UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ de ȘTIINȚĂ și TEHNOLOGIE POLITEHNICA BUCUREȘTI
Școala Doctorală Știința și Ingineria Materialelor
Splaiul Independenței, Nr. 313, Sector 6, 060042, București
http://sdsim.upb.ro

TEZĂ DE DOCTORAT

Rezumat

DEZVOLTAREA DE SISTEME MULTIMATERIAL PENTRU APLICAȚII ORTOPEDICE SPECIFICE

Autor: Ing. Veronica Mănescu (Păltânea)

Coordonator științific: Prof. Habil. Dr. Ing. Iulian Vasile Antoniac

București

2026

Table of Contents

Rezumat iii

Introducere 1

Capitolul 1 – Studiu de literatură în relație directă cu obiectivele tezei de doctorat 5

1.1. Generalități cu privire la materialele moderne utilizate în aplicațiile ortopedice 5

1.2. Metale biodegradabile utilizate pentru aplicații specifice în ortopedie 8

1.2.1. Proprietăți de material importante ale materialelor metalice biodegradabile 8

1.2.2. Metale biodegradabile folosite în teste pre-clinice și clinice 8

1.3. Metode de producere a structurilor biodegradabile din aliaje pe bază de magneziu pentru tratamentul defectelor osoase 11

1.3.1. Metode de producere clasice 11

1.3.2. Strategie inovativă propusă 11

1.4. Modelarea numerică a unei structuri inovative pe bază de Mg dedicată tratamentului defectelor osoase 14

1.5. Mecanisme biologice la interfața dintre aliajele pe bază de Mg și os 16

Capitolul 2 – Articole științifice publicate integral ca rezultate ale tezei de doctorat 18

Capitolul 3 – Concluzii generale 19

Capitolul 4 – Contribuții originale 21

Bibliografie selectivă 22

Rezumat

În contextul necesității la nivel mondial de implante și substituenți osoși pentru ameliorarea unui număr mare de defecte osoase, sunt așteptate cercetării noi din domeniul implantelor regenerative. Această direcție științifică a condus la obiectivul principal al tezei de doctorat: proiectarea, implementarea practică și analiza unui implant cu canale pe bază de Mg pentru tratamentul defectelor osoase. Printr-o analiză extinsă a literaturii de specialitate, au fost identificate principalele metode de fabricație a implantelor pe bază de Mg și a fost propus un algoritm adaptat anatomiei pacientului pentru dezvoltarea de noi produse. În plus, a fost subliniată importanța inteligenței artificiale, iar includerea acesteia în procesul de producție la scară largă a fost considerată obligatorie. Proprietățile a două aliaje binare pe bază de Mg, Mg-Nd și Mg-Zn, au fost evaluate prin analize de material și teste *in vivo* pentru a determina dacă aceste biomateriale pot fi utilizate în siguranță în producția de implante. A fost elaborată o nouă metodă de fabricație, iar modelele de implante propuse au fost investigate numeric pe baza unui laborator virtual, incluzând proiectarea asistată de calculator, analiza mecanică cu element finit și investigarea dinamicii computaționale a fluidelor. Nu în ultimul rând, au fost investigate probe de implant și referință produse din aliaje turnate pe bază de Mg, analizându-se în detaliu proprietățile de suprafață, mecanice și citotoxicitatea *in vitro*. Concluzia principală a tezei de doctorat este că această metodă inovatoare de fabricație ar putea fi aplicată cu succes și dezvoltată în continuare prin incorporarea inteligenței artificiale, iar implantele propuse ar putea servi ca soluție preclinică.

Cuvinte cheie: aliaje pe bază de magneziu, metodă inovativă de fabricație, ortopedie, teste *in vivo* și *in vitro*, proprietăți de material, analize numerice

Introducere

În prezent se constată existența unei nevoi continue de a dezvolta noi tehnologii pentru materiale dedicate regenerării osoase, datorită numărului mare de defecte osoase care apar din mai multe cauze. Printre acestea se pot include fracturile, care sunt o consecință directă a accidentelor rutiere, operațiile de rezecție a unor tumori, sau osteoporoza. Studiile statistice estimează că până în anul 2040 aproape 316 milioane de pacienți vor suferi o fractură osteoporotică [1]. Un număr de 3 milioane de oamenii vor fi victimele unui accident rutier rezultând astfel fracturii care trebuie tratate [1]. Biomaterialul utilizat trebuie ales în concordanță cu clasificarea defectelor osoase făcută de Schemitsch [2]. Defectele osoase mici au o lungime sub 2 cm și sunt caracterizate de o pierdere până în 50% din circumferința corticala. Ele se pot vindeca spontan cu ajutorul resurselor proprii corpului. Defectele intermediare au dimensiuni cuprinse între 2 cm și 6 cm și prezintă o pierdere corticală mai mare de 50%, în timp ce defectele osoase mari depășesc 6 cm. În plus este necesară definirea unui alt termen, acela de defect critic ca prezentând o dimensiune mai mare de 2.5 cm și care nu se mai poate vindeca în absența unei operații chirurgicale.

Mult timp drept standard de aur a fost considerată utilizarea autogrefelor. Din nefericire, acest tip de intervenție este însoțit de efecte secundare importante ca morbiditate la locul prelevării, teratomul, sau timp îndelungat de spitalizare. O altă soluție practică a fost folosirea de alogrefe sau xenografe de la donatori umani sau animale. Pe de altă parte și aceste tehnici sunt însoțite de efecte secundare precum rejecția grefei sau infecția. Având în vedere toate cele menționate anterior nevoia de a dezvolta materiale noi și inovative împreună cu o geometrie adaptată anatomiei pacientului pentru a fi utilizate în tratamentul defectelor osoase devine din ce în ce mai importantă.

O bună definiție a unui biomaterial ideal a fost furnizată în lucrarea Georgeanu et al. [3]. Este subliniat faptul că un substituent osos utilizat în ortopedie trebuie să fie osteoconductiv, osteoinductiv și să aibă proprietăți care favorizează creșterea de os nou. În plus, trebuie să fie asigurate condițiile unei bune neurogeneze și angiogeneze la locul defectului. Apoi existența unor reacții adverse precum alergiile, potențialul carcinogen, sau antigen trebuie în mod atent analizate și rezolvate. Pentru a sublinia rapid proprietățile ideale ale unui biomaterial se poate spune că acesta trebuie să aibă o suprafață hidrofilă și cu o rugozitate mare, pentru a permite adeziunea și proliferarea celulară, proprietăți mecanice adecvate cu valori apropiate de cele ale osului uman, și trebuie să permită o degradare graduală care să aibă loc simultan cu procesul de regenerare osoasă.

Principalul obiectiv al tezei de doctorat este reprezentat de proiectarea și testarea unui implant biodegradabil cu o geometrie specială bazată pe existența unor canale dedicat a fi suport pentru un sistem multimaterial pentru aplicații ortopedice specifice inclusiv în tratamentului defectelor osoase. Teza de doctorat este bazată pe dezvoltarea algoritmului descris în Figura 1. Mai întâi s-a realizat o investigație teoretică care a vizat principalele mecanisme biologice care apar în prezența implantelor biodegradabile, modul de realizare și proiectare a implantelor având în vedere forma defectelor osoase, precum și tehnicile de producere actuale. Toată această cercetare a fost făcută în scopul identificării unei noi metode de producere a implantelor care nu a mai fost abordată în știință până acum. Apoi din multitudinea de materiale biodegradabile au fost selectate două aliaje pe bază de magneziu Mg-Nd și Mg-Zn prin investigarea proprietăților de material și a biocompatibilității acestora cu ajutorul testelor *in vivo* făcute pe șobolani Sprague Dawley în condiții de laborator controlate. O analiză mecanică bazată pe metoda elementului finit împreună cu o investigație din domeniul dinamicii computaționale a fluidelor a permis analiza a două geometrii propuse și a condus la cea mai bună variantă care va fi implementată și practic. În ultima parte a tezei este prezentată

în detaliu metoda de producție propusă, precum și investigații de proprietăți de material (mecanice, de suprafață – unghi de contact, rugozitatea, pierdere de masă prin teste de imersie) și de citotoxicitate pe eșantioane din implant și probe de referință făcute din aliaj turnat prin diferite metode. Caracterul unic și inovativ al tezei de doctorat este subliniat prin publicarea a **patru articole științifice,** în cadrul cărora studentul doctorand este prim autor și a unei **propuneri de patent de invenție** realizate în colaborare cu echipa de îndrumare a tezei de doctorat, dar și împreună cu alți cercetători cu experiență.

Cercetarea condusă în primul **articol doctoral "Regenerare osoasă indusă prin implante din aliaje de magneziu cu geometrie adaptată pacientului în tratamentul defectelor osoase: Prezent și Viitor** a investigat efectul aliajelor pe bază de magneziu în tratamentul defectelor osoase într-un mod exhaustiv [4]. A fost prezentat în detaliu procesul de vindecare osoasă, precum și modularea reacțiilor sistemului imunitar de tip corp străin, împreună cu principalele mecanisme care apar în timpul angiogenezei și osteogenezei cu accent pe cele mai recente studii din literatură [5]. A fost propusă o strategie dedicată realizării implantelor cu geometrie adaptată necesităților anatomice ale a pacientului pornind de la imaginile medicale ale acestuia și modalității de segmentare disponibile în programele medicale, continuând cu diferite analize numerice în vederea alegerii celor mai adecvate configurații geometrice și finalizând cu metodele de producere a implantelor [6] și modalitățile ulterioare de prelucrare. Această cercetare a fost făcută în scopul de a vedea ceea ce s-a studiat și implementat deja în domeniu și cum s-ar putea dezvolta o nouă strategie de proiectare a unui implant care să răspundă limitărilor metodelor deja existente. Nu în ultimul rând implicarea inteligenței artificiale a fost menționată ca fiind de mare viitor și de ajutor în producția medie și mare la nivel global.

Următorul obiectiv al tezei de doctorat a constat în investigarea potențialului regenerativ și osteointegrativ în cazul a două aliaje pe bază de magneziu, fiind în totalitate analizat în cadrul celui de-al **doilea articol doctoral "Compatibilitatea aliajelor Mg-Nd și Mg-Zn în obținerea unor structuri biodegradabile pentru defectele osoase"** [7]. În primul rând a fost realizat un program experimental bazat pe investigarea proprietăților de microstructură prin microscopie optică, microscopie electronică de baleiaj cuplată cu spectroscopie de energie dispersivă și analiză de difracție de raze X. Ulterior proprietățile mecanice ale celor două aliaje au fost testate prin analiza la compresiune, permițând calculul modulului Young. S-a constatat că ambele aliaje aveau valori apropiate de modulul de elasticitate al osului uman. Coroziunea celor două biomateriale a fost investigată cu ajutorul metodelor electrochimice conducând la o rezistență la coroziune mai mare pentru aliajul Mg-Zn. Biocompatibilitatea celor două aliaje a constat în dezvoltarea de studii de histopatologie și analize de micro-tomografie computerizată realizate pe probe din țesut moale și dur prelevate de la animalele de test. Și în acest caz s-a concluzionat că aliajul Mg-Zn a facilitat o mai bună mineralizare osoasă. În cazul aliajului Mg-Nd o mică întârziere în vindecarea țesutului a fost semnalată. Principala concluzie a acestei cercetării a fost faptul că ambele aliaje pe bază de magneziu sunt adecvate pentru testare clinică fiind lipsite de efecte adverse puternice.

Pornind de la proprietățile excepționale ale aliajelor de magneziu au fost propuse două modele de implant în cel de-al **treilea articol doctoral "Modele mecanice și computaționale de dinamică a fluidelor pentru implante din aliaje de magneziu"**[8]. Modelele au fost dezvoltate prin metoda proiectării asistate de calculator și au prezentat o porozitate inițială de 62% și 38%. Ele au fost realizate în vederea implementării noii metode de producție a implantelor dezvoltată în teză și au prezentat un grad înalt de simetrie care ar permite ulterior un proces de împletire al firelor din aliaj de Ti. În urma procesării rezultatelor analizei mecanice de element finit s-a considerat un test de compresiune, care a constat în plasarea implantelor între două corpuri rigide. Au fost determinate proprietăți mecanice adecvate în cazul unui model care a fost selectat pentru a fi implementat practic. În continuare pentru a investiga

performanța biologică a celor două structurii propuse prin analiza de dinamică computațională a fluidelor au fost stabilite valorile permeabilității calculată pentru curgerea liniară în ipoteza valabilității legii lui Darcy în conformitate cu recomandările din literatură [9]. Tensiunea de forfecare pe perete a avut valori cuprinse în recomandările biologice [10] tot pentru modelul cu porozitate mai mare. S-a concluzionat că acesta este adecvat proliferării celulare și având și proprietăți mecanice foarte bune s-a optat pentru realizarea sa practică.

În cadrul celui de-al **patrulea articol doctoral "Testare biofuncțională a unui implant degradabil realizat din Mg-Nd și Mg-Zn pentru tratamentul defectelor osoase"** principalul obiectiv a fost dezvoltarea unei metode inovative de producție în scopul obținerii implantelor cu canale din aliaje Mg-Nd și Mg-Zn [11]. Prima parte a acestui studiu este dedicată exclusiv metodei de producere care are următoarele etape: proiectarea și realizarea practică a modelului de matrice polimerică, împletirea firelor din aliaj biocompatibil din Ti6Al4V și obținerea unui hibrid aliaj Ti-polimer, dizolvarea matricei polimerice în solvent dedicat [12], urmată de imersarea structurii de fire de Ti6Al4V în aliaj de Mg topit cu ajutorul unui cuptor bazat pe încălzire prin inducție [11]. Ulterior firele din aliaj de Ti au fost dizolvate în acid fluorhidric lăsând în urma lor o rețea de canale interconectate în implantul din aliaj de Mg. În conformitate cu literatura [12] și a analizei de spectroscopie de difracție cu raze X pe suprafața implantelor s-a format o acoperire de conversie din MgF_2. Aceasta a favorizat îmbunătățirea proprietăților de suprafață favorizând un comportament hidrofil împreună cu o creștere a rugozității și conducând la o scădere a pierderii de masă la testele de imersie [11]. Programul experimental a fost condus în paralel pe probe confecționate din implant și eșantioane referință din aliaj turnat. Probele din implant au demonstrat și o citotoxicitate redusă în urma analizei de viabilitate celulară. Principala concluzie a acestui studiu precum și a tezei de doctorat a fost că metoda inovativă prezentată nu necesită utilizarea unor echipamente scumpe sau a unei atmosfere controlate și conduce la obținerea unor implante cu o acoperire de conversie care îmbunătățește atât proprietățile de material cât și biocompatibilitatea eșantioanelor.

Cercetarea prezentată în aceste studii detaliate subliniază încă o dată unicitatea metodei de producere propuse precum și faptul că implantele cu canale vor avea un impact mare în tratamentul defectelor osoase. Gradul ridicat de inovație științifică este susținut și de propunerea de patent de invenție adresând totodată limitările metodelor deja existente pe piață precum și al precauților suplimentare care trebuie luate din cauza efectului piroforic al aliajelor pe bază de magneziu. Se poate prevedea că metoda de producere prezentată poate fi adaptată în viitor la o producție pe scară medie, în timp ce proprietățile de suprafață și cele biologice pot fi în continuare îmbunătățite prin aplicarea de acoperiri biocompatibile.

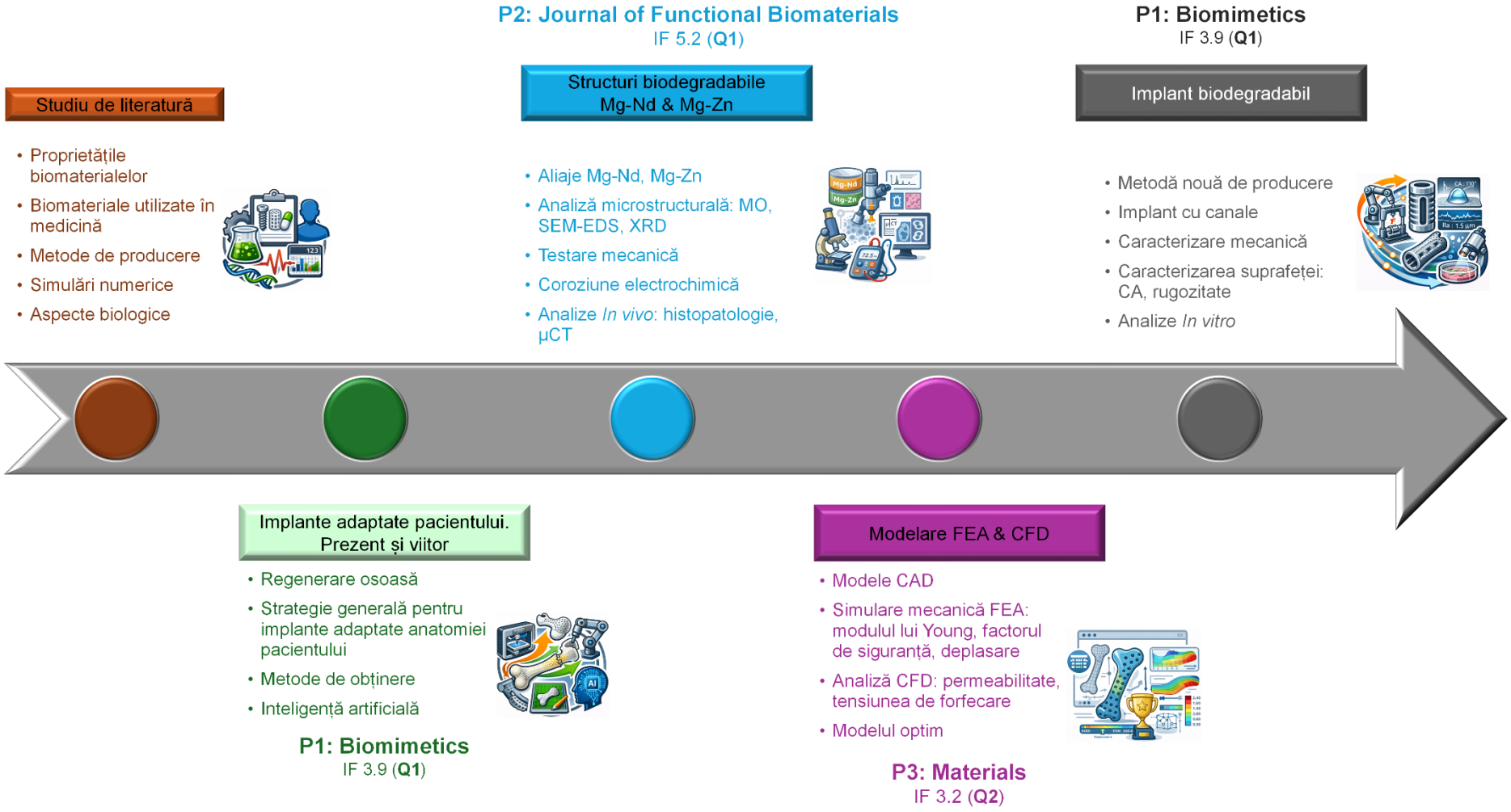


Figura 1. Reprezentare grafică a etapelor parcurse în teza de doctorat, incluzând lucrările științifice publicate.

Capitolul 1 – Studiu de literatură în relație directă cu obiectivele tezei de doctorat

1.1. Generalități cu privire la materialele moderne utilizate în aplicațiile ortopedice

În prezent, domeniul biomaterialelor este considerat unul dintre cele mai promițătoare din cadrul științelor medicale. Este bine-cunoscut faptul că implantele pot fi plasate direct sau indirect în raport cu țesuturile proprii [13]. În plus, domeniul de cercetare necesită o abordare multidisciplinară care necesită cunoștințe din domeniul științelor materialelor, medicinii, fizicii, chimiei, biologiei, mecanicii și electrochimiei. Importanța acestei direcții științifice a fost subliniat de Organizația Mondială a Sănătății, care a estimat că anual sunt utilizate 1.5 milioane de dispozitive medicale, dintre care 10000 de echipamente sunt standardizate și aprobate de Administrația pentru alimente și medicamente din Statele Unite ale Americii sau dețin un certificat de utilizare pe teritoriul european.

Una dintre cele mai folosite definiții ale unui biomaterial a fost furnizată de Xindong Zhang și David Williams și a afirmat că un biomaterial poate fi considerat drept "un material proiectat pentru a lua o formă adecvată interacțiunii cu sistemele vii prin intermediul unei terapii sau procedură de diagnostic"[14].

Biomaterialele sunt proiectate pentru a susține sau înlocui părții sau chiar întregul organ fără a determina reacții adverse severe, așa cum a fost subliniat în partea de Introducere a lucrării. În unele cazuri sunt de preferat materialele de origine naturală, dar practica medicală a demonstrat că materialele sintetice pot funcționa foarte bine fiind tolerate în totalitate de organismul uman. Acestea pot fi întâlnite sub forma unor geluri, solide, sau lichide și sunt utilizate în tratamentul diferitelor patologii. Câteva aplicații comune ale biomaterialelor pot fi senzori pentru diagnostic, dispozitive medicale de tipul instrumentației utilizate în chirurgie, sau pungii polimerice cu diferite destinații, implante externe și interne, precum și dispozitive medicale destinate medicinii regenerative. Uneori biomateriale sintetice sau naturale sunt utilizate în stabilizarea defectelor osoase și a fracturilor, pentru înlocuirea articulațiilor, tendoanelor sau ligamentelor, sau pur și simplu pe post de implante dentare. Altele sunt dedicate îmbunătățirii funcționării sistemului cardiovascular, precum valve artificiale sau înlocuitori vasculari, în timp ce unele dintre ele pot înlocui în totalitate un organ, precum inima artificială, endoproteza de sân, sau rinichiul artificial.

Pentru a obține cel mai bun efect terapeutic, un biomaterial trebuie să aibă proprietățile mecanice și chimice ale țesutului natural unde va fi utilizat pentru a înlocui o parte lipsă, iar în acest scop trebuie să respecte o anumită geometrie și trebuie să îndeplinească specificații fiziologice. Una dintre cele mai importante proprietăți este biocompatibilitatea. Această proprietate este definită drept capacitatea unui biomaterial de a completa funcția ca parte integratoare a unei terapii medicale și de a genera un răspuns imunologic adecvat fără efecte secundare precum toxicitate, rănire, sau rejecție. În ceea ce privește biomaterialul este de așteptat să susțină activitatea normală a celulelor, scopul său final fiind acela de a fi complet integrat de corpul uman fără efecte sistemice grave. Nu în ultimul rând, biomaterialele sunt uneori proiectate pentru a fi utilizate într-o anumită parte a corpului îndeplinind o anumită funcție. În general nu pot fi adresate suplinirii simultane a mai multor funcții. Un alt aspect care merită menționat este reacția imunitară de tip corp străin. În cazul materialelor inerte, reacția sistemului imunitar determină apariția unei capsule fibroase, care incorporează implantul, iar în cazul materialelor bioactive, permanente sau biodegradabile, trebuie să susțină dezvoltarea țesutului prin eliberarea de ioni metalici sau alte tipuri de substanțe regenerative.

Reacția imunitară de tip corp străin trebuie să fie moderată. În cazul observării unui efect toxic, dispozitivele medical externe sau implantabile trebuie să fie acoperite cu materiale biocompatibile. În ceea ce privește proprietățile mecanice ale unui biomaterial de interes sunt rezistența la compresiune, modulul lui Young, limita de rupere și duritatea, datorită faptului că asupra unui material se exercită forțe și cupluri de natură diferită. Alte atribute importante, care sunt analizate în practica clinică și sunt importante în domeniul biomedical sunt rezistența la coroziune și oboseală datorită faptului ca mediul din interiorul corpului uman este foarte coroziv, iar efectele pot fi complet diferite de rezultatele obținute în urma testelor *in vitro* [15]. În momentul în care se dorește implementarea pe scară largă trebuie să se considere ușurința proiectării și a prelucrabilității. Forma trebuie adaptată poziției anatomice unde implantul va fi folosit, în timp ce prelucrabilitatea este definită drept posibilitatea de a implementa practic un dispozitiv la preț redus, pentru aservi scopului inițial de fabricație.

Biomaterialele utilizate în domeniul medical trebuie să simuleze funcționarea reală a organelor precum și structura acestora, fiind caracterizate de o anumită biochimie și biomecanică. În funcție de tipul de legătură chimică se pot distinge trei mari grupe de materiale: metalice, ceramice și polimerice. O mare atenție va fi acordată în această secțiune materialelor utilizate în tratamentul defectelor osoase. Se vor aduce completării în secțiunea următoare cu privire la metalele biodegradabile utilizate în realizarea implantelor temporare.

Metalele sunt caracterizate de o structură cristalină și proprietăți mecanice bune. Cu toate acestea nu toate materialele metalice sunt adecvate utilizării în scop medical datorită fenomenului de ecranare al tensiunilor care poate genera resorbție osoasă, întârziind vindecarea defectului. În plus în cazul materialelor metalice utilizate în fabricarea implantelor permanente, emisia de ioni metalici reprezintă un motiv suplimentar de îngrijorare fiind legată de apariția metalozei dar și a necrozei țesutului. Unul dintre cele mai utilizate materiale este titanul (Ti) și aliajele sale. Acest material este caracterizat de o biocompatibilitate înaltă, de o rezistență bună la coroziune și durabilitate. Pe de altă parte prezintă dezavantajul unui modul de elasticitate de valoare ridicată și se utilizează de cele mai multe ori structuri poroase. Unele studii [16], [17], au demonstrat potențialul osteointegrativ al Ti6Al4V prin studii *in vivo* sau *in vitro* pe diferite linii celulare (MC3T3-E1, CC-2538). În scopul scăderii citotoxicității s-au dezvoltat de-a lungul timpului diferite tipuri de acoperiri sau modificării de suprafață. Un alt material utilizat în practica medicală curentă este oțelul inoxidabil. Acesta este caracterizat de o rezistență mare la coroziune și de o bună biocompatibilitate. Fiind un material inert, proprietățile sale de osteoconducție și osteoinducție sunt limitate, fiind necesară utilizarea de acoperiri la fel ca în cazul aliajelor de titan. Unul dintre cele mai scumpe metale utilizate în ortopedie este Tantalul (Ta). Acesta se caracterizează prin durabilitate, rezistență mecanică mare și biocompatibilitate înaltă. În plus, numeroase studii [18], [19], au demonstrat faptul că tantalul suferă un proces de pasivare și formează o acoperire de suprafață cu proprietăți asemănătoare apatitei. În unele cazuri se pot adăuga proteine morfogenetice sau factori de creștere, care sunt folosiți împreună cu implantele de Ta pentru a îmbunătăți caracterul bioactiv al implantelor.

O altă clasă a biomaterialelor este cea a ceramicilor, care au o compoziție chimică similară cu cea a osului uman și un caracter bioactiv. Principalul lor dezavantaj îl reprezintă proprietățile mecanice reduse, fiind foarte fragile, ele nu pot fi utilizate în zone cu solicitare mare ale corpului uman. Multe studii sunt dedicate hydroxiapatitei (HAp) $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, care reprezintă principalul constituent inorganic al osului uman. În general, acest material este folosit drept nano-acoperire dovedind proprietăți de regenerare excepționale asupra unor linii celulare de tipul MC3T3-E1 și RAW264-7. O altă ceramică utilizată foarte mult în lumea medicală este beta-fosfatul tricalcic (β-TCP) $Ca_3(PO_4)_2$. În ciuda proprietăților sale regenerative, unele studii au arătat că acest material are o rată de dizolvare mai mare comparativ cu HAp [20], [21], [22]. Dacă se dorește creșterea posibilității de a ghida celulele stem spre o diferențiere în osteoblaste se pot adăuga exozomi, iar în cazul în care se urmărește o acțiune

antibacteriană se combină beta-fosfatul tricalcic cu argint sau cupru. Biosticlele sunt de asemenea importante în tehnica regenerării țesutului dur pentru zonele lipsite de solicitări mecanice majore prezentând proprietăți mecanice reduse și potențial bioactiv. În urma analizei literaturii [23], s-a determinat că biosticlele sunt caracterizate de o compoziție chimică care se poate adapta ușor aplicației medicale și rate de dizolvare diferite. Pentru a fi utilizate în zone ale corpului puternic solicitate din punct de vedere mecanic trebuie făcut un control atent al porozității implantelor sau trebuie ranforsate cu ajutorul ionilor metalici.

Ultima clasă a materialelor utilizate în ortopedie este cea a polimerilor. Aceștia au proprietăți mecanice adaptate aplicațiilor medicale, citotoxicitate redusă, durată de viață mare și compoziție chimică controlabilă. Din nefericire, în unele cazuri, reacții adverse de tip corp străin sau rate de degradare scăzute au fost raportate. Materialele polimerice pot fi clasificate în funcție de sursa de proveniență în naturale și sintetice. Cele sintetice prezintă proprietăți mecanice bune, un înalt grad de prelucrabilitate, o morfologie adaptabilă, și biocompatibilitate adecvată [24]. În ceea ce privește polimerii naturali, ei sunt considerați compatibili cu țesutul natural păstrând apa în interiorul corpului și manifestând proprietăți importante de osteoconducție și osteoinducție [25].

Materialele compozite au fost analizate într-o multitudine de studii de specialitate [26], [27]. Despre ele se poate aminti că sunt compatibile cu metodele de achiziție a imaginilor medicale, sunt ușoare, și în unele cazuri manifestă proprietăți bioactive. Figura 2 prezintă unele dintre cele mai utilizate implante la nivel mondial, împreună cu principalele clase de biomateriale folosite în producerea de implante ortopedice.

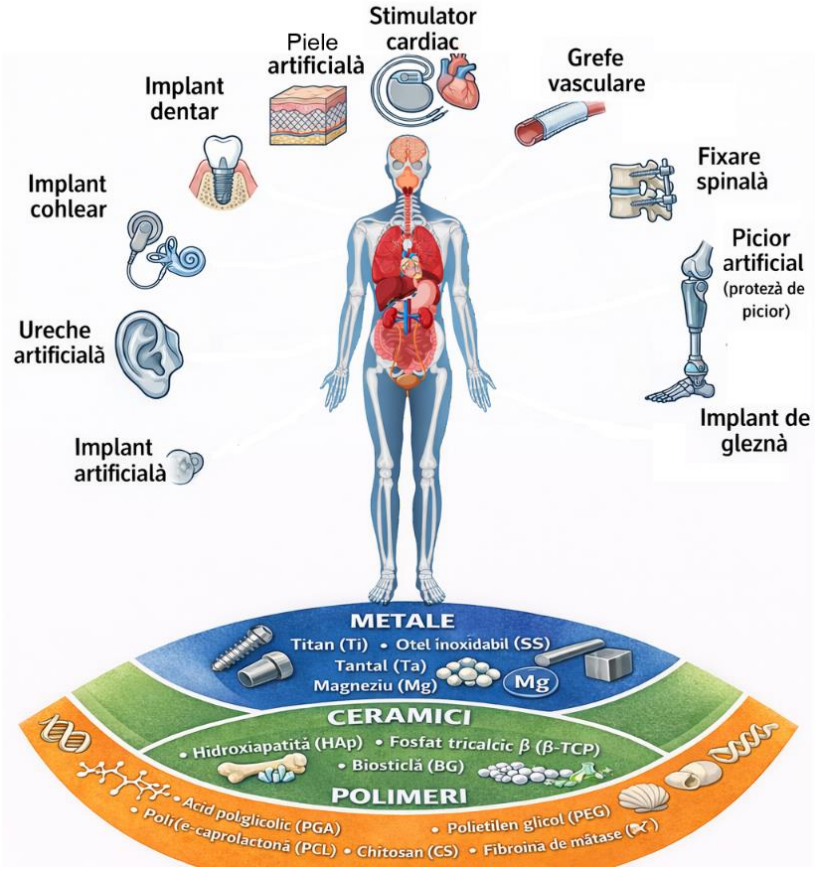


Figura 2. Principalele tipuri de implante utilizate în practica clinică și biomateriale folosite în ortopedie.

1.2. Metale biodegradabile utilizate pentru aplicații specifice în ortopedie

1.2.1. Proprietăți de material importante ale materialelor metalice biodegradabile

O direcție importantă de studiu este cea a metalelor biodegradabile precum aliajele pe bază de magneziu (Mg), fier (Fe) și zinc (Zn) [28], [13]. O definiție actuală a unui metal biodegradabil se găsește în studiul dezvoltat de Liu et al. [29] și specifică că este de așteptat ca un metal biodegradabil să corodeze treptat atunci când este testat *in vivo*, să prezinte reacții de tip corp străin moderate, iar ionii metalici și produșii secundari rezultați în urma procesului de coroziune să poate fi incluși în metabolismul corpului și apoi rapid eliminați din acesta, fără a rămâne reziduri de natură toxică. Această definiție dezvoltă conceptul propus de Y.F. Zheng în [30]. Definiția este foarte asemănătoare cu cea a materialelor absorbabile existentă în [29].

Au fost propuse câteva criterii importante care fac corect diferența dintre metal biodegradabil și unul permanent. De exemplu, procesul de coroziune în medii fiziologice este complet descris de parametrii precum potențialul de electrod, seriile galvanice și reactive, raportul Pilling-Bedworth și diagrama Pourbaix. Drept metale biodegradabile sunt considerate cele care au un potențial standard de electrod sub zero. Mai multe metale îndeplinesc acest criteriu dintre care se pot enumera, Mg, Fe, Zn, calciul (Ca) și stronțiul (Sr). Seria galvanică a metalelor biodegradabile a fost stabilită în funcție de potențialul de coroziune. Acesta se calculează pe baza valorii potențialului de circuit deschis și al curbelor potențiodinamice. În ceea ce privește seria de reactivitate se analizează potențialul metalelor de a reacționa cu diferiți acizi, iar diagrama Pourbaix evidențiază foarte clar care sunt domeniile de pH și de potențial electrochimic în care metalele se degradează foarte rapid [29].

Criteriile de biocompatibilitate au fost alese ca fiind concentrația de inhibiție (IC_{50}) și doza letală (LD_{50}) [31]. În cazul magneziului au fost de-a lungul timpului doar puține modele animale care au prezentat toxicitate.

În concluzie pentru a enumera proprietățile cheie ale metalelor biodegradabile trebuie să se facă o analiză atentă a compoziției chimice, a tipului de coroziune, a solicitărilor la care este supus materialul și a biocompatibilității. Recent aliaje precum Mg-Zn sau Zn-Mg [32], [33] au fost propuse pe baza proprietățile lor mecanice excepționale, precum și a compatibilității cu imagistica medicală, proprietăților de suprafață adecvate integrării în mediul biologic, radioopacității și a conductivității electrice bună atunci când este necesară stimularea electrică [29].

1.2.2. Metale biodegradabile folosite în teste pre-clinice și clinice

Trei clase de materiale au fost intens studiate în literatură: aliajele pe bază de Fe, Zn și Mg. Acestea sunt utilizate în producția de implante temporare, care sunt treptat înlocuite de țesut viu, furnizând suport mecanic în primele etape ale procesului de vindecare. Toate metalele prezentate în subcapitolul 1.1 sunt destinate realizării de implante permanente. Metalele biodegradabile oferă avantajul absenței unei operații suplimentare și astfel riscul infecției este diminuat.

Fierul reprezintă o alternativă interesantă la aliajele de Mg, fiind caracterizat de o tensiune maximă de tracțiune de 550 MPa împreună cu o bună ductilitate. Nu este utilizat în mod uzual ca implant ortopedic, în schimb este folosit extensiv la fabricarea stent-urilor cardiace. Studii *in vivo* și *in vitro* [34], [35] au arătat că stent-urile confecționate din Fe pur nu au generat un efect citotoxic la implantarea în aorta unui model animal de tip porc, dar nici asupra diferitelor linii celulare. S-a observat că Fe este caracterizat de o viteză foarte redusă de coroziune, generând efecte secundare similare implantelor permanente. O perioadă de degradare ideală a fost stabilită în [36], fiind cuprinsă între 12 și 24 luni. În urma analizei mecanismelor de coroziune ale Fe s-a constatat o cantitate redusă a emisiilor de hidrogen. În plus s-a găsit faptul că unii oxizi de fier pot rămâne mai mult timp în interiorul corpului uman,

fără o importantă toxicitate. Pentru a crește viteza de coroziune a fierului, s-a propus de-a lungul timpului alierea cu diferite metale de tipul manganului (Mn). Mn are proprietatea de a scădea potențialul de electrod al Fe și de a forma o soluție solidă. În plus, aliajele Fe-Mn sunt caracterizate de proprietăți antiferomagnetice lucru care le face compatibile cu rezonanța magnetică nucleară. O altă soluție des întâlnită în practică este reprezentată de obținerea unui cuplaj galvanic cu metale mai nobile conducând la formarea unor baterii chimice menite să accelereze coroziunea fierului.

Ca principale dezavantaje ale fierului trebuie menționată rata de coroziune foarte redusă (0.1 - 0.5 mm/an), incompatibilitatea cu echipamentele de rezonanță magnetică nucleară datorită proprietăților feromagnetice ale fierului în lipsa alierii cu Mn, dar și eliminarea dificilă a oxizilor de fier din corpul uman.

O altă clasă importantă de metale biodegradabile este cea a aliajelor pe bază de zinc, care au o rată de coroziune redusă comparativ cu aliajele Mg și cele de Fe. Mutar et al. [37] au stabilit că rata de disoluție a Zn poate varia între 6 luni și 12 luni. Această perioadă de timp este adecvată vindecării osului uman [37]. În plus, s-a determinat că rata de degradare a aliajelor de Zn (0.05-0.2 mm/an) are valori foarte apropriate de recomandările curente [38]. Și în cazul aliajelor de Zn nu sunt prezente emisii de hidrogen.

Este bine cunoscut faptul că Zn este un oligoelement. Ionii de Zn^{2+} eliberați în urma procesului de coroziune stimulează activitatea osteoblastelor împreună cu un efect de inhibare al osteoclastelor, favorizând în acest mod formarea de os nou [39]. Mult timp s-a considerat că aliajele de Zn prezintă proprietăți mecanice reduse, dar studii recente [37], [39] au demonstrat că reducerea dimensiunii de grăunte conduce la o rezistență mecanică foarte apropiată de cea a oțelului inoxidabil. De asemenea produșii secundari ai Zn sunt caracterizați de o mai mare biocompatibilitate în comparație cu oxizii fierului [38], [39].

Principalele provocări cu privire la aliajele de Zn sunt fenomenul de fluaj care poate apărea din cauza faptului că temperatura de topire a Zn este foarte scăzută, ionii de Zn^{2+} sunt asociați cu un anumit nivel de toxicitate [40], [41] manifestat în cazul celulelor endoteliale. Proprietățile mecanice ale aliajelor Zn-Li și Zn-Mg trebuie atent controlate din cauza fragilității acestor aliaje .

Cel mai utilizat metal în practica clinică rămâne magneziul și aliajele sale. Antoniac et al. [28], [13], [42], [43] au subliniat extrem de clar proprietățile aliajelor de Mg: înaltă biocompatibilitate, proprietăți mecanice foarte bune cu un modul de elasticitate de 45 GPa foarte apropiat de osul uman (15÷25 GPa), precum și o densitate cu valori cuprinse între 1.74 și 1.84 g/cm^3. Suplimentar, este deja cunoscut faptul că ionii de Mg^{2+} pot activa aproape 300 de enzime din corpul uman promovând diferențierea osteoblastelor în paralel cu inhibarea activității osteoclastelor. Aceste procese biologice au fost descrise foarte detaliat de V. Manescu (Paltanea) et al. [4] în primul articol doctoral.

În prezent există deja implante realizate din aliaje pe bază de Mg care sunt destinate utilizării clinice. Printre acestea se pot aminti aliajul Mg-Y-RE-Zr (MAGNEZIX®) de la compania Syntellix AG (Germany) și aliajul Mg-Ca-Zn (RESOMET™) din Republica Coreea [13].

Principalele elemente de aliere care sunt introduse în compoziția chimică a aliajelor de magneziu sunt: Zn, Ca, Mn, pământuri rare și ytriul (Y). Se poate observa că astăzi la nivel mondial cercetările științifice recomandă înlocuirea alierii cu pământuri rare prin zinc, deoarece aliajele Mg-Zn au o rată de coroziune redusă precum și produși secundari de degradare cu biocompatibilitate ridicată așa cum a fost observat și în al doilea articol doctoral de către V. Manescu (Paltanea) et al. [7].

Provocările asociate cu utilizarea aliajelor de magneziu în ortopedie sunt emisia de hidrogen care apare în timpul procesului de coroziune ce poate conduce la necroza țesutul sau întârzierea vindecării, coroziune în puncte care este legată de eșuarea implantelor putând

conduce până la fracturarea acestora, și alcalinizarea mediului care poate avea ca efect secundar distrugerea celulelor la locul de inserție al implantului [44].

În următoarele capitole ale capitolului Introducere vor fi dedicate exclusiv aliajelor pe bază de Mg, deoarece aceste biomateriale sunt considerate de lumea științifică a fi cele mai adecvate din punct de vedere al proprietăților lor regenerative și al caracterului bioactiv.

Figura 3 prezintă principalele materiale biodegradabile utilizate în producerea de implante împreună cu criteriile de includere în clasa materialelor biodegradabile și cele mai importante proprietăți ale acestora.

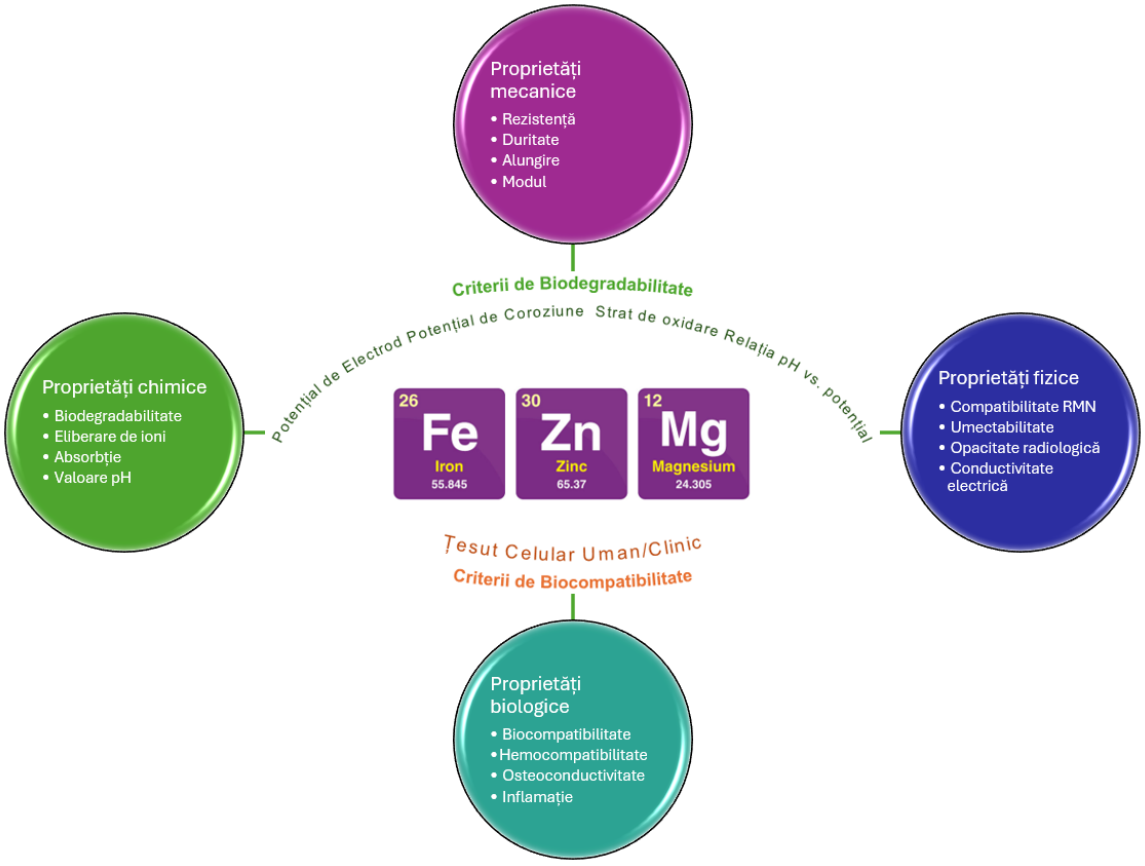


Figura 3. Principalele proprietăți ale metalelor biodegradabile utilizate în practica clinică.

1.3. Metode de producere a structurilor biodegradabile din aliaje pe bază de magneziu pentru tratamentul defectelor osoase

1.3.1. Metode de producere clasice

În acest subcapitol vor fi descrise unele dintre cele mai uzuale metode folosite în practică pentru a produce implante de magneziu. O versiune mai detaliată a acestor tehnici se găsește în primul articol doctoral prezentat de V. Manescu (Paltanea) et al. [4].

Prima metodă care va fi prezentată este metoda utilizări firelor de Ti pentru a obține o structură de canale cu aer în interiorul implantelor de Mg. Primul pas al acestei tehnologii constă în obținerea unei structuri tridimensionale, care ulterior va fi imersată în aliaj de magneziu lichid conducând la obținerea unui hibrid metalic Ti-Mg. Acest hibrid va fi introdus în acid fluorhidric, care va determina topirea firelor de titan. O consecință imediată constă în formarea unei acoperiri de conversie MgF_2 pe suprafața implantelor. În urma eliminării titanului se va obține o rețea de canale care este benefică procesului de osteointegrare [6]. În [45], [46] sunt prezentate variante modificate ale acestei metode care constau în înlocuirea firelor de titan cu alte materiale.

O altă metodă utilizată în practica curentă se bazează pe injectarea hidrogenului în condiții de presiune înaltă în magneziu topit [47]. În urma atingerii stării de saturație a hidrogenului și sub efectul răcirii cu apă topitura metalică se va solidifica superior prezentând pori longitudinali.

O metodă clasică este cea bazată pe metalurgia pulberilor. Pentru a crea un anumit grad de porozitate pulberea de magneziu este amestecată cu alte materiale. Procesul de producție are mai multe etape. Astfel în prima etapă are loc un proces de încălzire care constă în eliminarea acestor substanțe, iar apoi urmează sinterizarea care conferă proprietăți mecanice adecvate implantului de magneziu [48].

Perforarea laser este o metodă simplă care constă în generarea unei rețele de pori în implantele de magneziu prin folosirea unei mașini programabile. Se pot obține prin această metodă implante cu proprietăți mecanice bune și o rețea de pori regulată [49].

Alte metode sunt bazate pe fabricarea aditivă a implantelor. Acestea au la bază proiectarea unui model tridimensional în diferite programe dedicate, urmată de printarea acestuia pe baza pulberii de magneziu în condiții de atmosferă controlată pentru a se evita apariția scânteilor datorită efectului piroforic al magneziului. Prin fabricare aditivă se pot obține implante de o calitate superioară care respectă în totalitate design-ul proiectat, cu proprietăți mecanice foarte bune [50].

Ultima metodă este caracterizată de o abordare indirectă a fabricației aditive și constă în realizarea modelului tridimensional pe baza unor template-uri de NaCl care sunt introduse în aliaj de magneziu lichid. Ulterior se elimină aceste structuri ajutătoare și se obține un implant de magneziu cu proprietăți mecanice bune și pori interconectați [51].

În concluzie, există în literatură diferite metode care conduc la obținerea de implante cu geometrie adaptată anatomiei pacientului. Din păcate unele dintre acestea sunt foarte costisitoare, necesitând utilizarea unor echipamente scumpe cu atmosferă de vid avansat sau inertă, în timp ce altele sunt ușor de implementat, dar conduc la obținerea de geometrii care nu respectă în totalitate proiectul, iar în unele cazuri porozitatea are un grad mai redus fiind necesari pași suplimentari de prelucrare.

1.3.2. Strategie inovativă propusă

Inițial trebuie să se pornească de la imaginile medicale ale zonei afectate achiziționate prin tomografie computerizată sau rezonanță magnetică nucleară. Aceste imagini se colectează în format DICOM și pe baza operației de segmentare se pot construi modele tridimensionale

ale organelor sau tumorilor. Apoi, aceste modele pot fi cu ușurință transferate unor programe de analiză cu element finit sau convertite într-un fișier cu extensia STL. Pe baza unui sofware de tip slicer modelul STL este transformat în fișier G-code care poate fi printat cu ușurință 3D.

În etapa de proiectare se pleacă de la geometria celulei unitate a modelului. Aceasta este replicată pe cele trei direcții spațiale, iar de cele mai multe ori o porozitate mai mare de 50% este considerată adecvată pentru aplicațiile medicale.

Simulările mecanice cu element finit și dinamica computațională a fluidelor sunt operații obligatorii care trebuie efectuate în vederea stabilirii faptului că implantele proiectate au proprietăți mecanice cu valori apropiate de cele ale țesutului dur și ca sunt compatibile cu fluidele biologice din interiorul corpului uman.

Figura 4 prezintă o schemă care subliniază principalii pași care trebuie urmați în procesul de producție al implantelor personalizate, începând așa cum s-a recomandat ulterior cu preluarea imaginilor DICOM, dezvoltarea modelului CAD, apoi analiza proprietăților mecanice și cea a dinamicii fluidelor, urmată de interpretarea rezultatelor, procesul de implementare practică propriu zisă, dar și etape suplimentare de postprocesare a implantelor în vederea creșterii biocompatibilității acestora.

În urma analizei metodelor de producție prezentate în acest subcapitol s-a dezvoltat o metodă de producere proprie care este detaliată în al patrulea articol doctoral. Suplimentar testări de material și de citotoxiciate au fost făcute pe eșantioane realizate din implant, dar și probe de referință făcute din aliaj turnat, pentru a vedea dacă soluția propusă poate fi implementată în testări pre-clinice.

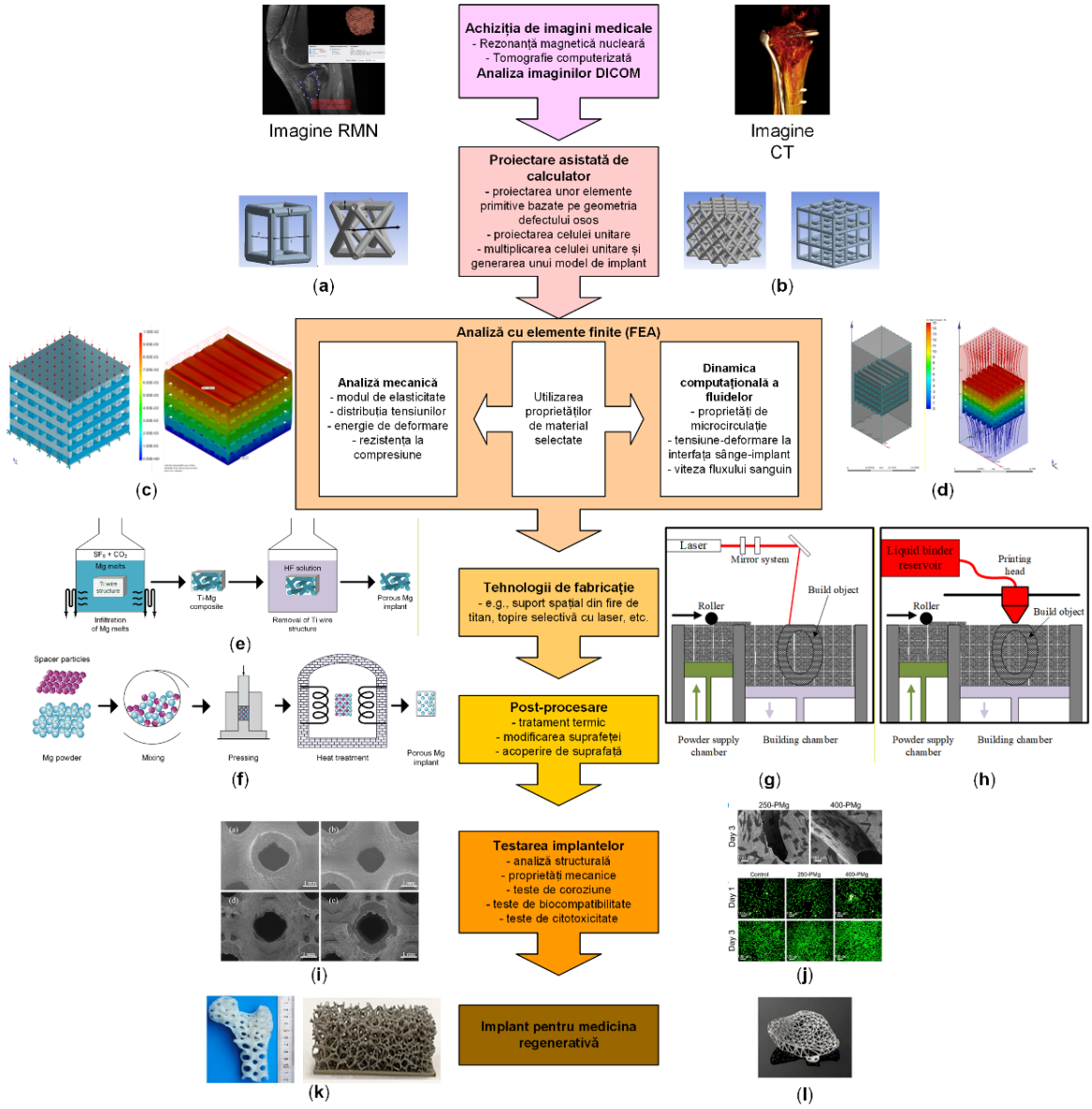


Figura 4. Schemă ce pune în evidență principalii pași de producție ai implantelor personalizate. (a) celule elementare, (b) geometrie implant, (c) simulare mecanică FEA, (d) test CFD, (e) metoda utilizării firelor de Ti, (f) metoda injectării de hidrogen la presiune înaltă, (g) topire selectivă cu laser, (h) metoda imprimării 3D cu jet de liant, (j) imagini SEM, (j) investigații biologice, (k), (l) implante. Imaginea a fost adaptată din V. Manescu et al. [4] și V. Manescu et al. [8]

1.4. Modelarea numerică a unei structuri inovative pe bază de Mg dedicată tratamentului defectelor osoase

În prezent analiza mecanică cu element finit este utilizată pentru estimarea valorii modului Young, dar și a altor proprietăți mecanice ale implantelor pe bază de magneziu care sunt în relație directă cu posibilitatea de osteointegrare a acestora. Pe de altă parte mecanica computațională a fluidelor este importantă în calculul tensiunii de forfecare pe perete și al permeabilității implantelor. Aceste două mărimi sunt foarte importante fiind direct legate de viabilitatea celulară, multiplicare și adeziune. În conformitate cu literatura, porozitatea implantelor trebuie să fie cuprinsă între 25% și 90%, în timp ce dimensiunea porilor trebuie să fie cuprinsă între 10 μm și 1000 μm [52]. Întotdeauna trebuie găsit un compromis între porozitate și proprietățile mecanice ale implantelor. Modulul Young nu trebuie să depășească valoarea de 20 GPa [53] pentru a avea o valoare apropiată de cea a osului trabecular și pentru a influența într-un mod pozitiv proliferarea și diferențierea celulară atât pe partea interioară a implantului cât și în exteriorul acestuia. Pentru a face mai ușoară testarea mecanică se analizează în general comportamentul materialelor pe zona liniară a curbei tensiune-deformație, solicitarea mecanică aplicată este constantă, iar modelele proiectate sunt plasate între două corpuri rigide [8].

În urma investigațiilor de specialitate s-a găsit ca tensiune de forfecare exercitată asupra pereților implantelor de către fluidele care curg în interiorul și exteriorul acestora nu trebuie să depășească 30 mPa [54]. În ceea ce privește celălalt parametru important permeabilitatea, aceasta este calculată în ipoteza unei curgeri liniare, a unui lichid Newtonian, a existenței fluidelor incompresibile și a respectării domeniului de aplicabilitate al ecuațiilor Navier-Stokes [55], [9], [56]. Permeabilitatea implantului se calculează cu ajutorul legii lui Darcy, iar corectitudinea aplicării acestui concept este verificată cu ajutorul numărului Reynolds care trebuie să fie mai mic decât 8.6 [57].

În cel de-al treilea articol doctoral s-a prezentat o analiză numerică detaliată în scopul alegerii unei geometrii de implant adecvată implementării practice a unor implante cu canale cu ajutorul unei metode inovative de producție. Figura 5 prezintă un exemplu de rezultate numerice obținute în urma simulărilor mecanice și al dinamicii computaționale a fluidelor extrase din cel de-al treilea studiu doctoral.

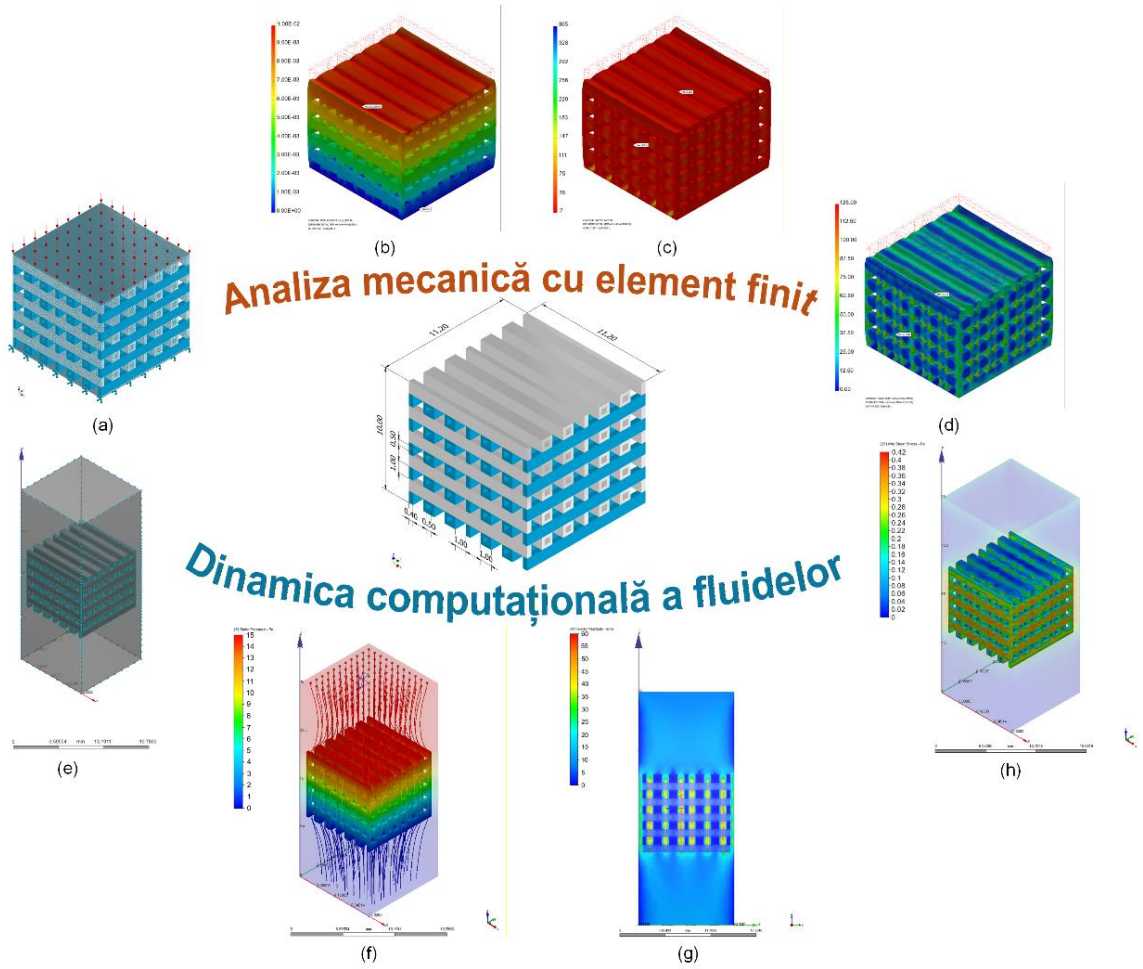


Figura 5. Rezultate ale simulării mecanice cu element finit: (a) condiții de frontieră, (b) harta deplasărilor, (c) factorul de siguranță, (d) harta tensionărilor von Misses. Rezultate ale simulărilor de mecanică computațională: (e) rețeaua de discretizare cu elemente de volum, (f) diferența de presiune, (g) viteza de curgere a fluidului, (h) tensiunea de forfecare exercitată asupra peretelui. Imaginea a fost adaptată din V. Manescu et al. [8].

1.5. Mecanisme biologice la interfața dintre aliajele pe bază de Mg și os

Implantele care prezintă o rețea de canale sunt cunoscute a avea un efect benefic asupra regenerării osoase prin căi de semnalizare dedicate, diferite acțiuni celulare și regulatori cheie. În cadrul tezei de doctorat au fost investigate proprietățile biologice, citotoxicitatea și teste *in vivo* pe modele animale de tip șobolani Sprague-Dawley pentru două aliaje Mg-Nd și Mg-Zn. Rezultatele obținute sunt detaliate în cadrul celui de-al doilea și al patrulea articol doctoral.

Osul uman poate fi definit drept un material poros compozit care conține celule, proteine, hidroxiapatită, dar și un sistem complex de vase de sânge [58]. Principalele celule osteogenice sunt osteoblastele care au un rol important în formarea osului nou, osteoclastele și osteocitele care sunt strâns legate de fenomenul de resorbție osoasă . Primul stadiu al vindecării osoase îl constituie răspunsul inflamatoriu al corpului prin celulele sistemului imunitar. După aceasta, în stadiul de reparare, precursorii vasculari și fibroblastele ajută în vindecarea osului prin formarea unui nou sistem de vase de sânge, care permit la formarea calusului. În ultima etapă a vindecării osoase sub acțiunea celulelor osteogenice, structura calusului se modifică în os lamelar matur.

În ceea ce privește efectul de modulare al sistemului imunitar, ionii de Mg^{2+} permit trecerea celulelor macrofage din starea pro-inflamatorie M1 în starea anti-inflamatorie M2 la locul defectului [61]. S-a constatat că în primele 3 zile, este necesar ca macrofagele să fie în starea M1 pentru a curăța locul defectului de patogeni sau resturi, iar în următoarele 4 zile este activată calea de semnalizare PI3K/Akt care produce trecerea macrofagelor în starea M2, eliberând factori de creștere necesari formării osului nou și a vaselor de sânge [4], [61]. Suplimentar, s-a demonstrat că ioni Mg^{2+} au un rol important în activarea CGRP care ajută la transformarea celulelor stem în osteoblaste [62]. În plus, o bună dezvoltare osoasă a fost asociată cu o creștere în concentrația plasmatică de IL-10 și o scădere a FG23 [63], [64].

Numeroase studii [65], [66] au demonstrat că ionii de Mg^{2+} joacă un rol secundar de mesageri pentru celule endoteliale, fiind caracterizați de producerea de oxid nitric cu rol vasodilator important cât și pentru regularizarea producției de VEGF. Studii recente au arătat că există două tipuri de celule endoteliale care coordonează în mod diferit producția de vase de sânge [67], [66]. Un alt aspect important constă în faptul că aliajele pe bază de magneziu permit simularea unui mediu lipsit de oxigen prin inducerea de HIF-1α. Această proteină poate intra în nucleul celulelor și poate activa ulterior mai multe gene legate direct de procesul de angiogeneză [68]. Macrofagele aflate în starea M2 îmbunătățesc TGF-β și FGF-2 ajutând în acest mod la formarea vaselor de sânge [69].

Ultimele studii subliniază faptul că există trei direcții principale în urmărirea proprietăților osteogenice ale ionilor Mg^{2+}: semnalizarea ionică directă, axa sistem neurologic-imunitate – os și controlul mecanic și biochimic al mediului. Ionii de Mg^{2+} sunt transportați prin TRPM7 și MAGT1 care permit inserarea lor în interiorul celulelor. Apoi prin PI3K/Akt este generată o bună proliferare celulară și o viabilitate crescută [70], [71], iar prin calea de semnalizare Wnt/β-catenin care este legată de procesul de translocare al proteinei β-catenin se activează genele osteogenice [72]. Într-o ultimă etapă calea de semnalizare ERK1/2 (MAPK) activează doi marcări importanți în osteogeneză Osterix și RUNX2 [73]. Prin măsurarea valorilor ALP, OCN și colagen tip I [74] se poate vedea inițierea formării osului nou [75].

Se poate observa imediat efectul extraordinar al aliajelor pe bază de magneziu asupra regenerării osoase, precum și marele potențial al acestor aliaje în tratamentul defectelor osoase. În final, emisiile de hidrogen trebuie atent controlate pentru a se evita necroza țesuturilor. Este important să se caute soluții noi pentru a reduce viteza de coroziune a magneziului și pentru a preveni intoxicația cu magneziu a organismului uman la concentrații mai mari de 10 mM [76].

Implantele poroase nu pot fi analizate prin metode tipice celor masive, deoarece prezintă o suprafață mare care este inundată de fluide corporale. În plus numeroase studii [43]

[77] au evidențiat faptul că există o diferență importantă între testările din laborator și țesutul viu.

În primul rând testele de imersie nu pot susține în totalitate comportamentul real *in vivo* al implantelor, datorită faptului că hidrogenul poate fi prins în interiorul canalelor rezultând o diminuare a procesului de coroziune în combinație cu creșterea pH-ului având ca efect imediat alcalinizarea mediului și scădere viabilității celulare [78]. Unele studii [79], [80] au arătat că se pot utiliza bioreactoare de microperfuzare pentru a simula viteza de curgere a sângelui, curățarea bulelor de hidrogen, cât și stabilizarea pH-ului mediului.

În ceea ce privește analizele *in vivo* trebuie avute în vedere anumite aspecte etice, deoarece modelele animale sunt și rămân la ora actuală unele dintre cele mai importante metode de analiză a profilului de degradare al implantului împreună cu posibilitatea de penetrare a celulelor țesutului osos, dar și a vaselor de sânge [7]. De cele mai multe ori se caută limitarea numărului de animale testate și atunci când este posibil se elimină grupurile Sham și control negativ [81].

Testările biologice sunt extrem de importante în stabilirea biocompatibilității unui implant dezvoltat în laborator.

Capitolul 2 – Articole științifice publicate integral ca rezultate ale tezei de doctorat

Obiectivele tezei de doctorat au fost dezvoltate în patru articole științifice după cum urmează: un articol de sinteză de literatură care prezintă într-un mod detaliat stadiul actual al cercetărilor și trei articole de cercetare în care este inclusă partea experimentală a tezei de doctorat. Toate aceste studii au fost publicate în jurnale cotate WOS la factor de impact mai mare decât 3. Clasificarea in cuartilele Q1 sau Q2 a jurnalelor alese dovedește încă o dată caracterul inovativ al tezei de doctorat. S-a acumulat un factor de impact total de 16.20.

1. **V. Manescu (Paltanea)**, I. Antoniac, A. Antoniac, D. Laptoiu, G. Paltanea, R. Ciocoiu, I.V. Nemoianu, L.G. Gruionu, H. Dura, *Bone Regeneration Induced by Patient-Adapted Mg Alloy-Based Scaffolds for Bone Defects: Present and Future Perspectives*, **Biomimetics**, vol. 8, iss. 8, 618, 43 pag., 2023, doi: 10.3390/biomimetics8080618, eISSN 2313-7673, WOS: 001131224100001, IDS Number DH8F8, **IF 3.9 (Q1)**

2. **V. Manescu (Paltanea)**, A. Antoniac, M.C. Moraru, I. Antoniac, C.M. Cotrut, S. Gradinaru, A.I. Dreanca, B. Sevastre, R. Pop, F.A. Tabaran, G.M. Vlasceanu, M. Ionita, M. Manole, *Suitability of Mg-Nd and Mg-Zn Alloys to Obtain Biodegradable Structures for Bone Defects*, **J. Funct. Biomaterials**, vol. 16, issue 11, 423, 32 pag., 2025, DOI 10.3390/jfb16110423, WOS: 001623847400001, eISSN 2079-4983, IDS Number F7439, **IF 5.2 (Q1)**

3. **V. Manescu (Paltanea)**, G. Paltanea, A. Antoniac, L.G. Gruionu, A. Robu, M. Vasilescu, S.A. Laptoiu, A.I. Bita, G.M. Popa, A.L. Cocosila, V. Silviu, A. Porumb, *Mechanical and Computational Fluid Dynamic Models for Magnesium-Based Implants*, **Materials**, vol. 17, iss. 4, 830, 2024, eISSN 1996-1944, doi: 10.3390/ma17040830, WOS: 001172420600001, IDS Number JI0P0, **IF 3.2 (Q2)**

4. **V. Manescu (Paltanea)**, A. Antoniac, G. Paltanea, I. Antoniac, E. Páll, M.C. Moraru, A.I. Dreanca, B. Sevastre, R. Stefanoiu, R. Ciocoiu, S. Gradinaru, J.V. Rau, M. Manole, *Biofunctional Testing of a Degradable Implant Made by Mg-Nd and Mg-Zn Alloys Used for Bone Defects,* **Biomimetics**, vol. 11, iss. 3, 169, 29 pag., 2026, doi: 10.3390/biomimetics11030169, eISSN 2313-7673, WOS: - , IDS Number -, **IF 3.9 (Q1)**

Capitolul 3 – Concluzii generale

Așa cum s-a arătat inițial încă din Introducere, tratamentul defectelor osoase bazat pe utilizarea diferitelor tipuri de implante biocompatibile devine din ce în ce mai important datorită creșterii numărului de defecte osoase care apar, și din cauza cantităților limitate de autografe și alografe. Metalele biodegradabile reprezintă viitorul tratamentelor defectelor osoase și nu necesită o a doua operație pentru îndepărtarea implantelor la fel ca în cazul aliajelor inerte. Pentru Fe, Zn și Mg se observă un proces de degradare care se desfășoară concomitent cu formarea de os nou. Din clasa metalelor biodegradabile se disting ca performanță aliajele pe bază de Mg, ionii de Mg^{2+} având un caracter bioactiv pot ajuta la regenerarea țesutului prin activarea diferitelor căi de semnalizare celulare ajutând într-o mare proporție procesul de angiogeneză, osteogeneză și modularea macrofagelor din starea M1 în starea M2 așa cum s-a arătat în capitolele precedente. În plus, se remarcă la nivel mondial tendința de a renunța la aliajele de magneziu pe bază de pământuri rare și înlocuirea acestora cu aliaje Mg-Zn cu proprietăți ca rezistența la coroziune crescută și lipsite de toxicitatea deja demonstrată prin studii de specialitate a pământurilor rare.

Design-ul experimental după care a fost concepută teza de doctorat este prezentat în Figura 1. Din **primul articol doctoral** se poate concluziona că acesta oferă o viziune asupra viitorului implantelor ortopedice arătând faptul că este necesară o trecere de la implantul pasiv la cel activ, care să permită tratarea defectului osos simultan cu regenerarea acestuia. S-a arătat că din punct de vedere biologic aliajele pe bază de Mg permit desfășurarea a trei procese sincrone: osteogeneza, angiogeneza și modularea răspunsului imunitar. S-a analizat marea majoritate a tehnicilor utilizate în practică pentru producerea implantelor personalizate și s-a concluzionat că metodele de fabricație aditivă conduc la geometrii perfecte, dar necesită utilizarea unor echipamente scumpe, în timp ce alte tehnici de tipul injecției cu hidrogen sau a utilizării diferitelor șabloanelor pot conduce la abateri ale formei produsului final. S-a văzut ca necesitate de primă linie integrarea inteligenței artificiale în procesul de producție medie și mare, precum și dezvoltarea unor modele numerice pe baza cărora să se facă o analiză amănunțită a performanțelor implantelor înainte ca acestea să fie fizic implementate. Principalele observații ale acestei cercetări de literatura au fost: necesitatea achiziționării unor imagini medicale de o calitate ridicată, un nou design în care tehnicile de inteligență artificială trebuie utilizate pentru a îl adapta în raport cu anatomia pacientului, utilizarea unor acoperiri biocompatibile împreună cu o analiză atentă a proprietăților mecanice și de degradare graduală. În plus s-a văzut necesitatea dezvoltării unei noi tehnici de realizare a implantelor, care să fie ușor de implementat și să nu necesite investiții majore. Primul articol doctoral stabilește o legătură între ortopedie și știința materialelor, subliniind faptul că viitorul tratamentelor defectelor osoase constă în utilizarea de implante personalizate și biodegradabile.

În cadrul celui de-**al doilea articol doctoral** au fost comparate două aliaje binare pe bază de magneziu Mg-Nd și Mg-Zn. Principalul obiectiv al acestui studiu științific a constat în estimarea premiselor ca aceste materiale să fie folosite în ingineria tisulară. În urma analizei proprietăților de material s-a observat imediat că există un compromis între proprietăți mecanice adecvate și stabilitatea la degradare a aliajelor. Aliajul Mg-Nd prezintă o rezistență mecanică mare dar corodează mai repede comparativ cu Mg-Zn, care se caracterizează prin proprietăți mecanice mai reduse. A fost investigată și biocompatibilitatea prin studii *in vivo* și s-a concluzionat că ambele aliaje sunt adecvate fiind lipsite de reacții adverse sistemice importante, prezentând o reacție imunitară de tip corp străin redusă și urme slabe de necroza. În plus, micro-tomografia computerizată a demonstrat capacitățile regenerative ale ambelor materiale prin evidențierea apariției osului nou și evaluarea calității acestuia. Principala concluzie a fost ca aliajele pe bază de magneziu analizate sunt adecvate realizării de implante pentru utilizare în ortopedie.

Cel de-**al treilea articol doctoral** reprezintă o analiză complexă a proprietăților mecanice și de dinamica computațională a fluidelor și pune în evidență faptul că structura internă a unui implant și geometria sa sunt factori cheie în obținerea unei vindecării osoase corecte. În acest studiu au fost propuse două geometrii adecvate aplicării metodei de producere propuse în teză în vederea stabilirii celui mai bun candidat care va fi și implementat fizic. În urma analizei mecanice cu element finit s-a văzut o distribuție uniformă a tensiunilor von Misses și s-a estimat că implantul își va menține integritatea mecanică într-un mod potrivit vindecării progresive a osului. Suplimentar, studiile de mecanica fluidelor au permis calcularea tensiunilor de forfecare pe pereți și a permeabilității implantelor dovedind importanța existenței structurii de canale din interiorul acestora cu privire la asigurarea viabilității celulare. S-a stabilit că una dintre structurile dezvoltate în lucrare are proprietății mai bune cu privire la posibilitățile implantului de integrare biologică și s-a optat pentru realizarea practică a acestui model.

Tehnica inovativă de producere a implantelor pe bază de magneziu este descrisă în cel de-**al patrulea articol doctoral**. Astfel inițial s-a printat geometria selectată din articolul al treilea utilizând un polimer biocompatibil. Apoi s-au introdus prin împletire manuală fire din aliaj de titan biocompatibil, iar structura bimaterial astfel obținută a fost imersată într-un solvent dedicat. Polimerul a fost topit și structura din fire de Ti a fost introdusă împreună cu aliaj de magneziu într-un cuptor de inducție. Ulterior în etapa finală firele de Ti au fost eliminate prin utilizarea acidului fluorhidric care a condus și la apariția unei acoperiri de conversie pe bază de MgF_2 pusă în evidență prin teste de difracție cu raze X. Pentru a stabili proprietățile de suprafață s-au analizat unghiul de contact si rugozitatea. Ulterior s-au efectuat teste de imersie și de analiză a biocompatibilității. În cadrul tuturor testărilor au fost pregătite în paralele probe din implant și probe etalon din aliaj în stare turnată. În final a fost stabilit un comportament superior al eșantioanelor din implant, care a condus la concluzia că produsul dezvoltat în teza de doctorat este potrivit tratamentului defectelor osoase, recomandându-se trecerea sa spre testele pre-clinice.

În viitor este de așteptat ca această metodă de producere să fie extinsă și adaptată anatomiei pacientului pentru a fi utilizată în producția la scară industrială.

Capitolul 4 – Contribuții originale

Investigația științifică prezentată în cadrul tezei de doctorat are mai multe contribuții originale în domeniul biomaterialelor. Principalul obiectiv al tezei de doctorat a fost proiectarea, producerea și testarea unei structuri biodegradabile cu o geometrie specifică cu canale dedicată a a oferi suport unui sistem multimaterial utilizat în aplicații ortopedice specifice incluzând tratamentul defectelor osoase.

Din studiul teoretic cu peste 200 de referințe bibliografice se poate desprinde o contribuție importantă care constă în stabilirea unei sinteze care începe cu imaginile medicale personalizate ale pacientului și se finalizează cu o integrare biologică aproape perfectă a implantului. Astfel s-a văzut că mediul din vecinătatea implantului poate fi ajustat cu ajutorul compoziției chimice a implantelor, prin modularea răspunsului imun, angiogeneză și osteogeneză. În plus abordarea personalizată a fiecărui defect osos reprezintă o contribuție științifică importantă, deoarece se abate de la strategia de producție a marilor companii care produc un număr limitat de modele și mărimi pentru implante. De asemenea integrarea inteligenței artificiale reprezintă un pas major în medicina personalizată, permițând pre-testarea funcționalității implantelor.

O altă contribuție originală principală poate fi identificată din cel de-al doilea articol doctoral și constă în stabilirea axei rezistență mecanică-stabilitate aliaj. S-a văzut clar ca aliajul Mg-Nd este adecvat aplicațiilor care necesită solicitări mecanice mari. Pe de altă parte aliajul Mg-Zn este mai potrivit în tratamentul defectelor osoase care sunt caracterizate de un timp mai îndelungat de vindecare și necesită o pierdere de masă mai scăzută. O contribuție originală este dată și de biocompatibilitatea dovedită a aliajelor alese în teza de doctorat, făcându-se o recomandare de translație clinică a acestor două materiale.

Descrierea și validarea cantitativă a structurii 3D realizată prin împletirea firelor din aliaj biocompatibil de Ti6Al4V este o contribuție originală deosebită, deoarece permite adaptarea unei metode tradiționale la cerințele fabricării aditive fără însă a necesita utilizarea unor echipamente foarte scumpe sau lucru sub vid sau atmosferă inertă. O contribuție științifică importantă mai este validarea unui proces multi-fizic CAD-FEA-CFD care pune bazele testării digitale a funcționării structurilor propuse printr-un laborator virtual.

Una dintre cele mai importante contribuții originale ale tezei de doctorat este reprezentată de implementarea unei metode inovative de producere care îmbină un proces de împletire al firelor din Ti6Al4V cu unul de infiltrare al aliajului pe bază de magneziu topit. Această metodă oferă un mod de lucru mai sigur lipsit de pericolul exploziei pulberii de magneziu. Astfel pot fi eliminate și defectele de fabricație care apar în cazul metodelor de fabricare aditivă. În plus se mai poate include în lista contribuțiilor originale caracterul biomimetic al implantelor dezvoltate, care sunt caracterizate de proprietăți mecanice cu valori apropiate de cele ale osului uman. În cele din urmă mai trebuie menționată și acoperirea de conversie pe bază de MgF_2 care sporește caracterul hidrofil al suprafeței în combinație cu o valoare a rugozității acesteia favorabilă din punct de vedere biologic dezvoltării celulare.

În încheiere mai trebuie menționată și cea mai importantă contribuție originală a tezei de doctorat și anume metoda de implementare practică a implantelor. Aceasta are un grad mare de originalitate, lucru evidențiat și prin depunerea unei cereri de brevet de invenție: A/00592/04.12.2025 în luna Decembrie 2025: "*Metodă de elaborare a unui implant poros din aliaj de magneziu cu acoperire bioactivă*", autori: Vasile-Iulian Antoniac, Veronica Mănescu (Păltânea), Augustin Semenescu, Mihnea-Cosmin Costoiu, Ileana-Mariana Mateș, Ioan-Ștefan Voicu, Aurora Antoniac.

Bibliografie selectivă

1. Odén, A.; McCloskey, E.V.; Kanis, J.A.; Harvey, N.C.; Johansson, H. Burden of High Fracture Probability Worldwide: Secular Increases 2010-2040. *Osteoporos Int* **2015**, *26*, 2243–2248, doi:10.1007/s00198-015-3154-6.
2. Schemitsch, E.H. Size Matters: Defining Critical in Bone Defect Size! *Journal of Orthopaedic Trauma* **2017**, *31*, S20–S22, doi:10.1097/BOT.0000000000000978.
3. Georgeanu, V.A.; Gingu, O.; Antoniac, I.V.; Manolea, H.O. Current Options and Future Perspectives on Bone Graft and Biomaterials Substitutes for Bone Repair, from Clinical Needs to Advanced Biomaterials Research. *Applied Sciences* **2023**, *13*, 8471, doi:10.3390/app13148471.
4. Manescu (Paltanea), V.; Antoniac, I.; Antoniac, A.; Laptoiu, D.; Paltanea, G.; Ciocoiu, R.; Nemoianu, I.V.; Gruionu, L.G.; Dura, H. Bone Regeneration Induced by Patient-Adapted Mg Alloy-Based Scaffolds for Bone Defects: Present and Future Perspectives. *Biomimetics (Basel)* **2023**, *8*, 618, doi:10.3390/biomimetics8080618.
5. Yoshizawa, S.; Brown, A.; Barchowsky, A.; Sfeir, C. Magnesium Ion Stimulation of Bone Marrow Stromal Cells Enhances Osteogenic Activity, Simulating the Effect of Magnesium Alloy Degradation. *Acta Biomaterialia* **2014**, *10*, 2834–2842, doi:10.1016/j.actbio.2014.02.002.
6. Cheng, M.; Wahafu, T.; Jiang, G.; Liu, W.; Qiao, Y.; Peng, X.; Cheng, T.; Zhang, X.; He, G.; Liu, X. A Novel Open-Porous Magnesium Scaffold with Controllable Microstructures and Properties for Bone Regeneration. *Sci Rep* **2016**, *6*, 24134, doi:10.1038/srep24134.
7. Manescu (Paltanea), V.; Antoniac, A.; Moraru, M.C.; Antoniac, I.; Cotrut, C.M.; Gradinaru, S.; Dreanca, A.I.; Sevastre, B.; Pop, R.; Tabaran, F.A.; et al. Suitability of Mg-Nd and Mg-Zn Alloys to Obtain Biodegradable Structures for Bone Defects. *JFB* **2025**, *16*, 423, doi:10.3390/jfb16110423.
8. Manescu Paltanea, V.; Paltanea, G.; Antoniac, A.; Gruionu, L.G.; Robu, A.; Vasilescu, M.; Laptoiu, S.A.; Bita, A.I.; Popa, G.M.; Cocosila, A.L.; et al. Mechanical and Computational Fluid Dynamic Models for Magnesium-Based Implants. *Materials (Basel)* **2024**, *17*, 830, doi:10.3390/ma17040830.
9. Vossenberg, P.; Higuera, G.A.; van Straten, G.; van Blitterswijk, C.A.; van Boxtel, A.J.B. Darcian Permeability Constant as Indicator for Shear Stresses in Regular Scaffold Systems for Tissue Engineering. *Biomech Model Mechanobiol* **2009**, *8*, 499–507, doi:10.1007/s10237-009-0153-6.
10. Seddiqi, H.; Saatchi, A.; Amoabediny, G.; Helder, M.N.; Abbasi Ravasjani, S.; Safari Hajat Aghaei, M.; Jin, J.; Zandieh-Doulabi, B.; Klein-Nulend, J. Inlet Flow Rate of Perfusion Bioreactors Affects Fluid Flow Dynamics, but Not Oxygen Concentration in 3D-Printed Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Computational Analysis and Experimental Validation. *Computers in Biology and Medicine* **2020**, *124*, 103826, doi:10.1016/j.compbiomed.2020.103826.
11. Manescu (Paltanea), V.; Antoniac, A.; Paltanea, G.; Antoniac, I.; Páll, E.; Moraru, M.C.; Dreanca, A.I.; Sevastre, B.; Stefanoiu, R.; Ciocoiu, R.; et al. Biofunctional Testing of a Degradable Implant Made by Mg-Nd and Mg-Zn Alloys Used for Bone Defects. *Biomimetics* **2026**, *11*, 169, doi:10.3390/biomimetics11030169.
12. Drábiková, J.; Fintová, S.; Tkacz, J.; Doležal, P.; Wasserbauer, J. Unconventional Fluoride Conversion Coating Preparation and Characterization. *ACMM* **2017**, *64*, 613–619, doi:10.1108/ACMM-02-2017-1757.
13. Antoniac, I.; Miculescu, M.; Mănescu (Păltânea), V.; Stere, A.; Quan, P.H.; Păltânea, G.; Robu, A.; Earar, K. Magnesium-Based Alloys Used in Orthopedic Surgery. *Materials* **2022**, *15*, 1148, doi:10.3390/ma15031148.
14. Zhang, X.; Williams, D. *Definitions of Biomaterials for the Twenty-First Century*; 1st ed.; Elsevier, 2019; ISBN 978-0-12-818291-8.
15. Wang, W.; Cui, C.; Xia, F.; Xu, W.; Gang, T.; Chen, L. A First Principles Investigation into the Mechanical Properties and the Strengthening Mechanism of the Graphene/Aluminum Interface Structure. *Sci Rep* **2025**, *15*, 38571, doi:10.1038/s41598-025-22443-y.
16. Kelly, C.N.; Wang, T.; Crowley, J.; Wills, D.; Pelletier, M.H.; Westrick, E.R.; Adams, S.B.; Gall, K.; Walsh, W.R. High-Strength, Porous Additively Manufactured Implants with Optimized Mechanical Osseointegration. *Biomaterials* **2021**, *279*, 121206, doi:10.1016/j.biomaterials.2021.121206.
17. Takizawa, T.; Nakayama, N.; Haniu, H.; Aoki, K.; Okamoto, M.; Nomura, H.; Tanaka, M.; Sobajima, A.; Yoshida, K.; Kamanaka, T.; et al. Titanium Fiber Plates for Bone Tissue Repair. *Advanced Materials* **2018**, *30*, 1703608, doi:10.1002/adma.201703608.
18. Yang, J.; Jin, X.; Gao, H.; Zhang, D.; Chen, H.; Zhang, S.; Li, X. Additive Manufacturing of Trabecular Tantalum Scaffolds by Laser Powder Bed Fusion: Mechanical Property Evaluation and Porous Structure Characterization. *Materials Characterization* **2020**, *170*, 110694, doi:10.1016/j.matchar.2020.110694.
19. Gao, H.; Jie, Y.F.; Wang, Z.Q.; Wan, H.; Gong, L.; Lu, R.C.; Xue, Y.K.; Li, D.; Wang, H.Y.; Hao, L.N.; et al. Bioactive Tantalum Metal Prepared by Micro-Arc Oxidation and NaOH Treatment. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 1216–1224, doi:10.1039/C3TB21521K.

20. Choo, T.; Marino, V.; Bartold, P.M. Effect of PDGF-BB and Beta-Tricalcium Phosphate (β-TCP) on Bone Formation around Dental Implants: A Pilot Study in Sheep. *Clin Oral Implants Res* **2013**, *24*, 158–166, doi:10.1111/j.1600-0501.2011.02345.x.
21. Wang, X.; Luo, Y.; Yang, Y.; Zheng, B.; Yan, F.; Wei, F.; Friis, T.E.; Crawford, R.W.; Xiao, Y. Alteration of Clot Architecture Using Bone Substitute Biomaterials (Beta-Tricalcium Phosphate) Significantly Delays the Early Bone Healing Process. *J. Mater. Chem. B* **2018**, *6*, 8204–8213, doi:10.1039/C8TB01747F.
22. Seidenstuecker, M.; Lange, S.; Esslinger, S.; Latorre, S.H.; Krastev, R.; Gadow, R.; Mayr, H.O.; Bernstein, A. Inversely 3D-Printed β-TCP Scaffolds for Bone Replacement. *Materials* **2019**, *12*, 3417, doi:10.3390/ma12203417.
23. Reiter, T.; Panick, T.; Schuhladen, K.; Roether, J.A.; Hum, J.; Boccaccini, A.R. Bioactive Glass Based Scaffolds Coated with Gelatin for the Sustained Release of Icariin. *Bioactive Materials* **2019**, *4*, 1–7, doi:10.1016/j.bioactmat.2018.10.001.
24. Gunatillake, P.; Mayadunne, R.; Adhikari, R. Recent Developments in Biodegradable Synthetic Polymers. In *Biotechnology Annual Review*; El-Gewely, M.R., Ed.; Elsevier, 2006; Vol. 12, pp. 301–347.
25. Nasrin, R.; Biswas, S.; Rashid, T.U.; Afrin, S.; Jahan, R.A.; Haque, P.; Rahman, M.M. Preparation of Chitin-PLA Laminated Composite for Implantable Application. *Bioactive Materials* **2017**, *2*, 199–207, doi:10.1016/j.bioactmat.2017.09.003.
26. De Santis, R.; Guarino, V.; Ambrosio, L. Composite Biomaterials for Bone Repair. In *Bone Repair Biomaterials*; Elsevier, 2019; pp. 273–299 ISBN 978-0-08-102451-5.
27. Gloria, A.; De Santis, R.; Ambrosio, L.; Causa, F.; Tanner, K.E. A Multi-Component Fiber-Reinforced PHEMA-Based Hydrogel/HAPEX^{TM} Device for Customized Intervertebral Disc Prosthesis. *J Biomater Appl* **2011**, *25*, 795–810, doi:10.1177/0885328209360933.
28. Antoniac, I.; Manescu (Paltanea), V.; Antoniac, A.; Paltanea, G. Magnesium-Based Alloys with Adapted Interfaces for Bone Implants and Tissue Engineering. *Regenerative Biomaterials* **2023**, *10*, rbad095, doi:10.1093/rb/rbad095.
29. Liu, Y.; Zheng, Y.; Chen, X.; Yang, J.; Pan, H.; Chen, D.; Wang, L.; Zhang, J.; Zhu, D.; Wu, S.; et al. Fundamental Theory of Biodegradable Metals—Definition, Criteria, and Design. *Adv Funct Materials* **2019**, *29*, 1805402, doi:10.1002/adfm.201805402.
30. Zheng, Y.F.; Gu, X.N.; Witte, F. Biodegradable Metals. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2014**, *77*, 1–34, doi:10.1016/j.mser.2014.01.001.
31. Chen, K.; Xie, X.; Tang, H.; Sun, H.; Qin, L.; Zheng, Y.; Gu, X.; Fan, Y. *In Vitro* and *in Vivo* Degradation Behavior of Mg–2Sr–Ca and Mg–2Sr–Zn Alloys. *Bioactive Materials* **2020**, *5*, 275–285, doi:10.1016/j.bioactmat.2020.02.014.
32. Shi, Z.-Z.; Gao, X.-X.; Zhang, H.-J.; Liu, X.-F.; Li, H.-Y.; Zhou, C.; Yin, Y.-X.; Wang, L.-N. Design Biodegradable Zn Alloys: Second Phases and Their Significant Influences on Alloy Properties. *Bioactive Materials* **2020**, *5*, 210–218, doi:10.1016/j.bioactmat.2020.02.010.
33. Jin, H.; Zhao, S.; Guillory, R.; Bowen, P.K.; Yin, Z.; Griebel, A.; Schaffer, J.; Earley, E.J.; Goldman, J.; Drelich, J.W. Novel High-Strength, Low-Alloys Zn-Mg (<0.1wt% Mg) and Their Arterial Biodegradation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **2018**, *84*, 67–79, doi:10.1016/j.msec.2017.11.021.
34. Peuster, M.; Hesse, C.; Schloo, T.; Fink, C.; Beerbaum, P.; von Schnakenburg, C. Long-Term Biocompatibility of a Corrodible Peripheral Iron Stent in the Porcine Descending Aorta. *Biomaterials* **2006**, *27*, 4955–4962, doi:10.1016/j.biomaterials.2006.05.029.
35. Mueller, P.P.; May, T.; Perz, A.; Hauser, H.; Peuster, M. Control of Smooth Muscle Cell Proliferation by Ferrous Iron. *Biomaterials* **2006**, *27*, 2193–2200, doi:10.1016/j.biomaterials.2005.10.042.
36. Serruys, P.W.; Kutryk, M.J.B.; Ong, A.T.L. Coronary-Artery Stents. *N Engl J Med* **2006**, *354*, 483–495, doi:10.1056/NEJMra051091.
37. Mutar, A.A.; Kareem, A.K.; Uthirapathy, S.; Sanghvi, G.; Jabir, M.S.; Kedia, A.; Singh, S.; Kumar, A.V.; Kadhim, A.J.; Bathaei, M.S. Biodegradable Zinc-Based Alloys for Biomedical Implant Applications: A Review. *Trans Indian Inst Met* **2025**, *79*, 2, doi:10.1007/s12666-025-03717-5.
38. Kabir, H.; Munir, K.; Wen, C.; Li, Y. Recent Research and Progress of Biodegradable Zinc Alloys and Composites for Biomedical Applications: Biomechanical and Biocorrosion Perspectives. *Bioact Mater* **2020**, *6*, 836–879, doi:10.1016/j.bioactmat.2020.09.013.
39. Yang, H.; Huang, H.; Li, S.; Qin, Y.; Wen, P.; Qu, X.; Jia, B.; Zheng, Y. Biodegradable Zinc-Based Metallic Materials: Mechanisms, Properties, and Applications. *Progress in Materials Science* **2026**, *157*, 101584, doi:10.1016/j.pmatsci.2025.101584.
40. Li, G.; Yang, H.; Zheng, Y.; Chen, X.-H.; Yang, J.-A.; Zhu, D.; Ruan, L.; Takashima, K. Challenges in the Use of Zinc and Its Alloys as Biodegradable Metals: Perspective from Biomechanical Compatibility. *Acta Biomaterialia* **2019**, *97*, 23–45, doi:10.1016/j.actbio.2019.07.038.

41. Chen, K.; Gu, X.; Zheng, Y. Feasibility, Challenges and Future Prospects of Biodegradable Zinc Alloys as Orthopedic Internal Fixation Implants. *Smart Materials in Manufacturing* **2024**, *2*, 100042, doi:10.1016/j.smmf.2023.100042.
42. Antoniac, I.; Manescu (Paltanea), V.; Paltanea, G.; Antoniac, A.; Nemoianu, I.V.; Petrescu, M.I.; Dura, H.; Bodog, A.D. Additive Manufactured Magnesium-Based Scaffolds for Tissue Engineering. *Materials* **2022**, *15*, 8693, doi:10.3390/ma15238693.
43. Antoniac, I.; Manescu (Paltanea), V.; Paltanea, G.; Antoniac, A.; Fosca, M.; Laptoiu, D.; Rau, J.V. Advancements in Biomaterials and Bioactive Solutions for Lumbar Spine Fusion Cages: Current Trends and Future Perspectives. *Bioactive Materials* **2025**, *53*, 656–703, doi:10.1016/j.bioactmat.2025.07.035.
44. Ding, W. Opportunities and Challenges for the Biodegradable Magnesium Alloys as Next-Generation Biomaterials. *Regen Biomater* **2016**, *3*, 79–86, doi:10.1093/rb/rbw003.
45. Dezfuli, S.N.; Sadrnezhaad, S.K.; Shokrgozar, M.A.; Bonakdar, S. Fabrication of Biocompatible Titanium Scaffolds Using Space Holder Technique. *J Mater Sci Mater Med* **2012**, *23*, 2483–2488, doi:10.1007/s10856-012-4706-3.
46. Li, D.S.; Zhang, Y.P.; Ma, X.; Zhang, X.P. Space-Holder Engineered Porous NiTi Shape Memory Alloys with Improved Pore Characteristics and Mechanical Properties. *Journal of Alloys and Compounds* **2009**, *474*, L1–L5, doi:10.1016/j.jallcom.2008.06.043.
47. Nakajima, H. Fabrication, Properties, and Applications of Porous Metals with Directional Pores. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B* **2010**, *86*, 884–899, doi:10.2183/pjab.86.884.
48. Seyedraoufi, Z.S.; Mirdamadi, Sh. Synthesis, Microstructure and Mechanical Properties of Porous Mg□Zn Scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **2013**, *21*, 1–8, doi:10.1016/j.jmbbm.2013.01.023.
49. Geng, F.; Tan, L.; Zhang, B.; Wu, C.; He, Y.; Yang, J.; Yang, K. Study on β-TCP Coated Porous Mg as a Bone Tissue Engineering Scaffold Material. *J. Mater. Sci. Technol.* **2009**.
50. Yang, Y.; Wu, P.; Lin, X.; Liu, Y.; Bian, H.; Zhou, Y.; Gao, C.; Shuai, C. System Development, Formability Quality and Microstructure Evolution of Selective Laser-Melted Magnesium. *Virtual and Physical Prototyping* **2016**, *11*, 173–181, doi:10.1080/17452759.2016.1210522.
51. Witte, F.; Ulrich, H.; Rudert, M.; Willbold, E. Biodegradable Magnesium Scaffolds: Part 1: Appropriate Inflammatory Response. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2007**, *81A*, 748–756, doi:10.1002/jbm.a.31170.
52. Zhang, L.; Song, B.; Yang, L.; Shi, Y. Tailored Mechanical Response and Mass Transport Characteristic of Selective Laser Melted Porous Metallic Biomaterials for Bone Scaffolds. *Acta Biomater* **2020**, *112*, 298–315, doi:10.1016/j.actbio.2020.05.038.
53. Dias Corpa Tardelli, J.; Monteiro de Barros Ciribelli Alves, B.; Lima da Costa Valente, M.; Cândido dos Reis, A. Influence of the Modulus of Elasticity of Dental Implants on the Distribution of Stresses in the Alveolar Bone by the Finite Element Method: A Systematic Review. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology* **2023**, *35*, 383–389, doi:10.1016/j.ajoms.2023.02.008.
54. Schipani, R.; Nolan, D.R.; Lally, C.; Kelly, D.J. Integrating Finite Element Modelling and 3D Printing to Engineer Biomimetic Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering. *Connective Tissue Research* **2020**, *61*, 174–189, doi:10.1080/03008207.2019.1656720.
55. Gómez, S.; Vlad, M.D.; López, J.; Fernández, E. Design and Properties of 3D Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Acta Biomaterialia* **2016**, *42*, 341–350, doi:10.1016/j.actbio.2016.06.032.
56. Liu, Y.; Nelson, T.; Chakroff, J.; Cromeens, B.; Johnson, J.; Lannutti, J.; Besner, G.E. Comparison of Polyglycolic Acid, Polycaprolactone, and Collagen as Scaffolds for the Production of Tissue Engineered Intestine. *J. Biomed. Mater. Res.* **2019**, *107*, 750–760, doi:10.1002/jbm.b.34169.
57. Zhao, F.; van Rietbergen, B.; Ito, K.; Hofmann, S. Flow Rates in Perfusion Bioreactors to Maximise Mineralisation in Bone Tissue Engineering in Vitro. *Journal of Biomechanics* **2018**, *79*, 232–237, doi:10.1016/j.jbiomech.2018.08.004.
58. Polo-Corrales, L.; Latorre-Esteves, M.; Ramirez-Vick, J.E. Scaffold Design for Bone Regeneration. *J Nanosci Nanotechnol* **2014**, *14*, 15–56.
59. Franz-Odendaal, T.A.; Hall, B.K.; Witten, P.E. Buried Alive: How Osteoblasts Become Osteocytes. *Dev Dyn* **2006**, *235*, 176–190, doi:10.1002/dvdy.20603.
60. Jayakumar, P.; Di Silvio, L. Osteoblasts in Bone Tissue Engineering. *Proc Inst Mech Eng H* **2010**, *224*, 1415–1440, doi:10.1243/09544119JEIM821.
61. Ben Amara, H.; Martinez, D.C.; Iskhakova, K.; Emanuelsson, L.; Norlindh, B.; Johansson Loo, A.; Wieland, D.C.F.; Zeller-Plumhoff, B.; Willumeit-Römer, R.; Plocinski, T.; et al. Multifaceted Bone Response to Immunomodulatory Magnesium Implants: Osteopromotion at the Interface and Adipogenesis in the Bone Marrow. *Biomaterials* **2025**, *314*, 122779, doi:10.1016/j.biomaterials.2024.122779.
62. Chen, X. Magnesium-Based Implants: Beyond Fixators. *Journal of Orthopaedic Translation* **2017**, *10*, 1–4, doi:10.1016/j.jot.2016.12.001.

63. Mota-Silva, E.; Martinez, D.C.; Basta, G.; Babboni, S.; del Turco, S.; Fragnito, D.; Salvadori, S.; Kusmic, C.; Riehakainen, L.; Panetta, D.; et al. Monitoring Osseointegration and Degradation of Mg-Alloy Implants through Plasma Biomarkers of Inflammation and Bone Regeneration. *J Tissue Eng* **2025**, *16*, 20417314241290595, doi:10.1177/20417314241290595.
64. Chen, L.; Zhu, J.; Ge, N.; Liu, Y.; Yan, Z.; Liu, G.; Li, Y.; Wang, Y.; Wu, G.; Qiu, T.; et al. A Biodegradable Magnesium Alloy Promotes Subperiosteal Osteogenesis via Interleukin-10-Dependent Macrophage Immunomodulation. *Biomaterials* **2025**, *318*, 122992, doi:10.1016/j.biomaterials.2024.122992.
65. Aboutalebianaraki, N.; Neal, C.J.; Seal, S.; Razavi, M. Biodegradable Mg-Sc-Sr Alloy Improves Osteogenesis and Angiogenesis to Accelerate Bone Defect Restoration. *Journal of Functional Biomaterials* **2022**, *13*, 261, doi:10.3390/jfb13040261.
66. Wang, L.; Wang, X.; Wu, J.; Chen, J.; He, Z.; Wang, J.; Zhang, X. Magnesium Ions Induce Endothelial Cell Differentiation into Tip Cell and Enhance Vascularized Bone Regeneration. *Adv Healthc Mater* **2025**, e2500274, doi:10.1002/adhm.202500274.
67. Wang, M.; Yu, Y.; Dai, K.; Ma, Z.; Liu, Y.; Wang, J.; Liu, C. Improved Osteogenesis and Angiogenesis of Magnesium-Doped Calcium Phosphate Cement via Macrophage Immunomodulation. *Biomater. Sci.* **2016**, *4*, 1574–1583, doi:10.1039/C6BM00290K.
68. David, B.T.; Curtin, J.J.; Goldberg, D.C.; Scorpio, K.; Kandaswamy, V.; Hill, C.E. Hypoxia-Inducible Factor 1α (HIF-1α) Counteracts the Acute Death of Cells Transplanted into the Injured Spinal Cord. *eNeuro* **2020**, *7*, doi:10.1523/ENEURO.0092-19.2019.
69. Shen, L.; Li, Y.; Zhao, H. Fibroblast Growth Factor Signaling in Macrophage Polarization: Impact on Health and Diseases. *Front Immunol* **2024**, *15*, 1390453, doi:10.3389/fimmu.2024.1390453.
70. Shan, Z.; Xie, X.; Wu, X.; Zhuang, S.; Zhang, C. Development of Degradable Magnesium-Based Metal Implants and Their Function in Promoting Bone Metabolism (A Review). *Journal of Orthopaedic Translation* **2022**, *36*, 184–193, doi:10.1016/j.jot.2022.09.013.
71. Castiglioni, S.; Romeo, V.; Locatelli, L.; Cazzaniga, A.; Maier, J.A.M. TRPM7 and MagT1 in the Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells in Vitro. *Sci Rep* **2018**, *8*, 16195, doi:10.1038/s41598-018-34324-8.
72. Zhang, M.; Jia, G.; Weng, J.; Zhu, Y.; Lin, J.; Yang, Q.; Fang, C.; Zeng, H.; Yuan, G.; Yang, J.; et al. A Novel Scaffold of Icariin/Porous Magnesium Alloy-Repaired Knee Cartilage Defect in Rat by Wnt/β-Catenin Signaling Pathway. *ACS Biomater Sci Eng* **2024**, *10*, 5796–5806, doi:10.1021/acsbiomaterials.4c00713.
73. Huang, J.; Wu, J.; Liu, D.; Gao, P. Advances in Magnesium Metal and Its Alloys for Promoting Angiogenesis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **2025**, *113*, e35671, doi:10.1002/jbm.b.35671.
74. Nie, X.; Sun, X.; Wang, C.; Yang, J. Effect of Magnesium Ions/Type I Collagen Promote the Biological Behavior of Osteoblasts and Its Mechanism. *Regen Biomater* **2020**, *7*, 53–61, doi:10.1093/rb/rbz033.
75. Zhu, W.; Wang, W.; Yang, X.; Ran, C.; Zhang, T.; Huang, S.; Yang, J.; Wang, F.; Wang, H.; Wan, P.; et al. Research Progress on Osteoclast Regulation by Biodegradable Magnesium and Its Mechanism. *Regen Biomater* **2025**, *12*, rbaf026, doi:10.1093/rb/rbaf026.
76. Cascella, M.; Vaqar, S. Hypermagnesemia. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2025.
77. Aikin, M.; Shalomeev, V.; Kukhar, V.; Kostryzhev, A.; Kuziev, I.; Kulynych, V.; Dykha, O.; Dytyniuk, V.; Shapoval, O.; Zagorskis, A.; et al. Recent Advances in Biodegradable Magnesium Alloys for Medical Implants: Evolution, Innovations, and Clinical Translation. *Crystals* **2025**, *15*, 671, doi:10.3390/cryst15080671.
78. Kruse, C.R.; Singh, M.; Targosinski, S.; Sinha, I.; Sørensen, J.A.; Eriksson, E.; Nuutila, K. The Effect of pH on Cell Viability, Cell Migration, Cell Proliferation, Wound Closure, and Wound Reepithelialization: In Vitro and in Vivo Study. *Wound Repair Regen* **2017**, *25*, 260–269, doi:10.1111/wrr.12526.
79. Schmid, J.; Schwarz, S.; Meier-Staude, R.; Sudhop, S.; Clausen-Schaumann, H.; Schieker, M.; Huber, R. A Perfusion Bioreactor System for Cell Seeding and Oxygen-Controlled Cultivation of Three-Dimensional Cell Cultures. *Tissue Eng Part C Methods* **2018**, *24*, 585–595, doi:10.1089/ten.tec.2018.0204.
80. Zhang, B.; Ran, Q.; Dai, G.; Ye, Q.; Zhao, L.; Tan, W.-S. Comparison of Perfusion Culture Performance in Orbitally Shaken Bioreactors and Stirred Tank Bioreactors: A Spatiotemporal Dynamic Analysis of Shear Stress and Mass Transfer Based on Suspension Rheology. *Processes* **2025**, *13*, 955, doi:10.3390/pr13040955.
81. Zhang, X.-Y.; Fang, G.; Zhou, J. Additively Manufactured Scaffolds for Bone Tissue Engineering and the Prediction of Their Mechanical Behavior: A Review. *Materials (Basel)* **2017**, *10*, 50, doi:10.3390/ma10010050.