

Kompozitne okosnice na temelju hidroksiapatita i biorazgradivih polimera u inženjerstvu koštanog tkiva - literaturni pregled

Plavanjac, Arijana

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:484821>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-23**



FKITMCMXIX

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

ARIJANA PLAVANJAC

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Arijana Plavanjac

KOMPOZITNE OKOSNICE NA TEMELJU HIDROKSIAPATITA I
BIORAZGRADIVIH POLIMERA U INŽENJERSTVU KOŠTANOG TKIVA –
LITERATURNI PREGLED

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Hrvoje Ivanković

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Hrvoje Ivanković

Dr. sc. Dajana Milovac

Prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

Zagreb, rujan 2015.

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Hrvoju Ivankoviću na prihvaćenom mentorstvu i odabranoj temi.

Veliko hvala dr. sc. Dajani Milovac na velikom trudu, pomoći i raspravama o važnim temama u polju kompozitnih okosnica u inženjerstvu koštanog tkiva.

Hvala obitelji, prijateljima i kolegama na potpori i razumijevanju tijekom mog studiranja.

Sadržaj:

1.	UVOD	1
2.	INŽENJERSTVO TKIVA	4
2.1.	Inženjerstvo koštanog tkiva	4
2.2.	Struktura kostiju	5
2.3.	Okosnice – privremene matrice za rast kosti	6
3.	MATERIJALI U IZRADI KOŠTANIH OKOSNICA	8
3.1.	Bioaktivna keramika	8
3.1.1.	Kalcijevi fosfati	9
3.1.2.	Hidroksiapatit, HA	9
3.2.	Polimeri	12
3.2.1.	Poliglikolid (PGA)	12
3.2.2.	Polilaktid (PLA)	13
3.2.3.	Poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA)	13
3.2.4.	Poli(ϵ – kaprolakton) (PCL)	13
3.3.	Keramika/polimerni kompoziti	14
4.	TEHNIKE PRIPRAVE KOMPOZITNIH OKOSNICA	15
4.1.	Toplinski potaknuto razdvajanje faza	15
4.2.	Ispiranje čestica porogena	16
4.3.	Liofilizacija	16
4.4.	Lijevanje u kalupe ili melt molding	17
4.5.	Elektropredenje	17
4.6.	Prevlačenje	18
5.	ZAKLJUČAK	20
6.	LITERATURA	21
7.	ŽIVOTOPIS	25

Sažetak:

Cilj ovog rada je dati kratki literaturni pregled kompozitnih okosnica na temelju hidroksiapatita i biorazgradivih polimera u inženjerstvu koštanog tkiva. Inženjerstvo tkiva je interdisciplinarno područje inženjerskih i biomedicinskih znanosti usmjereno razvoju bioloških nadomjestaka za obnovu, održavanje i unaprjeđenje funkcije oštećenog tkiva.

U inženjerstvu koštanog tkiva najvažniju ulogu imaju trodimenzionalne okosnice (engl. scaffold) kojima je uloga oponašati strukturna i mehanička svojstva prirodne kosti. Okosnice su zapravo visoko porozne matrice s međusobno povezanim porama, čime se omogućuje velika specifična površina potrebna za adheziju stanica, te vaskularizacija, integracija tkiva i protok hranjivih tvari i metaboličkog otpada kroz okosnicu. Glavne odlike takvih materijala su biokompatibilnost, biorazgradivost, osteoprovodnost i odgovarajuća mehanička svojstva.

Najčešće korištena biokeramika u inženjerstvu koštanog tkiva je hidroksiapatit (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) zbog svoje sličnosti sa anorganskom fazom prirodne kosti. Međutim, osnovni nedostatak okosnica hidroksiapatitne keramike su loša mehanička svojstva. Istraživanja su pokazala da kompozitne okosnice, napravljene od bioaktivne keramike i biorazgradivih polimera, mogu poboljšati karakteristike hidroksiapatitne okosnice i imati svojstva vrlo slična svojstvima prirodnog koštanog tkiva.

Ključne riječi: okosnica, inženjerstvo koštanog tkiva, kompoziti, bioaktivnost, poroznost, biorazgradivost

Summary:

Tissue engineering is an interdisciplinary field of engineering and biomedical sciences focused on the development of biological substitutes for the restoration, maintenance and enhancement of tissue function. It is an alternative that replaces existing methods of bone grafting because it reduces the possibility of disease transmission, and the production is possible in unlimited quantities. Studies have shown that the scaffolds made of biodegradable polymer and the bioactive ceramic have the properties of natural hard tissue.

Scaffold materials used in the bone tissue engineering, that mimic the structure and mechanical properties of natural bone, should provide a high porous matrix with interconnected pores that enables vascularization, tissue integration and flow of nutrients and metabolic waste. The main properties of such materials are biocompatibility, biodegradability, osteoconductivity and appropriate mechanical properties.

The synthetic calcium phosphates (hydroxyapatite, HA) is the most commonly used ceramic material in dentistry and bone repair due to their similarity to the inorganic matrix of natural bone. The main disadvantage of the HA scaffolds is their poor mechanical properties. Research has shown that the composite scaffolds, made from bioactive ceramics and biodegradable polymer, can improve the characteristics of the hydroxyapatite scaffold and have properties very similar to those of natural bone tissue.

Key words: scaffold, bone tissue engineering, composite, bioactivity, porosity, biodegradability

1. UVOD

Bolesti, ozljede i traume koštanog tkiva često podrazumijevaju nastajanje koštanog oštećenja koje ne može biti obnovljeno prirodnom sposobnošću zacjeljivanja kosti te kao takvi zahtijevaju kirurške zahvate. Presađivanje kostiju je tradicionalna kirurška procedura koja se koristi za liječenje kostiju oštećenih nakon traume, problema sa zglobovima ili rasta kosti oko ugrađenog implantata. Jednom kad tijelo prihvati implantat on pruža okvir u kojem živa kost može rasti. Najbolje zamjene za kosti su one s najsličnijim mehaničkim i biološkim svojstvima prirodne kosti. Tradicionalni načini liječenja većih koštanih oštećenja fokusiraju se na presađivanje zdravog koštanog tkiva uzetog od istog pacijenta (autogeni nadomjesci), od donora iste vrste (alogeni nadomjesci) ili donora druge vrste (ksenogeni nadomjesci) te korištenje sintetskih materijala (metali, keramika, polimeri).

Autografti ili autogeni nadomjesci uključuju korištenje kosti dobivene od samog pacijenta. Autograft se uzima sa neke neesencijalne kosti kao što je lakatna kost, bedrena kost, rebra ili sa područja brade. Autografti se smatraju zlatnim standardom u regeneraciji koštanog tkiva jer se odlikuju nizom prednosti:

- Omogućuju koštanu fuziju sa kalcijevom okosnicom kako bi nova kost mogla i dalje rasti
- Sadrži stanice i proteine koje pomažu u prihvatanju nove kosti ili tkiva
- Nema straha od prijenosa bolesti

Autografti imaju i nedostatke koji uključuju rizike i moguće komplikacije povezane sa izvođenjem same kirurške procedure:

- Kirurški problemi s infekcijom rane
- Oštećenje živaca
- Krvarenje
- Rizik od nastanka kronične boli na mjestu gdje je kost uzeta

Alografti ili alogeni nadomjesci su također kosti dobivene od čovjeka, no alografti se uzimaju od stranog donora i ugrađuje u kost domaćina. Prednosti alografta u odnosu na autografte su izbjegavanje dodatne operacije pacijenta, lakša manipulacija i potencijalno neograničena količina materijala na raspolaganju koja se pohranjuje u banci kostiju. Nedostatak alografta je da ne sadrži nikakve žive stanice ili proteine potrebne za stimulaciju daljnjeg rasta

kostiju pa se s time i smanjuje mogućnost koštanog sraščivanja. Također, raste mogućnost prijenosa bolesti s donora na domaćina i imunoloških reakcija.

Ksenografti ili ksenogeni nadomjesci su zamjene za kosti koji ne potječu od ljudi. Najčešće su to dijelovi goveđe kosti koje mogu biti suho smrznute ili demineralizirane i deproteinizirane. Ksenografti na bazi koralja su uglavnom kalcijev karbonat, dok je prirodna ljudska kost izgrađena od hidroksiapatita. Koraljni materijali se stoga industrijski prerađuju u hidroksiapatit ili je taj proces jednostavno izostavljen i koraljni materijal ostaje u obliku kalcijeva karbonata¹.

U slučaju ograničene primjene ili dostupnosti koštanih nadomjestaka prirodnog ili životinjskog podrijetla, koriste se sintetski materijali, tzv. aloplasti. Trenutno su najviše u upotrebi metali, polimeri (prirodni ili sintetski), sintetska keramika (kalcijevi fosfati, kalcijevi sulfati) i njihovi kompoziti². Osim osnovnog uvjeta, a to je biokompatibilnost, u obzir se treba uzeti i mehanička priroda implantata: materijali moraju imati mehanička svojstva potrebna za pravilnu izvedbu njihove funkcije. Biorazgradivost i mogućnost stvaranja veze sa koštanim tkivom, samo su još neka od poželjnih svojstava implantata. Svojstvo sraščivanja, često zvano i bioaktivnost, možemo definirati kao uspostavljanje kontinuiteta fizičko-kemijskih procesa između implantata i matrice kosti.

Metalni implantati se mogu koristiti kao trajne proteze (proteze kuka ili dentalni implantati) ili kao privremeni implantati (pločice, šipke ili vijci) koji služe za fiksaciju pri prijelomu kosti. Najčešće se koriste nehrđajući čelik, kobalt-krom legure, titan i njegove legure. Niti jedan metalni materijal korišten u ortopediji nije bioaktivan, no postoje dva načina kojima se može postići bioaktivnost:

- Oblaganje površine implantata s bioaktivnim keramičkim hidroksiapatitom (HA) ili bioaktivnim staklom
- Kemijsko modificiranje površine materijala kako bi se potpomogla *in vivo* prirodna depozicija bioaktivne keramike ili kako bi se potaknula apsorpcija proteina, adhezija stanica i ostale interakcije između tkiva i materijala.

Nedostatak metalnih implantata visoke čvrstoće je da nose većinu tereta pa okolna kost postaje rasterećena i zapravo neaktivna što dovodi do smanjenja gustoće kosti i njenog slabljenja. Drugi nedostatak je vezan uz pojavu korozije metala³.

Najčešće korišteni materijal u inženjerstvu koštanog tkiva za izradu okosnica je biokeramika, odnosno hidroksiapatit i njemu slični amorfni i kristalni kalcijevi fosfati. Uz njih

su važni i polimeri, posebice biorazgradivi (prirodni ili sintetski). Prošlih nekoliko desetljeća, razvoj kompozitnih okosnica keramika/polimer privukao je mnogo pažnje upravo zbog toga što je prirodna kost zapravo kompozit bioloških apatita i prirodnog polimera, kolagena. Kroz sintezu kompozitne okosnice koriste se sve prednosti koje nude bioaktivna keramika i biorazgradivi polimeri kako bi se optimizirala fizička, mehanička i biološka svojstva u tkivu domaćina⁴.

2. INŽENJERSTVO TKIVA

Prema Langeru i Vacantiju:

„Inženjerstvo tkiva je interdisciplinarno polje istraživanja koje primjenjuje principe inženjerstva i znanosti kako bi razvilo biološke nadomjeske koji obnavljaju, održavaju ili poboljšavaju funkciju tkiva.“

Suprotno pristupu klasičnih biomaterijala, inženjerstvo tkiva bazira se na razumijevanju tkivnih formacija i obnove, a cilj je potaknuti razvoj novog funkcionalnog tkiva, a ne samo ugrađivanje novih dijelova. Istraživači se nadaju postizanju cilja primjenom znanja iz područja fizike, kemije, inženjerstva, znanosti o materijalima, biologije i medicine⁵.

Tkiva razvijena *in vitro* osiguravaju terapijske mogućnosti u području transplantacijske medicine kao i području razvoja umjetnih organa. Tu je osobit naglasak na postupke dobivanja regenerativnih bioloških materijala poput kosti, kože, hrskavice i kapilara. Također, sve veću pozornost poprima primjena matičnih stanica čija diferencijacija i usmjeravanje k višestaničnoj, tkivu nalik, organiziranoj strukturi predstavlja izazov suvremenoj znanosti⁶.

2.1. Inženjerstvo koštanog tkiva

S biološke perspektive, da bi uzgojili novu kost, potrebne su stanice, izvanstanična matrica, unutarstanična komunikacija, interakcija staničnih matrica i faktori rasta. No, nisu samo te komponente predmet razmatranja u inženjerstvu koštanog tkiva. Kost ima 3D konfiguraciju, a stanice ne rastu u 3D obliku *in vitro*, pa 3D struktura, tzv. okosnica, koja oponaša strukturu kosti mora biti primijenjena tako da novo tkivo može urasti u 3D obliku⁵.

Okosnice se ponašaju kao predlošci za direktno urastanje stanica i formiranje izvanstanične matrice. Također moraju omogućiti pravilnu difuziju nutrijenata s jedne strane, ali i odlaganje otpada s druge strane. Vrlo je bitno da okosnice potpomažu i potiču angiogenezu (rast novih krvnih žila) kako bi se vratila biološka i mehanička funkcija oštećenog koštanog tkiva.

Da bi se uspješno sintetizirale takve strukture potrebno je dobro razumjeti geometriju njihove strukture, ali i fizička i kemijska svojstva prirodne kosti⁷.

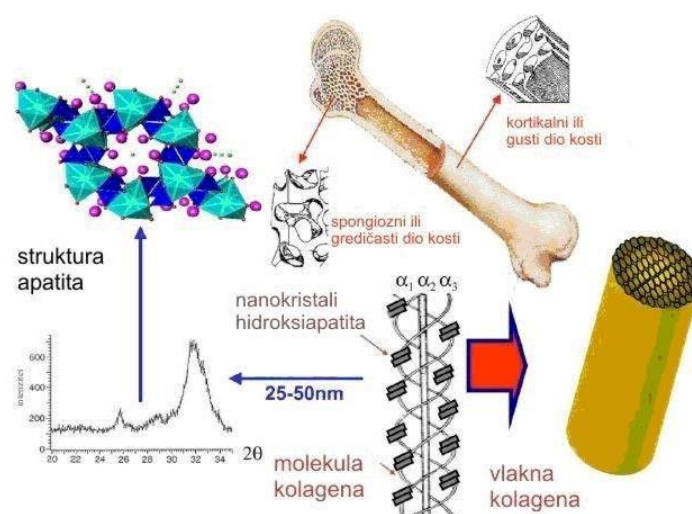
2.2. Struktura kostiju

Kost je jedinstvena i vrlo organizirana vrsta vezivnog tkiva. Skelet odrasla čovjeka sadrži 300 do 350 kostiju koje služe kao osnova ljudskog kretanja, strukturna potpora tijelu i zaštita vitalnih organa. Također, služi i kao skladište iona (Ca^{2+} , PO_4^{3-} , itd.) koji su nužni za metabolizam i proizvodnju koštanih stanica u leđnoj moždini.

Koštano tkivo posjeduje izvanredna fizička i mehanička svojstva. Iako je izrazito porozna, kost može podnijeti težak teret i velike sile, kruta je i čvrsta ali i fleksibilna, ima sposobnost remodeliranja, itd. Specifična svojstva kosti proizlaze iz sastavnica kosti, odnosno organske faze, uglavnom kolagenskih vlakana i mineralne faze, tj. hidroksiapatita. Svaku kost obavlja vlaknasta opna tj. okosnica. U njoj se nalaze krvne žile koje prenose hranjive tvari i hormonalne signale u unutrašnji dio kosti, te živci, koji prenose podatke, primjerice o boli ili položaju.

Ispod okosnice nalazi se gust vanjski sloj glatke i čvrste koštane tvari koji se naziva kompaktna kost, te unutrašnji slojevi mekše i poroznije spongiozne tj. spužvaste kosti.

- Kompaktna kost sastoji se od cilindričnih struktura zvanih osteoni koji snažno priljubljeni tvore čvrstu i gustu kost. Krvne žile i živci, povezani s okosnicom, ispunjavaju šuplje središnje kanale osteona.
- Spongiozna kost nalazi se ispod kompaktne kosti. Sastoji se od košnice čvrstih pregrada (trabekula), a sadrži koštanu srž.



Slika 1. Shema strukture ljudske kosti⁵³

Kost je struktura koja se konstantno mijenja, a koju stvaraju, održavaju i obnavljaju koštane stanice (osteoblasti, osteociti i osteoklasti). Osteoblasti se nalaze blizu površine kosti, a stvaraju novu kost tako da proizvode matricu od kolagena koji se stvrdnjava u tankim slojevima kosti kad se u njemu kristaliziraju kalcijevi fosfati. Osteociti su zreli osteoblasti zarobljeni u kosti čija je glavna funkcija održavanje koštanog tkiva. Osteoklasti su makro stanice koje kiselim djelovanjem enzima razgrađuju koštano tkivo. Na taj način također mogu odstraniti koštano tkivo oštećeno svakodnevnom upotrebom ili lakšim prijelomima; osteociti i osteoblasti potom popravljaju oštećenja⁸.

2.3. Okosnice – privremene matrice za rast kosti

Svako tkivo sastoji se od matrice i jedne ili više vrsta stanica. Matrica je, *in vivo*, 3D okosnica za stanice i osigurava im tkivnu okolinu i građu. Nadalje, služi kao spremnik vode, hranjivih tvari i faktora rasta. U tom smislu i u želji da se obnovi funkcija ili tkivo, matrica treba predložak, okosnicu, koja će se privremeno ponašati kao matrica za staničnu proliferaciju i izvanstaničnu depoziciju matrice, s dosljednim urastanjem kosti sve dok se koštano tkivo u potpunosti ne obnovi. Okosnice također imaju funkciju predloška za vaskularizaciju novog tkiva i mogu aktivno sudjelovati u procesu regeneracije kroz otpuštanje faktora rasta, prisutnih u njihovoj strukturi. Dakle, možemo reći da je prikladna okosnica najvažnija komponenta u strategiji inženjerstva koštanog tkiva, no vrlo je bitno shvatiti da ista mora imati niz svojstava koja ju čine prikladnim za upotrebu u inženjerstvu koštanog tkiva⁵.

Biokompatibilnost

Okosnice bi trebale biti kvalitetno ugrađene u tkivo domaćina, a najvažnije je da ne izazovu nikakvu imunološku ili citotoksičnu reakciju. Na faktore koji određuju citokompatibilnost mogu utjecati ne samo intrinzična kemija materijala nego i tehnike koje se koriste za sintezu i proizvodnju materijala. Npr. zaostale kemikalije koje sudjeluju u procesu polimerizacije (organske otopine, stabilizatori, katalizatori i monomeri koji nisu nizu izreagirali) ili zaostalo otapalo koje se koristi za otapanje polimera, mogu se izlučiti iz implantiranog materijala pod fiziološkim uvjetima. Stoga, ne samo originalni biomaterijal nego i sve komponente koje se mogu izlučiti kao i razgradivi produkti moraju biti biokompatibilni⁹.

Poroznost

Okosnice moraju imati povezanu unutarnju geometriju unutar svoje porozne strukture te veliku specifičnu površinu koja će omogućiti adheziju stanica i njihovu pravilnu raspodjelu kroz poroznu strukturu, ali i omogućiti vaskularizaciju građe iz okolnog tkiva. Nadalje, okosnice bi također trebale prikazati adekvatnu mikro-poroznost kako bi se omogućilo i kapilarno urastanje. Poroznost i unutarnja međupovezanost pora su također važni za pravilnu difuziju nutrijenata i plinova te uklanjanja metaboličkog otpada koji je rezultat aktivnosti stanica koje su u međuvremenu urasle u okosnicu. Međutim, mjera poroznosti uvijek utječe na ostala svojstva okosnice kao što je mehanička stabilnost, pa bi stoga vrijednosti poroznosti uvijek trebalo uravnotežiti s mehaničkim potrebama određenog tkiva koje treba zamijeniti.

Veličina pora je također bitna karakteristika okosnice jer ako su pore premale, nasađene stanice na površini okosnice, odnosno stvaranje izvanstanične matrice, mogu dovesti do začepjenja pora. To će spriječiti stanično probijanje, izvanstaničnu proizvodnju matrice i vaskularizaciju unutarnjih područja okosnice. Adekvatna veličina pora okosnica u inženjerstvu koštanog tkiva je između 200 – 900 μm^5 .

Mehanička svojstva i biorazgradivost

U *in vitro* uvjetima, okosnice bi trebale imati odgovarajuća mehanička svojstva da podnesu hidrostatske tlakove i održe razmak potreban za urastanje stanica i proizvodnju matrice. U *in vivo* uvjetima i zbog toga što je kost kontinuirano pod opterećenjem, mehanička svojstva ugrađenog materijala trebala bi biti identična onoj kod prirodne kosti, kako bi rana mobilizacija ozlijeđenog dijela bila moguća. Nadalje, brzina razgradnje okosnice mora biti ispravno usklađena sa brzinom rasta novog tkiva u toj mjeri da se za vrijeme potpune obnove ozlijeđenog dijela, okosnica u potpunosti razgradi⁵.

3. MATERIJALI U IZRADI KOŠTANIH OKOSNICA

Napredak u polju inženjerstva koštanog tkiva povećao je interes za proizvodnjom koštanih okosnica¹⁰. Kako bi dobili čvrstu i mehanički jaku okosnicu, struktura i razvoj materijala mora slijediti principe mehanizama prirodnih kompozita. Sve okosnice moraju imati mehaničku snagu, no ipak mnoge su slabe i lomljive¹¹. Vrlo bitan korak proizvodnje idealne okosnice je odabir prikladnog materijala. Do sada, širok spektar prirodnih i sintetskih biomaterijala, kao što su polimeri, keramika i njihovi kompoziti, dobro je proučen u svrhu njihove primjene u inženjerstvu koštanog tkiva.

Pod pojmom biomaterijala podrazumijevaju se sintetski ili prirodni materijali koji se koriste kao zamjena za dijelove prirodne kosti ili kako bi djelovali u bliskom kontaktu sa prirodnim tkivom.

Kompoziti na bazi polimera i bioaktivne keramike mogu se koristiti kao prikladni materijali za stvaranje čvrste okosnice. Sintetski hidroksiapatit, koji je jedan oblik kalcijeva fosfata i vrlo je sličan prirodnoj kosti, pomaže rast stanice unutar implantata i formira čvrstu vezu između tkiva i implantata. S druge strane, polimer osigurava matricu za okosnicu i fleksibilnost kompozita. Kompoziti na bazi bioaktivnih polimera i bioaktivne keramike imaju vrlo dobra osteoinduktivna svojstva i mogu se koristiti kao zamjena za prirodnu kost¹².

3.1. Bioaktivna keramika

Danas je najčešće korištena u inženjerstvu tkiva biokeramika u obliku metalnih oksida (Al_2O_3 , MgO), kalcijevih fosfata (hidroksiapatit (HA), trikalcij fosfata (TCP), oktakalcij fosfata (OCP)) i staklene keramike (biostaklo). Metalni oksidi se smatraju bioinertnim u biološkom okruženju dok se kalcijevi fosfati i staklena keramika mogu vezati na kost preko koštanih stanica kada su implantirani. Zbog dobre biokompatibilnosti i bioaktivnosti biokeramike najčešće se koriste prilikom zamjene tvrdog tkiva.

Od bioaktivne keramike, sintetski hidroksiapatit kemijskog sastava $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ je najdetaljnije proučavan kao materijal za zamjenu kosti².

3.1.1. Kalcijevi fosfati

Biokeramici na bazi kalcijevih fosfata je dana velika pozornost kao zamjeni za kosti zbog njihove velike sličnosti prirodnoj kosti i dobre bioaktivnosti. Najvažnije, stabilnost, reaktivnost, razgradnja, mehanička svojstva i biološka svojstva kalcijevih fosfata ovise o širokom spektru udjela kalcija i fosfora u njima¹³. Udjeli Ca/P kalcijeva fosfata u obliku monolita ili premaza variraju prema slijedećim prisutnim fazama: α i β – trikalcij fosfat (TCP), tetrakalcijev fosfat, oktakalcijev fosfat i hidroksiapatit (HA ili $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Od svih tih faza, čisti kristalični HA je poznat kao najstabilnija i najčvršća faza¹⁴.

Iako se nisu pokazali pretjerano osteoinduktivnima, kalcijevi fosfati zasigurno posjeduju svojstva osteokonduktivnosti i mogu se povezati direktno na kost pod određenim uvjetima^{15,16}. Mnoga *in vivo* i *in vitro* istraživanja su pokazala da kalcijev fosfat, bez obzira u kojem obliku (u obliku monolita, premaza, praha ili porozni) i kojoj fazi (kristalični ili amorfni), uvijek podupire povezanost, diferencijaciju i proliferaciju koštanih stanica, s hidroksiapatitom kao jednim od najučinkovitijih među njima. Dok su izvrsne biološke performanse HA i povezanog kristaličnog kalcijeva fosfata vrlo dobro dokumentirane, njihova relativno spora biorazgradnja i niska mehanička snaga ograničavaju njihovu upotrebu u inženjerstvu kosti, posebno na mjestima gdje moraju podnositi velike terete¹⁷.

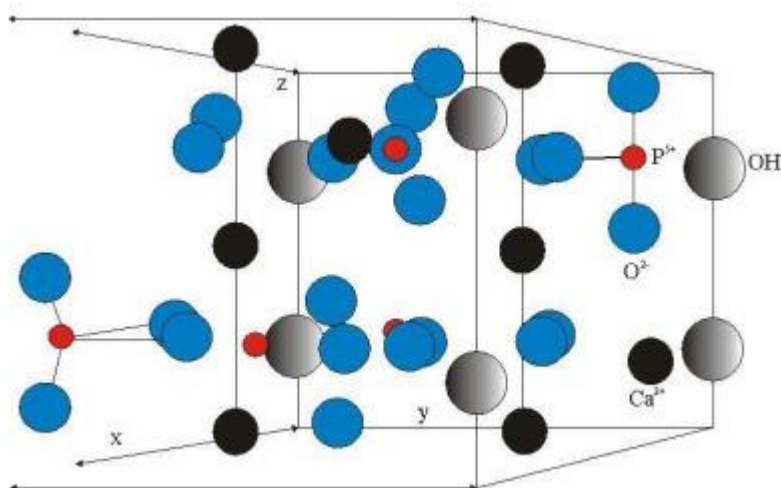
3.1.2. Hidroksiapatit, HA

Oko 60 mas.% kosti je izrađeno od hidroksiapatita strukturne formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Zbog toga je očito zašto su HA i povezani kalcijevi fosfati intenzivno istraživani kao glavne komponente materijala okosnice u inženjerstvu koštanog tkiva¹⁸.

HA ima molarni omjer Ca/P=1,67. Stehiometrija hidroksiapatita vrlo je važna kada se provodi termalna obrada tog materijala. Zbog odstupanja u omjeru Ca/P dolazi pojavama drugih faza hidroksiapatita. Postoje dva slučaja:

- Omjer Ca/P je manji od 1,67 - pojavljuje se α ili β trikalcij fosfat nakon termalnog procesa.
- Omjer Ca/P je omjer veći od 1,67 - kalcijev oksid može se pojaviti zajedno sa hidroksiapatitnom fazom.

Pojava tih faza može utjecati na biološki odgovor implantata u tijelu domaćina¹⁹.



Slika 2. Shema kristalne strukture hidroksiapatita⁵³

Hidroksiapatit je mineral ionskog karaktera. Kristalna struktura se može opisati kao kompleksna heksagonska struktura kisikovih atoma s metalima koji zauzimaju tetraedarske ili oktaedarske šupljine u kristalnoj rešetci. U kristalnu strukturu hidroksiapatita mogu se ugraditi različiti ioni, a te supstitucije se mogu odvijati na mjestima kalcijevih iona, fosfatnih ili hidroksilnih skupina. Ionske supstitucije utječu na parametre ćelije, kristalnu morfologiju, topivost i termalnu stabilnost hidroksiapatita. Npr. zamjena F^- iona sa OH^- ionima dovodi do skupljanja osi a, bez promjene osi c čime se povećava kristaličnost i raste stabilnost strukture. Kationski supstituenti najčešće se pojavljuju u područjima koje zauzimaju kalcijevi atomi te uključuju natrij, kalij, magnezij, stroncij i mangan.

U posljednje vrijeme istraživanja su najviše usmjerena na sintetički supstituirani hidroksiapatit zbog toga što je karbonat najviše zastupljeni supstituent u koštanom mineralu. Postoje 2 tipa karbonatne supstitucije navedene u literaturi:

- supstitucija CO_3^{2-} za OH^- (tip A)
- i CO_3^{2-} za PO_4^{3-} (tip B)

Obje supstitucije utječu na kristalografiju parametara ćelije materijala. Povećanoj bioaktivnosti karbonatnog hidroksiapatita pridonosi njegova povećana topivost²⁰.

Koncept poboljšanja bioaktivnosti hidroksiapatita leži u tome da uz fosfatne, kalcijeve i hidroksilne ione sadrži i značajne koncentracije drugih iona kao što su magnezij, natrij, karbonat i u tragovima silicij, cink i aluminij. Uključenjem tih iona u kristalnu rešetku apatita je dokazano poboljšanje bioaktivnosti materijala, te se postižu veliki napretci u razvoju supstituiranih apatita, gdje kemijska supstitucija ima značajan utjecaj na kemiju površine tih apatita²¹.

Postoji niz postupaka koji se koriste u današnje vrijeme za dobivanje HA i mogu se svrstati u tri grupe:

- postupci priprave HA suhom sintezom.
- „mokri“ postupci priprave HA, koje najčešće uključuju metode precipitacije, hidrotermalne metode, metode hidrolize i kondenzacije.
- postupci kondenzacije reaktanata u plinovitoj fazi, koji isključivo služe za pripravu tankih HA filmova na prikladnim supstratima.

Zbog mogućnosti priprave velikih količina HA najviše se primjenjuje precipitacijska metoda. Ona uključuje simultano miješanje vodenih otopina fosfatnih i kalcijevih spojeva ili kap po kap dodavanje vodene otopine fosfata u vodenu otopinu kalcijeve soli. Kalcijevi ioni, uvedeni u sustav kao vodene otopine Ca-nitrata ili Ca-hidroksida ili Ca-klorida ili Ca-acetata, reagiraju s hidrogenfosfatnim ili fosfatnim ionima koji se u sustav dodaju u obliku vodenih otopina di-amonijeva hidrogenfosfata ili ortofosforne kiseline.

Kristaličnost (morfologija i veličina kristalita) sintetiziranog HA uvelike ovisi o uvjetima sinteze. Sinteze provedene kod 90°C dati će čisti HA većeg stupnja kristaličnosti nego sinteze provedene na sobnoj temperaturi.

Heterogena reakcija između kalcita, CaCO_3 , i vodene otopine fosfata također je česta metoda za sintezu hidroksiapatita. Budući je ova složena heterogena reakcija kontrolirana mehanizmima otapanja i reprecipitacije, vrlo ju je teško kontrolirati. Za dobivanje dobrih rezultata vrlo je važno kontrolirati i ne mijenjati karakteristike kalcita (veličinu čestica, specifičnu površinu, poroznost). Priprema ovako sintetiziranog HA nudi i neke prednosti: reaktanti su jeftini i lako dostupni, a mogući nusprodukti nisu štetni i nije ih potrebno uklanjati.

Osim spomenutih postupaka HA se još sintetizira hidrotermalnom metodom, hidrolizom iz drugih kalcij-fosfatnih spojeva i sol-gel postupkom²².

3.2. Polimeri

Polimeri su kao materijali široko istraživani zbog njihove raznovrsne primjene u medicini. Glavni razlog korištenja polimera je njihova biokompatibilnost, netoksičnost i svojstvo da vrlo rijetko izazivaju upalne procese nakon implantacije²³. Mogućnost oblikovanja njihovih kemijskih i fizičkih svojstava čini ih posebno atraktivnim u biomedicinskoj primjeni²⁴. Na svojstva polimera utječe niz faktora kao što su sastav osnovnih i bočnih grupa, struktura lanca i molarna masa. Polimeri mogu pokazivati visoko elastična svojstva slična onima kod prirodne kosti²⁵.

Veoma popularni sintetski polimeri su poli (α – hidroksi esteri) kao što je poli(laktid) (PLA), poli(glikolid) (PGA) kao i kopolimer poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA). Odlikuju se biokompatibilnošću, uglavnom ne dovode do upalnog procesa, a hidrolizom kao i mogućim enzimskim reakcijama razgrađuju se *in vivo* na netoksične produkte koji se iz organizma uklanjaju metaboličkim putem. Ovi polimeri se koriste kao okosnice u inženjerstvu koštanog tkiva, izradu membrana te za fiksaciju koštanih lomova²⁴.

Sintetski polimeri imaju prednost nad prirodnim jer ih je lakše moguće oblikovati i dobiti širi spektar željenih svojstava.

Biorazgradivi polimeri imaju i drugih prednosti. Implantat od biorazgradivog polimera se može napraviti tako da on sam „isplanira“ vrijeme razgradnje i time omogući lagan prijenos opterećenja na novonastalu kost. Također jedna od dobrih strana je ta da se mogu koristiti kao sustavi za kontrolirano otpuštanje lijekova²⁶.

3.2.1. Poliglikolid (PGA)

PGA je polikristaličan polimer, biokompatibilan i biorazgradiv. Razgrađuje se hidrolizom i daje glikolnu kiselinu kao produkt razgradnje. Mehanizam razgradnje PGA uključuje eroziju amorfne strukture zbog difuzije vode na matricu²⁷. PGA kao spojni materijal posjeduje svojstvo čvrstoće i krutosti. PGA nakon 2 tjedna izgubi oko 50% svoje snage, dok kroz 4 tjedna izgubi i do 100% svoje snage. Materijal se u potpunosti apsorbira kroz vremenski period od 4 mjeseca. Mana PGA je vrlo visoka temperatura taljenja ($\sim 220^{\circ}\text{C}$) i netopivost u većini organskih otapala²⁸.

3.2.2. Polilaktid (PLA)

PLA je dobiven iz laktida, cikličkog dimera mliječne kiseline koja postoji u obliku dva izomera, D – laktid (PDLA) i L – laktid (PLLA). PLLA je prirodan, polikristaličan polimer, dok je D, L - laktid sintetska smjesa D – laktida i L – laktida. PLA se polimerizira na sličan način kao i PGA. PLLA pokazuje visoku tenzilnu snagu i nisku istezljivost, a posljedica je podnošljivost većih tereta. PLA je oko 37% kristaličan, s temperaturom taljenja između $175 - 178^{\circ}\text{C}$. Čisti PLA ima dulje vrijeme razgradnje od PGA, koji se resorbira u nekoliko mjeseci. Mane pri korištenju PLA su slične kao i kod upotrebe PGA. Također, obje pri razgradnji daju kisele nusprodukte²⁹.

3.2.3. Poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA)

Kopolimerizacijom PLA s PGA nastaje PLGA, čime su poboljšana mehanička svojstva PLA. Kopolimeri L – laktida s 25 – 70% glikolidom su amorfni zbog poremećaja polimernog lanca nastalog djelovanjem drugog monomera.

Ethico^{28,29} je razvio kopolimer od 90% glikolida i 10% L – laktida. Apsorbirajući spojni materijal pod nazivom Vicryl. Prevučeni Vicryl je prekriven kalcijevim stearatom, koji djeluje kao lubrikant. Prevučeni i ne prevučeni Vicryl mogu se apsorbirati unutar 2 mjeseca.

3.2.4. Poli(ϵ – kaprolakton) (PCL)

PCL je polikristaličan, linearan, alifatski poliestar s temperaturom tališta od $\sim 60^{\circ}\text{C}$. Jedan je od najčešće upotrebljivanih biorazgradivih polimera u medicini. Često se koristi za prijenos lijekova prilikom aplikacije okosnice. PCL je sintetiziran polimerizacijom ϵ – kaprolaktona, koristeći pritom kositreni octanoat kao katalizator za dobivanje PCL. Razgradnja PCL je relativno spora (~ 24 mjeseci) u usporedbi s ostalim biorazgradivim polimerima kao što je PLA, što ga čini idealnim za dugotrajne aplikacije. Do razgradnje PCL dolazi zbog gubitka molekulske mase, koja je rezultat puknuća molekula lanca, popraćenog i gubitkom fizičke težine. Jednostavan proces proizvodnje i korištenja PCL čini ga idealnim materijalom za zamjenu kosti²⁸.

3.3. Keramika/polimerni kompoziti

Kompozitni materijali proizvode se spajanjem dvaju ili više materijala različitih svojstava za dobivanje materijala koji posjeduje svojstva koja nisu karakteristična ni za jednu komponentu³⁰.

Kompoziti na bazi keramika/polimeri se smatraju trećom generacijom biomaterijala zbog svojih svojstava sličnih prirodnoj kosti u usporedbi sa prvom (metali i metalne legure) i drugom generacijom (biokeramika) materijala koji se koriste kao zamjene koštanog tkiva³¹.

Dizajn keramika/polimer kompozita nudi izniman pristup kombiniranja prednosti bioaktivne i čvrste keramike sa biorazgradivim i elastičnim polimerima kako bi optimizirali fizička, mehanička i biološka svojstva okosnice za regeneraciju kosti. Zadnjih nekoliko godina, razvoj keramika/polimer kompozita kao materijala privlači sve više pažnje³².

Prvo, u takvim kompozitima, funkcije osteoblasta mogu se poboljšati u vidu boljeg razmnožavanja stanica i uvjeta rasta sve do poboljšanih osteokonduktivnih svojstava koje pruža faza bioaktivne keramike. Npr. prilikom pripremanja vrlo porozne PLA/HA kompozitne okosnice tehnikom toplinski inducirane fazne separacije dokazano je da je postotak preživljavanja osteoblasta i brzina proliferacije u PLA/HA okosnicama viši nego u čistima PLA okosnicama³³. Drugo, keramičke čestice (kao što su biostaklo, HA i TPC) korištene kao inkluzije u biorazgradivom poliesteru održavaju stalnom potrebnu pH vrijednost na površini polimera i kreiraju željenu kinetiku razgradnje i resorpcije polimerne matrice; pritom spriječiti ubrzanje polimerne razgradnje, izbjeći formiranje neželjenog okoliša za stanice i smanjiti nuspojave (npr. upale) kisele razgradnje nusprodukta³².

Najvažnije, keramika/polimer kompoziti se mogu oblikovati da oponašaju mnoge aspekte prirodne kosti. Kao što je i spomenuto, prirodna kost je kompozit sastavljen od polimerne matrice (većinom kolagena) pojačanog keramičkim česticama (većinom karbonatnog HA). Nedavna istraživanja u ovom polju sugeriraju da bi se postigla bolja osteokonduktivnost ako bi sintetski materijali bili proizvedeni tako da oponašaju kost sve do njezine mikro-strukture³⁴.

4. TEHNIKE PRIPRAVE KOMPOZITNIH OKOSNICA

Provedena su mnoga istraživanja kako bi se pronašla idealna tehnika pripreme materijala za izradu kompozitnih okosnica. Cilj inženjerstva koštanog tkiva je razviti okosnicu sa svojstvima najbližijim mjestu aplikacije i sposobnošću da podnese mehanička opterećenja. Materijal mora biti izabran tako da okosnica ne utječe na prirodan rast susjednog tkiva i pokaže vrijeme razgradnje usporedno s vremenom oporavka tkiva. Rast tkiva i stanično ponašanje okosnice može se poboljšati pažljivim izborom procesne tehnike i upotrebom faktora rasta³².

4.1. Toplinski potaknuto razdvajanje faza

Metoda se temelji na primjeni toplinske energije čime se potiče razdvajanje homogene polimerne otopine na više faza. Nakon razdvajanja faza, nastaje homogena otopina bogata polimerom i otopina bogata otapalom (bilo da se radi o razdvajanju faza krutina – kapljevina ili kapljevina - kapljevina)³⁵. Do razdvajanja faze krutina – kapljevina dolazi ako je temperatura kristalizacije otapala viša od temperature razdvajanja faze, a konačan izgled strukture ovisi o prirodi procesa skrutnjavanja. Do razdvajanja faza kapljevina – kapljevina dolazi ako temperatura otopine padne ispod gornje kritične temperature otopine. Raspodjela svake pojedine faze ovisi o koncentraciji polimera u otopini, stoga se pri niskim koncentracijama polimera, polimerne kapi rasprše u otapalu, ostavljajući polimerni prah nakon što se ukloni otapalo. Pri višim koncentracijama polimera dolazi do zatvaranja pora nakon uklanjanja otapala. Prednost ove metode je priprava ne samo intrinzične povezane polimerne mreže, već i međusobnu povezanost poroznog prostora^{35,36,37,38}.

Korištenje ove metode omogućuje proizvodnju visoko porozne 3D okosnice s anizotropnom cjevastom morfologijom i kontroliranom makro i mikro strukturom. Poroznost, veličina pora, njihova morfologija, bioaktivnost, biorazgradnja kao i dobra mehanička svojstva mogu se kontrolirati mijenjanjem koncentracije polimera u otopini, otapala i temperature^{32,39}.

Sultana i ostali⁴⁰, koristeći ovu metodu proizveli su kompozitnu okosnicu HA/PCL s veličinom pora od nekoliko mikrometara do nekoliko stotina mikrometara i sa poroznošću od 70%. Ugradnja HA čestica dovela je do povećanja kompresivnog modula od 4 – 8 MPa i snage od 0.8 – 2.5 MPa.

4.2. Ispiranje čestica porogena

Ova metoda uključuje otapanje polimera u organskom otapalu, miješanje s keramičkim česticama i porogenima (najčešće NaCl) te odljevanje otopine u 3D kalup gdje se oblikuje u krajnji oblik. Otapalo se uklanja iz uzorka sušenjem u vakuumu, a suhi uzorci se urone u deioniziranu vodu kako bi se izlučile čestice porogena i formirale poroznu strukturu. Prednost metode je da možemo kontrolirati veličinu pora i relativno je jeftina. No, primarne mane su:

- Ograničenje oblika
- Mogućnost zadržavanje toksičnih otopina unutar polimera
- Organska otapala mogu onemogućiti ugradnju lijekova unutar okosnice
- Ne možemo dobro kontrolirati povezanost pora

Metoda ispiranja čestica porogena razvijena je zbog bolje kontrole međusobne povezanosti i geometrije pora što se pokazalo iznimno bitnim kod izmjene hranjivih tvari i otpada kroz poroznu strukturu⁴¹.

Marra i ostali⁴² su pripremili PCL/PLGA/HA biokompozit čija se poroznost pokazala vrlo visokom (čak do 80%). Tenzilna snaga i Young – ov modul iznosili su 0.51 MPa, odnosno 12.5 MPa. Nakon *in vitro* ugradnje, analize su pokazale vidljive stanice i formiranje kolagena na 500 µm dubine unutar okosnice.

4.3. Liofilizacija

Pogodna metoda za proizvodnju okosnica s kontroliranom poroznosti je liofilizacija. Organska otopina koja sadrži otopljeni polimer kombinira se s odgovarajućom količinom vode i homogenizira. Dobivena emulzija se ulijeva u kalup specifičnih dimenzija i zamrzne tekućim dušikom. Liofilizacija uklanja vodu i otapalo kako bi dobili okosnicu s međupovezanim porama te poroznosti i do 90% i dobrom ali i limitiranom veličinom pora (15 – 35 µm) što je ujedno i mana ove metode. Glavna prednost ove metode je što ne zahtjeva visoke temperature ili zasebno ispiranje⁴³.

Na svojstva suhog uzorka mogu utjecati procesni parametri metoda kao što su temperatura kondenzatora, vrijeme izvođenje postupka i tlak komore. Osim toga, utjecaj na uzorak imaju i svojstva materijala prije provođenja postupka, sastav te koncentracija otopine. Stoga će na višoj temperaturi i sporijem smrzavanjem rezultat biti manji broj kristala otapala i bolja orijentacija strukture u uzorku, dok će brže smrzavanje i niža temperatura imati za rezultat veći broj malih kristala čija struktura nije orijentirana⁴⁴.

Ovom metodom Hamlkhan i ostali⁴³ razvili su nano kompozitne okosnice koristeći PCL, želatinu i nano čestice HA prilikom čega je došlo do povećanja krutosti i elastičnog modula od 8 MPa za 0% PCL i čak do 23.5 MPa za 50% PCL. Okosnice su se pokazale kao biokompatibilne i netoksične za stanice.

4.4. Lijevanje u kalupe ili melt molding

Alternativna metoda za proizvodnju 3D okosnica, koja pruža kontrolu nad makro geometrijom i poroznosti okosnice, je lijevanje u kalupe. Ova tehnika uključuje kombiniranje polimera, keramike i porogenih čestica u kalupu grijanom na temperaturi većoj od polimerne temperature taljenja primjenom tlaka na mješavinu. Nakon reorganizacije polimera, kompozitni materijal se uklanja iz kalupa, hladi i namoči u prikladnu tekućinu kako bi se porogeni izlučili van. Rezultirajuća porozna okosnica ima isti vanjski oblik kao i kalup. Metoda ima prednost prilikom inkluzije i ispostave bioaktivnih molekula jer materijali nisu izloženi jakim organskim otapalima, no pretjerano visoke temperature lijevanja mogu razgraditi molekule⁴⁵.

Liu i ostali⁴⁶ su spojili slane čestice (NaCl) i polimere topive u vodi kao koporogene u svrhu dobivanja HA/PCL kompozitnih okosnica. Takve okosnice pokazale su raznovrsnu morfologiju pora, s makro porama >50 µm. Također je dokazano povećanje snage i povećana bioaktivnost. Kompresivni modul okosnice je u rangu od 1 – 18 Mpa, a nakon inkubacije od 24 tjedana u fosfatnom puferu, okosnica nije pokazala značajne promjene u razgradnji.

4.5. Elektropredenje

Primjena elektropredenja u polju inženjerstva koštanog tkiva u stalnom je porastu jer je to jednostavna i jeftina tehnika kojom se može proizvesti visoko porozna i međupovezana strukturu s nano vlaknima koji oponašaju svojstva izvanstanične matrice, a dobiva se iz polimerne otopine pod utjecajem električne sile⁴⁷.

Kod pripreme okosnice elektropredenjem vrlo su važni parametri elektropredenja, a dijelimo ih na:

- parametre polimerne otopine (viskoznost, provodnost, dielektrična konstanta molekulska masa polimera, površinska napetost).
- procesne parametre (jakost primijenjenog električnog polja, geometrija i sastav kolektora, brzina protoka, udaljenost između šprice i kolektora).
- parametre okoliša (vlaga, strujanje zraka, temperatura).

Svi ti parametri uvelike utječu na morfologiju vlakana dobivenih procesom elektropredenja. Pravilnom regulacijom moguće je proizvesti nanovlakna željenog promjera i morfologije. Vrlo je važno spomenuti da se cijeli proces mora provoditi u zatvorenom i kontroliranom okolišu. Još neki od parametara na koje treba obratiti pozornost su viskoznost i molekulska masa otopine te vlažnost zraka (idealna vlažnost kod elektropredenja iznosi 35%).

Kod niskih napona ne dolazi do procesa elektropredenja, stoga postoji kritičan napon pri kojem je još uvijek moguće izvođenje procesa elektropredenja. On ovisi o udaljenosti između izvora i kolektora, promjeru vrha izvora(šprice) i debljini igle kao i površinskoj napetosti tekućine. Minimalni kritičan napon je onaj koji je dovoljan za savladavanje površinske napetosti otopine. Rezultat visokih napona je veća količina dobivenih vlakana^{48,49}.

Venugopal i ostali⁵⁰ elektropredjenjem su proizveli nano vlaknasti kompozit PCL/želatina/HA u omjeru 1:2:1. Promjer vlakana pritom je iznosio oko 411 ± 158 nm do 856 ± 157 nm, a veličina pora i poroznost 5 – 35 μ m, odnosno 76 – 93%. Međupovezanost pora unutar strukture okosnice od nano vlakana pruža veliku površinu za staničnu adheziju i dovoljno mjesta za prijenos hranjivih tvari.

4.6. Prevlačenje

Na temelju činjenice da je prirodna kost sačinjena uglavnom od karbonatnog HA (anorganska faza) i kolagena (organska faza), istražena je jedna jednostavna metoda kojom se uvelike poboljšavaju mehanička svojstva međupovezane porozne HA okosnice ako je prevučemo slojem biorazgradivog polimera. Polimer se ugradi u pore okosnice kroz mikro pukotine pora bez da se naruši unutarnja povezanost strukture. Prednost ovakvog pristupa je da se polimerna faza može koristiti za prenošenje lijekova i drugih biomolekula (faktor rasta) u svrhu poboljšanja funkcionalnosti i bioaktivnosti okosnice⁵¹.

Kim i ostali⁵² su prevukli poroznu HA okosnicu s PCL i antibiotikom tetraciklin hidrokloridom zarobljenim unutar prevučenog sloja. Rezultat je okosnica visoke poroznosti (~ 87%) i pora veličine 150 – 200 μ m. Najveći iznos snage dobiven kod HA/PCL kompozitne okosnice iznosi 0.45 MPa što je oko tri puta više nego kod čistog HA (0.16 MPa). Ponašanje elastičnog modula je slično ponašanju kompresivne snage. Najveća vrijednost elastičnog modula (1.43 MPa) kod HA/PCL okosnice je otprilike dva puta veća nego kod čistog HA (0.79 MPa). *In vitro* biorazgradnja kompozitnih prevlaka u fosfatnom puferu linearno se povećava s

vremenom inkubacije, koncentracijom prevlake i omjerom HA/PCL: veća koncentracija i količina HA izaziva ubranu biorazgradnju. U vrlo kratkom periodu (<2 sata), oko 20 – 30% lijeka se otpusti upravo zbog slobodnog lijeka na površini prevlake.

5. ZAKLJUČAK

Inženjerstvo tkiva čini jedan od najvažnijih pristupa regenerativnoj medicini. Poznavanjem strukture, biologije i fiziologije stanice inženjerstvo tkiva nudi različite opcije tretiranja pacijentovih potreba za zamjenu ili popravak kosti. Liječenje oštećene kosti napredovalo je od korištenja biomaterijala koji mogu popraviti ili zamijeniti oboljelo ili oštećeno tkivo sve do korištenja 3D okosnica na kojima se razvija koštano tkivo u biološkim uvjetima ili se ugrađuju direktno na oštećeno mjesto pa se koštano tkivo razvija u *in vivo* uvjetima. Sadašnji ciljevi inženjerstva tkiva su da stvori specifično tkivo na točno određenom mjestu kroz selekciju i manipulaciju stanicama, matricama i biološkim faktorima. Takve strukture živih stanica moraju biti funkcionalno, strukturno i mehanički usporedive sa tkivima koje moraju zamijeniti.

Okosnica kao osnovni element takvih struktura, mora biti integrirana u okolno koštano tkivo i omogućiti početnu 3D mrežu na koju se mogu vezati stanice. Da bi se to omogućilo nužno je proizvesti takvu strukturu okosnice koja će približno ili u potpunosti odgovarati strukturi prirodne kosti.

Biokeramički materijal, kao što je hidroksiapatit, ima najveći značaj u proizvodnji okosnica zbog svoje visoke učinkovitosti u proliferaciji stanica i resorpciji tokom vremena, koja je popraćena formiranjem nove prirodne kosti. Pored biokeramika koristi se i niz biorazgradivih polimera. Jedna od najčešće korištenih grupa sintetskih polimera su poliesteri PLA, PGA i PCL.

U posljednje vrijeme, kompozitima kao materijalima, u izradi okosnica za primjenu u inženjerstvu koštanog tkiva, daje se sve više pozornosti. Dizajn kompozita nudi izniman pristup kombiniranja prednosti bioaktivne keramike sa biorazgradivim i elastičnim polimerima kako bi optimizirali fizička, mehanička i biološka svojstva okosnice za regeneraciju kosti. Rezultat je dobra stanična proliferacija i osteoinduktivnost koštanih implantata.

Mnoge se metode kao što su toplinski potaknuto razdvajanje faza, ispiranje čestica porođena, liofilizacija, elektropredenje i prevlačenje koriste u sintezi kompozitnih okosnica u inženjerstvu koštanog tkiva. Svaka metoda je jedinstvena s određenim prednostima i nedostacima u proizvodnji skeleta za inženjerstvo tkiva.

6. LITERATURA

1. https://en.wikipedia.org/wiki/Bone_grafting (pristup 21. kolovoza 2015.)
2. S.X. Hsiong, D.J. Mooney: *Periodontol* 200041, (2006) 109-122
3. Qing Liu: *Hydroxyapatite/polymer composites for bone replacement*, Nizozemska (1997) 1-2
4. K. Rezwani, Q.Z. Chen, J.J. Blaker, A.R. Boccaccini: *Biomaterials* 27 (2006) 3413-31
5. Salgado, A.J. Coutinho, O.P. Reis: *Bone Tissue Engineering: State of the Art and*
6. D. Howard, L.D. Buttery, K.M. Shakesheff, S.J. Roberts: *J Anat*, 213 (2008) 66-72
7. M.W. Laschke, M.D. Menger: *Eur Surg Res* 48 (2012) 85-92
8. Grupa Mladinska knjiga: *Zdrave kosti, mišići i zglobovi*, (2009) 34-36
9. J.S. Temenoff, E.S. Steinbis, A.G. Mikos: *Biodegradable Scaffolds*, in "Orthopedic Tissue Engineering: Basic Science and Practice", New York (2004) 77-95
10. W. Amass, A. Amass, B. Tighe: *A review of biodegradable polymers : uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies* 47 (1998) 89-144
11. L.L. Hench, J.M. Polak: *Third-generation biomedical materials* 295 (2002) 1014-1017
12. S.V. Dorozhkin: *Bioceramics* 1 (2011) 1-51
13. T. Traykova, C. Aparicio, M.P. Ginebra, J.A. Planell: *Bioceramics as nanomaterials* 1 (2006) 91-106
14. M. Jarcho, C.H. Bolen, M.B. Thomas, J. Bobick, J.K. Kay, R.H. Doremus: *Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form* 11 (1976) 2027-2035
15. M. Jarcho, J.F. Kay, K.I. Gumar, R.H. Doremus, H.P. Drobeck: *Tissue, cellular and subcellular events at a bone-ceramic hydroxylapatite interface* 1 (1977) 79-92
16. H.W. Denissen, K. deGroot, P. Kakkes, A. van den Hooff, P.J. Kloppe: *Tissue response to dense apatite implants in rats* 14 (1980) 713-21
17. S. Brown, I. Clarke, P. Williams: *Bioceramics 14: Proceedings of the 14th international symposium on ceramics in medicine, International symposium on ceramics in medicine, International symposium on ceramics in medicine* (2001) 213-69
18. L.L. Hench, J. Wilson: *An introduction to bioceramics*, London, (1999)

19. S.M. Best, A.E. Porter, E.S. Thian, J. Huang: *Bioceramics: Past, present and for the future*,
Journal of the European Ceramic Society 28 (2008), 1319-1327
20. Ahmed El-Ghannam: *Bone reconstruction: from bioceramics to tissue engineering*
21. Karin A. Hing: *Bioceramic bone graft substitutes: Influence of porosity and chemistry*,
Queen Mary university of London, London E1 4NS
22. K.A. Gross, C.C. Berndt: *Reviews in mineralogy and geochemistry*, Ed. M.J. Kohn, J. Rakovan, J.M. Hughes 48 (2002) 631-672
23. J. Katz: *Development sin Medical Polymers and Biomaterials Applications*, Medical Device & Diagnostic Industry Magazine (2001)
24. K.Y. Wang, J.G. Horne, P.A. Devane, T. Wilson, J.H. Miller: *Chemical eluates from ultra-high molecular weight polyethylene and fibroblast proliferation*, Journal of Orthopaedic Surgery, 3 (2001) 43-48
25. K.C. Dee, D.A. Puelo, R. Bizios: *An introduction to Tissue-Biomaterial Interactions* (2002)
26. V.V. Sethuraman, A.J. Hickey: *Powder Properties and Their Influence on Dry Powder Inhaler Delivery o fan Antitubercular Drug*, (2002), članak 28
27. C.C. Chu: *The in-vitro degradation of poly(glycolic acid) sutures - effect of pH 15(6)* (1981)795-804
28. J.M. Pachence, J. Kohn: *Biodegradable polymers*, u: R.P. Lanza, R. Langer, J. Vacanti: *Principles of tissue engineering* 2nd ed., San Diego, (2000)
29. M.S. Taylor, A.U. Daniels, K.P. Andriano, J. Heller: *Six bioabsorbable polymers: in vitro acute toxicity of accumulated degradation products*, 5 (1994) 151-157
30. 6. Orlić, S., *Biomaterijali*, 2015. (predavanje, FKIT)
31. T. Traykova, C. Aparicio, M.P. Ginebra, J.A. Planell: *Bioceramics as nanomaterials*, Nanomedicine 1(1) (2006) 91-106
32. A.R. Boccaccini, V. Maquet: *Bioresorbable and bioactive polymer/bioglass® composites with tailored pore structure for tissue engineering applications*, Composites Science and Technology 63(16) (2003) 2417-2429
33. P.X. Ma, R. Zhang, G. Xiao, R. Franceschi: *Engineering new bonetissue in vitro on highly porous poly(α -hydroxyl acids)/hydroxyapatite composite scaffolds*, Journal of Biomedical Materials Research. 54(2) (2001) 284-293

34. C. Du, F.Z. Cui, X.D. Zhu, K. de Groot: *Three-dimensional nano-HAP/collagen matrix loading with osteogenic cells in organ culture*, Journal of Biomedical Materials Research. 44(4) (1999) 407-415
35. Martinez-Perez, C. A., Olivas-Armendariz, I., Castro-Carmona, J. S., Garcia-Casillas, P. E., *Scaffolds for Tissue Engineering Via Thermally Induced Phase Separation*, UACJ, 13 (2011) 275-290.
36. Ferrer, C. H., *Development and Characterisation of Completely Degradable Composite Tissue Engineering Scaffolds*, 3 (2007) 75-119.
37. Chen, G., Ushida, T., Tateishi T., *Scaffold Design for Tissue Engineering, Macromolecular Bioscience*, Wiley-VCH, 2 (2002) 67-77.
38. Mikos, G., Temenoff, J. S., *Formation of highly porous biodegradable Scaffolds for Tissue Engineering*, Electronic Journal of Biotechnology, 3 (2000) 1-4.
39. P.X. Ma, R. Zhang: *Microtubular architecture of biodegradable polymer scaffolds*, 56 (2001) 469-77
40. N. Sultana, T.H. Khan, M. Mokhtar, I. Hassan, F. Naghizadeh, A. Alsarhan: *Adv Sci Lett*, 19 (2013) 162-165
41. Q. Chen, J.A. Roether, A.R. Boccaccini: *Topics in Tissue Engineering*, Vol. 4. edited by N. Ashammakhi, R. Reis, F. Chiellini, Finland, (2008)
42. K.G. Marra, J.W. Szem, P.N. Kumta, P.A. DiMilla, L.E. Weiss: *J Biomed Mater Res*, 47 (1999) 324-335
43. A. Hamlkhan, F. Mzarzadh, M. Azami, N. Nzaai: *Biomatter*, 1 (2011) 91-101
44. Haaparanta, A. M., *Highly Porous Freeze-Dried Composite Scaffolds for Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering*, Tampere, 1290 (2015) 1-86.
45. R. Lanza, R. Langer, J. Vacanti: *Principles of Tissue Engineering*, 3. izdanje, (2007)
46. L. Liu, Y. Wang, S. Guo, Z. Wang, W. Wang: *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 100 (2012) 956-66
47. L. Buttafoco, N.G. Kolkman, P. Engbers-Buijtenhuijs, A.A. Poot, P.J. Dijkstra, I. Vermes: *Electrospinning of collagen and elastin for tissue engineering Applications*, 27(5) (2005) 724-734
48. M. Hasan, M. Alam, K.A. Nayem: *Application of Electrospinning techniques for the production of tissue Engineering Scaffolds: A review*, European Scientific Journal, 10 (2014) 265-274

49. Pham, Q. P., Sharma, U., Mikos, A. G., *Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review*, Mary Ann Liebert, Inc, 12 (2006) 1197-1208.
50. J.R. Venugopal, S. Low, A.T. Choon, A.B. Kumar, S. Ramakrishna: *Artif organs*, 32 (2008) 388-397
51. J. Zhao, L.Y. Guo, X.B. Yang, J. Weng: *Appl Surf Sci*, 255 (2008) 2942-2949
52. H.W. Kim, J.C. Knowels, H.E. Kim: *Biomaterials*, 25 (2004) 1279-1287
53. S. Orlić: *Biomimetički pristup sintezi visokoporozne hidroksiapatitne biokeramike* (2012)

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Zagrebu 01. srpnja 1990. godine. Moje školovanje započelo je 1997. godine u Osnovnoj školi „Marin Držić“ u Zagrebu. Zatim, 2005. godine, upisala sam srednju školu „Zdravstveno učilište“ usmjerenja farmaceutskog tehničara. Nakon završetka škole, 2009. godine, upisala sam preddiplomski studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije.