



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

МАСТЕР РАД

**Својства и примена биоактивних композитних материјала у
инжењерству коштаног ткива**

Ментор:
проф.др Ђорђе Вељовић

Студент:
Бојана Башчаревић

Крагујевац, 2025.

Скраћенице:

HAp - хидроксиапатит; **3D** - тродимензионални; **ECM** - екстрацелуларни матрикс; **TCP** – трикалцијум-фосфат; **BCP** - двофазни калцијум-фосфат; **TTCP** – тетракалцијум-фосфат; **CRG** - стакла са контролисаним отпуштањем јона; **A/W** - апатит/воластонит; **BG** - биоактивна стакла, **MBG** - мезопорозна биоактивна стакла, **SGG** - сол-гел стакла; **MPG** - микропорозна стакла; **FAD** (U.S.Food and Drug Administration) - Управа за храну и лекове; **SEM** - скенирајућа електронска микроскопија; **FESEM** - скенирајућа електронска микроскопија поља; **TEM** - трансмисиона електронска микроскопија; **Col** - колаген; **GPTMS** - (3-глицидил оксипропил)триметоксисилан); **Gel** - желатин; **Gel-Ma** - желатин-метакриолит; **CTS** -хитозан; **PLA** - полимлечна киселина; **PCL** - поликапролактон; **PGA** – полигликолна киселина; **PLGA** - полилактат-когликолна киселина; **PLLA** – поли L-млечна киселина; **PMMA** - полиметилметакрилат; **Alg** - алгинат; **OA** - оксидисани алгинат; **TE** - ткивни инжењеринг; **RM** - регенеративна медицина; **BMMSC** - мезенхимске матичне ћелије из коштане сржи; **MSC** - мезенхимске матичне ћелије; **ISISA** - самосастављање изазвано сегрегацијом леда; **PVA** - поливинилалкохол; **SBF** - симулирани телесни флуид; **YSZ** - итријум стабилизован цирконијумом; **HyA**- хијалуронска киселина; **FDM** - моделирање фузионог таложења; **HUVEC** - ендотелне ћелије хумане умбиликалне вене; **CPC**- калцијум фосфатни цемент; **DMF** - диметилформамид; **ALP** - алкална фосфатаза, **PEO**- поли(етилен оксид); **UHMWPEO**- поли(етилен-оксид) ултрависоке молекулске тежине

Табеле:

Табела 1. Састав неорганског дела кости и зуба

Табела 2. Разлике у саставу, кристаографским и механичким особинама зубне глеђи хумане кости и синтетисаног хидроксиапатита

Табела 3. Састав биоактивних стакала према Хенчу

Слике:

Слика 1. Ћелије коштаног ткива

Слика 2. Врсте коштаног ткива

Слика 3. Структура кости

Слика 4. Структура зуба

Слика 5. Кристална структура α -трикалцијум фосфата (α) и β -трикалцијум фосфата

Слика 6. Кристална структура калцијум хидроксиапатита

Слика 7. Механизам везивања биоактивних стакала за живо ткиво

Слика 8. Механизам формирања карбонатног хидроксиапатита на стакло-керамици A/W према Кокубу

Слика 9. Превлака биоактивног стакла добијена електрофоретском депозицијом на легури Ti6Al4V

Слика 10. Поређење текстурних својстава сол-гел стакала и мезопорозних биоактивних стакала

Слика 11. Структура колагена

Слика 12. (а) Фотографија синтетичке кости направљене од HAp (блокови, цилиндрични и зрнасти производи) (б) Скенирајућа електронска микроскопија (SEM) слика синтетичке

кости направљене од НАр. (ц) Фотографија синтетичке кости направљене од НАр/колаген композита

Слика 13. Рендгенске слике процеса зарастања костију дисталних кондила фемура након операције. (а) Третирано Cerasorb ortho пеном. (б) Контролна група са празним дефектом

Слика 14. Структура, својства и примена желатина

Слика 15. Структура хитина и хитозана

Слика 16. SEM микрофотографије структуре пора при малом и великом увећању хитозанског скафолда (а,б) и хитозан-алгинатног скафолда (с, d)

Слика 17. Хемијска интеракција између хитозана и хидроксиапатита

Слика 18. Композитни скафолфи хитозан- ВСП

Слика 19. Хемијска структура алгината

Слика 20. Процеси физичке/хемијске модификације, технике 3Д биоштампања и ТЕ-РМ примене алгинатних хидрогелова.

Слика 21. Скафолди добијени комбинацијом биоактивног стаклокерамичког праха са алгинатом

Слика 22. Структура поли(ε-капролактона)

Слика 23. А-РCL/НАр скафолд, В-порозност скафолда добијеног МВ и и SC

Слика 24. Структура PLA

Слика 25. Композитни PLA/PCL /НАр скафолд

Слика 26. Структура PLGA

Слика 27. PLGA/НАр скафолд са око 48% порозности

Слика 28. Макроскопски приказ скафолда серије 03 (прахови калцинисани на 1100°C а синтеровање на 1300°C).

Слика 29. а)Полимерна пена након потапања у пасту б) Скафолд после синтеровања

Слика 30. Микроструктура макропорозних носача на бази калцијум фосфата допираних јонима Mg, Cu, Zn и превучених желатином

Слика 31. Морфологија ВСП скафолда (а, b), НуА)–Gel хидрогела (с, d), и НуА-Gel/ВСП скафолда(е, f, h)

Слика 32. 3D биоактивни керамички скафолд на бази β-ТСР

Слика 33. 3D хидрогел скафолд на бази PCL/НуА

Слика 34. 3D скафолд PCL/β-ТСР

Слика 35. Шематски приказ апарата за електроспининг

Слика 36. Нановлакна од PLA добијена електроспининг техником

Слика 37. Производња 3D скафолда PCL електроспинингом

Слика 38. SEM микрофотографија скафолда PLGA

Слика 39. SEM слике електроспрејних нано-НАр

Слика 40. Нановлакна колаген (лево) и хијалуронске киселине/коллагена (десно)

Слика 41. FESEM слике НАр/CTS нанокомпозитних нановлакна

Слика 42. Репрезентативни узорак скафолда од НА/PCL/желатинских нановлакна

САДРЖАЈ

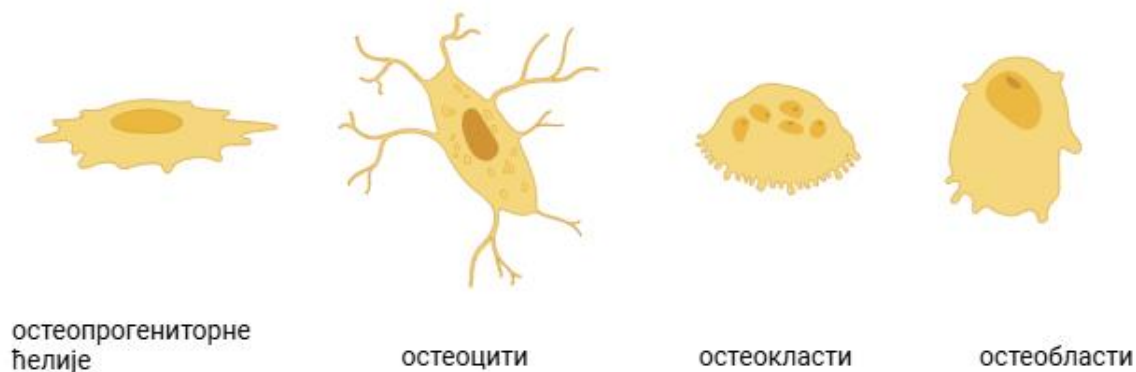
УВОД.....	1
1. СТРУКТУРА КОСТИЈУ И ЗУБА.....	2
2. КАЛЦИЈУМ-ФОСФАТ КАО МАТЕРИЈАЛ У ИЗГРАДЊИ КОШТАНОГ ТКИВА	7
2.1. α и β – трикалцијум-фосфат	7
2.2. Калцијум-хидроксиапатит.....	8
2.3. Примена биокерамичких материјала на бази калцијум-хидроксиапатита и калцијум-фосфата у инжењерству коштаног ткива.....	11
3. БИОАКТИВНА СТАКЛА	12
3.1. Класична биоактивна стакла.....	12
3.2. Мезопорозна биоактивна стакла	17
4. БИОРАЗГРАДИВИ ПОЛИМЕРИ	20
4.1. Природни биоразградиви полимери	20
4.1.1. Колаген.....	21
4.1.2. Желатин	25
4.1.3. Хитозан	27
4.1.4. Алгинат	31
4.2. Синтетски биоразградиви полимери.....	34
4.2.1. Поли(ϵ -капролактон) или PCL	34
4.2.2. Полилактид или PLA	36
4.2.3. Поли(лактид-когликолид) или PLGA	37
5. КОМПОЗИТНИ МАКРОПОРОЗНИ НОСАЧИ.....	39
5.1. Макропорозни носачи добијени техником реплике сунђера.....	40
5.2. Макропорозни носачи добијени методом 3D штампања	44
5.3. Макропорозни носачи добијени електроспининг техником	48
6. ЗАКЉУЧАК.....	55
ЛИТЕРАТУРА.....	56

УВОД

Инжењерство коштаног ткива је интердисциплинарна област која комбинује биомедицину, биоматеријале, ћелијску биологију и инжењерске науке за развој нових метода за регенерацију и замену оштећених или болесних костију. Последњих двадесет година се значајно развило о чему сведочи велики број научних радова и истраживања у циљу добијања савршених носача ћелија - скафолда, који омогућавају пријањање ћелија а потом и синтезу екстрацелуларног матрикса, који постепено замењује носач који се ресорбује. Коштано ткиво је најзаступљеније потпорно ткиво у људском организму, а изграђује кости и зубе. У овом раду, на основу прегледа многобројне литературе, описан је калцијум-фосфат као главни неоргански састојак костију и зуба. Приказани су подаци о разликама у хемијском саставу кости, зубне глеђи и синтетисаног калцијум-хидроксиапатита. У инжењерству коштаног ткива највећу примену имају биокерамички материјали на бази трикалцијум-фосфата и калцијум-хидроксиапатита јер су хемијски и структурно слични са минералима костију и зуба а такође су биокомпатибилни и биоактивни и производе се у различитим облицима. Од 1969. године када је Хенч развио прва биоактивна стакла до данас, постоји велики број истраживања у овој области која показују да, осим као класична биоактивна стакла, велику примену имају и мезопорозна биоактивна стакла која показују добре карактеристике за испоруку терапеутски активних јона (цинк, манган, бакар, магнезијум), а такође и имају побољшану способност минерализације екстрацелуларног матрикса у односу на класична биостакла. У раду ће, такође, бити описани природни и синтетски биоразградиви полимери као и композити на њиховој основи. *In vitro* и *in vivo* истраживања су показала обећавајуће резултате везане за даља истраживања и примену поменутих врста материјала у регенерацији коштаног ткива. Велики изазов за истраживаче је дизајнирање и израда биодеградабилних макропорозних биокомпозитних скафолда. Данас се истражују многобројне технике за процесирање скафолда а у овом раду ће бити описане три најчешће коришћене технике: техника реплике сунђера, 3D штампа и електроспининг. Анализом литературе је закључено да постоји веома велики број композита који могу имати примену у производњи макропорозних носача за примену у инжењерству коштаног ткива, као и да постоји потреба за побољшањем њихових својстава у циљу добијања што савршенијег скафолда.

1. СТРУКТУРА КОСТИЈУ И ЗУБА

Коштано ткиво је најзаступљеније потпорно ткиво у организму човека, ткиво које костима даје снагу и структуру, а кости чувају унутрашње органе и заједно са мишићима омогућавају кретање, учествују у стварању ћелија, метаболизму калцијума и других минерала. Састав коштаног ткива је сложен и укључује различите ћелије, органске и неорганске компоненте, као и течности. Ова комбинација даје костима чврстину, флексибилност и способност да обављају своје функције у телу. Коштано ткиво се састоји од коштаних ћелија (остеобласти, остеоцити и остеокласти), чврсте коштане масе (међућелијска супстанца, матрикс) као и од вискозне течности. **Остеобласти** су ћелије које синтетишу ново коштано ткиво и производе органске компоненте матрикса; **остеоцити** су зреле ћелије унутар кости, које управљају метаболизмом кости и одржавају њену структуру, док **остеокласти** разграђују коштани материјал, што је важно за ремоделацију и поправку костију (слика 1).[1]

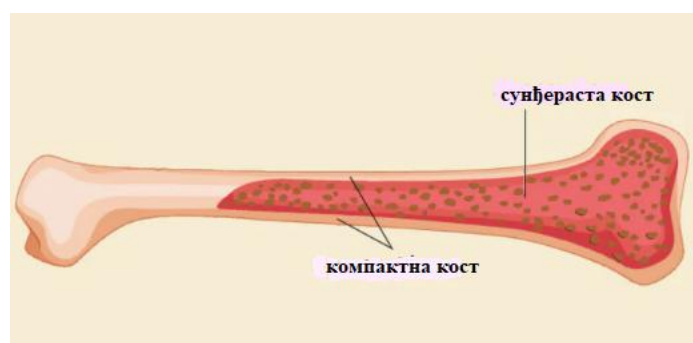


Слика 1. Ћелије коштаног ткива (креирано помоћу BioRender.com)

Коштани матрикс садржи органске и неорганске компоненте. Од органских главни је протеин колаген (обично тип I), који костима даје чврстину и флексибилност. А од неорганских главна компонента је хидроксиапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), минерал који костима даје чврстину и крост, а присутни су и други елементи као што су магнезијум, стронцијум и манган. Коштано ткиво садржи и значајан проценат воде, која чини околину за ћелије и игра

улогу у транспорту хранљивих материја и отпадних производа. Ткивна течност садржи разне ћелијске факторе, електролите и хранљиве материје важне за метаболизам и функцију коштаних ћелија.[2]

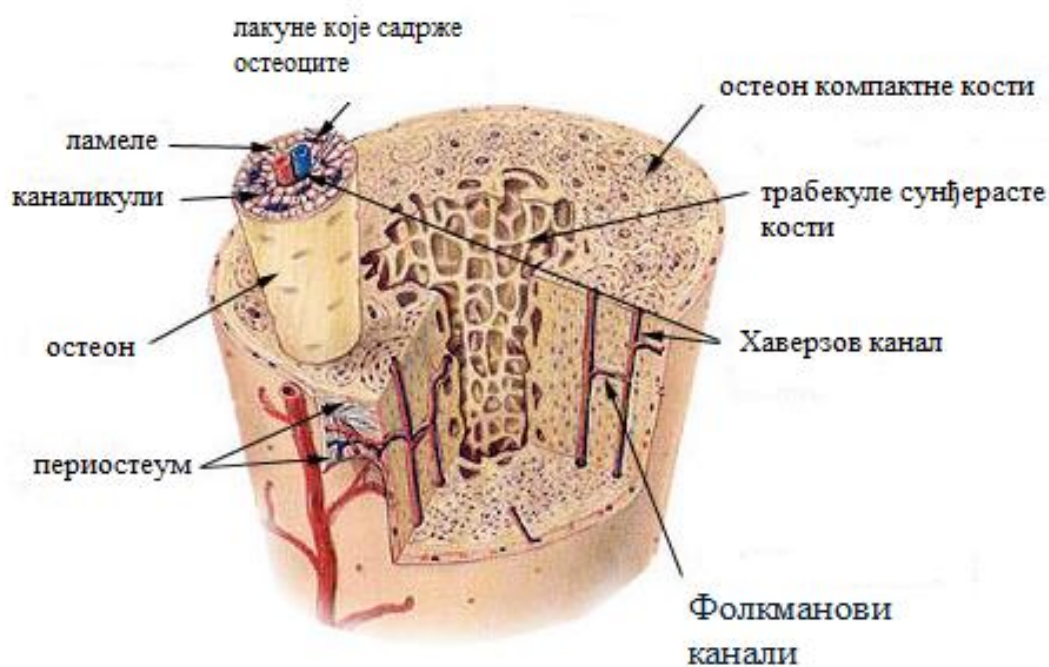
Кости (*лат. Os*) су активно живо ткиво у телу. Састав и структура костију су прилагођени њиховим функцијама. Комбинација различитих ћелија, органских и неорганских компоненти, као и сложена структура, омогућава костима да буду чврсте и лаке, способне да подрже тело и омогуће покрет. Грађене су од коштаних ћелија међусобно повезаних наставцима. Кости садрже крвне судове који обезбеђују довод кисеоника и хранљивих материја ћелијама, као и уклањање отпадних производа. Одређене кости садрже срж која производи крвне ћелије. Све кости имају нерве којима осећамо притисак и бол. Врсте коштаног ткива (слика 2) су: **компактно**-спољни, чврст слој кости, који пружа структуралну подршку и заштиту и грађено је од остеона и чини 90% скелета и **сунђерасто** које има порозну структуру, налази се углавном унутар кости и омогућава лакшу тежину и расподелу оптерећења.[3]



Слика 2. Врсте коштаног ткива, адаптирано према [3]

Коштане ћелије и минерализовани међућелијски матрикс образују структуру остеон или Хаверзов систем (слика 3) - основна структурна јединица формиране кости. Хаверзов систем је кључна компонента компактне кости, која обједињује структуралну подршку и метаболичке функције. Разумевање ове структуре је важно за проучавање здравља костију, као и за развој терапија и имплантата у регенеративној медицини. Остеон (Хаверзов систем) се састоји од: **Хаверзовог канала** у коме су смештени крвни и лимфни судови, као и нервни завршеци и има улогу у снабдевању ћелија кисеоником и хранљивим материјама; **остеобласта** - ћелија које покривају унутрашњу површину Хаверзовог канала образујући једну врсту епителоидног слоја и синтетишу компоненте коштаног матрикса; **ламела** које су

распоређене концентрично око Хаверзовог канала и углавном су састављене од колагена и минералних компоненти; **остеоцита** - зреле коштане ћелије се налазе унутар ламела а смештене су у малим шупљинама познатим као лакуне; **цемента** - слоја матрикса различитог од оног у ламелама по томе што не садржи каналиће; **Фолкманови канали** (Volkmann's canal) који пролазе попречно кроз кост и повезују Хаверзове канале из различитих остеона. Они омогућавају прелазак крвних судова и нервних завршетака.[4]



Слика 3. Структура кости, адаптирано према [4]

Зуби (лат.*dens, dentis*) су сложене структуре састављене од различитих ткива, од којих свако игра важну улогу у функцији и здрављу. Разумевање састава и структуре зуба је кључно за правилну стоматолошку негу и превенцију болести. Зуби се састоје од круне (видљивог дела) и корена (невидљиви део). „Врат“ корена обухвата меснато ткиво десни, меки ткивни слој који окружује зубе и пружа заштиту. Структура свих правих зуба (слика 4) је иста и састоји се из: глеђи, дентина и пулпе. **Глеђ** је спољашњи, видљиви слој зуба, који је најтврђи део тела. Састављен је од минералних компоненти, пре свега хидроксиапатита. Функција глеђи је заштита зуба од механичких оптерећења и хемијских напада. Већину зубне структуре чини

дентин који је по саставу сличан кости. Унутрашњи део зуба испуњава **пулпа**, која садржи крвне судове, нерве и ћелије. Пулпа је меко ткиво, а њена функција је да обезбеди осетљивост на бол и топлоту, као и снабдевање зуба хранљивим материјама. Узак и дуг пулпин канал се простире скоро целом дужином зуба, а на једном делу има проширење које се назива пулпна комора. **Корен** зуба је испод линије десни и прекривен цементом који је по структури сличан кости али је у односу на дентин мање тврдоће. Цемент омогућава везу зуба са околним ткивом (пародонталном мембраном). [5]



Слика 4. Структура зуба (креирано помоћу BioRender.com)

Зуби и кости имају сличан састав и чине их неорганска компонента, органска компонента и вода. У зубној глеђи састав је следећи: око 95% минерала, углавном хидроксиапатит, остатак чине органске супстанце и вода; у дентину: око 70% минерала (хидроксиапатит), 20% органских материја (колаген тип I) и 10% воде; у пулпи: нема минералних компоненти. У костима: око 60-70% минерала (хидроксиапатит), 20-30% органских компоненти (колаген тип I) и 5-10% воде. Хемијски састав неорганског дела зуба и кости приказан је у табели 1 [6]

Табела 1- Састав неорганског дела кости и зуба [6]

Слој зуба	Минерални састојци (%)	Ca	P	CO ₂	Mg	N	Ca/P	P/CO ₂
Глеђ	96,0	35,8	17,4	3,06	0,38	0,41	2,08	5,69
Дентин	76,0	27,14	13,5	3,84	0,85	3,44	2,01	4,75
Цемент	72,7	25,93	12,4	3,42	0,78	4,28	2,08	3,64
Кост	71,3	26,42	11,8	4,23	0,42	4,48	2,22	2,28

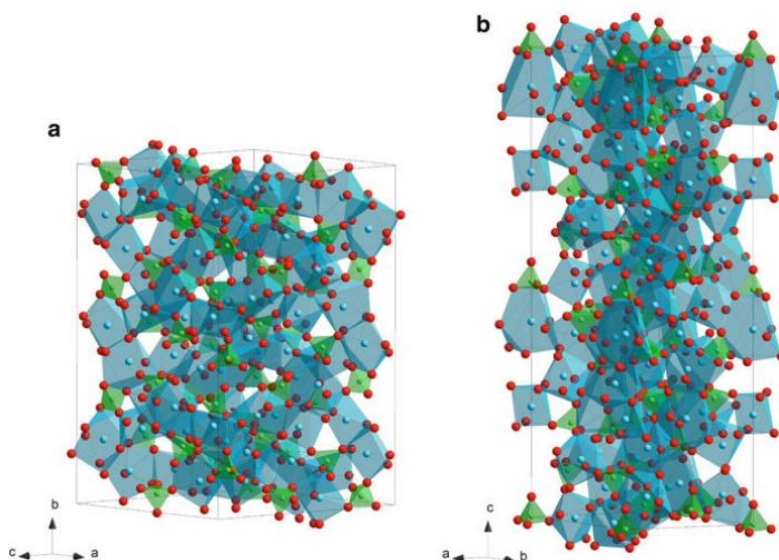
Иако зуби и кости имају сличан хемијски састав, разликују се у својој структури, чврстоћи, функцији и метаболизму. Глеђ је најтврђи део тела, док су кости чврсте, али и флексибилне. Глеђ је чвршћа од кости, али нема способност ремоделације као кости. Кост има сложену структуру која укључује остеооне (Хаверзове системе), док зуби, посебно дентин, имају канале за комуникацију ћелија. Зуби служе за механичку обраду хране, док кости пружају подршку, заштиту органа и производњу крвних ћелија. Кости су подложне ремоделацији и метаболичким променама у одговору на оптерећења и хормоналне сигнале, док зуби, након што се формирају, не пролазе кроз такве промене.

2. КАЛЦИЈУМ-ФОСФАТ КАО МАТЕРИЈАЛ У ИЗГРАДЊИ КОШТАНОГ ТКИВА

У хемијском саставу коштаног ткива разликују се неорганска и органска фаза. Од органских најзаступљенија је беланчевина осеин, а на неорганске компоненте отпада $2/3$ укупне масе кости. Неорганска једињења присутна у коштаном ткиву су калцијум-фосфати ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – 85%), калцијум-карбонат (CaCO_3 – 10%), калцијум-флуорид (CaF_2 – 0,3%), калцијум- и натријум-хлорид (CaCl_2 , NaCl – 2%), магнезијум-фосфат ($\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ – 1,5%). Калцијум-фосфат је главна неорганска компонента, највише заступљен у облику хидроксиапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и даје костима чврстину и омогућава отпорност на компресију. Ови кристали су инкорпорирани у колагена влакна што му даје чврстину.[7]

2.1. α и β – трикалцијум-фосфат

Алфа и бета трикалцијум-фосфат (ТСП) (слика 5) су два кристална облика калцијум-фосфата $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, који играју важну улогу у структури костију.



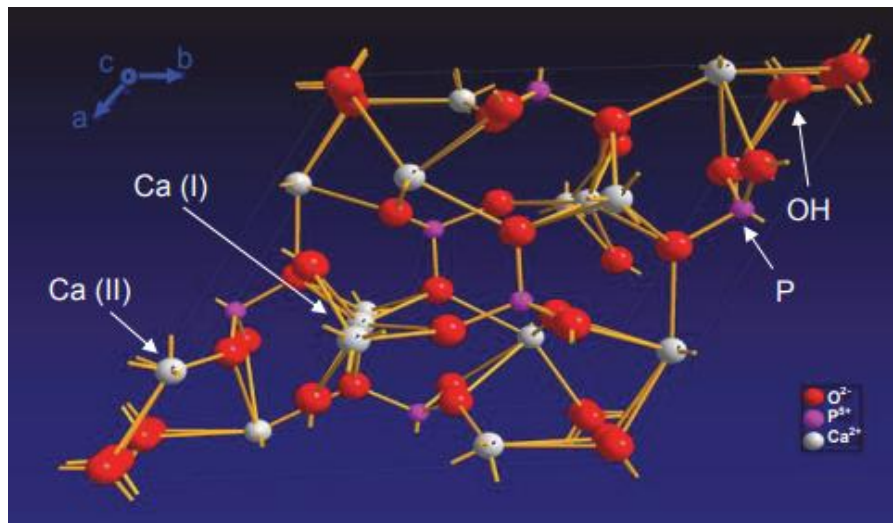
Слика 5. Кристална структура (a) алфа-ТСП и (b) бета-ТСП [8]

Заступљенији у коштаном ткиву је **бета-трикалцијум-фосфат (β -ТСР)**. Има хексагоналну кристалну структуру и стабилнији је при ниским температурама. Кристали β -ТСР су већи и мање хидратисани, што му омогућује релативно велику чврстоћу. β -ТСР се добро интегрише у кости и има способност да подстиче остеогенезу (формирање кости). **Алфа-трикалцијум-фосфат (α -ТСР)** је ортогоналне кристалне структуре и стабилнији је при високим температурама. Кристали α -ТСР су обично мањи и могу бити више хидратисани, што утиче на његову растворљивост. У телу се могу лако разградити и притом не изазивају имунолошке реакције. Оба облика ТСР доприносе механичким и биолошким својствима костију, али њихова различита структура и растворљивост их чине погодним за различите примене у медицини. α -ТСР је биоактивнији од β -ТСР, биоактивна је компонента цемента али је знатно растворљивији па се ретко користи у регенерацији костију. У медицини се више користи β -ТСР, као композит у комбинацији са хидроксиапатитом, а такође и у производњи порозних керамичких скафолда који имају примену као вештачки заменици кости или као носачи за контролисано ослобађање лекова. [9]

2.2. Калцијум-хидроксиапатит

Калцијум-хидроксиапатит (НАр), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ је главни минерални састојак костију и зубне глеђи. Он игра кључну улогу у структури и чврстоћи коштаног ткива, одговоран је за отпорност на компресију. Калцијум-хидроксиапатит има хексагоналну кристалну структуру (слика 6) што му омогућава да формира чврсте и стабилне кристале.[10] Јавља се као калцијум дефицитарни хидроксиапатит, стехиометријски хидроксиапатит и оксихидроксиапатит. Калцијум дефицитарни хидроксиапатити имају моларни однос Ca/P мањи од 1,67. Код стехиометријских хидроксиапатита моларни однос Ca/P је 1,67, а оксихидроксиапатит је најмање стабилан и слабо истражен. Биолошки апатити су калцијум дефицитарни али у себи садрже друге јоне, нпр. Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , F^- , Cl^- итд. Калцијум-хидроксиапатит који се може синтетисати у лабораторијским условима има врло сличне особине као природни, па је зато његова примена у производњи биокерамичких материјала врло заступљена. Различитим методама синтезе може се добити у облику праха, порозног или густог керамичког материјала. Поседује релативно лоша механичка својства те

се често комбинује са другим материјалима, а највећу примену има као замена за оштећене делове кости.[11]



Слика 6. Кристална структура калцијум-хидроксиапатита [10]

На основу хемијског састава апатита зубне глеђи и костију, који је приказан у табели 2 утврђено је да апатити зубне глеђи садрже мању количину карбонатних и јона магнезијума стога имају веће кристале у односу на кости. Такође, различита концентрација магнезијумових и карбонатних јона утиче на мању растворљивост апатита глеђи у односу на апатит дентина или кости. Синтетисани НАр је по хемијском саставу и кристалографским особинама сличан апатиту из глеђи и кости. [6]

Хидроксиапатит је биолошки инертан и не изазива имунолошке реакције, што га чини идеалним за медицинске примене. Може се лако заменити у телу, што му омогућава да се интегрише у природно коштано ткиво. Често се користи у биомедицинским и стоматолошким применама, као што су имплантати и замене костију, због своје биокompatibilности и способности да стимулише раст костију.[12]

Табела 2- Разлике у саставу, кристалографским и механичким особинама зубне глеђи, хумане кости и синтетисаног хидроксипатита [6]

	зубна глеђ	кост	синтетисани НАр
Састав (мас.%)			
Калцијум, Са	36,0	24,5	39,6
Фосфор, Р	17,7	11,5	18,5
(Са/Р) моларни	1,62	1,65	1,67
Натријум, Na	0,5	0,7	тр
Калијум, К	0,08	0,03	тр
Магнезијум, Mg	0,44	0,55	тр
Карбонатни јони, CO ₃ ²⁻	3,2	5,8	-
Флуоридни јони, F ⁻	0,01	0,02	-
Хлоридни јони, Cl ⁻	0,30	0,10	-
Пепео (потпуно неоргански)	97,0	65,0	100
Органски део	1,0	25,0	-
Апсорбована вода	1,5	9,7	-
Елементи у траговима (Sr, Pb, Ba, Fe, Zn, Cu)	тр	тр	тр
Кристалографске особине			
Параметри решетке (+/-0,003Å)			
а-оса	9,441	9,419	9,422
с-оса	6,882	6,880	6,880
Индекс кристаличности	70-75	33-37	100
Величина кристала, nm	130x30nm	250x25-90	
Производи након синтеровања (изнад 950°C)	НАр+ TCP	НАр+ CaO	НАр

2.3. Примена биокерамичких материјала на бази калцијум-хидроксиапатита и калцијум-фосфата у инжењерству коштаног ткива

Биокерамички материјали на бази трикалцијум-фосфата (ТСР) и хидроксиапатита (НАр) играју значајну улогу у инжењерству коштаног ткива због својих биокомпатибилних и остеогених својстава. ТСР и НАр се користе за израду имплантата који се постављају у дефекте костију и зуба. Ови материјали подстичу раст новог коштаног ткива и интеграцију са околним ткивом. Користе се у процедурама које подразумевају остеосинтезу, где се захтева попуњавање празнина у кости и настајање новог ткива. ТСР и НАр се често користе у комбинацији са полимерима, металима или факторима раста, чиме се побољшава механичка чврстоћа и/или подстиче регенерација. НАр се користи у денталним имплантатима и у процедурама рестаурације зуба, због своје способности да промовише адхезију и интеграцију са природним зубним ткивом. ТСР и НАр се могу користити у системима за контролисано ослобађање лекова, што је корисно за локалну терапију у инжењерству коштаног ткива. Ове биокерамике могу да се користе као допуне у третманима остеопорозе, где се жели побољшање минералне густине кости. [12]

Биокерамички материјали на бази ТСР и НАр представљају обећавајуће решење у инжењерству коштаног ткива, нудећи широк спектар примена и могућности за побољшање регенерације и интеграције кости. Они играју кључну улогу у развоју нових стратегија за лечење повреда и болести костију.

3. БИОАКТИВНА СТАКЛА

Биоактивна стакла су специјализовани материјали који се врло често користе у биомедицинским применама, посебно у инжењерству коштаног ткива. Ове супстанце имају способност да се интегришу у тело и подстичу регенерацију ткива уз стварање апатитног слоја, повољно утичу на остеобласте. У литератури су проучена класична и мезопорозна биоактивна стакла.

3.1. Класична биоактивна стакла

Прво биоактивно стакло означено 45S5 Bioglass® откривено је 1969.године, а творци су Хенч (Hench) и сарадници. На основу својих испитивања утврдили су да стакло може остварити јаку хемијску везу са коштаним ткивом али такво стакло мора бити одређеног хемијског састава. Тачније, треба да садржи 45% SiO_2 , 24,5% Na_2O , 24,5% CaO и 6% P_2O_5 (мас.%). Након овог 45S5 биостакла Хенч и Вокер су развили серију стакала која су приказана у табели 3.[13] Присуство алкалних оксида утиче на биоактивност стакла а самим тим и на различите клиничке примене. Биоактивно стакло које је развио Хенч је богато алкалијама јер садржи више од 20 мас.% алкалних оксида, а стакла која садрже мање од 5 мас.% алкалних оксида су означена као стакла сиромашна алкалијама. Стакла која садрже оксиде калцијума и фосфора представљају стакла са контролисаним отпуштањем јона (Controlled Release Glasses-CRG). Основни састојак стакала је обично на бази силицијума (SiO_2), а присутни су и калцијум-оксид (CaO) и фосфор(V)-оксид (P_2O_5), који позитивно утичу на биокомпатибилност и остеогенезу. Друге компоненте попут натријум-оксида (Na_2O), магнезијум-оксида (MgO) или алуминијум-оксида (Al_2O_3), могу се додавати ради побољшања различитих својстава стакла. Биоактивна стакла су обично аморфна, што значи да немају кристалну структуру. Ова особина им даје предност у интеракцији с живим ткивом. Често су порозне структуре, што подстиче акумулацију и раст ћелија. Могу се интегрисати у организам без изазивања имунолошке реакције. Подстичу раст новог коштаног ткива, чиме се повећава стабилност имплантата.[14]

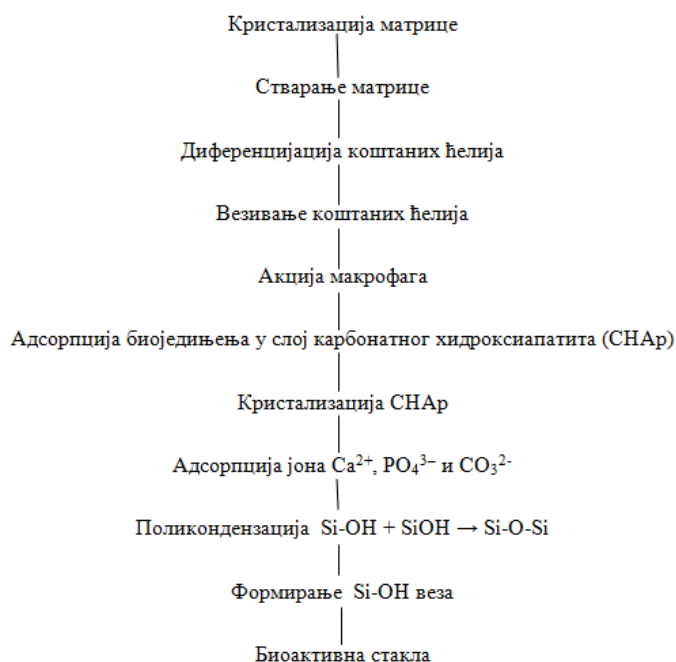
Табела 3- Састав биоактивних стакала према Хенчу [13]

Компонента	45S5 Bioglas®	45S5 4F Bioglas®	45B15S5 Bioglas®	52S4.6 Bioglas®	55S4.3 Bioglas®
SiO ₂	45	45	30	53	55
P ₂ O ₅	6	6	6	6	6
CaO	24,5	14,7	24,5	21	19,5
Ca ₃ (PO ₄) ₂					
CaF ₂		9,8			
MgO					
MgF ₂					
Na ₂ O	24,5	24,5	24,5	21	19,5
K ₂ O					
Al ₂ O ₃					
B ₂ O ₃			15		
Ta ₂ O ₅ /TiO ₂					
структура	стакло и стакло-керамика	стакло	стакло	стакло	

Процес добијања стакла је тзв. топљење/кристализација процес, а подразумева употребу соли органског и неорганског порекла (SiO₂, Na₂CO₃, CaCO₃, анхидровани Ca₃(PO₄)₂ или високо чисти псеудоволастонит-CaSiO₃). Сировине се мешају у одговарајућим пропорцијама. Ова мешавина може бити у праху или чврстом стању. Мешавина се загрева у пећи на високим температурама (обично између 1200–1500°C). Током овог процеса, сировине се топе и стварају хомогену стаклену масу која се затим полако хлади да би се спречило стварање кристала, чиме се одржава аморфна структура. Стакло се може обликовати у различите форме, као што су плоче, грануле или имплантати, у зависности од примене. Обрађени производи се могу додатно обрадити како би се постигле жељене димензије и површине. Површина стакла се може третирати за побољшање биолошке активности (нпр. хидратацијом или анатомским модификацијама). Завршни производи се тестирају на различите физичке и хемијске особине, као што су механичка чврстоћа, растворљивост и биокомпатибилност. Процес добијања биоактивног стакла захтева пажљиву контролу свих корака како би се осигурала квалитетна и функционална структура. [15]

Биоактивно стакло може формирати механичку везу с живим ткивом (слика 7). Када се биоактивно стакло стави у контакт с телесним течностима, долази до хемијских реакција које доводе до формирања хидроксиапатита на површини стакла. Овај слој хидроксиапатита, који је сличан минералној структури кости, подстиче адхезију остеобласта. Порозна структура стакла омогућава инфилтрацију ћелија и ткива у поре, што побољшава пролиферацију. Биоактивна стакла ослобађају јоне (Ca²⁺ и PO₄³⁻) у телесне течности, што стимулише

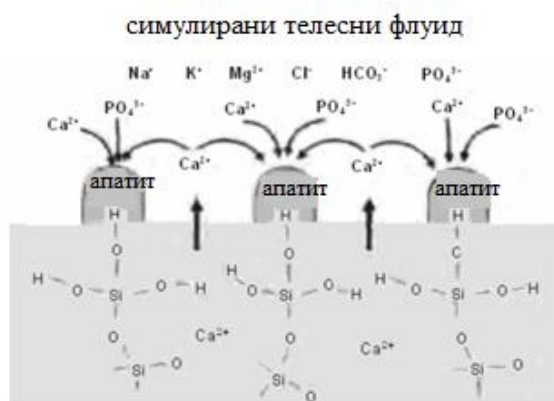
ћелијски раст и диференцијацију. Ова активност подстиче не само раст кости, већ и формирање новог васкуларног ткива. Постепено, ново формирано ткиво окружује и интегрише стакло, чиме се ствара чврста и функционална веза између имплантата и околних ткива.[16] Током времена, делови биоактивног стакла могу се разградити и замењивати новим коштаним ткивом, што осигурава дугорочну интеграцију



Слика 7. Механизам везивања биоактивних стакала за живо ткиво[6]

Биоактивна стакло-керамика је комбинација стаклених и керамичних материјала која је дизајнирана за примене у инжењерству коштаног ткива. Ови материјали комбинују предности стакла и керамике, пружајући одличну биокомпатибилност и остеоинтеграцију. Већина биоактивних стакло-керамика има састав сличан Хенчовим биостаклима са малим садржајем алкалних оксида. Бремер (Brömer) и сарадници су 1973. године добили прву стакло-керамику „*Ceravital*“. Ова стакло-керамика обично садржи силикатне компоненте, калцијум-фосфат и друге минерале а може садржати и хидроксиапатит. Има хибридную структуру која комбинује аморфне (стаклене) и кристалне (керамичке) делове. Ова комбинација побољшава механичка својства и отпорност на деформације. Подстиче раст новог коштаног ткива и интеграцију са околним ткивом. Ствара хидроксиапатитни слој на површини у контакту с телесним течностима. Омогућава активно везивање и раст кости око имплантата. Подстиче не само остеогенезу, већ и васкуларизацију. Користе се за поправку и регенерацију коштаног ткива; у стоматолошким процедурама, као што су имплантати и

попуњавање дефеката; као носачи у системима за ослобађање лекова.[17] Керамика „Cerabone A/W“, специфична врста керамичког материјала, биокомпатибилна је и добрих остеогених својстава. Главна минерална компонента, која подстиче биointegrацију и регенерацију коштаног ткива је апатит, а воластонит ($\alpha\text{-CaSiO}_3$) доприноси механичким својствима и структурној стабилности. Ову стакло-керамику развили су Кокубо и срадници. У симулираном телесном медијуму ствара се слој хидроксиапатита и управо он омогућава спајање стакло керамике A/W са коштаном ткивом (слика 8).[18] Примењује се за зубне имплантате и рестаурације, у инжењерингу коштаног ткива за лечење повреда и дефеката.

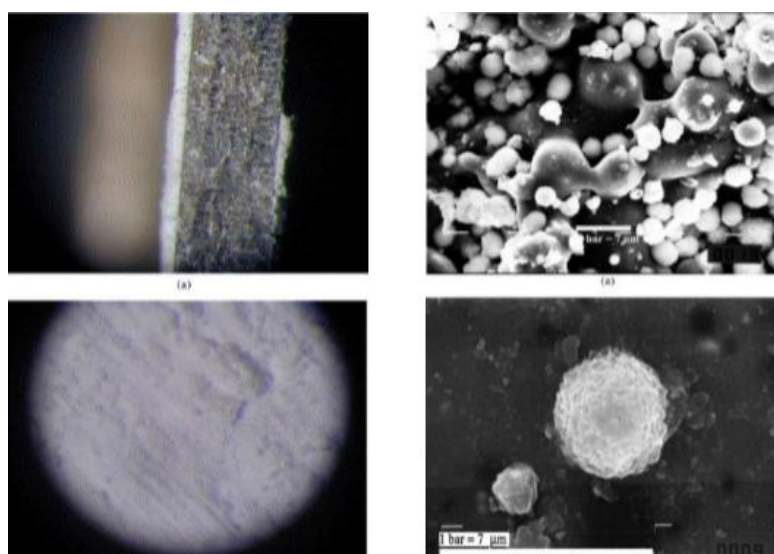


Слика 8. Механизам формирања карбонатног хидроксиапатита на стакло керамици A/W према Кокубу [18]

Стакло-керамика „Bioverit“, развијена 1983.године од стране Фогела (Vogel) и Хеланда (Höland) садржи Al_2O_3 , MgO , Na_2O , K_2O , F , CaO , P_2O_5 , а одликује се високом биокомпатибилношћу, побољшава остеогенезу и регенерацију костију. Ова стакло-керамика представља обећавајући биоматеријал који комбинује предности стаклених и керамичних компоненти, нудећи изванредне особине за примену у ортопедској хирургији и стоматологији.[19]

Иако биоактивна стакла нуде значајне предности у области инжењеринга коштаног ткива и стоматологије, постоје и одређени недостаци који ограничавају њихову примену. Наиме, биоактивна стакла могу бити подложна ломљивости и немају увек исту механичку чврстоћу као неки традиционални материјали. Превисока растворљивост може довести до брзе разградње стакла у телесним течностима, што утиче на његову функционалност и интеграцију. Производни процеси и контроле квалитета могу бити сложени и скупи, што отежава стандардизацију и масовну производњу. У неким случајевима, биоактивна стакла не

могу потпуно заменити функционалну кост, па је потребно комбиновати их са другим биоматеријалима или третманима. На пример, на слици 9 приказана је комбинација биоактивног стакла са титанијумом (у облику легуре Ti6Al4V) представља иновативан приступ у инжењерингу коштаног ткива и стоматологији. Биоактивно стакло подстиче регенерацију коштаног ткива, док титанијум обезбеђује стабилност и подршку и има изузетну механичку чврстоћу и отпорност на корозију, чиме се побољшава интеграција с живим ткивом.[20]



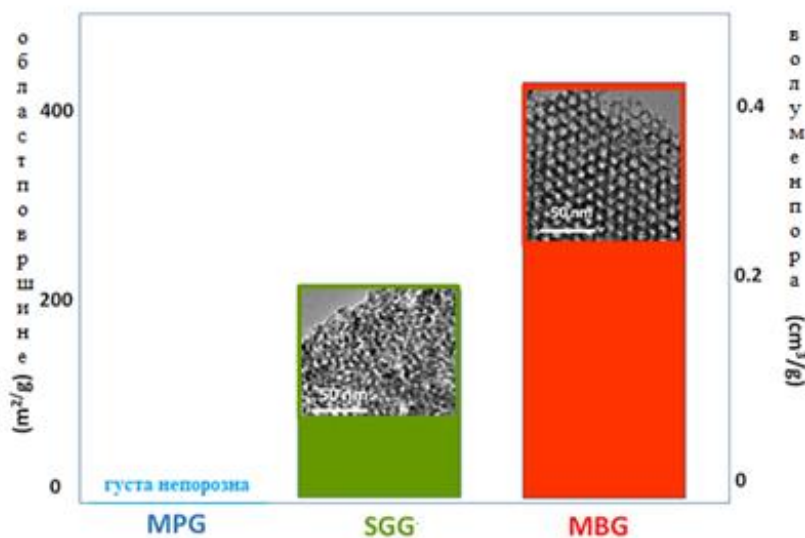
Слика 9. Превлака биоактивног стакла добијена електрофоретском депозицијом на легури Ti6Al4V [20]

3.2. Мезопорозна биоактивна стакла

Мезопорозна биоактивна стакла (енгл. *mesoporous bioactive glass*, MBG) представљају специфичну класу биоактивних материјала која се карактеришу присуством мезопорозних структура великих специфичних површина за реакцију, односно пора које су величине 5-20 nm. Ова стакла су обично високо биокомпатибилна и промовишу раст нових ћелија и ткива. Мезопорозна структура подстиче формирање хидроксиапатитног слоја у контакту с телесним течностима, што додатно подстиче интеграцију са живим костима. Могу служити као резервоари за хранљиве материје или лекове, што омогућава контролисано ослобађање у околину. Мезопорозност може побољшати механичку чврстоћу и флексибилност стакла, чиме се повећава његова издржљивост приликом примене.[21]

Састав мезопорозних биоактивних стакала обично укључује комбинацију различитих оксида и фосфата, који су кључни за постизање жељених биомедицинских својстава. Силицијум-диоксид (SiO_2) је основна компонента која пружа структуралну стабилност и обично чини велики део стаклене матрице. Калцијум-оксид (CaO) подстиче остеоинтеграцију и промовише раст костију. Фосфор у облику P_2O_5 је укључен у формирање хидроксиапатита и побољшава биокомпатибилност. Натријум-оксид (Na_2O) помаже у регулисању растворљивости и биокомпатибилности. Магнезијум-оксид (MgO) може побољшати одређена механичка својства и допринети остеогеној активности, а TiO_2 се у неким формулацијама, додаје у малом проценту за побољшање остеоинтеграције и биокомпатибилности. Могу се додати агенси за формирање пора (нпр. полимери) који се уклањају током калцинације и синтеровања, стварајући мезопорозну структуру. Мезопорозна биоактивна стакла се добијају помоћу различитих метода. Најчешће се користе сол-гел методе. Процес почиње растворима металних алкохолата (попут тетраметилортосиликата - TMOS) који пролазе кроз хидролизу и кондензацију, стварајући оксидне мреже (обично на бази силицијума). Кроз контролу услова синтезе, попут pH, концентрације реагенаса и температуре, могуће је контролисати развој порозне структуре.[22]

Мезопорозна биоактивна стакла разликују се од класичних по структури пора, хемијском саставу и текстури. Код класичних биоактивних стакала поре су обично веома мале или су у потпуности одсутне, такође нису ни равномерно распоређене. Код мезопорозних стакала поре су веома контролисане и равномерно распоређене. Величина пора и њихова дистрибуција се параметрима синтезе могу прецизно прилагодити потребама. Ова уређеност мезопора им даје одлична својства која су нашла примену у регенерацији костију (слика 10).[23]



Слика 10. Поређење текстурих својстава (површина, запремина пора) сол-гел стакала (SGG) и мезопорозних биоактивних стакала (MBG) (слике добијене HR-TEM)

На текстуру мезопорозних стакала знатно утиче концентрација калцијум-оксида. Оптимална концентрација (10 до 30 мас.%), обезбеђује оптималну порозност, биоактивност и специфичну површину, што је важно за биомедицинске апликације као што су регенерација костију и испорука лекова. Са превисоком концентрацијом, долази до нарушавања порозне структуре, смањене специфичне површине и погоршане биолошке активности. Када се ради о *in vitro* биоактивном одговору мезопорозних стакала, MBG имају брз биоактивни одговор што се може објаснити нижим pH што је последица убрзаних и продужених фаза 1-3 у односу на Хенчов механизам стварања хидроксиапатитног слоја, а такође и формирањем октакалцијум-фосфата који је присутан у процесу сазревања костију. [23]

Метални јони као што су цинк Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{+} , Sr^{2+} , Mg^{2+} и други често се инкорпорирају у MBG да би се постигли специфични биолошки и функционални ефекти као што су остеогеност, антибактеријска, ангиогена, антиинфламаторна, антитуморска и др. својства.

Тако на пример јони Sr^{2+} и Zn^{2+} подстичу пролиферацију остеобласта и повећавају формирање хидроксиапатита на површини биоактивних стакала. Јони као што су Cu^{2+} и Ag^{+} показују значајне антибактеријске особине, што је важно за спречавање инфекција приликом уградње имплантата. Ови јони инхибирају раст бактерија, без негативног утицаја на ћелије костију. Метални јони као што су Mg^{2+} и Sr^{2+} могу повећати механичку чврстоћу и флексибилност мезопорозних стакала, што је корисно за примене где су потребни механички стабилни имплантати. Мезопорозни материјали омогућавају контролисано ослобађање металних јона, чиме се постиже дуготрајан терапеутски ефекат у лечењу инфекција или регенерацији костију.[24] Такође, истражује се и дејство мање заступљених елемената као што су Ba^{2+} , Bi^{3+} , Cl^{-} , Cr^{6+} , Dy^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Yb^{3+} , Th^{3+} , Ge^{2+} , Au^{3+} , Ho^{3+} , I^{-} , La^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{6+} , Ni^{2+} , Nb^{5+} , N^{3-} , Pd^{2+} , Rb^{+} , Sm^{3+} , Se^{4+} , Ta^{5+} , Te^{4+} , Tb^{3+} , Er^{3+} , Sn^{2+} , W^{6+} , V^{5+} , Y^{3+} , Zr^{4+} , који су посебно интересантни јер побољшавају функционалност биоактивних стакала нпр. омогућавају флуоресценцију, луминисценцију, заштиту од зрачења, антиинфламаторна и антибактеријска својства.[25]

Иако постоји значајан истраживачки напредак у развоју наноструктурних MBG, њихова примена у клиничкој пракси још увек није широко заступљена због потребе за додатним тестирањима која обухватају безбедност, биокомпатибилност и ефикасност примене. Ако упоредимо мезопорозна и класична биоактивна стакла може се закључити да су MBG напреднији материјали који нуде боље могућности за контролисано ослобађање биоактивних јона и лекова, брже формирање апатита и могућност антибактеријске активности. Међутим, њихова механичка чврстоћа и сложеност синтезе могу представљати изазов у неким применама.

4. БИОРАЗГРАДИВИ ПОЛИМЕРИ

Биоразградиви полимери су биоматеријали који се одликују способношћу да постепено деградирају у телу након имплантације док ново ткиво расте. Они се користе као скафолди, који обезбеђују структуралну подршку за раст и регенерацију коштаног ткива, док се полако разлажу у биолошки прихватљиве и нетоксичне производе. Последњих година се веома истражују. Према бази података *Elsevier* (подаци од 20. октобра 2023.), публикувано је преко 16000 радова је који садрже информације о производњи, својствима и примени полимера.[\[26\]](#)

Биоразградиви полимери који се користе у инжењерству коштаног ткива морају бити нетоксични и не смеју изазвати штетне имунолошке реакције у организму. Морају се контролисано разградити у телу, пожељно у временском периоду који одговара процесу зарастања или регенерације костију. Полимерни скафолди морају имати довољну механичку чврстоћу да обезбеде контролисане услове и запремину те да подрже раст новог ткива док кост не преузме функцију носивости. Макропорозна структура је неопходна за омогућавање ћелијске пролиферације, васкуларизације и транспорта хранљивих материја. Полимери могу бити дизајнирани тако да ослобађају активне супстанце које подстичу регенерацију коштаног ткива или спречавају инфекције. Биоразградиви полимери се користе у биомедицинским истраживањима: у инжењерству ткива, регенеративној медицини, урологији, ортопедији, системима контролисане испоруке лекова, кардиохирургији, стоматологији. [\[27\]](#)

Приликом избора материјала за одређену намену води се рачуна о његовим физичким, хемијским, механичким и деградационим својствима. За биомедицинска истраживања истражен је широк спектар полимера који су класификовани као природни и синтетски.

4.1. Природни биоразградиви полимери

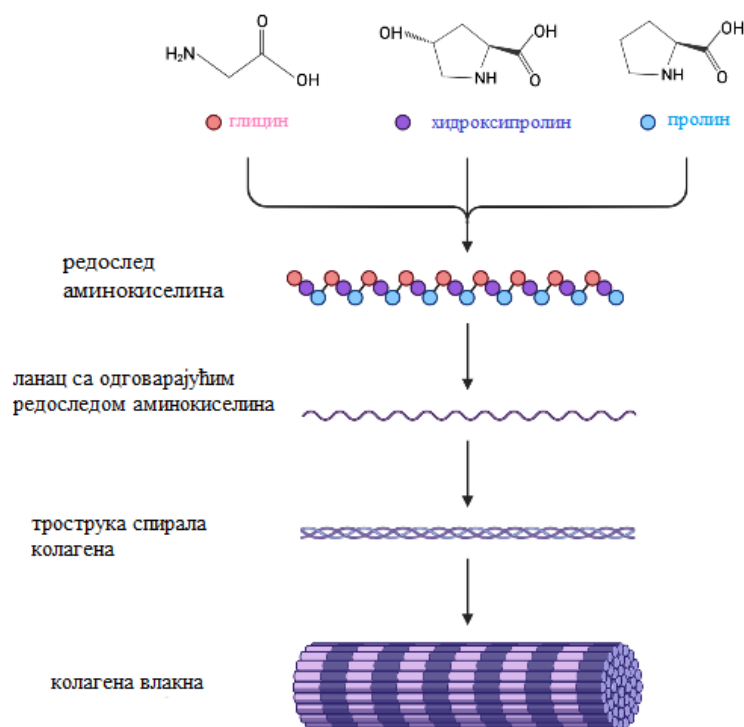
Природни биоразградиви полимери (колаген, желатин, алгинат, хитозан, хијалуронска киселина, скроб, декстрини, фибрин, кератин и др.) су производи биљака, животиња или микроорганизама, лако су доступни, обично не изазивају штетне имунолошке реакције и добро се интегришу са ткивима. Често садрже биолошке сигнале који промовишу раст и

регенерацију ткива. Природни полимери се разграђују у продукте које тело може лако обрадити или елиминисати. У наставку ће бити описани колаген, желатин, хитозан и алгинат.

4.1.1. Колаген

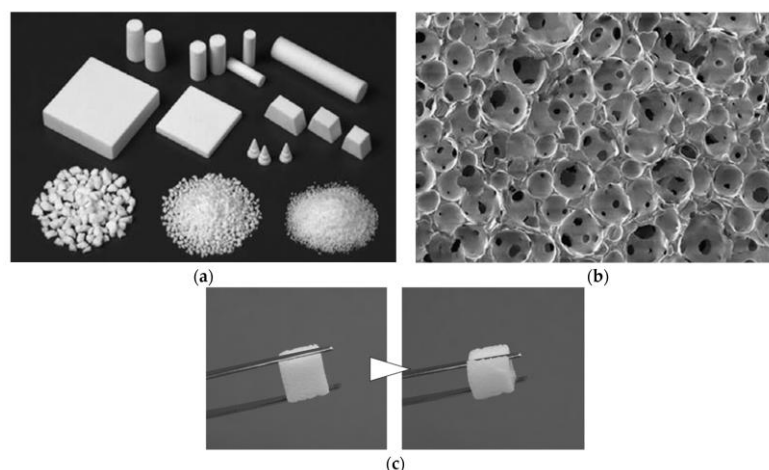
Један од најпознатијих полимера у људском и животињском телу је **колаген**, који је сложен макропротеин. Он игра важну улогу у структури и функцији многих ткива у телу, укључујући кожу, хрскавицу и кости. У контексту инжењеринга ткива, колаген се користи као основни материјал за развој скафолда који подржавају раст нових ћелија и обнављање ткива. Колаген је високо биокompatibilан, а то је кључно за примену у медицинским имплантатима. Природно се разграђује у организму а процес разградње зависи од различитих фактора, укључујући порозност скафолда и присуство ензима. Ова особина омогућава постепену замену колагенског скафолда новим ткивом. Колаген пружа одличну подлогу за ћелијску адхезију и пролиферацију. Има добру механичку чврстоћу и еластичност, што га чини погодним за подршку различитим типовима ткива, укључујући коштану и хрскавичаву. Користи се у облику колагенских скафолда који могу бити произведени у различитим облицима и са различитим структурним карактеристикама, укључујући порозност и дебљину. Колаген може бити функционализован за испоруку фактора раста, хормона или других лекова који подстичу регенерацију ткива. Ово је важно за убрзање процеса зарастања. Колаген се користи у различитим хируршким процедурама, укључујући операције замене или поправке костију. Користи се као лепак за ткива, као и у производњи колагенских мембрана.[28]

Структура колагена (слика 11) подстиче ћелије да се адхерирају на површину имплантата и расту, што је неопходно за регенерацију ткива. Колаген се састоји од три полипептидна ланца, који се намотају и формирају троструку спиралу – тропоколаген (молекули колагена). Молекули имају пречник од 300 nm, а распоређени су на посебан начин да формирају периодичну структуру. Од 5 молекула колагена настају колагене фибриле (пречника 100–500 nm; дужине неколико nm). Вlakна се комбинују и формирају колагена вlakна, која су саставни делови различитих ткива и органа. [29]



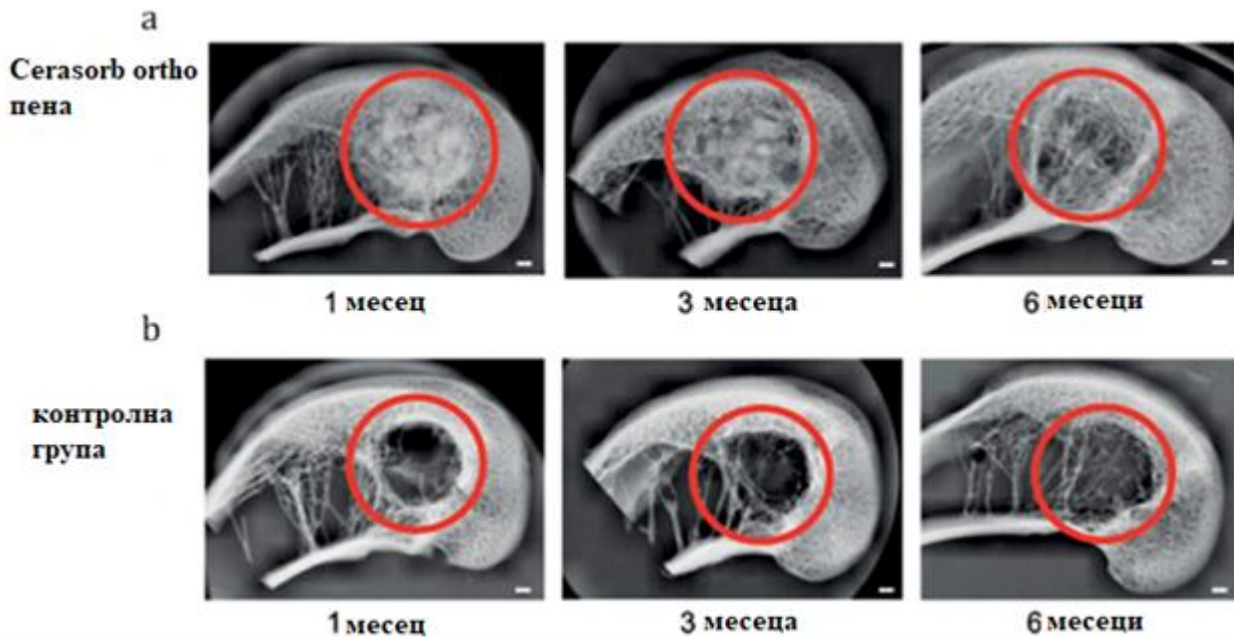
Слика 11. Структура колагена, адаптирано према [29]

Колаген се често комбинује са другим природним или синтетичким материјалима (као што су хидроксиапатит, полимери и метали) ради побољшања механичких својстава и контроле разградње. Комбинација колагена и хидроксиапатита побољшава механичка својства композита, чинећи их сличнијим природној кости. Ова комбинација пружа одговарајућу чврстоћу и еластичност, што је важно за подршку различитим оптерећењима. НАр подстиче остеоиндукцију и минерализацију, док колаген пружа структуралну подлогу и подржава раст ћелија. Ова комбинација је идеална за регенерацију костију. Када се комбинују, колаген и хидроксиапатит могу бити подешени да контролишу брзину разградње, што омогућава бољу координацију између раста новог ткива и разградње имплантата. Композити имају способност да везују протеине и факторе раста, што додатно побољшава процес регенерације. Композити на бази колагена и хидроксиапатита (слика 12) се често користе за производњу скафолда који подржавају раст костију у различитим клиничким ситуацијама, укључујући фрактуре, остеопорозу и замене костију. Могу се користити као имплантати у ортопедским и стоматолошким процедурама, укључујући замене зглобова и зубне имплантате. Због своје способности да подстичу раст ткива, композити се могу користити у терапији рана и за обнављање ткива.[30]



Слика 12. (a) Фотографија синтетичке кости направљене од HAp (блокови, цилиндрични и гранулисани производи) (b) SEM слика синтетичке кости направљене од HAp. (c) Фотографија синтетичке кости направљене од HAp/колаген композита [30]

Колаген се може комбиновати и са β -TCP. Слично композиту колагена и хидроксиапатита, и комбинација колагена и TCP доводи до скафолда који има задовољавајућу механичку чврстоћу и еластичност, приближавајући се природним костима. TCP подстиче раст нових костију, док колаген пружа структурну подлогу, што заједно побољшава остеогенезу. Ова комбинација може да се прилагоди тако да контролише брзину разградње, што омогућава оптимално време за раст нових ткива. Колаген може везивати факторе раста и протеине, што додатно подстиче регенерацију. У једном истраживању група истраживача користила је, *in vivo*, Cerasorb Ortho[®] пену (врста Col/ β -TCP композита), као пунило коштаних празнина у дефектима критичне величине модела дисталног кондила фемура зеца (слика 13). Аутори су приметили да уградња β -TCP у колаген има синергистички ефекат на зарастање костију.[31]

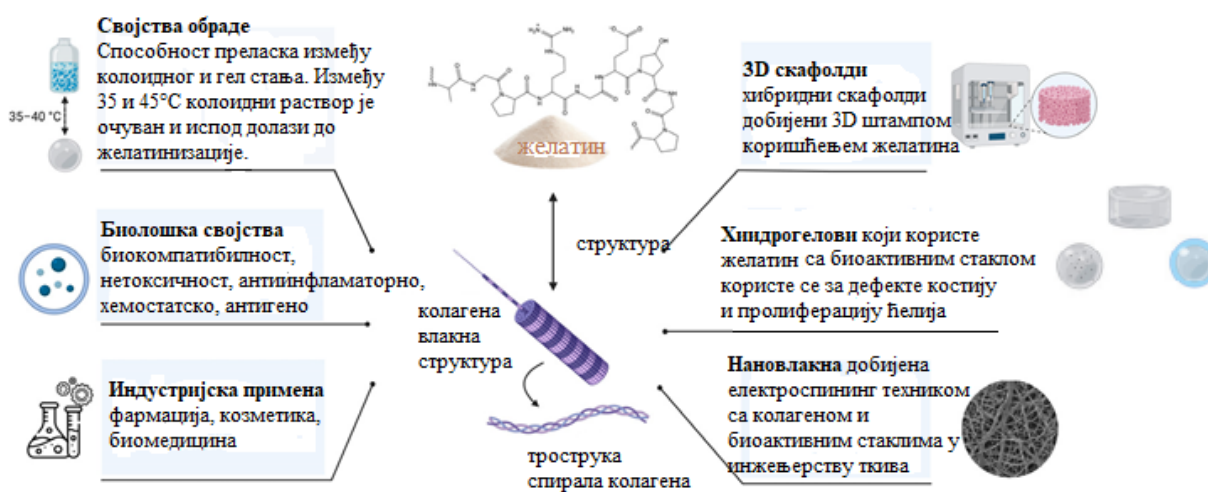


Слика 13. Рендгенске слике процеса зарастања костију дисталних кондила фемура након операције. (а) Третирано Cerasorb ortho пеном. (б) Контролна група са празним дефектом. (црвени круг означава избушене рупе)[31]

Композити колагена и ТСП се користе за израду скафолда за регенерацију костију, посебно у ортопедским и стоматолошким процедурама. Могу се користити као имплантати у клиничким ситуацијама где је потребна замена или обнова кости. Због своје способности да подстичу регенерацију ткива, колагенско-ТСП скафолди могу се користити у терапији рана. Радећи на побољшању механичких својстава и контроли разградње, истраживања у овој области могу довести до значајних напредака у биомедицинским апликацијама.[32]

4.1.2. Желатин

Хидролизом колагена може се добити **желатин** (слика 14), који такође има примену као биоматеријал у инжењерству коштаног ткива. Желатин је веома биокompatибилан и не изазива негативне реакције у организму. Он се природно разграђује у организму, што омогућава постепену замену имплантата новим ткивом без настанка токсичних остатака. Желатин пружа добру подлогу за адхезију ћелија, што је кључно за раст и пролиферацију ћелија у инжењерингу ткива. Хидрофилан је, што омогућава добру интеракцију са водом и другим биолошким течностима, чиме се подстиче хидратација и васкуларизација. Лако се обрађује и може се обликовати у различите форме, што олакшава производњу различитих типова имплантата и скафолда. Желатин је релативно јефтин и доступан, што чини производњу биоматеријала економски повољном. Механичка својства желатина могу бити подложна променама у зависности од температуре и влажности, што може утицати на перформансе у биомедицинским применама.[33]



Слика 14. Структура, својства и примена желатина [33]

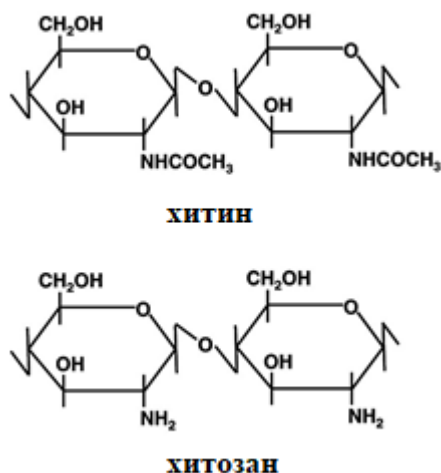
Желатин има способност да формира композите и хибриде са другим полимерима и керамичким, металним и/или стакластим пуниоцима. Те комбинације омогућавају

побољшање механичких својстава, биолошке активности и контроле разградње, што их чини идеалним за различите биомедицинске примене.

Комбинација желатина и HAp доводи до композита који подстичу остеоиндукцију и имају слична механичка својства као природне кости. Често се користи у скафолдима за регенерацију костију и у регенеративној стоматологији.[34] TCP у комбинацији са желатином побољшава механичку чврстину и структуру скафолда и могу бити обећавајућа комбинација за лечење великих дефеката костију.[35] Комбинација желатина са наночестицама (као што су златне или сребрне) може побољшати механичка и антимикробна својства композита. Ове комбинације се истражују за различите терапијске примене и контролисану испоруку лекова, убрзано зарастање рана контролом инфламаторног одговора.[36] Комбинацијом желатина и PLA могу се постићи побољшана механичка својства и контрола разградње. Користи се у производњи скафолда за регенерацију различитих ткива. Комбинација желатина и биоактивних стакала може побољшати механичка својства композита, чинећи их чвршћим и отпорнијим на стрес. Различите студије су показале позитивне резултате за хидрогелове, скафолде и премазе на бази желатина и биоактивног стакла намењене за примену у репарацији коштаног ткива. На пример, у једном истраживању добијено је Cu-модификовано биоактивно стакло ($95\text{SiO}_2\text{--}2,5\text{CaO--}2,5\text{CuO}$ мол%). Комбинација желатина и оваквог биоактивног стакла може довести до побољшања механичких својстава композита јер бакар може додатно умрежити и ојачати полимерну структуру, чиме се побољшава чврстоћа и стабилност. [37]

4.1.3. Хитозан

Осим колагена и желатина, који су протеинске природе, за употребу у регенеративној медицини испитивани су и материјали који су по структури полисахариди. Такав је и **хитозан** (CTS), N-деацетиловани дериват хитина, који се налази у спољашњем омотачу ракова и других артропода (слика 15). [38]

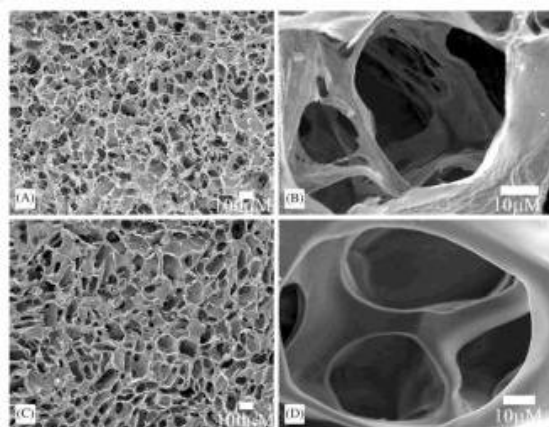


Слика 15. Структура хитина и хитозана

Хитозан је изузетно биокомпатибилан. Природно се разграђује у организму, што омогућава постепену замену имплантата новим ткивима без ризика од токсичних остатака. Показује антимикуробну активност против широког спектра бактерија, што може бити корисно у спречавању инфекција на местима где се примењују импланти. Хитозан подстиче адхезију и пролиферацију ћелија, што је кључно за регенерацију ткива. Може се користити као носач за контролисану испоруку лекова, фактора раста и других биолошки активних супстанци, чиме се побољшава терапеутски ефекат. Хитозан може бити модификован да произведе порозне структуре, што побољшава проток течности и размену хранљивих материја у ткивима. [39]

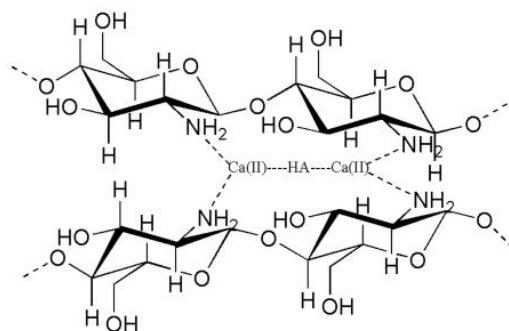
Чисти хитозански скафолди генерално нису за потребе инжењеринга коштаног ткива због њихове мале механичке чврстоће. Зато се хитозан комбинује са различитим материјалима као што су хидроксиапатит, алгинат, хијалуронска киселина, калцијум-фосфат, поли-метил метакрилат (PMMA), поли-L-млечна киселина (PLLA) и фактори раста за потенцијалну примену у ортопедији.

Композити хитозана и алгината (слика 16) обично имају добру порозност, што је важно за пролазак хранљивих материја, гасова и других супстанци у биолошки примењеним условима. И хитозан и алгинат су хидрофилни, што помаже у побољшању растварања у води и интеракцији са воденим окружењем. Композити се користе као скафолди за инжењерство ткива, посебно у регенерацији хрскавице и коштаног ткива. Они подржавају раст и диференцијацију ћелија; могу да се користе као носачи за контролисану испоруку лекова, хормона и других терапијских агенаса (терапија против рака и хроничних болести). Ови композити се могу користити у производњи завоја и облога за ране. Хитозан-алгинат композити могу се користити у развоју биосензора, који детектују различите биолошке и хемијске супстанце. [40]



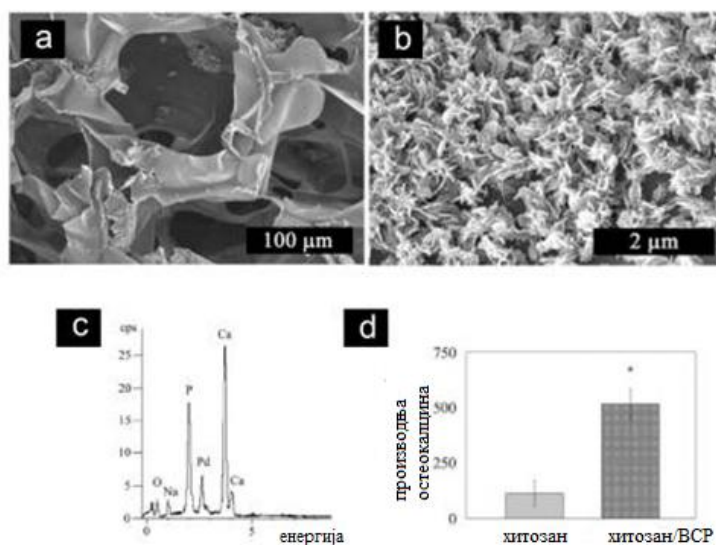
Слика 16. SEM микрофотографије структуре пора при малом и великом увећању хитозанског скафолда (a,b) и CTS/Alg скафолда (c, d)

Неколико студија је спроведено са хитозан/НАр композитним материјалима за инжењеринг коштаног ткива. Када се хитозан комбинује са хидроксиапатитом (слика 17), ова комбинација значајно повећава раст остеобластних ћелија на скафолдима што је врло слично природној кости. Хитозан-хидроксиапатит композити се могу прилагодити за оптимизовање механичких својстава, што је кључно за подршку коштаном ткиву. Често се додају минерали или друге супстанце како би се побољшала структура и функционалност.[41]



Слика 17. Хемијска интеракција између хитозана и хидроксиапатита [41]

Постоји значајан број студија о композитима хитозана са микрочестицама бифазног калцијум-фосфата (BCP). Ове студије показују обећавајуће резултате у смислу биокомпатибилности, остеогенезе и способности скафолда да подстакну формирање новог ткива. Кључни аспекти који се проучавају укључују порозност материјала, биодеградацију, утицај на ћелијску пролиферацију, диференцијацију и интеграцију са природним ткивом. На слици 18а приказан је хитозански скафолд који садржи BCP микрочестице са високом порозношћу, што је важно за пролазак хранљивих материја, кисеоника и других супстанци, подстичући раст ћелија и обнављање ткива (слика 18b,c). [39]



Слика 18. Композитни скафолфи CTS/BCP

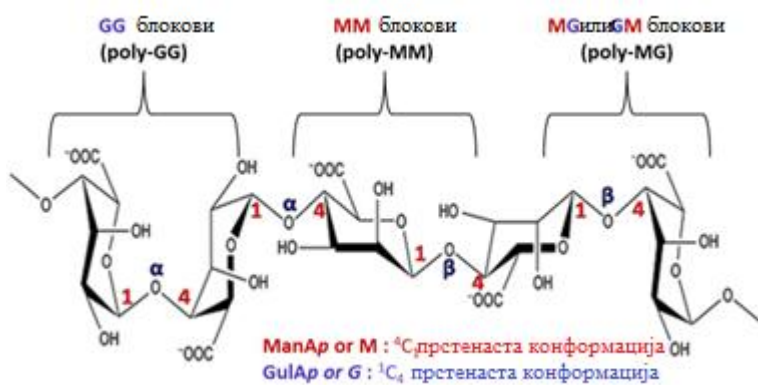
(a) SEM микрографија CTS/BCP скафолд са 80% укупне порозности и средњом величином пора од 100 μm . (b) SEM микрофотографија слоја апатита формираног на површини скафолда након инкубације у медијуму ћелијске културе. (c) EDXS слоја апатита који показује однос Ca:P од 1,58 за минерал, што је слично стехиометријском односу Ca:P минерала кости (1,67). (d) Производња остеокалцина је значајно већа у CTS/BCP скафолдима

У једном истраживању извршена је комбинација хидроксиапатита и CTS како би се створила порозна 3D структура без употребе хемијских веза. Додатком протеина периостина се убрзава остеоинтеграција и регенерација костију, што је тестирано на моделу дефекта доње вилице код пацова. Резултати показују потенцијал овог композита за клиничку примену у лечењу оштећења костију.[42]

Хитозан се често комбинује са синтетским полимерима који могу побољшати еластичност, отпорност на напрезање и дуктилност композита, што их чини погодним за примену у структурним биоматеријалима скафолда. За примену у инжењерству коштаног ткива истражени су композити CTS/PLA као и CTS/PLGA, CTS/PGA, CTS/PCL. Комбинација CTS/PLA омогућава контролисано ослобађање или прилагођену разградњу у зависности од примене. Ово је нарочито корисно за апликације као што су привремени импланти или системи за испоруку лекова нпр. антибиотика или антиканцерогених агенаса директно на место лечења, где је важно да се материјал разгради после обављања своје функције. Композит CTS/PLGA такође има широку примену у биомедицини, укључујући регенерацију костију, хрскавице и коже, као и у системима за испоруку лекова, што их чини веома перспективним материјалима у области ткивног инжењеринга и терапије. PLGA је биокомпатибилан и широко је прихваћен у медицинским применама, али може изазвати благу инфламаторну реакцију током разградње због формирања млечне и гликолне киселине. Комбинација са хитозаном помаже у ублажавању овог ефекта. Хитозан може бити лако функционализован са различитим биоактивним молекулима као што су фактори раста, антибактеријски агенси или протеини који подржавају регенерацију ткива. PLGA може бити коришћен као матрица за контролисано ослобађање тих биомолекула, што омогућава дуготрајан и континуиран ефекат. Композит CTS/PCL могу се дизајнирати тако да имају високу порозност, што омогућава дифузију хранљивих материја и кисеоника до ћелија које мигрирају унутар скафолда. Порозност је важна за формирање крвних судова и васкуларизацију, што је неопходно за успешну регенерацију ткива а такође се материјал постепено разграђује. Композити CTS/PCL се користе у регенерацији коштаног, хрскавичног ткива, меких ткива (нерви, крвни судови), за контролисано ослобађање фактора раста, антибиотика или антиканцерогених агенаса на месту тумора или повреде.[43]

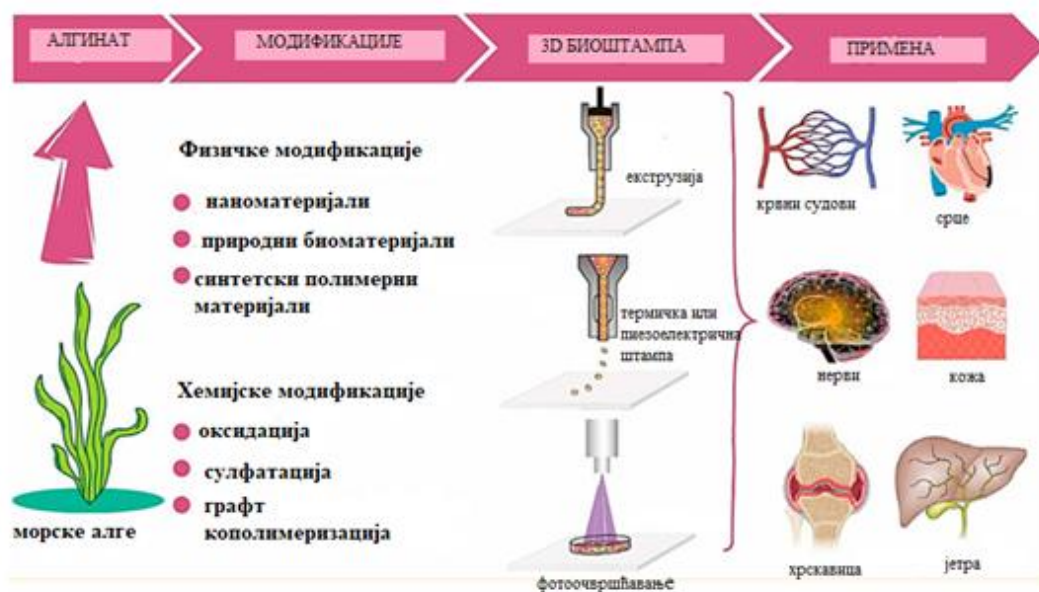
4.1.4. Алгинат

Још један биоразградиви полимер који припада групи полисахарида је **алгинат** (слика 19). Може се изоловати из ћелијских зидова смеђих алги (*Phaeophyceae*). Алгинати се састоје од два различита моносахарида: мануронске киселине (М) и гулурунске киселине (G), које су међусобно повезане гликозидним везама. Секвенце ових двеју киселина могу се наћи као: MM блокови (секвенце чисте мануронске киселине), GG блокови (секвенце чисте гулурунске киселине), MG блокови (мешовите секвенце мануронске и гулурунске киселине). [44]



Слика 19. Хемијска структура алгината [44]

Алгинат је биокомпатибилан и безопасан за људски организам. Може се природно разграђивати у организму, што значи да не оставља токсичне остатке и не захтева хируршко уклањање, што је важно за имплантацију и регенерацију ткива. Алгинат може формирати гелове у присуству двовалентних катјона, као што су калцијум и магнезијум. Може бити у различитим формама, укључујући прах, грануле или гелове, што га чини погодним за разне примене. Подложен је физичким или хемијским модификацијама за добијање различитих текстура и вискозности у зависности од потреба. Алгинат има способност да делује као средство за згушњавање, што га чини корисним у прехранбеној индустрији и у производњи козметичких производа. Може имати одређена антибактеријска својства, што га чини корисним за примене у лечењу рана и за смањење ризика од инфекција. Као хидрофилан полимер може задржавати воду, што побољшава хидратацију ткива и подстиче зарастање рана. Гелови од алгината могу се дизајнирати да буду пропустљиви за хранљиве материје, али да блокирају веће молекуле, што омогућава континуирано ослобађање лекова или других биоактивних супстанци (слика 20). [45]



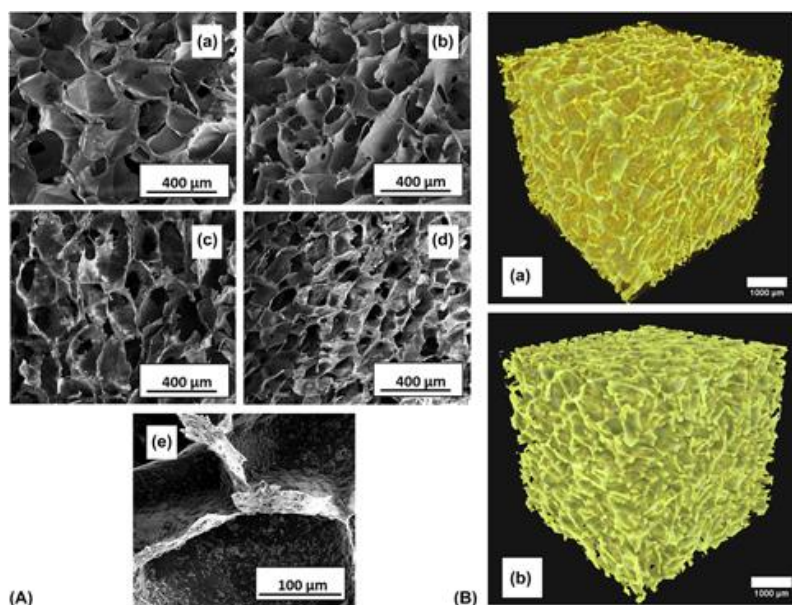
Слика 20. Процеси физичке/хемијске модификације, технике 3D биоштампања и примене алгинатних хидрогелова у TE-RM [45]

У једној студији је откривено да се хидрогелови на бази оксидираних алгината (ОА) користе за апликације у инжењерингу ткива укључујући кости, хрскавицу, крвне судове, рожњачу и друга мека ткива. То је модификована форма алгината, настала оксидацијом полимера, што доводи до промене његових хемијских својстава и биолошке активности. Услед оксидације алгината формирају се алдехидне групе које су осетљиве на хидролизу па је биоразградња ОА повећана, побољшавају се механичка својства гела и биокомпатибилност ОА.[46]

Алгинат има значајне предности и примене, али недостаци као што су спора разградња и ограничена механичка својства могу представљати изазове. Алгинат, посебно у свом неоксидисаном облику, може имати изузетно спору разградњу у организму. У зависности од молекулске тежине и структуре, разградња алгинатских имплантата може трајати неколико месеци до година. То може бити проблем у ситуацијама када је потребно брзо зарастање или када се захтева да се материјал брзо распадне. Многи истраживачи покушавају да побољшају механичка својства алгината додавањем неорганских компоненти, што је од велике важности за инжењерство коштаног ткива. [47]

Од неорганских компоненти најчешће се алгинат комбинује са биоактивним стаклима (слика 21), ТСП или НАр. Комбинација алгината и биоактивних стакала може подстицати адхезију и раст остеобласта, што је кључно за поправку и регенерацију кости. Такође, могу се побољшати механичка својства алгинатних гелова, као што су чврстоћа и еластичност,

чинећи их погоднијим за структурне примене. Алгинат и биоактивна стакла су природно биокompatibilни.[48]



Слика 21. Скафолди добијени комбинацијом биоактивног стаклокерамичког праха са алгинатом [48]

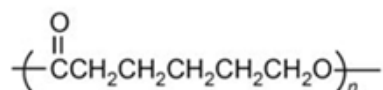
Композити алгината са другим полимерима, чврстим честицама или биоактивним стаклима чини их погодним за иновације у области биомедицине, инжењеринга ткива и других технолошких области. Користе се за развој матрица које подржавају раст ћелија и регенерацију ткива, укључујући кости, хрскавицу и нервно ткиво; за третман рана и рекострукцију ткива, чиме се побољшава зарастање; за зубне имплантате, пломбе и остале стоматолошке примене; за производњу система за контролисано ослобађање лекова, што омогућава прецизну дозу и време ослобађања; за маске за лице и производе за негу коже, због својих хидратантних својстава. [45, 47]

4.2. Синтетски биоразградиви полимери

Синтетски биоразградиви полимери играју важну улогу у пољу регенерације коштаног ткива, посебно у развоју биоматеријала који служе као носачи за ћелије, факторе раста и лекове или као привремене замене за оштећено ткиво. Најчешће коришћени синтетски биоразградиви полимери у регенерацији ткива су алифатични полиестри: поли(ε-капролактон) (PCL), полилактид (PLA) и поли(лактид-ко-гликолид) (PLGA). Ови полимери пролазе кроз ригорозне клиничке и регулаторне процесе како би се осигурала њихова биокомпатибилност, сигурност и ефикасност пре него што буду примењени у лечењу пацијената. Одобрени су од стране многих регулаторних тела, укључујући FDA (Управа за храну и лекове САД).

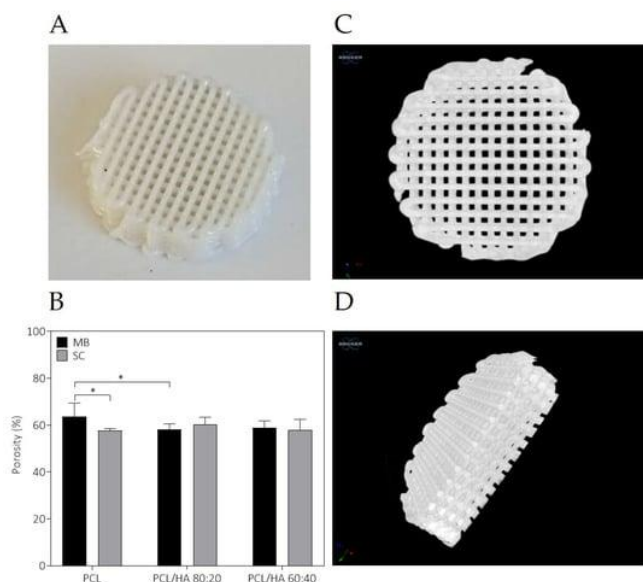
4.2.1. Поли(ε-капролактон) или PCL

Поли(ε-капролактон) или PCL (слика 22) се у телу разграђује веома споро, у периоду од две до три године, што га чини идеалним за примене које захтевају дуготрајну подршку. Разградња се одвија путем хидролизе естарских веза, а крајњи производи разградње су безопасни и биокомпатибилни. PCL се често користи као основа за скафолде у инжењерингу коштаног ткива, јер омогућава ћелијама, као што су остеобласти, да се прилепе, пролиферишу и диференцирају у ново коштано ткиво. Његова порозна структура омогућава циркулацију хранљивих материја и уклањање отпадних продуката, чиме подстиче регенерацију. PCL је веома флексибилан и лако се прерађује, укључујући методе као што су 3D штампање, електроспиновање и ливење. Његова термопластичност омогућава да се обликује у разне структуре потребне за скафолде, прилагођене специфичним медицинским захтевима. Иако је флексибилан, PCL може да пружи довољну механичку стабилност за примене у регенерацији коштаног ткива. Међутим, у неким случајевима се користи у комбинацији са другим полимерима или керамичким материјалима како би се повећала његова чврстоћа. У поређењу са самим PCL-ом комбинације са другим полимерима побољшавају се остеогеност, омогућавају стварање структура са великим порима које побољшавају циркулацију хранљивих материја и елиминацију отпада, што је неопходно за дуготрајну ћелијску функцију.[\[49\]](#)



Слика 22. Структура поли(ε-капролактона)

Често се комбинује и са хидроксиапатитом или биоактивним стаклом како би се побољшала остеоиндуктивна својства, убрзао процес регенерације и повећала механичка чврстоћа скафолда. Слика 23 показује 3D штампани скафолд PCL/HAp који је испитан у једном истраживању. Аутори су упоредили две методе припреме композита, топљење (melt blending) и технику ливења растварача (solvent casting), као и утицај садржаја биокерамике на својства скафолда, откривајући да биокерамички садржај значајно утиче на побољшање механичких својстава и биокompatibilност ових скафолда.[50]



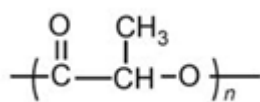
Слика 23. A-PCL/HAp скафолд, B-порозност скафолда добијеног MB (melt blending- мешањем растопљеног материјала) и SC (solvent casting- ливење растварачем ; C-поглед одозго; D- попречни пресек [50]

PCL скафолди се користе у ортопедији за лечење великих коштаних дефеката узрокованих траумама, инфекцијама или туморима; могу бити модификовани да носе лекове или факторе раста који поспешују зарастање костију; користе се за регенерацију оштећеног зубног ткива

и виличне кости у стоматологији, за зубне имплантате који обнављају структуру изгубљеног зуба и подржавају виличну кост. [51]

4.2.2. Полилактид или PLA

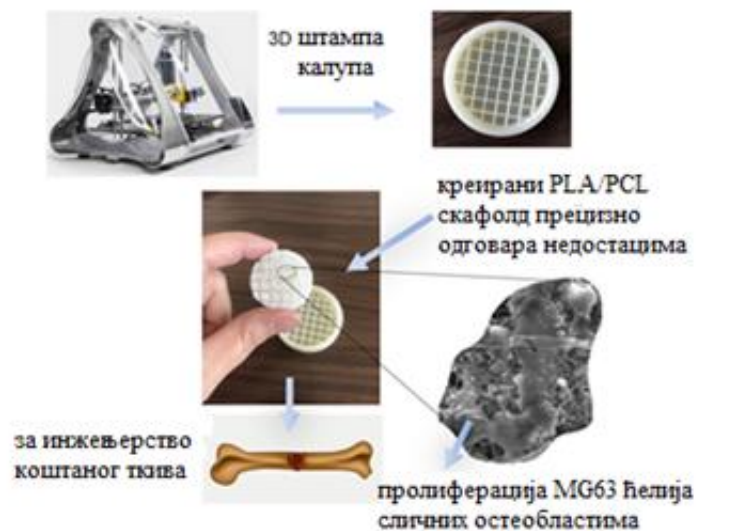
Полилактид или PLA се широко користи као материјал за скафолде због своје биоразградивости (слика 24). Биоресорбилни PLA се лако обрађује и може се комбиновати са другим материјалима за побољшање биоактивности и механичких особина, чиме се подстиче остеогенеза у клиничким применама. [49]



Слика 24. Структура PLA

PLA је тестиран у комбинацији са HAp у циљу побољшања механичких својстава. Једна од значајних студија о комбинацији PLA и HAp фокусира се на израду 3D штампаних композитних скафолда. Истраживање је показало да су ови скафолди имали добру механичку стабилност и биоактивност, што их чини погодним за регенерацију костију. У студији је утврђено да додатак HAp у PLA матрицу доприноси остеогенези и смањује инфламаторни одговор, што је кључно за ефикасно лечење коштаних дефеката. [52]

У једном истраживању извршена је припрема и карактеризација композитних скафолда (слика 25) од PLA, PCL и HAp користећи индиректне 3D технике штампе за инжењеринг коштаног ткива. Циљ истраживања био је оптимизација механичких и биолошких својстава скафолда, што је кључно за ефикасну регенерацију костију. Резултати су показали да PLA/PCL/HAp композити имају повољна механичка својства, порозност и биоактивност, што их чини обећавајућим кандидатима за побољшање поправке и регенерације коштаног ткива. [53]

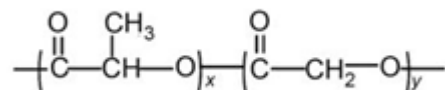


Слика 25. Композитни PLA/PCL /HAp скафолд [53]

PLA се широко примењује у инжењерству коштаног ткива због своје биокompatibilности и биоразградивости. Користи се за израду скафолда који пружају структурну подршку за раст новог коштаног ткива а представља еколошки прихватљивији избор у односу на традиционалне пластике, јер се производи од обновљивих извора, као што је кукурузни скроб. [52, 53]

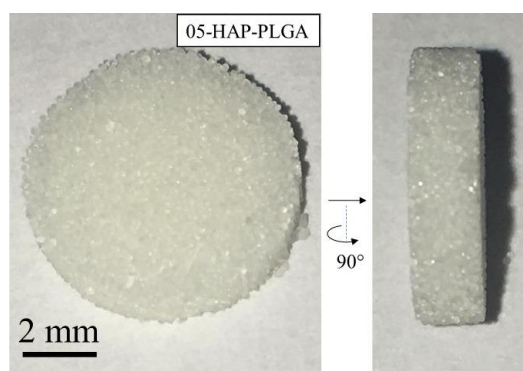
4.2.3. Поли(лактид-когликолид) или PLGA

Полигликолидна киселина или **PLGA** (слика 26) је биокompatibilан и биоразградив кополимер састављен од мономера млечне киселине (лактида) и гликолне киселине (гликолида). PLGA се у телу разлаже хидролизом на млечну и гликолну киселину, које се затим метаболишу и елиминишу из организма. Однос између млечне и гликолне киселине може да се мења да би се контролисала брзина распада полимера (виши садржај млечне киселине успорава разградњу). PLGA се користи у инжењерингу ткива, системима за испоруку лекова и за прављење хируршких материјала као што су ресорптивни шавови.[54]



Слика 26. Структура PLGA

Додавање хидроксиапатита повећава механичку чврстоћу PLGA, што је посебно важно за апликације у реконструкцији костију. PLGA се контролисано разграђује, док хидроксиапатит остаје као подлога за формирање нове кости. Хидроксиапатит побољшава биокompatibilност композита и омогућава бољу интеграцију са околним коштаном ткивом, чиме подстиче бржи и квалитетнији процес остеоинтеграције. PLGA матрица служи као носач за HAp, што омогућава лакшу примену у хируршким процедурама и подршку при регенерацији кости. У једном истраживању PLGA/HAp скафолди су обогаћени калцијум-фосфатним наночестицама функционализованим ДНК, што омогућава боље преношење гена и побољшану остеогенезу. Ова комбинација може унапредити раст новог коштаног ткива око скафолда или унутар њега, уз постепену разградњу материјала (слика 27). [55]



Слика 27. PLGA/HAp скафолд са око 48% порозности (слика одозго и са стране)

Истраживања се фокусирају на композите PLGA са новим природним и синтетичким полимерима што може довести до боље остеоинтеграције и убрзане регенерације костију. Развој микроструктурираних скафолда са контролисаном порозношћу и расподелом може значајно побољшати раст и диференцијацију ћелија. Употреба напредних техника као што су 3D штампање и електроспиновање омогућава стварање сложенијих облика и структура, што побољшава функционалност скафолда. PLGA скафолди могу бити модификовани за контролисано ослобађање фактора раста и других биоактивних молекула, што може убрзати процес регенерације, што је важно за пружање одговарајуће подршке ћелијама у критичним фазама зарастања. Прилагођавање скафолда на основу специфичних потреба пацијента и типа повреде може постати реалност. Ово би могло укључивати коришћење матичних ћелија или генетски модификованих ћелија у комбинацији са PLGA. [56]

5. КОМПОЗИТНИ МАКРОПОРОЗНИ НОСАЧИ

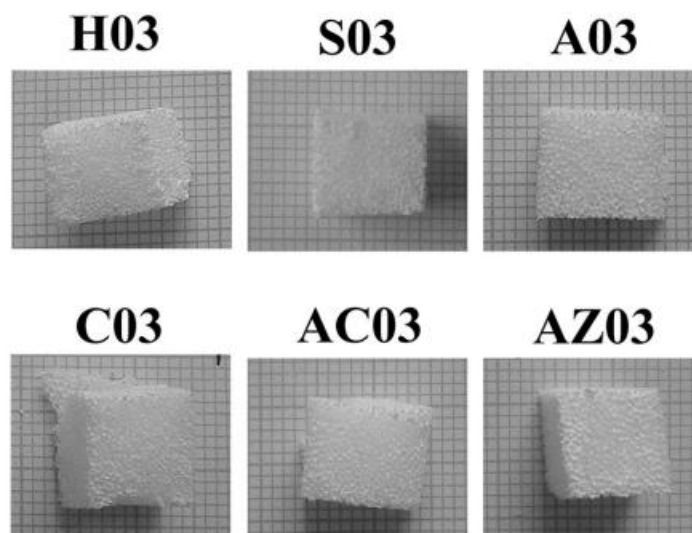
Макропорозни носачи (скафолди) представљају важан концепт у инжењерингу коштаног ткива, јер пружају структуралну подршку и промовишу регенерацију. Они су дизајнирани да имају велике поре, што омогућава дифузију хранљивих материја и раст ћелија. Макропорозни носачи морају имати одређене карактеристике. Величина пора макропорозних скафолда је већа од 100 μm , што омогућава инвазију ћелија и одвијање метаболичких процеса. Порозност је важна за доставу кисеоника и хранљивих материја. Скафолди морају бити механички чврсти, како би подржали оптерећења у телу, али истовремено довољно порозни да подстакну формирање ткива. Коришћени материјали морају бити биокompatibilни, како би се минимизирале имунолошке реакције и промовисала интеграција скафолда у природно ткиво. Скафолди се морају разградити током времена, омогућавајући постепену замену природним ткивом, без стварања токсичних остатака. Процеси производње макропорозних носача су кључни за инжењеринг коштаног ткива и укључују различите технике које омогућавају стварање структура са жељеним порозним својствима. Најчешће примењиване методе су електроспининг, 3D штампање, техника реплике сунђера, термална обрада, гел-литографија и друге. Важно је одабрати методу која ће омогућити добијање носача који задовољава специфичне захтеве у погледу чврстоће, еластичности и биокompatibilности. Доступност опреме и материјала такође може утицати на избор методе. Након идентификације специфичних захтева у лечењу, као што су степен повреда или болести костију, одабир методе ће зависити и од терапијских циљева (нпр. потреба за брзим нарастањем или специфичним хемијским својствима). За клиничке примене, избор методе може бити ограничен регулаторним захтевима који се односе на безбедност и ефикасност. Ови фактори чине избор методе за производњу макропорозних носача сложеним и специфичним за сваку примену, а често укључују интердисциплинарни приступ и сарадњу између истраживача, инжењера и клиничара.[\[57, 58\]](#)

У наставку ће бити описане три најчешће коришћене технике добијања композитних макропорозних скафолда: техника реплике сунђера, 3D штампа и електроспининг.

5.1. Макропорозни носачи добијени техником реплике сунђера

Метода реплике сунђера је једна од најпопуларнијих, приступачних, релативно лаких и ефикасних техника за развој високо порозних 3D скафолда. Ова техника се користи за израду керамичких или металних материјала који имају порозну структуру налик сунђеру, што им даје јединствена физичка и механичка својства. Као основа се користи органски сунђер (најчешће полиуретански) због своје макропорозне структуре. Сунђер служи као модел који ће бити покривен материјалом од којег ће се добити носач. Органски сунђер се урања у суспензију која садржи честице материјала који треба да формира носач. Ова суспензија обично укључује керамичке честице као што су оксиди (нпр. алуминијум-оксид, цирконијум-оксид) или друге керамичке материјале (калцијум-фосфате, хидроксиапатит, и сл.), заједно са одређеним везивима и адитивима који помажу при обради. Након импрегнације сунђера, вишак суспензије се уклања, обично притискањем или цеђењем, како би се добила равномерна дистрибуција материјала на сунђеру. Импрегнирани сунђер се суши на ваздуху или у пећи како би се уклонила влага. Након сушења, сунђер се подвргава процесу пиролизе, током које органски сунђер малом брзином сагорева или се разлаже на високој температури, остављајући порозни керамички скелет. Овај порозни материјал се затим синтерује на високим температурама како би се добила чврста структура. Структуре добијене овом техником обично имају порозност од 70-90 %, што их чини идеалним за примене у којима је потребно пропуштање течности или гасова. Помоћу различитих сунђера могу се контролисати величина и дистрибуција пора. Велика површина омогућава бољу интеракцију са реактивним супстанцама, што је посебно корисно у каталитичким применама.[59]

На слици 28 приказани су скафолди хидроксиапатита добијени овом техником а приказани су у раду који истражује како различите концентрације јона сребра, бакра и цинка утичу на укупна својства биокерамичких материјала, чинећи их погоднијим за медицинске примене. Јони сребра и бакра показују снажну антимикробну активност, што спречава развој инфекција на површини имплантата. Цинк доприноси побољшаном расту и диференцијацији остеобласта, што је кључно за остеоинтеграцију. Присуство ових јона утиче и на механичка својства биокерамике, што је важно за њену примену за процесирање ортопедских имплантата.[60]



Слика 28. Макроскопски приказ скафолда серије 03 (прахови калцинисани на 1100°C а синтеровани на 1300°C) [60]

У другом истраживању описани су композитни скафолди (слика 29) хидроксиапатита допираног магнезијумом и стронцијумом који су синтетисани, уз додатак цирконијум (IV)-оксида стабилизованог итријумом (YSZ), ради побољшања механичких својстава. Резултати студије показују да скафолди имају одличну микропорозну структуру са међусобно повезаним порима. Биолошка активност скафолда је потврђена у симулираној телесној течности (SBF), док су механичка својства била најбоља код композитних скафолда са желатинским премазом, који су издржали просечна напрезања већа од 1019 kPa. Ови резултати указују на потенцијалну примену у регенерацији коштаног ткива. [61]

а)



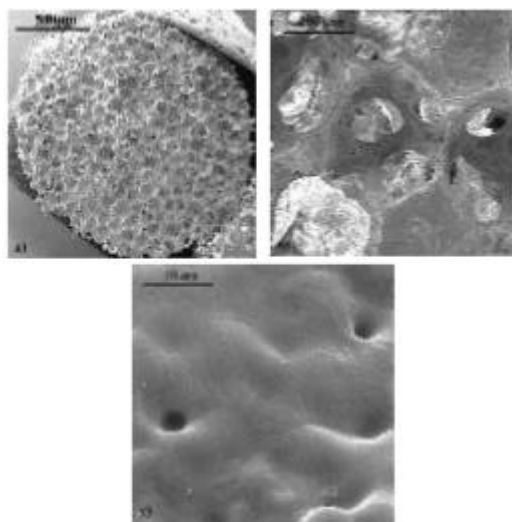
б)



Слика 29. а) Полимерна пена након потапања у пасту б) скафолд после синтеровања [61]

Модификована техника реплике сунђера обезбеђује структуру која се лако прилагођава различитим костима и која омогућава успешну интеграцију са околним ткивом, чинећи је перспективном за примену у биомедицинским третманима регенерације костију. За разлику од традиционалне, овде се полиуретански сунђер потапа у растопљени парафин. Величина пора настала топљењем и сагоревањем парафином импрегнираног сунђера је од 200 до 300 μ m, што је знатно веће од пора које би настале да сунђер није импрегниран парафином.[62]

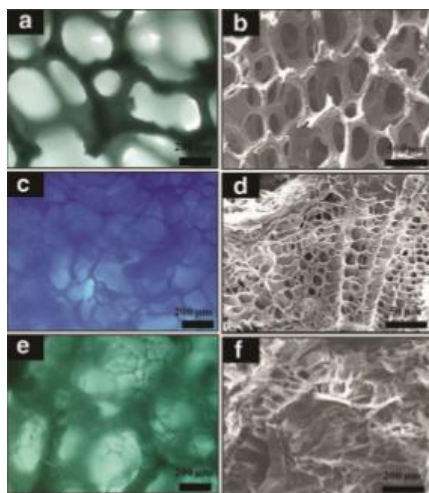
Још једна врста макропорозних носача на бази калцијум-фосфата, допираних јонима магнезијума, бакра и цинка, а затим пресвучених желатином добијена је синтеровањем на 1430°C методом реплике сунђера. Овако добијени скафолди омогућили су побољшану биокомпатибилност и биодеградацију материјала, што олакшава пријањање ћелија током почетне фазе остеоинтеграције. Јони различитих метала се додају током синтезе да би се повећала биоактивност и антимикробне особине, што их чини погодним за примену у регенерацији костију и биомедицинским имплантатима (слика 30). [63]



Слика 30. Микроструктура макропорозних носача на бази калцијум фосфата допираних јонима Mg, Cu, Zn и превучених желатином [63]

У једној студији објашњено је добијање скафолда на бази ВСР методом реплике сунђера, а хидрогелом на бази хијалуронске киселине и желатина (HyA-Gel) је првучен 3D керамички скафолд. У *in vitro* експериментима са мезенхималним матичним ћелијама показано је повећано размножавање ћелија и појачана активност алкалне фосфатазе, ензима који

учествује у формирању костију. *In vivo* тестови су потврдили ефикасност овог скафолда у подстицању формирања костију, уз значајну минерализацију колагена и експресију протеина попут остеокалцина и остеопонтина, који су маркери за коштаног ткиво. Скафолд почиње да се разграђује након три месеца, што га чини погодним за примену у ситуацијама где је потребна постепена ресорпција и замена природном кости (слика 31).[\[64\]](#)



Слика 31. Морфологија BCP скафолда (a, b), HyA–Gel хидрогела (c, d), и HyA-Gel/BCP скафолда(e, f, h) [\[64\]](#)

Техника реплике сунђера има значајан потенцијал у производњи скафолда за примену у биомедицинским наукама, нарочито у регенерацији коштаног ткива. Технолошке предности укључују лакоћу контролисања величина пора и структуре, као и могућност допирања разним јонима или биолошким молекулима који побољшавају биоактивност материјала. Међутим, изазови укључују потребу за прецизним процесом синтеровања ради постизања одговарајућих механичких својстава, што је посебно важно за кости носеће конструкције. Техника реплике сунђера представља ефикасну и економичну методу за производњу порозних скафолда погодних за разноврсне медицинске примене, али захтева пажљиво управљање процесом да би се постигле жељене карактеристике материјала.[\[63, 64\]](#)

5.2. Макропорозни носачи добијени методом 3D штампања

Скафолди направљени **тродимензионалним (3D) штампањем** су погодни за обликовање и имитацију структуре и механичких својстава природне кости, што их чини посебно погодним за регенерацију кости. Висококвалитетни скафолд је неопходан за успех инжењеринга коштаног ткива, јер мора испуњавати специфичне биолошке, структурне и механичке захтеве који омогућавају раст и опоравак кости. У процесу штампања користе се различити материјали, као што су биокерамика, полиестери, хидрогелови и биомолекули, који се бирају према могућности да подрже ћелијско пријањање, контролисано ослобађање хранљивих материја и оптималну механичку стабилност. Многа истраживања су спроведена и воде се како би 3D штампани скафолди добили нове функције, а у наставку су наведене њихове предности и недостаци. 3D штампањем се могу добити скафолди од синтетичког/природног полимера а подразумева комбинацију прецизне микроекструзије са електростатичким ефектом за побољшану контролу структуре и морфологије скафолда. Ова метода је посебно погодна за израду скафолда високе порозности, који су потребни за правилну васкуларизацију и подршку ћелијском расту у инжењерингу ткива. Природни полимери се често додају у фази накнадне обраде како би се избегла њихова деградација током штампања на вишим температурама. Такође, 3D штампа полиестерских (*PLA*, *PLGA*, *PCL*) скафолда се често изводи на вишим температурама да би се омогућило правилно топљење и екструдирање полимера у сложене порозне структуре. Потребно је контролисати температуре јер виша температура од оптималне може довести до брзе разградње полимера, губитка механичких својстава и лошије биокompatibilности. Предности ових скафолда су њихова биодеградабилност, механичка стабилност и прилагодљивост у порозности. А недостаци полиестарских скафолда су мања биолошка активност и спор процес разградње нпр. *PCLa*. [65]

3D штампани скафолди на бази керамике као што су хидроксиапатит и β -ТСР, природно подржавају раст коштаних ћелија и стимулишу остеогенезу, омогућавајући интеграцију са постојећим коштаним ткивом. 3D штампом се контролише порозност, што омогућава добар проток хранљивих материја, ћелија и кисеоника, а то је кључно за регенерацију коштаног ткива и васкуларизацију. Биокерамика се разлаже у телу и постепено замењује природним ткивом, чиме се смањује потреба за хируршким уклањањем имплантата и умањује ризик од дугорочних компликација. Додавањем елемената као што су стронцијум или цинк у

материјал за производњу скафолда могу се побољшати антибактеријска својства и способност за имуномодулацију, што помаже у превенцији инфекција око имплантата. Иако је биокерамика биокомпатибилна, често је крхка и има ниску отпорност на удар, што може довести до ломљења пре него што је коштано ткиво довољно регенерисано. У неким случајевима, брзина разградње биокерамике је спорија од жељене, што може утицати на зарастање. У комбинацији са полимерима могуће је прилагодити брзину деградације, али то може довести до додатних трошкова и сложености у производњи. Иако порозност подржава васкуларизацију, претерано велика порозност може ослабити скафолд, па је потребно пажљиво пројектовање структуре како би се постигла оптимална механичка стабилност. Као пример на слици 32 приказан је 3D биоактивни керамички скафолд на бази β -TCP добијен у истраживању из 2018.године. [66]



Слика 32. 3D биоактивни керамички скафолд на бази β -TCP

Скафолди на бази хидрогела се такође могу добити методом 3D штампања. Хидрогелови су хидрофилни полимерни материјали који могу апсорбовати велике количине воде и често имају структуру сличну екстрацелуларном матриксу, што их чини веома погодним за инжењеринг ткива. Они су углавном биокомпатибилни и могу се лако модификовати да би подржали ћелијску пролиферацију, диференцијацију и адхезију, што је важно за успешну интеграцију са околним ткивом. 3D штампани скафолди на бази хидрогелова могу се прилагодити специфичним облицима и порозности, омогућавајући прецизно моделирање за специфичне анатомске структуре, као што су кости или хрскавица. Могу да носе биолошке факторе, протеине, факторе раста или лекове, чиме се побољшавају регенеративна својства и омогућавају контролисана ослобађања ових фактора током времена. Скафолди на бази хидрогелова се могу произвести тако да имају различиту чврстоћу и еластичност, што је важно за различите апликације у ткивима са различитим механичким захтевима. Њихови

недостаци су: хидрогелови су често мање механички стабилни од керамике или других материјала, што ограничава њихову примену у оптерећеним деловима скелета, као што је реконструкција великих коштаних дефеката. Неке врсте хидрогелова се брзо разграђују у телу, што може представљати проблем ако ткиво није довољно регенерисано пре него што скафолд деградира. Да би постигли одговарајућу чврстоћу и стабилност, састав хидрогела мора бити пажљиво формулисан, што може бити изазовно а производња скупа. Због ових предности и изазова, скафолди на бази хидрогелова се често користе у комбинацији са другим материјалима, попут биокерамике или полимера, како би се побољшала њихова стабилност и функционалност.[67] На слици 33 приказани су скафолди на бази чистог PCL-а и композита PCL/НyА који су се показали добрим у подстицању истовременог раста кости и хрскавице, што је изузетно важно за третман остеохондралних повреда које настају у условима као што су артритис или трауме. [68]



Слика 33. 3D хидрогел скафолд на бази а)PCL б)PCL/НyА [68]

Криогено 3D штампање скафолда за инжењерство коштаног ткива познато и као "криопринтинг" (cryoprinting), представља технику у којој се материјали штампају на веома ниским температурама, коришћењем температуре течног азота или система за контролу замрзавања. Овај процес је користан за израду скафолда за инжењеринг коштаног ткива због стварања специфичне порозне структуре и могућности уграђивања осетљивих биомолекула који су потребни за регенерацију ткива. Замрзавање материјала доводи до формирања микропора у структури скафолда, што је кључно за регенерацију коштаног ткива. Порозни скафолди омогућавају бољи проток хранљивих материја и ћелија, подстичући васкуларизацију и остеогенезу. Овај процес омогућава уграђивање осетљивих биомолекула, као што су фактори раста и протеини, који су иначе подложни разградњи на високим температурама. Ово чини криогено штампање корисним за израду скафолда који треба да преносе биолошке факторе важне за регенерацију ткива. Скафолди произведени овом техником могу имати прилагођене стопе деградације, омогућавајући прецизну контролу

времена потребног за потпуну регенерацију коштаног ткива и постепену замену скафолда природним ткивом. У криогеном 3D штампању користе се материјали као што су биокомпатибилни полимери и хидрогелови, који се брзо замрзавају након екструзије. Током процеса, често се користе и биокерамичке и стакласте честице ради повећања механичке стабилности и побољшања остеокондуктивних и остеоиндуктивних својстава. Криогено штампање омогућава израду комплексних структура, чување биолошке активности и стварање високо порозних структура које подржавају регенерацију ткива. Захтевају се прецизне температуре, што може бити технички изазовно и захтева специјализовану опрему за штампу. Механичка стабилност криогених скафолда је понекад слабија, па је често потребна додатна стабилнизација структуре. [69]

У многобројним студијама су описани 3D композитни скафолди настали комбинацијом биокерамичких и полимерних материјала. На пример, на слици 34 приказан је 3D скафолд PCL/ β -TCP са величином пора од 500 μm и порозношћу од 50% који је успешно имплементиран у хируршким процедурама, показујући потенцијал за побољшање опоравка и функционалности код пацијената са сложеним повредама лица различите етиологије. Развијени скафолди су специјализовани за сваког пацијента, прилагођени специфичним анатомским потребама и пружају значајне предности у поређењу са стандардним решењима. Показано је да може пружити трајну подршку и побољшати формирање костију у сложеним дефектима. [70]



Слика 34. 3D скафолд PCL/ β -TCP [70]

За пројектовање и производњу скафолда за инжењеринг коштаног ткива са више компоненти и функција често се комбинују 3D штампање и друге технике израде (инјекциона

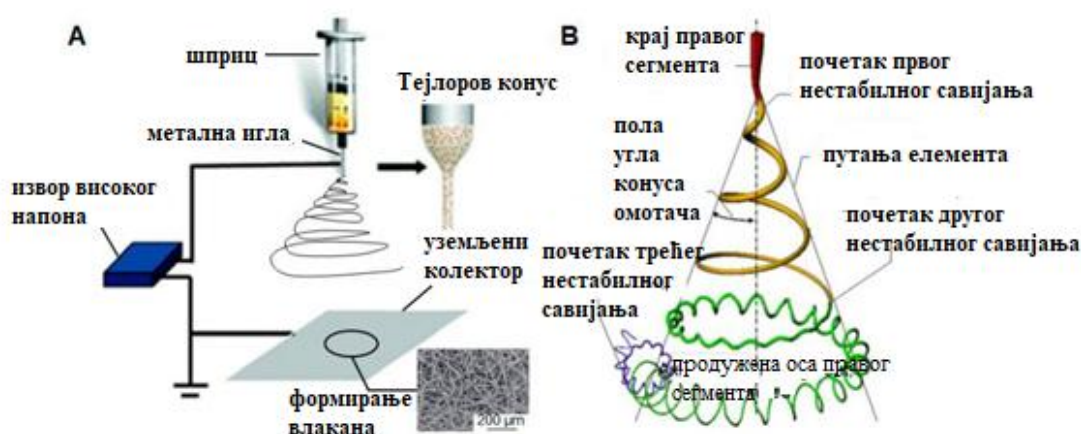
молекуларна синтеза (IMS), лиофилизација, слободно формовање (Freeform fabrication), електростатичко спиновање, криогена обрада, хемијска модификација) што би могло да доведе до успешне производње скафолда са софистицираним саставом и структуром, како би се боље опонашало природно коштано ткиво за изазивање побољшане регенерације костију.[70,71]

5.3. Макропорозни носачи добијени електроспининг техником

Електроспининг или електропоређење је метода која се користи за производњу макропорозних скафолда, који имитирају екстрацелуларни матрикс (ECM) и пружају физичку подршку ћелијама током њиховог раста и диференцијације. Основне карактеристике електроспининг технике за производњу макропорозних скафолда укључују висок степен контроле над морфологијом влакана јер електроспининг омогућава контролу дебљине влакана у опсегу нанометара до микрометара. Поре у скафолду морају бити довољно велике и међусобно повезане да би омогућиле миграцију ћелија, транспорт хранљивих материја и избацивање отпадних материја. Контролисањем параметара електроспининга, попут напона, брзине протока и удаљености између игле и колектора, могу се добити оптималне макропорозне структуре.[72] За производњу скафолда користе се полимери који су компатибилни са људским организмом, попут поликапролактона (PCL), полилактид-ко-гликолида (PLGA) и других, како би се избегле негативне имунолошке реакције и обезбедила деградација скафолда током регенерације ткива. Скафолди за коштано ткиво морају бити довољно крути да издрже механички напор. Електроспининг омогућава прилагођавање механичких својстава кроз избор полимера и контролу густине влакана. У скафолд је могуће уградити биолошке агенсе попут фактора раста, антимикробних агенаса и ћелија који могу додатно побољшати биолошка својства и регенеративни потенцијал скафолда..[73]

Апарат за електроспининг (слика 35) је уређај који користи електрично поље да би извукли танка влакна из раствора полимера, формирајући нано и микровлакна. Основни делови апарата за електроспининг укључују: *високонапонски извор струје* (неколико киловолти (kV) до више десетина kV, у зависности од врсте полимера и потребних карактеристика влакана); *пумпу за екструзију раствора полимера*, која је повезана са иглом и обезбеђује контролисан

проток раствора полимера кроз иглу; *игла или капиларна цев* кроз коју полимерни раствор истиче, игла се налази на крају пумпе и служи као место са којег почиње формирање влакана; *колектор* део где се формирана влакна таложе, креирајући скафолд, а могу бити плочасти, цилиндрични или ротациони, у зависности од тога да ли је потребан насумичан слој влакана или оријентисана структура. Савремени апарати имају софтвер који омогућава подешавање и прецизну контролу параметара попут напона, брзине протока полимера и удаљености између игле и колектора, што омогућава репродукцију резултата и уједначеност влакана.[72]



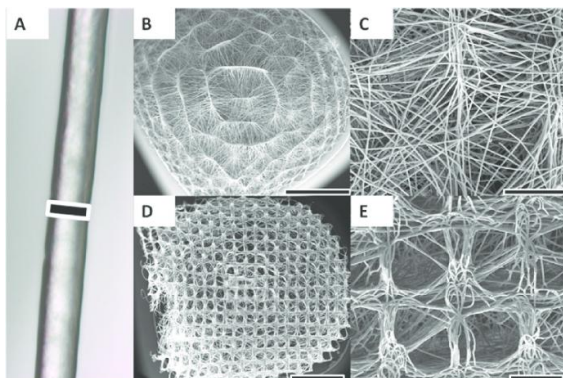
Слика 35. Шематски приказ (А) апарата за електроспининг и (В) положај путање електроспиновог млаза који је садржао три узастопне нестабилности електричног савијања[72]

На морфологију и структуру влакана добијених електроспинингом утиче више параметара који се могу поделити у три главне категорије: **параметри раствора** (концентрација полимера, вискозитет, површински напон, електропроводљивост, тип растварача), **параметри процеса** (напон, брзина протока, удаљеност између игле и колектора, тип колектора) и **услови околине** (температура, влажност ваздуха, вентилација). Већа концентрација полимера у раствору обично води до формирања дебљих влакана, док прениска концентрација може проузроковати капљичасте структуре уместо влакана. Већи вискозитет омогућава формирање стабилних влакана, док пренизак вискозитет може довести до стварања капљица или непотпуних влакана. Раствори са мањим површинским напоном лакше се растежу и формирају влакна, док виши површински напон може довести до

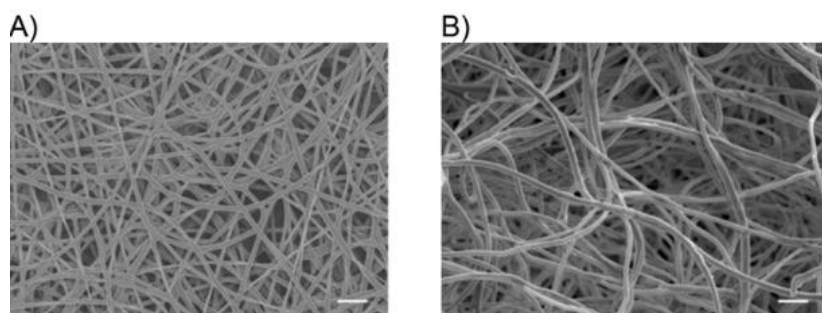
капљичасте морфологије. Виши степен проводљивости раствора побољшава формирање влакана јер подстиче бољи одговор на електрично поље, што утиче на распон и дебљину влакана. Брже испаравање растварача омогућава брже очвршћавање влакана, док спорије испаравање даје глаткију морфологију, али може довести до стапања влакана. Виши напон појачава електростатичку силу, што може довести до развлачења тањих влакана. Пренизак напон може проузроковати капљичасте формације или неуједначена влакна. Мањи проток омогућава танка и уједначена влакна, док већи проток може довести до дебљих и неуједначених влакана због мање контроле над издуживањем раствора. Превелика удаљеност игле и колектора може проузроковати превелико сушење влакана, док премала удаљеност може довести до влажних и лепљивих влакана. Плочасти колектори дају насумично оријентисана влакна, док ротирајући цилиндрични колектори омогућавају контролисану оријентацију, што може побољшати механичка својства скафолда. Виша температура смањује вискозитет раствора и побољшава испаравање растварача, што може довести до глаткијих влакана. Превелика влажност може проузроковати стварање дефеката и неуједначених структура. Контролисани проток ваздуха око колектора може помоћи да се равномерно осуше влакна и смањи могућност стварања наслага влакана. Контрола ових параметара је кључна за постизање жељених морфолошких и структурних карактеристика влакана, што је од посебног значаја у биомедицинским применама, попут инжењеринга ткива, где је неопходно обезбедити оптималне услове за миграцију ћелија и транспорт хранљивих материја. [74, 75]

За примену у инжењерингу коштаног ткива, најчешће се користе биокомпатибилна и биоразградива нановлакна добијена електроспинингом од полимера који омогућавају одговарајућу механичку подршку и биолошку компатибилност. Неколико најзаступљенијих материјала су: PCL (слика 36), PLGA(слика 37), PLA (слика 38). PCL је један од најчешће коришћених материјала за електроспининг због своје биоразградивости, биокомпатибилности и механичке чврстоће. PCL има релативно спору брзину разградње, што је корисно за дуготрајне апликације у регенерацији коштаног ткива. Често се комбинује са другим биоматеријалима како би се побољшала биолошка својства и стимулисала остеогенеза.[76] PLGA је биоразградив и може се контролисати брзина његове деградације променом односа PLA и PGA. PLGA скафолди омогућавају раст и диференцијацију ћелија коштаног ткива, чиме подржавају регенерацију коштаних структура.[77] PLA је биокомпатибилан и биоразградив полимер који има добру механичку стабилност и

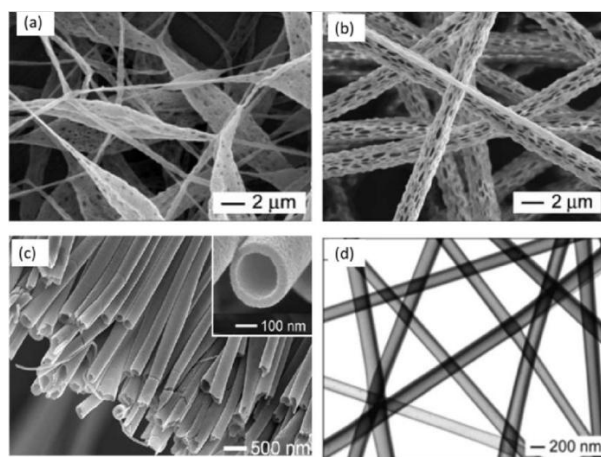
релативно спору деградацију. PLA се често користи за производњу скафолда због своје способности да подржи адхезију и пролиферацију ћелија, што је важно у инжењерингу коштаног ткива. [78]



Слика 36. Производња 3D скафолда PCL електроспинингом (А- оптичка микроскопска слика репрезентативног растопљено PCL влакна, В,С- скафолд има структуру конвексног облика на горњој страни; D,E конкавна доња страна скафолда која је оријентисана према металној колекторској подлози) [76]

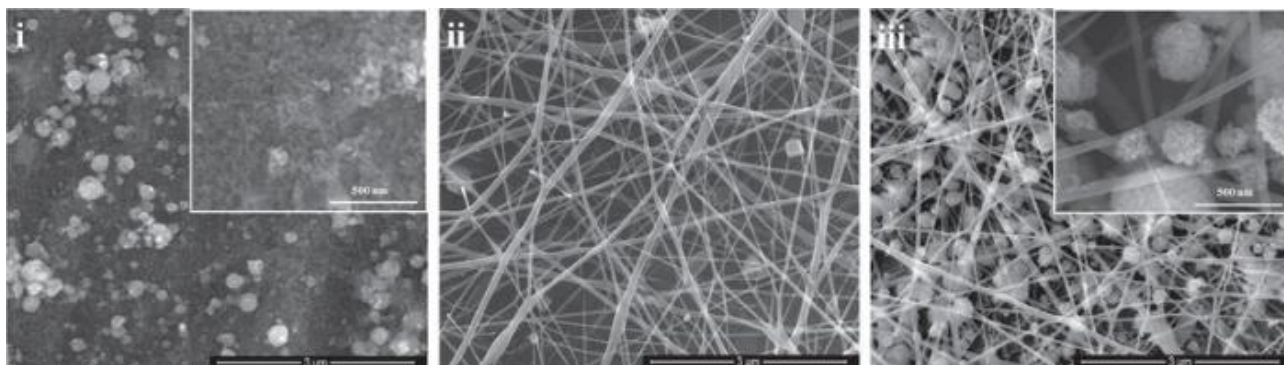


Слика 37. А) SEM микрофотографија скафолда PLGA добијеног сакупљањем са конвенционалне равне платформе са мањом величином пора Б) скафолди PLGA развијени коришћењем мокрог електроспининга [77]



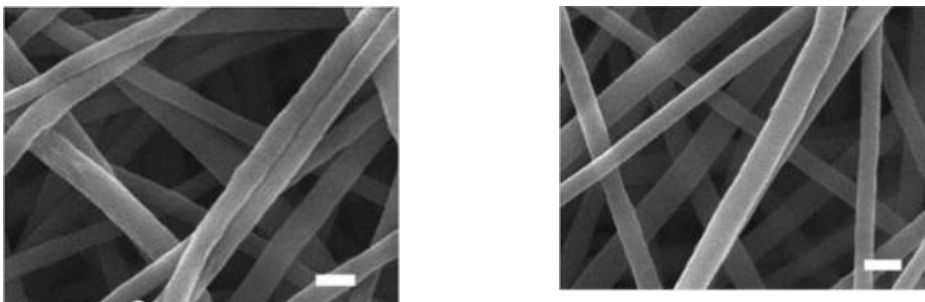
Слика 38. Нановлакна од PLA добијена електроспининг техником [78]

Материјали попут желатина, колагена и хитозана такође се користе за електропоређење скафолда за регенерацију коштаног ткива. Колаген је посебно значајан јер је природни део екстрацелуларног матрикса. Желатин и хитозан се често мешају са синтетичким полимерима (као што су PCL и PLA) како би побољшали биолошка својства скафолда. Керамички материјали хидроксиапатит и ТСП се често комбинују са полимерима како би се побољшала остеокондуктивност скафолда. Ови материјали пружају додатну крутост и подржавају формирање новог коштаног ткива. Комбинацијом различитих материјала, истраживачи успевају да добију оптимална нановлакна која омогућавају регенерацију коштаног ткива, пружајући при томе одговарајућу механичку подршку и подстицај за ћелијску пролиферацију и диференцијацију. Један од многобројних примера комбинације колагена са неорганским материјалима је нановлакнасти композит од колагена и хидроксиапатита (слика 39). [79]



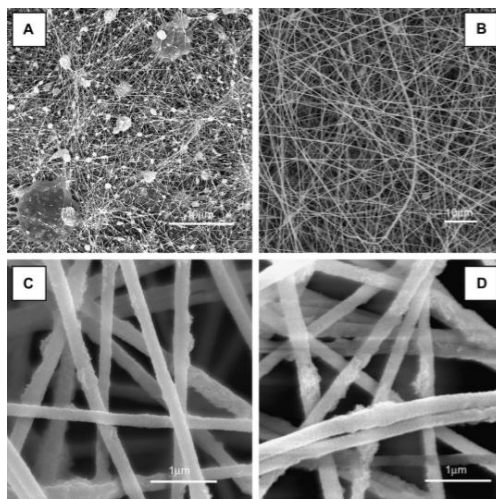
Слика 39. SEM слике електроспрејних наноНАр (i), електроспининг колагенских нановлакна (ii) и композита колаген-наноНАр добијене коришћењем техника симултаног електроспининг и електроспреј (iii) [79]

Од органских материјала велику примену су пронашли колаген (слика 40), хијалуронска киселина, алгинат, хитозан и PCL. Комбинација хијалуронске киселине, алгината, хитозана и PCL у композитним нановлакнима добијеним електроспинингом представља иновативан приступ у инжењерингу ткива, јер сваки од ових материјала доприноси специфичним својствима која су важна за стварање скафолда. Овај тип композита је користан за примену у регенерацији коштаног, хрскавичног и меког ткива захваљујући својим биокомпатибилним, биоразградивим и механичким својствима. [80]



Слика 40. Нановлакна collagen (лево) и HyA/Col (десно) [80]

НАр/CTS нанокомпозитна влакна (слика 41), припремљена *in situ* електроспининг техником посебно су корисна у регенерацији коштаног ткива јер композит може да пружи структуралну подршку и истовремено подстакне стварање новог коштаног ткива. Примењују се у стоматологији и ортопедији као биоматеријали за попуњавање коштаних дефеката или као скафолд за вођену регенерацију ткива. Такође, у системима за контролисано ослобађање лекова НАр/CTS композити могу бити носачи за испоруку лекова или фактора раста у ткива захваћена повредом или болешћу. Због композиционих и структурних карактеристика блиским природним минерализованим нанофибрилним полимерима, НАр/CTS композити могу се користити у инжењерству коштаног ткива.[81]



Слика 41. FESEM слике НАр/CTS нанокомпозитних нановлакна: допирани са 20 теж% конвенционалног РЕО умерене молекулске тежине (А), допирани са 10 теж% UHMWPEO при малом увећању (В), при већем увећању (С) и после алкалног третмана (D)[81]

У истраживању објављеном августа 2024.године произведени су скафолди од HAp/PCL/Gel нановлакна (слика 42). Постојале су две фазе у процесу истраживања: прва је укључивала електроспининг технику за стварање скафолда од HAp/PCL/Gel нановлакна, након чега је уследила њихова физичко-хемијска карактеризација. Резултати су показали да веће концентрације PCL-а дају већу дебљину влакана, али такође повећавају и механичку чврстоћу скафолда. Тестови биокompatibilности показали су да скафолди омогућавају адекватну ћелијску адхезију и пролиферацију, што их чини погодним за примену у лечењу коштаных дефеката и регенерацији костију. [82]



Слика 42. Репрезентативни узорак скафолда од HAp/PCL/Gel нановлакна [82]

На основу прегледа многобројне литературе утврђено је да постоји веома велики број композита који имају примену у производњи макропорозних носача, а такође се и даље проучава примена у инжењерству коштаног ткива, многих, који се допирају различитим јонима метала а све у циљу побољшања њихових особина и добијања савршеног скафолда.

6. ЗАКЉУЧАК

Биоактивни композитни материјали представљају основу модерног приступа инжењерству коштаног ткива, омогућавајући развој иновативних решења за лечење и регенерацију. Њихова примена и даље захтева решавање одређених изазова што укључује оптимизацију производних процеса, унапређење механичких својстава и смањење трошкова производње. Укључивање биолошких фактора као што су фактори раста или матичне ћелије у скафолде отвара нове могућности за подстицање формирања новог коштаног ткива и бољу интеграцију имплантата са околним ткивом. Такође, материјали морају да прођу сложена претклиничка и клиничка тестирања како би били одобрени за медицинску примену. У ту сврху потребно је побољшање стандарда тестирања, укључујући напредне моделе симулације и лабораторијска истраживања.

Будућа истраживања ће вероватно бити усмерена на решавање ових изазова, са фокусом на проналажење оптималних комбинација материјала и технологија како би се развили скафолди који су дуготрајни, биокompatibilни и функционални за широку примену у регенеративној медицини.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Microscopic anatomy (Bone Cells)*. (2020). Retrieved november 09., 2024, from [https://www.pharmacy180.com/article/microscopic-anatomy-\(bone-cells\)-3487/](https://www.pharmacy180.com/article/microscopic-anatomy-(bone-cells)-3487/)
2. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/320444> . (2024). Retrieved december 10, 2024, from <https://www.medicalnewstoday.com/>:
<https://www.medicalnewstoday.com/articles/320444>
3. *Difference Between Compact Bone and Spongy Bone*. (2024, march). Retrieved december 6, 2024, from Knya: <https://knyamed.com/blogs/difference-between/compact-bone-vs-spongy-bone>
4. *Structure of bone tissue*. (2020). Retrieved november 2024, from <https://training.seer.cancer.gov/anatomy/skeletal/tissue.html>
5. *Tooth anatomy*. (2013). Retrieved november 2024, from [www.britannica.com](http://www.britannica.com/science/tooth-anatomy):
<https://www.britannica.com/science/tooth-anatomy>
6. Balać, I., Uskoković, P., Bugarski, B., Ćosić, I., Dramićanin, M., Janačković, Đ., et al. (2010). *Biomaterijali*. Beograd: Institut za tehničke nauke Srpske akademije nauka i umetnosti <https://core.ac.uk/download/pdf/197932746.pdf>
7. Feng, X. "Chemical and biochemical basis of cell-bone matrix interaction". *Curr Chem Biol*, 2009., 3(2):189-196. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2790195/pdf/nihms-140136.pdf>
8. Kotsui, H., & Goto, T. G. "Chemical vapor deposition of Ca-P-O film coating". *Interface oral health science* 2014 p.107. http://dx.doi.org/10.1007/978-4-431-55192-8_9
9. Jokanović, V., Čolović, B., Živković-Sandić, M., Petrović, V., & Živković, S. (2014). "Kalcijumfosfatni materijali u inženjerstvu koštang tkiva". *Stomatološki glasnik Srbije* 2014, 61 (2) <https://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/0039-1743/2014/0039-17431402093J.pdf>
10. Bose, S., Roy, M., & Bandyopadhyay, A. "Recent advances in bone tissue engineering scaffolds". *Trends biotechnol*, 2012. 30(10):546-54. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.07.005>
11. Rivera-Munoz, E. M. (2011). "Hydroxyapatite-based materials:syntesis and characterization". *Biomedical engineerring-frontiers and challenges* , p. 79. <http://dx.doi.org/10.5772/19123>
12. Lin, K., & Chang, J. "Structure and properties of hydroxyapatite for biomedical applications". *Woodhead publishing seriesin biomaterials*, 2015. pp. 3-19. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-033-0.00001-8>

13. Hench, L. "Bioceramics: from concept to clinic". *J.Am.Ceram.Soc* 1991., 74 (7) p.1493.
<https://sites.ualberta.ca/~hanifi/Bioceramics%20-%20Hench.pdf>
14. Jokanović, V., Čolović, B., Marković, D., & Živković, S. "Bioaktivna stakla u inženjerstvu koštanog tkiva". *Stomatološki glasnik Srbije*, 2015 62(2), pp. 71-79.
<http://dx.doi.org/10.1515/sdj-2015-0008>
15. Fu, Q., Saiz, E., Rahaman, M., & Tomsia, A. . "Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives". *Mater Sci EngC Mater Biol Appl*, 2011. 31(7):1245–1256. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2011.04.022>
16. Hench, L., & Jones, R. (n.d.). "Bioactive glass: frontiers and chalenges". *Frontiers in Bioengineering and biotechnology*, 2015.,3, p. 1.<http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2015.00194>
17. DeAza, P., DeAza, D., Pena, P., & DeAza, S. "Bioactive glass and glass-ceramics". *Biol.Soc.Esp.Ceram*, 2007 , 46 [2] 45-55 :
<https://www.researchgate.net/publication/323357583>.
18. Kokubo, T., Kushitani, H., C.O, & Yamamuro, T. "Chemical reaction of bioactive glass and glass-ceramics with simulated body fluid". *Journal of materials science: Materials in medicine*, 1992. pp. 79-83. <https://doi.org/10.1007/BF00705272>
19. Vogel, W., & Holand, W. "The development of bioglass ceramics form medical applications". *Angew.chem.int.ed*, 1987 pp. 527-544.
20. Stojanović, D., Jokić, B., Veljović, Đ., Petrović, R., & Uskoković, P. " Bioactive glass apatite coating for titanium implant syntetized electroforetic deposition". *Journal of European eramic Society*, 2007.,27, 2-3, pp. 1595-1599
<https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2006.04.111>
21. Shumaker, M., & Habibović, P. "Mesoporous bioactive glass composition effects on degradation and bioactivity". *Bioactive materials*, 2021, 6,7,1921-1931.
<https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.12.007>
22. Wu, C., & Chang, J. "Mesoporous bioactive glasses: structure, characteristics, drug/growth factor delivrey and bone regeneration application". *Interface focus*, 2012., 2(3):292–306.
<http://dx.doi.org/10.1098/rsfs.2011.0121>
23. Vallet-Regi, M., & Salinas, A. "Mesoporous bioactive glass for regenerative medicine". *Materials today bio*, 2021. vol.11, p.p 4-5 <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100121>
24. Workie A.B., & SefeneE.M. "Ion-doped mesoporous bioactive glass: preparation, characterization and applications using the spray pyrolisys methods". *RCS Advances*.
<https://doi.org/10.1039/D1RA06113E>

25. Pantulap, U., Arango-Ospina, M., & Boccaccini, A. "Bioactive glass incorporating less-common ions to improve biological and physical properties". *Journal of materials science: Materials in medicine*, 2022.,33, 3 pp. 2-3. <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06626-3>
26. Kurowiak, J., Klekiel, T., & Bedzinski, R. " Biodegradable polymers in biomedical applications: a review-developments, perspectives and future chalenges". *International journal of molecular sciences*, 2023., 24(23), p.2. <https://doi.org/10.3390/ijms242316952>
27. Sheikh, Z., Najeeb, S., Khurshid, Z., Verma, V., Rashid, H., & Glogauer, M. "Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications". *Materials* 2015, 8, 5744-5794; <http://dx.doi.org/10.3390/ma8095273>
28. Chelu, M., & Magdalena, M. "Advanced biomedical applications of multifunctional natural and synthetic biomaterials". *Processes*. 2023 11(9), 2696; <https://doi.org/10.3390/pr11092696>
29. *Collagen structure*. Retrieved november 2024, from www.Biorender.com: <https://www.biorender.com/template/collagen-structure>
30. Aoki, K., Ideta, H., Komatsu, Y., Tanakai, A., Kito, M., & Okamoto, M. "Bone-regeneration therapy using biodegradable scaffolds: calcium phosphate bioceramics and biodegradable polymers". *Bioengineering*, 2024. 11(2),180; <https://doi.org/10.3390/bioengineering11020180>
31. Dawei, Z., Xiaowei, W., Chen, C., & Kaili, L. "The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration". *Bioactive materials*, 2018. 3 (1), p.132 <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.08.004>.
32. Fan, I., Ren, Y., Emmert, S., I. Vučković, I. s., & Najman, S. "The use of collagen-based materials in bone tissue engineering". *International journal of molecular sciences* 2023. 24, 3744 <https://doi.org/10.3390/ijms24043744>
33. Barreto, M., Medeiros, R., Shearer, A., Fook, M., Montazerian, M., & Mauro, J. "Gelatin and bioactive glass composites for tissue engineering: a review". *Journal of functional biomaterials* 2023.,14(1), 23; <https://doi.org/10.3390/jfb14010023>
34. Shahi, S., Sharifi, S., R.Khalilov, Dizaj, S., & Abdolahinia, E. "Gelatin-hydroxyapatit fibrous nanocomposite for regenerative dentistry and bone tissue engineering". *The Open Dentistry Journal*. 2022, DOI: [10.2174/18742106-v16-e2208200](https://doi.org/10.2174/18742106-v16-e2208200)
35. Liu, Y., Zhao, Q., Chen, C., Wu, C., & Ma, Y. "β-tricalcium phosphate/gelatin composite scaffolds incorporated with gentamycin-loaded chitosan microspheres for infectet bone defect treatment". *Plos One* 2022 17(12) doi: [10.1371/journal.pone.0277522](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277522)
36. Arumugam, M., Murugesan, B., Balasekar, P., Malliapan, S., Chinnalagu, D., & K.Chinniah "Silk fibroin and gelatin composite nanofiber combined with silver and goldnanoparticles for

- wound healing accelerated by reducing the inflammatory response". *Processes Biochemistry*. 2023., vol.134, p.1-16. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.10.017>
37. Zheng, K., Wu, J., Li, W., Dippold, D., Wan, Y., & Boccaccini, A. R. " Incorporation of Cu-containing bioactive glass nanoparticles in gelatin-coated scaffolds enhances bioactivity and osteogenic activity". *ASC Biomaterials science & Engineering journal* , 2018., 4 (5):1546-1557. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00051>
 38. Singh, R., Shitz, K., & Singh, A. "Chitin and Chitosan: biopolymers for wound menagment". *International wound journal*, 2017.14(6) p. 1277. <https://doi.org/10.1111/iwj.12797>
 39. Levengood, S., & Zhang, M. " Chitosan based scaffolds for bone tissue engineering". *Journal of materials chemistry B*, 2014., issue 21, p. 40.DOI <https://doi.org/10.1039/C4TB00027G>
 40. Li, Z., Ramay, H., Hauch, K., Xiao, D., & Zhang, M. "Chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering". *Biomaterials* 2005.,vol.26, issue 18, pp. 3919-3928. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.062>
 41. Venkatesan, J., & Kim, S."Chitosan composite for bone tissue engeneering-An overview". *Marine drugs* ,2010. vol. 8, p. 2258. <https://doi.org/10.3390/md8082252>
 42. Wang, H., Sun, R., Huang, S., Wu, H., & Zhang, D."Fabrication and properties of hydroxyapatite/chitosan composite scaffolds loaded with periostin for bone regeneration". *Heliyon* 2024. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25832>
 43. Fourie, J., Taute, F., Preez, L., & Beer, D. "Chitosan composite biomaterials for bone tissue engineering-a review". *The Regenerative Engineering Society* 2020 <https://doi.org/10.1007/s40883-020-00187-7>
 44. Roya, A., Latifa, T., Nasim, S., Kumar, P., Slim, A., & Philippe, M. "Structures, properties and applications of alginates". *Marine drugs*, 2022., 20 (364) pp. 4-5. <https://doi.org/10.3390/md20060364>
 45. Fishidfar, N., Iravani, S., & Varma, R. "Alginate-based biomaterials in tissue engineering and regenerative medicine". *Marine drugs* , 2023.,21 (189) p. 2. <https://doi.org/10.3390/md21030189>
 46. Reakasame, S., & Boccaccini, A. "Oxidized alginate-based hydrogels for tissue engineering application: a review. *Biomacromolecules*, 2018., 19 (1) pp. 3-21 <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01331>
 47. Sahoo, D., & Biswal, T. "Alginate and its application to tissue engineering". *SN Applied sciences* 2021 3:30 | <https://doi.org/10.1007/s42452-020-04096-w>

48. Venkatesan, J., Bhatnagar, I., P. Manivasagan, K. K., & Kim, S." Alginate composites for bone tissue engineering: a review". *International journal of biological macromolecules*, pp. 269-281. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.07.008>
49. Lin, G., & MA, P. "Synthetic biodegradable functional polymers for tissue engineering: a brief review". *Ccience China chemistry*, 2014, 57, 490–500 <https://doi.org/10.1007/s11426-014-5086-y>
50. Bascaia, S., Branquinho, M., Alvites, R., Fonseca, R., Sousa, A., & Pedrosa, S."3D printed polycaprolactone/hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering: a comparative study on a composite preparation by melt blending or solvent casting techniques and the influence of bioceramic content on scaffold properties". *International journal molecules sciences*, 2022, pp. 5-6. <https://doi.org/10.3390/ijms23042318>
51. Liang, H., Lee, W., Hsu, J., Ma, T., & Vo, T. "Polycaprolactone in bone tissue engineering: a comprehensive review of innovations in scaffolds fabrication and surface modifications". *J.Funct.Biomater* 2024., 5(9), 243; <https://doi.org/10.3390/jfb15090243>
52. Negrescu, A., Mocanu, A., Miculescu, F., Mitran, V., Constantinescu, A., & Cimpean, A. "In vitro studies on 3D printed PLA/HA/GNP structures for bone tissue regeneration". *Biomimetics* 2024, 9(1), 55; <https://doi.org/10.3390/biomimetics9010055>
53. Hassanajili, S., Karami-Pour, A., Oryan, A., & Talaei-Khozani, T. "Preparation and characterization of PLA/PCL/HA composite scaffolds using indirect 3D printing for bone tissue engineering". *Materials science and engineering*, 2019, 104 <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109960>
54. Zhao, D., Zhu, T., Li, J., Cui, L., Zhang, Z., & Zhuang, X. Poly(lactic-co-glycolic acid)-based composite bone-substitute materials". *Bioactive materials*, 2021., pp. 346-360. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.08.016>
55. Sokolova, V., Kostka, K., Shalunon, K., Prymak, O., Chen, J., & Epple, M."Synthesis and characterization of PLGA/HAP scaffolds with DNA-functionalised calcium phosphate nanoparticles for bone tissue engineering". *Journal of materials science: materials in medicine*, 2020. 31, 102 <https://doi.org/10.1007/s10856-020-06442-1>
56. Jin, S., Xia, X., Huang, J., Yuan, C., Zuo, Y., & Li, Y."Recent advances in PLGA-based biomaterials for bone tissue regeneration". *Acta Biomaterialia*, 2021., pp. 56-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2021.03.067>
57. Jokanović, V., Čolović, B., Bajić, M., & Sandić, M. "Skafoldi u inženjerstvu koštanog tkiva". *Stomatološki glasnik Srbije* 2017, pp. 32-40. <https://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/0039-1743/2017/0039-17431701032J.pdf>
58. Chocholata, P., Kulda, V., & Babuska, V. " Fabrication of scaffolds for bone tissue regeneration". *Materials*, 2019., 12(4), 568; <https://doi.org/10.3390/ma12040568>

59. Fiume, E., Ciavattini, S., Verne, E., & Baino, F. "Foam replica method in the manufacturing of bioactive glass scaffolds: Out-of-date technology or still underexploited potential?". *Materials* 2021., 14(11):2795. doi: <https://doi.org/10.3390/ma14112795>
60. Radovanović, Ž. "Uticaj jona srebra, bakra i cinka na svojstva biokeramičkih materijala na bazi kalcijum hidroksiapatita i kalcijum fosfata". Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd 2016. <http://phaidravg.bg.ac.rs/o:14756>
61. Galić, A., T. Matić, Obradović, N., Bašćarević, Z., & Veljović, Đ. " Processing of gelatin coated composite scaffolds based on magnesium and strontium doped Ytria-stabilized zirconium oxide". *Science of sintering*, 2023.. vol.55, issue 4., pp. 469-479. <http://dx.doi.org/10.2298/SOS220723019G>
62. Jokić, B. "Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih alfa-kalcijum fosfata i hidroksi apatita". Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd 2011. <https://doiserbia.nb.rs/phd/fulltext/BG20111230JOKIC.pdf>
63. Dragutinović, O., Dimitrijević-Branković, S. I., & Veljović, Đ. "Procesiranje i svojstva makroporoznih nosača na bazi kalcijum fosfata dopiranih jonima magnezijuma, bakra i cinka prevučenih želatinom". *Tehnika-novi materijali*, 2023., стр. 527. <http://dx.doi.org/10.5937/tehnika2305525D>
64. Nguyen, T., & Lee, B. " A combination of biphasic calcium phosphate scaffold with hyaluronic acid-gelatin hydrogel as a new tool for bone regeneration". *Tissue engineering part A* 2014., vol. 20, pp. 1995-1997. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0352>
65. Wang, C., Huang, W., Zhou, Y., L.He, He, Z., & al., Z. C. "3D printing of bone tissue engineering scaffolds". *Bioactive materials* 2020., vol. 5, pp. 82-91. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.01.004>
66. Bekisz, J., Flores, R., Witek, L., Lopez, C., Runyan, C., & Torroni, A. "Dipyridamole enhances osteogenesis of three-dimensionally printed bioactive ceramic scaffold in carvarial defects". *Journal craniomaxillofac surgery*, 2018., vol. 46, p. 12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcms.2017.11.011>
67. Aldhaher, A., Shahabipour, F., Shaito, A., Al-Asaf, S., A.A.Elnorur, & Sallam, E. "3Dhydrogel/bioactive glass scaffolds in bone tissue engineering:status and future opportunities". *Heliyon* 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17050>
68. Lee, S., Lee, K., Lee, J., Cho, Z., Ghim, M., & S.Kim."Three dimensional kagome structures in a PCL/HyA-based hydrogel scaffold tolead slow BMP-2 release for effective bone regeneration". *Bio-design and manufacturing*, 2023., 6, 12–25 . <https://doi.org/10.1007/s42242-022-00219-x>

69. Huang, H., Dean, D., Wang, H., Hou, J., Shen, C., & Ning, H. "Cryogenic printing of bioactive materials for bone tissue engineering: a review". Retrieved november 22, 2024, from www.ssrn.com: <http://www.ssrn.com/index.cfm/en/>
70. Jeong, W., Kim, Y., Min, J., Park, H., Lee, E., & Shim, J. "Clinical application of 3D printed patient-specific polycaprolactone/beta-tricalcium phosphate scaffold for complex zygomatico-maxillary defects". *Polimers*, 2022., 14(4), 740; <https://doi.org/10.3390/polym14040740>
71. Linares, V., Casas, M., & Caraballo, I. "Printfills: 3D printed systems combining fused deposition modeling and injection volume filling.Application to colon-scefic drug delivery". *Eur.j.Pharm.Biopharm.2019.*, pp. 138-143. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.11.021>
72. Wang, C., Wang, J., Zeng, L., Qiao, Z., Liu, X., & Liu, H. "Fabrication of electrospun poymer nanofibers with diverse morphologies". *Molecules*, 2019., vol.24., pp. 2-3. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24050834>
73. Abbasi, N., Hamlet, S., Love, R., & Nguyen, N. "Porous scaffolds for bone regeneration". *Journal of scence:Advanced materials and devices*, 2005. pp. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.01.007>
74. Flores-Rojas, G., Gomez-Lazaro, B., Lopez-Saucedo, F., Vera-Graziano, R., Bucio, E., & Mendizabal, E. (n.d.). "Electrospun scaffolds for tissue engineering: a review". *Macromolecules*, 2023 3(3), 524-553; <https://doi.org/10.3390/macromol3030031>
75. Li, W., Shanti, R., & Tuan, R. "Electrospinning technology for nanofibrous scaffolds in tissue engineering". *Nanotechnologies for the life sciences*, 2006.; pp. 135-177 <http://dx.doi.org/10.1002/9783527610419.ntls0097>
76. Zaiss, S., Brown, T., Reichert, J., & Berner, A.. "Poly(caprolactone) scaffolds fabricated by melt electrospinning for bone tissue engineering". *Materials*, 2016. 9(4), 232; <https://doi.org/10.3390/ma9040232>
77. Brown, J., Das, P., DiVito, M., Ivancic, D., Poh, I., & Jeson, T. "Nanofibrous PLGA electrospun scaffolds modified with type I collagen influence hepatocyte function and support viability in vitro". *Acta biomaterialia* 2018.,73: 217–227 doi: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.02.009>
78. Lv, D., Zhu, M., Jiang, Z., & Huang, C."Green electrospun nanofibers and their application in air filtration". *Macromolecular materials and engineering* 2018., vol.303 , p. 54 <http://dx.doi.org/10.1002/mame.201800336>
79. Feng, Y., Shi, Y., Tian, Y., & Y. Zang, J. W. " The collagen-based scaffolds for bone regeneration: a journey through electrospun composites integrated with organic and inorganic additives". *Processes* 2023.,11(7), 2105; <https://doi.org/10.3390/pr11072105>

80. Fischer, R., McCoy, M., & Grant, S. "Electrospinning collagen and hyaluronic acid nanofibers meshes". *Journal of material science:materials in medicine* 2012, pp. 41-43.
<https://doi.org/10.1007/s10856-012-4641-3>
81. Sahay, R., Kumar, P., Sridhar, R., Jazaraman, S., & Venugopal, J. "Electrospun composite nanofibers and their multifaceted applications". *Journal of material chemistry* 2012. 22, 12953, <http://dx.doi.org/10.1039/C2JM30966A>
82. Sujak, M., Djoni, R., Hadi, S., Sari, Y., Gunawarman, & Cahyati, N. " Fabrication and biocompatibility evaluation of hydroxyapatite-polycaprolactone-gelatin composite nanofibers as a bone scaffold". *RSC Advances*. 2024., 14(34):24815–24827
<https://doi.org/10.1039/d4ra02485k>