примена адитивних технологија у изради анатомски прилагођених скафолда за
реконструкцију коштаног ткива*

Табела 29. Максималне вредности еквивалентног напона на решетки.....	173
Табела 30. Техничке карактеристике 3D биоплотер система.....	178
Табела 31. Техничке карактеристике EOSINTM 280 машине.....	180
Табела 32. EOS Механичке карактеристике материјала CobaltChrome MP1.....	181
Табела 33. Механичке карактеристике материјала EOS Titanium TiCP.....	182
Табела 34. Механичке карактеристике EOS Titanium Ti64.....	182
Табела 35. Механичке карактеристике материјала EOS Titanium Ti64 ELI.....	182
Табела 36. Карактеристике Arcam A1 система.....	185
Табела 37. Механичка својства Arcam Grade 2 титанијум.....	186
Табела 38. Механичка својства легуре титанијума Ti6Al4V.....	186
Табела 39. Механичка својства легуре титанијума Ti6Al4V ELI.....	186
Табела 40. Механичка својства ASTM F75 CoCr легура.....	187
Табела 41. Бинарно оцењивање технологичности конструкције ASLS.....	202
Табела 42. Критеријумска матрица за оцену применљивости AT.....	208

ПРЕГЛЕД СКРАЋЕНИЦА

μ

μCT: Micro Computed Tomography-
микрокомпјутеризована томографија ·
84

З

ЗDF: 3D Fiber Deposition-3D депоновање
влакана · 72
ЗDP: 3D Printing-3D штампање · 48

А

AL-ASLS: (Anti-Labyrinth)- Anatomically
Shaped Latticed Scaffolds-анатомски
прилагођени скафолди · 152
ALIF: Anterior Lumbar Interbody Fusion-
предња интеркорпорална фузија · 84
AT(RP): Additive Technologies-Rapid
Prototyping-адитивне технологије · 52

В

BCA: bone-like carbonated apatite-налик
кости угљенични апатит · 84
BCP: Biphasic Calcium Phosphate-бифазни
калцијум фосфати · 87
BGF: Bone Growth Factors – фактори раста
костију · 43
BIC: Bone Implant Contact-контакт коштаног
имплантата · 73
BMP-2: Bone Morphogenetic Protein-2 · 65
BPM: Ballistic Particle Manufacturing · 122

С

CAD: Computer Aided Design-рачунаром
подржано пројектовање · 46
CASTS: Computer Aided System for Tissue
Scaffolds · 45
CATE: Computer Aided Tissue Engineering-
рачунаром подржан ТЕ · 46
CF-HIP: Capsule-Free Hot Isostatic Pressing ·
77
COLLOSS®: Производ садржи говеђи
екстрацелуларни матрикс · 73
CP: Commercial pure · 64
CPC: Calcium Phosphate Cement-калцијум
фосфатни цемент · 58
CT: Computer Tomography-компјутерска
томографија · 46

D

DLP: Direct Light Processing · 129
DMD: Direct Metal Deposition-директна
депозиција метала · 121
DW: Distilled Water-дестилована вода · 191

DMLS: Direct Metal Laser Sintering-
директно ласерско синтеровање метала
·174

Е

EBM: Electron Beam Melting-топљење
млазом електрона · 120
ECM: extracellular matrix-екстрацелуларни
матрикс · 16, 21

F

FAST: Field Assisted Sintering Technique · 113

FD: Freeze Drying · 113

FDA: Food and Drug Administration · 122

FDM: Fused Deposition Modeling-
моделирање депоновањем истопљеног
материјала · 118

FEA: Finite Element Analysis-анализа
методом коначних елемената · 46

G

GAG: Glycosaminoglycan · 93

H

HC: Hepatocyte-хепатоцит · 127

HyA: Hyaluronan-хијалурон · 88

HA: Hydroxyapatite- хидроксиапатит · 52

I

IAD: Internal Architecture Design · 48

IFD: Interbody Fusion Device-уређај за
интеркорпоралну фузију · 77

L

LENS: Laser Engineered Net Shaping · 121

M

MRI: Magnetic Resonance Imaging-магнетна
резонанца · 46

MBT: Mineralized Bone-like Tissue · 137

N

NiTi: Nitinol · 65

O

OCP: Octacalcium phosphate-октакалцијум
фосфат · 82

P

PA: Polyamide-полиамид · 45

PBT: Polybutylene Terephthalate-поли
бутилен тетрафталат · 122

PCL: Poly(ϵ -caprolactone)-поли(ϵ -
капролактона) · 87

PDLA: Poly(d-lactic acid)-поли (D-лактид) · 87

PDLLA: Poly(d,l-lactic acid)-поли (DL-
лактида) · 87

PE: Polyethylene-полиетилен · 67

PEEK: Poly Ether Ether Ketone · 124

PEGDMA: Polyethylene Glycol
Dimethacrylate-поли етилен
диметакрилат · 126

PETG: Polyethylene Terephthalate Glycol-
поли етилен гликол тетрафталат · 122

PGA: Poly(glycolic acid)-полигликолна
киселина · 53

PHA: Poly(hydroxyalkanoate)-поли хидрокси
алканоати · 87

PHB: Poly(hydroxybutyrate)-
поли(хидроксибутират), · 59

PHO: Poly(3-hydroxyoctanoate) · 87

PHV: Poly(3-hydroxyvalerate)-поли(3-
хидрокси валерати) · 87

PLA: Poly(lactic acid)-полилактична
киселина · 53

PLGA: Poly(lactic-co-glycolic acid)-
поли(лактид ко гликоид) · 87

PLLA: Poly(L-lactic acid)-поли (L-лактид) · 87

PNT: Порозни Нитинол · 75

POE: Poly(ortho esters)-поли(орто-естри) ·
87

PP: Polypropylene-полипропилен · 138
PPF: Poly(propylene fumarates) -
поли(пропилен фумарати) · 60
PPHOS: Poly(phosphazene)-полифосфазени ·
88
PS: Polysaccharides-полисахариди · 59
PVA: Polyvinyl alcohol-поливинил алкохол ·
140

R

RBM: Rat Bone Marrow-коштана срж
пацова · 73
RGD: Arginine-Glycine-Aspartic Acid-
аргинин-аспартат-глицин киселина · 78
RGDS: Arg-gly-Asp-Ser синтетички пептид ·
82
rhBMP-2: Рекомбинантни морфогенски
протеин људске кости · 86
RM: Rapid Manufacturing- брза производња
· 118

S

SBF: Simulated Body Fluid-симулирана
телесна течност · 93
SC/PL: Solvent Casting /Particulate Leaching
· 108
SEM: Scanning Electron Microscope · 56
SFF: Solid Freeform Fabrication-AT- RP-
адитивне технологије · 118
SHS: *Self Propagating High Temperature
Synthesis* · 113
Si-HA: Силиконска замена хидроксиапатита
· 82

SLA: Stereolithography-стереолитографија ·
52
SLM: Selective Laser Melting-селективно
ласерско топљење · 120
SLS: Selective Laser Sintering-селективно
ласерско синтеровање · 45, 77
SME: Shape Memory Effect- ефекат
памћења облика · 65
SPS: *Spark Plasma Sintering* · 113

T

TCP: TriCalcium Phosphate-трикалцијум
фосфат · 60
TE: tissue engineering -инжењеринг ткива ·
16, 38
TEOM: Tissue-Engineered Osteogenic
Material-TE остеогени материјал · 86
TIPS: Thermally Induced Phase Separation ·
99
TPMS: Triply Periodic Minimal Surfaces-
троструко периодичне минималне
површи · 57
TGF- β : Transforming Growth Factor · 65
TKA: Total Knee Arthroplasty-тотална
артропластика колена · 62
TMJ: Temporomandibular Joint-
темпоромандибуларни зглоб · 52

V

VGF: Vascular Growth Factors- васкуларни
фактори раста · 43