УДК 621.373.826

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЛАЗЕРНОГО ДИЗАЙНА – МИКРОСТРУКТУРЫ – СВОЙСТВ ПОРИСТЫХ 3D МАТРИКСОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

© 2011 И.В.Шишковский

Учреждение Российской академии наук Самарский филиал физического института им. П.Н. Лебедева РАН

Поступила в редакцию 13.02.2011

В данном обзоре представлено состояние дел и последние результаты автора по послойному лазерному синтезу и исследованию на биосовместимость пористых трехмерных (3D) матриксов (тканево-клеточных каркасов) для имплантологии и клеточной инженерии из никелида титана (интерметаллидная фаза - NiTi, названная «нитинол» и обладающая эффектом памяти формы), в том числе с добавкой в него гидроксиаппатита. Обсуждается взаимосвязь методов компьютерного моделирования 3D матриксов с их микроструктурой и последующими химико-биологическими свойствами имплантов, как в прямом направлении – т.е. непосредственно при лазерном синтезе, так и в обратном – т.е. на основании динамических результатов пролиферации и остеоинтеграции стволовых клеток выработка рекомендации по улучшению дизайна и микроструктуры, уточнение режимов лазерного синтеза и состава материалов. Предлагаются идеи по использованию нитинола для создания пористых систем доставки лекарств. Ключевые слова: послойный лазерный синтез, тканево-клеточные каркасы, имплантология, клеточная инженерия

1. ПРОБЛЕМЫ ВЫБОРА МАТЕРИАЛА

Инженерия тканей является в настоящее время широко развиваемым направлением регенеративной медицины, которое включает культивирование клеток *in vitro*, формирование и восстановление поврежденных или утраченных тканей, системы контроля и тестирования, исследования биологии клетки, а также синтез новых фармацевтических продуктов [1, 2]. В рамках данной концепции наиболее интересным является создание (стимуляция синтеза) тканей или органов *in vivo* путем клеточной имплантации на внеклеточном матриксе.

По сравнению с обычным выращиванием клеток *in vitro*, тканево-клеточные конструкциям можно задать строго индивидуальную для каждого пациента форму, которая выполняет не только функцию поддержки, но и определяет направление развития клеток во внеклеточном матриксе, а структура и состав матрикса способствуют их искусственной дифференциации и образованию ткани. Такой революционный инженерный подход к синтезу тканей *in vivo* соответствует их естественному развитию *in situ* [3, 4].

При этом насущной потребностью дня в репаративной хирургии является стремление к замене литых имплантационных материалов пористыми трехмерными (3D) каркасами (матриксам, в англ. терминологии – *scaffolds*) для восстановления дефектов тканей. Известно также, что нанотопография пористой поверхности в сравнении с гладкой влияет на морфологические особенности поведения клеток, а на пролиферацию клеток оказывает синергетическое влияние топография микро и нано масштаба [4, 5]. Сложность задачи состоит еще и в том, что клеточный матрикс должен обладать биопсийными свойствами по всей структуре пор, куда будет прорастать по мере своего развития клеточная масса и синтезироваться in vivo новая ткань. В качестве материала матриксов могут быть использованы различные вещества. Изначально предпочтение отдавалось биологически инертным, то есть не токсичным и не коррозирующим, а потом и устойчивым к биохимическим воздействиям организма материалам (титан, циркониевая керамика, гидроксиапатит (ГАП) и др.) [4].

В последнее время биорезорбируемые полимеры также привлекают внимание в качестве основы для создания заменителей костной ткани, клеточных матриксов и систем медленного дозирования лекарственных препаратов. Основным преимуществом данных полимерных материалов является их способность постепенно растворяться в физиологических жидкостях организма по мере формирования новой ткани или высвобождения содержащихся внутри полимерной матрицы лекарственных препаратов. Так, известны примеры использования полилактида и его сополимеров [9] в качестве имплантатов, а композиционного материала, состоящего из полилактида, фосфата и карбоната кальция (составляющие ГАП), – для восстановления костной ткани черепа.

Шишковский Игорь Владимирович, доктор физико-математических наук, старший научный сотрудник. E-mail: shiv@fian.smr.ru

Технология быстрого прототипирования имеет неоспоримый медицинский потенциал за счет возможности синтеза индивидуальных имплантатов с заранее определенной внутренней и/или внешней формой поверхности. Преимуществом метода селективного лазерного спекания/плавления (СЛС/П) относящегося к данной технологии является создание готовых к применению, т.е. функциональных имплантов по данным 3D компьютерной томографии и без лишних операций формирования литьевых форм [1, 2, 4, 6-8]. Контролирование дизайна внутренней структуры поровых каналов еще на стадии компьютерного моделирования позволяет интенсифицировать прорастание соединительных тканей в пористый матрикс, увеличить площадь соприкосновения (а, следовательно, и механическую прочность) между имплантом и костью. Пористые каналы могут быть насыщены лекарственными препаратами для активации вживления, предотвращая некроз клеток.

Настоящий обзор содержит описание состояния дел по компьютерному моделированию (Computer Aid Design & Engineering – CAD/CAE) несущих стволовые клетки 3D структур, а также последние результаты автора по послойному лазерному синтезу 3D пористых матриксов (тканево-клеточных каркасов) для имплантологии и клеточной инженерии из биосовместимых материалов – полимеров и никелида титана (нитинол) в том числе и с добавкой в них ГАП. Представлены результаты клеточной адгезии, пролиферации, дифференциации для пористых 3D тканево-клеточных матриксов из этих материалов, наряду с проведенными исследованиями клеточной морфологии методами динамической оптической и сканирующей электронной микроскопии.

2. МЕТОДИКА ПОСЛОЙНОГО СИНТЕЗА ТКАНЕВО-КЛЕТОЧНЫХ КАРКАСОВ МЕТОДОМ СЛС

Процесс быстрого прототипирования методом СЛС 3D матрикса состоит из следующих шагов (рис. 1): подготовка геометрического образа 3D объекта, программное формирование поперечных сечений изготавливаемого объекта, послойное наложение этих сечений в процессе лазерного синтеза и комбинирование слоев из конкретного материала по той или иной методике. На стадии компьютерного моделирования (рис. 1, стадия I) в среде профессиональных 3D графических средств автоматического проектирования / САД-САЕ/(например, программные пакеты типа – Solid Work, Pro-Engineering или специализированный пакет обработки медицинских томограмм Mimic/ *Materialize Co.* (www.materialize.com/) с использованием данных предварительных расчетов строится не только общий вид 3D изделия, но и может быть смоделирована специфическая внутренняя структура (см. след. раздел 3) с градиентным распределением каких-либо свойств (пористости, концентрационного состава и т.д.). Компьютер разбивает изделие на сечения для последующего воспроизведения его в натуральную величину.

Схема процесса СЛС/П порошковых композиций (рис. 1, стадия II) включает в себя: лазер, работающий в непрерывном режиме, дефлекторы для сканирования лазерного излучения в плоскости Х-Ү, управляющий процессом персональный компьютер, механизм для нанесения и разравнивания порошковой смеси в виде ролика, а также две цилиндрических платформы - поршня с регулируемым (с точностью то нескольких микрон) перемещением в вертикальном направлении. В левом поршне (рис. 1) находится исходная порошковая смесь, в правом – осуществляется процесс послойного синтеза 3D изделия. Спекание может проводиться на воздухе, в атмосфере азота или аргона, при повышенной или пониженной температуре окружающей среды. Неиспользованный порошок с одной стороны «поддерживает» изделие в процессе его создания, а другой может быть использован вторично (т.е. технология является безотходной – рис. 1, стадия III). Если мощность лазерного источника высока, процесс спекания порошка переходит в процесс переплавления. При этом удается получить практически литое функциональное изделие (имплант), что также полезно для медицинских приложений по созданию прочных конструкций кости.

2. КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ 3D ПОРИСТОЙ СТРУКТУРЫ МАТРИКСА

Задача моделирования специфичной и строго индивидуальной структуры 3D ткане-поддерживающего матрикса должна решаться при условии выполнения ряда принципиальных требований к этому изделию: 1) каркас (матрикс) должен восполнять сложные анатомические дефекты пациента; 2) материал матрикса должен способствовать регенерации тканей в месте дефекта; 3) дизайн поверхности матрикса должен соответствовать реальной «архитектуре» индивидуума в месте повреждения; 4) 3D конструкция должны выдерживать нагрузки в месте замещения либо за счет прочной фиксации к кости, либо при условии прорастания соединительных тканей (проблема совместимости). На рис. 2 показаны известные типы кости [9], каждой из которых присущи свои анатомические особенности.

Так, морфология трубчатой кости (рис. 2а) характеризуется наличием наружного слоя, с уплотняемостью (пористость ~10-20%), присут-



Рис. 1. Схема СЛС по данным 3D томографии



Рис. 2. а – трубчатая кость; б – трабекулярная кость

ствием в ней Гаверсовых и Волькмановых каналов. Ее геометрическое моделирование может быть реализовано путем построения регулярной структуры пустотелых вертикальных, радиальных каналов. Трабекулярная кость (рис. 26) имеет уже губчатость (т.е. пористость ~ 70-90 %), а при геометрическом моделировании наряду с периодическими участками, должна быть использована «случайная» решетка.

Но важно управлять не только геометрическими и механическими параметрами матрикса. Материал пористой внутренней структуры должен способствовать регенерации / пролиферации живых тканей. Поэтому размеры пор, их форма, проницаемость пористого матрикса, смачиваемость поверхности, возможность заполнения пор питательными растворами (медикаментами) для улучшения клеточной адгезии, миграции и прорастания тканей также принципиальны. При геометрическом, компьютерном дизайне 3D матрикса определение границ и структуры поверхности может быть реализовано через неявные математические функции [9]:

– имеющие оптимум, малую кривизну;

 – заполняющие пространство, аппроксимирующие минимальную поверхность;

- непрерывные и дифференцируемые, про-

странственно-периодические.

На рис. 3 (а-в) показаны способы реализации таких структур геометрическими примитивами: кубической (рис. 3а), тетрагональной (рис. 3б), гироидальной (рис. 3в) ячейками, каждая из которых имеет определенного количество опор на узел и угол раскрытия между опорами. На рис. 3 (г-е, courtesy of J. Mazumder, College of Engineering, Univ. of Michigan & K. Chopra, School of Materials, Univ. of Manchester) показано, как такие структуры выглядят при синтезе методом СЛС из биосовместимого полимера –полилактида.

CAD-CAE функциональных 3D матриксов может быть дополнены моделированием специфических особенностей. Так шероховатость структуры увеличивает клеточную адгезию и моделируется в терминах угловой частоты [9]. Локальное изменение кривизны поверхности (рис. 4a) за счет изменения угла между опорами может быть использовано для оптимизации клеточной адгезии и прорастания. Градиент пористости можно смоделировать как изменение параметра укладки в радиальной или цилиндрической симметрии – см. пример на рис. 4б и его реализацию (рис 4c – courtesy of R. Gabbrielli, Centre for Orthopaedic Biomechanics, University Bath, UK).



Кубическая ячейка, 6 опор на узел, угол между двумя опорами 90⁰



Тетрагональная ячейка, 4 опоры на узел, угол между двумя опорами ~109.47⁰



Гирондальная (винтовая) ячейка, 3 опоры на узел, угол между двумя опорами 120⁰



P)



д)



e)

Рис. 3. Моделирование внутренней структуры 3D матрикса





3. ПАРАДИГМА ДИЗАЙНА МАТРИКСА МЕТОДОМ СЛС/П

Таким образом, подводя промежуточные итоги можно отметить что, методология лазерного дизайна 3D пористого матрикса (рис. 5) включает взаимосвязанный выбор материала, компьютерное моделирования пористой структуры матрикса, сам процесс послойного СЛС/П матрикса и последующую проверку, переходящую из *in vitro* в *in vivo*. Сформулированные выше требования к 3D матриксу для тканево-клеточной инженерии – стойкость, соответствующая прочности окружающих тканей (типов костей), возможность безболезненной фиксации матрикса к живым тканям, и последующая регенерация и пролиферация живых тканей в матриксе должны поверятся на экспериментах *in vivo*. Такие медико-биологические тесты обеспечивают коррекцию или обратную связь в нашей методике (см. рис. 5).

4. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ НА КУЛЬТУРЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНО-СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

В соответствие с развитой выше методологией внешний вид пористых матриксов из нитинола и в том числе с добавкой ГАП (керамического материала наиболее близкого составу кости) моделировался нами средствами *CAD-CAE*, осуществлялся процесс послойного лазерного



Рис. 5. Методология лазерного дизайна 3D матрикса

синтеза. Схема проведения медицинских экспериментов показана на рис. 6а, а внешний вид пористых 3D матриксов в клеточной культуре на рис. 6 (б,в).

Исследуемые материалы отмывали стерильным фосфатно-солевым буфером (PBS), затем стерилизовали в автоклаве при 121°C, 30 минут. В исследовании были включены три группы: 1) контроль, только ММСК; 2) NiTi – нитинол (4 имплантата): 3) нитинол с гидроксиапатитом. (NiTi+ ГАП, 4 имплантата). ММСК получали из Вартонова студня (Wharton's Jelly) пуповины новорожденных детей, после подписания информированного согласия матери ребенка. Клетки выделяли методом эксплантов. Культивирование в исследуемых и контрольной группах продолжалось в течении 26 суток в стандартных условиях культивирования: 37 °C, 5 % CO₂ в инкубаторе MCO-20AIC (Sanyo, Япония). Питательную среду: aMEM (Sigma), с добавками: 10 % FBS (Gibco), 2 мМ l-alanyl-gluthamine (Invitrogen) меняли каждые 5 дней или по мере изменения индикатора среды. Для определения принадлежности полученных клеток к группе ММСК использовали исследования согласно рекомендациям международного сообщества клеточной терапии. Иммунофенотипирование проводили по следующим антигенам: CD90, 44, 106, 45, HLA-ABC, HLA-DR, 73, 34, 144, 105, 117, 62L, 133, 14 на проточном цитофлюориметре FACS Canto (Becton Dickinson, США). Индукция дифференцировки в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлении проводилась коммерческими средами, NH Osteodiff, NH Chondrodiff, NHAdipodiff (Miltenyi Biotec, Германия), по инструкции производителя. Оценка дифференцировки проводилась по изменению морфологии клеток и оценки реакции на специфические красители: OilRed O (Sigma, CША) для оценки адипогенеза, реакция на щелочную фосфатазу FAST BCIP/NBT (Sigma, США) для оценки остеогенеза и антитела против аггрекана



Рис. 6. Схема эксперимента: а – внешний вид нитиноловых матриксов и первичная культура клеток эмбриона человека; б – мезенхимальные стромальные клетки (MMCK) и матрикс регулярной пористостью; в – MMCK и матрикс со случайной пористостью. Нативные препараты. Ув. 150

(Abcam, Англия). Оценка пролиферативной активности проводилась на клеточном анализаторе концентрации и жизнеспособности ViCellXR (Beckman Coulter, США). Для оценки токсичности материала изучали морфологию и морфометрию клеток, подсчет скорости удвоения, а так же оценивалась способность клеток к миграции с использованием «Time lapse» эксперимента на микроскопе AxioObserver A1 (Carl Zeiss, Германия), с системой инкубации. Time lapse эксперимент включал в себя культивирование культуры клеток в течении четырех часов со скоростью съемки видео 10 кадров в минуту. Оценка видео, расчет дистанций движения клеток и морфологии проводилось на программном обеспечении *Image-Pro PLUS (Media Cybernetics*, США) и AxioVision (Carl Zeiss, Германия).

5. РЕЗУЛЬТАТЫ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

На рис. 7 показано начало эксперимента. В контроле (рис. 7а) стволовые клетки начали активно размножаться, у края NiTi матрикса (рис7б) это наблюдается в более скромных масштабах, как и внутри пор NiTi+ ГАП матрикса.

На второй день в контрольной группе уже 90% клеток полностью адгезировались к чашкам Петри. Большинство клеток имели типичную фибробластоподобную (веретенообразную) форму, четко визуализированное ядро с двумя или 4 ядрышками (рис. 8а), вблизи NiTi (рис. 8б) также имеет место увеличение их популяции. А вот в группе NiTi+ ГАП (рис. 8в) были обнаружены частицы по характеру формы и движения похожие на бактерии. Со временем они заполнили все пространство, что является следствием плохой очистки исходных образцов. Если для чистого NiTi стандартная очистка оказала приемлемой, то видимо присутствие ГАП дополнительно активирует развитие бактериальной флоры.

Спустя неделю экспериментов в контрольной группе (рис. 9а) в процессе культивирования происходило плавное нарастание клеточной массы. За 10 дней культивирования произошло увеличение плотности культуры с 35% до 100%. Таким образом, образование монослоя произошло за 16 суток, скорость пролиферации составила – 0,03 удвоений в час или 0,694 удвоений/сутки. Морфология клеток оставалась нормальной на протяжении всего культивирования. Естественное появление «стареющих» клеток в культуре составило не более 20% от всей популяции.

В NiTi группе (рис. 96), в течении 10 дней плотность культуры увеличивалась значительно медленнее в сравнении с контрольной группой и не равномерно среди групп экспериментов (от 60 до 95%). На десятый день максимальной плотности достигла группа 1 (95%), группа 3 (85%) и группа 4 (60%). В дополнительные небольшие колонии в непосредственной близости от материала, с морфологической картиной «старых» клеток. Были обнаружены первые признаки клеток на материале (рис. 9в).

Более четко рассмотреть эти колонии можно на рис. 10, который был сделан по окончании клеточных экспериментов. Ясно видны тонкие пленки MMCK на пористой структуре 3D матрикса.

7. СОРТИРОВКА КЛЕТОК ПО «ПЛОЩАДИ», ПО «ВОЗРАСТУ» И СПОСОБНОСТИ К МИГРАЦИИ

В зависимости от интенсивности роста клеточной популяции по морфологическим признакам был проведен анализ и отдельная выборка клеток на разных этапах созревания рис 11, характеризующая процесс старения. На рис. 11 справа налево и снизу вверх идут клетки сортированные по возрасту, начиная с самой молодой. Морфологическая обработка снимков прово-



а) Контрольная группа



б) Край NiTi матрикса

Рис. 7. Начало эксперимента



а) Контрольная группа



б) Край NiTi матрикса в Рис. 8. Второй день экспериментов



в) Внутри пор NiTi+ ГАП

в) Край NiTi- ГАП матрикса,



а) Контрольная группа





а б) Край Ni Ti матрикса в) В **Рис. 9.** Неделя после начала экспериментов

в) Внутри NiTi матрикса,



Рис. 10. Сканирующая электронная микроскопия NiTi пористых матриксов

дилась в каждой группе и серии экспериментов на 3, 15 (рис. 12) и 25 сутки культивирования. В результате обработки мы выделили, и отсортировали клетки на три группы (рис. 11, 12):

Первая группа клеток (далее на изображениях красным) – «незрелые» молодые, активно делящиеся клетки, внешний вид таких клеток веретенообразный, площадь не более 5000 мкм². Активно участвуют в делении и миграции.

Вторая группа (далее на изображениях синим) – «взрослые» клетки, могут иметь треугольную или неправильную формы, площадь клеток свыше 5000, но не более 16000 мкм². Так же участвуют в пролиферации и миграции, но значительно медленнее.

Третья группа (далее на изображениях желто-зеленым) – «гигантские клетки». Имеют неправильную форму, заостренные края, очень большую площадь поверхности от 16000 и до 40000 мкм², в редких случаях и выше. Не участвуют в процессах деления, практически не мигрируют.

На рис. 12 видно, что если в контроле преоб-

Контроль

ладают «молодые» активно размножающиеся клетки, вблизи 3D матрикса большое количество «старых» – гигантских и малоподвижных клеток. Поэтому скорость пролиферации при наличии матрикса значительно ниже, чем в контроле.

Оценка способности к миграции (хемотаксису) проводилась методом сравнения траекторий движения клеток между сериями «контроль» и «Нитинол» рис. 13. Сравнительное исследование серии NiTi+ ГАП не проводилось, из-за бактериального пророста. В контрольной группе за время наблюдения, клетки преодолевали дистанцию (в среднем) ~ 350 мкм, а клетки из серии NiTi в схожих условиях прошли в среднем ~ 42 мкм.

8. МЕДИЦИНСКИЕ СИСТЕМЫ ДОЗИРОВАННОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Ключевым требованием к терапевтическому использованию 3D пористых матриксов для хранения и дозирования лекарственных препаратов является возможность контроля и управления их

Вблизи матрикса





Рис. 11. Число и внешний вид (форма) колоний из ММСК





Контроль

Вблизи матрикса

Рис. 13. Траектория движения и расчет дистанции прохождения клеток. Длительность 4 часа. Увел. 50х

высвобождения в пространственном и временном масштабе. Для достижения этих целей предлагается создание пористых матриксов из биоразлагаемых полимеров с инкапсулированными медикаментами и/или наночастицами. На рис. 14 показаны стадии высвобождения пористом 3D матриксе биологических растворов [9]. Слева проводилась окраска метилен-синим, а справа выщелачивание раствором соли стволовых клеток в гироидальном типе 3D матрикса при статичном высевания. Хорошо виден результат проницаемости сверху вниз указанных растворов. В зависимости от типа 3D матрикса (САD структуры – см. рис. 3) скоростью проникновения можно управлять.

Поскольку синтезируемые нами 3D матриксы из NiTi обладают эффектом памяти формы [4], нами было предложено управлять скоростью дозировки лекарственных сред за счет изменения размера пор в нитиноле при аустенит - мартенситном превращении (рис. 15). Так на стадии нагрева (повышения температуры тела, кривые в)-г)-а) на рис. 15) будет идти нагрузка напряженного состояния NiTi, размер пор уменьшается и биологический раствор «выдавливается» из пор. А на стадии охлаждения (температура тела возвращается в норму, человек «выздоравлива-



Рис. 14. Стерео микроскопическое изображение 3D матрикса сверху и снизу. Масштаб - 2 мм

ет», кривые а)-б)-в) рис. 15) поступление раствора (лекарства) прекращается.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем обзоре обсуждаются взаимосвязанные проблемы оптимального выбора материалов для клеточной инженерии тканей и систем доставки лекарств. Описана общая процедура послойного лазерного синтеза таких изделий. Обсуждается методология компьютерного и лазерного дизайна, ее взаимосвязь с внутренней микроструктурой и последующими химико-биологическими свойствами матриксов. Представлен анализ методов САD - САЕ 3D пористых биосовместимых матриксов: тканево-инженерных конструкций для имплантологии, клеточной инженерии и систем доставки лекарств.

Показано, что размер пор, глобальная пористость 3D структуры, ее проницаемость, шероховатость и даже градиент плотности могут быть описаны неявными функциями в виде кубической, тетрагональной и/или гироидальной (т.е.



Рис. 15. Этапы позиционирования «искусственной» системы доставки лекарств в интервале неполного гистерезиса

винтовой) ячейки, которые таком образом повторяют основные типы костей человека (трабекулярные и трубчатые кости).

Другим принципиальным результатом является следующий обнаруженный нами экспериментальный факт, который еще требует объяснений. Если в контроле (т.е. без матрикса) процент молодых, малых по площади но активно размножающихся ММСК очень высок (более 50-60%), то после внесения внешнего раздражителя (т.е. матрикса) стволовые клетки вырастают до огромных размеров (т.е. быстро стареют!), а активность их деления резко падает.

Также нами впервые было обнаружено, что не просто важна пористость матрикса для прорастания стволовых клеток в поры, но размеры этих пор должны быть «соизмеримы» с размерами стволовых клеток. Иными словами, чрезмерная (нано!) пористость также вредна, как и ее полное отсутствие для стволовых клеток, имеющих характерные размеры ~ 50-100 мкм.

Автор выражает благодарность сотруднику ГУЗ СО «Клинический центр клеточных технологий» Волчкову С.Е. за полезные обсуждения результатов тестирования ММСК. Исследования проводились при поддержке РФФИ (проект № 10-08-00208-а) и гранта Президиума РАН 2009-2010 гг. по программе «Фундаментальные науки - медицине».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Leong K.F., Phua K.K.S., Chua C.K., Du Z.H., Teo K.O.M. Fabrication of porous polymeric matrix drug delivery devices using the selective laser sintering technique. // Proc Instn. Mech. Engrs. Part H. Vol. 215. 2001. 191-201.
- Kanczler J. M., Mirmalek-Sani S., Hanley N.A. and etc. Biocompatibility and osteogenic potential of human fetal femur-derived cells on surface selective laser sintered scaffolds. // Acta Biomaterialia. 5 (2009) 2063–2071.
- Ogura N., Kawada M., Chang W., Zhang Q., Lee S.-Y., Kondoh T.and Abiko Y. Differentiation of the human mesenchymal stem cells derived from bone marrow and enhancement of cell attachment by fibronectin // J. Oral Sci., 2004, 46(4), 207–213.
- Шишковский И.В. Лазерный синтез функциональных мезоструктур и объемных изделий. М. Физматлит. 2009. 424 с.
- Zinger O., Anselme K., Denzer A. and etc. Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography // Biomaterials Volume 25, Issue 14, June 2004, Pages 2695-2711.
- 6. *Engel B. and Bourell D.L.* Titanium alloy powder preparation for SLS // Rapid Prototyping J., 2000, 6, 97–106.
- Suman Das U., Wohlert M., Beaman J.J. and Bourell D.L. Processing of titanium net shapes by SLS/HIP // Mater. Des., 1999, 20, 115–121.
- 8. Williams J.M., Adewunmi A.i, Schek R.M. and etc. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. // Biomaterials. 26 (2005) 4817–4827.
- Melchels F.P.W., Bertoldi K., Gabbrielli R., Velders A.H., Feijen J., Grijpma D.W. Mathematically defined tissue engineering scaffold architectures prepared by stereolithography. // Biomaterials. 31 (2010) 6909-6916.

CORELLATION OF LASER DESIGN – MICROSTRUCTURE – PROPERTIES IN POROUS 3D MATRIX FOR TESSUE ENGINEERING AND DRUG DELIVERY SYSTEMS

© 2011 I.V Shishkovsky

Samara Branch of P.N. Lebedev Physics Institute of Russian Academy of Science

Review is presented the state of art and the last author's results by the layer-by layer laser syntheses of 3D porous scaffolds. The biocompatibility of 3D matrix from nitinol (NiTi intermetallic phase) and nitinol with hydroxyapatite was studied. The correlation between computer aid modeling of 3D scaffolds, optimal regimes of laser fabrication, microstructure and their chemical-biological properties are discussed. This observation carried out as a direct direction during synthesis, as an inverse direction – i.e. base on a dynamic proliferation and osteointegration results in 3D scaffolds to improve design, microstructure and material choice. Original ideas by the porous drug delivery system fabrication from shape memory nitinol are proposed.

Key words: layer-by layer laser syntheses, 3D porous scaffolds, implantology, cell engineering.

Igor Shishkovsky, Doctor of Physics and Mathematics, Chief Research Fellow. E-mail: shiv@fian.smr.ru