



# Gli scaffold in medicina rigenerativa

Giovanni Felice Trinchese<sup>a</sup> (✉), Emanuele Calabrese, Giampiero Calabrò, Francesco Lisanti  
 Unità Operativa Complessa di Ortopedia e Traumatologia, Ospedale “San Francesco D’Assisi”, Oliveto Citra (SA),  
 Italia  
<sup>a</sup>[giovtrin@libero.it](mailto:giovtrin@libero.it)

## ABSTRACT – SCAFFOLDS IN REGENERATIVE MEDICINE

*Scaffolds are artificial structures capable of supporting the formation of three-dimensional tissue. Their use in the orthopaedic field appears to be a powerful weapon for treating numerous diseases. Unfortunately, despite great efforts in the realisation of the ideal scaffold, their use in clinical practice is still limited due to the many characteristics that it must possess. The purpose of this review was to provide a critical perspective of scaffolds in the orthopaedic field, highlighting their main characteristics and the methods for their production.*

Publicato online: 12 settembre 2019

© Società Italiana Ortopedici Traumatologi Ospedalieri d’Italia 2019

## Introduzione

Negli ultimi decenni, l’ingegneria tissutale e la medicina rigenerativa hanno dedicato grandi sforzi al campo della ricostruzione ossea. Si stima, infatti, che ogni anno nel mondo vengano impiantati circa 2,2 milioni di scaffold in ambito ortopedico [1, 2].

Lo sviluppo di strutture ingegnerizzate attraverso la combinazione di scaffold con cellule staminali o fattori di crescita sembra essere una potente arma utilizzabile per contrastare patologie muscoloscheletriche come fratture, lombalgie, scoliosi, osteoporosi, osteoartrite, infezioni o tumori ossei, difetti congeniti, nonché malattie reumatiche [3].

I biomateriali sono matrici che forniscono un ambiente e un’architettura specifici per la crescita e lo sviluppo dell’osso. Un chiaro esempio di ciò sono gli scaffold, che possono essere descritti come strutture artificiali in grado di supportare la formazione del tessuto tridimensionale (3D) [4].

Gli scaffold stimolano la formazione di tessuto attraverso diversi meccanismi. Possono fungere da matrici acellulari che viene colonizzato dalle cellule del tessuto in cui viene impiantato o, in alternativa, possono essere combinati con cellule staminali in grado di differenziarsi verso la linea osteogenica [5]. Nel dettaglio, la colonia cellulare che si colloca nello scaffold può essere espansa prima dell’impianto come nel caso di cellule staminali adulte (derivate da midollo osseo, tessuto adiposo, cellule staminali o sangue periferico), cellule staminali embrionali e cellule staminali pluripotenti geneticamente modificate. In alternativa, la colonia può essere costituita da cellule non espanse come, ad esem-

pio, il concentrato di aspirato di midollo osseo integrato con plasma arricchito di piastrine (PRP).

Un’altra possibilità è l’uso di scaffold caricato con molecole solubili come antibiotici, agenti chemioterapici o fattori di crescita che attraverso lo scaffold vengono veicolati nell’ambiente esercitando il loro effetto terapeutico/rigenerativo.

Nonostante i grandi sforzi in ambito di ricerca per la realizzazione dello scaffold ideale, il loro utilizzo è ancora limitato nella pratica clinica.

Lo scopo di questa review è dare una descrizione panoramica degli scaffold in ambito ortopedico, evidenziando quali sono le loro principali caratteristiche e i metodi per la loro produzione.

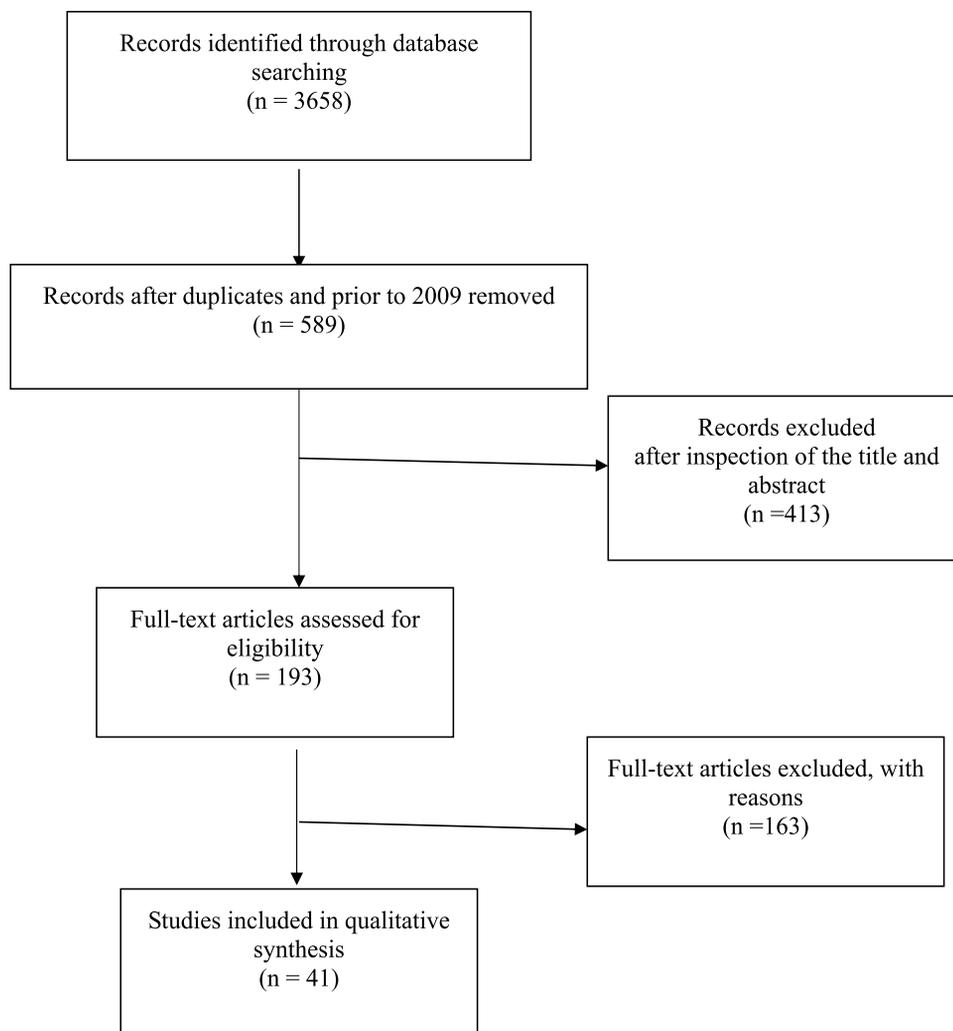
## Materiali e metodi

La raccolta di dati per questa review è stata organizzata secondo il protocollo Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Fig. 1).

È stata svolta una ricerca sistematica della letteratura (fino a maggio 2019) sui database di PubMed e Google Scholar per evidenziare gli articoli che valutano l’uso degli scaffold nella medicina rigenerativa ortopedica, senza restrizioni di lingua. Nella ricerca abbiamo usato combinazioni dei seguenti termini chiave: “bone tissue engineering”, “biomimetic scaffolds”, “regenerative medicine”, “3D printing”. Abbiamo successivamente escluso i case report, editoriali, note tecniche, abstract, presentazioni di conferenze, editoriali e tutti gli articoli antecedenti al 2009.

La ricerca bibliografica iniziale ha identificato 3658 citazioni potenzialmente rilevanti. Dopo la rimozione dei du-

Fig. 1 - Tabella raccolta dati



plicati e degli articoli non focalizzati sull'ambito ortopedico, i restanti 589 sono stati selezionati per la valutazione completa.

Con la prima ispezione del titolo e abstract, 413 articoli sono stati esclusi. Un ulteriore screening di tutto il testo ha escluso altri 383 articoli perché non focalizzati sulle caratteristiche e metodi di produzione. Alla fine, 41 articoli sono stati inclusi nella presente review.

## Risultati

### *Caratteristiche degli scaffolds*

La prima caratteristica che uno scaffold deve possedere per poter pensare a una sua applicazione in ambito clinico è di essere biologicamente valido. Inoltre, deve essere non tossico e, in particolare, biocompatibile; le cellule con cui interagisce devono essere capaci di aderire, proliferare, dif-

ferenziarsi e produrre, quindi, la nuova matrice desiderata [5-7].

Deve, inoltre, essere bioassorbibile e degradabile, in modo da lasciar posto al nuovo tessuto senza interferire o, soprattutto, causare reazioni da corpo estraneo attivando il sistema immunitario [8]. La variazione della sua composizione dal punto di vista meccanico non deve inficiare il tessuto in via di rigenerazione durante il suo processo di riassorbimento e degradazione, dal momento che il carico verrà gradualmente trasmesso al nuovo tessuto [9].

Un altro aspetto molto importante dal punto di vista biologico è la capacità di interagire con i tessuti circostanti. I biomateriali passivi comunemente utilizzati mostrano una bassa capacità di interagire con il microambiente. Gli scaffold bioattivi, invece, sono progettati per promuovere la corretta migrazione e differenziazione cellulare, la neoformazione tissutale e la totale integrazione nel tessuto in cui sono impiantati [10].

Negli ultimi anni è stata posta grande attenzione nello sviluppo di biomateriali intelligenti, ossia osteoinduttivi, che sembravano essere una grande promessa nel mondo della medicina rigenerativa [11]. Questi scaffold sono in grado di istruire il microambiente circostante per la formazione ectopica dell'osso. Nonostante il meccanismo biologico alla base di questo fenomeno non sia ancora stato completamente chiarito, sono state proposte due teorie. La prima si basa sulla capacità della superficie dello scaffold di assorbire e presentare fattori osteoinduttivi alle cellule circostanti. La seconda, invece, prevede che le cellule staminali si differenzino nel fenotipo osseo quando sottoposte a ioni di calcio e fosfato che vengono liberati dallo scaffold [12, 13]. I progressi tecnologici permettono la produzione di biomateriali consentendo di produrre una struttura tridimensionale in grado di mimare le caratteristiche meccaniche, induttive e conduttive dell'osso [14]. È molto importante considerare le caratteristiche ideali degli scaffold dal punto di vista macro- e micro-strutturale. L'osso ha, infatti, una struttura stratificata non omogenea ed è quindi importante che gli scaffold siano in grado di imitare questa caratteristica, specialmente nel caso in cui debbano essere impiantati in interfacce complesse come quella osteocondrale [15, 16]. Anche la microarchitettura ha un ruolo fondamentale. Gli scaffold dovrebbero essere prodotti in modo da avere un'alta porosità che permetta la migrazione cellulare, la diffusione di nutrienti e la neoangiogenesi al loro interno [8]. Inoltre, la struttura influenza le caratteristiche meccaniche degli scaffold, come l'elasticità, la capacità di allungamento, la resistenza al carico. Queste devono essere modulate in base al sito di impianto in modo da ridurre al minimo il rischio di osteopenia e successive fratture [1, 5, 6].

### **Composizione**

La maggior parte degli scaffold attualmente utilizzati sono polimeri, ceramici e ibridi (compositi) e possono essere iniettabili o rigidi da impiantare direttamente nel sito desiderato [17].

I polimeri possono essere naturali o sintetici. I naturali, derivanti da fibrina, acido ialuronico e collagene mostrano una buona biocompatibilità, osteoconduttività e bassa immunogenicità [18]. Tuttavia, sono difficilmente degradabili e offrono poca stabilità dal punto di vista meccanico.

I polimeri sintetici, come polianidridi, polipropilene fumarato (PPF), policaprolattone (PCL) polifosfazene, acido polilattico (PLA), polietere etere chetone (PEEK) e acido poliglicolico o poliglicolide (PGA) presentano diversi vantaggi, sono facilmente degradabili e offrono migliori proprietà meccaniche e possono essere caricati negativamente favorendo l'attaccamento cellulare.

Inoltre, questi polimeri hanno un costo più ridotto e una maggiore durata. Tuttavia, hanno una minore capacità di

interazione con le cellule rispetto ai polimeri naturali che possiedono migliori proprietà biologiche [19].

Anche gli scaffold di derivazione ceramica possono essere di origine naturale o sintetica. Questi presentano una struttura molto simile all'osso mostrando grande resistenza alla compressione e deformazione e una scarsa duttilità, ma, allo stesso tempo, sono fragili [20].

Il terzo tipo di scaffold è rappresentato dai compositi, che sono una combinazione di più materiali: copolimeri, miscele polimero-polimero o compositi polimerici-ceramici [17, 19].

I copolimeri derivano da più specie monomeriche come, ad esempio, l'acido polilattico-glicolico (PLGA) sintetizzato mediante co-polimerizzazione per apertura d'anello di due differenti monomeri, i dimeri ciclici (1,4-diossano-2,5-dioni) dell'acido glicolico e dell'acido lattico. Il PLGA è un eccellente candidato per diverse applicazioni biomediche, grazie alla sua alta biodegradabilità e facilità di fabbricazione. Lo svantaggio del PLGA è che la sua degradazione può rilasciare prodotti acidi che potrebbero indurre necrosi tissutale e portare a fallimento dell'impianto.

I compositi polimero-polimero sono miscele di due polimeri, come polifosfazeni-PLGA; questi, a differenza del PLGA, durante la loro degradazione non rilasciano polifosfazeni che sono di natura neutra o basica [17, 21].

### **Tecnologie di produzione degli scaffold**

I metodi utilizzati per la fabbricazione degli scaffold possono essere divisi in due principali categorie, convenzionali e a prototipizzazione rapida (RP) [22]. Le tecniche convenzionali usano metodi di sottrazione in cui viene rimosso materiale dal prodotto di partenza fino a ottenere la conformazione desiderata. Il principale svantaggio di questi metodi è che hanno una limitata capacità di controllare la forma degli scaffold o di regolarne l'architettura interna non riuscendo a ottenere dei prodotti con buona porosità [23]. Inoltre, l'uso di solventi organici nel processo di produzione può compromettere la vitalità e le funzioni cellulari [22].

Le tecniche RP, nate con l'intento di superare le limitazioni dei metodi convenzionali, sono processi di fabbricazione additiva, in modo da ottenere l'oggetto 3D tramite la deposizione di strati sovrapposti. I materiali utilizzati possono essere liquidi, solidi e polveri. In generale, queste tecniche non utilizzano solventi organici tossici, consentendo un significativo miglioramento della biocompatibilità dello scaffold [24]. Un importante vantaggio delle tecniche RP è che consentono un preciso controllo della porosità e delle caratteristiche meccaniche e cliniche, in modo da riuscire a mimare le caratteristiche del tessuto osseo. Inoltre, permettono di progettare scaffold composti da più materiali e di regolarne l'interfaccia.

Vengono prodotti con tecnica computer assistita, in modo da ottenere un prodotto su misura per il paziente. Parten-

do, infatti, dalle immagini acquisite dal paziente con tecniche non invasive come la risonanza magnetica (MRI) e la tomografia computerizzata (CT) è possibile ottenere scaffold di forma e caratteristiche desiderate [25].

### **Tecniche convenzionali**

#### *Freeze drying*

Nel processo di liofilizzazione, la soluzione contenente il polimero viene raffreddata al di sotto del suo punto di congelamento, facendo solidificare il solvente. Successivamente, il solvente viene fatto evaporare tramite sublimazione, ottenendo quindi lo scaffold.

Evitando le alte temperature, questa tecnica permette di conservare attività di fattori biologici incorporati nello scaffold durante il processo di produzione. Anche in questo caso, la dimensione dei pori può essere facilmente controllata. Gli svantaggi di questa tecnica sono i lunghi tempi lunghi di produzione, alto consumo di energia e l'uso di solventi citotossici [17, 21, 23].

#### *Gas foaming*

La tecnica del gas foaming prevede l'utilizzo di gas ad alta pressione, come CO<sub>2</sub>, per la realizzazione di spugne macroporose, non ricorrendo all'uso di solventi organici, i cui residui andrebbero comunque eliminati prima dell'utilizzo degli scaffold in campo biomedico.

Questa tecnica porta alla produzione di strutture spugnose con dei pori di circa 30–700 µm e una porosità fino all'85% [22]. Gli svantaggi di questo metodo di produzione includono l'uso eccessivo di calore, e la limitazione della colonizzazione cellulare, in quanto i pori non sono interconnessi tra loro e la superficie esterna dello scaffold non è porosa.

#### *Thermally induced phase separation (TIPS)*

Questa tecnica si basa sul principio fisico per il quale un sistema multicomponente omogeneo può diventare termodinamicamente instabile e liberare, in ordine dalla minore alla maggiore, energia libera. Quest'ultima è utilizzata poi per formare i pori sullo scaffold.

In uno studio, Qiu e collaboratori [26] hanno utilizzato questa tecnica per produrre uno scaffold PLA/PCL che è stato poi caricato mediante elettroforesi con particelle di silice mesoporosa amminata contenenti desametasone. Risultati *in vitro* hanno dimostrato che le cellule staminali mesenchimali coltivate su questo particolare scaffold mostravano un alto grado di differenziazione osteogenica in termini di attività della fosfatasi alcalina, formazione di matrice mineralizzata e espressione dell'osteocalcina. Inoltre, *in vivo* nei ratti Sprague-Dawley, questi scaffold hanno dimostrato un'induzione significativa di guarigione dei difetti [26].

#### *Solvent Casting con particolari lisciviazioni (Leaching)*

La lisciviazione è un processo chimico attraverso il quale si separano dei componenti solubili da un solido attraverso dei solventi. Questa tecnica prevede l'aggiunta di sali a una soluzione polimerica e il successivo allontanamento del solvente mediante evaporazione. Questa tecnica è relativamente facile da eseguire e i costi sono moderati. Il principale vantaggio nell'utilizzo di questa tecnica per la produzione è che permette di modulare il numero e la grandezza dei pori dello scaffold, in modo da mimare al meglio la struttura ossea [22, 23]. Lo svantaggio di questa tecnica è che può solo creare scaffold di forme semplici come lamine o tubi e che i residui di solvente potrebbero essere dannosi per le cellule [27, 28].

#### *Electrospinning*

L'elettrospinning permette la realizzazione di fibre con un diametro variabile fino al range nanometrico, sfruttando forze di natura elettrostatica generate da un'elevata differenza di potenziale tra due elettrodi [17, 23]. Questa tecnica permette la produzione di scaffold di variabile morfologia e porosità. Un'altra importante caratteristica di questa tecnica è che permette l'incorporazione di specie bioattive nelle nanofibre prodotte.

Li e colleghi [29] hanno sviluppato con questa metodica uno scaffold che consentisse il rilascio controllato di proteina morfogenetica dell'osso-2 (BMP-2), fattore osteoinduttivo in grado di stimolare il differenziamento delle MSC verso il fenotipo osteogenico. Questo scaffold, in particolare, ha dimostrato, *in vitro*, un'eccellente capacità di differenziazione osteogenica e, *in vivo*, di colmare difetti ossei nei ratti. Lo svantaggio dell'elettrospinning è l'uso di solventi organici durante il processo di produzione.

### **Tecniche di prototipizzazione rapida**

#### *Fused deposition modeling*

Utilizzando un ugello mobile, vengono rilasciate delle fibre polimeriche strato dopo strato, fino alla realizzazione dell'intero scaffold.

La porosità può variare tra il 48 e il 77%, in dipendenza del diametro della punta dell'ugello, e permette la produzione di materiali dotati di buona resistenza meccanica. Questa tecnica presenta il vantaggio di non utilizzare solventi organici tossici.

Tuttavia, le elevate temperature raggiunte nel processo di produzione (120 °C) impediscono l'incorporazione di molecole biologiche.

#### *Stereolithography*

Il processo coinvolge la polimerizzazione selettiva di un monomero liquido da un fascio di raggi ultravioletti. Il fascio UV è guidato lungo i raggi x e y sulla superficie del monomero liquido, in accordo con i dati forniti dal sistema computerizzato [30].

Castro e collaboratori [31] hanno prodotto con questa tecnica uno scaffold osteoconduttivo a base di idrossiapatite; i risultati del loro studio hanno dimostrato *in vitro* l'adesione delle MSC umane e la successiva proliferazione e differenziazione osteocondrale. Tuttavia, anche questa tecnica presenta degli svantaggi: irritazione cutanea e citotossicità causata dalle resine foto-sensibili utilizzate nel processo di produzione dei biomateriali sembrano essere un grosso problema; per questo motivo, si ricorre sempre più spesso a resine alternative a base di esteri vinilici che possiedono una migliore biocompatibilità in vivo [32].

### Bioprinting

Questa tecnologia, sicuramente tra le più innovative nel capo dell'ingegneria tissutale ossea, è in grado di superare la maggior parte delle difficoltà incontrate dai metodi di produzione tradizionale. Sembra essere una promettente soluzione anche per il riparo delle lesioni in situ [33].

Nel bioprinting, piccole unità di biomateriali e cellule vengono depositate in successione per produrre tessuti biologici [34]. La micrometrica accuratezza della stampa permette di regolare la distribuzione cellulare anche a temperatura ambiente [35].

Nonostante i grandi presupposti, gli scaffold prodotti con bioprinting presentano alcuni svantaggi; sono, infatti, scarsamente vascolarizzati, non vengono perfettamente osteointegrati e non sopportano bene il carico [36, 37].

Questa metodica di produzione utilizza fondamentalmente idrogel [38]. Le tecnologie di bioprinting più utilizzate sono la stampa a getto, l'estrusione e il laser. La stampa a getto, senza utilizzare un contatto diretto, dirige il bio-inchiostro su un substrato per produrre strutture 2D e 3D. Questa metodica presenta numerosi vantaggi, bassi costi, alta velocità di stampa e di produrre scaffold ad alta vitalità cellulare. Gli svantaggi sono rappresentati da un ristretto numero di materiali utilizzabili per la stampa e il frequente intasamento delle testine di stampa.

Con questa tecnica, il gruppo di Gao ha prodotto uno scaffold di idrogel in PEG acrilato contenente MSC umane derivate da midollo osseo; i risultati di questo studio hanno mostrato un'eccellente biocompatibilità e un'alta cellularità, garantendo al biotessuto un'ottima deposizione di sali minerali e matrice cartilaginea, nonché proprietà meccaniche compatibili all'interfaccia articolare [39].

La stampa a estrusione utilizza un microiniettore, spinto da un pistone o da pressione pneumatica, deposita filamenti continui di cellule miscelate a idrogel. La maggior parte dei bioprinter esistenti in commercio sfruttano questa tecnologia.

Questo tipo di stampa permette l'uso di una più vasta gamma di biomateriali come bio-inchiostri ad alta viscosità, l'uso di polimeri sintetici e la produzione di scaffold ad alta vitalità cellulare.

In letteratura esistono già studi in vivo che dimostrano i buoni risultati ottenuti con la stampa a estrusione per ottenere uno scaffold eterogeneo da impiantare nell'interfaccia osteocondrale [40].

Il bioprinting a laser utilizza l'energia di un laser pulsato per trasferire i materiali su un substrato ricevente [35]. Con questa tecnica è possibile utilizzare materiali possedenti un vasto range di viscosità (1–300 mPa/s). Sebbene questa tecnica sia in grado di produrre dei modelli con risoluzione superiore rispetto alle altre, presenta lo svantaggio di produrre degli scaffold con una più bassa percentuale di vitalità cellulare in confronto al bioprinting a getto [41].

### Conclusioni

Nonostante i numerosi passi in avanti compiuti nel campo dell'ingegneria tissutale ortopedica, ci sono ancora sfide da affrontare che ostacolano i progressi verso l'applicazione clinica. Punti chiave per poter sfruttare al massimo il vasto potenziale degli scaffold sono sicuramente la scelta appropriata dei materiali e dei metodi di produzione, in modo da minimizzare i residui tossici che spesso esitano dal loro processo di fabbricazione e abbattere i costi. Inoltre, sarà importante continuare la sperimentazione in vitro e in vivo in modo da ottenere dei prodotti sempre più malleabili non solo dal punto di vista macroscopico per riempire o sostituire difetti ossei, ma anche dal punto di vista microscopico in modo da avere migliori capacità osteoconduttive, osteoinduttive, e meccaniche. Un'ulteriore sfida è la configurazione biologica in modo da poter regolare l'assorbimento proteico, l'adesione cellulare, la differenziazione e proliferazione. Un altro punto chiave è la significativa difficoltà dei processi di produzione che spesso utilizzano strumentari sofisticati e materiali costosi e, quindi, anche se diversi studi stanno dimostrando la loro efficacia, l'uso di scaffold tecnologicamente avanzati sarà probabilmente limitato a strutture iperspecializzate prima di diventare di comune uso.

Ad oggi, i risultati più incoraggianti nell'uso di queste tecnologie sono riscontrati nei piccoli difetti, e sicuramente è necessario un follow-up a lungo termine.

Non è facile prevedere gli sviluppi futuri di un campo dinamico come l'ingegneria tissutale. Un ruolo chiave per il successo di queste tecnologie sarà giocato dai chirurghi, che conoscono le caratteristiche del paziente, della condizione da trattare e i risultati desiderati. Gli scaffold, in un futuro non troppo lontano, potrebbero contribuire alla terapia di grandi patologie ortopediche come la riparazione dei grandi difetti ossei o la rigenerazione dell'interfaccia osteocondrale.

**CONFLITTO DI INTERESSE** Gli autori Giovanni Felice Trinchese, Emanuele Calabrese, Giampiero Calabrò e Francesco Lisanti dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.

**CONSENSO INFORMATO E CONFORMITÀ AGLI STANDARD ETICI** Tutte le procedure descritte nello studio e che hanno coinvolto esseri umani sono state attuate in conformità alle norme etiche stabilite dalla dichiarazione di Helsinki del 1975 e successive modifiche. Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i pazienti inclusi nello studio.

**HUMAN AND ANIMAL RIGHTS** L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.

## Bibliografia

1. Henkel J, Woodruff MA, Epari DR et al (2013) Bone regeneration based on tissue engineering conceptions—a 21st century perspective. *Bone Res* 1(3):216–248
2. Fu Q, Saiz E, Rahaman MN, Tomsia AP (2011) Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 31(7):1245–1256
3. Agarwal R, Garcia AJ (2015) Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. *Adv Drug Deliv Rev* 94:53–62
4. Navarro M, Michiardi A, Castaño O, Planell JA (2008) Biomaterials in orthopaedics. *J R Soc Interface* 5(27):1137–1158
5. Bouet G, Marchat D, Cruel M et al (2015) In vitro three-dimensional bone tissue models: from cells to controlled and dynamic environment. *Tissue Eng, Part B, Rev* 21(1):133–156
6. Kumbar S, Laurencin C, Deng M (eds) (2014) *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*. Elsevier, Amsterdam
7. Dias MR, Guedes JM, Flanagan CL et al (2014) Optimization of scaffold design for bone tissue engineering: a computational and experimental study. *Med Eng Phys* 36(4):448–457
8. Amini AR, Laurencin CT, Nukavarapu SP (2012) Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Crit Rev Biomed Eng* 40(5):363–408
9. O'Brien FJ (2011) Biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Mater Today* 14(3):88–95
10. Hofmann S, Garcia-Fuentes M (2011) Bioactive scaffolds for the controlled formation of complex skeletal tissues, regenerative medicine and tissue engineering—cells and Biomaterials. In: *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/22061>
11. Blokhuis TJ, Arts JJ (2011) Bioactive and osteoinductive bone graft substitutes: definitions, facts and myths. *Injury* 42(Suppl 2):S26–29
12. Barradas AM, Yuan H, van Blitterswijk CA, Habibovic P (2011) Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. *Eur Cells Mater* 21:407–429
13. Motamedian SR, Hosseinpour S, Ahsaie MG, Khojasteh A (2015) Smart scaffolds in bone tissue engineering: a systematic review of literature. *World J Stem Cells* 7(3):657–668
14. Yuan N, Rezzadeh KS, Lee JC (2015) Biomimetic scaffolds for osteogenesis. *Recept Clin Investig* 2(3):898
15. Atesok K, Doral MN, Karlsson J et al (2016) Multilayer scaffolds in orthopaedic tissue engineering. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 24(7):2365–2373
16. Grigolo B, Cavallo C, Desando G et al (2015) Novel nanocomposite biomimetic biomaterial allows chondrogenic and osteogenic differentiation of bone marrow concentrate derived cells. *J Mater Sci, Mater Med* 26(4):173
17. Pignatello R (ed) *Advances in biomaterials science and biomedical applications*. BoD—Books on Demand
18. Stratton S, Shelke NB, Hoshino K et al (2016) Bioactive polymeric scaffolds for tissue engineering. *Bioact Mater* 1(2):93–108
19. Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar DS (2011) Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review. *Int J Polym Sci* 2011:290602
20. Gao C, Deng Y, Feng P et al (2014) Current progress in bioactive ceramic scaffolds for bone repair and regeneration. *Int J Mol Sci* 15(3):4714–4732
21. Matassi F, Nistri L, Chicon Paez D, Innocenti M (2011) New biomaterials for bone regeneration. *Clin Cases Miner Bone Metab* 8(1):21–24
22. Thavornnyutikarn B, Chantarapanich N, Siththiseripratip K et al (2014) Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques. *Prog Biomater* 3:61–102
23. Bajaj P, Schweller RM, Khademhosseini A et al (2014) 3D biofabrication strategies for tissue engineering and regenerative medicine. *Annu Rev Biomed Eng* 16:247–276
24. Torabi K, Farjood E, Hamedani S (2015) Rapid prototyping technologies and their applications in prosthodontics, a review of literature. *J Dent Shiraz Iran* 16(1):1–9
25. Sah MK, Sadanand J, Pramanik K (2012) Computational approaches in tissue engineering. *Int J Comput Appl* 975:8887
26. Qiu K, Chen B, Nie W et al (2016) Electrophoretic deposition of dexamethasone-loaded mesoporous silica nanoparticles onto poly(L-lactic acid)/poly( $\epsilon$ -caprolactone) composite scaffold for bone tissue engineering. *ACS Appl Mater Interfaces* 8(6):4137–4148
27. Subia B, Kundu J, Kundu SC (2010) Biomaterial scaffold fabrication techniques for potential tissue engineering applications. *Tissue engineering*. In: *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/8581>
28. Aboudzadeh N, Imani M, Shokrgozar MA et al (2010) Fabrication and characterization of poly(D,L-lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds for bone tissue regeneration. *J Biomed Mater Res, Part A* 94(1):137–145
29. Li L, Zhou G, Wang Y et al (2015) Controlled dual delivery of BMP-2 and dexamethasone by nanoparticle-embedded electrospun nanofibers for the efficient repair of critical-sized rat calvarial defect. *Biomaterials* 37:218–229
30. Schubert C, Van Langeveld MC, Donoso LA (2014) Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs. *Br J Ophthalmol* 98(2):159–161
31. Castro NJ, O'Brien J, Zhang LG (2015) Integrating biologically inspired nanomaterials and table-top stereolithography for 3D printed biomimetic osteochondral scaffolds. *Nanoscale* 7(33):14010–14022
32. Heller C, Schwentenwein M, Russmueller G et al (2009) Vinyl esters: low cytotoxicity monomers for the fabrication of biocompatible 3D scaffolds by lithography based additive manufacturing. *J Polym Sci, Part A* 47(24):6941–6954
33. Li L, Yu F, Shen S et al (2017) In situ repair of bone and cartilage defects using 3D scanning and 3D printing. *Sci Rep* 7(1):9416
34. Leberfinger AN, Ravnic DJ, Dhawan A, Ozbolat IT (2017) Concise review: bioprinting of stem cells for transplantable tissue fabrication. *Stem Cells Transl Med* 6(10):1940–1948
35. Mandrycky C, Wang Z, Kim K, Kim D-H (2016) 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnol Adv* 34(4):422–434
36. Liu Y, Lim J, Teoh S-H (2013) Review: development of clinically relevant scaffolds for vascularised bone tissue engineering. *Biotechnol Adv* 31(5):688–705
37. Paul A, Manoharan V, Krafft D et al (2016) Nanoengineered biomimetic hydrogels for guiding human stem cell osteogenesis in three dimensional microenvironments. *J Mater Chem B* 4(20):3544–3554

38. Sawkins MJ, Mistry P, Brown BN et al (2015) Cell and protein compatible 3D bioprinting of mechanically strong constructs for bone repair. *Biofabrication* 7(3):035004
39. Gao G, Yonezawa T, Hubbell K et al (2015) Inkjet-bioprinted acrylated peptides and PEG hydrogel with human mesenchymal stem cells promote robust bone and cartilage formation with minimal printhead clogging. *Biotechnol J* 10(10):1568–1577
40. Fedorovich NE, Schuurman W, Wijnberg HM et al (2012) Biofabrication of osteochondral tissue equivalents by printing topologically defined, cell-laden hydrogel scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods* 18(1):33–44
41. Oliveira H, Dusserre N, Hakobyan D, Fricain J-C (2018) Laser-assisted bioprinting: a novel approach for bone regeneration applications. *Med Sci MS* 34(2):125–128