



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ»**

**«Εφαρμογές της Βιοενεργούς Υάλου
στη Μηχανική των Ιστών»**

Τάσιου Καλυψώ

Επιβλέπων Καθηγητής: Παναγιώτης Κούκλης, Επίκουρος Καθηγητής

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020

Στον λατρεμένο μου παππού Γιώργο Σ.

Περίληψη

Οι βιοενεργές ύαλοι (BY) έχουν κερδίσει έδαφος στον τομέα της βιοϊατρικής επιστήμης λόγω της ικανότητάς τους να ενισχύουν την οστεογένεση και την αγγειογένεση. Οι βιοενεργές ύαλοι εισήχθησαν για πρώτη φορά από τον Hench και τους συνεργάτες του στα τέλη της δεκαετίας του 1960. Το 45S5 Bioglass1 ($\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$) ήταν το πρώτο τεχνητό ανόργανο υλικό που ήταν σε θέση να συνδεθεί με το ζωντανό οστό προς δημιουργία μιας σταθερής και σφιχτά συνδεδεμένης διεπιφάνειας. Με την ανάμειξη διαφορετικών ποσοστών αυτών των τεσσάρων οξειδίων, έχουν αναπτυχθεί αρκετοί τύποι βιοενεργών υάλων για να βελτιώσουν τις εγγενείς ιδιότητες τους. Άλλα οξείδια μπορούν επίσης να προστεθούν για να προσδώσουν ειδικές θεραπευτικές δράσεις.

Μία από τις προκλήσεις στην τεχνική ιστών είναι η ανάπτυξη νέων βιοενεργών υλικών που να παρουσιάζουν σημαντικές ιδιότητες όπως είναι η βιοαποικοδόμηση, η οστεοαγωγιμότητα, η ελεγχόμενη αποικοδόμηση και να τα συνδυάσουν με φυσικά ή συνθετικά πολυμερή τα οποία θα παρέχουν ευκολότερο χειρισμό του σύνθετου υλικού καθώς επίσης και δυνατότητα χορήγησης φαρμάκων.

Είναι επομένως υψίστης σημασίας η ανάπτυξη ικριωμάτων από βιοενεργές υάλους που θα είναι ικανά να αποικοδομούνται ελεγχόμενα και να σχηματίζουν ένα στρώμα φωσφορικού ασβεστίου που θα επιτρέψει την προσκόλληση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Τα ικριώματα αυτά θα πρέπει να έχουν μηχανικές ιδιότητες όμοιες με αυτές του ιστού που πρόκειται να αντικαταστήσουν και να έχουν επαρκές πορώδες για τη μετανάστευση των κυττάρων και την αγγειογένεση. Είναι απίθανο ένα μόνο υλικό να λύσει αυτήν την πρόκληση μηχανικής.

Σκοπός της συγκεκριμένης μεταπτυχιακής διατριβής είναι να αναλυθεί ο ρόλος και η επίδραση των βιοενεργών υάλων σε εφαρμογές ιστικής μηχανικής.

Abstract

Bioactive glasses have gained ground in the field of Biomedicine because of their ability to enforce Osteogenesis and Angiogenesis. Bioactive glasses were first introduced by Hench and his colleagues towards the end of 1960s. 45S5 Bioglass 1 (SiO₂-CaO- Na₂O-P₂O₅) was the first artificial inorganic material which was able to attach to a living bone so as to create a solid and firmly tied interface. Through the mixture of different percentages of these four oxides, several types of bioactive glasses have been developed to improve their innate properties. Other oxides can be also added to offer certain therapeutic activity.

One of the challenges in Tissue Engineering is the development of new bioactive glasses which will have important properties, as, for example, bio-disintegration, osteoconduction and controlled disintegration, which will in turn be combined with natural or synthetic polymeric materials that will provide easier handling of the synthetic material as well as the possibility of drug delivery.

Thus, it is of primary importance to develop scaffolds from bioactive glasses which will be able to decompose controllably so as to form a layer of calcium phosphate which will then allow the attachment, proliferation and diversification of cells. These scaffolds must have mechanical properties similar to those of the tissue which they are expected to replace and, also, adequate porosity so as to allow both the migration of cells and angiogenesis. It is impossible for only one material to effectively respond to this challenge of Engineering.

The purpose of the present MA dissertation is to analyse the role and the effects of bioactive glasses on applications of Tissue Engineering.

Περιεχόμενα

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ.....	1
«Εφαρμογές της Βιοενεργούς Υάλου στη Μηχανική των Ιστών».....	1
Περίληψη	5
1ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	9
Βιοϋλικά.....	9
1.1 Κριτήρια επιλογής και Ταξινόμηση των Βιοϋλικών	10
1.2 Εφαρμογές των Βιοϋλικών	12
2ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	15
Μηχανική Ιστών	15
2.1 Ικρίωματα για τη Μηχανική Ιστών	16
2.2 Η Αναγεννητική Ιατρική.....	17
2.3 Νέες Θεωρήσεις στην Αναγεννητική Ιατρική και στην Μηχανική Ιστών	20
2.4 3D Bioprinting Οργάνων	23
2.4.1 Καρδιά.....	24
2.4.2 Συκώτι.....	26
2.5 Κατασκευασμένα Λειτουργικά Βιοϋλικά για τη Μηχανική Ιστών	27
Τα Βιολικά στην Καρδιακή Βαλβίδα ΤΕ.....	29
Τα Βιολικά στο Οστό ΤΕ.....	32
Τα Βιολικά στο Πάγκρεας ΤΕ	35
3ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	37
Βιοενεργές Υαλοι	37
3.1 Μέθοδοι παρασκευής βιοενεργών υάλων.....	39
3.2 Είδη βιοενεργών υάλων	40
3.2.1 Βιοενεργή πυριτική υάλος	42
3.2.2 Βιοενεργή βοριοπυριτική και βορική υάλος.....	46
3.2.3 Βιοενεργή φωσφορική υάλος	47
3.2.4 Οστεοαγωγιμότητα των CP	49
3.3 Χημικές ιδιότητες των CP	50
3.3.1 Υδροξυαπατίτης (HA)	50
3.3.2 Φωσφορικό ασβέστιο	50
3.3.3 Διφασικό φωσφορικό ασβέστιο (BCP)	51

3.3.4 Κλινική εφαρμογή φωσφορικού ασβεστίου στην αναγέννηση των οστών και των γναθοπροσωπικών ιστών.....	52
3.3.5 Κεραμικά	53
3.4 Οστεοαγωγιμότητα και οστεοεπαγωγικότητα βιοενεργών υάλων	55
4ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	59
Βιοενεργά Ικρίωματα για Αναγέννηση Οστών.....	59
4.1 Βιοενεργά ικρίωματα που προέρχονται από απότομη ψύξη τήγματος.....	59
4.2 Βιοενεργά ικρίωματα που παράγονται με τη μέθοδο λύματος-πηκτής	63
4.3 Βιοενεργά ικρίωματα που παράγονται με ηλεκτροσυσσωμάτωση	64
4.4 Χαρακτηριστικά in vitro των ικριωμάτων βιοενεργής υάλου	65
4.4.1 Αποικοδόμηση και μετατροπή σε υδροξυαπατίτη.....	65
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	73

1ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Βιοϋλικά

Παρά το γεγονός ότι πάνω από μισό αιώνα επιστήμονες ασχολούνται με την ανάπτυξη και τη μελέτη των βιοϋλικών, είναι δύσκολο να αποδοθεί ένας ακριβής ορισμός που θα τα χαρακτηρίζει πλήρως. Ωστόσο, ένας ευρέως αποδεκτός ορισμός που δίνεται από το «Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας» των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής είναι ο εξής: «Βιοϋλικό είναι κάθε ουσία (μη φαρμακευτική) ή συνδυασμός ουσιών, συνθετικής ή φυσικής προέλευσης, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για κάποιο χρονικό διάστημα είτε αυτόνομο είτε ως τμήμα ενός συστήματος για τη θεραπεία, υποβοήθηση ή αντικατάσταση κάποιου ιστού, οργάνου ή λειτουργίας μέσα στο σώμα». Το 1986, ο ορισμός απλοποιήθηκε από την «Ευρωπαϊκή Κοινωνία Βιοϋλικών», σύμφωνα με την οποία: «Βιοϋλικό είναι ένα μη βιώσιμο υλικό που χρησιμοποιείται σε μια ιατρική διάταξη με σκοπό την αλληλεπίδρασή του με τα βιολογικά συστήματα»^{1,2}.

Στο πέρασμα του χρόνου έχει διαπιστωθεί ότι τα βιοϋλικά μπορούν να χωριστούν σε τρεις γενιές³. Η πρώτη γενιά είχε ως στόχο την αντικατάσταση ιστών και επομένως τα βιοϋλικά έπρεπε να έχουν κατάλληλες φυσικοχημικές ιδιότητες, να είναι βιολογικά αδρανή και να παρουσιάζουν τη λιγότερη δυνατή τοξικότητα στον οργανισμό. Σε εκείνη τη γενιά χρησιμοποιήθηκαν κυρίως μέταλλα, τα οποία όμως διαβρωνόντουσαν εύκολα από τα σωματικά υγρά. Στη δεύτερη γενιά σημαντικό ρόλο συντέλεσαν τα βιολογικώς ενεργά βιοϋλικά, τα οποία είχαν την ικανότητα μίμησης του οστίτη ιστού. Έτσι δημιουργήθηκε ο συνθετικός υδροξυαπατίτης, ο οποίος στη φυσική του μορφή αποτελεί το ανόργανο συστατικό των οστών, και θεωρήθηκε ότι είναι συμβατός για να αντικαταστήσει κάποιο οστό. Μεγάλο πλεονέκτημα των υλικών αυτών είναι ότι έχουν τη δυνατότητα απορρόφησης από τον οργανισμό χωρίς παρενέργειες. Και τέλος, τα τρίτης γενιάς βιοϋλικά σχεδιάζονται με στόχο της υποκίνηση εξειδικευμένων κυτταρικών λειτουργιών σε μοριακό επίπεδο, όπως είναι οι βιοενεργές ύαλοι και τα κεραμικά φωσφορικού ασβεστίου.

1.1 Κριτήρια επιλογής και Ταξινόμηση των Βιοϋλικών

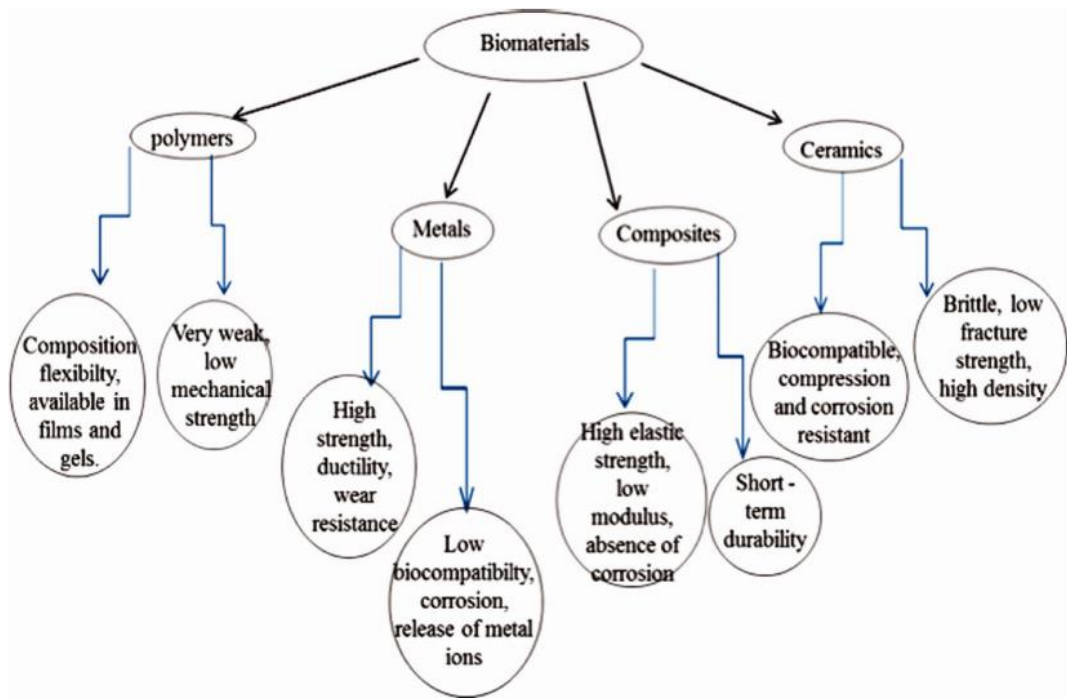
Όταν ένα συνθετικό υλικό τοποθετείται στο ανθρώπινο σώμα, ο ιστός αντιδρά με το εμφύτευμα με διάφορους τρόπους ανάλογα με τον τύπο του υλικού. Για την κατασκευή και την ορθή λειτουργία ενός βιοϋλικού καθοριστικό ρόλο παίζει η επιλογή του υλικού, το οποίο θα πρέπει να πληρεί κάποιες βασικές προϋποθέσεις⁴:

- Να είναι Βιοσυμβατό, δηλαδή να έχει την ικανότητα να γίνεται αποδεκτό από το ανθρώπινο σώμα κι έτσι αυτό να μην το απορρίπτει εκλαμβάνοντάς το ως ξένο σώμα. Ένας γενικά αποδεκτός ορισμός διατυπώθηκε από τον Williams το 1987: «Βιοσυμβατότητα καλείται η ικανότητα ενός υλικού να λειτουργεί και να αποδίδει με μια κατάλληλη ανταπόκριση σε μια συγκεκριμένη εφαρμογή». Μια άλλη ερμηνεία βασίζεται στην αλληλεπίδραση των συνθετικών συστατικών και των τοπικών και γενικών ιστών, η οποία σχετίζεται με συνθήκες ελάχιστης βλαπτικότητας ή αλλαγής είτε στον ξενιστή είτε στη διάταξη συναρμολόγησης. Αρχικά, διατυπώθηκε η άποψη ότι αυτό οφείλεται, εν μέρει, στις συνθήκες σχετικής χημικής και βιολογικής αδράνειας. Αργότερα, όμως, δόθηκε έμφαση στις ελεγχόμενες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συνθετικών βιοϋλικών και των απευθείας συσχετιζόμενων ιστών και από το 1990 και μετά εφαρμόζονται συνθήκες χημικής και μηχανικής ανισοτροπίας κατά την κατασκευή συνθετικών βιοϋλικών προκειμένου να αυξηθεί η βιοσυμβατότητά τους. Γενικά, ένα πλήρως βιοσυμβατό υλικό δεν προκαλεί θρομβωτικές, τοξικές, φλεγμονώδεις ή αλλεργιογόνες αντιδράσεις ούτε είναι καρκινογενές, τερατογενές ή μεταλλαξιογόνο.
- Να είναι Βιοενεργό ή Βιοαδρανές, ανάλογα με την επιθυμητή του χρήση. Βιοενεργό θεωρείται ένα υλικό το οποίο έχει την ικανότητα να προκαλεί μια συγκεκριμένη βιολογική αντίδραση στη σύνδεσή του που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία βιοχημικών συνδέσμων μεταξύ της επιφάνειας του υλικού και του ιστού. Ενώ ως Βιοαδρανές ορίζεται ένα υλικό το οποίο κατά την τοποθέτησή του στο ανθρώπινο σώμα έχει ελάχιστη αλληλεπίδραση με τον ιστό που το περιβάλλει.
- Να μην είναι Βιοτοξικό ώστε να αποφεύγονται διάφορες χημικές ή γαλβανικές διεργασίες και αντιδράσεις με αποτέλεσμα την ατροφία, την παθολογική μεταβολή ή και την απόρριψη των ζωντανών ιστών που βρίσκονται κοντά του.
- Να είναι Βιοαποικοδομήσιμο, αν αυτό είναι αναγκαίο. Πρόκειται για τα υλικά που μετά την τοποθέτησή τους στο ανθρώπινο σώμα αρχίζουν αργά και βαθμιαία να διαλύονται και μετέπειτα να αντικαθίστανται από ανεπτυγμένους ιστούς (όπως οστά) χωρίς τοξικότητα και απόρριψη.

- Να έχει τη δυνατότητα να μορφοποιηθεί και να επεξεργαστεί εύκολα ως προς τον σχηματισμό διαφόρων σχημάτων.
- Να έχει καλές μηχανικές και φυσικές ιδιότητες, όπως για παράδειγμα αντοχή σε καταπόνηση, ερπυσμό, φθορά και τριβή καθώς και την επιθυμητή σκληρότητα και το κατάλληλο ιξώδες ανάλογα με την εφαρμογή του.

Αυτά τα χαρακτηριστικά πρέπει να συγκεκριμενοποιούνται σε σχέση με τον επιδιωκόμενο μηχανισμό της εφαρμογής, να ελέγχονται και να αξιολογούνται μέσα από *in vivo* και *in vitro* πειράματα. Σημειώνεται ότι μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν γνωστά υλικά τα οποία ικανοποιούν πλήρως όλα αυτά τα κριτήρια.

Τα βιοϋλικά γενικά ταξινομούνται σε α) φυσικά ή συνθετικά πολυμερή, β) μέταλλα, γ) σύνθετα, και δ) κεραμικά (π.χ. βιοενεργές ύαλοι) όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Σχηματική ταξινόμηση βιοϋλικών.

Αν και η ευκαμψία των πολυμερικών υλικών τους παρέχει τα μοναδικά χαρακτηριστικά τους, η χαμηλή μηχανική αντοχή τους δεν μπορεί να αντέξει τις καταπονήσεις που απαιτούνται σε πολλές εφαρμογές. Τα μέταλλα παρόλο που έχουν υψηλή αντοχή στη τριβή και ολκιμότητα, ο υψηλός βαθμός διάβρωσής τους και η

χαμηλή βιοσυμβατότητα είναι ανεπιθύμητοι παράγοντες για τους ζωντανούς ιστούς. Ορισμένα σύνθετα υλικά έχουν σταυρωτά συνδεδεμένα ελαστομερή που τους δίνουν υψηλά elastic moduli, τα οποία με τη σειρά τους είναι ευεργετικά για βιοσυμβατότητα.

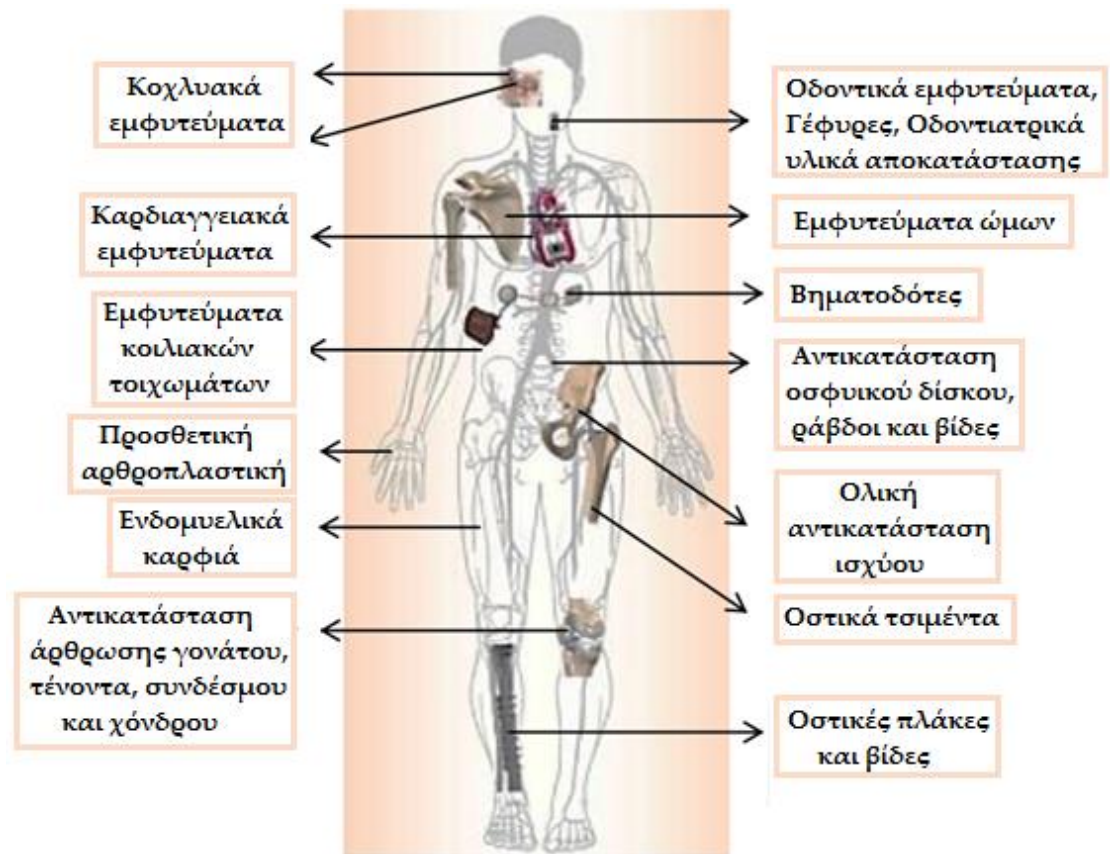
Τα κεραμικά έχουν γενικά καλή βιοσυμβατότητα μαζί με αντίσταση στη διάβρωση και στη συμπίεση. Δυστυχώς, αυτά τα υλικά είναι εύθραυστα και διατηρούν μικρή ανθεκτικότητα, υψηλή πυκνότητα και χαμηλή αντοχή στη θραύση. Η χρήση βιοαποικοδομήσιμων πολυμερικών ικριωμάτων για την αναγέννηση των οστών είναι περιορισμένη και δύσκολη. Αυτά τα πολυμερή lack a mechanically biocompatible hydroxyapatite (HA) inorganic phase. Τα ικρίωματα που κατασκευάζονται από ανόργανα υλικά με βάση το φωσφορικό ασβέστιο ή βιοκεραμικά, όπως η βιοενεργή ύαλος, συνήθως παρέχουν μεγαλύτερη μηχανική αντοχή.

1.2 Εφαρμογές των Βιοϋλικών

Στην επιστήμη της Ιατρικής πολύ σημαντικό ρόλο παίζει η πρόοδος στην ανάπτυξη ολοένα και περισσότερων βιοϋλικών, καθώς είναι υλικά τα οποία μπορούν να έρθουν σε επαφή με σωματικά υγρά και ιστούς με ελάχιστες επιδράσεις αντίδρασης ή απόρριψης από το σώμα. Στόχος των ερευνών είναι η ανάπτυξη τεχνητών υλικών για χρήση στο ανθρώπινο σώμα προκειμένου να αναστυλώσουν και να αναπτύξουν τη φυσιολογική λειτουργία και να βελτιώσουν την ποιότητα ζωής. Ορισμένες από τις σημαντικότερες εφαρμογές των βιοϋλικών είναι⁵:

✚ Ορθοπεδική: Όλοι οι τύποι βιοϋλικών χρησιμοποιούνται σε ορθοπεδικές εφαρμογές. Τα μεταλλικά υλικά χρησιμοποιούνται συνήθως για μέλη που υπόκεινται σε υψηλές φορτίσεις (περόνη, ισχίο, τεχνητές οδοντοστοιχίες κ.α.) Τα κεραμικά, όπως η αλουμίνα και το ζirkόνιο, χρησιμοποιούνται για εφαρμογές που απαιτούν ανθεκτικότητα (π.χ. αντικαταστάσεις αρθρώσεων), ενώ ο υδροξυαπατίτης χρησιμοποιείται στις αρθρώσεις των οστών για καλύτερη ενσωμάτωση των εμφυτευμάτων. Τα πολυμερή, όπως το υψηλού μοριακού βάρους πολυαιθυλένιο, χρησιμοποιούνται ως ευκρινείς επιφάνειες έναντι των κεραμικών συστατικών στις αντικαταστάσεις των αρθρώσεων. Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η πορώδης αλουμίνα για την αντικατάσταση μεγάλων τμημάτων των οστών που πρέπει να απομακρυνθούν λόγω ασθένειας.

- ✚ Καρδιολογική: Πολλά διαφορετικά βιοϋλικά χρησιμοποιούνται στις καρδιαγγειακές εφαρμογές εξαιτίας των ειδικών ιδιοτήτων και του σχεδιασμού, όπως ο άνθρακας στις τεχνητές βαλβίδες της καρδιάς.
- ✚ Οδοντιατρική: Τα μεταλλικά βιοϋλικά έχουν χρησιμοποιηθεί ως βελόνα στα οδοντικά εμφυτεύματα και ως μέρη ορθοδοντικών μηχανισμών. Τα κεραμικά, όπως η αλουμίνα και η οδοντιατρική πορσελάνη χρησιμοποιούνται ως οδοντικά εμφυτεύματα, ενώ ο υδροξυαπατίτης ως επικάλυψη των μεταλλικών βελονών και ως πληρωτικό των μεγάλων οστέινων πόρων που προέκυψαν από ασθένεια ή από τραύμα. Τα πολυμερή έχουν, επίσης, ορθοδοντική εφαρμογή στις τεχνητές οδοντοστοιχίες και στις μασέλες.
- ✚ Πλαστική χειρουργική: Υλικά όπως η σιλικόνη έχουν χρησιμοποιηθεί στην πλαστική χειρουργική σε διάφορες περιπτώσεις (π.χ. αύξηση στήθους, ανάπλαση της επιδερμίδας, αντικατάσταση του κοιλία των αυτιών κ.α.).
- ✚ Οφθαλμολογία: Φακοί επαφής.
 - Ιατρικές συγκολλητικές χειρουργικές ραφές.
 - Συνθετικά αιμοφόρα αγγεία.
 - Συστήματα τοπικής μεταφοράς και ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων.
 - Βιοτεχνολογία: Ανάπτυξη κυττάρων, σχηματισμός μορίων, διατήρηση της γονιμότητας των εμφυτευμάτων στα βοοειδή, διάγνωση γενετικών παρατάξεων και ανάπτυξη κυττάρων σιλικόνης «βιογοφών». Η ομοιότητα αυτών των εφαρμογών είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ των βιολογικών συστημάτων και των συνθετικών ή τροποποιημένων φυσικών υλικών.



Εικόνα 2: Παραδείγματα εφαρμογών των βιοϋλικών⁶

2° ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Μηχανική Ιστών

Η μηχανική ιστών έχει εξελιχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την επιδιόρθωση και αναγέννηση ιστών και οργάνων που έχουν καταστραφεί λόγω τραύματος, ασθένειας ή γήρανσης⁷. Έχει τη δυνατότητα να ξεπεράσει το πρόβλημα της έλλειψης ζωντανών ιστών και οργάνων που είναι διαθέσιμα για μεταμόσχευση. Η αναζήτηση για σύνθετα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν στη Μηχανική Ιστών και ιδιαίτερα στην Αγγειογένεση και στη Μηχανική των Οστών, επεκτάθηκε με τεράστιο ρυθμό τα προηγούμενα χρόνια. Στην πιο κοινή προσέγγιση, ένα ικρίωμα βιοϋλικών με μια καλά καθορισμένη αρχιτεκτονική χρησιμεύει ως μια προσωρινή δομή για τα κύτταρα και προωθεί τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους στον επιθυμητό ιστό ή όργανο. Παράγοντες ανάπτυξης και άλλα βιομόρια μπορούν να ενσωματωθούν στο ικρίωμα, μαζί με τα κύτταρα, για να καθοδηγήσουν τη ρύθμιση των κυτταρικών λειτουργιών κατά την αναγέννηση ιστών ή οργάνων⁸. Ο γενικός σκοπός αυτής της προσεγγίσεως της μηχανικής ιστών που βασίζεται σε ικρίωμα είναι να παράσχει την προσωρινή δομή στήριξης για κύτταρα που σχηματίζουν ιστό για να συνθέσουν νέους ιστούς με το επιθυμητό σχήμα και διαστάσεις.

Στις τελευταίες τρεις δεκαετίες έχει σημειωθεί δραματική ανάπτυξη στον τομέα της μηχανικής ιστών. Αυτές οι προσπάθειες οδήγησαν σε κυτταρική αναγέννηση μεμονωμένων ιστών όπως το δέρμα, το κόκαλο και ο χόνδρος. Πρόσφατες εργασίες στην αποκατάσταση πολλαπλών φαινοτύπων ιστών με κύτταρα με συνθετικά μοσχεύματα ιστών, όπως οστεοχονδρικά και ινώδη οστικά μοσχεύματα, έδειξαν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα για την αναγέννηση των σύνθετων ανατομικών δομών όπως ... (synovial joint condyle), σύμπλοκο οστού-τένοντα (bone-tendon complex), and the η αρθρική αρθρική αρθρίτιδα, η ένωση μεταξύ οστού και συνδέσμου (bone-ligament junction) και ο περιοδοντίτης (periodontium)⁹.

Αυτές οι πρόοδοι δεν θα ήταν εφικτές χωρίς τον καινοτόμο σχεδιασμό και την κατασκευή βιοϋλικών και ικριωμάτων. Τα βιοϋλικά που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία ικριωμάτων σχεδιάζονται για να ανταποκρίνονται σε ένα σύνολο αυστηρών απαιτήσεων που είναι είτε απαραίτητες είτε επιθυμητές για βελτιστοποιημένο σχηματισμό ιστών¹⁰. Τα ικρίωματα, όπως αναφέρθηκε

προηγουμένως, πρέπει να παρέχουν μια προσωρινή δομή για τα κύτταρα ώστε να συνθέσουν νέο ιστό, αλλά πρέπει να υποστούν αποικοδόμηση κατά τη νεογένεση αυτού του ιστού. Η αρχιτεκτονική του ικριώματος είναι κρίσιμη για την παροχή των κυττάρων με ένα βελτιστοποιημένο μικροπεριβάλλον για να συνθέσουν νέους ιστούς και να επιτρέψουν τη ροή ή τη διάχυση θρεπτικών ουσιών μεταξύ των κυττάρων και του περιβάλλοντος.

2.1 Ικριώματα για τη Μηχανική Ιστών

Τα ιδανικά ικριώματα θα πρέπει (α) να είναι βιοσυμβατά (μη τοξικά) και να προάγουν την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, (β) να παρουσιάζουν, μετά από *in vitro* καλλιέργεια ιστών, μηχανικές ιδιότητες που είναι συγκρίσιμες με εκείνες του ιστού που πρόκειται να αντικατασταθεί, (γ) να έχουν μια πορώδη τρισδιάστατη (3-D) αρχιτεκτονική που να επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την αγγειογένεση και τη διάχυση των θρεπτικών ουσιών μεταξύ των κυττάρων που έχουν σπαρθεί εντός της μήτρας, (δ) να αποικοδομούνται με ρυθμό που ταιριάζει με την παραγωγή νέου ιστού, σε μη τοξικά προϊόντα που μπορούν εύκολα να απορροφηθούν ή να αποβληθούν από το σώμα, (ε) να μπορούν με οικονομικό τρόπο να παραχθούν στην επιθυμητή αρχιτεκτονική και (στ) να μπορούν να αποστειρώνονται για κλινική χρήση.

Τα ικριώματα για τη μηχανική ιστών κατασκευάζονται συνήθως από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή υλικά, συνθετικά ή φυσικά. Ωστόσο, για την αναγέννηση οστών που φέρουν μηχανικό φορτίο, η χρήση βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών ικριωμάτων προκαλεί προβλήματα λόγω της χαμηλής μηχανικής τους αντοχής. Έχουν γίνει προσπάθειες για την ενίσχυση των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών με μια βιοσυμβατή ανόργανη φάση, συνήθως υδροξυαπατίτη (HA)¹¹. Αν και εύθραυστα, ικριώματα κατασκευασμένα από ανόργανα υλικά όπως βιοενεργή ύαλο και βιοκεραμικά με βάση το φωσφορικό ασβέστιο μπορούν να παρέχουν υψηλότερη μηχανική αντοχή από τα αμιγώς πολυμερικά ικριώματα. Τα βιοαποικοδομήσιμα μέταλλα βρίσκονται υπό διερεύνηση, αλλά η συμπεριφορά τους στη διάβρωση *in vivo* παραμένει βασικό πρόβλημα¹².

Βιοκεραμικά με βάση το φωσφορικό ασβέστιο, όπως ο υδροξυαπατίτης (HA - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) και το β-φωσφορικό τριασβέστιο (β-TCP - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$),

αποτελούμενο από τα ίδια ιόντα όπως τα οστά, είναι τα ανόργανα υλικά που έχουν λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή για τις εφαρμογές αποκατάστασης οστών¹³. Σε σύγκριση με το β-TCP, ο HA απορροφάται αργά και υφίσταται μικρή μετατροπή σε υλικό ομοιάζον με οστό μετά την εμφύτευση^{14,15}. Ωστόσο, για το ίδιο πορώδες, τα ικρίωματα με β-TCP συχνά έχουν μικρότερη αντοχή από τα ικρίωματα με HA, οπότε η χρήση τους για την επιδιόρθωση οστών που φέρουν μηχανικό φορτίο μπορεί να είναι δύσκολη. Η χρήση των βιοκεραμικών αυτών με διαφορετικούς λόγους HA προς β-TCP επιτρέπει τον έλεγχο του ρυθμού αποικοδόμησης, καθώς και άλλων ιδιοτήτων¹⁶.

Οι βιοενεργές ύαλοι και τα υαλοκεραμικά χρησιμοποιούνται επίσης σε εφαρμογές αποκατάστασης οστών και αναπτύσσονται για εφαρμογές μηχανικής ιστών¹⁷. Η βιοενεργή ύαλος έχει μια άμορφη δομή, ενώ τα υαλοκεραμικά είναι ύαλοι με κρυσταλλική δομή, που αποτελούνται από μία σύνθεση κρυσταλλικής και υαλώδους φάσης.

2.2 Η Αναγεννητική Ιατρική

Οι ελλείψεις ιστών και οργάνων έχουν αναγνωριστεί ως σημαντική πρόκληση για τη δημόσια υγεία, με ένα μικρό ποσοστό μόνο ασθενών που λαμβάνουν μεταμοσχεύσεις^{18,19}. Οι περισσότεροι κατάλογοι αναμονής για τους ιστούς και τα όργανα δεν καταγράφουν το μέγεθος της κρίσης, καθώς μόνο όσοι είναι άρρωστοι αναζητούν τέτοια βοήθεια^{20,21}. Η υπόσχεση της αναγεννητικής ιατρικής βασίζεται στη δυνατότητα και στην ικανότητα αναγέννησης και αντικατάστασης των κατεστραμμένων ιστών και οργάνων^{22,23}. Η αναγεννητική ιατρική έχει δείξει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα για την αναγέννηση και την αντικατάσταση μιας ποικιλίας ιστών και οργάνων, συμπεριλαμβανομένου του δέρματος, της καρδιάς, των νεφρών και του ήπατος, και τη δυνατότητα να διορθώσει ακόμη και μερικά συγγενή ελαττώματα^{24,25,26,27}. Η παραδοσιακή εξάρτηση από την δωρεά ιστών και οργάνων για μεταμοσχεύσεις αντιμετωπίζει το πρόβλημα των ελλείψεων των χορηγών και πιθανή ανοσολογική απόρριψη των δωρεών σωματικών τμημάτων^{20,21}. Ορισμένες μεταμοσχεύσεις οργάνων που εκτελούνται σε αναπτυσσόμενα έθνη περιλαμβάνουν περιπτώσεις μεταμοσχευτικού τουρισμού όπου οι αλλοδαποί, με επαρκή χρήματα και επιρροή, έχουν προτεραιότητα έναντι του τοπικού πληθυσμού^{18,28,29}. Τέτοιες πρακτικές έχουν καταδικαστεί, καθώς μπορούν να οδηγήσουν στην εκμετάλλευση

ανυπεράσπιστων ανθρώπων^{18,30,31}. Παρά τις διαφορές στις εθνικές οικονομικές δυνάμεις και ως εκ τούτου τις διαφορές στις υποδομές υγειονομικής περίθαλψης, η υπερνίκηση των επιβαρύνσεων όπως η χαμηλή προσφορά οργάνων και τα πρακτικά εμπόδια στη συλλογή και αποθήκευση τους μπορούν να βοηθήσουν στην αύξηση του αριθμού των ατόμων που μπορούν να υποβληθούν σε μεταμοσχεύσεις οργάνων^{18,32,33}. Επομένως, πρέπει να αναπτυχθούν περαιτέρω στρατηγικές και τεχνολογίες που μπορούν να αυξήσουν την προσφορά ιστών και οργάνων για μεταμόσχευση. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι ιστοί και τα όργανα απαιτούνται αμέσως για μεταμόσχευση, όπως συμβαίνει όταν τραυματίζονται άνθρωποι σε ατυχήματα, πολέμους και φυσικές καταστροφές^{34,35}. Η έλλειψη ιστών και οργάνων όχι μόνο παρεμποδίζει τη θεραπεία ασθενών αλλά επίσης παρεμποδίζει την επιστημονική έρευνα. Επομένως, η ανάπτυξη μιας ατελείωτης προσφοράς ιστών και οργάνων αποτελεί το πιο δύσκολο έργο της γενιάς μας. Έχουν αναληφθεί πολλές πρωτοβουλίες για την αύξηση της δωρεάς οργάνων και την καλύτερη χρήση των δωρεών οργάνων^{36,37}. Μια λύση είναι η εμφάνιση εργαστηριακά αναπτυσσόμενων ιστών, εξανθρωπισμένων ζωικών οργάνων και βιολογικών οργάνων^{38,39}. Η αναγεννητική ιατρική μπορεί να βοηθήσει στην επίλυση ορισμένων από αυτές τις προκλήσεις^{40,41}. Για να είναι επιτυχείς οι στρατηγικές αναγεννητικής ιατρικής, το χρησιμοποιούμενο υλικό, κυρίως συνδυασμοί ικριωμάτων, αυξητικών παραγόντων και βλαστοκυττάρων, πρέπει να είναι σε θέση να αντικαταστήσει τον κατεστραμμένο ιστό και να μπορεί να λειτουργήσει ως ο αρχικός ιστός ή να διεγείρει την αναγέννηση του πρωτοτύπου ιστού^{42,43}. Τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται στην αναγεννητική ιατρική και στην μηχανική ιστών μπορούν να προέρχονται από τον ίδιο ασθενή (αυτόλογο) ή από άλλο άτομο (αλλογενή). Επιπλέον, ξενογονικά κύτταρα όπως αυτά από ζώα μπορούν επίσης να υιοθετηθούν σε στρατηγικές αναγεννητικής ιατρικής. Τα κύτταρα που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα περιλαμβάνουν βλαστοκύτταρα, ινοβλάστες, χονδροκύτταρα και κερατινοκύτταρα^{44,45}. Αν και τα αλλογενή κύτταρα μπορεί να παραβιάσουν μια ανοσολογική αντίδραση, αυτό μπορεί να μετριαστεί με τη συνταγογράφηση ανοσοκατασταλτικών σε ασθενείς. Ανάλογα με την ηλικία του ασθενούς, ορισμένες στρατηγικές αναγεννητικής ιατρικής μπορούν να χρησιμοποιήσουν και να επιταχύνουν τη φυσική διαδικασία επούλωσης του σώματος^{46,47}. Αυτές οι στρατηγικές αποσκοπούν στην αλλαγή του περιβάλλοντος των ιστών με την εισαγωγή εξωγενούς υλικού και βιολογικών παραγόντων με μοναδικό σκοπό την επιτάχυνση και τη βελτίωση της θεραπευτικής διαδικασίας του σώματος.

Τα υλικά και τα βιομιμητικά της εξωκυτταρικής μήτρας χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετά χρόνια και δεν παρέχουν απλώς τη φυσική δομή^{48,49}. Τα υλικά και τα βιομιμητικά μπορούν να διεγείρουν την αναγέννηση από μόνα τους, αλλά μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για να παρουσιάσουν τα βιομόρια όπως οι παράγοντες ανάπτυξης για την προώθηση της ανάπτυξης των κυττάρων^{50,51}. Αρχικά θεωρούμενο ότι είναι απαραίτητη για τη φυσική υποστήριξη των κυττάρων, το βιοϋλικό ή το ικρίωμα μπορεί τώρα να ενσωματώνει βιολογικά σήματα για να ενισχύσει ή να προωθήσει την αναγέννηση και λειτουργία του ιστού^{46,47}. Λόγω των διαφορετικών δυνατοτήτων αναγέννησης διαφορετικών ιστών, ορισμένοι ιστοί μπορεί να μην απαιτούν κύτταρα, αλλά μόνο τα βιοϋλικά και βιολόγους, ενώ άλλοι ιστοί έχουν περιορισμένες ικανότητες αναγέννησης και απαιτούν το βιολογικό υλικό, βιομόρια και κύτταρα για αναγέννηση. Οι ιστοί και τα όργανα με περιορισμένη ή μηδενική ικανότητα αναγέννησης περιλαμβάνουν τον χόνδρο και τον κερατοειδή, ενώ εκείνοι με υψηλή ικανότητα αναγέννησης περιλαμβάνουν το ήπαρ και τους πνεύμονες^{48,50}.

Τα περισσότερα από αυτά τα ικρίωματα κατασκευάζονται από πρωτεΐνες ECM και επίσης από συνθετικά πολυμερή^{42,52,53}. Οι υδρογέλες είναι ιδιαίτερα ελκυστικές καθώς έχουν κάπως παρόμοιες ιδιότητες με τους ιστούς και είναι βιοαποδομήσιμες⁵³. Η βιοαποδομησιμότητα είναι μια σημαντική ιδιότητα των υδροπηκτών καθώς επιτρέπει τη σταδιακή αντικατάσταση της υδρογέλης με ένα φυσικό ικρίωμα που συντίθεται από τα κύτταρα εντός της υδρογέλης και επίσης από τα κύτταρα-ξενιστές. Η χρήση υδροπηκτών ήταν ευρέως διαδεδομένη, συμπεριλαμβανομένης της θεραπείας συγγενών καρδιακών ανωμαλιών και στην κατασκευή αγγειακών μοσχευμάτων^{54,55}. Πρόσφατα, έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς συνδυασμοί φυσικών και συνθετικών βιοϋλικών. Αυτό έχει το πλεονέκτημα ότι έχει θέσεις αναγνώρισης κυττάρων για την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό. Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τον πολλαπλασιασμό κυττάρων όπως τα χονδροκύτταρα μόνο στην ελαστίνη και σε συνδυασμό με πολυμερή όπως η πολυαιθυλενογλυκόλη και η πολυκαπρολακτόνη^{56,57}. Άλλες μελέτες έχουν επίσης διερευνήσει την επίδραση συνδυασμών κεραμικών και φυσικών βιοϋλικών όπως το κολλαγόνο τύπου I στη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων⁵⁸. Συνολικά, σύνθετα βιοϋλικά ή ικρίωματα μπορούν να παρέχουν συγκεκριμένες ιδιότητες για την προώθηση της αναγεννητικής ιατρικής και της βιολογίας των ιστών. Η λειτουργία των εμβολιασμένων κυττάρων εξακολουθεί να είναι αμφισβητήσιμη με ορισμένα στοιχεία που δείχνουν ότι τα

εμβολιασμένα κύτταρα απλώς επάγουν φλεγμονή απαραίτητη για τα κύτταρα-ξενιστές να πληρώσουν το μόσχευμα για να σχηματίσουν νέα αιμοφόρα αγγεία. Με αυτό το πνεύμα, πολλά αγγειακά μοσχεύματα, τα οποία έχουν αποπληθωρισθεί μετά από τη σύνθεση της εξωκυτταρικής μήτρας, βρίσκονται επί του παρόντος υπό κλινική δοκιμή^{59,60,61}. Το πλεονέκτημα της χρήσης τέτοιων μοσχευμάτων είναι ότι περιέχουν ένα αποτύπωμα κυττάρων με δείγματα για να δημιουργηθούν περισσότερες πρωτεΐνες ECM εξειδικευμένες στον ιστό. Διάφορα σύνολα δεδομένων δείχνουν ότι οι μηχανικές ιδιότητες των υδρογέλων και των αποκεντρωμένων ECM παράγουν ένα θεραπευτικό και διαφοροποιητικό αποτέλεσμα^{62,63}. Αρκετές μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη για να διασαφηνιστεί η επίδραση συνδυασμού διαφορετικών ικριωμάτων για πρόσθετη ή βελτιωμένη απόδοση του ικριώματος^{64,65}. Με την εμφάνιση μη επεμβατικών τεχνολογιών απεικόνισης, είναι πλέον δυνατή η δημιουργία ιστών αντικατάστασης συγκεκριμένου ασθενούς με βάση τις μετρήσεις σώματος του ασθενούς⁶⁶. Τέτοιες τεχνολογίες περιλαμβάνουν απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI) και υπολογιστική τομογραφία (CT). Αυτές οι τεχνολογίες απεικόνισης επόμενης γενιάς έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία ικριωμάτων ειδικά σχεδιασμένων για ασθενείς. Οι εικόνες υπολογιστικής τομογραφίας χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή τραχείας ασθενούς και πολλών άλλων ιστών από πολυμερή^{67,68}.

2.3 Νέες Θεωρήσεις στην Αναγεννητική Ιατρική και στην Μηχανική Ιστών

Αρκετοί παράγοντες όπως το χρησιμοποιούμενο βιοϋλικό και η κυτταρική πηγή πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τη διάρκεια της κατασκευής ιστών ή μοσχεύματος^{69,70}. Τέτοιες εκτιμήσεις θα επιτρέψουν τη σωστή αλληλεπίδραση κυττάρου-κυττάρου και κυττάρου-βιομάζας (κυτταρική-μήτρα), ενισχύοντας έτσι τη λειτουργία του ικριώματος. Ο αναγεννημένος ιστός για μεταμόσχευση πρέπει να ανακεφαλαιώνει κανονικό ιστό με συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο, με συγκεκριμένη λειτουργία^{68,71,72,73,74}. Ακριβώς όπως στους φυσιολογικούς ιστούς και όργανα, τα διαφορετικά κύτταρα παίζουν διαφορετικούς ρόλους, όπως την παροχή δομικών και υποστηρικτικών ρόλων όπως παρέχονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Έτσι, τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της τρισδιάστατης βιο-εκτύπωσης θα καθορίσουν τη λειτουργία του προκύπτοντος μοσχεύματος ή ικριώματος^{43,53}.

Η ενσωμάτωση του μεταμοσχευμένου μοσχεύματος ή κριώματος απαιτεί να αυτοανανεώνεται και να διατηρείται ομοιόσταση^{75,76}. Η πιο επιθυμητή πηγή κυττάρων είναι τα αυτόλογα κύτταρα για να αποφευχθεί η ανοσοαπόκριση του ξενιστή^{75,76}. Τα αυτόλογα κύτταρα μπορούν να περάσουν *in vitro*, να προκληθούν και να διαφοροποιηθούν στα επιθυμητά κύτταρα πριν από τη διαδικασία βιοδιάσχεσης 3D ή μεταμόσχευσης. Αρκετά μειονεκτήματα σχετίζονται με τη χρήση αυτόλογων κυττάρων. Αυτές περιλαμβάνουν την περιορισμένη ικανότητα αναγέννησης των πρωτογενών κυττάρων και τους τεχνικούς περιορισμούς στην καλλιέργεια κυττάρων *in vitro*. Η τρισδιάστατη βιοτυπία θεωρείται πιο εύχρηστη από την ακυτταρική εκτύπωση η οποία θα απαιτούσε σπορά των κυττάρων μετά την εκτύπωση. Για να μπορέσουν τα μοσχεύματα να ενσωματωθούν με επιτυχία στο σώμα, υπάρχει ανάγκη για σωστή ενσωμάτωση στο αγγειακό σύστημα του ασθενούς^{77,78}. Τα κύτταρα στο σώμα βρίσκονται κοντά στα αιμοφόρα αγγεία για να επιτρέψουν την ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου⁷⁹. Οι παραδοσιακές μέθοδοι όπως η κατασκευή βιομιμητικών κριωμάτων ή ο σχεδιασμός ιστών και οργάνων είναι ανεπιτυχείς όταν πρόκειται να εκπληρώσουν την ανάγκη για αιμοφόρα αγγεία και νεύρα στους ιστούς και τα όργανα. Αρκετοί παράγοντες αγγειογόνου ανάπτυξης, συμπεριλαμβανομένων των VEGF, bFGF και PDGF, έχουν χρησιμοποιηθεί σε μηχανικούς ιστούς για την τόνωση του σχηματισμού αιμοφόρων αγγείων^{79,80}. Αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες παρουσιάζονται στα κριώματα και αυτό διεγείρει το σώμα να αρχίσει την αγγειογένεση. Η πρόκληση με τη χρήση αυξητικών παραγόντων είναι ο βραχύς χρόνος ημίσειας ζωής τους και η πιθανότητα τοξικών επιδράσεων^{81,82}. Η συνεχής απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων έχει αποδειχθεί ότι αναστρέφει τη νέκρωση σε ορισμένους ιστούς^{81,83}. Η προεπισκολαίωση των μοσχευμάτων πριν από τη μεταμόσχευση είναι ένας τρόπος για την προώθηση της αγγείωσης του μοσχεύματος. Κατά τη διάρκεια του 3D bioprinting, τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορούν να προστεθούν σε ένα κατάλληλο υλικό και μετά να μεταμοσχευθούν. Διάφορες τεχνικές που περιλαμβάνουν τεχνικές μικρορευστογόνων και μικροκρυστάλλων έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ή την επαγωγή της σύνθεσης των αγγειακών δικτύων στους ιστούς^{84,85}. Η προαγγείωση της θέσης στόχου έχει παρατηρηθεί για να βελτιώσει την ενσωμάτωση του μεταμοσχευμένου μοσχεύματος^{86,87}. Αρκετοί ιστοί θα απαιτούν επίσης την παρουσία νεύρων για να λειτουργούν σωστά. Αυτοί οι ιστοί θα απαιτήσουν την εννεύρωση του εμβολιασμένου ιστού από τον ξενιστή για σωστή ενσωμάτωση⁸⁸. Και πάλι, οι αυξητικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην

διέγερση της βλάστησης των νεύρων στους μεταμοσχευμένους ιστούς⁸⁹. Από αυτή την άποψη, οι υδρογέλες μπορούν να σχεδιαστούν με κανάλια φορτωμένα με πρωτεΐνες ECM και αυξητικούς παράγοντες για να κατευθύνουν τον σχηματισμό νεύρων μετά τη μεταμόσχευση^{90,91}.

Υπάρχουν αρκετά ζητήματα που χρειάζονται βελτιώσεις όσον αφορά τα κελιά που χρησιμοποιούνται για τη 3D bioprinting. Υπάρχει ανάγκη των κυττάρων να επιβιώσουν στην πραγματική διαδικασία 3D bioprinting, να παραμείνουν ισχυρά και να συνεχίσουν να πολλαπλασιάζονται και να είναι σε θέση να διαφοροποιούνται όπως στην περίπτωση των βλαστικών κυττάρων⁶⁹. Μόλις μεταμοσχευθεί το ικρίωμα ή το μόσχευμα, υπάρχει ανάγκη τα κύτταρα να έχουν την ίδια κυτταρική λειτουργία με τα κανονικά κύτταρα. Τέλος, όλα τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται κατά τη διαδικασία 3D bioprinting πρέπει να είναι σε θέση να αλληλοεπιδρούν άμεσα ή μέσω απελευθέρωσης βιομορίων όπως αυξητικοί παράγοντες και κυτοκίνες. Τα κύτταρα που μπορούν να ανανεωθούν και να έχουν την ικανότητα να παράγουν πολλαπλά άλλα κύτταρα, όπως εμβρυονικά και ενήλικα βλαστοκύτταρα, είναι συνεπώς ελκυστικά. Τα βλαστοκύτταρα των ενηλίκων θεωρούνται ασφαλέστερα στη χρήση τους για μεταμόσχευση από οποιαδήποτε άλλα κύτταρα και παραμένουν ισχυρά μετά από 3D bioprinting⁹². Η παρουσία εξωγενώς προστιθέμενων κυττάρων επάγει αντίδραση από τον ιστό ξενιστή μέσω της έκκρισης βιομορίων που περιλαμβάνουν παράγοντες ανάπτυξης. Τα μεταμοσχευμένα κύτταρα, με ή χωρίς το ικρίωμα ή το υλικό, μπορούν να ξεκινήσουν μια απόκριση από τον ξενιστή που μπορεί να θεραπεύσει τους κατεστραμμένους ιστούς^{93,94}. Τα μεταμοσχευμένα κύτταρα μπορούν να μεταβάλλουν τη σύνθεση ECM ξενιστή μέσω έκκρισης αυξητικών παραγόντων ή σύνθεσης νέων ECM πρωτεϊνών ή μέσω έκκρισης ενζύμων αποικοδόμησης ECM όπως μεταλλοπρωτεασών μήτρας (MMPs)^{95,96}. Τα μεταμοσχευμένα κύτταρα δεν χρειάζεται να έρχονται σε επαφή με τα κύτταρα του ξενιστή για να παραβιάσουν μια τέτοια θεραπευτική απόκριση^{97,98}. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) είναι ο κυτταρικός τύπος επιλογής όταν η αναγέννηση του κατεστραμμένου ιστού είναι πρωταρχικής σημασίας^{97,99,100}. Αυτά τα κύτταρα πιστεύεται ότι είναι σχετικά ασφαλή σε σύγκριση με τα εμβρυϊκά κύτταρα. Επιπλέον, τα κύτταρα που προέρχονται από ιστούς ενηλίκων είναι εύκολα διαθέσιμα. Οι περισσότερες θεραπείες που διατίθενται στο εμπόριο βασίζονται σε κύτταρα προερχόμενα από ιστούς ενηλίκων^{101,102}. Τα επαγόμενα πολυδύναμα κύτταρα (iPSCs) και τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα είναι δυνητικά άφθονα διαθέσιμα κύτταρα για στρατηγικές αναγεννητικής ιατρικής¹⁰³. Τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα παράγουν

όλους τους άλλους τύπους κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα και αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι είναι ασφαλείς για χρήση σε στρατηγικές αναγεννητικής ιατρικής^{104,105}. Οι iPSCs μπορούν να ληφθούν από τα κύτταρα του ίδιου του ασθενούς και ως εκ τούτου δεν εγείρουν ζητήματα σχετικά με την απόρριψη μεταμοσχευμένων κυττάρων^{106,107}. Ωστόσο, τα κύτταρα που μεταμοσχεύονται μαζί με ένα ικρίωμα απομακρύνονται ταχέως από τον ιστό ξενιστή και αυτό έχει το αρνητικό αποτέλεσμα περιορισμού της αποτελεσματικότητάς τους¹⁰⁸. Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα, τα κύτταρα μπορούν να ενθυλακωθούν με υλικό όπως υδρογέλη και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε παρατεταμένη παρουσία των κυττάρων μέσα στον εμβολιασμένο ιστό και πιθανώς να αποτρέψει την απόρριψη^{109,110}. Με την επικάλυψη των μεταμοσχευμένων κυττάρων με ειδικά αντισώματα και πεπτίδια, τέτοια κύτταρα μπορούν να φιλοξενήσουν συγκεκριμένους ιστούς και όργανα^{111,112}. Αν και το ανοσοποιητικό σύστημα εμπλέκεται στην απόρριψη μοσχευμάτων ή νέων ιστών, μπορεί να προωθήσει ενεργά την αναγέννηση των κατεστραμμένων ιστών καθώς επίσης και να ενισχύσει την εμφύτευση μεταμοσχευμένων μοσχευμάτων¹¹³. Η τεχνολογική πρόοδος σημαίνει ότι η μεταβολή των χαρακτηριστικών ικρίωματος μπορεί να ελαχιστοποιήσει την απόρριψη του μοσχεύματος και να ενθαρρύνει την ανοχή του μοσχεύματος^{113,114}.

2.4 3D Bioprinting Οργάνων

Το τρισδιάστατο βιογραφικό των οργάνων είναι πολύ πιο περίπλοκο από αυτό των ιστών, καθώς απαιτεί την ευαίσθητη και περίπλοκη τοποθέτηση διαφορετικών τύπων κυττάρων προκειμένου να ανακεφαλαιωθούν τα φυσικά όργανα¹¹⁵. Επιπλέον, τα όργανα απαιτούν την παρουσία αιμοφόρων αγγείων και νεύρων. Το ερώτημα που πρέπει να απαντήσουν οι επιστήμονες και οι κλινικοί γιατροί είναι αν είναι δυνατόν να παραχθούν μαζικά αυτά τα σύνθετα όργανα για μεταμόσχευση *in vivo*. Αν και είναι επιτυχής στη βιολογική εκτύπωση λεπτών ιστών, η εκτύπωση 3D μεγαλύτερων και πιο σύνθετων ιστών και οργάνων παραμένει μια πρόκληση. Λόγω της πολυπλοκότητάς τους και του μεγέθους τους, τα όργανα τείνουν να διαρκούν πολύ περισσότερο για το τρισδιάστατο βιογραφικό, και αυτό έχει σημαντική επίδραση στην κυτταρική βιωσιμότητα^{116,117}. Διάφορα βιομόρια όπως χημειοκίνες και αυξητικοί παράγοντες μπορούν να προστεθούν για να βελτιώσουν την κυτταρική βιωσιμότητα κατά τη διάρκεια και μετά την βιο-εκτύπωση. Οι βιοαντιδραστήρες έχουν φέρει επανάσταση

στη διαδικασία μετά την εκτύπωση καθώς μπορούν να παράσχουν το απαραίτητο μικροπεριβάλλον που απαιτείται για μακροπρόθεσμη αποθήκευση ή καλλιέργεια του προκύπτοντος ικρίωματος ή μοσχεύματος. Οι βιοαντιδραστήρες ανακεφαλαιώνουν το φυσικό μικροπεριβάλλον των κανονικών οργάνων όσον αφορά τις ανταλλαγές θρεπτικών ουσιών, οξυγόνου και βιομορίων. Οι βιοαντιδραστήρες συνεχίζουν να παρέχουν το απαραίτητο μικροπεριβάλλον για την ωρίμανση του ικρίωματος ή του μοσχεύματος για κάποιο χρονικό διάστημα¹¹⁸. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, τα κύτταρα πρέπει να είναι σε θέση να αλληλοεπιδρούν και να είναι σε θέση να συνθέσουν την ECM. Στο τέλος της περιόδου επώασης, πρέπει να έχει επιτευχθεί μια ισορροπία μεταξύ των κυττάρων, του ECM και των υποδοχέων κυτταρικής επιφάνειας^{119,120}. Αυτό θα είναι απαραίτητο για το μόσχευμα ή το ικρίωμα να είναι σε θέση να ενσωματωθεί με τον ιστό ξενιστή. Το πεδίο της μηχανικής των ιστών και της αναγεννητικής ιατρικής έχει δώσει την ευκαιρία σε επιστήμονες και κλινικούς ιατρούς να αναπτύξουν όργανα πλήρους μεγέθους και λειτουργικά για μεταμόσχευση^{121,122}. Οι διαφορές στην πολυπλοκότητα μεταξύ των ιστών και των οργάνων σημαίνουν ότι ενώ γίνεται εφικτή η τρισδιάστατη βιογραφική αποτύπωση πολλών ιστών, η βιογραφική αποτύπωση των οργάνων παρέμεινε ασαφής. Οι πολυπλοκότητες σε επίπεδο οργάνου απαιτούν την ταυτόχρονη εκτύπωση όχι μόνο ενός ιστού αλλά αρκετούς ιστούς και κυτταρικές σειρές ταυτόχρονα¹²³. Αυτοί οι ιστοί και τα κύτταρα πρέπει να συνδεθούν για να εκτελέσουν μία λειτουργία. Είναι σημαντικό ότι οι ιστοί πρέπει να μπορούν να αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους και να συνδέονται μέσω αιμοφόρων αγγείων και νεύρων⁸⁸. Η δημιουργία μικρο-οργάνων είναι σίγουρα μια μελλοντική τάση στην βιο-εκτύπωση οργάνων.

2.4.1 Καρδιά

Η καρδιά είναι ένα από τα πρώτα λειτουργικά όργανα που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης¹²⁴. Χρειάζεται να αντλείται αίμα σε όλο το σώμα. Η καρδιά είναι ένα μυϊκό όργανο με πολύ περίπλοκη δομή. Τα τρία κύτταρα που βρίσκονται μέσα στην καρδιά είναι τα καρδιομυοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι ινοβλάστες¹²⁵. Η καρδιακή ανεπάρκεια αντιμετωπίζεται συνήθως μέσω μεταμόσχευσης οργάνων, και με τις προφανείς ελλείψεις οργάνων, η τρισδιάστατη βιογραφική εκτύπωση είναι πιθανό να αποτελέσει λύση στο πρόβλημα αυτό. Αρκετές

αναφορές δείχνουν ότι πολλές κατασκευές καρδιάς και μοσχεύματα είναι υπό αξιολόγηση^{126,127}. Η καρδιά απαιτεί σωστή αγγειοποίηση και εννεύρωση για να λειτουργήσει σωστά. Ως εκ τούτου, τα καρδιακά κατασκευάσματα και τα μοσχεύματα πρέπει να έχουν επαρκή αγγειοποίηση, και αυτό αποτελεί μια τεράστια πρόκληση. Η ECM της καρδιάς είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην κυτταρική διαφοροποίηση και στον προσδιορισμό της έκφρασης των πρωτεϊνών. Η ECM καρδιά αποτελείται κυρίως από κολλαγόνο. Λόγω της πολυπλοκότητάς της, δοκιμάστηκαν διάφορες προσεγγίσεις που περιλαμβάνουν αλλομοσχεύματα, ξενομοσχεύματα και αυτομοσχεύματα. Η υπόσχεση της μηχανικής ιστών και της αναγεννητικής ιατρικής δεν έχει περάσει απαρατήρητη όταν πρόκειται για την αποκατάσταση της καρδιάς και την αντιμετώπιση της καρδιαγγειακής νόσου. Το 3D bioprinting έχει χρησιμοποιηθεί μέχρι στιγμής για να σχεδιάσει λειτουργικούς καρδιακούς ιστούς και καρδιακές βαλβίδες. Τα βιοαποικοδομήσιμα βιοϋλικά χρησιμοποιούνται συνήθως για τη βιολογική εκτύπωση της καρδιακής βαλβίδας και μπορούν ακόμα να μιμηθούν την ανατομική βαλβίδα. Χρησιμοποιήθηκαν αρκετές μέθοδοι και κύτταρα κυττάρων 3D για την εκτύπωση καρδιακού ιστού που χτυπά¹²⁸. Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα μπορούν να σχηματίσουν εμβρυοειδή σώματα⁶⁴ και η άμεση εγγραφή με λέιζερ μπορεί να ελέγξει το μέγεθος και τον σχηματισμό εμβρυοειδών σωμάτων^{129,130}. Τα MSCs και τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν επίσης εκτυπωθεί σε ένα έμπλαστρο, προωθώντας έτσι το σχηματισμό αιμοφόρων αγγείων^{131,132}. Τα περισσότερα τρισδιάστατα κύτταρα με βιολογικά σήματα διατηρούσαν την υψηλή κυτταρική βιωσιμότητα και τη διαφοροποίησή τους προς την καρδιακή σειρά όπως προσδιορίζεται με έκφραση του γονιδίου παράγοντα καρδιακής μεταγραφής. Οι παρεμποδίσεις της στεφανιαίας αρτηρίας ή το έμφραγμα του μυοκαρδίου προκαλούν σοβαρή βλάβη στην καρδιά και ο μεταμοσχευμένος ιστός του μυοκαρδίου έχει μελετηθεί ως αντικατάσταση^{133,134}. Το έμφραγμα του μυοκαρδίου προκαλεί καρδιακή ανεπάρκεια κυρίως λόγω κυτταρικού θανάτου και λόγω νέκρωσης. Πράγματι, οι μέθοδοι βιογραφίας έχουν χρησιμοποιηθεί για να δημιουργήσουν βιώσιμα διαμορφωμένα μπαλώματα που επιτρέπουν τη βελτίωση των καρδιακών προσβολών μετά από μεταμόσχευση.

Για παράδειγμα, μια αλγινική υδρογέλη φορτωμένη με προγονικά κύτταρα καρδιομυοκυττάρου διατηρεί την κυτταρική βιωσιμότητα και αυξάνει την επούλωση του καρδιακού ιστού. Ο αποκεντρωμένος καρδιακός ιστός έχει χρησιμοποιηθεί στην

βιοεκτύπωση *microextrusion* για να δημιουργήσει τον καρδιακό ιστό¹³⁵. Επιπλέον, η βιολογική εκτύπωση ζωντανού προσθετικού που μπορεί να προσαρμοστεί στην καρδιακή κατάσταση και να ενσωματωθεί καλύτερα στην ανθρώπινη καρδιά από την μη προσθετική οδήγησε σε αυξημένη απόδοση της προσθετικής.

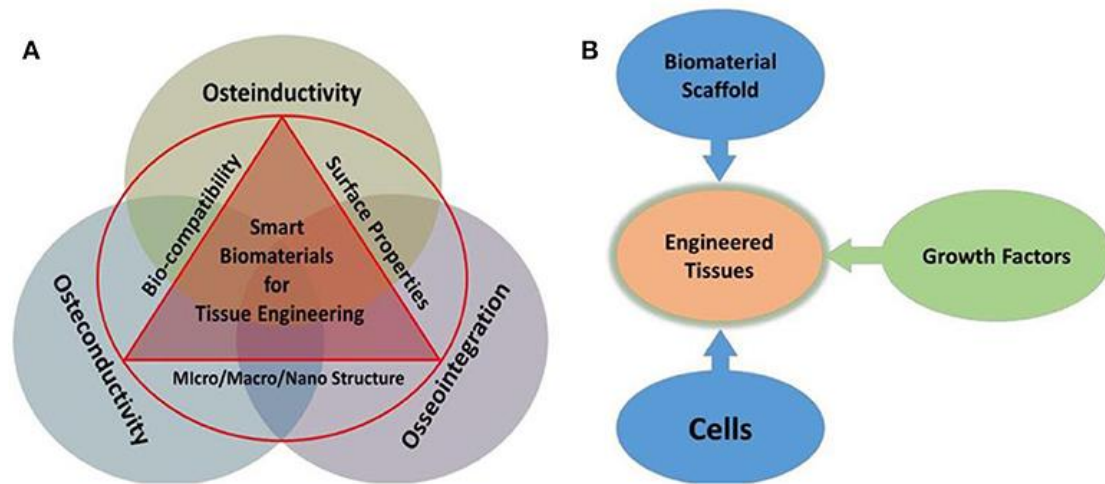
2.4.2 Σοκώτι

Το μεγαλύτερο μέρος του ηπατικού ιστού αποτελείται από ηπατοκύτταρα¹³⁶. Αρκετά άλλα κύτταρα όπως ινοβλάστες πύλης και ενδοθηλιακά κύτταρα βρίσκονται επίσης στο ήπαρ. Το ήπαρ εμπλέκεται σε πολλές σημαντικές μεταβολικές διεργασίες όπως η σύνθεση πρωτεϊνών πλάσματος, η παραγωγή ορμονών και η αποτοξίνωση των ξενοβιοτικών ενώσεων. Το ήπαρ αποτελείται από τέσσερις ηπατικούς λοβούς και δύο κύρια κύτταρα που υπάρχουν στο ήπαρ, τα παρεγχυματικά και τα μη παρεγχυματικά κύτταρα. Τα ηπατοκύτταρα έχουν υψηλή αναγεννητική ικανότητα καθιστώντας το ήπαρ ένα από τα όργανα με υψηλή ικανότητα αναγέννησης. Τα ηπατοκύτταρα, ωστόσο, επιδεινώνονται λειτουργικά γρήγορα όταν διατηρούνται *in vitro*¹³⁷. Τα βλαστοκύτταρα των ενηλίκων είναι η καλύτερη επιλογή για τρισδιάστατη βιογραφική εκτύπωση του ηπατικού ιστού, καθώς μπορούν να ληφθούν από τον ασθενή, επιτρέποντας την εξατομικευμένη βιο-εκτύπωση ιστού^{137,138}. Τα βλαστοκύτταρα εκφράζουν επίσης γονίδια παρόμοια με τα ηπατοκύτταρα. Η κατασκευή μικροεπεξεργαστών επέτρεψε τη μελέτη αρκετών υποψήφιων φαρμάκων σε μελέτες υψηλής απόδοσης. Οι τρεις ηπατικοί ιστοί έχουν αναπτυχθεί με τη χρήση τεχνικών *bioprinting*^{139,140}. Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα έχουν βιογραφικά με τη χρήση βιολογικής εκτύπωσης με βάση τη βαλβίδα για τη δημιουργία ηπατικών κατασκευών και τα κύτταρα διαφοροποιούνται ως κύτταρα που μοιάζουν με ηπατοκύτταρα¹⁴¹. Οι κυτταρικές πηγές που χρησιμοποιούνται σε κατασκευάσματα ή μοσχεύματα συκωτιού περιλαμβάνουν στρωματικά κύτταρα προερχόμενα από λιπώδη ιστό, στρωματικά κύτταρα προερχόμενα από ζελέ Wharton και ηπατικά προγονικά κύτταρα. Τα βιογραφικά κύτταρα έδειξαν φαινότυπα τύπου ηπατοκυττάρων όπως η έκκριση αλβουμίνης. Η πολυπλοκότητα αυτών των κατασκευών ενισχύθηκε περαιτέρω με την προσθήκη ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι υδρογέλες αποτελούμενες από διαφορετικούς συνδυασμούς ζελατίνης, πολυαιθυλενογλυκόλης και αλγινικού άλατος έχουν χρησιμοποιηθεί σε 3D κατασκευάσματα τύπου ηπατίτιδας *bioprint*^{137,139,142,143}. Οι περισσότεροι τρισδιάστατοι ιστοί με ιστολογική απεικόνιση παρουσιάζουν ειδικές

λειτουργίες του ήπατος επιπλέον της αντίδρασης σε τραυματισμούς. Αρκετές εταιρείες και ερευνητικές ομάδες έχουν δημιουργήσει ηπατικά κατασκευάσματα που μιμούνται τις φυσικές δομές και τις λειτουργίες του ήπατος^{137,138,140,144,145}. Υπάρχει έντονη ζήτηση για ήπαρ, και η παρασκευή του ήπατος σίγουρα θα μετριάσει αυτό το πρόβλημα. Ο ηπατικός ιστός και τα οργανοειδή μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν σε άλλες δοκιμασίες όπως οι δοκιμές φαρμάκων και οι μελέτες ηπατικής νόσου. Όπως και με τα ώριμα ηπατοκύτταρα, τα κύτταρα που μοιάζουν με ηπατοκύτταρα που λαμβάνονται από βλαστικά κύτταρα τείνουν να επιδεινώνονται λειτουργικά γρήγορα υπό *in vitro* συνθήκες¹³⁷. Η δομή του ήπατος είναι πολύπλοκη με ένα αρθρωτό μικροπεριβάλλον. Επομένως, είναι δύσκολο να υποβληθεί σε μοντέλο φυσικού ιστού ήπατος¹³⁷.

2.5 Κατασκευασμένα Λειτουργικά Βιοϋλικά για τη Μηχανική Ιστών

Οι ιστοί του σώματος διαθέτουν μια εξαιρετικά οργανωμένη δομή και μοναδική σύνθεση που βοηθούν στην παροχή μηχανικής και μεταφορικής υποστήριξης για τη ρύθμιση της βιολογικής και κυτταρικής λειτουργίας. Λόγω του τραυματισμού των ιστών, της ασθένειας, της δυσλειτουργίας ή της γήρανσης, υπάρχει ανάγκη για φυσικά βιοδιασπώμενα και βιοσυμβατά υλικά που μπορούν να μιμηθούν με την πραγματική αρχιτεκτονική των ιστών και τη δομική οργάνωση. Αυτά τα κατασκευάσματα ιστών μπορούν να βοηθήσουν στην αποκατάσταση των προβληματικών ιστών και οργάνων σε υψηλό κοινωνικό και οικονομικό επίπεδο^{146,147}. Προκαλεί την ενσωμάτωση αυτών των βιοϋποκατεργασμένων υλικών εξαιτίας των περιορισμών του επιτόπιου στόχου και των παρενεργειών όπως η κυτταρική τοξικότητα, η παρεμπόδιση του ανοσοποιητικού συστήματος και οι μηχανισμοί μεταφοράς. Επίσης, ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη ενός συστήματος βασισμένου σε βιολογικά χαρακτηριστικά, όπως η μηχανική καταπόνηση στο σημείο εστίασης, η αντοχή, τα σύνθετα ιξωδοελαστικά και τα μη γραμμικά και ανισότροπα μηχανικά χαρακτηριστικά, αποτελούσαν συνεχώς ένα πεδίο εξέτασης, όπως απεικονίζεται στο σχήμα 1(Εικόνα 3).

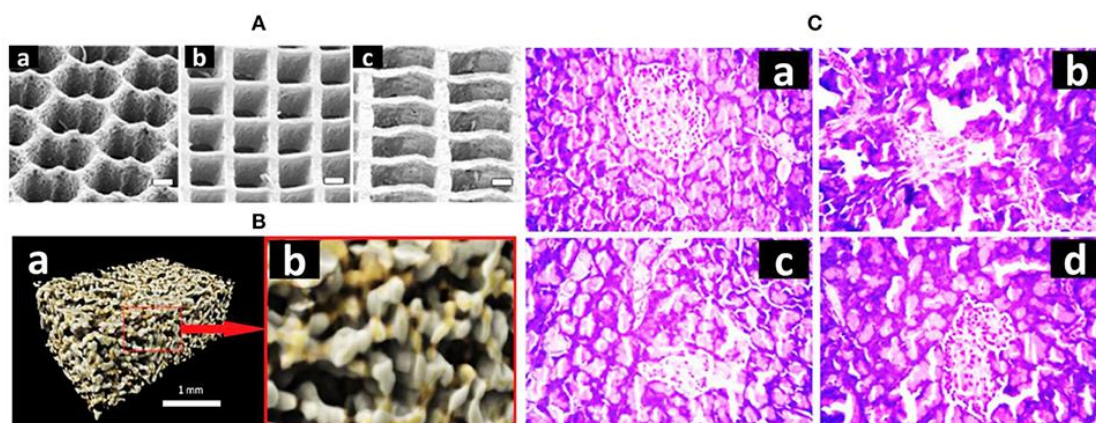


Εικόνα 3 Η απεικόνιση των κυριότερων χαρακτηριστικών των βιοϋλικών που απαιτούνται για την TE (A) απεικονίζει την ενσωμάτωση έξυπνων βιοϋλικών με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, τα οποία διευκολύνουν τη λειτουργία και τη ρύθμιση του οστεοειδούς¹⁴⁷ (B) απεικονίζει τον συνδυασμό βιοϋλικών, κυττάρων και αυξητικών παραγόντων(σηματοδότησης) που σχετίζονται με την Μηχανική των Ιστών.

Τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά διαφέρουν περαιτέρω με βάση την φυσιολογία που επηρεάζει παράγοντες όπως η ηλικία, η θέση, κλπ. Οι εξαιρετικά εξειδικευμένες δομές με το καλά διασυνδεδεμένο δίκτυο θα πρέπει να διατηρούνται από νεοσύστατες κατασκευαστικές δομές ιστών. Ο βασικός τύπος βιοϋλικών μπορεί να είναι συνθετικά πολυμερή, όπως πολυανυδρίτες, και φυσικά πολυμερή, όπως σύνθετα σάκχαρα (υαλουρονάνη και χιτοζάνη) και άλλα ανόργανα (υδροξυαπατίτης). Επίσης, κατατάσσονται με βάση λειτουργίες όπως οι υδρογέλες¹⁴⁸, ενέσιμες¹⁴⁹, ικανές να παράγουν φάρμακα¹⁵⁰ και επιφανειακά τροποποιημένες¹⁵¹ και από άλλα ειδικά χαρακτηριστικά. Χωρίς την ακατάλληλη μίμηση εξαιρετικά οργανωμένων αρχιτεκτονικών ιστών και οργάνων, η διοχέτευση επαρκούς ποσότητας μεταφοράς θρεπτικών ουσιών, μεταφοράς οξυγόνου και άλλων βιολογικών λειτουργιών μπορεί να είναι κρίσιμη. Ως εκ τούτου, τα προωθημένα βιοϋλικά είναι σημαντικά στον αναδυόμενο ρόλο της τεχνικής ιστών (TE) και είναι υποχρεωτικό να έχουμε βαθιά γνώση σχετικά με τον στοχευόμενο ιστότοπο. Η ποιότητα των βιοϋλικών εξαρτάται επίσης από τον τρόπο εφαρμογής όπως είναι η ενέσιμη, *in vivo* εμφύτευση ή η ελάχιστα επεμβατική διαδικασία, αλλά και από την επίδραση είτε των βιοδραστικών μορίων που μπορεί να απελευθερωθούν, είτε των ενεργοποιημένων διαύλων ανοσοποίησης ή σηματοδότησης κ.λπ.

Τα Βιολικά στην Καρδιακή Βαλβίδα ΤΕ

Η αποτυχία των καρδιακών μυών (CMs) οφείλεται τυπικά στην έλλειψη αυτοαναγεννητικής ικανότητας, στην εξασθένηση της συσταλτικότητας και στην ανώμαλη κατανομή της καταπόνησης. Η αποκατάσταση της λειτουργίας του CM ή η δυσλειτουργία των καρδιακών βαλβίδων απαιτούν καινοτόμες στρατηγικές για τη δημιουργία ζωντανών βαλβίδων καρδιάς και επαναφορά της λειτουργίας των καρδιακών μυών. Οι CM που δεν ξεκουράζονται ποτέ απαιτούν ισχυρή μηχανική αντοχή για να συστέλλονται συνεχώς και αποτελεσματικά στους 3×10^9 καρδιακούς κύκλους μιας μέσης ανθρώπινης διάρκειας ζωής. Η εμφάνιση τρισδιάστατης (3D) αρχιτεκτονικής των δικτύων κολλαγόνου όπως η διακριτή ενδομυσία¹⁵², η περιμυσία¹⁵³ και η επιμυσία είναι η πιο δύσκολη παράμετρος στην καρδιακή ΤΕ. Σχεδιάζονται αρκετές στρατηγικές για την αποκατάσταση λειτουργιών CM χρησιμοποιώντας διάφορες πηγές κυττάρων, τύπους ικριωμάτων και μεθόδους κατασκευής (Σχήμα 4A). Τα κύρια χαρακτηριστικά προς την καρδιακή ΤΕ είναι η μίμηση, η διαρκή σύσπαση του καρδιακού ιστού χωρίς αποφυγή μηχανικής βλάβης και η διεύθυνση των κυττάρων εντός της μήτρας¹⁵⁴. Τα πιο χρησιμοποιούμενα βιοϋλικά είναι πρωτεΐνες εξωκυτταρικής μήτρας (ECM)^{155,156}, φυσικά βιοϋλικά^{157,158} και συνθετικά βιοϋλικά^{159,160,161} για να μιμηθούν τη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων¹⁶².



Εικόνα 4 (A) Τρία συνθετικά 3D ικρίωματα σε διαφορετικά σχήματα: μια κηρήθρα, ένα τετράγωνο και ένα ορθογώνιο¹⁵⁸. (B) Εικόνες από σύνθετο ικρίωμα που απεικονίζονται στον υπολογιστή και παρουσιάζουν¹⁶³(α) μια πορώδη δομή του ικριώματος σε 3D και (β) μια μεγεθυμένη διατομή για την καλύτερη εμφάνιση του δικτύου πόρων (1 mm απέναντι). (C) Πάγκρεας(παγκρεατικός διαβήτης) που έχει υποστεί κατεργασία με νανοσωματίδιο (Sb)¹⁶¹.

Τα νανοϋλικά όπως οι νανοσωλήνες άνθρακα (CNTs)^{164,165}, οι νανοσωλήνες χρυσού (Au)^{166,167,168,169}, τα nanoflakes οξειδίου του γορφενίου (GO)^{170,171}, οι νανοσωλήνες πυριτίου^{172,173,174} σε σύζευξη με τα εξωκυτταρικά και διακυτταρικά μικροπεριβάλλοντα των μεταμοσχευμένων κυττάρων πιστεύεται ότι καθιστούν δυνατή την αναγέννηση των τραυματισμένων CMs^{175,176,177}. Οι αναγεννητικές ιδιότητες των CMs μπορούν να μετρηθούν λαμβάνοντας ηλεκτρική αγωγιμότητα, συγγένεια απορρόφησης πρωτεϊνών, ενδοκυτταρικές οδούς σηματοδότησης και μαγνητικές ιδιότητες. Τα νανοϋλικά με βάση το άνθρακα έχουν υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα, χαρακτηριστικά νανοκλίμακας και υψηλή συγγένεια για φυσικοχημικές αλληλεπιδράσεις με πρωτεΐνες και άλλες λειτουργικές ενώσεις¹⁶⁵. Περαιτέρω, η ενσωμάτωση των CNT με υποστρώματα με βάση το γυαλί δείχνει υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης, μεταβολική δραστηριότητα και καλύτερη ικανότητα πολλαπλασιασμού^{178,179,180}. Περισσότερες μελέτες με βάση το ίδιο σύστημα διαπίστωσαν ότι η ωριμότητα των CMs συνδέεται άμεσα με το επίπεδο έκφρασης των καρδιακά ειδικών γονιδίων.

Το GO είναι καλό για κατασκευές, οι οποίες χρειάζονται ισχυρές φυσικοχημικές αλληλεπιδράσεις όπως ομοιοπολική και ηλεκτροστατική¹⁸¹. Τα νανοφίλμ GO είναι κυτταρο-συγκολλητικά συστατικά και έχουν παρατηρηθεί αποτρέποντας την απόπτωση των κυττάρων λόγω περιορισμένων αλληλεπιδράσεων κυττάρου-ECM^{182,183}. Αντίθετα, τα μειωμένα νανοφίλμ GO βελτίωσαν τις αλληλεπιδράσεις κυττάρου-ECM λόγω της υψηλής ηλεκτρικής αγωγιμότητας, η οποία ενισχύει την έκφραση της β1 ιντεγκρίνης. Τα νανοσωματίδια πυριτίου με αυτοσυναρμολογημένα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα, επαγόμενα από τον άνθρωπο αύξησαν ομοιογενείς εκφράσεις πρωτεϊνών, διασταυρωμένων προσκολλήσεων (N-καντερίνης) και Cx43¹⁸⁴. Το οξύδιο του σιδήρου με μυοβλάστες αρουραίου παρουσιάζει μια ποικιλία βελτιώσεων συμπεριλαμβανομένης της προς τα πάνω ρύθμισης της Cx43 σε μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) και σε αγγειογόνους δείκτες¹⁸⁵. Ως εκ τούτου, η προσφορά ικρίωματος κοντά σε φυσικά κύτταρα είναι υποχρεωτική για ιστούς με επιτυχία. Η κυτταρική τοξικότητα και η βιοσυμβατότητα ήταν πάντα ένα αμφιλεγόμενο ζήτημα. Επιπλέον, το προφίλ κατανομής των νανοϋλικών σε μηχανικούς ιστούς είναι άγνωστο. Μια άλλη σημαντική ανησυχία είναι ο τρόπος χορήγησης όπου τα νανοϋλικά μπορούν να επηρεάσουν τη φυσιολογική απάντηση στην ενδοκυττάρωση. Ως εκ τούτου, έχοντας ένα ικρίωμα σχεδόν σαν μια εγγενής δομή είναι ένα σημαντικό βήμα

προς την ΤΕ. Η χρήση βιολογικών μορίων, όπως οι πρωτεΐνες ECM και τα συνθετικά βιοϋλικά, μπορεί να είναι αποτελεσματική για τη διαφοροποίηση των ελεγχόμενων βλαστικών κυττάρων. Ωστόσο, αυτά τα βιοϋλικά είναι σε περιορισμένη χρήση λόγω έλλειψης ηλεκτρικής αγωγιμότητας και νανοτοπογραφικών χαρακτηριστικών εντός των βιοϋλικών.

Πολλές μελέτες που βασίζονται στο σχεδιασμό ικριωμάτων, συμπεριλαμβανομένων των τρισδιάστατων ικριωμάτων, βρίσκονται υπό διερεύνηση. Μια μελέτη στοχεύει στο σχεδιασμό ενός 3D ικριώματος αποτελούμενου από πολυβινυλική αλκοόλη (PVA) που κατασκευάζεται χρησιμοποιώντας διεργασίες αφρισμού αερίων και λυοφιλίωσης χωρίς να απαιτούνται παράγοντες διασταύρωσης. Αυτό σχηματίζει μια βιοσυμβατή μήτρα με ισχυρές καμπύλες τάσης-καταπόνησης των ικριωμάτων PVA με αναμενόμενη ελαστική συμπεριφορά από την ECM των μυών¹⁸⁶. Αποκεντρωμένα κύτταρα ενσωματώθηκαν, γεγονός που βοήθησε στη βελτίωση των περιορισμών με τη μεταφορά. Το ικρίωμα παρασκευάστηκε με τη χρήση κεκαλυμμένων καρδιακών κυττάρων από έναν αουραίο με 1% δωδεκυλοθειικό νάτριο (SDS). Αυτό διατήρησε τη δομή ECM του μυοκαρδίου και τα αιμοφόρα αγγεία. Περαιτέρω, η διάτρηση έγινε χρησιμοποιώντας ηλεκτρική διέγερση, η οποία αποκαθιστούσε τη λειτουργία της νεογνικής αντλίας (2% του καρδιακού ρυθμού ενηλίκων)^{187,188}. Μια άλλη εργασία εξήγησε τα υλικά τύπου κηρήθρας με κερύ εξαγωνικού σχήματος για την εξισορρόπηση των μηχανικών ιδιοτήτων¹⁸⁹. Αρκετές δομές τύπου κηρήθρας χρησιμοποιήθηκαν σε φυσικό μυοκάρδιο περιλαμβάνοντας ενδοθηλιακές θήκες και διασυνδεδεμένες ίνες CM¹⁹⁰. Μερικές μελέτες έχουν ενσωματώσει PGS [πολυ (σερκακική γλυκερόλη)] με κυψελοειδείς δομές, οι οποίες βελτίωσαν την ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου¹⁹¹. Οι αφροί PGS με διαύλους ροής, με διάτρηση λέιζερ εισήχθησαν σε νεογνά καρδιακά κύτταρα αουραίου. Το σύστημα περιλάμβανε περαιτέρω υπερφθοράνθρακες σε ένα μέσο καλλιέργειας για την αύξηση της μεταφοράς οξυγόνου¹⁹¹. Διάφορα φυσικά και συνθετικά πολυ-υλικά έχουν δοκιμαστεί μαζί με προσεγγίσεις "χωρίς ικρίωμα", οι οποίες έχουν εξεταστεί^{192,193}. Μία μελέτη κατέδειξε βελτιωμένη λειτουργία της αριστερής κοιλίας μετά από εμφύτευση καρδιακών κυττάρων ενσωματωμένων σε ένα μίγμα πηκτώματος κολλαγόνου τύπου 1 και matrigel σε αουραίο¹⁹⁴. Ωστόσο, αυτό δημιουργεί πολλούς περιορισμούς που σχετίζονται με τη μηχανική αδυναμία των πηκτών και αφρών κολλαγόνου και θέτει σε αμφισβήτηση την κλινική εφαρμογή. Το συμβατικό ΤΕ είχε δείξει ότι έχει επιτυχημένες προσεγγίσεις, αλλά εξακολουθούν να

έχουν ορισμένους περιορισμούς. Το πιο σημαντικό είναι να κατανοηθεί η επίτευξη πλήρους λειτουργικής κατασκευής για την αναγέννηση των κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβη. Το 3D εκτυπωμένο ικρίωμα και η τεχνική 3D bioprinting έχουν τη δυνατότητα να αναπτύξουν πλήρως τη λειτουργική κατασκευή της καρδιάς.

Τα Βιολικά στο Οστό ΤΕ

Το οστό ΤΕ εξοπλίζει τον καλύτερο συνδυασμό βιοϋλικών με βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή για να υποστηρίξει την υπάρχουσα δομή οστικής δομής ή για να διευκολύνει την ανάπτυξη οστικών ιστών. Η τροποποίηση της επιφανείας παίζει βασικό ρόλο στη συγκράτηση της αναγεννημένης δομής του ιστού-εμφυτεύματος από την ανισορροπία των τάσεων και της καταπόνησης. Η κακή ενσωμάτωση των ορθοπεδικών εμφυτευμάτων μπορεί να οδηγήσει σε χαλάρωση των βιοσυμβατών, δυσλειτουργία και μόνιμη αποτυχία. Η κινητική απορρόφηση, η μηχανική αντοχή και η κατάλληλη επιφάνεια είναι σημαντικοί παράγοντες για τη διατήρηση της κυτταρικής βιωσιμότητας και σταθερότητας. Τα οστέινα οστά παρέχουν ένα εμβαδόν επιφανείας για κύτταρα οστού, για συσσωμάτωση και πολλαπλασιασμό παρέχοντας μηχανική σταθερότητα και προστασία στην περιοχή προσκόλλησης των κυττάρων. Ένα μέσο μέγεθος τυπικού μεγέθους πόρου 100 μm σε ένα ικρίωμα οστού, σε μια διασυνδεδεμένη διάταξη με αποικισμό οστεοπαραγοντικών κυττάρων επιτρέπει τον σχηματισμό νέου οστικού ιστού. Σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε μέγεθος πόρου ≥ 300 μm. Μεγάλο μέγεθος πόρων μπορεί να ωριμάσει τον σχηματισμό οστού, γεγονός που οδηγεί σε αγγειογένεση και εισβολή των νευρικών ινών^{190,191,189}. Ωστόσο, μεγαλύτερη αύξηση του μεγέθους πόρων μπορεί να μειώσει τις ιδιότητες προσκόλλησης κυττάρων λόγω της μειωμένης αναλογίας του όγκου προς την επιφάνεια¹⁸⁶.

Τα φυσικά βιοκεραμικά έχουν εξαιρετική αντοχή στη θλίψη, υψηλή αντοχή και χαμηλές ιδιότητες τριβής^{195,196,197,198,199}. Μπορούν να βρεθούν σε θαλάσσια σφουγγάρια και κοράλλια²⁰⁰. Αυτά τα βιοϋλικά έδειξαν πρόσδεση, ανάπτυξη και διαφοροποίηση των οστεοπρογονικών κυττάρων *in vitro*²⁰¹. Τα κοραλλικά ικρίωματα και τα παράγωγα των κοραλλιών έχουν μελετηθεί σε διάφορες κλινικές θεραπείες, συμπεριλαμβανομένης της σπονδυλοδεσίας, της γναθοπροσωπικής χειρουργικής και της οδοντικής χειρουργικής^{202,203,204}. Τα θαλάσσια σφουγγάρια είναι επίσης φυσικά

κεραμικά που έχουν διασυνδεδεμένη πορώδη αρχιτεκτονική. Ένας βιολογικός θαλάσσιος σπόγγος μιμείται το σπονδυλικό κολλαγόνο²⁰⁵. Αυτά τα σφουγγάρια διαθέτουν ιδιότητες που βοηθούν στην προαγωγή της κυτταρικής ανάπτυξης, της ανοργανοποίησης των οστών και του σχηματισμού οστού^{206,207}.

Τα φυσικά πολυμερή στο οστό ΤΕ περιλαμβάνουν πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Μία μοναδική ομάδα φυσικών πρωτεϊνών όπως το κολλαγόνο, η ζελατίνη, και η ινώδης ύλη έχει μελετηθεί στο οστό ΤΕ. Διαφορετικές μορφές φιλμ, σπόγγου και ίνας δημιουργούνται χρησιμοποιώντας 3D ικρίωματα που κατασκευάζονται εν μέρει ή εξ ολοκλήρου από αυτές τις πρωτεΐνες²⁰⁸. Το κολλαγόνο και η μετουσιωμένη μορφή του κολλαγόνου, η ζελατίνη, έχουν εξαιρετικές ιδιότητες όπως χαμηλή αντιγονικότητα, χαμηλή φλεγμονώδη και κυτταροτοξική απόκριση και εξαιρετική συμβατότητα με τα κύτταρα²⁰⁹. Οι περιορισμοί στην υψηλή ταχύτητα αποικοδόμησης, που έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια διαφόρων μηχανικών ιδιοτήτων, ξεπεράστηκαν με τη διασύνδεσή τους με χημικές ουσίες^{205,209,210}. Οι φυσικές ινώδεις πρωτεΐνες, κυρίως η ινοσίνη μεταξοσκωλήκων, χρησιμοποιούνται κατά πολύ στην ανάπτυξη κατασκευών βιοτεχνολογίας λόγω της καλής ελαστικότητας, της αντοχής και της συμβατότητας με τα κύτταρα θηλαστικών²¹¹. Το Fibrin έχει χρησιμοποιηθεί για την εξαιρετική βιοσυμβατότητα του, την ελεγχόμενη βιοαποδομησιμότητα και την καλή ικανότητα του να είναι φορέας φαρμάκων^{212,213}. Οι πολυσακχαρίτες έχουν μοναδικές ιδιότητες όπως η έλλειψη τοξικότητας, η βιοαποδομησιμότητα, η σταθερότητα στις μεταβολές του pH και το φάσμα των χημικών δομών²¹⁴.

Η χιτοζάνη μπορεί να υποστηρίξει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστικών κυττάρων, την ανοργανοποιημένη οστική μήτρα και τη νεοαγγειοποίηση²¹⁵. Η σύζευξη υδρογέλης χιτοζάνης-πηκτίνης είχε ως αποτέλεσμα την αναγέννηση του κυψελδικού οστού²¹⁶. Το αλγινικό είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης που λαμβάνεται από καφέ φύκια. Αυτό είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό λόγω της βιοσυμβατότητάς του, της χαμηλής τοξικότητας και του σχετικά χαμηλού κόστους. Έχει αποδειχθεί πολύ αποτελεσματικό σε 3D κυτταρικές μήτρες και τώρα έχει χρησιμοποιηθεί στην έρευνα οστικών ικρίωμάτων^{190,191,189}. Δημιουργεί μια υδρογέλη όταν ορισμένα δισθενή άτομα αλληλοσυνδέονται χημικά μέσω ιονικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των κατιονικών και καρβοξυλικών χαρακτηριστικών ομάδων^{190,217,218,189}. Ομοίως, το βιολογικό γυαλί έχει τεράστιο αντίκτυπο στην υποστήριξη της οστικής επούλωσης και των ορθοπεδικών

εμφυτευμάτων επικάλυψης και βελτιώνει τη διασύνδεση μεταξύ προσθετικών και ζωντανών ιστών²¹⁹. Ως εκ τούτου, οι βιοενεργές πυριτικές ύαλοι θεωρούνται ως βιοδραστικά υλικά κατηγορίας Α. Πρόσφατα, το αλγινικό νάτριο (Σχήμα 4B) χρησιμοποιήθηκε σε σύζευξη με στρόντιο και ψευδάργυρο για τη σύνθεση πορώδους, βιοσυμβατού νέου σύνθετου ικρίωματος²²⁰.

Συνθετικά βιοϋλικά, συμπεριλαμβανομένων των βιοκεραμικών και των συνθετικών πολυμερών, είναι οι πολυεστέρες και οι πολυ-ανυδρίτες. Τα φωσφορικά ασβέστια και οι βιοδραστικές ύαλοι είναι τα πιο κοινά βιοσυμβατά υλικά λόγω των οστεοαγωγίμων και οστεοεπαγωγικών ιδιοτήτων τους²²¹. Σε μελέτες έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί βιοδραστικά γυαλιά για επιδιόρθωση και αναγέννηση των οστών / οδόντων²²². Οι πολυεστέρες (PGA) χρησιμοποιούνται κυρίως σε ράμματα και βιοϊατρικά εμφυτεύματα λόγω της υψηλής κρυσταλλικής τους φύσης, του υψηλού σημείου τήξης, του μέσου εφελκυσμού και της ελεγχόμενης διαλυτότητας. Ο περιορισμός της PGA ξεπεράστηκε προσθέτοντας β-TOP για την ελεγχόμενη αποικοδόμηση πολυμερούς και την αναγέννηση των σκληρών ιστών²²³. Το πολυ (γαλακτικό οξύ) (PLA) μπορεί να τροποποιηθεί με άλλα βιοϋλικά χρησιμοποιώντας τροποποιητές, ανάμειξη, συμπολυμερισμό και φυσικές επεξεργασίες. Το PLA με βιοδραστικές υάλους βελτίωσε τις βιολογικές ιδιότητες όπως η ανάπτυξη ή διαφοροποίηση των κυττάρων των οστεοβλαστών²²⁴. Το πολυ (γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ) (PLGA) είναι μια εξαιρετική πηγή που μπορεί να τροποποιηθεί σε διάφορες μορφές, όπως ικρίωματα, ίνες, υδρογέλες ή ενέσιμα μικροσφαίρια. Το PLGA με ανόργανα υλικά χρησιμοποιείται για τη βελτίωση της βιοδραστικότητας και της οστεοαγωγιμότητας²²⁵. Η πολυ (ε-καπρολακτόνη) (PCL), ένα υδρόφοβο, ημικρυσταλλικό πολυμερές με χαμηλό σημείο τήξης, έχει προσελκύσει την προσοχή των βιοϊατρικών ερευνητών λόγω της ικανότητάς του να βελτιώνει τη δράση των οστεοβλαστών²²⁶. Η πολυ (αιθυλενογλυκόλη) (PEG), επίσης γνωστή ως οξείδιο πολυαιθυλενίου (PEO) ή πολυοξυαιθυλένιο (POE), είναι ένα μη τοξικό και υδατοδιαλυτό πολυμερές. Λόγω της καλής βιοσυμβατότητας, της βιοαποικοδόμησης και της χαμηλής ανοσογονικότητας, το πολυμερές αυτό αναγνωρίζεται ως ένας καλός υποψήφιος για ιατρικές εφαρμογές, καθώς προσαρμόζεται με τρόπο που πολλές μηχανικές ιδιότητες μπορούν να βελτιωθούν.

Τα Βιολικά στο Πάγκρεας ΤΕ

Η αναδημιουργία ανθρώπινων ηπατικών κυττάρων σε παγκρεατικά β κύτταρα που εκκρίνουν ινσουλίνη έχει επικυρωθεί με επιτυχία για να διατηρηθεί η φυσιολογική στάθμη γλυκόζης στο αίμα. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης σε ενθυλάκωση μήτρας μέσω συνδυασμού υδρογέλης PEG με παγκρεατικές νησίδες σε MSC που προέρχονται από το στέλεχος των οστών. Αυτά τα αποτελέσματα αποδείχθηκαν από την αύξηση του επιπέδου της ινσουλίνης²²⁷. Τα κύτταρα της παγκρεατικής νησίδας που εκκρίνουν ινσουλίνη έχουν μικρή ικανότητα πολλαπλασιασμού, αλλά η χρήση αυτών των κυττάρων με κατάλληλα ικριώματα έχει οδηγήσει σε βελτίωση του επιπέδου γλυκόζης στο αίμα²²⁸. Η ενεργοποίηση των παραγόντων μετάφρασης, που παίζουν ρόλο στην αναγέννηση β-κυττάρων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ινσουλινών. Άλλοι παράγοντες μετάφρασης, όπως τα άλφα κύτταρα του παγκρέατος, θεωρούνται επίσης χρήσιμα για την νέα ανάπτυξη στρατηγικής^{229,230,163}. Προκειμένου να προωθηθεί η τρισδιάστατη ανάπτυξη του παγκρεατικού ιστού, η μήτρα του ικριώματος είναι απαραίτητη. Τα scaffold PLGA έχουν χρησιμοποιηθεί σε διαβητικά ποντίκια για την αναστροφή της υπεργλυκαιμίας. Επιπλέον, αυτά τα υβριδικά μόρια PLGS, επικαλυμμένα με διάφορα φυσικά βιοπολυμερή υποστήριξαν την πρόσθετη προσκόλληση, τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των κυττάρων RIN5. Η ενθυλάκωση των μορίων της σιλυβίνης (Sb) από το PLGA μαζί με την διάχυση των διαλυτών ακετόνης σε νερό, σχεδιάστηκε για να διαχυθεί ο στροβιλισμός. Ωστόσο, το PLGA είναι ευαίσθητο στην υδρόλυση ενώ διέρχεται από το γαστρεντερικό σωλήνα. Έτσι, η χιτοζάνη λόγω της κατιονικής της ιδιότητας χρησιμοποιήθηκε για να ενισχύσει τη βλενοπροσφυτική διαπερατότητα μαζί με την ίδια την PLGA. Αυτή η σύζευξη προήγαγε σακχαρόζη με μειωμένη ινσουλίνη σε διαβητικούς μύες, πράγμα που έδειξε αναγέννηση των κυττάρων στο πάγκρεας. Συγχρόνως, όταν αυξάνεται η περιεκτικότητα του Sb στη σύζευξη, παρατηρείται αύξηση της ινσουλίνης στον ορό (ως δείκτης αποκατάστασης της υπεργλυκαιμιακής βλάβης) και μείωση των επιπέδων γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης με αποτέλεσμα την αποκατάσταση του γλυκογόνου του ήπατος (Σχήμα 4C)²³¹.

Πολλά νανοϊαφρίδια έχουν επίσης διερευνηθεί και η χρήση βιοϊατρικών σχημάτων νανοϊμπρίλης έχει αυξανόμενα στοιχεία στην ΤΕ. Το κολλαγόνο, μια φυσική ECM, έχει αναδειχθεί ως ένα νέο βασικό συστατικό της φυσικής ECM. Το κολλαγόνο είναι

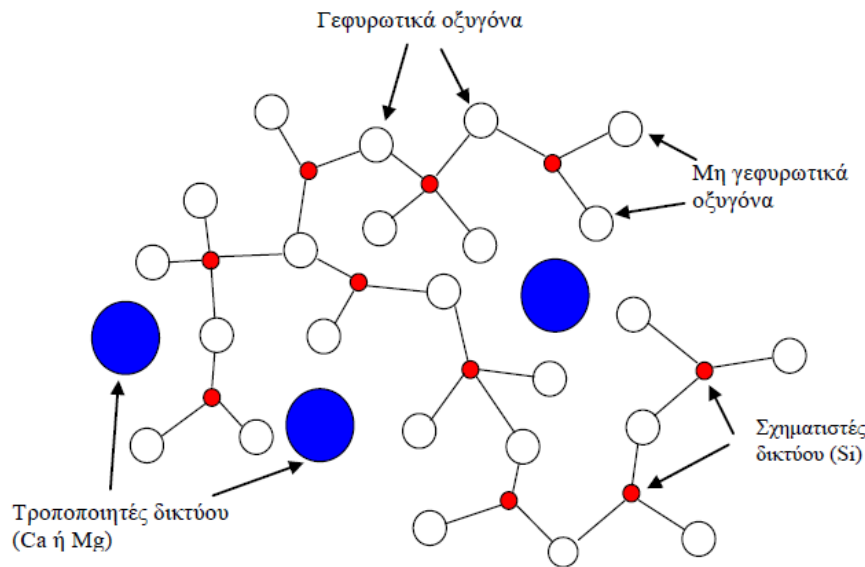
βιοαποικοδομήσιμο και βιοσυμβατό, δύο βασικές ιδιότητες στα συστήματα χορήγησης φαρμάκων, γονιδίων και πρωτεϊνών. Η εξάτμιση του διαλύτη γαλακτωματοποίησης και η διάχυση του διαλύτη γαλακτωματοποίησης είναι οι δύο μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή κολλαγόνου σε λεπτά υμένα ή νανοσωματιδιακά σωματίδια²³¹. Η θεραπεία για τον διαβήτη μπορεί να βασιστεί σε κύτταρα που χρησιμοποιούν MSCs. Σε σύμπλεξη με ECM, επιτυγχάνεται διαφοροποίηση και διέγερση κυττάρων που εκκρίνουν ινσουλίνη²³². Περαιτέρω, για να δημιουργηθούν συμπλέγματα παγιδερωμένων νησιδίων από MSCs, χρησιμοποιήθηκε μια καλλιέργεια που αναπτύχθηκε με την κατασκευή κολωνίου νεύρωσης σε ηλεκτροστατική περιοχή υψηλής τάσης. Η νικοτιναμίδη (NCT) και η εξεντίνη4 (Ex4) προάγουν τη διαφοροποίηση των MSC σε κύτταρα που εκφράζονται σε ινσουλίνη mRNA και σε κύτταρα που παράγουν ινσουλίνη. Αυτό έδειξε επίσης την αναγέννηση των κυττάρων των παγκρεατικών νησιδίων και τη ρύθμιση της γλυκόζης του αίματος, η οποία αναστρέφει περαιτέρω το T2DM σε αρουραίους²³³.

3^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Βιοενεργές Ύαλοι

Ο όρος ύαλος χαρακτηρίζει ένα στερεό σώμα το οποίο έχει τυχαία δομή και υψηλό σημείο τήξης. Η διαμόρφωσή της δομής του εξαρτάται από τη χημική του σύσταση και επιτυγχάνεται μέσω ιοντικών και ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των στοιχείων που συνθέτουν το σύστημα. Ο αρχικός ορισμός ήταν ο εξής: «Η ύαλος είναι ένα ανόργανο προϊόν τήξης που ψύχθηκε απότομα και δεν πρόλαβε να κρυσταλλωθεί». Πρόκειται για περιοριστικό και αναχρονιστικό ορισμό, βασισμένο σε μέθοδο παρασκευής που εφαρμόζεται στην υαλουργία. Επιπλέον, αποκλείει πολλές οργανικές υάλους.

Η τελική μορφή της δομής της υάλου, επηρεάζεται από τους σχηματιστές δικτύου (κυρίως οξείδια όπως P_2O_5 , Bi_2O_3 , B_2O_5 και SiO_2) και τους τροποποιητές δικτύου (στοιχεία από τα αλκάλια ή τις αλκαλικές γαίες, κυρίως K, Na, Li, Ca και Mg). Το πυρίτιο (Si) σχηματίζει τετράεδρα με το οξυγόνο, ενώ ανά δύο τα πυρίτια μοιράζονται ένα κοινό οξυγόνο που ονομάζεται γεφυρωτικό. Αν σε άμορφο SiO_2 προστεθεί κάποιο άλλο οξείδιο τότε λαμβάνει χώρα αντικατάσταση του Si σε κάποια σημεία του πλέγματος. Ο ρόλος των τροποποιητών δικτύου είναι να σπάνε τους δεσμούς των γεφυρωτικών οξυγόνων με τους σχηματιστές δικτύου. Με τον τρόπο αυτό, τα γεφυρωτικά οξυγόνα γίνονται τερματικά αυξάνοντας την αταξία στη δομή της υάλου και έτσι επιτυγχάνεται μείωση της θερμοκρασίας τήξης και του ιξώδους της υάλου και επομένως διευκολύνεται η παρασκευή τους.



Εικόνα 5: Δομή υάλου στην οποία φαίνονται οι τροποποιητές δικτύου, οι σχηματιστές δικτύου και τα είδη των ατόμων οξυγόνου που περιέχονται.

Στην Εικόνα 5 παρουσιάζεται η δομή της υάλου στην οποία φαίνονται οι τροποποιητές δικτύου, οι σχηματιστές δικτύου και τα είδη των ατόμων οξυγόνου που περιέχονται. Η χαρακτηριστική αυτή δομή ευθύνεται για την έντονη δραστηριότητα των υάλων μέσα σε υδατικό περιβάλλον και χάρη σε αυτήν, οι βιοενεργές υάλι έχουν μεγάλο πλεονέκτημα σε σχέση με άλλα υλικά κατά τη χρήση τους στην ιατρική. Τα προϊόντα της αντίδρασης της υάλου με τα υγρά του σώματος οδηγούν στον σχηματισμό μιας κρυσταλλικής φάσης απατίτη όμοιοι με το ανόργανο συστατικό των οστών.

Με την ευρεία έννοια, βιοενεργό υλικό ορίζεται ένα υλικό το οποίο έχει σχεδιαστεί για να επάγει συγκεκριμένη βιολογική δραστηριότητα²³⁴. Με μια στενότερη έννοια, ένα βιοενεργό υλικό είναι ένα υλικό το οποίο υφίσταται συγκεκριμένες επιφανειακές αντιδράσεις, όταν εμφυτεύεται στο σώμα, οδηγώντας στον σχηματισμό ενός στρώματος HA το οποίο είναι υπεύθυνο για τον σχηματισμό ενός σταθερού δεσμού με σκληρό ή/και μαλακό ιστό. Η ικανότητα ενός υλικού να σχηματίζει ένα επιφανειακό στρώμα HA όταν βυθίζεται σε προσομοιωμένο σωματικό υγρό (Simulated Body Fluid - SBF) *in vitro*, συχνά λαμβάνεται ως ένδειξη της βιοενεργότητάς του. Το SBF εισήχθη για πρώτη φορά στην επιστημονική κοινότητα από τον Tadashi Kokubo²³⁵. Επιπλέον, έχει προταθεί ότι αυτή η *in vitro* βιοενεργότητα αποτελεί ένδειξη του βιοενεργού δυναμικού ενός υλικού *in vivo*²³⁶. Ωστόσο, αυτός ο στενός ορισμός της βιοενεργότητας έχει αμφισβητηθεί την τελευταία δεκαετία. Για παράδειγμα, το διένυδρο φωσφορικό

διασβέστιο (DCPD - $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), σχηματίζει επιφανειακό στρώμα HA όταν βυθίζεται σε SBF in vitro, αλλά δεν υπάρχει άμεση σύνδεση με το οστό in vivo^{237,238}. Επιπλέον, το β -TCP δεν οδηγεί πάντοτε στον σχηματισμό HA όταν το υλικό εμβαπτίζεται σε SBF, παρά την εκτεταμένη σύνδεση του με τα οστά²³⁹.

Η βιοενεργότητα των υάλων είναι ζωτικής σημασίας για να επιτραπεί η σύνδεση με τον οστικό ιστό, η οποία επιταχύνει τη διαδικασία αποκατάστασης των οστών και εξαρτάται τόσο από τη σύνθεση (συνιστάται μέγιστη περιεκτικότητα σε SiO_2 60 mol% για τις βιοενεργές υάλους που προέρχονται από τήγμα με ειδική επιφάνεια κάτω από 1 m^2/g) όσο και την υφή (υάλιοι με 90 mol% SiO_2 μπορεί να είναι ιδιαίτερα βιοενεργές εάν παράγονται με τη μέθοδο sol-gel η οποία οδηγεί σε ειδική επιφάνεια πάνω από 100 m^2/g)²⁴⁰.

3.1 Μέθοδοι παρασκευής βιοενεργών υάλων

Για την παρασκευή υάλων αλλά και γενικά μιγμάτων οξειδίων υπάρχουν τέσσερις βασικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται. Η πρώτη μέθοδος (ή συμβατική μέθοδος) βασίζεται στην τήξη των υλικών μέσα σε χωνευτήρια προκειμένου να παρασκευαστούν διάφορες συστάσεις. Κατάλληλες ποσότητες ανθρακικών και νιτρικών οξειδίων αναμειγνύονται σε χωνευτήρι και διατηρούνται για διάφορα χρονικά διαστήματα σε θερμοκρασίες πάνω από το σημείο τήξης ανάλογα με τη σύσταση τους. Οι υάλιοι παράγονται έπειτα από απότομη ψύξη των τηγμάτων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η δεύτερη μέθοδος βασίζεται στην τεχνική της υπερταχείας ψύξης τηγμάτων οξειδίων (hyperquenching), όπου οι ρυθμοί ψύξης είναι 106 φορές μεγαλύτεροι από αυτούς των συνηθισμένων υάλων. Με τη μέθοδο αυτή συνήθως παρασκευάζονται πολύ λεπτές ίνες υάλου με διάμετρο 5-6 μm . Επίσης, παρατηρούνται αρκετές δομικές διαφορές των υάλων που παράγονται με αυτή τη μέθοδο σε σχέση με τις κοινές υάλους καθώς και αύξηση του λόγου της ενεργής επιφάνειας ως προς τον όγκο του υλικού, γεγονός που σημαίνει ότι αυξάνεται και η βιοενεργότητα αυτών των υλικών.

Η τρίτη μέθοδος που χρησιμοποιείται για την παρασκευή υάλων είναι η μέθοδος λύματος-πηκτής (sol-gel). Η μέθοδος αυτή είναι μια υγρή τεχνική που βασίζεται στη υδρόλυση και συμπύκνωση αλκοξειδίων των μετάλλων.

Η τέταρτη μέθοδος βασίζεται στη συνδυασμένη χρήση μιας κατάλληλα κατασκευασμένης χάλκινης υδρόψυκτης βάσης για την τοποθέτηση του υλικού και ενός συνεχούς κύματος laser CO₂ υψηλής ισχύος (240 W) και χρησιμοποιείται για την τήξη των κόνεων πρόδρομων ενώσεων (laser hearth melting technique). Είναι γενικά γνωστό ότι οι ενώσεις οξειδίων εμφανίζουν απορρόφηση σε αυτήν την περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (υπέρυθρο έως και μακρύ υπέρυθρο). Οι ύαλοι που παράγονται έχουν σφαιρική δομή διαμέτρου 0.1-0.5 cm, η οποία εξαρτάται από την ποσότητα της σκόνης που τοποθετήθηκε στην κοιλότητα, λόγω επιφανειακών τάσεων. Τα τελικά σφαιρίδια είναι κρυσταλλικά για αργούς ρυθμούς ψύξης (σταδιακή μείωση της ισχύς του laser) ή άμορφα για γρήγορους ρυθμούς ψύξης (απότομη μείωση της ισχύς του laser). Το αποτέλεσμα των ενδιάμεσων ρυθμών είναι οι ημικρυσταλλικές ύαλοι (κεραμικές ύαλοι).

3.2 Είδη βιοενεργών υάλων

Πολλή έρευνα έχει επικεντρωθεί σε νέα είδη υάλων όπως τις βιοενεργές πυριτικές, βοριοπυριτικές, βορικές και φωσφορικές υάλους. Στον παρακάτω Πίνακα 1 αναγράφονται διάφορες συνθέσεις βιοενεργών υάλων.

Table 1
Compositions of various bioactive glasses.

Composition (wt.%)	4555	13-93	6P53B	585	70S30C	13-93B1	13-93B3	P ₅₀ C ₃₅ N ₁₅
Na ₂ O	24.5	6.0	10.3	0	0	5.8	5.5	9.3
K ₂ O	0	12.0	2.8	0	0	11.7	11.1	0
MgO	0	5.0	10.2	0	0	4.9	4.6	0
CaO	24.5	20.0	18.0	32.6	28.6	19.5	18.5	19.7
SiO ₂	45.0	53	52.7	58.2	71.4	34.4	0	0
P ₂ O ₅	6.0	4.0	6.0	9.2	0	3.8	3.7	71.0
B ₂ O ₃	0	0	0	0	0	19.9	56.6	0

Sl. No.	Name of the composition	All are in weight %											
		SiO ₂	P ₂ O ₅	CaO	Ca (PO ₃) ₂	CaF ₂	MgO	MgF ₂	Na ₂ O	K ₂ O	Al ₂ O ₃	B ₂ O ₃	Ta ₂ O ₅ / TiO ₂
1.	45S5 Bioglass [®] (Hench et al., 1971)	45	6	24.5	-	-	-	-	24.5	-	-	-	-
2.	45S5.4F Bioglass [®] (Hench et al., 1986; Hench et al., 1971)	45	6	14.7	-	9.8	-	-	24.5	-	-	-	-
3.	45B15S5 Bioglass [®] (Hench and Paschall, 1974; Hench et al., 1975)	30	6	24.5	-	-	-	-	24.5	-	-	15	-
4.	52S4.6 Bioglass [®] (Hench and Clark, 1982)	52	6	21	-	-	-	-	21	-	-	-	-
5.	55S4.3 Bioglass [®] (Hench and Clark, 1982)	55	6	19.5	-	-	-	-	19.5	-	-	-	-
6.	KGC Ceravital [®] (Gross et al., 1988)	46.2	-	20.2	25.5	-	2.9	-	4.8	0.4	-	-	-
7.	KGS Ceravital [®] (Gross et al., 1988)	46	-	33	16	-	-	-	5	-	-	-	-

8.	KGy213 Ceravital [®] (Gross et al., 1988)	38	-	31	13.5	-	-	-	4	-	7	-	6.5
9.	A/W glass-ceramic (Kokubo et al., 1986)	34.2	16.3	44.9	-	0.5	4.6	-	-	-	-	-	-
10.	MB glass-ceramic (Holand et al., 1985)	19-52	4-24	9-3	-	-	5-15	-	3-5	3-5	12-33	-	-
11.	S45P7 (Andersson et al., 1988)	45	7	22	-	-	-	-	24	-	-	2	-
12.	S53P4 (Zehnder et al., 2004)	53	4	20	-	-	-	-	23	-	-	-	-
13.	13-93 (Fu et al., 2008)	53	4	20	-	-	5	-	6	12	-	-	-
14.	4-Mar (Zhang et al., 2008)	50.5	1	22.5	-	-	6	-	5	15	-	-	-
15.	18-04 (Zhang et al., 2008)	54.5	4	20	-	-	4.5	-	15	-	-	2	-
16.	23-04 (Zhang et al., 2008)	56.25	1	20	-	-	4.5	-	5	11.25	-	2	-
17.	H2-02 (Munukka et al., 2008)	53	2	22	-	-	4.5	-	6	11	0.5	1	-

18.	CEL-2 (Vitale-Brovarone et al., 2009)	45	3	26	-	-	7	-	15	4	-	-	-	-
19.	55S (Loty et al., 2001)	55	4	41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20.	H (Linati et al., 2005)	46.2	2.6	26.9	-	-	-	-	24.3	-	-	-	-	-
21.	HZ5 (Linati et al., 2005)	44.4	2.5	25.9	-	-	-	-	23.4	-	-	-	-	3.8
22.	HZ10 (Linati et al., 2005)	42.5	2.4	4.8	-	-	-	-	22.5	-	-	-	-	7.8
23.	HZ20 (Linati et al., 2005)	38.8	2.2	22.6	-	-	-	-	20.5	-	-	-	-	15.9

Table 1. Different compositions of bioactive glass materials

3.2.1 Βιοενεργή πυριτική ύαλος

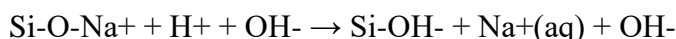
Το πρώτο υλικό που σχημάτισε ισχυρό δεσμό με οστό και ορίστηκε ως «βιοενεργή ύαλος» (bioglass) εφευρέθηκε στο Πανεπιστήμιο της Φλόριντα το 1969 από τον Larry Hench και τους συνεργάτες του²⁴¹. Η αυθεντική σύνθεση που ενέκρινε και όρισε ως βιοενεργή ύαλο ο Οργανισμός Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων (Food and Drug Administration – FDA)²⁴² είναι γνωστή ως 45S5 ή Bioglass®. Η ανακάλυψη του Bioglass® έφερε την επανάσταση στον τομέα της προσθετικής. Το Bioglass® χρησιμοποιήθηκε σε κλινικές εφαρμογές, όπως η θεραπεία της περιοδοντικής νόσου (PerioGlas) και ως οστικό μόσχευμα (NovaBone), με μεγάλη επιτυχία. Εμφυτεύματα Bioglass® έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την 16 αντικατάσταση κατεστραμμένων οστών του αυτιού, αποκαθιστώντας έτσι τις ακουστικές ικανότητες των ασθενών²⁴³. Η επιτυχία της συγκεκριμένης σύστασης οφείλεται σε τρία βασικά χαρακτηριστικά, τα οποία είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση βιοενεργότητας. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι (Πίνακας 1):

1. η χαμηλή περιεκτικότητα σε SiO₂ (<60%)
2. η υψηλή περιεκτικότητα σε Na₂O και CaO
3. η υψηλή αναλογία CaO/P₂O₅²⁴⁴.

Από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για τους μηχανισμούς βιοενεργότητας και οστικής σύνδεσης της ύαλου 45S5 προκύπτει ότι η συγκόλληση της ύαλου αυτής στα οστά αποδίδεται στον σχηματισμό ενός στρώματος υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια της

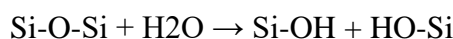
υάλου όταν έρχεται σε επαφή με το σωματικό υγρό. Η στιβάδα HA γενικά πιστεύεται ότι σχηματίζεται ως αποτέλεσμα μιας αλληλουχίας αντιδράσεων στην επιφάνεια του εμφυτεύματος βιοενεργής υάλου (Εικόνα 6), όπως περιγράφεται από τον Hench²⁴⁵:

Στάδιο 1: Πραγματοποιείται έκπλυση της επιφάνειας της υάλου και ταχεία ανταλλαγή ιόντων Na⁺ ή K⁺ της επιφάνειας με H⁺ ή H₃O⁺ από το διάλυμα προς σχηματισμό σιλανολών (Si-OH). Στο στάδιο διαχέονται τα ιόντα από το κυρίως διάλυμα στην επιφάνεια της υάλου σύμφωνα με την αντίδραση:



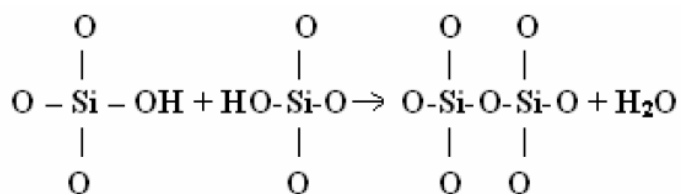
Το pH του διαλύματος αυξάνεται ως αποτέλεσμα της αντικατάστασης των ιόντων H⁺ με κατιόντα.

Στάδιο 2: Λόγω της απώλειας των ιόντων Na⁺ από την επιφάνεια της υάλου καταστρέφονται οι γέφυρες οξυγόνου του πυριτικού πλέγματος (Si-O-Si) και σχηματίζονται και πάλι σιλανόλες με ταυτόχρονη απελευθέρωση στο διάλυμα ομάδων Si(OH)₄ όταν κάποιο άτομο πυριτίου χάσει όλες τις γέφυρές του σύμφωνα με την αντίδραση:



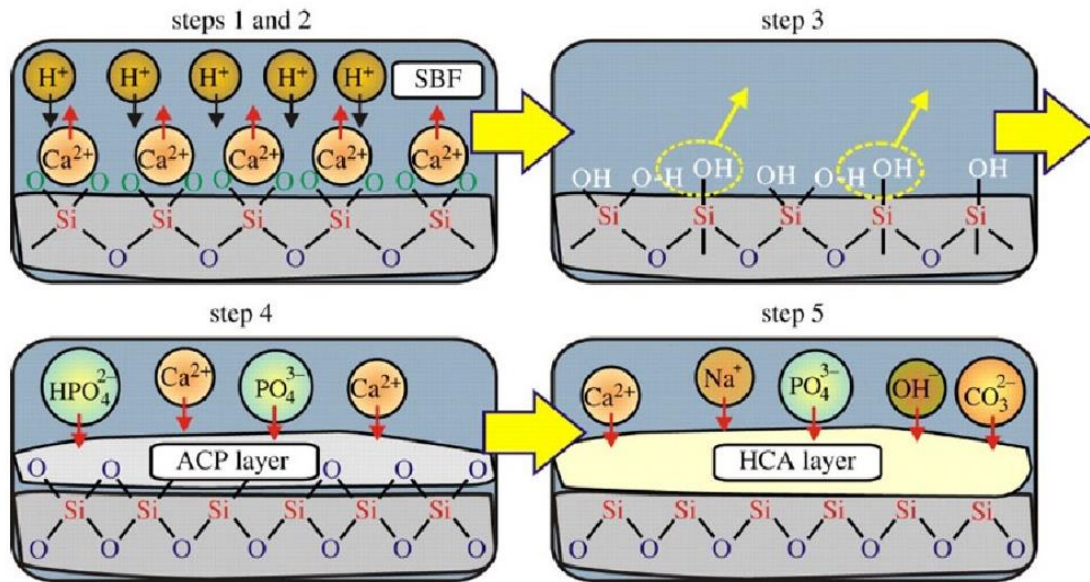
Ενώ η διαλυτότητα του πυριτίου είναι χαμηλή, τα προϊόντα διάλυσης της υάλου 45S5 σε υδατικά διαλύματα έχουν δείξει αύξηση της συγκέντρωσης του Si, πράγμα που δείχνει ότι η διάλυση του πυριτίου είναι ένας σημαντικός μηχανισμός. Ωστόσο, άλλοι μηχανισμοί θα μπορούσαν επίσης να συμβάλλουν στην αύξηση της συγκέντρωσης Si.

Στάδιο 3: Ακολουθεί συμύκνωση και πολυμερισμός των σιλανολικών ομάδων που έχουν δημιουργήσει ένα στρώμα υψηλής συγκέντρωσης πυριτικών μονάδων και χαμηλής συγκέντρωσης αλκαλίων στην επιφάνεια της υάλου σύμφωνα με την αντίδραση:



Στάδιο 4: Πραγματοποιείται περαιτέρω διάλυση της υάλου, σε συνδυασμό με τη μετανάστευση ιόντων Ca²⁺ και PO₄³⁻ από την υάλο μέσω του επιφανειακού στρώματος της σίλικας και από το διάλυμα, οδηγώντας στον σχηματισμό στρώματος άμορφου φωσφορικού ασβεστίου (ACP) στην επιφάνεια της σίλικας.

Στάδιο 5: Τέλος στο στάδιο αυτό παρατηρείται κρυστάλλωση του άμορφου στρώματος CaO-P2O5 μέσω της επίδρασης των ιόντων OH⁻ και CO₃²⁻ στο διάλυμα. Τελικό αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός ενός στρώματος κρυσταλλικού υδροξυαπατίτη.



Εικόνα 6: Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού αντίδρασης του σχηματισμού HA στην επιφάνεια μίας βιοενεργούς πυριτικής υάλου²⁴⁶.

Με τον αρχικό σχηματισμό ενός στρώματος HA, οι βιολογικοί μηχανισμοί δέσμευσης στα οστά πιστεύεται ότι περιλαμβάνουν προσρόφηση αυξητικών παραγόντων, ακολουθούμενη από προσκόλληση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των οστεοπαραγοντικών κυττάρων²⁴⁷. Οι οστεοβλάστες (κύτταρα που σχηματίζουν οστά) δημιουργούν εξωκυτταρική μήτρα (κολλαγόνο), η οποία ανοργανοποιείται για να σχηματίσει ένα νανοκρυσταλλικό ανόργανο συστατικό και κολλαγόνο στην επιφάνεια του εμφυτεύματος βιοενεργής υάλου ενώ η αποικοδόμηση και η μετατροπή της υάλου συνεχίζεται με την πάροδο του χρόνου.

Η βιοσυμβατότητα της υάλου 45S5 έχει εδραιωθεί από καιρό. Όπως περιεγράφηκε παραπάνω, κατά την εμφύτευση, η βιοενεργή υάλος 45S5 υφίσταται χημική αποικοδόμηση, απελευθερώνοντας ιόντα, όπως Na⁺ και Ca²⁺, και μετατροπή σε HA. Το πυρίτιο, πιθανώς με τη μορφή πυριτικού οξέος, Si(OH)₄, απελευθερώνεται επίσης κατά την αποικοδόμηση με διάλυση ή με άλλους μηχανισμούς, όπως μικρά κομμάτια πλούσιου σε πυρίτιο υλικού που καταναλώνεται από τα φαγοκύτταρα και

απεκκρίνεται. Η απελευθέρωση του Si από κόκκους 45S5 που έχουν εμφυτευτεί στον μυ και τις κνήμες κουνελιών μελετήθηκε για να προσδιοριστεί η πορεία του πυριτίου που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της αποικοδόμησης της υάλου in vivo²⁴⁸. Μετρώντας το πυρίτιο που απελευθερώνεται στα ούρα και τα δείγματα αίματος για έως και 7 μήνες μετά την εμφύτευση και χρησιμοποιώντας χημικές και ιστοπαθολογικές αναλύσεις οστικού ιστού και διάφορων οργάνων βρέθηκε ότι το πυρίτιο που προέκυψε από την αποικοδόμηση της 45S5 απεκκρίνεται ακίνδυνα σε διαλυτή μορφή μέσω των ούρων.

Η υάλος 45S5 ως υλικό ικριώματος έχει αρκετούς περιορισμούς, ένας από τους οποίους είναι η δυσκολία επεξεργασίας της υάλου αυτής σε πορώδη 3-D ικριώματα. Τα πορώδη ικριώματα των βιοενεργών υάλων παρασκευάζονται συνήθως με θέρμανση (πυροσυσσωμάτωση) σωματιδίων υάλων, που έχουν ήδη διαμορφωθεί στην επιθυμητή 3-D γεωμετρία, για τη σύνδεση των σωματιδίων σε μία ισχυρή υάλινη φάση που περιέχει ένα διεισδυτικό δίκτυο πόρων. Λόγω της περιορισμένης ικανότητας της υάλου 45S5 να πυροσυσσωμάτωση σε θερμοκρασία πάνω από την θερμοκρασία μετάπτωσης (Tg) της υάλου, τα ικριώματα που βασίζονται στις βιοενεργές υάλους παρουσιάζουν συχνά χαμηλή αντοχή²⁴⁹.

Συνήθως, η υάλος αφαιρείται κατά τη διάρκεια της πυροσυσσωμάτωσης για να σχηματίσει μια κυρίαρχη κρυσταλλική φάση (Na₂O-2CaO-3SiO₂). Ενώ η devitrification δεν αναστέλλει την ικανότητα της υάλου 45S5 να σχηματίσει μια επιφανειακή στιβάδα HA, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού μετατροπής σε HA. Ένας άλλος περιορισμός της υάλου 45S5 είναι ο αργός ρυθμός αποδόμησης και η μετατροπή του σε HA²⁵⁰, γεγονός που καθιστά δύσκολη την προσαρμογή του ρυθμού αποδόμησης του ικριώματος με το ρυθμό του σχηματισμού νέου ιστού. Η μετατροπή του ικριώματος σε HA είναι συχνά ατελής, οπότε ένα τμήμα μη μετατρεπόμενης υάλου που περιέχει SiO₂ θα μπορούσε να παραμείνει στο ικριώμα, αυξάνοντας την αβεβαιότητα σχετικά με τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις του SiO₂ in vivo.

Επίσης, το τοπικό βιολογικό μικροπεριβάλλον μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά από την αποικοδόμηση των βιοενεργών υάλων και άλλων βιοδιασπόμενων υλικών. Ως αποτέλεσμα της αποικοδόμησης, προκαλείται αύξηση της συγκέντρωσης ιόντων, όπως Na⁺ και Ca²⁺, και αλλαγές στο pH, ιδιαίτερα στα αρχικά στάδια όταν ο ρυθμός αποικοδόμησης είναι γρήγορος. Τα βιολογικά αποτελέσματα αυτών των μεταβολών είναι δύσκολο να προβλεφθούν από in vitro πειράματα.

Από τις πιο γνωστές παραλλαγές της υάλου 45S5, η οποία κατασκευάστηκε με τη μέθοδο ταχείας ψύξης τήγματος, είναι η 58S, η οποία κατασκευάστηκε με τη μέθοδο της κολλοειδούς γέλης²⁵¹. Και οι δύο βιοενεργές υάλιι εμφανίζουν υψηλό βαθμό βιοενεργότητας²⁵².

3.2.2 Βιοενεργή βοριοπυριτική και βορική υάλος

Μία άλλη κατηγορία βιοενεργών υάλων είναι οι βοριοπυριτικές και οι βορικές υάλιι. Παρόλο που οι βοριοπυριτικές υάλιι αναπτύχθηκαν αρχικά από τον Otto Schott πριν από περισσότερο από έναν αιώνα, η καταλληλότητά τους για βιοϊατρικές εφαρμογές προτάθηκε τη δεκαετία του 1990 από τον Brink και τους συναδέλφους του²⁵³. Στις βοριοπυριτικές και βορικές υάλους, το B₂O₃ είναι το κύριο συστατικό σχηματισμού υάλου (ανάλογο του SiO₂ για τις πυριτικές υάλους). Αν και υπάρχουν ενδείξεις ότι τα ιόντα (BO₃)³⁻ είναι τοξικά *in vitro*, αυτή η τοξικότητα μπορεί να μειωθεί, για παράδειγμα με τη δυναμική κυτταρική καλλιέργεια²⁵⁴.

Λόγω της μικρότερης χημικής τους ανθεκτικότητας, μερικές βορικές βιοενεργές υάλιι αποικοδομούνται ταχύτερα και μετατρέπονται περισσότερο σε HA, σε σύγκριση με την πυριτική 45S5 ή την 13-93. Η μετατροπή της βορικής βιοενεργούς υάλου σε HA φαίνεται να ακολουθεί μια διαδικασία παρόμοια με εκείνη που περιγράφεται για την υάλο 45S5, αλλά χωρίς τον σχηματισμό ενός στρώματος πλούσιου σε SiO₂²⁵⁵.

Βιοενεργές βορικές υάλιι έχει δειχθεί ότι υποστηρίζουν πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση κυττάρων *in vitro*, καθώς και διήθηση ιστών *in vivo*. Βιοενεργές βορικές υάλιι έχουν επίσης αποδειχθεί ότι χρησιμεύουν ως υπόστρωμα απελευθέρωσης φαρμάκου στη θεραπεία της οστικής λοίμωξης. Μια ανησυχία που σχετίζεται με τη βιοενεργή βορική υάλο είναι η τοξικότητα του βορίου που απελευθερώνεται στο διάλυμα ως βορικά ιόντα (BO₃)³⁻. Σε συμβατικές «στατικές» *in vitro* συνθήκες καλλιέργειας, παρατηρήθηκε ότι ορισμένες βορικές υάλιι είναι τοξικές για τα κύτταρα, αλλά η τοξικότητα μειώθηκε σε συνθήκες «δυναμικής» καλλιέργειας²⁵⁶. Τα ικρίωματα βιοενεργούς βορικής υάλου, που ονομάζονται 13-93B3, με σύνθεση που λαμβάνεται αντικαθιστώντας όλο το SiO₂ σε υάλο 13-93 με B₂O₃ (Πίνακας 1), βρέθηκαν να είναι τοξικά σε οστεογενετικά κύτταρα MLO-A5 ποντικού *in vitro*²⁵⁷. Ωστόσο, τα ίδια ικρίωματα δεν έδειξαν τοξικότητα στα κύτταρα *in vivo* και υποστήριξαν νέα διήθηση ιστών όταν εμφυτεύθηκαν υποδόρια σε αρουραίους²⁵⁸. Οι κόκκοι βορικής υάλου που εμφυτεύτηκαν σε κνήμες κουνελιού παράγααν συγκεντρώσεις βορίου στο αίμα πολύ χαμηλότερες από το τοξικό επίπεδο²⁵⁹.

Πρόσφατες εργασίες έδειξαν ότι με τροποποίηση της σύνθεσης των βιοενεργών υάλων, υπάρχει η δυνατότητα ελέγχου του ρυθμού αποικοδόμησής τους. Για παράδειγμα, με την μερική αντικατάσταση του SiO₂ σε πυριτική 45S5 ή 13-93 με B₂O₃ (παράγοντας μία βοριοπυριτική βιοενεργή ύαλο), ή πλήρως αντικαθιστώντας το SiO₂ με B₂O₃ (παράγοντας βορική βιοενεργή ύαλο), ο ρυθμός αποικοδόμησης μπορεί να ποικίλει. Η ευκολία κατασκευής και η ικανότητα ελέγχου της ταχύτητας αποικοδόμησης αυτών των βορικών υάλων, τα καθιστούν ιδιαίτερα χρήσιμα για την προώθηση της αναγέννησης των οστών. Με τον έλεγχο της σύνθεσης υάλου, θα πρέπει να είναι δυνατή η αντιστοίχιση του ρυθμού αποδόμησης της βορικής βιοενεργούς ύαλου με το ρυθμό αναγέννησης των οστών. Μια άλλη πιθανότητα είναι να εκμεταλλευτεί την ευκαμψία της σύνθεσης της ύαλου έτσι ώστε να μπορεί επίσης να χρησιμεύσει ως πηγή πολλών από τα δευτερεύοντα στοιχεία που είναι γνωστό ότι ευνοούν την ανάπτυξη των οστών, όπως τα Zn, Cu, F, Mn, Sr και B. Καθώς η ύαλος αποικοδομείται in vivo, αυτά τα στοιχεία απελευθερώνονται με βιολογικός αποδεκτό ρυθμό.

3.2.3 Βιοενεργή φωσφορική ύαλος

Αυτή η κατηγορία υάλων βασίζεται κυρίως στο P₂O₅ (ο σχηματισμός υάλινων δικτύων), το Na₂O και το CaO. Μπορούν επίσης να συμπεριληφθούν και άλλα τροποποιητικά οξειδία, για παράδειγμα CuO,²⁶⁰ ZnO,²⁶¹ Ag₂O,²⁶² Fe₂O₃,²⁶³ TiO₂²⁶⁴ και SrO,²⁶⁵ για την επαγωγή μιας ειδικής ιδιότητας, λειτουργίας ή διαφορετικής βιολογικής απόκρισης^{266,267}. Σε αντίθεση με τους πυριτικούς υάλους, έχει ένα τερματικό οξυγόνο. Αυτό μειώνει τη συνδεσιμότητα του δικτύου και επομένως την ακαμψία, αλλά αυξάνει το εύρος σύνθεσης των παραγόμενων υάλων²⁶⁸. Σε αντίθεση με το ναλώδες πυρίτιο, το P₂O₅ είναι χημικά ασταθές. Η προσθήκη οξειδίων μετάλλων βελτιώνει τη σταθερότητά του²⁶⁹. Η υποβάθμιση αυτών των υάλων κυμαίνεται από ώρες σε έτη ανάλογα με τη σύνθεση και τις προβλεπόμενες εφαρμογές.

Αυτοί οι ύαλοι μπορούν να παρασκευαστούν σε διάφορες μορφές, συμπεριλαμβανομένων των δίσκων, των^{270,271} μικροσωληνίσκων, των²⁷² μικροσφαιρών²⁷³ και των ινών²⁷⁴. Οι ίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συσκευή μεταφοράς και διαστολής των κυττάρων,²⁷³ ως αγωγός των νεύρων²⁷⁵ ή σαν ικρίωμα για αναγέννηση των μυών²⁷⁶. Οι ίνες με αντιβακτηριακές ιδιότητες (π.χ. περιέχουν χαλκό) μπορούν να παραχθούν ως μάκτρα επίδεσης τραυμάτων για τη θεραπεία των

ελκών των ποδιών και των σοβαρών εγκαυμάτων²⁷⁷. Οι ίνες υάλου φωσφορικού έχουν μια ενδιαφέρουσα ικανότητα σχηματισμού μικροσωληνίσκων. ως εκ τούτου, μπορούν να ενσωματωθούν σε διάφορα πολυμερή για να βοηθήσουν στη διάχυση των θρεπτικών ουσιών και την ανάπτυξη της αγγείωσης όταν χρησιμοποιούνται σαν ικριώματα για αναγέννηση μαλακών και σκληρών ιστών²⁷⁸.

Παρασκευάστηκαν μικροσφαίρες φωσφορικής υάλου²⁷⁹ για εφαρμογές ακτινοθεραπείας²⁸⁰. Η μορφολογία των μικροσφαιριδίων παρέχει μια σταθερή επιφάνεια για την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων²⁸¹ και την πρόληψη της βλάβης και της αιμορραγίας των ιστών όταν χρησιμοποιούνται για ακτινοθεραπεία²⁸⁰. Η σφαιρική μορφολογία θα παρέχει μεγάλους διάμεσους χώρους που μπορούν να είναι συνεπείς και ποσοτικοποιήσιμοι για κυτταρική ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό από τυχαία σχηματιζόμενα σωματίδια όταν συσκευάζονται σε βιοαντιδραστήρες διάχυσης²⁸¹.

Ένα από τα κύρια συστατικά των οστών και των δοντιών που παίζει σημαντικό ρόλο είναι το υλικό φωσφορικού ασβεστίου^{282,283}. Ήδη από το 1920, τα βιοϋλικά όπως τα CPs προτάθηκαν για θεραπεία κατάγματος ως απάντηση σε βλάβη των ιστών). Η έρευνα για τις βιοϊατρικές εφαρμογές των CPs άνθισε στη δεκαετία του 1970²⁸⁴. Οι πιθανές εφαρμογές περιλαμβάνουν λεπτές στρώσεις σε μεταλλικά εμφυτεύματα, βοηθώντας τη στερέωση του εμφυτεύματος στα οστά²⁸⁵ και την πυροσυσσωμάτωση CP για χρήση υποκατάστατων συνθετικών μοσχευμάτων οστού²⁸⁶. Η χρήση των CPs έχει ως αποτέλεσμα την τεράστια επιτυχία των βιοϊατρικών εφαρμογών, όπως η αύξηση του κλινικού σφάλματος του μηριαίου συστατικού των ολικών εμφυτευμάτων ισχίου μειώνοντας τον κίνδυνο χαλάρωσης των ακίδων για τους εξωτερικούς παράγοντες στερέωσης κυρίως σε κατάγματα πλακώνας κνήμης²⁷⁹. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι CP έχουν βρεθεί ακόμη και ανώτερες από τα αυτομοσχεύματα μεταξύ των διαδικασιών εφαρμογής τους στον ανθρώπινο ιστό. Παρ' όλα αυτά, όλα αυτά τα επιτεύγματα έχουν ξεπεραστεί κάπως από τα πλεονεκτήματα των πολυμερών σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Τα πολυμερή έχουν πολλαπλές διαφορετικές ιδιότητες όταν εξετάζουν τον έλεγχο της σύνθεσης και των σχετικών ιδιοτήτων τους (π.χ. συμπολυμερή, υπερμοριακές αυτοσυναρμολογήσεις), εφαρμόσιμες τεχνικές επεξεργασίας (π.χ. παρασκευή πρόσθετων ουσιών) και δυνατότητες λειτουργικοποίησης (π. Χ. Επιφανειακή μικρο-και νανοδομή και χημική λειτουργικοποίηση). Πρόσφατες αναφορές έχουν αμφισβητήσει το

αν τα CP είναι παλιά βιοϋλικά που είναι λειτουργικά αλλά όχι ιδιαίτερα κομψά. Θα είναι τα υλικά του μέλλοντος; Αν και πολλά φυσικά και συνθετικά πολυμερή υπάρχουν και έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορες βιολογικές εφαρμογές, τα CP είναι παρόντα στο ανθρώπινο σώμα και είναι εύκολο να πιστοποιηθούν. Η παρουσία στο ανθρώπινο σώμα μπορεί να κάνει θαύματα εξαιτίας μιας επιτυχημένης, οικονομικά αποδοτικής και οικονομικά προσιτής στρατηγικής για τη θεραπεία ασθενειών και την αναγέννηση των δυσλειτουργικών οργάνων και ιστών. Αυτή η θεραπεία είναι ζωτικής σημασίας για έναν αυξανόμενο γηράσκοντα πληθυσμό στον δυτικό κόσμο. Τα CP πληρούν αυτές τις απαιτήσεις. Μπορούν να παραχθούν σε μεγάλες ποσότητες, να είναι οικονομικά αποδοτικές και να είναι σταθερές πάνω και έξω από το ράφι. Εντούτοις, η απόκλιση από τα CPs είναι οι κακές μηχανικές τους ιδιότητες. Μπορούν να αποτελέσουν εμπόδια για ορθοπεδικές και οδοντιατρικές εφαρμογές. Επιπλέον, πρέπει να καταβληθούν προσπάθειες στη βιοϊατρική έρευνα για να προωθηθούν στρατηγικές βασισμένες σε CP, καθώς δείχνουν μεγάλη πιθανότητα χρησιμότητας ως υλικό του μέλλοντος²⁸⁷.

3.2.4 Οστεοαγωγιμότητα των CP

Η οστεοαγωγιμότητα είναι η ικανότητα διαφοροποίησης προς την οστεοβλαστική γραμμή με την πρόσληψη και επαγωγή προγονικών και αδιαφοροποίητων κυττάρων²⁸⁸. Ανάλογα με τα υλικά που χρησιμοποιούνται, η οστεοεπαγωγικότητα ενός CP έχει ποικίλα χαρακτηριστικά. Ο κυτταρικός τύπος, μαζί με την παρουσία οστεογόνων συμπληρωμάτων, μπορεί επίσης να έχει ορισμένες επιρροές με το βαθμό οστεοεπαγωγής²⁸⁹. Για να διαφοροποιηθούν προς την οστεοβλαστική σειρά, αδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs), όπως τα MSCs του μυελού των οστών και τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από λιπώδη ιστό, καλλιεργούνται συνήθως παρουσία οστεογόνων συμπληρωμάτων. Ωστόσο, οι οστεοβλαστικές κυτταρικές σειρές όπως MC3T3-E1 και MG63 παρουσιάζουν ικανοποιητικό βαθμό οστεοεπαγωγικότητας από ότι τα MSCs. Αν και τα οστεογόνα συμπληρώματα μπορούν να περιθωριοποιήσουν πιθανώς τη συμβολή των CP, πολλές μελέτες αναφέρουν την οστική επαγωγική επίδραση των CPs στην παρουσία τους. Οι ακόλουθες ενότητες συνοψίζουν την επίδραση των CPs στη διαφοροποίηση των κυττάρων, τόσο παρουσία όσο και απουσία συμπληρωμάτων οστεογενών²⁸⁹.

3.3 Χημικές ιδιότητες των CP

Οι οστεοεπαγωγικές ικανότητες των CPs συνδέονται με ενδογενείς διαφορές ιδιοτήτων όπως η διαλυτότητα, η κρυσταλλικότητα και η στοιχειομετρία [π.χ., λόγος ασβεστίου προς φωσφορικό (Ca / P)]. Η παρακάτω ενότητα παρέχει μια σύντομη περιγραφή αυτών των ιδιοτήτων για τέσσερις τύπους CP. Πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με τις συνθέσεις και τις ιδιότητες αυτών των CP μπορούν να βρεθούν αλλού^{282,286,290}.

3.3.1 Υδροξυαπατίτης (HA)

Το HA είναι ένα CP που έχει εμφανίσει μεγάλη δυνατότητα αναγέννησης οστού λόγω της σύνθεσής του που μοιάζει με ορυκτό οστού²⁹¹. Μεταξύ των διαφόρων τύπων μονοφασικών CP, έχει δειχθεί ότι το HA έχει σταθερές και λιγότερο διαλυτές ιδιότητες φάσης, με τιμή K_β περίπου 2,9310258, με περιοχή pH B3,5 to B9.7²⁹². Παρά τη χαμηλή διαλυτότητά τους, οι επιφάνειες HA μπορούν να παράσχουν πυρήνες για την κατακρήμνιση κρυστάλλων απατίτη σε μέσο καλλιέργειας, το οποίο είναι συνήθως κορεσμένο με ιόντα ασβεστίου και φωσφορικών αλάτων²⁹². Επιπλέον, το στοιχειομετρικό HA (Ca₅ (PO₄)₃OH) έχει αναλογία Ca / P 1,67 και έχει οστεοεπαγωγικές ιδιότητες αντί για οστεοεπαγωγική. Ωστόσο, αυτές οι ιδιότητες μπορούν να προσαρμοστούν χρησιμοποιώντας ιονικές υποκαταστάσεις. Παραδείγματος χάριν, η αύξηση της διαλυτότητας HA κατέστη δυνατή μέσω της ανιονικής υποκατάστασης του ανθρακικού άλατος για φωσφορικά άλατα²⁸⁷, ενώ η υποκατάσταση του φθοριούχου υδροξειδίου αυξάνει την σταθερότητα των HA. Η έρευνα δείχνει επίσης ότι ευνοϊκές βιολογικές επιδράσεις είναι δυνατές με κατιονικές υποκαταστάσεις όπως το μαγνήσιο που αντικαθιστά το ασβέστιο.

3.3.2 Φωσφορικό ασβέστιο

Η στοιχειομετρική TCP (Ca₃ (PO₄)₂) έχει αναλογία Ca / P 1,5 και εμφανίζεται σε διαφασάσεις, α and β. Αυτές οι φάσεις έχουν πανομοιότυπες χημικές ιδιότητες, αλλά διαφορετικές δομές κρυστάλλων^{282,286}. Και οι δύο φάσεις είναι λιγότερο σταθερές από την HH, αλλά πιο διαλυτές σε υδατικά περιβάλλοντα. Αναφέρθηκαν K_{sp} values of 10225.5 for α-TCP και 10228.9 for β-TCP στους 25C²⁹³. Μαζί με την κατανομή των οστεοαγώγιμων και οστεοεπαγωγικών ιδιοτήτων, οι β-TCP μελέτες δείχνουν ότι

μπορούν να προκαλέσουν κατακρήμνιση της στιβάδας του απατίτη όταν ενυδατωθούν σε υδατικά ιοντικά διαλύματα λόγω της χαμηλής ενδοεπιφανειακής ενέργειας σε σχέση με τον ουαπατίτη (Bohner and Lemaître, 2009). Στην αναγέννηση των οστών, ωστόσο, η β-TOP χρησιμοποιείται περισσότερο από την α-TOP²⁸⁵.

Τα AOP άμορφου φωσφορικού ασβεστίου (AKE) ανήκουν σε μια οικογένεια CP. Έχουν έλλειψη στην τάξη μεγάλου εύρους, καλά καθορισμένη στοιχειομετρία και περιέχουν ακαθαρσίες στο σύνθετο τους όπως η Na1 και Cl2²⁸⁵. Για να δημιουργηθεί δυναμικό παραγωγής, τα ιόντα ασβεστίου και φωσφορικού άλατος πρέπει να καθιζάνουν γρήγορα από υδατικά διαλύματα και τυπικά έχουν ευρύ φάσμα αναλογιών Ca / P (συνήθως μεταξύ 1,15 και 1,67). Ωστόσο, το pH και η αναλογία έναρξης των ιόντων σε διάλυμα εξαρτώνται από τις συνθήκες σύνθεσης²⁹³. Στην άμορφη φύση τους, ο χαμηλός λόγος Ca / P και η υψηλή συγκέντρωση των ιονικών υποκαταστατών (π.χ. Na1, K1, Mg21, Cl2, CO223) προσδίδουν υψηλό βαθμό διαλυτότητας επί των ACP. Οι τιμές του 10224.8 για ACP έχουν λόγο Ca / P 1,5, και οι τιμές 10223.9 για AOP που ενσωματώνουν μικρές ποσότητες ανθρακικού άλατος έχουν επίσης αναφερθεί²⁹⁰. Τα ACP μπορούν επίσης να απελευθερώσουν ένα πλήθος ιόντων που επανακαταβυθίζονται σε πιο σταθερή μορφή, όπως ο ασθενής κρυσταλλικός απατίτης όταν εκτίθεται σε υδατικό περιβάλλον²⁹². Επιπλέον, ένας από τους μεγαλύτερους παράγοντες στην οστεοανταλλαγή τους προέρχεται από την ικανότητά τους να απελευθερώνουν φωσφορικό ασβέστιο και άλλα ιόντα σε υδατικά περιβάλλοντα. Ωστόσο, η ταχεία απελευθέρωση ιόντων από ACPs διαταράσσει το τοπικό pH, δημιουργώντας αρνητικό αντίκτυπο στη βραχυπρόθεσμη προσκόλληση / πολλαπλασιασμό και μακροπρόθεσμη βιωσιμότητα των κυττάρων²⁹¹. Εντούτοις, τα δισθενή κατιόντα όπως το Zr και το ZrO μπορούν να μειώσουν τους ρυθμούς διάλυσης τους και η ενσωμάτωση των Zr και Cu μπορεί να παρεμποδίσει τη μετατροπή τους σε HA²⁹³.

3.3.3 Διφασικό φωσφορικό ασβέστιο (BCP)

Τα BCP είναι μια κεραμική οικογένεια δύο φάσεων. Συνδυάζουν τη χαμηλή διαλυτότητα και την οστεο-αγωγιμότητα του απατίτη με την οστεοεπαγωγικότητα της πιο διαλυτής φάσης όπως το TCP (Bansal et al., 2009). Τα BCPs μπορούν να παραχθούν φυσικά με ανάμιξη HA και TCP ή χημικώς με τη σύντηξη απατιτών με

έλλειψη ασβεστίου σε υψηλές θερμοκρασίες για να δημιουργηθεί ένα μίγμα δύο φάσεων²⁸². Οι χημικές ιδιότητες του BCP, συμπεριλαμβανομένης της διαλυτότητας, εξαρτώνται από τα χαρακτηριστικά και τις σχετικές ποσότητες των μεμονωμένων φάσεων. Τυπικά, οι αναλογίες Ca / P των BCP πέφτουν επίσης μεταξύ αυτών για καθαρό TCP και HA.

3.3.4 Κλινική εφαρμογή φωσφορικών ασβεστίου στην αναγέννηση των οστών και των γναθοπροσωπικών ιστών

Τα εμφυτεύματα που προέρχονται από φωσφορικό ασβέστιο έχουν αποδειχθεί ότι είναι βιοσυμβατά, οστεοκαταναστατικά²⁹¹ και είναι απορροφήσιμα²⁹⁴. Τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά τους έχουν καταστήσει κατάλληλους υποψήφιους για από του στόματος και γναθοπροσωπική αναγέννηση. Έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την αναγέννηση διαφόρων τύπων ελαττωμάτων των οστών όπως η αύξηση των δακτύλων της άνω γνάθου²⁹⁵, περιοδοντική (Sculean et al., 2008), και ελαττωματικά οστικά κύματα²⁹⁴. Τα κλινικά παραδείγματα είναι η χρήση του TCP όπως και του πορώδους b-TCP (Cerasorbs) για την ενίσχυση της φλεβοκομβικής επιφάνειας, μακροπορώδες διφασικό φωσφορικό ασβέστιο για την αύξηση της άνω γνάθου και BCP CHA / TCP 60 / 40 για την αύξηση της κορυφογραμμής και τη φλεβοκομβική οσφυαλγία²⁹⁵. Ο οστικός ιστός φαίνεται να αναπτύσσεται με επιτυχία στη δομή των εμφυτευμάτων φωσφατικού ασβεστίου σε τουλάχιστον 6 μήνες παρακολούθησης, ενδεικτικό της ευνοϊκής οστεοκονικής δόσης. Ο υψηλότερος όγκος του οστεοειδούς σε ελαττώματα που εμφυτεύονται από φωσφορικό ασβέστιο υποδεικνύει ότι το υλικό είναι κυρίως οστεοαγώγιμο, ειδικά στο πρώιμο στάδιο μετά την επέμβαση, και μπορεί να καθυστερήσει πιθανώς τον σχηματισμό ώριμων ορμονικών δομών²⁹⁵. Ο συνδυασμός της BCP με τους προαγωγούς της οστικής αναγέννησης όπως το σωματιδιακό αυτογενές οστό το κολλαγόνο²⁹⁴ και τα MSCs φαίνεται να οδηγεί σε επιταχυνόμενο σχηματισμό οστού. Σημαντικό σημείο στην εφαρμογή των MSC σε συνδυασμό με το BCP είναι ότι οι ενισχυμένες δομές θα πρέπει να είναι επαρκώς σταθερές από μόνες τους, καθώς τα εμφυτεύματα CP συνήθως δεν παρέχουν επαρκή μηχανική αντοχή για την αύξηση των κατεστραμμένων ιστών στο μετέπειτα μετεγχειρητικό στάδιο. Η σταθερότητα των επαυξημένων οστικών δομών θα πρέπει να σημειωθεί ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιούνται εμφυτεύματα φωσφορικού ασβεστίου χωρίς τα συγγενή αυτόλογα θραύσματα οστών. Η πλήρης αντικατάσταση οστεογενετικού οστού του ατόμου²⁹⁵

επηρεάζεται επίσης από άλλους παράγοντες εκτός από το χρησιμοποιούμενο υλικό, όπως το μέγεθος του ελαττώματος, το μέγεθος του εμφυτεύματος και το οστεογενετικό οστικό δυναμικό ενός ατόμου. Το BCP [με κρυσταλλικότητα μεγαλύτερη από 99%, που αποτελείται από 60% υδροξυαπατίτη (HA) και 40% β-TOP σε σωματιδιακή μορφή] χρησιμοποιείται επίσης επιτυχώς σε συνδυασμό με EMD για αναγέννηση ενδοχονδρικών περιοδοντικών ατελειών. Το BCP χρησιμεύει ως βραδέως απορροφήσιμο σύμβολο κράτησης και εμποδίζει την εκδοχή των ούλων, ενώ η EMD ενισχύει την περιοδοντική αναγέννηση²⁹⁰. Οι τροποποιήσεις στη νανοτογραφία και τη χημική σύνθεση ενός νεοαποκαλούμενου υλικού μοσχεύματος οστών BCP προωθούν σημαντικά τον εκτοπικό σχηματισμό οστού σε πρόσφατη μελέτη *in vivo* επιβεβαιώνοντας περαιτέρω το οστεοεπαγωγικό δυναμικό του²⁸⁷.

3.3.5 Κεραμικά

Μία άλλη κατηγορία βιοδραστικών υλικών περιλαμβάνει κεραμικά βασιζόμενα σε φωσφορικό ασβέστιο (π.χ. κρυσταλλικά υλικά), για παράδειγμα, HA, φωσφορικό β-τριασβέστιο (β-TOP) και διφασικό CaP (μίγμα HA και β-TOP).

Το HA μπορεί να παραχθεί ως στερεό ή πορώδες υλικό. Η πορώδης διαμόρφωση με πόρους <10 μm σε διάμετρο είναι απαραίτητη για την κυκλοφορία των σωματικών υγρών και εκείνες των 100 μm είναι απαραίτητες για την αποικιοποίηση των κυττάρων στόχων²⁹⁶. Το HA συντηρείται κανονικά πάνω από 1000 °C σε μορφή κοκκώδους ή μπλοκ. Μετά την πυροσυσσωμάτωση, δεν μπορεί να αναμορφωθεί (εάν είναι παρόν σε μπλοκ μορφή) για να χωρέσει το ελάττωμα και είναι μη αποικοδομήσιμο. Το β-TCP, ωστόσο, είναι αποικοδομήσιμο. Η αποικοδόμηση του διφασικού CaP εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την αναλογία των συστατικών του. Όσο υψηλότερο είναι το περιεχόμενο β-TCP, τόσο ταχύτερη είναι η υποβάθμιση. Γενικά, η αποικοδόμηση των κεραμικών του CaP ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο τους, το πορώδες, την επιφάνεια (κοκκώδης έναντι μπλοκ) και το βαθμό κρυσταλλικότητας (υψηλή κρυσταλλικότητα σημαίνει χαμηλή αποικοδόμηση).

Ενέσιμα κεραμικά CaP είναι επίσης διαθέσιμα. Μπορούν εύκολα να παραδοθούν μέσω μιας ελάχιστα επεμβατικής μεθόδου στο ελάττωμα ως πάστα με βάση το νερό. Στη συνέχεια ρυθμίζουν, γεμίζουν το ελάττωμα και υποστηρίζουν την αναγέννηση των

ιστών με την πάροδο του χρόνου²⁹⁷. Αυτό επιτρέπει τη χρήση τους ως όχημα διανομής φαρμάκων²⁹⁸ ή αντιμετωπίζει ένα ελάττωμα στις περιοχές που προκαλούν προβλήματα, π.χ., το κρανιοπροσωπικό σύμπλοκο²⁹⁹ ή η σπονδυλοπλαστική³⁰⁰.

Υαλοκεραμικά υλικά

Τα κεραμικά υάλου είναι μερικώς κρυσταλλωμένοι υάλιοι που παράγονται με θέρμανση της μητρικής υάλου πάνω από τη θερμοκρασία κρυστάλλωσής της 301. Σε αντίθεση με την αυθόρμητη κρυσταλλοποίηση επιφανείας, η οποία είναι ανεπιθύμητη κατά την κατασκευή της υάλου, ελέγχεται η διεργασία κρυστάλλωσης. Ως αποτέλεσμα, τα παραγόμενα υαλοκεραμικά περιέχουν μία ή περισσότερες κρυσταλλικές φάσεις ενσωματωμένες σε μία υπολειμματική υαλώδη φάση³⁰². Η βιοδραστικότητα των υαλοκεραμικών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την αναλογία και τον τύπο των κρυστάλλων που σχηματίζονται κατά τη διαδικασία κρυστάλλωσης³⁰³. Η ελεγχόμενη κρυστάλλωση αποδίδει υλικά με ασυνήθιστους συνδυασμούς ιδιοτήτων σε σύγκριση με τις μητρικές τους υάλους. Είναι επίσης δυνατή η σχεδίαση υαλοκεραμικών με νανο- ή μικρο-δομή σύμφωνα με την τελική εφαρμογή³⁰².

Ένα κοινό παράδειγμα υαλοκεραμικού υλικού είναι ο απατίτης / βολλαστονίτης (AW)³⁰⁴ που έχει βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες σε σχέση με την μητρική υάλο³⁰⁵. Λόγω της μικρο-νανοδομής τους και των βελτιωμένων μηχανικών τους ιδιοτήτων, αυτά τα υαλοκεραμικά θα μπορούσαν να είναι ελπιδοφόρες μήτρες για αναγέννηση των οστών (ενδομυελικό πώμα στην ολική αντικατάσταση ισχίου)³⁰⁶. Η επιφανειακή λειτουργικότητα των υαλοκεραμικών με λυσίνη βελτίωσε την κυτταροσυμβατότητά τους³⁰⁷.

Ανεξάρτητα από τα πιο προφανή πλεονεκτήματα αυτών των βιοδραστικών υάλων και κεραμικών, η εύθραυστη φύση τους παραμένει μια μεγάλη πρόκληση ιδιαίτερα με την παραγωγή πορωδών ικριωμάτων. Η αναμενόμενη μείωση της αντοχής που συνδέεται με την υποβάθμιση του ικριώματος είναι επίσης μια άλλη πρόκληση που απαιτεί προσεκτική εξέταση κατά το σχεδιασμό των ικριωμάτων.

3.4 Οστεοαγωγιμότητα και οστεοεπαγωγικότητα βιοενεργών υάλων

Η χρήση του υλικού αυτομοσχεύματος παραμένει το χρυσό πρότυπο για χρήση σε ορθοπεδικές διαδικασίες λόγω του γεγονότος ότι υπάρχουν ελάχιστες πιθανότητες ανοσολογικής απόρριψης και λόγω της έμφυτης οστεοαγωγιμης, οστεοεπαγωγικής και οστεογονικής δυνατότητας. Λόγω των σημαντικών επιπέδων πόνου και νοσηρότητας στη θέση δότη, χρησιμοποιούνται συνήθως υποκατάστατα μοσχεύματος οστού^{308,309,310,311}. Τα υποκατάστατα οστικών μοσχευμάτων προσφέρουν ένα ευρύ φάσμα υλικών, δομών και συστημάτων χορήγησης για χρήση σε διαδικασίες οστικής μεταμοσχεύσεως. Κοινές πηγές υλικών οστικών μοσχευμάτων περιλαμβάνουν αλλογενή οστά, συνθετικά άλατα φωσφορικού ασβεστίου, υλικά κοραλλινών και βιοδραστικό γυαλί. Αυτά τα υλικά θα πρέπει να διαθέτουν ένα ή περισσότερα από τα τυπικά χαρακτηριστικά του υλικού αυτομοσχεύματος, συμπεριλαμβανομένης της οστεοαγωγιμότητας, της οστεοεπαγωγικότητας και της οστεογένεσης.

Η ανθρώπινη απομεταλλωμένη οστική μήτρα (DBM) έχει καταστεί ένα πολύ συνηθισμένο υποκατάστατο οστικού μοσχεύματος το οποίο έχει δείξει την ικανότητα να βοηθά στον σχηματισμό νέου οστού σε πολλά διαφορετικά κλινικά περιβάλλοντα συμπεριλαμβανομένων ελαττωμάτων μακρού οστού, κρανιοπροσωπικής ανακατασκευής και σύντηξης σπονδυλικής στήλης^{312,313,314,315}. Το DBM σε συνδυασμό με το τοπικό οστό έχει αποδειχθεί ότι εκτελεί και αυτομοσχεύματα που πιθανώς εξαλείφουν την ανάγκη για αυτογενή συλλογή οστών³¹⁴. Μελέτες έχουν δείξει ότι το αλλογενές DBM έχει εγγενείς οστεοαγωγιμες και οστεοεπαγωγικές ιδιότητες, καθώς επίσης περιέχει πολυάριθμες μορφογενείς πρωτεΐνες οστών (BMP) οι οποίες εκκινούν τον καταρράκτη του νέου σχηματισμού οστών^{316,317,318}. Επιπρόσθετα, έχει αποδειχθεί ότι το DBM υποστηρίζει τον πολλαπλασιασμό in vitro και την οστεογονική διαφοροποίηση των ανθρώπινων στρωματικών κυττάρων μυελού των οστών^{319,320,321}. Μελέτες έχουν δείξει ότι η τραχύτητα επιφανείας DBM διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των οστεογονικών κυττάρων³²². Η δομή κολλαγόνου των σωματιδίων DBM παρέχει ένα οστεοαγωγιμο αποτέλεσμα ενώ οι μη κολλαγονούχες πρωτεΐνες εκκινούν την οστεοεπαγωγική δράση.

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών, η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών εμφυτεύματος μετατοπίστηκε από τις προσπάθειες δημιουργίας παθητικής διεπαφής μεταξύ του εμφυτεύματος και του φυσικού ιστού στο σχεδιασμό βιοενεργών υλικών. Μέσα σε αυτή την κατηγορία υπάρχει ένα ευρύ φάσμα κεραμικών φωσφορικού ασβεστίου, βιοδραστικού γυαλιού και βιοδραστικών υαλοκεραμικών^{323,324}. Όλα αυτά τα υλικά έχουν το κοινό χαρακτηριστικό της δημιουργίας μιας ανθρακούχου στιβάδας υδροξυαπατίτη που είναι ισοδύναμη χημικά και δομικά με το βιολογικό ορυκτό του οστού. Αυτό είναι γνωστό ότι είναι το καθοριστικό βήμα για την βιολογική ολοκλήρωση^{325,326,327}. Το βιοενεργό γυαλί είναι το πρώτο ανθρωπογενές υλικό που σχηματίζει έναν άμεσο χημικό δεσμό με τα οστά. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι έχει επιδράσεις στον κυτταρικό κύκλο και στους μοριακούς μηχανισμούς που οδηγούν σε διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστικών κυττάρων³²⁸. Σε αντίθεση με τις παραδοσιακές υάλους σόδας, η βιοδραστική ύαλος είναι εξαιρετικά βιοσυμβατή και, κυρίως, είναι ικανή να ενεργοποιήσει τους γενετικά ελεγχόμενους μεταβολικούς μηχανισμούς που έχουν ως αποτέλεσμα την αποκατάσταση των οστών^{328,329,330}. Κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών ανάπτυξης των κυττάρων, το βιοενεργό γυαλί έχει δείξει ότι ρυθμίζει προς τα πάνω διαφορετικές οικογένειες γονιδίων που εκφράζουν παράγοντες οστεογόνου ανάπτυξης και συστατικά εξωκυτταρικής μήτρας που απαιτούνται για το σχηματισμό νέου οστού³²⁹. Μεταξύ των αυξημένων γονιδίων περιλαμβάνονται ο αυξητικός παράγοντας τύπου ινσουλίνης (IGF-II) και ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF). Ο IGF-II είναι γνωστό ότι προκαλεί πολλαπλασιασμό του οστεοβλάστη *in vitro*³²⁵ και ο VEGF προάγει την αγγειογένεση που απαιτείται για το σχηματισμό νέου οστού³²⁹. Όταν έρχονται σε επαφή με την αντιδρώσα στην επιφάνεια βιοδραστική ύαλο, οι οστεοβλάστες υποβάλλονται σε γρήγορο πολλαπλασιασμό που σχηματίζουν νέο οστόν σε περίπου ίδια χρονική περίοδο με την κανονική διαδικασία επούλωσης.

Η βιοενεργή ύαλος έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για τη δημιουργία νέου οστού σε διάφορες προκλινικές μελέτες σε ζώα^{331,332,333,334}. Επιπλέον, απαιτείται ελάχιστη ποσότητα βιοενεργού γυαλιού για την πρόκληση βιοδραστικότητας μοσχεύματος. Με βάση αυτές τις ιδιότητες του βιοδραστικού γυαλιού, το NanoFUSE® DBM δημιουργήθηκε για να επωφεληθεί από τις οστεοαγωγίμες και προ-αγγειογόνες ιδιότητες του βιοδραστικού γυαλιού καθώς και από τις οστεοεπαγωγικές ιδιότητες του

ανθρώπινου DBM. Το βιοενεργό τμήμα γυαλιού του NanoFUSE® DBM αποτελείται από το Bioglass® Hench's (σύνθεση 45S5). Οι φορείς χρησιμοποιούνται συνήθως σε εφαρμογές πλήρωσης κενών οστών με βάση το DBM. Γενικά, αυτοί οι φορείς είναι φυσικοί (κολλαγόνο, ζελατίνη, αλγινικό κλπ.) ή συνθετικοί (πολυμερές ή τροποποιημένα σάκχαρα). Το προϊόν NanoFUSE® DBM χρησιμοποιεί μια νέα μέθοδο για την ενθυλάκωση των οστεοεπαγωγικών και οστεοαγωγικών στοιχείων του προϊόντος χωρίς να παρεμβαίνει στην κλινική του χρησιμότητα. Το τελικό προϊόν ανασύσταται γρήγορα και μπορεί να μορφοποιηθεί, ενώ επιτρέπει την κανονική επούλωση των οστών.

Η βιοενεργή ύαλος είναι το πρώτο ανθρωπογενές υλικό που σχηματίζει έναν άμεσο χημικό δεσμό με τα οστά. Είναι επίσης το πρώτο ανθρωπογενές υλικό που ασκεί θετική επίδραση στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών³³⁰. Όπως προαναφέρθηκε το βιοενεργό τμήμα της υάλου του NanoFUSE® DBM αποτελείται από Bioglass του Hench. Χρόνια δοκιμών, προκλινική και κλινική χρήση έχουν αποδείξει την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα αυτού του υλικού³³⁵. Η βιοενεργή ύαλος έχει παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί για τις οστεοαγωγικές και οστεοθωρακικές της ιδιότητες^{328,329,330}. Πρόσφατα, παρουσιάστηκαν δεδομένα που καταδεικνύουν το προ-αγγειογόνο δυναμικό της βιοδραστικής υάλου *in vitro* και *in vivo*³²⁹. Επιπλέον, αυτές οι μελέτες έχουν δείξει ότι τα διαλυτά προϊόντα διαλυτοποίησης της βιοδραστικής υάλου μπορούν να διεγείρουν την παραγωγή προανογονικών παραγόντων, παρέχοντας έτσι μια πιθανώς πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την ενίσχυση της νεοαγγειοποίησης και του προκύπτοντος σχηματισμού οστού. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται στο παρόν καταδεικνύουν την ικανότητα της βιοδραστικής υάλου 45S5 όχι μόνο να υποστηρίζει την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων αλλά επίσης να υποστηρίζει την παραγωγή αλκαλικής φωσφατάσης. Επιπλέον, φαίνεται ότι ο συνδυασμός βιοδραστικής υάλου και DBM οδήγησε σε υψηλότερα επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης από ό, τι το ένα μόνο. Είναι σαφές από τα δεδομένα που παρουσιάζονται ότι ο συνδυασμός DBM και βιοδραστικής υάλου που υπάρχει στο προϊόν NanoFUSE® DBM είχε ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό νέου οστού και την αύξηση της νεοαγγειοποίησης.

Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών αποδεικνύουν τη βιοσυμβατότητα του υλικού NanoFUSE® DBM. Αποδεικνύεται επίσης ότι το υλικό NanoFUSE® DBM πληρεί τα κριτήρια για ένα ιδανικό υποκατάστατο του οστικού μοσχεύματος. Το NanoFUSE® DBM συνδυάζει τις οστεοαγωγίμες και προ-αγγειογόνες ιδιότητες της βιοδραστικής υάλου με τις οστεοεπαγωγικές ιδιότητες του ανθρώπινου DBM. Ενώ το καθένα από αυτά είναι σημαντικό, είναι η οστεοεπαγωγική φύση του DBM που καθιστά δυνατή την εμφάνιση οστού σε όλο το ελάττωμα και όχι απλώς στις άκρες³³⁶. Το NanoFUSE® DBM αντιπροσωπεύει το πρώτο προϊόν που έχει εγκριθεί από την FDA για να συνδυάσει το οστεοεπαγωγικό DBM με το οστεοαγωγίμο και οστεοδιεγερτικό βιοδραστικό γυαλί. Το γεγονός ότι είναι ένας συνδυασμός βιοδραστικής υάλου και ανθρώπινου DBM συντελεί στο συμπέρασμα ότι είναι μοναδικό σε σύγκριση με τα πολλά άλλα προϊόντα που κυκλοφορούν σήμερα στην αγορά.

4ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Βιοενεργά Ικρίώματα για Αναγέννηση Οστών

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος για την παρασκευή πορώδων ικριωμάτων βιοενεργών υάλων είναι ο σχηματισμός σωματιδίων (ή ινών) μίας υάλου που παράχθηκε από τήγμα (συμβατικές τεχνικές επεξεργασίας υάλου) σε μία δομή με την επιθυμητή αρχιτεκτονική και γεωμετρία. Αυτή η δομή στη συνέχεια συντήκεται για να συγκολλήσει τα σωματίδια (ή τις ίνες) σε ένα μηχανικά αξιόπιστο 3-D δίκτυο με διασυνδεδεμένο πορώδες. Μία μέθοδος η οποία δεν χρησιμοποιείται συχνά, είναι η θερμική κατεργασία γέλης ή μέθοδος λύματος-πηκτής, γνωστή και ως sol-gel. Η μέθοδος αυτή είναι μια υγρή τεχνική που βασίζεται στη υδρόλυση και συμπύκνωση αλκοξειδίων των μετάλλων. Πιο πρόσφατα, η ηλεκτροσυσσωμάτωση (electrospinning) ενός διαλύματος ή η επεξεργασία ενός ιζώδους τήγματος έχει χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή εύκαμπτων ικριωμάτων βιοενεργής υάλου αποτελούμενων από νανοϊνες.

4.1 Βιοενεργά ικρίωματα που προέρχονται από απότομη ψύξη τήγματος

Όπως συνοψίζεται στον Πίνακα 2, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια ποικιλία μεθόδων για τον σχηματισμό των σωματιδίων βιοενεργούς υάλου που προέρχεται από τήγμα σε μία πορώδη δομή, παράγοντας αρχιτεκτονικές διαφορετικών πόρων (Εικόνα 7). Για ένα δεδομένο βιοενεργό ικρίωμα, το πορώδες, το μέγεθος πόρων και η διασύνδεση πόρων είναι κρίσιμες παράμετροι. Γενικά, οι διασυνδεδεμένοι πόροι με μέση διάμετρο (ή πλάτος) μεταξύ γειτονικών πόρων $> 100 \mu\text{m}$ και ανοιγμένο πορώδες $> 50\%$ θεωρούνται γενικά ως οι ελάχιστες απαιτήσεις για να επιτρέψουν την ανάπτυξη και τη λειτουργία των ιστών σε πορώδη ικρίωματα³³⁷.

Table 2
Methods used to create bioactive glass scaffolds, and characteristics of the fabricated scaffolds.

Method	Glass	Porosity (%)	Pore size (μm)	Strength* (MPa)	Reference
<i>Thermal bonding of</i>					
Particles	13-93	40-45	100-300	22 \pm 1	[99]
Short fibers	13-93	45-50	>100	5	[127]
<i>Polymer foam replication</i>					
	4555	89-92	510-720	0.4 \pm 0.1	[63]
	13-93	75-85	100-500	11 \pm 1	[102]
	13-93B3	80-85	100-500	5 \pm 0.5	[66]
<i>Sol-gel foam</i>					
	70530C	82	500 (100)**	2.4	[123]
<i>Unidirectional freezing of suspensions</i>					
	13-93	53-57	90-110	25 \pm 3	[110]
	13-93	50-55	60-120	27 \pm 8	[111]
	13-93	50	50-150	47 \pm 5	[164]
<i>Solid freeform fabrication</i>					
Selective laser sintering	13-93	58-60	700-1000	15 \pm 1	[120]
Freeze extrusion fabrication	13-93	50	300	140 \pm 70	[119]
Robocasting	6P53B	60	500	136 \pm 22	[118]

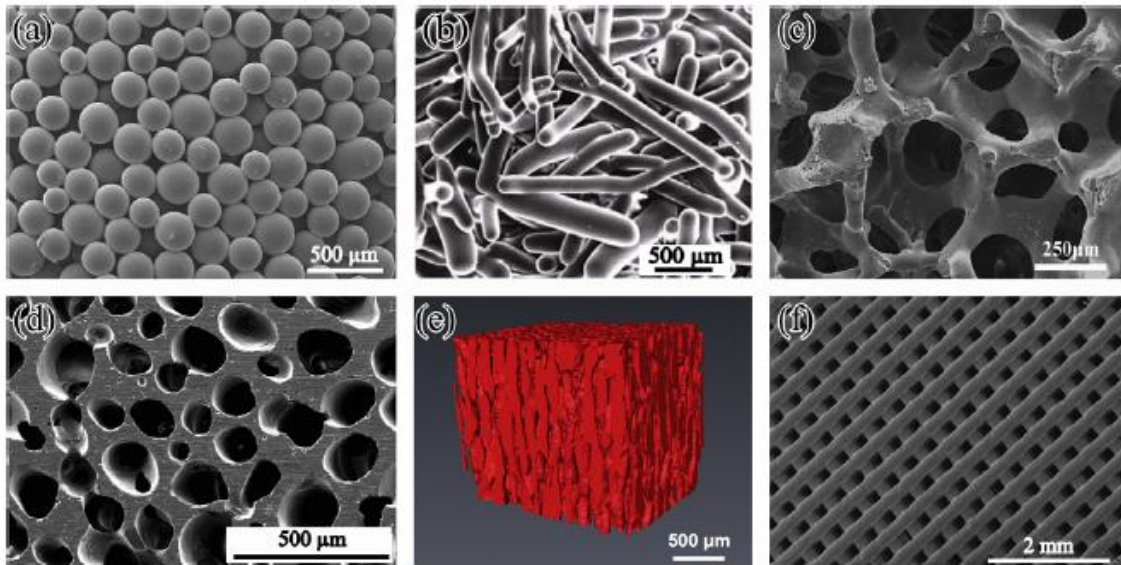
* In compression.

** Macropore diameter = 500 μm ; interconnected pore diameter = 100 μm .

Ένε
..

Όπως περιεγράφηκε προηγουμένως, μία από τις απλούστερες μεθόδους για τον σχηματισμό ικριώματος είναι η θερμική σύνδεση μιας χαλαρής, τυχαίας συστάδας σωματιδίων ή κοντών ινών σε ένα καλούπι με την επιθυμητή γεωμετρία (Εικόνα 7a και 7b) 338. Οι συνήθεις περιορισμοί περιλαμβάνουν ένα αρκετά στενό εύρος πορώδους (40-50%) και τη δυνατότητα για περιορισμένη συνδεσιμότητα μεταξύ γειτονικών πόρων. Μία άλλη μέθοδος είναι η ανάμιξη σωματιδίων βιοενεργούς υάλου με μία ευδιάλυτη φάση (π.χ. NaCl, ή ένα οργανικό υλικό όπως άμυλο) η οποία απομακρύνεται με διάλυση ή αποσύνθεση μετά τον σχηματισμό αλλά πριν από την πυροσυσσώματωση. Ωστόσο, η περιορισμένη συνδεσιμότητα μεταξύ γειτονικών πόρων εξακολουθεί να αποτελεί πρόβλημα και εδώ.

Η τεχνική αντιγραφής πολυμερούς αφρού (polymer foam replication) μπορεί να παρέχει μια μικροδομή ικριώματος που είναι παρόμοια με εκείνη του ξηρού ανθρώπινου δοκιδωτού οστού (Εικόνα 7c). Ικριώματα από πυριτική, βορικοπυριτική και βορική βιοενεργή ύαλο έχουν παρασκευαστεί με πορώδες περίπου 60-90% χρησιμοποιώντας αυτήν τη μέθοδο. Στην περίπτωση της υάλου 45S5, η προαναφερθείσα κρυστάλλωση οδηγεί σε υαλοκεραμικά ικριώματα χαμηλής αντοχής (<1 MPa) (Πίνακας 2). Εν τούτοις, τα ικριώματα πυριτικών 13-93 και βορικών 13-93B3 βιοενεργών υάλων έχουν υψηλότερη αντοχή σε θλίψη και τιμές μέτρου ελαστικότητας, στο εύρος που αναφέρεται για το δοκιδωτό οστό (αντοχή: 2-12 MPa, μέτρο ελαστικότητας: 0.1-5 GPa).



Εικόνα 7: Μικροδομές των βιοενεργών κριωμάτων που δημιουργούνται με διάφορες μεθόδους επεξεργασίας: (a) θερμική συγκόλληση (πυροσυσσωμάτωση) σωματιδίων (μικροσφαίρες), (b) θερμική συγκόλληση κοντών ινών, (c) «δοκιδωτή» μικροδομή που παρασκευάζεται με την τεχνική αντιγραφής πολυμερούς αφρού, (d) προσανατολισμένη μικροδομή που παρασκευάζεται με unidirectional freezing των εναιωρημάτων (επίπεδο κάθετα στην κατεύθυνση προσανατολισμού), (e) εικόνα microCT με ακτίνες X του προσανατολισμένου κριώματος που παρουσιάζεται στην εικόνα (d), και (f) μικροδομή τύπου πλέγματος που παρασκευάζεται με robocasting. Σύνθεση υάλου: (a) 16CaO-21Li₂O-63B₂O₃, (b-e) 13-93 και (f) 6P53B.

Η unidirectional freezing υδατικών διαλυμάτων και εναιωρημάτων έχει χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή πολυμερικών και κεραμικών υλικών με διαταραγμένες μακροπορώδεις δομές³³⁹. Με τη διεξαγωγή της διαδικασίας unidirectional freezing με ελεγχόμενο τρόπο έτσι ώστε ο πάγος να αναπτύσσεται σε μια προτιμώμενη κατεύθυνση, παρασκευάστηκαν πορώδη κριώματα με προσανατολισμένη μικροδομή. Ένα πλεονέκτημα της προσανατολισμένης μικροδομής είναι η υψηλότερη αντοχή κριώματος στην κατεύθυνση προσανατολισμού, σε σύγκριση με την αντοχή ενός κριώματος με τυχαία προσανατολισμένη μικροδομή³⁴⁰. Τα πορώδη βιοκεραμικά κριώματα που παρασκευάζονται από υδατικά εναιωρήματα έχουν συχνά μικροσκοπική μικροδομή στην οποία οι μικρές διαμέτροι πόρου (10-40 μm) είναι δυσμενείς για την υποστήριξη της ανάπτυξης ιστού. Με τροποποίηση της σύνθεσης του υδατικού διαλύτη στα εναιωρήματα, με τη χρήση μιγμάτων νερού-διοξάνης ή οργανικής φάσης, έχουν παρασκευαστεί κριώματα βιοενεργών υάλων με

κιονοειδείς μικροδομές και διαμέτρους πόρων 100-150 μm (Εικόνα 7d και 7e). Εκτός από την υψηλότερη αντοχή τους, αυτά τα προσανατολισμένα ικρίωματα βιοενεργών υάλων έχουν δείξει την ικανότητα να υποστηρίξουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων *in vitro*, καθώς και τη διήθηση των ιστών *in vivo*³⁴¹.

Οι μέθοδοι παρασκευής στερεών ελευθέρως μορφής (Solid Freeform Fabrication - SFF) ή ταχείας προτυποποίησης (Rapid Prototyping - RP) παρέχουν τη δυνατότητα παραγωγής ικριωμάτων με το επιθυμητό εξωτερικό σχήμα και την προκαθορισμένη εσωτερική μικροαρχιτεκτονική. Αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο του πορώδους, του μεγέθους των πόρων και της κατανομής του μεγέθους των πόρων, καθώς και για τη δημιουργία δομών για τη βελτίωση της ανάπτυξης των ιστών και της διάχυσης των θεραπευτικών ουσιών στο ικρίωμα. Η μέθοδος SFF περιλαμβάνει τη δημιουργία στρώματος 3-D αντικειμένων από ένα μοντέλο που παράγεται από υπολογιστή χρησιμοποιώντας λογισμικό σχεδιασμού με υπολογιστή (CAD)³⁴². Τα δεδομένα που λαμβάνονται από ηλεκτρονικές ή μαγνητικές τομογραφικές απεικονίσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία ενός προσαρμοσμένου μοντέλου CAD και κατά συνέπεια ενός ικριώματος που διαθέτει τις ακριβείς εξωτερικές διαστάσεις που απαιτούνται για την αποκατάσταση του ιστού που έχει υποστεί βλάβη.

Η μέθοδος SFF χρησιμοποιείται κυρίως για την κατασκευή ικριωμάτων από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή (π.χ. πολύ-(γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ) (PLGA), πολύ-(καπρολακτόνη) (PCL)) και ικριωμάτων φωσφορικού ασβεστίου (π.χ. HA, TCP), καθώς και σύνθετα υλικά αυτών των δύο κατηγοριών (π.χ. PLGA/TCP)^{343,344}. Έχει αναφερθεί η κατασκευή σύνθετων ικριωμάτων που περιέχουν βιοενεργή ύαλο (π.χ. PLA/45S5, PCL/45S5) χρησιμοποιώντας μια τεχνική SFF με robocasting³⁴⁵. Πρόσφατα, έχει αναφερθεί η παρασκευή ικριωμάτων πυριτικών βιοενεργών υάλων με τη χρήση μεθόδων SFF, όπως η robocasting³⁴⁶, η κατασκευή εξώθησης υψηλής ψύξης³⁴⁷ και η πυροσυσσωμάτωση με λέιζερ³⁴⁸. Στη μέθοδο robocasting, το ικρίωμα σχηματίζεται με την εκτύπωση ενός συμπυκνωμένου εναιωρήματος (μελάνι) μέσω μιας σύριγγας στενής διαμέτρου πάνω σε ένα υπόστρωμα χρησιμοποιώντας μια συσκευή ρομποτικής εναπόθεσης. Μετά την ξήρανση, η διαμορφωμένη δομή θερμαίνεται βραδέως (στους 700 °C για την ύαλο 6P53B) για να αποσυντεθεί η οργανική φάση και να συνδεθούν θερμικά τα σωματίδια. Η Εικόνα 7f δείχνει ένα

παράδειγμα ενός ικρίωματος βιοενεργούς υάλου 6P53B που σχηματίζεται με τη μέθοδο robocasting. Όπως φαίνεται στην εικόνα, αυτό το ικρίωμα έχει πορώδες 60%, δοκούς με διάμετρο 500 μm και πόρους πλάτους 500 μm, αλλά τόσο το πορώδες όσο και το πλάτος των πόρων μπορούν να ελεγχθούν μεταβάλλοντας το πάχος και την απόσταση των εξωθημένων ινών. Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό του ικρίωματος είναι το πυκνό 3-D δίκτυο της βιοενεργούς υάλου και η ομοιόμορφη μικροδομή, η οποία, όπως περιγράφεται παρακάτω, έχει ως αποτέλεσμα υψηλή αντοχή στη θλίψη, συγκρίσιμη με εκείνη του φλοιώδους οστού.

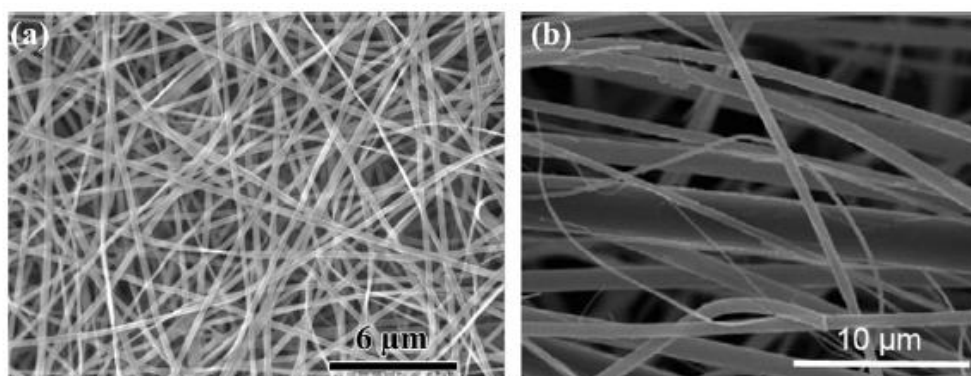
4.2 Βιοενεργά ικρίωματα που παράγονται με τη μέθοδο λύματος-πηκτής

Μια διαδικασία λύματος-πηκτής (sol-gel), η οποία περιλαμβάνει τον αφρισμό ενός κολλοειδούς διαλύματος με τη βοήθεια ενός επιφανειοδραστικού παράγοντα, ακολουθούμενη από αντιδράσεις συμπύκνωσης και ζελατινοποίησης, χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή πορωδών ικριωμάτων μερικών βιοενεργών υάλων, όπως η ύαλος 58S, με τη σύνθεση (mol %): 60SiO₂, 36CaO, 4P₂O₅³⁴⁹. Το συγκεκριμένο ικρίωμα έχει μια μικροδομή παρόμοια με αυτή του ξηρού ανθρώπινου δοκιδωτού οστού, αλλά η δομή του αποτελείται από διασυνδεδεμένους μακροπόρους (> 100 μm) που προκύπτουν από τη διεργασία αφρισμού και τους νανοπόρους (λιγότερο από μερικές δεκάδες νανόμετρα)³⁵⁰. Αυτή η δομή των πόρων του ικρίωματος ευνοεί την αλληλεπίδραση με τα κύτταρα καθώς μιμείται τη δομή των φυσικών ιστών και προσομοιώνει πιο πιστά ένα φυσιολογικό περιβάλλον. Λόγω των νανοπόρων στην ύαλο, τα ικρίωματα που προέρχονται από τη μέθοδο λύματος-πηκτής έχουν μεγάλη επιφάνεια (100-200 m²g⁻¹). Ως αποτέλεσμα, αυτά τα ικρίωματα αποικοδομούνται και μετατρέπονται ταχύτερα σε HA από ότι τα ίδιας σύνθεσης ικρίωματα υάλου που προέρχονται από τήγμα. Εντούτοις, αυτά τα ικρίωματα που προέρχονται από sol-gel διεργασία έχουν χαμηλή αντοχή (2-3 MPa)³⁵¹ και κατά συνέπεια είναι κατάλληλα μόνο για την αντικατάσταση οστού που φέρει χαμηλό φορτίο.

4.3 Βιοενεργά ικρίσματα που παράγονται με ηλεκτροσυσσωμάτωση

Μια πρόσφατη εξέλιξη στη Μηχανική Ιστών βασισμένη σε ικρίσματα είναι η χρήση της τεχνικής της ηλεκτροσυσσωμάτωσης (electrospinning) για τη δημιουργία ικριωμάτων νανοϊνών από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή τα οποία μιμούνται την ινώδη δομή της εξωκυτταρικής μήτρας. Η τεχνική εφαρμόζεται επίσης στον σχηματισμό ινών με διαμέτρους υπομικρομέτρου ή νανοκλίμακας και σε ικρίσματα νανοϊνών βιοενεργών υάλων³⁵². Λόγω της μεγάλης επιφάνειάς τους, οι νανοΐνες βιοενεργών υάλων αποικοδομούνται γρήγορα και μετατρέπονται σε ΗΑ.

Νανοϊνώδη ικρίσματα βιοενεργούς υάλου έχουν παρασκευαστεί με electrospinning οργανικών ή ανόργανων διαλυμάτων (Εικόνα 8a). Ένα μίγμα από ορθοπυριτικό τετρααιθύλιο και νιτρικό ασβέστιο, χρησιμοποιείται τυπικά ως το αρχικό διάλυμα για την παρασκευή υάλου 70S30C (70 mol% SiO₂, 30 mol% CaO) με τη μέθοδο sol-gel που περιεγράφηκε παραπάνω. Μετά το στάδιο της ηλεκτροσυσσωμάτωσης, τα κατασκευασμένα νανοϊνώδη ικρίσματα θερμαίνονται στους 600-700 °C για να αποσυντεθούν οι υπολειμματικές οργανικές ή ανόργανες ομάδες. Οι ίνες βιοενεργούς υάλου με διάμετρο στην κλίμακα μικρών έως υπομικρών, που παρασκευάζονται από ύαλο προερχόμενη από τήγμα, διατίθενται στο εμπόριο (Εικόνα 8b). Αυτό το υλικό, το οποίο είναι πολύ εύκαμπτο και έχει ταχεία αποικοδόμηση εξαιτίας της λεπτής διαμέτρου των ινών του, έχει πιθανές εφαρμογές στην αναγέννηση οστικών ελλειμμάτων που δε φέρουν φορτίο και την επούλωση μαλακών ιστών³⁵³.



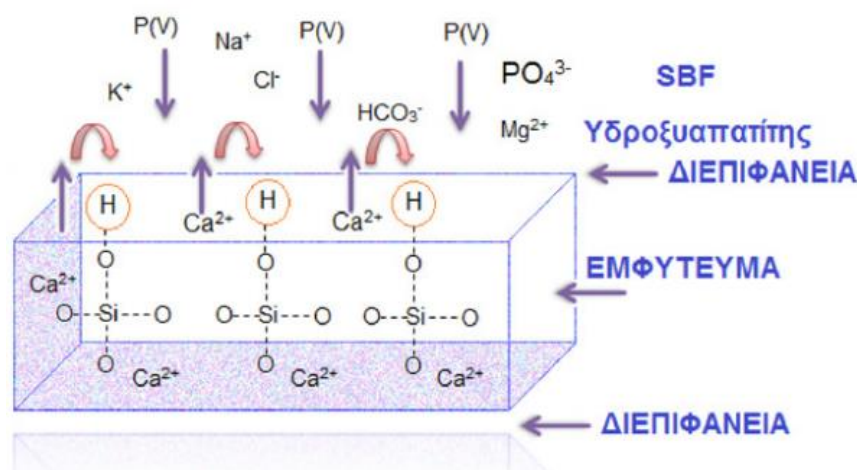
Εικόνα 8: Εικόνες SEM από βιοενεργή ύαλο νανοϊνών: (a) βοριοπυριτική ύαλος 13-93B1 με διαμέτρους νανοϊνών 150-450 nm που παρασκευάζεται με electrospinning ενός προδρόμου διαλύματος (C. Gao, Πανεπιστήμιο Shinshu, Ιαπωνία) και (b) βιοενεργή ύαλος με διάμετρο νανοϊνών 100-800 nm, παρασκευασμένη από τήγμα (Mo-Sci Corp., Rolla, MO, ΗΠΑ).

4.4 Χαρακτηριστικά in vitro των ικριωμάτων βιοενεργής υάλου

Τα in vitro χαρακτηριστικά των ικριωμάτων βιοενεργών υάλων, όπως ο ρυθμός αποικοδόμησης και η μετατροπή σε HA, η μηχανική απόκριση και η απόκριση στα κύτταρα, εξαρτώνται κυρίως από τη μέθοδο σύνθεσης της υάλου και τη μικροδομή (αρχιτεκτονική) των ικριωμάτων.

4.4.1 Αποικοδόμηση και μετατροπή σε υδροξυαπατίτη

Όπως περιεγράφηκε προηγουμένως, οι μηχανισμοί με τους οποίους αποικοδομούνται βιοενεργές πυριτικές, βοριοπυριτικές και βορικές υάλου και μετατρέπονται σε HA έχουν αποτελέσει αντικείμενο πολλών ερευνών. Ενώ τα γενικά μηχανικά χαρακτηριστικά πιστεύεται ότι είναι κατανοητά, η επίδραση της σύνθεσης της υάλου στη δομή του HA που σχηματίζεται παραμένει ασαφής. Τυπικά, η κινητική της αποικοδόμησης της υάλου και η μετατροπή σε HA in vitro έχουν εκτιμηθεί με εμφύπτιση της υάλου (σε μορφή σωματιδίων, δίσκου ή πορώδους ικριώματος) σε ένα υδατικό διάλυμα φωσφορικών, όπως SBF στους 37 °C, και μέτρηση της απώλειας βάρους της υάλου ως συνάρτηση του χρόνου. Επιπλέον, το προϊόν μετατροπής έχει χαρακτηριστεί χρησιμοποιώντας δομικές, χημικές και μικροχημικές τεχνικές.



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού σχηματισμού υδροξυαπατίτη σε επιφάνειες βιοενεργούς υάλου. Ιόντα ασβεστίου μεταφέρονται στο βιολογικό περιβάλλον και σχηματίζουν υδροξυαπατίτη, ο οποίος συνδέεται με τα οξυγόνα του πυριτίου και σχηματίζει τη διεπιφάνεια.

Τα πρώτα πέντε στάδια, που για τις πλέον βιοενεργές υάλους πραγματοποιούνται πολύ γρήγορα (σε 1-2 ώρες), μπορούν να παρατηρηθούνε φασματοσκοπικά σε *in vitro* μελέτες με διαλύματα SBF, Tris Buffer ακόμα και σε νερό. Μια σχηματική αναπαράσταση των βημάτων αυτών φαίνεται στην Εικόνα 9. Στο μηχανισμό βιοενεργότητας περιλαμβάνονται πέντε επιπλέον στάδια βιολογικών δράσεων (προσρόφηση βιολογικών τμημάτων στον ανθρακικό ΗΑ, δράση μακροφάγων, προσάρτηση οστεοβλαστών, διαφοροποίησή τους, δημιουργία μήτρας και κρυστάλλωσή της), τα οποία έπονται της διαδικασίας σχηματισμού απατίτη και αφορούν την αλληλεπίδραση της βιοενεργούς υάλου με τον βιολογικό ιστό για τον σχηματισμό δεσμού και μπορούν να μελετηθούν μόνο με *in vivo* μελέτες και κυτταροκαλλιέργειες³⁵⁴.

Επομένως, η βιοενεργότητα που παρατηρείται σε κάποιες βιουάλους έγκειται στην ικανότητά να σχηματίζουν στην επιφάνειά τους ένα βιολογικά ενεργό στρώμα φωσφορικού ασβεστίου όταν αυτές βρεθούν σε κάποιο βιολογικό ή προσομοιωμένο υγρό κατά τα *in vitro* πειράματα³⁵⁵. Ο βαθμός διάλυσης της υάλου μέσα στο προσομοιωμένο υγρό και το πάχος του στρώματος, συνήθως υποκατεστημένο με ανθρακικά ιόντα υδροξυαπατίτη που σχηματίζεται, επηρεάζονται από τη σύσταση της υάλου, το μέγεθος των σωματιδίων για υάλους σε μορφή σκόνη (ειδική επιφάνεια), την υφή και τη δομή της υάλου (πορώδες, χημική αποικοδόμηση, διευθέτηση των μορίων κλπ.) η οποία μπορεί να καθοριστεί από τον τρόπο σύνθεσής της (μέσω τήγματος, sol-gel κτλ.)³⁵⁶.

Το επίπεδο βιοενεργότητας ενός συγκεκριμένου υλικού σχετίζεται με τον χρόνο που απαιτείται για να συνδεθεί περισσότερο από το 50% της διεπιφάνειας του εμφυτεύματος με το οστό ($t_{0.5bb}$), σύμφωνα με τη σχέση:

$$I_B = \frac{100}{t_{0.5bb}}$$

Τα υλικά που παρουσιάζουν μια τιμή του $I_B > 8$, π.χ. η 45S5 ύαλος, μπορούν να συνδεθούν και με μαλακό και με σκληρό ιστό. Τα υλικά με τιμή του $0 < I_B < 8$, π.χ. ο συνθετικός υδροξυαπατίτης, συνδέεται μόνο με σκληρό ιστό.

Εάν ο χρόνος αντίδρασης είναι αρκετά μεγάλος για να κρυσταλλωθεί το προϊόν, το περιθλασιογράφημα ακτίνων X των προϊόντων συχνά δείχνει κορυφές που αντιστοιχούν στον HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Εντούτοις, η μικροχημική ανάλυση με μεθόδους φασματοσκοπίας ενεργειακής διασποράς για παράδειγμα, συχνά δείχνει έναν ελλειμματικό σε ασβέστιο HA του οποίου η αναλογία συγκεντρώσεων ιόντων Ca/P είναι μικρότερη από 1,67, δηλαδή από την τιμή του στοιχειομετρικού HA. Τα φάσματα υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier του υλικού εμφανίζουν συχνά συντονισμούς που αποδίδονται στις ομάδες ανθρακικού CO_3^{2-} .

Σε έναν μη στοιχειομετρικό απατίτη, ορισμένα από τα $(\text{PO}_4)_3$ ιόντα του HA είναι υποκατεστημένα από CO_3^{2-} , ως αποτέλεσμα του διαλυμένου CO_2 στο υδατικό διάλυμα φωσφορικών. Ωστόσο, δεν μπορεί να αποκλειστεί η παρουσία μιας λεπτής δεύτερης φάσης του CaCO_3 . Η αντικατάσταση του OH^- από CO_3^{2-} στον HA μπορεί να συμβεί κυρίως σε μη υδατικά συστήματα (1000°C), αλλά όχι σε υδατικά συστήματα ($25-100^\circ\text{C}$) ή βιολογικούς απατίτες. Μέχρι τη δεκαετία του '90, οι βιοενεργές υάλι παρασκευάζονταν παραδοσιακά με τη χρήση συμβατικών τεχνολογιών κατασκευής υάλων. Οι διαδικασίες αυτές όμως παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα, όπως είναι τα χαμηλά επίπεδα καθαρότητας, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που συνδέονται με την τήξη και ομογενοποίηση, η χαμηλή περιεκτικότητα πυριτίου καθώς και η υψηλή περιεκτικότητα αλκαλίων που χαρακτηρίζουν τις βιοενεργές υάλους οι οποίες παρασκευάζονται με τις συμβατικές αυτές τεχνικές. Σήμερα, υπάρχουν διάφορα είδη παρασκευής βιοενεργών υάλων, μεταξύ των οποίων αυτές που εφαρμόζονται εκτενέστερα είναι η μέθοδος της απότομης ψύξης (quenching) και η μέθοδος λύματος-πήκτης (sol-gel).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι βιοδραστικές ύαλοι με διάφορες συνθέσεις χρησιμοποιούνται τώρα για ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών. Οι βιοδραστικές ύαλοι έχουν εξελιχθεί σε ένα χώρο ενδιαφέροντος για τους ερευνητές και η έρευνα συνεχίζεται σε διάφορες πτυχές αυτών των υάλων. Με τις τρέχουσες εφαρμογές τους, ένα λαμπρό μέλλον αυτών των υάλων στον τομέα της ιατρικής και της οδοντιατρικής μπορεί εύκολα να προβλεφθεί.

Η αναζήτηση των συνθετικών υλικών που θα χρησιμοποιηθούν ιδιαίτερα στην Μηχανική Ιστών, επεκτάθηκε με τεράστιο ρυθμό τα προηγούμενα χρόνια. Εντούτοις, οι σημαντικές απαιτήσεις για τα ληφθέντα ικρίωματα έχουν οδηγήσει σε δυσκολίες στην απόκτηση κλινικών σχετικών κατασκευών. Ένα βέλτιστο ικρίωμα θα πρέπει να είναι: 1) βιοαποικοδομήσιμο, 2) οστεοαγωγίμο ή κατά προτίμηση οστεοεπαγωγικό, 3) πορώδες (μέγεθος πόρου > 100 μm και πορώδες > 70%), 4) κατασκευασμένο με αναπαραγωγίμο τρόπο και 5) μηχανικά σταθερό. Η μεγάλη πρόκληση στη μηχανική των οστικών ιστών είναι η ανάπτυξη ενός υλικού που θα έχει μια εξαιρετικά πορώδη δομή (με μεγάλους πόρους) ενώ θα έχει μηχανικές ιδιότητες παρόμοιες με το οστό που αποκαθίσταται. Από την ανακάλυψη της βιοδραστικής υάλου από τον L.L. Hench, το υλικό αυτό, που παρουσιάζει όχι μόνο οστεοαγωγιμότητα αλλά και οστεοεπαγωγικότητα, έχει προσελκύσει πολλά ενδιαφέροντα στον τομέα της οστικής μηχανικής ιστών αλλά όχι μόνο. Πράγματι, οι τυπικές πυριτικές βιοδραστικές ύαλοι απέδειξαν ότι συνδέονται με τα οστά πιο αποτελεσματικά από οποιαδήποτε άλλα συνθετικά υλικά³⁵⁷. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ταχέως ότι το εξαιρετικά διαταραγμένο δίκτυο πυριτίου των βιοδραστικών υάλων αναστέλλει την κατάλληλη πυροσυσσώματωση σε θερμοκρασία κάτω από την κρυστάλλωση του³⁵⁸. Η κρυστάλλωση των βιοδραστικών υάλων βρέθηκε ότι μειώνει το ρυθμό σχηματισμού της στοιβάδας υδροξυαπατίτη αλλά δεν την καταστέλλει πλήρως³⁵⁹. Οι Peitl et al.³⁶⁰ απέδειξαν ότι ακόμη και μειωμένη, η βιοδραστικότητα μιας πλήρους κρυσταλλωμένης βιοδραστικής υάλου 45S5 παραμένει υψηλότερη από ό, τι για καθαρά κεραμικά A / W³⁶⁰. Παρ' όλα αυτά, οι βιοδραστικές ύαλοι ισχυρίζονται ότι έχουν μεγάλες δυνατότητες λόγω της ικανότητάς τους να απελευθερώνουν ιόντα ευεργετικά αλλά χωρίς περιορισμό, για την επούλωση πληγών και τον σχηματισμό οστών έχοντας αντιμικροβιακές ιδιότητες³⁶¹. Εντούτοις, σημειώνεται ότι η ξεχωριστή έκπλυση ιόντων

είναι λιγότερο προβλέψιμη σε πλήρως ή μερικώς κρυσταλλωμένες υάλους καθώς η απελευθέρωση ιόντων θα εξαρτάται από την κρυσταλλική φάση, το περιεχόμενο, τη διαστασιολόγηση και την εισαγωγή ως προς τη σύνθεση της υπόλοιπης άμορφης φάσης. Επιπλέον, ο μηχανισμός διάλυσης των τυπικών βιοδραστικών υάλων, που μελετήθηκε ευρέως από τους Hench et al.³⁶² για το γυαλί 45S56 και Andersson et al.³⁶³ για το γυαλί S53P4,7, αναφέρεται ότι δεν είναι σύμφωνος. Μια τέτοια διάλυση, η οποία οδήγησε στο σχηματισμό ενός πλούσιου στρώματος σε SiO₂, βρέθηκε ότι οδήγησε στο να παραμείνει πίσω από το γυαλί, χωρίς να αντιδράσει, στο χειρουργικό σημείο ακόμα και 14 χρόνια μετά τη χειρουργική επέμβαση³⁶⁴. Ενώ τα προϊόντα υάλου με διοξείδιο του πυριτίου (BonAlive®, Bioglass®, Vitryxx®) έχουν σημαντικές εφαρμογές σε ένα ευρύ φάσμα που κυμαίνεται από τα καλλυντικά μέχρι την αναγέννηση των οστών, πρέπει να ξεπεραστούν μερικά από τα μειονεκτήματα των υπαρχόντων βιοδραστικών υάλων.

Πρόσφατα, πολλή προσπάθεια επικεντρώθηκε σε νέους τύπους υάλων όπως οι βιοδραστικές φωσφορικές, οι βοροφωσφορικές και οι βοριοπυριτικές υάλιοι. Αυτές οι υάλιοι είναι υποσχόμενα βιοϋλικά και βρέθηκαν να σχηματίζονται θερμά χωρίς σημαντική κρυσταλλοποίηση. Οι εργασίες έχουν εκτελεστεί από τους Ahmed et al.³⁶⁵ για να αποδειχθεί η δυνατότητα των φωσφορικών υάλων να αποτελούν βιοαποικοδομήσιμα και βιοδραστικά υλικά καθώς και η ικανότητά τους να έλκονται σε ίνες για υλικά ικρίωματος^{365,366}. Φωσφορικό ασβέστιο, φωσφορικό άλας σιδήρου, φωσφορικό τιτάνιο και οι υάλιοι φωσφορικού στροντίου, που ελήφθησαν ως παράδειγμα, απέδειξαν ότι παρουσιάζουν αντιμικροβιακές ιδιότητες^{367,368}. Μια εκτεταμένη ανασκόπηση από τους Rahaman et al.³⁶⁹ δείχνει ότι οι βοριοπυριτικές υάλιοι έχουν μεγάλες δυνατότητες στην τεχνική ιστών που σχετίζονται με τη γρήγορη και πληρέστερη μετατροπή τους σε υδροξυαπατίτη από ότι το τυπικό βιοδραστικό γυαλί με βάση το διοξείδιο του πυριτίου³⁶⁹. Η κύρια ανησυχία των υάλων που περιέχουν βορικά ήταν η τοξικότητα.

Ανεξάρτητα από τη βιοδραστική σύνθεση της υάλου που μελετήθηκε, διάφορες τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ικρίωμάτων, ακόμα και σε εφαρμογές που δεν φέρουν φορτίο. Έχουν αναπτυχθεί πολλά ικρίωματα που πληρούν τις απαιτήσεις για εφαρμογή χωρίς φορτίο. Οι Jones et al. για παράδειγμα ανέπτυξαν ικρίωμα με περισσότερο από 80% πορώδες και μέγεθος πόρου από 100 έως 500 μm χρησιμοποιώντας ένα γυαλί sol-gel³⁷⁰. Ικρίωματα που ελήφθησαν από την

αναπαραγωγή πολυμερούς αφρού διαφόρων βιοδραστικών υάλων με βάση το διοξείδιο του πυριτίου επιτεύχθηκαν με επιτυχία από διάφορους επιστήμονες³⁷¹. Τέλος, οι στερεές ελεύθερες μορφές που εκτελούνται από τους Fu et al.³⁷² παρουσιάζουν επίσης ελπιδοφόρα αποτελέσματα³⁷³. Τυπικά, η θερμική συγκόλληση των σωματιδίων ή των ινών οδήγησε σε ικρίωματα με πορώδες μικρότερο από 70%^{374,375}. Σύμφωνα με τις εφαρμογές που φέρουν φορτίο, τα ικρίωματα που αναπτύχθηκαν από τους Bairo et al.³⁷⁶ και τους Huang et al.³⁷⁷, και έχουν παρασταθεί παρά το γεγονός ότι έχουν μηχανικές ιδιότητες παρόμοιες με το φλοιώδες οστό, έχουν πορώδες <50% που περιορίζει το κλινικό τους δυναμικό^{376,377}. Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι για να ληφθεί ένα στερεό ικρίωμα σε όλες τις δοκιμασμένες τεχνικές, είναι απαραίτητο ένα βήμα πυροδότησης και πυροσυσσωμάτωσης. Στις περισσότερες περιπτώσεις η πυροσυσσωμάτωση οδηγεί σε ικρίωματα μερικώς έως πλήρως κρυσταλλωμένα. Επιπλέον, η χρήση βιοδραστικών υάλων και γυάλινων κεραμικών περιορίζεται επίσης από τις δυσκολίες χειρισμού τους λόγω της εύθραυστης φύσης τους.

Ως εκ τούτου, μία από τις προκλήσεις στην τεχνική ιστών είναι η ανάπτυξη βιοδραστικών ικριωμάτων που μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία με ελεγχόμενη αποικοδόμηση και με πλήρη μετατροπή σε ένα αντιδραστικό στρώμα φωσφορικού ασβεστίου που θα επιτρέψει την προσκόλληση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Το ικρίωμα θα πρέπει να έχει μηχανικές ιδιότητες κοντά στον ιστό που πρόκειται να αντικατασταθεί έχοντας επαρκές πορώδες για τη μετανάστευση των κυττάρων και την αγγειογένεση. Είναι απίθανο ένα μόνο υλικό να λύσει αυτήν την πρόκληση της μηχανικής. Είναι επομένως υψίστης σημασίας η ανάπτυξη νέων βιοδραστικών υλικών που μπορούν να ικανοποιήσουν την ανάγκη βιοδιασπασιμότητας, οστεοαγωγιμότητας και ελεγχόμενης αποικοδόμησης και να τα συνδυάσουν με φυσικά ή συνθετικά πολυμερή τα οποία θα παρέχουν ευκολότερο χειρισμό του σύνθετου υλικού.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Μπουρόπουλος, Ν. (2008). «Σημειώσεις Επιστήμης Υλικών IV - Εισαγωγή στα Βιοϋλικά», Τμήμα Επιστήμης των Υλικών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.
2. Patel, N. R., & Gohil, P. P. (2012). A review on biomaterials: scope, applications & human anatomy significance. *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 2(4), 91-101.
3. Κατερινοπούλου, Α. (2008). Σύνθεση, δομή και ιδιότητες βιοενεργών υάλων SiO₂-MO (M= Ca, Mg) και SiO₂-CaO-P₂O₅ (Doctoral dissertation).
4. A.M.M. Abdulrazzaq, «An in vitro study of genotoxicity of locally produced bovine pericardium», School of Dental Sciences, Health Campus, University of Sains Malaysia, 2007
5. A.M.M. Abdulrazzaq, «An in vitro study of genotoxicity of locally produced bovine pericardium», School of Dental Sciences, Health Campus, University of Sains Malaysia, 2007
6. Patel, N. R., & Gohil, P. P. (2012). A review on biomaterials: scope, applications & human anatomy significance. *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 2(4), 91-101.
7. Vacanti, J. P. (2003). Tissue and organ engineering: can we build intestine and vital organs?. *Journal of gastrointestinal surgery*, 7(7), 831-835.
8. Babensee, J. E., McIntire, L. V., & Mikos, A. G. (2000). Growth factor delivery for tissue engineering. *Pharmaceutical research*, 17(5), 497-504.
9. Rahaman, M. N., & Mao, J. J. (2005). Stem cell-based composite tissue constructs for regenerative medicine. *Biotechnology and bioengineering*, 91(3), 261-284.
10. Hutmacher, D. W. (2001). Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues—state of the art and future perspectives. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 12(1), 107-124.
11. Lu, H. H., El-Amin, S. F., Scott, K. D., & Laurencin, C. T. (2003). Three-dimensional, bioactive, biodegradable, polymer–bioactive glass composite scaffolds with improved mechanical properties support collagen synthesis and mineralization of human osteoblast-like cells in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials*, 64(3), 465-474.
12. Witte, F., Kaese, V., Haferkamp, H., Switzer, E., Meyer-Lindenberg, A., Wirth, C. J., & Windhagen, H. (2005). In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*, 26(17), 3557-3563.
13. LeGeros, R. Z., & Legeros, J. P. (1984). Phosphate minerals in human tissues. In *Phosphate minerals* (pp. 351-385). Springer, Berlin, Heidelberg.
14. Klein, C. P., Patka, P., & Den Hollander, W. (1989). Macroporous calcium phosphate bioceramics in dog femora: a histological study of interface and biodegradation. *Biomaterials*, 10(1), 59-62.

15. Martin, R. B., Chapman, M. W., Sharkey, N. A., Zissimos, S. L., Bay, B., & Shors, E. G. (1993). Bone ingrowth and mechanical properties of coralline hydroxyapatite 1 yr after implantation. *Biomaterials*, 14(5), 341-348.
16. Johnson, A. J. W., & Herschler, B. A. (2011). A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair. *Acta biomaterialia*, 7(1), 16-30.
17. Yamamuro, T., Hench, L. L., & Wilson, J. (Eds.). (1990). *CRC handbook of bioactive ceramics: calcium phosphate and hydroxylapatite ceramics*. CRC Press.
18. Giwa S., Lewis J. K., Alvarez L., et al. The promise of organ and tissue preservation to transform medicine. *Nature Biotechnology*. 2017;35(6):530–542. doi: 10.1038/nbt.3889. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
19. Jones B., Bes M. Keeping kidneys. *Bulletin of the World Health Organization*. 2012;90(10):718–719. doi: 10.2471/BLT.12.021012. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
20. Colvin M., Smith J. M., Skeans M. A., et al. OPTN/SRTR 2015 annual data report: heart. *American Journal of Transplantation*. 2017;17(Supplement 1):286–356. doi: 10.1111/ajt.14128.
21. Ott H. C., Matthiesen T. S., Goh S. K., et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature’s platform to engineer a bioartificial heart. *Nature Medicine*. 2008;14(2):213–221. doi: 10.1038/nm1684. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
22. Atala A. Advances in tissue and organ replacement. *Current Stem Cell Research & Therapy*. 2008;3(1):21–31. doi: 10.2174/157488808783489435. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
23. Mendelson A., Frenette P. S. Hematopoietic stem cell niche maintenance during homeostasis and regeneration. *Nature Medicine*. 2014;20(8):833–846. doi: 10.1038/nm.3647. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
24. Bailey A. M., Mendicino M., Au P. An FDA perspective on preclinical development of cell-based regenerative medicine products. *Nature Biotechnology*. 2014;32(8):721–723. doi: 10.1038/nbt.2971.
25. Tang X. L., Li Q., Rokosh G., et al. Long-term outcome of administration of c-kitPOS cardiac progenitor cells after acute myocardial infarction: transplanted cells do not become cardiomyocytes, but structural and functional improvement and proliferation of endogenous cells persist for at least one year. *Circulation Research*. 2016;118(7):1091–1105. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.307647. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
26. Lo D. J., Kaplan B., Kirk A. D. Biomarkers for kidney transplant rejection. *Nature Reviews Nephrology*. 2014;10(4):215–225. doi: 10.1038/nrneph.2013.281. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
27. Wood K. J., Goto R. Mechanisms of rejection: current perspectives. *Transplantation*. 2012;93(1):1–10. doi: 10.1097/TP.0b013e31823cab44. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

28. Chapman J. R. Seeking to close the loopholes in transplant tourism and organ trafficking. *Transplantation*. 2018;102(1):11–12.
doi: 10.1097/TP.0000000000001955. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
29. Mogaka J. J. O., Mupara L., Tsoka-Gwegweni J. M. Ethical issues associated with medical tourism in Africa. *Journal of Market Access & Health Policy*. 2017;5(1, article 1309770) doi: 10.1080/20016689.2017.1309770. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
30. Steering Committee of the Istanbul Summit. Organ trafficking and transplant tourism and commercialism: the declaration of Istanbul. *The Lancet*. 2008;372(9632):5–6.
doi: 10.1016/S0140-6736(08)60967-8. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
31. International Summit on Transplant Tourism and Organ Trafficking. The declaration of Istanbul on organ trafficking and transplant tourism. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*. 2010;21(1):138–147. [PubMed] [Google Scholar]
32. Evans R. W., Manninen D. L., Garrison LP, Maier A. M. Donor availability as the primary determinant of the future of heart transplantation. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1986;255(14):1892–1898. doi: 10.1001/jama.1986.03370140090030. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
33. Manninen D. L., Evans R. W. Public attitudes and behavior regarding organ donation. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1985;253(21):3111–3115. doi: 10.1001/jama.1985.03350450083026. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
34. Gill J., Rose C., Lesage J., Joffres Y., Gill J., O'Connor K. Use and outcomes of kidneys from donation after circulatory death donors in the united states. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2017;28(12):3647–3657. doi: 10.1681/ASN.2017030238. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
35. Resnick S., Seamon M. J., Holena D., Pascual J., Reilly P. M., Martin N. D. Early declaration of death by neurologic criteria results in greater organ donor potential. *Journal of Surgical Research*. 2017;218:29–34. doi: 10.1016/j.jss.2017.05.032. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
36. Collin M., Karpelowsky J., Thomas G. Pediatric transplantation: an international perspective. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2017;26(4):272–277.
doi: 10.1053/j.sempedsurg.2017.07.003.
37. Maggiore U., Oberbauer R., Pascual J., et al. Strategies to increase the donor pool and access to kidney transplantation: an international perspective. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2015;30(2):217–222. doi: 10.1093/ndt/gfu212. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
38. Francipane M. G., Lagasse E. Toward organs on demand: breakthroughs and challenges in models of organogenesis. *Current Pathobiology Reports*. 2016;4(3):77–85. doi: 10.1007/s40139-016-0111-9. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

39. Shafiee A., Atala A. Tissue engineering: toward a new era of medicine. *Annual Review of Medicine*. 2017;68(1):29–40. doi: 10.1146/annurev-med-102715-092331. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
40. Orlando G., di Cocco P., D'Angelo M., Clemente K., Famulari A., Pisani F. Regenerative medicine applied to solid organ transplantation: where do we stand? *Transplantation Proceedings*. 2010;42(4):1011–1013. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.03.066. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
41. Pareta R., Sanders B., Babbar P., et al. Immunoisolation: where regenerative medicine meets solid organ transplantation. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2012;8(7):685–692. doi: 10.1586/eci.12.64. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
42. Gao G., Cui X. Three-dimensional bioprinting in tissue engineering and regenerative medicine. *Biotechnology Letters*. 2016;38(2):203–211. doi: 10.1007/s10529-015-1975-1. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
43. Guan X., Avci-Adali M., Alarcin E., et al. Development of hydrogels for regenerative engineering. *Biotechnology Journal*. 2017;12(5) doi: 10.1002/biot.201600394. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
44. Kraeutler M. J., Belk J. W., Purcell J. M., McCarty E. C. Microfracture versus autologous chondrocyte implantation for articular cartilage lesions in the knee: a systematic review of 5-year outcomes. *The American Journal of Sports Medicine*. 2017;46(4):995–999. doi: 10.1177/0363546517701912. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
45. Mistry H., Connock M., Pink J., et al. Autologous chondrocyte implantation in the knee: systematic review and economic evaluation. *Health Technology Assessment*. 2017;21(6):1–294. doi: 10.3310/hta21060. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
46. Guex A. G., Kocher F. M., Fortunato G., et al. Fine-tuning of substrate architecture and surface chemistry promotes muscle tissue development. *Acta Biomaterialia*. 2012;8(4):1481–1489. doi: 10.1016/j.actbio.2011.12.033. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
47. Mao A. S., Mooney D. J. Regenerative medicine: current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(47):14452–14459. doi: 10.1073/pnas.1508520112. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
48. Alves da Silva M., Martins A., Costa-Pinto A. R., et al. Electrospun nanofibrous meshes cultured with Wharton's jelly stem cell: an alternative for cartilage regeneration, without the need of growth factors. *Biotechnology Journal*. 2017;12(12) doi: 10.1002/biot.201700073.
49. Pina S., Canadas R. F., Jimenez G., et al. Biofunctional ionic-doped calcium phosphates: silk fibroin composites for bone tissue engineering scaffolding. *Cells, Tissues, Organs*. 2017;204(3-4):150–163. doi: 10.1159/000469703.

50. Goncalves A. I., Rodrigues M. T., Gomes M. E. Tissue-engineered magnetic cell sheet patches for advanced strategies in tendon regeneration. *Acta Biomaterialia*. 2017;63:110–122. doi: 10.1016/j.actbio.2017.09.014.
51. Drowley L., Koonce C., Peel S., et al. Human induced pluripotent stem cell-derived cardiac progenitor cells in phenotypic screening: a transforming growth factor- β type 1 receptor kinase inhibitor induces efficient cardiac differentiation. *Stem Cells Translational Medicine*. 2016;5(2):164–174. doi: 10.5966/sctm.2015-0114. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
52. Dzobo K., Turnley T., Wishart A., et al. Fibroblast-derived extracellular matrix induces chondrogenic differentiation in human adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells in vitro. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(8) doi: 10.3390/ijms17081259
53. Sadtler K., Singh A., Wolf M. T., Wang X., Pardoll D. M., Elisseeff J. H. Design, clinical translation and immunological response of biomaterials in regenerative medicine. *Nature Reviews Materials*. 2016;1(7) doi: 10.1038/natrevmats.2016.40. [CrossRef] [Google Scholar]
54. Atala A. Regenerative medicine strategies. *Journal of Pediatric Surgery*. 2012;47(1):17–28. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2011.10.013. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
55. Kotton D. N., Morrisey E. E. Lung regeneration: mechanisms, applications and emerging stem cell populations. *Nature Medicine*. 2014;20(8):822–832. doi: 10.1038/nm.3642. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
56. Witten C. M., McFarland R. D., Simek S. L. Concise review: the U.S. Food and Drug Administration and regenerative medicine. *Stem Cells Translational Medicine*. 2015;4(12):1495–1499. doi: 10.5966/sctm.2015-0098. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
57. Fisher M. B., Mauck R. L. Tissue engineering and regenerative medicine: recent innovations and the transition to translation. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2013;19(1):1–13. doi: 10.1089/ten.teb.2012.0723. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
58. Harrison R. H., St-Pierre J. P., Stevens M. M. Tissue engineering and regenerative medicine: a year in review. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2014;20(1):1–16. doi: 10.1089/ten.teb.2013.0668. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
59. Barrientos S., Brem H., Stojadinovic O., Tomic-Canic M. Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2014;22(5):569–578. doi: 10.1111/wrr.12205. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
60. Jiang B., Zhang G., Brey E. M. Dual delivery of chlorhexidine and platelet-derived growth factor-BB for enhanced wound healing and infection control. *Acta Biomaterialia*. 2013;9(2):4976–4984. doi: 10.1016/j.actbio.2012.10.005. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
61. Moser P. T., Ott H. C. Recellularization of organs: what is the future for solid organ transplantation? *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2014;19(6):603–609. doi: 10.1097/MOT.000000000000131. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

62. Orlando G., Baptista P., Birchall M., et al. Regenerative medicine as applied to solid organ transplantation: current status and future challenges. *Transplantation*. 2011;24(3):223–232. doi: 10.1111/j.1432-2277.2010.01182.x. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
63. Pierce G. F., Mustoe T. A., Altrock B. W., Deuel T. F., Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *Journal of Cellular Biochemistry*. 1991;45(4):319–326. doi: 10.1002/jcb.240450403. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
64. Saris D. B. F., Vanlauwe J., Victor J., et al. Treatment of symptomatic cartilage defects of the knee: characterized chondrocyte implantation results in better clinical outcome at 36 months in a randomized trial compared to microfracture. *The American Journal of Sports Medicine*. 2009;37(1_Supplement):10–19. doi: 10.1177/0363546509350694. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
65. Nsair A., Schenke-Layland K., van Handel B., et al. Characterization and therapeutic potential of induced pluripotent stem cell-derived cardiovascular progenitor cells. *PLoS One*. 2012;7(10, article e45603) doi: 10.1371/journal.pone.0045603. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
66. Travis T. E., Mauskar N. A., Mino M. J., et al. Commercially available topical platelet-derived growth factor as a novel agent to accelerate burn-related wound healing. *Journal of Burn Care & Research*. 2014;35(5):e321–e329. doi: 10.1097/BCR.0000000000000013. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
67. Zhong J., Wang S., Shen W. B., Kaushal S., Yang P. The current status and future of cardiac stem/progenitor cell therapy for congenital heart defects from diabetic pregnancy. *Pediatric Research*. 2017;83(1-2):275–282. doi: 10.1038/pr.2017.259. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
68. Do A. V., Khorsand B., Geary S. M., Salem A. K. 3D printing of scaffolds for tissue regeneration applications. *Advanced Healthcare Materials*. 2015;4(12):1742–1762. doi: 10.1002/adhm.201500168.
69. Murphy S. V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology*. 2014;32(8):773–785. doi: 10.1038/nbt.2958. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
70. Nakamura M., Iwanaga S., Henmi C., Arai K., Nishiyama Y. Biomatrices and biomaterials for future developments of bioprinting and biofabrication. *Biofabrication*. 2010;2(1, article 014110) doi: 10.1088/1758-5082/2/1/014110.
71. 138. Chhaya M. P., Poh P. S., Balmayor E. R., van Griensven M., Schantz J. T., Huttmacher D. W. Additive manufacturing in biomedical sciences and the need for definitions and norms. *Expert Review of Medical Devices*. 2015;12(5):537–543. doi: 10.1586/17434440.2015.1059274. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
72. Tack P., Victor J., Gemmel P., Annemans L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review. *Biomedical Engineering Online*. 2016;15(1):p. 115. doi: 10.1186/s12938-016-0236-4.

73. Kurup H. K., Samuel B. P., Vettukattil J. J. Hybrid 3D printing: a game-changer in personalized cardiac medicine? *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2015;13(12):1281–1284. doi: 10.1586/14779072.2015.1100076. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
74. Melchiorri A. J., Hibino N., Best C. A., et al. 3D-printed biodegradable polymeric vascular grafts. *Advanced Healthcare Materials*. 2016;5(3):319–325. doi: 10.1002/adhm.201500725.
75. Atala A. Engineering tissues, organs and cells. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2007;1(2):83–96. doi: 10.1002/term.18. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
76. Xin T., Greco V., Myung P. Hardwiring stem cell communication through tissue structure. *Cell*. 2016;164(6):1212–1225. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.041. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
77. Yannas I. V. Emerging rules for inducing organ regeneration. *Biomaterials*. 2013;34(2):321–330. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.006. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
78. Badylak S. F., Taylor D., Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2011;13(1):27–53. doi: 10.1146/annurev-bioeng-071910-124743. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
79. Guyette J. P., Gilpin S. E., Charest J. M., Tapias L. F., Ren X., Ott H. C. Perfusion decellularization of whole organs. *Nature Protocols*. 2014;9(6):1451–1468. doi: 10.1038/nprot.2014.097. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
80. Bourguin P. E., Pippenger B. E., Todorov A., Jr, Tchang L., Martin I. Tissue decellularization by activation of programmed cell death. *Biomaterials*. 2013;34(26):6099–6108. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.04.058. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
81. Carvalho J. L., Herthel de Carvalho P., Gomes D. A., Goes A. M. Characterization of decellularized heart matrices as biomaterials for regular and whole organ tissue engineering and initial in-vitro recellularization with IPS cells. *Journal of Tissue Science & Engineering*. 2012;S11 doi: 10.4172/2157-7552.S11-002. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
82. Choi Y. C., Choi J. S., Kim B. S., Kim J. D., Yoon H. I., Cho Y. W. Decellularized extracellular matrix derived from porcine adipose tissue as a xenogeneic biomaterial for tissue engineering. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2012;18(11):866–876. doi: 10.1089/ten.tec.2012.0009. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
83. Crapo P. M., Gilbert T. W., Badylak S. F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32(12):3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
84. Destefani A. C., Sirtoli G. M., Nogueira B. V. Advances in the knowledge about kidney decellularization and repopulation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2017;5:p. 34. doi: 10.3389/fbioe.2017.00034. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

85. Gonfiotti A., Jaus M. O., Barale D., et al. The first tissue-engineered airway transplantation: 5-year follow-up results. *The Lancet*. 2014;383(9913):238–244. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62033-4. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
86. He M., Callanan A. Comparison of methods for whole-organ decellularization in tissue engineering of bioartificial organs. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2013;19(3):194–208. doi: 10.1089/ten.teb.2012.0340. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
87. Quint C., Kondo Y., Manson R. J., Lawson J. H., Dardik A., Niklason L. E. Decellularized tissue-engineered blood vessel as an arterial conduit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(22):9214–9219. doi: 10.1073/pnas.1019506108. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
88. Shin'oka T., Matsumura G., Hibino N., et al. Midterm clinical result of tissue-engineered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2005;129(6):1330–1338. doi: 10.1016/j.jtcvs.2004.12.047. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
89. Tondreau M. Y., Laterreur V., Gauvin R., et al. Mechanical properties of endothelialized fibroblast-derived vascular scaffolds stimulated in a bioreactor. *Acta Biomaterialia*. 2015;18:176–185. doi: 10.1016/j.actbio.2015.02.026. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
90. Fu R. H., Wang Y. C., Liu S. P., et al. Decellularization and recellularization technologies in tissue engineering. *Cell Transplantation*. 2014;23(4-5):621–630. doi: 10.3727/096368914X678382. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
91. Zia S., Mozafari M., Natasha G., Tan A., Cui Z., Seifalian A. M. Hearts beating through decellularized scaffolds: whole-organ engineering for cardiac regeneration and transplantation. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2016;36(4):705–715. doi: 10.3109/07388551.2015.1007495.
92. Murphy M. B., Moncivais K., Caplan A. I. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Experimental & Molecular Medicine*. 2013;45(11):p. e54. doi: 10.1038/emm.2013.94.
93. Shim J. H., Kim J. Y., Park M., Park J., Cho D. W. Development of a hybrid scaffold with synthetic biomaterials and hydrogel using solid freeform fabrication technology. *Biofabrication*. 2011;3(3, article 034102) doi: 10.1088/1758-5082/3/3/034102. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
94. Atala A. Engineering organs. *Current Opinion in Biotechnology*. 2009;20(5):575–592. doi: 10.1016/j.copbio.2009.10.003. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
95. Giannitelli S. M., Accoto D., Trombetta M., Rainer A. Current trends in the design of scaffolds for computer-aided tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 2014;10(2):580–594. doi: 10.1016/j.actbio.2013.10.024. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
96. Yang S., Leong K. F., Du Z., Chua C. K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Engineering*. 2001;7(6):679–689. doi: 10.1089/107632701753337645.

97. Agrawal A., Rahbar N., Calvert P. D. Strong fiber-reinforced hydrogel. *Acta Biomaterialia*. 2013;9(2):5313–5318. doi: 10.1016/j.actbio.2012.10.011.
98. Drury J. L., Mooney D. J. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*. 2003;24(24):4337–4351. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00340-5. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
99. Elisseeff J., Puleo C., Yang F., Sharma B. Advances in skeletal tissue engineering with hydrogels. *Orthodontics and Craniofacial Research*. 2005;8(3):150–161. doi: 10.1111/j.1601-6343.2005.00335.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
100. Patterson J. T., Gilliland T., Maxfield M. W., et al. Tissue-engineered vascular grafts for use in the treatment of congenital heart disease: from the bench to the clinic and back again. *Regenerative Medicine*. 2012;7(3):409–419. doi: 10.2217/rme.12.12. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
101. Benoit D. S. W., Schwartz M. P., Durney A. R., Anseth K. S. Small functional groups for controlled differentiation of hydrogel-encapsulated human mesenchymal stem cells. *Nature Materials*. 2008;7(10):816–823. doi: 10.1038/nmat2269. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
102. Cui X., Breitenkamp K., Finn M. G., Lotz M., D'Lima D. D. Direct human cartilage repair using three-dimensional bioprinting technology. *Tissue Engineering Part A*. 2012;18(11-12):1304–1312. doi: 10.1089/ten.tea.2011.0543. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
103. Hermann C. D., Wilson D. S., Lawrence K. A., et al. Rapidly polymerizing injectable click hydrogel therapy to delay bone growth in a murine re-synostosis model. *Biomaterials*. 2014;35(36):9698–9708. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.07.065. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
104. Smeriglio P., Lai J. H., Yang F., Bhutani N. 3D hydrogel scaffolds for articular chondrocyte culture and cartilage generation. *Journal of Visualized Experiments*. 2015;(104, article e53085) doi: 10.3791/53085. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
105. Dahl S. L. M., Kypson A. P., Lawson J. H., et al. Readily available tissue-engineered vascular grafts. *Science Translational Medicine*. 2011;3(68, article 68ra9) doi: 10.1126/scitranslmed.3001426. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
106. Lee K., Silva E. A., Mooney D. J. Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments. *Journal of the Royal Society Interface*. 2010;8(55):153–170. doi: 10.1098/rsif.2010.0223. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
107. Obregon F., Vaquette C., Ivanovski S., Hutmacher D. W., Bertassoni L. E. Three-dimensional bioprinting for regenerative dentistry and craniofacial tissue engineering. *Journal of Dental Research*. 2015;94(9_Supplement):143s–152s. doi: 10.1177/0022034515588885. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
108. Dzobo K., Vogelsang M., Parker M. I. Wnt/ β -catenin and MEK-ERK signaling are required for fibroblast-derived extracellular matrix-mediated endoderm differentiation of embryonic stem cells. *Stem Cell Reviews*. 2015;11(5):761–773. doi: 10.1007/s12015-015-9598-4. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

109. Atala A., Bauer S. B., Soker S., Yoo J. J., Retik A. B. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *The Lancet*. 2006;367(9518):1241–1246. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68438-9. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
110. Hakenberg O. W. Re: tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *European Urology*. 2006;50(2):382–383. doi: 10.1016/j.eururo.2006.05.030. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
111. Kolambkar Y. M., Dupont K. M., Boerckel J. D., et al. An alginate-based hybrid system for growth factor delivery in the functional repair of large bone defects. *Biomaterials*. 2011;32(1):65–74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.08.074. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
112. Sun W., Darling A., Starly B., Nam J. Computer-aided tissue engineering: overview, scope and challenges. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2004;39(1):29–47. doi: 10.1042/BA20030108. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
113. Ajallouei F., Lim M. L., Lemon G., et al. Biomechanical and biocompatibility characteristics of electrospun polymeric tracheal scaffolds. *Biomaterials*. 2014;35(20):5307–5315. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.03.015. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
114. Arkudas A., Beier J. P., Prymachuk G., et al. Automatic quantitative micro-computed tomography evaluation of angiogenesis in an axially vascularized tissue-engineered bone construct. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2010;16(6):1503–1514. doi: 10.1089/ten.tec.2010.0016.
115. Bajaj P., Schweller R. M., Khademhosseini A., West J. L., Bashir R. 3d biofabrication strategies for tissue engineering and regenerative medicine. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2014;16(1):247–276. doi: 10.1146/annurev-bioeng-071813-105155. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
116. Ballyns J. J., Gleghorn J. P., Niebrzydowski V., et al. Image-guided tissue engineering of anatomically shaped implants via MRI and micro-CT using injection molding. *Tissue Engineering Part A*. 2008;14(7):1195–1202. doi: 10.1089/ten.tea.2007.0186. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
117. Cui X., Boland T., D'Lima D. D., Lotz M. K. Thermal inkjet printing in tissue engineering and regenerative medicine. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*. 2012;6(2):149–155. doi: 10.2174/187221112800672949. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
118. Cui X., Gao G., Yonezawa T., Dai G. Human cartilage tissue fabrication using three-dimensional inkjet printing technology. *Journal of Visualized Experiments*. 2014;(88, article e51294) doi: 10.3791/51294. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
119. Xu T., Binder K. W., Albanna M. Z., et al. Hybrid printing of mechanically and biologically improved constructs for cartilage tissue engineering applications. *Biofabrication*. 2013;5(1, article 015001) doi: 10.1088/1758-5082/5/1/015001. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

120. Gu B. K., Choi D. J., Park S. J., Kim M. S., Kang C. M., Kim C. H. 3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications. *Biomaterials Research*. 2016;20(1):p. 12. doi: 10.1186/s40824-016-0058-2. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
121. Zhao Y., Li Y., Mao S., Sun W., Yao R. The influence of printing parameters on cell survival rate and printability in microextrusion-based 3D cell printing technology. *Biofabrication*. 2015;7(4, article 045002) doi: 10.1088/1758-5090/7/4/045002. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
122. Huang C.-T., Kumar Shrestha L., Ariga K., Hsu S. H. A graphene–polyurethane composite hydrogel as a potential bioink for 3D bioprinting and differentiation of neural stem cells. *Journal of Materials Chemistry B*. 2017;5(44):8854–8864. doi: 10.1039/C7TB01594A. [CrossRef] [Google Scholar]
123. Si-Tayeb K., Lemaigre F. P., Duncan S. A. Organogenesis and development of the liver. *Developmental Cell*. 2010;18(2):175–189. doi: 10.1016/j.devcel.2010.01.011.
124. Kenry, Lee W. C., Loh K. P., Lim C. T. When stem cells meet graphene: opportunities and challenges in regenerative medicine. *Biomaterials*. 2018;155:236–250. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.004. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
125. Bian L., Guvendiren M., Mauck R. L., Burdick J. A. Hydrogels that mimic developmentally relevant matrix and n-cadherin interactions enhance MSC chondrogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(25):10117–10122. doi: 10.1073/pnas.1214100110. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
126. Cooper D. K. C., Keogh A. M. The potential role of xenotransplantation in treating endstage cardiac disease: a summary of the report of the xenotransplantation advisory committee of the international society for heart and lung transplantation. *Current Opinion in Cardiology*. 2001;16(2):105–109. doi: 10.1097/00001573-200103000-00005. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
127. Gaston R. S., Hudson S. L., Deierhoi M. H., et al. Improved survival of primary cadaveric renal allografts in blacks with quadruple immunosuppression. *Transplantation*. 1992;53(1):103–108. doi: 10.1097/00007890-199201000-00020.
128. Loo Y., Hauser C. A. E. Bioprinting synthetic self-assembling peptide hydrogels for biomedical applications. *Biomedical Materials*. 2015;11(1, article 014103) doi: 10.1088/1748-6041/11/1/014103.
129. Koch L., Gruene M., Unger C., Chichkov B. Laser assisted cell printing. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2013;14(1):91–97. [PubMed] [Google Scholar]
130. Koch L., Kuhn S., Sorg H., et al. Laser printing of skin cells and human stem cells. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2010;16(5):847–854. doi: 10.1089/ten.tec.2009.0397.
131. Park Y. S., Hwang J. Y., Jun Y., et al. Scaffold-free parathyroid tissue engineering using tonsil-derived mesenchymal stem cells. *Acta Biomaterialia*. 2016;35:215–227. doi: 10.1016/j.actbio.2016.03.003. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

132. Ratner L. E., Cigarroa F. G., Bender J. S., Magnuson T., Kraus E. S. Transplantation of single and paired pediatric kidneys into adult recipients. *Journal of the American College of Surgeons*. 1997;185(5):437–445. doi: 10.1016/S1072-7515(98)80024-0. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
133. Ilkhanizadeh S., Teixeira A., Hermanson O. Inkjet printing of macromolecules on hydrogels to steer neural stem cell differentiation. *Biomaterials*. 2007;28(27):3936–3943. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.05.018. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
134. Xu T., Zhao W., Zhu J. M., Albanna M. Z., Yoo J. J., Atala A. Complex heterogeneous tissue constructs containing multiple cell types prepared by inkjet printing technology. *Biomaterials*. 2013;34(1):130–139. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.09.035. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
135. Zhang X., Zhang Y. Tissue engineering applications of three-dimensional bioprinting. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2015;72(3):777–782. doi: 10.1007/s12013-015-0531-x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
136. Li J., Chen M., Fan X., Zhou H. Recent advances in bioprinting techniques: approaches, applications and future prospects. *Journal of Translational Medicine*. 2016;14(1):p. 271. doi: 10.1186/s12967-016-1028-0. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
137. Skardal A., Atala A. Biomaterials for integration with 3-D bioprinting. *Annals of Biomedical Engineering*. 2015;43(3):730–746. doi: 10.1007/s10439-014-1207-1. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
138. Cui X., Dean D., Ruggeri Z. M., Boland T. Cell damage evaluation of thermal inkjet printed Chinese hamster ovary cells. *Biotechnology and Bioengineering*. 2010;106(6):963–969. doi: 10.1002/bit.22762. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
139. Hart L. R., Harries J. L., Greenland B. W., Colquhoun H. M., Hayes W. Supramolecular approach to new inkjet printing inks. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2015;7(16):8906–8914. doi: 10.1021/acsami.5b01569. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
140. Jeurissen R., van der Bos A., Reinten H., et al. Acoustic measurement of bubble size in an inkjet printhead. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 2009;126(5):2184–2190. doi: 10.1121/1.3224760. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
141. Nakamura M., Kobayashi A., Takagi F., et al. Biocompatible inkjet printing technique for designed seeding of individual living cells. *Tissue Engineering*. 2005;11(11-12):1658–1666. doi: 10.1089/ten.2005.11.1658. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
142. Skardal A., Mack D., Kapetanovic E., et al. Bioprinted amniotic fluid-derived stem cells accelerate healing of large skin wounds. *Stem Cells Translational Medicine*. 2012;1(11):792–802. doi: 10.5966/sctm.2012-0088. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

143. Smith C. M., Stone A. L., Parkhill R. L., et al. Three-dimensional bioassembly tool for generating viable tissue-engineered constructs. *Tissue Engineering*. 2004;10(9-10):1566–1576. doi: 10.1089/ten.2004.10.1566. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
144. Billiet T., Vandenhaute M., Schelfhout J., Van Vlierberghe S., Dubruel P. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Biomaterials*. 2012;33(26):6020–6041. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.04.050. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
145. Peltola S. M., Melchels F. P. W., Grijpma D. W., Kellomäki M. A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. *Annals of Medicine*. 2008;40(4):268–280. doi: 10.1080/07853890701881788.
146. Kang, M. S., Kim, J. H., Singh, R. K., Jang, J. H., and Kim, H. W. (2015). Therapeutic-designed electrospun bone scaffolds: mesoporous bioactive nanocarriers in hollow fiber composites to sequentially deliver dual growth factors. *Acta Biomater*. 16, 103–116. doi: 10.1016/j.actbio.2014.12.028
147. WHO Scientific Group (2003). The burden of musculoskeletal conditions at the start of the new millennium. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* 919:i-x, 1–218.
148. Rosamond, W., Flegal, K., Friday, G., Furie, K., Go, A., Greenlund, K., et al. (2007). Heart disease and stroke statistics–2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 115:e69–171. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.179918
149. Baroli, B. (2007). Hydrogels for tissue engineering and delivery of tissue-inducing substances. *J. Pharm. Sci.* 96, 2197–2223. doi: 10.1002/jps.20873
150. Singh, R. K., Jin, G. Z., Mahapatra, C., Patel, K. D., Chrzanowski, W., and Kim, H. W. (2015). Mesoporous silica-layered biopolymer hybrid nanofibrous scaffold: a novel nanobiomatrix platform for therapeutics delivery and bone regeneration. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 8088–8098. doi: 10.1021/acsami.5b00692
151. Chung, H. J., and Park, T. G. (2007). Surface engineered and drug-releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 249–262. doi: 10.1016/j.addr.2007.03.015
152. Domb, A., and Mikos, A. G. (2007). Matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 185–186. doi: 10.1016/j.addr.2007.05.001
153. Macchiarelli, G., Ohtani, O., Nottola, S. A., Stallone, T., Camboni, A., Prado, I. M., et al. (2002). A micro-anatomical model of the distribution of myocardial endomysial collagen. *Histol. Histopathol.* 17, 699–706. doi: 10.14670/HH-17.699
154. Pope, A. J., Sands, G. B., Smaill, B. H., and LeGrice, I. J. (2008). Three-dimensional transmural organization of perimysial collagen in the heart. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 295:H1243–H1252. doi: 10.1152/ajpheart.00484.2008
155. Zimmermann, W. H., Melnychenko, I., and Eschenhagen, T. (2004). Engineered heart tissue for regeneration of diseased hearts. *Biomaterials* 25, 1639–1647. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00521-0

156. Kutschka, I., Chen, I. Y., Kofidis, T., Arai, T., von Degenfeld, G., Sheikh, A. Y., et al. (2006). Collagen matrices enhance survival of transplanted cardiomyoblasts and contribute to functional improvement of ischemic rat hearts. *Circulation* 114 (Suppl. 1), I167–I173. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.001297
157. Christman, K. L., Fok, H. H., Sievers, R. E., Fang, Q., and Lee, R. J. (2004). Fibrin glue alone and skeletal myoblasts in a fibrin scaffold preserve cardiac function after myocardial infarction. *Tissue Eng.* 10, 403–409. doi: 10.1089/107632704323061762
158. Zimmermann, W. H., Didić, M., Wasmeier, G. H., Nixdorff, U., Hess, A., Melnychenko, I., Boy, O., et al. (2002). Cardiac grafting of engineered heart tissue in syngenic rats. *Circulation* 106, I151–I157. doi: 10.1161/01.cir.0000032876.55215.10
159. Kraehenbuehl, T. P., Zammaretti, P., Van der Vlies, A. J., Schoenmakers, R. G., Lutolf, M. P., Jaconi, M. E., et al. (2008). Three-dimensional extracellular matrix-directed cardioprogenitor differentiation: systematic modulation of a synthetic cell-responsive PEG-hydrogel. *Biomaterials* 29, 2757–2766. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.03.016
160. Fujimoto, K. L., Ma, Z., Nelson, D. M., Hashizume, R., Guan, J., Tobita, K., et al. (2009). Synthesis, characterization and therapeutic efficacy of a biodegradable, thermoresponsive hydrogel designed for application in chronic infarcted myocardium. *Biomaterials* 30, 4357–4368. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.04.055
161. So, J. Y., Fang, Y. H., Lim, C. H., Kim, B. S., Son, H. S., Park, Y., et al. (2009). Regeneration of ischemic heart using hyaluronic acid-based injectable hydrogel. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 91, 163–171. doi: 10.1002/jbm.b.31386
162. Kharaziha, M., Memic, A., Akbari, M., Brafman, D. A., and Nikkhah, M. (2016). Nano-enabled approaches for stem cell-based cardiac tissue engineering. *Adv. Healthc. Mater.* 5, 1533–1553. doi: 10.1002/adhm.201600088
163. Das, S., Roy, P., Pal, R., Auddy, R. G., Chakraborti, A. S., and Mukherjee, A. (2014). Engineered silybin nanoparticles educe efficient control in experimental diabetes. *PLoS ONE* 9:e101818. doi: 10.1371/journal.pone.0101818
164. Martinelli, V., Cellot, G., Toma, F. M., Long, C. S., Caldwell, J. H., Zentilin, L., et al. (2012). Carbon nanotubes promote growth and spontaneous electrical activity in cultured cardiac myocytes. *Nano Lett.* 12, 1831–1838. doi: 10.1021/nl204064s
165. Patel, K. D., Singh, R. K., Mahapatra, C., Lee, E. J., and Kim, H. W. (2016). Nanohybrid electro-coatings toward therapeutic implants with controlled drug delivery potential for bone regeneration. *J. Biomed. Nanotechnol.* 12, 1876–1889. doi: 10.1166/jbn.2016.2301
166. Fleischer, S., Shevach, M., Feiner, R., and Dvir, T. (2014). Coiled fiber scaffolds embedded with gold nanoparticles improve the performance of engineered cardiac tissues. *Nano* 6, 9410–9414. doi: 10.1039/C4NR00300D

167. Navaei, A., Moore, N., Sullivan, R. T., Truong, D., Migrino, R. Q., Nikkhah, M., et al. (2017). Electrically conductive hydrogel-based micro-topographies for the development of organized cardiac tissues. *RSC Adv.* 7, 3302–3312. doi: 10.1039/C6RA26279A
168. Navaei, A., Saini, H., Christenson, W., Sullivan, R. T., Ros, R., and Nikkhah, M. (2016). Gold nanorod-incorporated gelatin-based conductive hydrogels for engineering cardiac tissue constructs. *Acta Biomater.* 41, 133–146. doi: 10.1016/j.actbio.2016.05.027
169. Shin, S. R., Farzad, R., Tamayol, A., Manoharan, V., Mostafalu, P., Zhang, Y. S., et al. (2016). A bioactive carbon nanotube-based ink for printing 2D and 3D flexible electronics. *Adv. Mater.* 28, 3280–3289. doi: 10.1002/adma.201506420
170. Shevach, M., Maoz, B. M., Feiner, R., Shapira, A., and Dvir, T. (2013). Nanoengineering gold particle composite fibers for cardiac tissue engineering. *J. Mater. Chem. B* 1, 5210–5217. doi: 10.1039/c3tb20584c
171. Park, J., Kim, B., Han, J., Oh, J., Park, S., Ryu, S., et al. (2015b). Graphene oxide flakes as a cellular adhesive: prevention of reactive oxygen species mediated death of implanted cells for cardiac repair. *ACS Nano.* 9, 4987–4999. doi: 10.1021/nn507149w
172. Park, J., Kim, Y. S., Ryu, S., Kang, W. S., Park, S., Han, J., et al. (2015a). Graphene potentiates the myocardial repair efficacy of mesenchymal stem cells by stimulating the expression of angiogenic growth factors and gap junction protein. *Adv. Funct. Mater.* 25, 2590–2600. doi: 10.1002/adfm.201500365
173. Tan, Y., Richards, D., Coyle, R. C., Yao, J., Xu, R., Gou, W., et al. (2017). Cell number per spheroid and electrical conductivity of nanowires influence the function of silicon nanowired human cardiac spheroids. *Acta Biomater.* 51, 495–504. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.029
174. Richards, D. J., Tan, Y., Coyle, R., Li, Y., Xu, R., Yeung, N., et al. (2016). Nanowires and electrical stimulation synergistically improve functions of hiPSC cardiac spheroids. *Nano Lett.* 16, 4670–4678. doi: 10.1021/acs.nanolett.6b02093
175. Singh, R. K., Jin, G. Z., Mahapatra, C., Patel, K. D., Chrzanowski, W., and Kim, H. W. (2015). Mesoporous silica-layered biopolymer hybrid nanofibrous scaffold: a novel nanobiomatrix platform for therapeutics delivery and bone regeneration. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 8088–8098. doi: 10.1021/acsami.5b00692
176. Amezcua, R., Shirolkar, A., Frazee, C., and Stout, D. (2016). Nanomaterials for cardiac myocyte tissue engineering. *Nano* 6:133. doi: 10.3390/nano6070133
177. Mehrali, M., Thakur, A., Pennisi, C. P., Talebian, S., Arpanaei, A., Nikkhah, M., et al. (2017). Nanoreinforced hydrogels for tissue engineering: biomaterials that are compatible with load-bearing and electroactive tissues. *Adv. Mater.* 29:1603612. doi: 10.1002/adma.201603612
178. Kojima, M., Sada, H., and Sperelakis, N. (1990). Developmental changes in beta-adrenergic and cholinergic interactions on calcium-dependent slow action potentials in rat ventricular muscles. *Br. J. Pharmacol.* 99, 327–333. doi: 10.1111/j.1476-5381.1990.tb14703.x

179. Huynh, T. V., Chen, F., Wetzel, G. T., Friedman, W. F., and Klitzner, T. S. (1992). Developmental changes in membrane Ca²⁺ and K⁺ currents in fetal, neonatal, and adult rabbit ventricular myocytes. *Circ. Res.* 70, 508–515. doi: 10.1161/01.RES.70.3.508
180. Cerbai, E., Pino, R., Sartiani, L., and Mugelli, A. (1999). Influence of postnatal-development on I(f) occurrence and properties in neonatal rat ventricular myocytes. *Cardiovasc. Res.* 42, 416–423. doi: 10.1016/S0008-6363(99)00037-1
181. Li, H., Dai, K., Tang, T., Zhang, X., Yan, M., and Lou, J. (2007). Bone regeneration by implantation of adipose-derived stromal cells expressing BMP-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 356, 836–842. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.02.165
182. Chiarugi, P., and Giannoni, E. (2008). Anoikis: a necessary death program for anchorage-dependent cell. *Biochem. Pharmacol.* 76, 1352–1364. doi: 10.1016/j.bcp.2008.07.023
183. Shi, X., Chang, H., Chen, S., Lai, C., Khademhosseini, A., and Wu, H. (2012). Regulating cellular behavior on few-layer reduced graphene oxide films with well-controlled reduction states. *Adv. Funct. Mater.* 22, 751–759. doi: 10.1002/adfm.201102305
184. Tan, Y., Richards, D., Coyle, R. C., Yao, J., Xu, R., Gou, W., et al. (2017). Cell number per spheroid and electrical conductivity of nanowires influence the function of silicon nanowired human cardiac spheroids. *Acta Biomater.* 51, 495–504. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.029
185. Han, J., Kim, B., Shin, J. Y., Ryu, S., Noh, M., Woo, J., et al. (2015). Iron oxide nanoparticle-mediated development of cellular gap junction crosstalk to improve mesenchymal stem cells' therapeutic efficacy for myocardial infarction. *ACS Nano* 9, 2805–2819. doi: 10.1021/nn506732n
186. Sarker, B., Singh, R., Silva, R., Roether, J. A., Kaschta, J., Detsch, R., et al. (2014). Evaluation of fibroblasts adhesion and proliferation on alginate–gelatin crosslinked hydrogel. *PLoS ONE* 9:e107952. doi: 10.1371/journal.pone.0107952
187. Zimmermann, W. H., Melnychenko, I., Wasmeier, G., Didie, M., Naito, H., Nixdorff, U., et al. (2006). Engineered heart tissue grafts improve systolic and diastolic function in infarcted rat hearts. *Nat. Med.* 12, 452–458. doi: 10.1038/nm1394
188. Dattola, E., Mollacea, V., and Lamanna, E. (2019). Development of 3D PVA scaffolds for cardiac tissue engineering and cell screening applications. *RSC Adv.* 9, 4246–4257. doi: 10.1039/C8RA08187E
189. Polo-Corrales, L., Latorre-Esteves, M., and Ramirez-Vick, J. E. (2014). Scaffold design for bone regeneration. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 14, 15–56. doi: 10.1166/jnn.2014.9127
190. Shapiro, L., and Cohen, S. (1997). Novel alginate sponges for cell culture and transplantation. *Biomaterials* 18, 583–590. doi: 10.1016/S0142-9612(96)00181-0
191. Zmora, S., Glicklis, R., and Cohen, S. (2002). Tailoring the pore architecture in 3-D alginate scaffolds by controlling the freezing regime during fabrication. *Biomaterials* 23, 4087–4094. doi: 10.1016/S0142-9612(02)00146-1

192. Eschenhagen, T., and Zimmermann, W. H. (2005). Engineering myocardial tissue. *Circ. Res.* 97, 1220–1231. doi: 10.1161/01.RES.0000196562.73231.7d
193. Furuta, A., Miyoshi, S., Itabashi, Y., Shimizu, T., Kira, S., Hayakawa, K., et al. (2006). Pulsatile cardiac tissue grafts using a novel three-dimensional cell sheet manipulation technique functionally integrates with the host heart, in vivo. *Circ. Res.* 98, 705–712. doi: 10.1161/01.RES.0000209515.59115.70
194. Khademhosseini, A., Eng, G., Yeh, J., Kucharczyk, P. A., Langer, R., Vunjak-Novakovic, G., et al. (2007). Microfluidic patterning for fabrication of contractile cardiac organoids. *Biomed. Microdevices* 9, 149–157. doi: 10.1007/s10544-006-9013-7
195. Green, D., Howard, D., Yang, X., Kelly, M., and Oreffo, R. (2003). Natural marine sponge fiber skeleton: a biomimetic scaffold for human osteoprogenitor cell attachment, growth, and differentiation. *Tissue Eng.* 9, 1159–1166. doi: 10.1089/10763270360728062
196. Baino, F., and Vitale-Brovarone, C. (2014). Mechanical properties and reliability of glass–ceramic foam scaffolds for bone repair. *Mater. Lett.* 118, 27–30. doi: 10.1016/j.matlet.2013.12.037
197. Baino, F., and Vitale-Brovarone, C. (2015). Wollastonite-containing bioceramic coatings on alumina substrates: design considerations and mechanical modelling. *Ceram. Int.* 41, 11464–11470. doi: 10.1016/j.ceramint.2015.05.111
198. Baino, F., and Verné, E. (2017). Production and characterization of glass–ceramic materials for potential use in dental applications: thermal and mechanical properties, microstructure, and in vitro bioactivity. *Appl. Sci.* 7:1330. doi: 10.3390/app7121330
199. Tagliabue, S., Rossi, E., Baino, F., Vitale-Brovarone, C., Gastaldi, D., and Vena, P. (2017). Micro-CT based finite element models for elastic properties of glass–ceramic scaffolds. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 65, 248–255. doi: 10.1016/j.jmbbm.2016.08.020
200. Ben-Nissan, B. (2003). Natural bioceramics: from coral to bone and beyond. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 7, 283–288. doi: 10.1016/j.cossms.2003.10.001
201. Baino, F., and Ferraris, M. (2017). Learning from nature: using bioinspired approaches and natural materials to make porous bioceramics. *Int. J. Appl. Ceram. Tec.* 14, 507–520. doi: 10.1111/ijac.12677
202. Martina, M., Subramanyam, G., Weaver, J. C., Hutmacher, D. W., Morse, D. E., and Valiyaveetil, S. (2005). Developing macroporous bicontinuous materials as scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 26, 5609–5616. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.02.011
203. Coughlin, M. J., Grimes, J. S., and Kennedy, M. P. (2006). Coralline hydroxyapatite bone graft substitute in hindfoot surgery. *Foot Ankle Int.* 27, 19–22. doi: 10.1177/107110070602700104
204. Oliveira, J. M., Grech, J. M., Leonor, I. B., Mano, J. F., and Reis, R. L. (2007). Calcium–phosphate derived from mineralized algae for bone tissue engineering applications. *Mater. Lett.* 61, 3495–3499. doi: 10.1016/j.matlet.2006.11.099

205. Granito, R. N., Custódio, M. R., and Rennó, A. C. M. (2017). Natural marine sponges for bone tissue engineering: the state of art and future perspectives. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 105, 1717–1727. doi: 10.1002/jbm.b.33706
206. Clarke, S. A., Choi, S. Y., McKechnie, M., Burke, G., Dunne, N., Walker, G., et al. (2015). Osteogenic cell response to 3-D hydroxyapatite scaffolds developed via replication of natural marine sponges. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 27:22. doi: 10.1007/s10856-015-5630-0
207. Nandi, S. K., Kundu, B., Mahato, A., Thakur, N. L., Joardar, S. N., and Mandal, B. B. (2015). In vitro and in vivo evaluation of the marine sponge skeleton as a bone mimicking biomaterial. *Integr Biol.* 7, 250–262. doi: 10.1039/C4IB00289J
208. Sayin, E., Baran, E. T., and Hasirci, V. (2014). Protein-based materials in load-bearing tissue-engineering applications. *Regen. Med.* 9, 687–701. doi: 10.2217/rme.14.52
209. Ferreira, A. M., Gentile, P., Chiono, V., and Ciardelli, G. (2012). Collagen for bone tissue regeneration. *Acta Biomater.* 8, 3191–3200. doi: 10.1016/j.actbio.2012.06.014
210. Kane, R. J., and Roeder, R. K. (2012). Effects of hydroxyapatite reinforcement on the architecture and mechanical properties of freeze-dried collagen scaffolds. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 7, 41–49. doi: 10.1016/j.jmbbm.2011.09.010
211. Melke, J., Midha, S., Ghosh, S., Ito, K., and Hofmann, S. (2016). Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 31, 1–16. doi: 10.1016/j.actbio.2015.09.005
212. Park, K.-H., Kim, H., Moon, S., and Na, K. (2009). Bone morphogenic protein-2 (BMP-2) loaded nanoparticles mixed with human mesenchymal stem cell in fibrin hydrogel for bone tissue engineering. *J. Biosci. Bioeng.* 108, 530–537. doi: 10.1016/j.jbiosc.2009.05.021
213. Galler, K. M., Cavender, A. C., Koeklue, U., Suggs, L. J., Schmalz, G., and D'Souza, R. N. (2011). Bioengineering of dental stem cells in a PEGylated fibrin gel. *Regen. Med.* 6, 191–200. doi: 10.2217/rme.11.3
214. Noori, A., Ashrafi, S. J., Vaez-Ghaemi, R., Hatamian-Zaremi, A., and Webster, T. J. (2017). A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering. *Int. J. Nanomed.* 12, 4937–4961. doi: 10.2147/IJN.S124671
215. Costa-Pinto, A. R., Reis, R. L., and Neves, N. M. (2011). Scaffolds based bone tissue engineering: the role of chitosan. *Tissue Eng. Part B Rev.* 17, 331–347. doi: 10.1089/ten.teb.2010.0704
216. Iviglia, G., Cassinelli, C., Torre, E., Baino, F., Morra, M., and Vitale-Brovarone, C. (2016). Novel bioceramic-reinforced hydrogel for alveolar bone regeneration. *Acta Biomater.* 44, 97–109. doi: 10.1016/j.actbio.2016.08.012
217. Draget, K., Smidsrød, O., and Skjåk-Bræk, G. (2005). Alginates from algae. *Biol. Chem. Biotechnol. Appl.* 6, 1–30. doi: 10.1002/3527600035.bpol6008
218. Turco, G., Marsich, E., Bellomo, F., Semeraro, S., Donati, I., Brun, F., et al. (2009). Alginate/hydroxyapatite biocomposite for bone ingrowth: a trabecular structure with high and isotropic connectivity. *Biomacromolecules* 10, 1575–1583. doi: 10.1021/bm900154b

219. Xie, X. H., Yu, X. W., Zeng, S. X., Du, R. L., Hu, Y. H., Yuan, Z., et al. (2010). Enhanced osteointegration of orthopaedic implant gradient coating composed of bioactive glass and nanohydroxyapatite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 21, 2165–2121. doi: 10.1007/s10856-010-4077-6
220. Hatton, J., Davis, G. R., and Hill, R. G. (2019). Fabrication of porous bone scaffolds using alginate and bioactive glass. *J. Funct. Biomater.* 10:15. doi: 10.3390/jfb10010015
221. Habraken, W., Habibovic, P., Epple, M., and Bohner, M. (2016). Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future? *Mater. Today* 19, 69–87. doi: 10.1016/j.mattod.2015.10.008
222. Kargozar, S., Lotfibakhshaiesh, N., Ai, J., Samadikuchaksaraie, A., Hill, R. G., Shah, P. A., et al. (2016). physico-chemical and biological characterization of strontium and cobalt substituted bioactive glasses for bone tissue engineering. *J. Non Cryst. Solids* 449, 133–140. doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2016.07.025
223. Cao, H., and Kuboyama, N. (2010). A biodegradable porous composite scaffold of PGA/ β -TCP for bone tissue engineering. *Bone* 46, 386–339. doi: 10.1016/j.bone.2009.09.031
224. Haimi, S., Suuriniemi, N., Haaparanta, A.-M., Ellä, V., Lindroos, B., Huhtala, H., et al. (2008). Growth and osteogenic differentiation of adipose stem cells on PLA/bioactive glass and PLA/ β -TCP scaffolds. *Tissue Eng. Part A* 15, 1473–1480. doi: 10.1089/ten.tea.2008.0241
225. Jose, M. V., Thomas, V., Johnson, K. T., Dean, D. R., and Nyairo, E. (2009). Aligned PLGA/HA nanofibrous nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 5, 305–315. doi: 10.1016/j.actbio.2008.07.019
226. Ciapetti, G., Ambrosio, L., Savarino, L., Granchi, D., Cenni, E., Baldini, N., et al. (2003). Osteoblast growth and function in porous poly ϵ -caprolactone matrices for bone repair: a preliminary study. *Biomaterials* 24, 3815–3824. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00263-1
227. Bal, T., Nazli, C., Okcu, A., Duruksu, G., Karaoz, E., and Kizilel, S. (2017). Mesenchymal stem cells and ligand incorporation in biomimetic poly(ethylene glycol) hydrogels significantly improve insulin secretion from pancreatic islets. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 11, 694–703. doi: 10.1002/term.1965
228. Gefen-Halevi, S., Rachmut, I. H., Molakandov, K., Berneman, D., Mor, E., Meivar-Levy, I., et al. (2010). NKX6.1 promotes PDX-1-induced liver to pancreatic beta-cells reprogramming. *Cell. Reprogram.* 12, 655–664. doi: 10.1089/cell.2010.0030
229. Mellado-Gil, J. M., Cobo-Vuilleumier, N., and Gauthier, B. R. (2012). Islet beta-cell mass preservation and regeneration in diabetes mellitus: four factors with potential therapeutic interest. *J. Transplant.* 2012:230870. doi: 10.1155/2012/230870
230. Ben-Othman, N., Courtney, M., Vieira, A., Pfeifer, A., Druelle, N., Gjernes, E., et al. (2013). From pancreatic islet formation to beta-cell regeneration. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 101, 1–9. doi: 10.1016/j.diabres.2013.01.013

231. Hinderer, S., Layland, S. L., and Schenke-Layland, K. (2016). ECM and ECM-like materials—biomaterials for applications in regenerative medicine and cancer therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 97:260–269. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.019
232. Ma, C. T., Wu, Y. J., Huang, H. H., Kang, P. L., Hsiao, K. Y., Lo, D. Y., et al. (2016). In vitro and in vivo evaluation of the effect of nano-sized collagen molecules and nicotinamide on mesenchymal stem cell differentiation. *J. Mater. Chem. B* 4, 3892–3902. doi: 10.1039/C6TB00731G
233. Niemeyer, P., Schonberger, T. S., Hahn, J., Kasten, P., Fellenberg, J., Suedkamp, N., et al. (2010). Xenogenic transplantation of human mesenchymal stem cells in a critical size defect of the sheep tibia for bone regeneration. *Tissue Eng* 16. *Am. J. Sports Med.* 17:20. doi: 10.1089/ten.tea.2009.0190
234. Williams, D. F. (2009). On the nature of biomaterials. *Biomaterials*, 30(30), 5897-5909.
235. Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*, 27(15), 2907-2915.
236. Ducheyne, P. (1987). Bioceramics: material characteristics versus in vivo behavior. *Journal of biomedical materials research*, 21(A2 Suppl), 219.
237. Apelt, D., Theiss, F., El-Warrak, A. O., Zlinszky, K., Bettschart-Wolfisberger, R., Bohner, M., ... & von Rechenberg, B. (2004). In vivo behavior of three different injectable hydraulic calcium phosphate cements. *Biomaterials*, 25(7-8), 1439-1451.
238. Theiss, F., Apelt, D., Brand, B., Kutter, A., Zlinszky, K., Bohner, M., ... & Von Rechenberg, B. (2005). Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*, 26(21), 4383-4394.
239. Kotani, S., Fujita, Y., Kitsugi, T., Nakamura, T., Yamamuro, T., Ohtsuki, C., & Kokubo, T. (1991). Bone bonding mechanism of β -tricalcium phosphate. *Journal of biomedical materials research*, 25(10), 1303-1315.
240. Jones, J. R. (2013). Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta biomaterialia*, 9(1), 4457-4486.
241. Hench, L. L., & Paschall, H. A. (1973). Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. *Journal of biomedical materials research*, 7(3), 25-42.
242. Paolinelis, G., Banerjee, A., & Watson, T. F. (2008). An in vitro investigation of the effect and retention of bioactive glass air-abrasive on sound and carious dentine. *Journal of dentistry*, 36(3), 214-218.
243. Chen Q., Thouas G., (2015) “Biomaterials: A Basic Introduction”, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, Chapter. 7, pp.: 213-251
244. Jones, J. R., & Hench, L. L. (2001). Biomedical materials for new millennium: perspective on the future. *Materials Science and technology*, 17(8), 891-900.
245. Hench, L. L., Xynos, I. D., & Polak, J. M. (2004). Bioactive glasses for in situ tissue regeneration. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 15(4), 543-562.
246. Islam, M. T., Felfel, R. M., Abou Neel, E. A., Grant, D. M., Ahmed, I., & Hossain, K. M. Z. (2017). Bioactive calcium phosphate-based glasses and ceramics and their biomedical applications: a review. *Journal of tissue engineering*, 8, 2041731417719170.

247. Hench, L. L., Boccaccini, A. R., Day, R. M., & Gabe, S. M. (2003). Third-generation gene-activating biomaterials. In *Materials Science Forum* (Vol. 426, pp. 179-184). Trans Tech Publications.
248. Lai, W., Garino, J., & Ducheyne, P. (2002). Silicon excretion from bioactive glass implanted in rabbit bone. *Biomaterials*, 23(1), 213-217.
249. Chen, Q. Z., Thompson, I. D., & Boccaccini, A. R. (2006). 45S5 Bioglass®-derived glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(11), 2414-2425.
250. Huang, W., Day, D. E., Kittiratanapiboon, K., & Rahaman, M. N. (2006). Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(7), 583-596.
251. Ertl, G., Knözinger, H., & Weitkamp, J. (Eds.). (2008). *Preparation of solid catalysts*. John Wiley & Sons.
252. Sepulveda, P., Jones, J. R., & Hench, L. L. (2001). Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 58(6), 734-740.
253. Brink, M., Turunen, T., Happonen, R. P., & Yli-Urpo, A. (1997). Compositional dependence of bioactivity of glasses in the system Na₂O-K₂O-MgO-CaO-B₂O₃-P₂O₅-SiO₂. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 37(1), 114-121.
254. Ning, J., Yao, A., Wang, D., Huang, W., Fu, H., Liu, X., ... & Zhang, X. (2007). Synthesis and in vitro bioactivity of a borate-based bioglass. *Materials letters*, 61(30), 5223-5226.
255. Liu, X., Pan, H., Fu, H., Fu, Q., Rahaman, M. N., & Huang, W. (2010). Conversion of borate-based glass scaffold to hydroxyapatite in a dilute phosphate solution. *Biomedical Materials*, 5(1), 015005.
256. Yao, A., Ai, F., Liu, X., Wang, D., Huang, W., & Xu, W. (2010). Preparation of hollow hydroxyapatite microspheres by the conversion of borate glass at near room temperature. *Materials Research Bulletin*, 45(1), 25-28.
257. Fu, Q., Rahaman, M. N., Bal, B. S., Kuroki, K., & Brown, R. F. (2010). In vivo evaluation of 13-93 bioactive glass scaffolds with trabecular and oriented microstructures in a subcutaneous rat implantation model. *Journal of biomedical materials research Part A*, 95(1), 235-244.
258. Jung, S. B., Day, D. E., Brown, R. F., & Bonewald, L. (2013). Potential toxicity of bioactive borate glasses in-vitro and in-vivo. In *Advances in Bioceramics and Porous Ceramics V-36th International Conference on Advanced Ceramics and Composites, ICACC 2012* (pp. 65-74).
259. Zhang, X., Jia, W., Gu, Y., Xiao, W., Liu, X., Wang, D., ... & Zhou, N. (2010). Teicoplanin-loaded borate bioactive glass implants for treating chronic bone infection in a rabbit tibia osteomyelitis model. *Biomaterials*, 31(22), 5865-5874.

260. Neel EA, Ahmed I, Pratten J, et al. Characterisation of antibacterial copper releasing degradable phosphate glass fibres. *Biomaterials* 2005; 26: 2247–2254.
261. Abou Neel EA, O'Dell LA, Smith ME, et al. Processing, characterisation, and biocompatibility of zinc modified metaphosphate based glasses for biomedical applications. *J Mater Sci Mater Med* 2008; 19: 1669–1679. [PubMed] [Google Scholar]
262. Ahmed I, Abou Neel EA, Valappil SP, et al. The structure and properties of silver-doped phosphate-based glasses. *J Mater Sci* 2007; 42: 9827–9835. [Google Scholar]
263. Ahmed I, Collins CA, Lewis MP, et al. Processing, characterisation and biocompatibility of iron-phosphate glass fibres for tissue engineering. *Biomaterials* 2004; 25: 3223–3232. [PubMed] [Google Scholar]
264. Abou Neel EA, Chrzanowski W, Knowles JC. Effect of increasing titanium dioxide content on bulk and surface properties of phosphate-based glasses. *Acta Biomater* 2008; 4: 523–534. [PubMed] [Google Scholar]
265. Lakhkar NJ, Abou Neel EA, Salih V, et al. Strontium oxide doped quaternary glasses: effect on structure, degradation and cytocompatibility. *J Mater Sci Mater Med* 2009; 20: 1339. [PubMed] [Google Scholar]
266. Valappil SP, Pickup DM, Carroll DL, et al. Effect of silver content on the structure and antibacterial activity of silver-doped phosphate-based glasses. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 4453–4461.
267. Bitar M, Salih V, Knowles JC, et al. Iron-phosphate glass fiber scaffolds for the hard-soft interface regeneration: the effect of fiber diameter and flow culture condition on cell survival and differentiation. *J Biomed Mater Res A* 2008; 87: 1017–1026. [PubMed] [Google Scholar]
268. Hoppe U. A structural model for phosphate glasses. *J Non Cryst Solids* 1996; 195: 138–147. [Google Scholar]
269. Bae B-S, Weinberg MC. Oxidation–reduction equilibrium in copper phosphate glass melted in air. *J Am Ceram Soc* 1991; 74: 3039–3045. [Google Scholar]
270. Abou Neel EA, Chrzanowski W, Valappil SP, et al. Doping of a high calcium oxide metaphosphate glass with titanium dioxide. *J Non Cryst Solids* 2009; 355: 991–1000.
271. Abou Neel EA, Mizoguchi T, Ito M, et al. In vitro bioactivity and gene expression by cells cultured on titanium dioxide doped phosphate-based glasses. *Biomaterials* 2007; 28: 2967–2977. [PubMed] [Google Scholar]
272. Abou Neel EA, Young AM, Nazhat SN, et al. A facile synthesis route to prepare microtubes from phosphate glass fibres. *Adv Mater* 2007; 19: 2856–2862. [Google Scholar]
273. Guedes JC, Park J-H, Lakhkar NJ, et al. TiO₂-doped phosphate glass microcarriers: a stable bioactive substrate for expansion of adherent mammalian cells. *J Biomater Appl* 2013; 28: 3–11. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

274. Vitale-Brovarone C, Novajra G, Lousteau J, et al. Phosphate glass fibres and their role in neuronal polarization and axonal growth direction. *Acta Biomater* 2012; 8: 1125–1136. [PubMed] [Google Scholar]
275. Abou Neel EA, Pickup DM, Valappil SP, et al. Bioactive functional materials: a perspective on phosphate-based glasses. *J Mater Chem B Mater Biol Med* 2009; 19: 690–701.
276. Shah R, Sinanan ACM, Knowles JC, et al. Craniofacial muscle engineering using a 3-dimensional phosphate glass fibre construct. *Biomaterials* 2005; 26: 1497–1505.
277. Moioli EK, Clark PA, Xin X, et al. Matrices and scaffolds for drug delivery in dental, oral and craniofacial tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 308–324.
278. Nazhat SN, Abou Neel EA, Kidane A, et al. Controlled microchannelling in dense collagen scaffolds by soluble phosphate glass fibers. *Biomacromolecules* 2006; 8: 543–551.
279. Nunzi Conti G, Chiasera A, Ghisa L, et al. Spectroscopic and lasing properties of Er³⁺-doped glass microspheres. *J Non Cryst Solids* 2006; 352: 2360–2363.
280. Sene FF, Martinelli JR, Okuno E. Synthesis and characterization of phosphate glass microspheres for radiotherapy applications. *J Non Cryst Solids* 2008; 354: 4887–4893.
281. Lakhkar NJ, Park J-H, Mordan NJ, et al. Titanium phosphate glass microspheres for bone tissue engineering. *Acta Biomater* 2012; 8: 4181–4190.
282. Mari´a Vallet-Regi´a, Jose´ Mari´a Gonz´alez-CalbetbaDepartamento de Qu´mica Inorg´nica y Bioinorg´nica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Pza Ramon y Cajal, 28040 Madrid, SpainbDepartamento de Qu´mica Inorg´nica, Facultad de Ciencias Qu´micas, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, SpainReceived 1 December 2003; received in revised form 1 June 2004; accepted 15 July 2004
283. Bizari¹, F. Moztaizadeh^{*1}, M. Rabiee¹, M. Tahriri¹, F. Banafatizadeh¹, A. Ansari¹ and K. Khoshroo Development of biphasic hydroxyapatite/dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) bonegraft using polyurethane foam template: invitro and in vivo study Published by Maney on behalf of the Institute Received 4 July 2011; accepted 5 September 2011 DOI 10.1179/1743676111Y.0000000052
284. Masaeli, Dewal Gupta, Sean O’Byrne, Henry T. K. Tse, Daniel R. Gossett, Peter Tseng, Andrew S. Utada, Hea-Jin Jung, Stephen Young, Amander T. Clark & Dino Di Carlo Multiparameter mechanical and morphometric screening of cells Published: 02 December 2016
285. Surmenev, R.A., Surmeneva, M.A., Ivanova, A.A., Significance of calcium phosphate coatings for the enhancement of new bone osteogenesis – A review, *Acta Biomaterialia* (2013), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.036>
286. LeGeros RZ, LeGeros GP. Calcium Phosphate Bioceramics: Past, Present and Future. In: Ben-Nissan B, Sher D, Walsh W, editors. *Key Engineering Materials. Bioceramics*. Switzerland: Trans Tech, 2003. p. 3-10.

287. Habraken, W. J. E. M.; Tao, J.; Brylka, L. J.; Friedrich, H.; Bertinetti, L.; Schenk, A. S.; Verch, A.; Dmitrovic, V.; Bomans, P. H.H.; Frederik, P. M.; Laven, J.; van der Schoot, P.; Aichmayer, B.; deWith, G.; DeYoreo, J. J.; Sommerdijk, N. a. J. M. Ion-association complexes unite classical and non-classical theories for the biomimetic nucleation of calcium phosphate. *Nat. Commun.* 2013,4, 1507
288. Samavedia, Abby R. Whittingtona,b,c, Aaron S. Goldstein Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: A review of properties and their influence on cell behavior Received 21 February 2013
289. Nakashima Xin Zhou Gary Kunkel Zhaoping Zhang Jian Min Deng Richard R. Behringer Benoit de Crombrughe The Novel Zinc Finger-Containing Transcription Factor Osterix Is Required for Osteoblast Differentiation and Bone Formation Volume 108, Issue 1, 11 January 2002, Pages 17-29
290. Combes*, C. Rey Amorphous calcium phosphates: Synthesis, properties and uses in biomaterials Received in revised form 7 February 2010
291. Yoshikawa, H. and Myoui, A. (2005) Bone tissue engineering with porous hydroxyapatite ceramics. *Journal of Artificial Organs*, 8, 131-136. doi:10.1007/s10047-005-0292-1
292. Bohner M1, Lemaître J Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution? *Biomaterials*. 2009 Apr;30(12):2175-9. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.01.008. Epub 2009 Jan 26.
293. Okamoto S. Hidaka Studies on calcium phosphate precipitation: Effects of metal ions used in dental materials First published: December 1994 <https://doi.org/10.1002/jbm.820281204>
294. Brkovic BM1, Prasad HS, Rohrer MD, Konandreas G, Agrogiannis G, Antunovic D, Sándor GK. Beta-tricalcium phosphate/type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing: clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. *Clin Oral Investig.* 2012 Apr;16(2):581-90. doi: 10.1007/s00784-011-0531-1. Epub 2011 Mar 3.
295. Horch HH1, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Format: Abstract Send to Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006 Aug;35(8):708-13. Epub 2006 May 9.
296. Ahmed I, Collins CA, Lewis MP, et al. Processing, characterisation and biocompatibility of iron-phosphate glass fibres for tissue engineering. *Biomaterials* 2004; 25: 3223–3232.
297. Burguera EF, Xu HHK, Sun L. Injectable calcium phosphate cement: effects of powder-to-liquid ratio and needle size. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008; 84: 493–502.
298. Nazhat SN, Abou Neel EA, Kidane A, et al. Controlled microchannelling in dense collagen scaffolds by soluble phosphate glass fibers. *Biomacromolecules* 2006; 8: 543–551.
299. Kretlow JD, Young S, Klouda L, et al. Injectable biomaterials for regenerating complex craniofacial tissues. *Adv Mater* 2009; 21: 3368–3393. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

300. Boccaccini AR, Chen Q, Lefebvre L, et al. Sintering, crystallisation and biodegradation behaviour of Bioglass-derived glass-ceramics. *Faraday Discuss* 2007; 136: 27–44; discussion 107–123.
301. Zanotto ED. A bright future for glass-ceramics. *Am Ceram Soc Bull* 2010; 89: 19–27. [Google Scholar]
302. Park J, Ozturk A. Bioactivity of apatite-wollastonite glass-ceramics produced by melting casting. *Surf Rev Lett* 2013; 20: 1350010.
303. Abou Neel EA, Pickup DM, Valappil SP, et al. Bioactive functional materials: a perspective on phosphate-based glasses. *J Mater Chem B Mater Biol Med* 2009; 19: 690–701. [Google Scholar]
304. Nazhat SN, Abou Neel EA, Kidane A, et al. Controlled microchannelling in dense collagen scaffolds by soluble phosphate glass fibers. *Biomacromolecules* 2006; 8: 543–551.
305. Vitale-Brovarone C, Verné E, Robiglio L, et al. Development of glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering: characterisation, proliferation of human osteoblasts and nodule formation. *Acta Biomater* 2007; 3: 199–208. [PubMed] [Google Scholar]
306. Fujita H, Iida H, Ido K, et al. Porous apatite-wollastonite glass-ceramic as an intramedullary plug. *J Bone Joint Surg Br* 2000; 82: 614–618. [PubMed] [Google Scholar]
307. Long Q, Zhou D-L, Zhang X, et al. Surface modification of apatite-wollastonite glass ceramic by synthetic coupling agent. *Front Mater Sci* 2014; 8: 157–164.
308. Goulet JA, Senunas LE, DeSilva GL, Greenfield ML. Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment. *Clin Orthop Relat Res.* 1997;(339):76–81.
309. Heary RF, Schlenk RP, Sacchieri TA, Barone D, Brotea C. Persistent iliac crest donor site pain: independent outcome assessment. *Neurosurgery.* 2002;50 (3):510–516. discussion 516–517.
310. Ubhi CS, Morris DL. Fracture and herniation of bowel at bone graft donor site in the iliac crest. *Injury.* 1984;16 (3):202–203.
311. Younger EM, Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma.* 1989;3 (3):192–195.
312. Glowacki J, Kaban LB, Murray JE, Folkman J, Mulliken JB. Application of the biological principle of induced osteogenesis for craniofacial defects. *Lancet.* 1981;1 (8227):959–962
313. Rosenthal RK, Folkman J, Glowacki J. Demineralized bone implants for nonunion fractures, bone cysts, and fibrous lesions. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;(364):61–69.
314. Sassard WR, Eidman DK, Gray PM, Block JE, Russo R, Russell JL, Taboada EM. Augmenting local bone with Grafton demineralized bone matrix for posterolateral lumbar spine fusion: avoiding second site autologous bone harvest. *Orthopedics.* 2000;23 (10):1059–1064. discussion 1064-1055.
315. Tiedeman JJ, Garvin KL, Kile TA, Connolly JF. The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. *Orthopedics.* 1995;18 (12):1153–1158.

316. Mulliken JB, Kaban LB, Glowacki J. Induced osteogenesis--the biological principle and clinical applications. *J Surg Res.* 1984;37 (6):487–496.
317. Urist MR, DeLange RJ, Finerman GA. Bone cell differentiation and growth factors. *Science.* 1983;220 (4598):680–686.
318. Urist MR, Strates BS. Bone formation in implants of partially and wholly demineralized bone matrix. Including observations on acetone-fixed intra and extracellular proteins. *Clin Orthop Relat Res.* 1970;71:271–278.
319. Kasten P, Luginbuhl R, van Griensven M, Barkhausen T, Krettek C, Böhner M, Bosch U. Comparison of human bone marrow stromal cells seeded on calcium-deficient hydroxyapatite, beta-tricalcium phosphate and demineralized bone matrix. *Biomaterials.* 2003;24 (15):2593–2603.
320. Mauney JR, Blumberg J, Pirun M, Volloch V, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells on partially demineralized bone scaffolds in vitro. *Tissue engineering.* 2004a;10 (1–2):81–92. doi: 10.1089/107632704322791727. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
321. Mauney JR, Sjöstorm S, Blumberg J, Horan R, O’Leary JP, Vunjak-Novakovic G, Volloch V, Kaplan DL. Mechanical stimulation promotes osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells on 3-D partially demineralized bone scaffolds in vitro. *Calcif Tissue Int.* 2004b;74 (5):458–468. doi: 10.1007/s00223-003-0104-7.
322. Cornell CN. Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts. *Orthop Clin North Am.* 1999;30 (4):591–598.
323. Hattar S, Berdal A, Asselin A, Loty S, Greenspan DC, Sautier JM. Behaviour of moderately differentiated osteoblast-like cells cultured in contact with bioactive glasses. *European cells & materials.* 2002;4:61–69.
324. Kokubo T, Ito S, Huang ZT, Hayashi T, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T. Ca, P-rich layer formed on high-strength bioactive glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res.* 1990;24 (3):331–343. doi: 10.1002/jbm.820240306.
325. Hench LL, Paschall HA. Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. *J Biomed Mater Res.* 1973;7 (3):25–42. doi: 10.1002/jbm.820070304.
326. Ito G, Matsuda T, Inoue N, Kamegai T. A histological comparison of the tissue interface of bioglass and silica glass. *J Biomed Mater Res.* 1987;21 (4):485–497. doi: 10.1002/jbm.820210408.
327. Kitsugi T, Nakamura T, Yamamura T, Kokubu T, Shibuya T, Takagi M. SEM-EPMA observation of three types of apatite-containing glass-ceramics implanted in bone: the variance of a Ca-P-rich layer. *J Biomed Mater Res.* 1987;21 (10):1255–1271. doi: 10.1002/jbm.820211008.
328. Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LD, Hench LL, Polak JM. Ionic products of bioactive glass dissolution increase proliferation of human osteoblasts and induce insulin-like growth factor II mRNA expression and protein synthesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000a;276(2):461–465. doi: 10.1006/bbrc.2000.3503 S0006-291X(00)93503-4. [pii] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

329. Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LD, Hench LL, Polak JM. Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5 dissolution. *J Biomed Mater Res.* 2001;55(2):151–157. doi: 10.1002/1097-4636(200105)55:2<151::AID-JBM1001>3.0.CO;2-D. [pii] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
330. Xynos ID, Hukkanen MV, Batten JJ, Buttery LD, Hench LL, Polak JM. Bioglass 45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation In vitro: implications and applications for bone tissue engineering. *Calcif Tissue Int.* 2000b;67(4):321–329. doi: 10.1007/s002230001134.
331. Fujishiro Y, Hench LL, Oonishi H. Quantitative rates of in vivo bone generation for Bioglass and hydroxyapatite particles as bone graft substitute. *J Mater Sci Mater Med.* 1997;8(11):649–652. 173658
332. Oonishi H, Kushitani S, Yasukawa E, Iwaki H, Hench LL, Wilson J, Tsuji E, Sugihara T. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. *Clin Orthop Relat Res.* 1997;(334):316–325.
333. Wheeler DL, Eschbach EJ, Hoellrich RG, Montfort MJ, Chamberland DL. Assessment of resorbable bioactive material for grafting of critical-size cancellous defects. *J Orthop Res.* 2000;18 (1):140–148. doi: 10.1002/jor.1100180120. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
334. Wheeler DL, Stokes KE, Hoellrich RG, Chamberland DL, McLoughlin SW. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. *J Biomed Mater Res.* 1998;41 (4):527–533. doi: 10.1002/(SICI)1097-4636(19980915)41:4<527::AID-JBM3>3.0.CO;2-E.
335. Wilson J, Pigott GH, Schoen FJ, Hench LL. Toxicology and biocompatibility of bioglasses. *J Biomed Mater Res.* 1981;15 (6):805–817. doi: 10.1002/jbm.820150605.
336. Mulliken JB, Glowacki J, Kaban LB, Folkman J, Murray JE. Use of demineralized allogeneic bone implants for the correction of maxillocraniofacial deformities. *Ann Surg.* 1981;194 (3):366–372.
337. Hulbert, S. F., Young, F. A., Mathews, R. S., Klawitter, J. J., Talbert, C. D., & Stelling, F. H. (1970). Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *Journal of biomedical materials research*, 4(3), 433-456.
338. Rahaman, M. N., Day, D. E., Bal, B. S., Fu, Q., Jung, S. B., Bonewald, L. F., & Tomsia, A. P. (2011). Bioactive glass in tissue engineering. *Acta biomaterialia*, 7(6), 2355-2373.
339. Fukasawa, T., Ando, M., Ohji, T., & Kanzaki, S. (2001). Synthesis of porous ceramics with complex pore structure by freeze-dry processing. *Journal of the American Ceramic Society*, 84(1), 230-232.
340. Deville, S., Saiz, E., & Tomsia, A. P. (2006). Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(32), 5480-5489.
341. Fu, Q., Rahaman, M. N., Bal, B. S., Kuroki, K., & Brown, R. F. (2010). In vivo evaluation of 13-93 bioactive glass scaffolds with trabecular and oriented microstructures in a subcutaneous rat implantation model. *Journal of biomedical materials research Part A*, 95(1), 235-244.

342. Pham, D., & Dimov, S. S. (2012). Rapid manufacturing: the technologies and applications of rapid prototyping and rapid tooling. Springer Science & Business Media.
343. Sachlos, E., & Czernuszka, J. T. (2003). Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur Cell Mater*, 5(29), 39-40.
344. Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., & Boccaccini, A. R. (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18), 3413-3431.
345. Ambrosio, A. M., Sahota, J. S., Khan, Y., & Laurencin, C. T. (2001). A novel amorphous calcium phosphate polymer ceramic for bone repair: I. Synthesis and characterization. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 58(3), 295-301.
346. Fu, Q., Saiz, E., & Tomsia, A. P. (2011). Bioinspired strong and highly porous glass scaffolds. *Advanced functional materials*, 21(6), 1058-1063.
347. Liu, X., Rahaman, M. N., Fu, Q., & Tomsia, A. P. (2012). Porous and strong bioactive glass (13-93) scaffolds prepared by unidirectional freezing of camphene-based suspensions. *Acta biomaterialia*, 8(1), 415-423.
348. Rahaman, M. N., Day, D. E., Bal, B. S., Fu, Q., Jung, S. B., Bonewald, L. F., & Tomsia, A. P. (2011). Bioactive glass in tissue engineering. *Acta biomaterialia*, 7(6), 2355-2373.
349. Sepulveda, P., Jones, J. R., & Hench, L. L. (2002). Bioactive sol-gel foams for tissue repair. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 59(2), 340-348.
350. Jones, J. R., Poologasundarampillai, G., Atwood, R. C., Bernard, D., & Lee, P. D. (2007). Non-destructive quantitative 3D analysis for the optimisation of tissue scaffolds. *Biomaterials*, 28(7), 1404-1413.
351. Jones, J. R., Ehrenfried, L. M., & Hench, L. L. (2006). Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(7), 964-973.
352. Kim, H. W., Kim, H. E., & Knowles, J. C. (2006). Production and potential of bioactive glass nanofibers as a next-generation biomaterial. *Advanced Functional Materials*, 16(12), 1529-1535.
353. Lu, H., Zhang, T., Wang, X. P., & Fang, Q. F. (2009). Electrospun submicron bioactive glass fibers for bone tissue scaffold. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(3), 793-798.
354. Βασιλακοπούλου, Α. (2013). Μεσοπορώδη βιοενεργά υλικά (Doctoral dissertation).
355. Jones, J. R., Sepulveda, P., & Hench, L. L. (2001). Dose-dependent behavior of bioactive glass dissolution. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official*

- Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 58(6), 720-726.
356. Kokubo, T. (1991). Bioactive glass ceramics: properties and applications. *Biomaterials*, 12(2), 155-163.
 357. Hench LL. The story of bioglass. *J Mater Sci Mater Med*. 2006;17(11):967–978.
 358. Massera J, Fagerlund S, Hupa L, et al. crystallization mechanism of bioactive glasses 45S5 and S53P4. *Journal of the American Ceramic Society*. 2012;95(2):607–613.
 359. Fagerlund S, Massera J, Moritz N, et al. Phase composition and in vitro bioactivity of porous implants made of bioactive glass S53P4. *Acta Biomater*. 2012;8(6):2331–2339.
 360. PeitlFilho O, LaTorre GP, Hench LL. Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5. *J Biomed Mater Res*. 1996;30(4):509–514.
 361. Hoppe A, Gldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011;32(11):2757–2774.
 362. Hench LL, Andersson H. Bioactive Glasses. In: June Wilson, editor. *An Introduction to Bioceramics*. USA: Springer; 1993.
 363. Andersson H, Karlsson KH. *Advance in Biomaterials No 8*. Netherlands, Amsterdam: Elsevier; 1990.
 364. Lindfors NC, Koski I, Heikkil JT, et al. A prospective randomized 14-year follow-up study of bioactive glass and autogenous bone as bone graft substitutes in benign bone tumors. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;94(1):157–164.
 365. Ahmed I, Lewis M, Olsen I, et al. Phosphate glasses for tissue engineering: Part 1. Processing and characterisation of a ternary-based P2O5-CaO-Na2O glass system. *Biomaterials*. 2004;25(3):491–499.
 366. Ahmed I, Lewis M, Olsen I, et al. Phosphate glasses for tissue engineering: Part 2. Processing and characterisation of a ternary-based P2O5-CaO-Na2O glass fibre system. *Biomaterials*. 2004;25(3):501–507.
 367. Abou Neel EA, Mizoguchi T, Ito M, et al. In vitro bioactivity and gene expression by cells cultured on titanium dioxide doped phosphate-based glasses. *Biomaterials*. 2007;28(19):967–2977.
 368. Massera J, Kokkari A, Nrhi T, et al. The influence of SrO and CaO in silicate and phosphate bioactive glasses on human gingival fibroblasts. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(6):196.
 369. Rahaman MN, Day DE, Sonny Bal B, et al. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater*. 2011;7(6):2355–2373.
 370. Jones JR, Ehrenfried LM, Hench LL. Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2006;27(7):964–73.
 371. Chen QZZ, Thompson ID, Boccaccini AR. 45S5 Bioglass derived glass ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2006;27(11):2414–425.

372. Fu Q, Rahaman MN, Bal BS, et al. Mechanical and in vitro performance of 13-93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique. *Acta Biomater.* 2008;4(6):1854–1864.
373. Fu Q, Saiz E, Tomsia AP. Bioinspired strong and highly porous glass scaffolds. *Adv Funct Mater.* 2011;21(6):1058–1063.
374. Vitale Brovarone C, Di Nunzio S, Bretcanu O, et al. Macroporous glass ceramic materials with bioactive properties. *J Mater Sci Mater Med M.* 2004;15(3):209–217.
375. Zhang H, Ye XJ, Li JS. Preparation and biocompatibility evaluation of apatite wollastonite derived porous bioactive glass ceramic scaffolds. *Biomed Mater.* 2009;49(4):045007.
376. Bairo F, Verne E, Vitale Brovarone C. 3-D high-strength glass–ceramic scaffolds containing fluoroapatite for load-bearing bone portions replacement. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2009;29(6):2055–2062.
377. Huang TS, Rahaman MN, Doiphode ND, et al. *Materials Science and Engineering.* 2011;31:1482–1489.

