

DISEÑO DE ESTRUCTURAS POROSAS PARA REGENERACIÓN ÓSEA A PARTIR DE UN MODELO DE APRENDIZAJE INTELIGENTE Y SIMULACIÓN MECÁNICA COMPUTACIONAL

Design of Porous Structures for Bone Regeneration Using a Machine Learning Model & Computational Mechanical Simulation

Facundo A. Pedemonte^a, Miguel Cavaliere^a y Valeria E. Bosio^{b,c(*)}

^a Facultad de Ingeniería, Universidad Austral, Pilar, Buenos Aires, Argentina, facundopedemonte@gmail.com

^b BIOMIT Lab, Instituto de Física La Plata (CONICET, UNLP) La Plata, Buenos Aires, Argentina

^c Department of Biomedical Engineering, Tufts University, Medford, MA, US (*) vbosio@gmail.com

Palabras clave: Implantes óseos, estructuras porosas, regeneración ósea, impresión 3D, aprendizaje inteligente, simulación mecánica computacional.

Resumen. La incorporación de la impresión 3D en los procesos de manufactura, ha revolucionado la medicina regenerativa en traumatología (MRT) al permitir la fabricación de implantes con estructuras porosas para promover la regeneración ósea (RO). Se han identificado dos características clave de estas estructuras: excelentes propiedades mecánicas y biocompatibilidad. Sin embargo, se han reportado resultados diversos a partir de la evaluación de variantes geométricas respecto a las características morfológicas óptimas para estimular la RO. Este trabajo propone una metodología novedosa para diseñar implantes óseos con estructuras optimizadas, mediante Aprendizaje Inteligente y Simulación Mecánica Computacional. A partir de una búsqueda bibliográfica se creó una base de datos estructuras porosas 3D con potencial comprobado para estimular la RO, a partir de la cual se entrenó un Modelo Estadístico de Forma para generar una librería de estructuras nuevas. Éstas se evaluaron mediante SMC, utilizando el Método de los Elementos Finitos y se seleccionaron las geometrías con mejor rendimiento mecánico para una posible respuesta biológica. Las estructuras optimizadas obtenidas abren un camino hacia la validación in vivo para la promoción de la RO, con potencial impacto en la MRT.

Keywords: Bone implants, porous structures, bone regeneration, 3D printing, machine learning, computational mechanical simulation.

Abstract. Recent addition of 3D printing into manufacturing processes has revolutionized regenerative medicine in traumatology (RMT) by enabling the production of implants with porous structures to promote bone regeneration (BR). Two key features were identified: excellent mechanical properties and biocompatibility. However, diverse results have been reported regarding the optimal morphological characteristics of geometric variants to stimulate BR. This work proposes a novel methodology for designing bone implants with optimized porous structures, by combining Machine Learning with Computational Mechanical Simulation. A literature review led to the creation of a database of 3D porous structures with proven potential to stimulate BR and train a Statistical Shape Model to generate a library of novel porous structures. Those structures were evaluated using CMS, employing the Finite Element Method, and the geometries with the best mechanical performance were selected for a potential biological response, setting the stage for in vivo validation to promote BR, with a potential impact on RMT.

1 INTRODUCCIÓN

La regeneración de grandes defectos óseos, especialmente en huesos largos de miembros inferiores, es uno de los mayores desafíos de la traumatología moderna. La no resolución de este tipo de problemática puede incluso derivar en la amputación del miembro (Rosslenbroich et al., 2023). En implantes traumatológicos u ortopédicos tradicionales, se observa una gran diferencia de rigidez entre el implante y el tejido óseo, lo que provoca el fenómeno de stress shielding, con la consecuente reabsorción ósea y eventualmente el fracaso de la reconstrucción (Al-Ketan et al., 2020). Es por esto que el diseño de estructuras porosas para mejorar la osteointegración ha recibido atención significativa, especialmente las estructuras metálicas porosas de titanio, cromo-cobalto, y más recientemente, tantalio, por su biocompatibilidad y propiedades mecánicas (PM) (Gu et al., 2022; Roffi et al., 2017; Spece et al., 2021).

Las estructuras porosas tridimensionales (3D) facilitan la osteointegración al proporcionar un entorno adecuado para la adhesión, proliferación y diferenciación celular. La arquitectura de estas estructuras, como el tamaño y la interconectividad de los poros, influye en sus propiedades mecánicas y biológicas (Gu et al., 2022; Roffi et al., 2017; Spece et al., 2021; Bosio et al. 2023). Se ha demostrado la capacidad de osteointegración de scaffolds metálicos fabricados por manufactura aditiva, los cuales presentaron resultados prometedores. No obstante, no existe consenso sobre los parámetros morfológicos óptimos para una osteointegración adecuada, aunque se ha probado que las características mecánicas y geométricas influyen fuertemente en la respuesta biológica (Chen et al., 2020a; Deng et al., 2021).

Un enfoque prometedor es el uso de Modelos Estadísticos de Forma (SSM), que capturan la variabilidad de la forma y parámetros geométricos de estructuras existentes para generar nuevos diseños con propiedades deseadas. Este método permite explorar sistemáticamente el espacio de diseño e identificar estructuras con potencial óptimo de osteointegración y resistencia mecánica. A su vez, hoy en día el método más utilizado para el diseño de estructuras porosas para impresión 3D consiste en la repetición de una celda unitaria en forma de patrón regular que rellena un volumen definido en el espacio (Limmahakhun et al., 2017; Pedemonte et al. 2020), para lo cual es fundamental seleccionar apropiadamente la celda unitaria en cuestión.

Este trabajo, hipotetiza que a partir del relevamiento de las características morfológicas de estructuras eficaces en osteointegración in vivo, se pueden sintetizar nuevas estructuras que mejoren los resultados anteriores, realizando un aporte significativo a la búsqueda de una estructura óptima. Así, se procedió al armado de una base de datos a partir de una búsqueda bibliográfica exhaustiva, mediante la cual se lograron identificar las 100 estructuras metálicas porosas con osteointegración comprobada de mayor relevancia. Estas permitieron recrear celdas unitarias validadas y desarrollar un SSM entrenado, a partir del cual se generaron nuevas estructuras, que fueron analizadas por elementos finitos (FEA) para evaluar sus PM e identificar aquellas con mejor comportamiento. Así, este artículo presenta la metodología y resultados del estudio, destacando el potencial del uso de SSMs para diseñar estructuras metálicas porosas con mejorada osteointegración y PM. Las secciones siguientes detallan los métodos de recopilación de datos, desarrollo del SSM, generación de estructuras y análisis mecánico computacional, seguido de una discusión de los resultados y sus implicancias para el diseño futuro de implantes.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Revisión bibliográfica

Se llevó adelante una revisión exhaustiva de la literatura para identificar estructuras metálicas porosas de relevancia, con osteointegración comprobada en ensayos in vivo. Este número surgió de encontrar un compromiso entre performance esperada y recursos computacionales requeridos.

En dicha búsqueda, se aplicaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión (Tabla 1).

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
- Estudios con osteointegración probada de scaffolds metálicos fabricados por manufactura aditiva mediante ensayos in vivo. - Estudios con especificaciones de las características de la estructura porosa utilizada (tamaño de poro, diámetro de strut, celda unitaria, etc.). - Estudios que emplearon estructuras fabricadas con los siguientes materiales: Ti6Al4V, Co-Cr-Mo y Ta (tantalio).	- Estudios descriptivos (reportes de caso, reviews y meta-análisis). - Estudios con modelos animales especiales (infección, diabetes, osteonecrosis, etc.). - Estudios enfocados en aplicaciones dentales. - Estudios que utilizan manufactura aditiva para crear texturas o recubrimientos porosos superficiales (coatings). - Estudios que utilizan estructuras no factibles de ser descompuestas en celdas unitarias (Ej: espumas y arquitecturas estocásticas).

Tabla 1. Criterios empleados para la búsqueda bibliográfica.

2.2 Recreación 3D de Celdas Unitarias

De los estudios obtenidos, para cada estructura identificada se extrajeron los parámetros geométricos de importancia, como la forma de la celda unitaria (c.u.) correspondiente, el tamaño de poro y el diámetro de los struts (Gu et al., 2022). Las estructuras fueron recreadas en 3D utilizando el siguiente software (SW): 3-Matic (v. 18.0, Materialise, Leuven, Belgium), MSLattice (Al-Ketan et al., 2021) y Meshmixer (v.3.5.474, Autodesk, Inc.). El resultado fue un set de 100 celdas unitarias, en formato STL.

2.3 Desarrollo del Modelo Estadístico de Forma (SSM)

Se desarrolló un SSM utilizando las celdas unitarias recreadas. El mismo proporciona: (1) una representación detallada 3D de la geometría promedio de la población estudiada y (2) una representación de la variabilidad geométrica dentro de dicha población, compendiada en una colección de modos principales de variación. El modelo se entrenó para capturar la variabilidad en la forma y la geometría de las celdas unitarias seleccionadas, permitiendo la generación de nuevas estructuras. Finalmente, se realizó la validación del modelo analizando, empleando métricas cuantitativas (Goparaju et al., 2018). Para la construcción de este modelo, se utilizó el SW ShapeWorks (Cates et al., 2017). Fig 1 y Tabla 2.

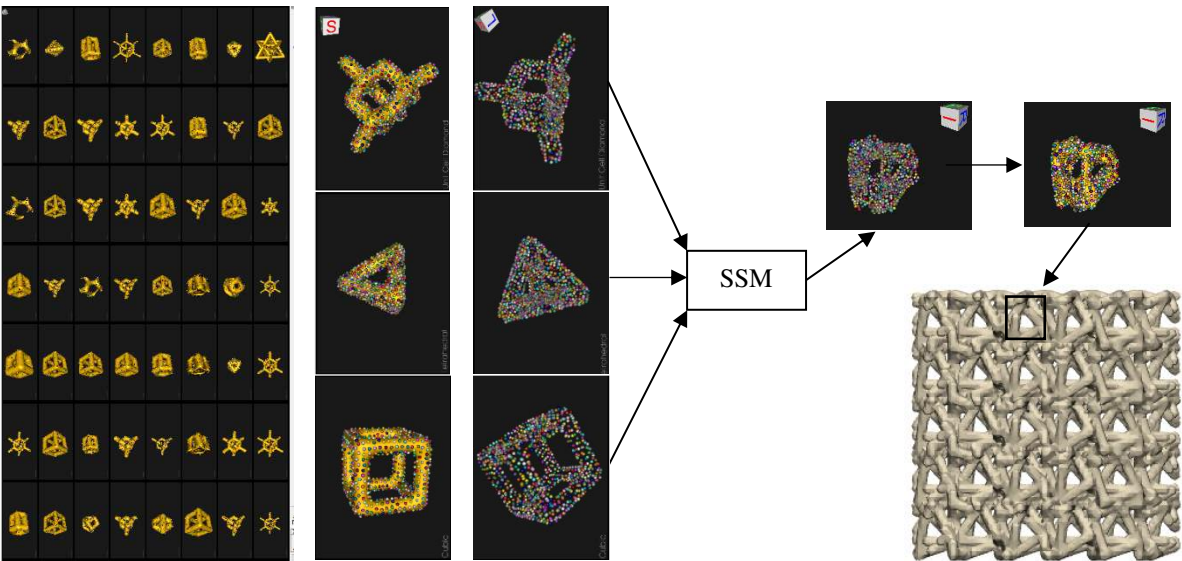


Figura 1. Proceso de desarrollo del modelo SSM a partir de las c.u. recreadas desde literatura.

2.4 Generación de Nuevas Estructuras

El SSM se utilizó como un modelo generativo para crear nuevas estructuras porosas. Estas estructuras se diseñaron con el objetivo de explorar sistemáticamente el espacio de diseño e identificar aquellas con potencial para mejorar la osteointegración.

Al explorar los primeros 10 modos de variación, se generaron 21 estructuras; correspondientes a la estructura promedio, y ± 2 desvíos estándar (DE) dentro de cada modo principal de variación. Esto permitió representar aproximadamente el 50% de la varianza total de forma del espacio de diseño generado a partir del set de entrenamiento.

Las estructuras fueron nombradas en base a los parámetros que las generan, del siguiente modo: MxSDy; siendo “x” el modo principal de variación aplicado, e “y” el desvío estándar correspondiente.

Etapas de aprendizaje – Procesos de estudio	
1.	Preprocesamiento de los datos de las celdas unitarias.
2.	Normalización: las formas fueron escaladas a un tamaño común.
3.	Alineación empleando el método de Procrustes (Cates et al., 2017).
4.	Posicionamiento de puntos de correspondencia (landmarks) de manera uniforme sobre las superficies. Refinamiento de su posición mediante optimizaciones iterativas para mejorar correspondencia entre formas con el método Particle Swarm Optimization (PSO) (Goparaju et al., 2018).
5.	Análisis de Componentes Principales (PCA) para identificación de los modos principales de variación: descomposición de forma en una media y una serie de componentes principales para describir las variaciones en la muestra (grados de libertad de variación morfológica).
Etapas de validación – Métricas cuantitativas	
Compacidad: Evaluación de efectividad del modelo explicar la variabilidad de las formas utilizando un número reducido de componentes. Valores mayores de Compacidad correlacionan con mayor efectividad.	
Especificidad: Medición de similitud entre formas generadas por el modelo y las formas del conjunto de entrenamiento. Valores menores denotan mayor similitud.	
Generalización: Evaluación de la capacidad del modelo para reconstruir formas no vistas durante el entrenamiento. Valores menores se condicen con mayor capacidad de predicción.	

Tabla 2. Proceso de aprendizaje y variables de validación del modelo SSM desarrollado.

2.5 Análisis por el Método de los Elementos Finitos

2.5.1 Diseño de Probetas y Mallado

A fin de analizar y seleccionar las mejores arquitecturas, se diseñaron probetas cilíndricas con 10 mm de diámetro y 10 mm de alto. Se realizó FEA en dichas estructuras para evaluar sus PM. Se empleó para ello el software ANSYS (v.2020 R2, ANSYS, Inc.), generando mallas volumétricas con elementos tetraédricos de segundo orden (TET10). Un ejemplo de dicha malla se muestra en la Figura 2.

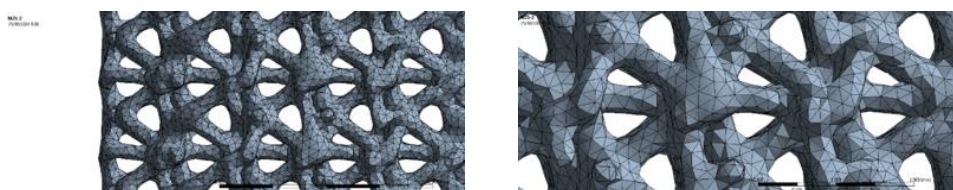


Figura 2. Detalle de malla volumétrica construida con elementos tetraédricos de segundo orden (TET10).

2.5.2 Condiciones de contorno y configuración del estudio

A fin de obtener el módulo elástico efectivo (macroscópico) de cada estructura, se empleó SMC para realizar un ensayo de compresión uniaxial. Para ello, se aplicó una condición de soporte fijo en la superficie inferior de cada estructura, para lo cual se aplicó un desplazamiento en la dirección Z, equivalente a una deformación de 0,1% (Ćwieka and Skibiński, 2022). Con el objetivo de reducir los efectos de concentración de stress en los bordes, se diseñó una probeta de forma cilíndrica. El tamaño y la cantidad de celdas unitarias comprendidas se eligió como un balance entre los requerimientos computacionales. Se estableció condición que los resultados sean representativos del comportamiento mecánico homogéneo equivalente para todo el volumen de material poroso, más allá de los fenómenos puntuales en cada celda (Gao et al., 2023). El material asignado a la probeta fue Ti6Al4V (fabricado por manufactura aditiva), con un módulo elástico a 20°C de 107.8 GPa.

2.5.3 Simulación

Finalmente, con el objetivo de elegir aquellas estructuras con mejores PM, se determinaron sus módulos elásticos efectivos (E_{ef}). La obtención de los E_{ef} se realizó a lo largo del eje z (ver Fig. 3) debido a que el foco del presente trabajo es el desarrollo de implantes para reconstrucción de defectos críticos diafisarios en huesos largos, en los cuales, las cargas principales se presentan a lo largo un único eje que es posible determinar (Heyland et al., 2023).

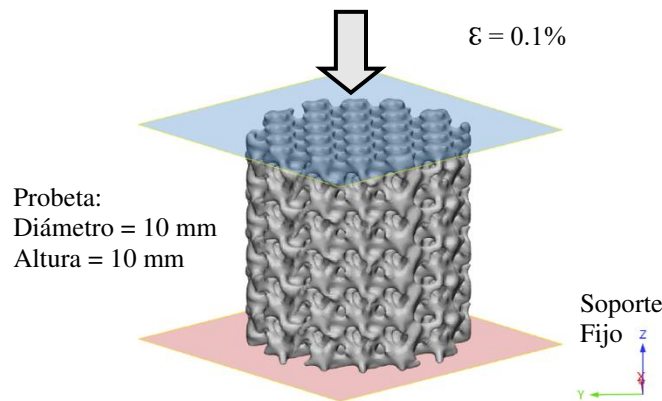


Figura 3. Condiciones de contorno de la simulación

Desde el punto de vista del estímulo a la regeneración ósea, son deseables arquitecturas con E_{ef} dentro del rango de variación del hueso sano normal (Pobloth et al., 2018). El valor del stress macroscópico efectivo (σ_{eng}) se obtuvo como el cociente de la suma de las fuerzas de reacción nodales y la sección transversal de la probeta. La deformación fue aplicada como condición de contorno. Por lo que, mediante la Ley de Hooke, se calculó el módulo elástico efectivo de cada estructura como en la ecuación 1.

$$E_{ef} = \frac{\sigma_{eng}}{\varepsilon} = \frac{\frac{\sum F_n}{A}}{\varepsilon} \quad (1)$$

Para definir la cantidad de elementos, se realizó un análisis de convergencia de malla por cada estructura, cuyos resultados principales para M1SD0 (cantidad de elementos, E y porcentaje de variación) se detallan en la Figura 5. El umbral de convergencia se fijó en 3%. El número de elementos utilizados en el resto de las mallas fue de 220.000 +/- 30.000. Se realizó un análisis de los valores máximos de esfuerzo de Von Mises en cada estructura, obteniéndose en todos los casos valores iguales o inferiores a 600 MPa. Siendo que el límite elástico a 20°C para la aleación considerada (Ti6Al4V ELI, EBM) es igual a 940 +/- 45 MPa (Draper et al., 2016), se concluye que, bajo la condición de carga evaluada, no se produce falla local. (Fig.4b y c)

3 RESULTADOS

Del total de estudios obtenidos a partir de la revisión bibliográfica, se seleccionaron las 100 estructuras con mayor relevancia, basada en criterios adicionales relacionados al tamaño del defecto óseo, grado de osteointegración, tamaño del modelo animal y cantidad de animales intervenidos. Se priorizaron los estudios en los que se trataron defectos óseos de mayor tamaño, se regeneraron mayores longitudes en matrices tipo scaffolds para defectos óseos segmentarios, se utilizaron animales de mayor tamaño o se incluyeron más animales en el experimento. Estos factores influyeron directamente en la relevancia de los estudios seleccionados para este trabajo.

De los estudios obtenidos, de recreó cada estructura identificada en 3D a partir de la extracción de sus parámetros geométricos de importancia, como c.u., tamaño de poro y diámetro de strut. (Tabla 3)

									
C. U.	Cúbica	Diamond	TPMS	Hexagonal	Dodecahedron	Octaedron	Voronoi	Octet-truss	Triang. Circ. Cil.
Ti po	Simple, BCC, FCC	Diamond	Giroide, I-WP, P	Hexagonal	Dodecahedron Rhombic-Dodec.	Octahedron Truncated-octahed.	Voronoi	Octet-truss	Otras
+	Simple fabricación (SF)	Prop. Mecánicas (PM)	PM Biomimética	Fácil diseño SM	PM SM	PM SM	PM SF	PM Biomimética	PM
-	Biomimética	Biomimética	Fabricación	Biomimética	Biomimética	Biomimética	Fabricación	Biomimética	-

Tabla 3. Celdas unitarias (CU) recreadas desde la literatura seleccionada,

A partir de las celdas unitarias recreadas, se desarrolló un SSM. El proceso de entrenamiento involucró diferentes etapas de aprendizaje y validación. En la Figura 4 se presentan las métricas principales del modelo logrado. Se observa que una considerable porción de la variabilidad de las formas es capturada en los primeros modos de variación, demostrándose así que se trata de un modelo eficiente. Además, se observa que al aumentar la cantidad de modos de variación considerados, aumenta la especificidad, siendo esto un indicador favorable. Finalmente, al tomar más modos de variación, se evidencia una caída rápida en la generalización del modelo, lo cual puede considerarse esperable dada la elevada complejidad de las formas utilizadas para el entrenamiento.

Según (Goparaju et al., 2018) el modelo puede considerarse eficiente y específico, con una capacidad de generalización adecuada para la extensión y las características del set de datos empleado para su entrenamiento. Así, el SSM se utilizó como un modelo generativo para crear nuevas estructuras porosas para explorar sistemáticamente el espacio de diseño e identificar aquellas con potencial para mejorar la osteointegración. A partir de los primeros 10 modos de variación, se generaron 21 estructuras presentadas en la Figura 4, lo que permitió representar aproximadamente el 50% de la varianza total de forma del espacio de diseño generado a partir del set de entrenamiento y generar un set de estructuras noveles con poro abierto interconectado, de alta biomimeticidad.

Finalmente, con el objetivo de elegir aquellas estructuras con mejores PM, se determinaron sus módulos elásticos efectivos (Eef) y fueron comprados con valores dentro del rango de variación del hueso sano normal. (Fig. 6)

Si bien de la observación de las características geométricas de las estructuras generadas se deduce anisotropía, en el presente trabajo se analizó sólo el comportamiento mecánico en un eje (Fig. 3) a fin de realizar una selección inicial de estructuras que, en desarrollos posteriores, puedan ser estudiadas y validadas en forma integral.

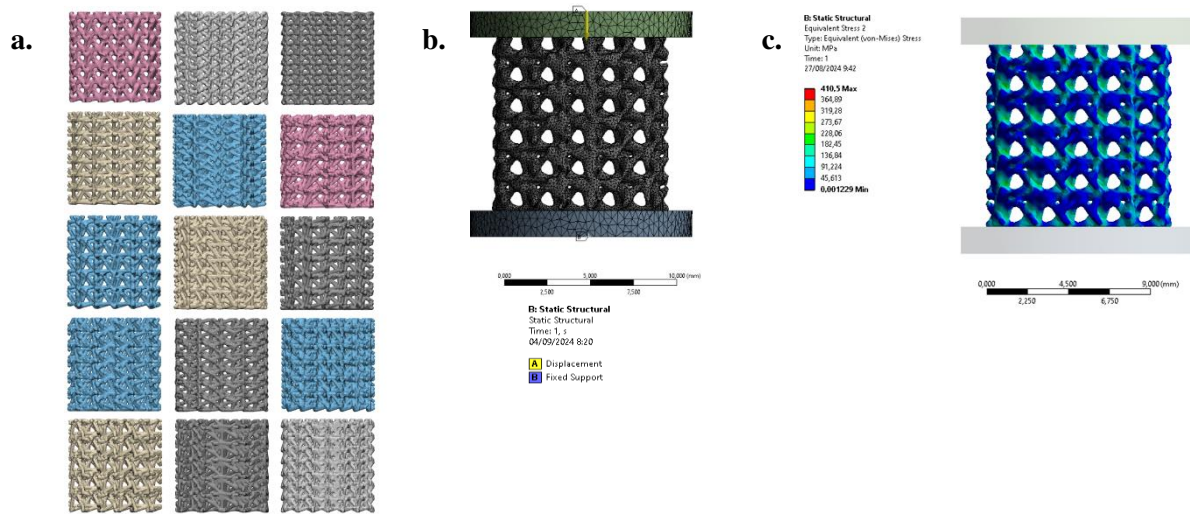


Figura 4. a. Estructuras noveles generadas a partir de la exploración del espacio de diseño: M1SD0 (estructura promedio), M1SD2, M1SD-2, M3SD-2, M4SD-2, M5SD2, M7SD-2, M8SD2, M9SD2, M2SD2, M3SD2, M10SD2, M6SD-2, M6SD2, M10SD-2 (de izq. a der. y de arriba hacia abajo). **b** y **c.** Configuración del estudio en ANSYS y stress equivalente (de von Mises). Resultados parciales para la estructura M1SD0.

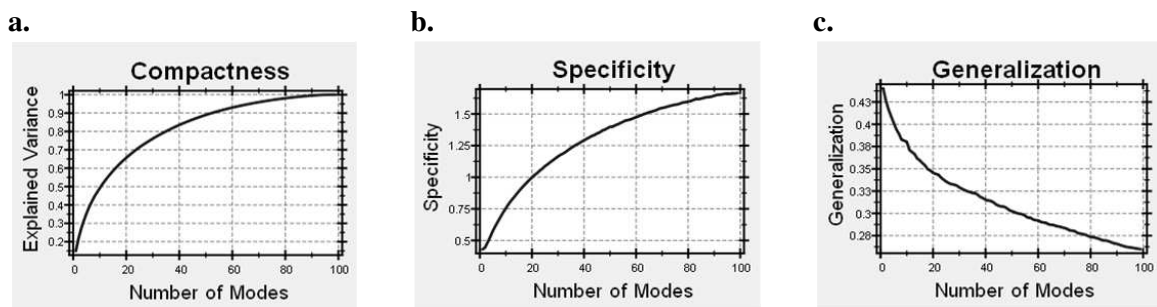


Figura 5. Métricas cuantitativas obtenidas para el SSM. **a:** compacidad; **b:** especificidad; **c:** generalización.

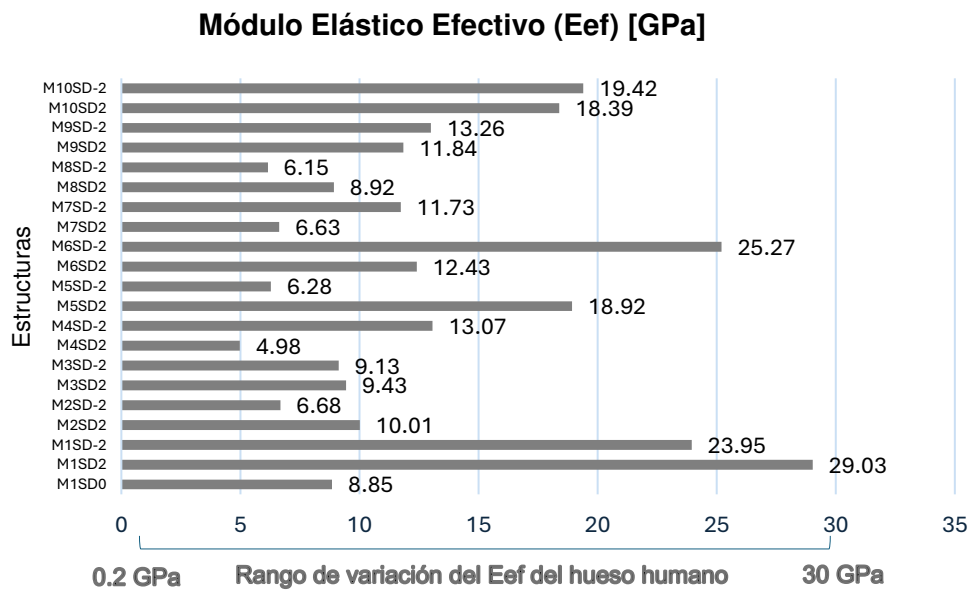


Figura 6. Resultados de la SMC para el Módulo elástico efectivo de cada estructura novel generada. Comparación con rango normal de Eef de hueso humano sano (Senra & Marques, 2020).

4 DISCUSIÓN

El uso de SSMs para el diseño de estructuras metálicas porosas ofrece un enfoque sistemático novedoso para explorar el espacio de diseño e identificar geometrías óptimas. La integración de SMC en el proceso de evaluación garantiza que las estructuras generadas no solo promuevan la osteointegración mediante sus propiedades bioquímicas, sino también desde el aspecto biomecánico. En este trabajo, el SSM desarrollado permitió capturar la variabilidad geométrica de 100 estructuras porosas seleccionadas de literatura, con comprobada eficacia en la regeneración de hueso en estudios *in vivo*, lo que facilitó la creación de nuevas geometrías con PM deseables. Las estructuras generadas mostraron un rango de módulos elásticos efectivos que se encuentran dentro del observado en hueso humano sano, lo que sugiere su potencial para aplicaciones clínicas, evitando el fenómeno de stress shielding.

Los hallazgos de este estudio son consistentes con investigaciones anteriores que han mostrado la influencia crítica de la geometría de los poros y la interconectividad en la osteointegración (Chen et al., 2020a; Deng et al., 2021). Sin embargo, el enfoque aquí presentado utiliza un modelo generativo basado en datos geométricos existentes, lo que permite una exploración más sistemática y eficiente del espacio de diseño en comparación con enfoques tradicionales de diseño manual o iterativo (Gu et al., 2022; Spece et al., 2021). Este enfoque tiene implicaciones significativas para el diseño de implantes personalizados y avanzados en traumatología y medicina regenerativa.

Al mismo tiempo, si bien las simulaciones realizadas se basan en modelos computacionales robustos, los mismos no capturan completamente la complejidad de los procesos biológicos *in vivo*, y el SSM, aunque poderoso, está limitado por la calidad y cantidad de los datos de entrenamiento utilizados. Esto abre un camino de estudio continuo basado en el aumento de la diversidad de estructuras utilizadas, las cuales servirían para entrenar más eficientemente al modelo, así como en la validación experimental de las estructuras generadas, incluyendo estudios *in vivo* para confirmar su eficacia en la promoción de la regeneración ósea. Asimismo, la integración de datos biológicos en el modelo podría mejorar aún más la capacidad del SSM para generar estructuras con mayor potencial osteoinductivo. La combinación de SSM con técnicas avanzadas de manufactura aditiva (impresión 3D) podría servir para explorar una producción más rápida y personalizada de mejores implantes traumatológicos y ortopédicos.

5 CONCLUSIÓN

Este estudio ha demostrado la viabilidad y eficacia de utilizar un SSM combinado con simulaciones mecánicas para diseñar estructuras porosas optimizadas para la regeneración ósea. Las estructuras generadas no solo cumplen con los requisitos mecánicos necesarios, sino que también presentan un alto potencial para ser utilizadas en aplicaciones clínicas, sentando así las bases para futuros desarrollos en el campo de la medicina regenerativa.

6 REFERENCIAS

- Al-Ketan, O., Abu Al-Rub, R.K., 2021. MSLattice: A free software for generating uniform and graded lattices based on triply periodic minimal surfaces. *Mater. Des. Process. Commun.* 3.
- Al-Ketan, O., Lee, D.-W., Rowshan, R., Abu Al-Rub, R.K., 2020. Functionally graded and multi-morphology sheet TPMS lattices: Design, manufacturing, and mechanical properties. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 102, 103520.
- Amin Yavari, S., Van Der Stok, J., Chai, Y.C., Wauthle, R., Tahmasebi Birgani, Z., Habibovic, P., Mulier, M., Schrooten, J., Weinans, H., Zadpoor, A.A., 2014. Bone regen. performance of surface-treated porous Ti. *Biomaterials* 35, 6172–6181.
- Arabnejad, S., Burnett Johnston, R., Pura, J.A., Singh, B., Tanzer, M., Pasini, D., 2016. High-strength porous biomaterials for bone replacement: A strategy to assess the interplay between cell morphology, mechanical properties, bone ingrowth and manufacturing constraints. *Acta Biomater.* 30, 345–356.
- Bosio, V. E., Rybner C., D. L. Kaplan, 2023. Concentric-mineralized hybrid silk-based scaffolds for bone tissue engineering in vitro models *J. Mater. Chem. B*, 11, 7998.
- Cates, J., Elhabian, S., Whitaker, R., 2017. ShapeWorks: Statistical Shape and Deformation Analysis. Elsevier, pp. 257–298.
- Chen, C., Hao, Y., Bai, X., Ni, J., Chung, S.-M., Liu, F., Lee, I.-S., 2019. 3D printed porous Ti6Al4V cage: Effects of additive angle on surface properties and biocompatibility; bone ingrowth in Beagle tibia model. *Mater. Des.* 175, 107824.
- Chen, Z., Yan, X., Yin, S., Liu, L., Liu, X., Zhao, G., Ma, W., Qi, W., Ren, Z., Liao, H., Liu, M., Cai, D., Fang, H., 2020a. Influence of the pore size and porosity of selective laser melted Ti6Al4V ELI porous scaffold on cell proliferation, osteogenesis and bone ingrowth. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 106, 110289.
- Chen, Z., Yan, X., Yin, S., Liu, L., Liu, X., Zhao, G., Ma, W., Qi, W., Ren, Z., Liao, H., Liu, M., Cai, D., Fang, H., 2020b. Influence of the pore size and porosity of selective laser melted Ti6Al4V ELI porous scaffold on cell proliferation, osteogenesis and bone

- ingrowth. *Mater. Sci. Eng. C* 106, 110289.
- Cheong, V.S., Fromme, P., Coathup, M.J., Mumith, A., Blunn, G.W., 2020. Partial Bone Formation in Additive Manufactured Porous Implants Reduces Predicted Stress and Danger of Fatigue Failure. *Ann. Biomed. Eng.* 48, 502–514.
- Cheong, V.S., Fromme, P., Mumith, A., Coathup, M.J., Blunn, G.W., 2018. Novel adaptive finite element algorithms to predict bone ingrowth in additive manufactured porous implants. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 87, 230–239.
- Crovace, A.M., Lacitignola, L., Forleo, D.M., Staffieri, F., Francioso, E., Di Meo, A., Becerra, J., Crovace, A., Santos-Ruiz, L., 2020. 3D Biomimetic Porous Titanium (Ti6Al4V ELI) Scaffolds for Large Bone Critical Defect Reconstruction: An Experimental Study in Sheep. *Anim. Open Access J. MDPI* 10, 1389.
- Ćwieka, K., Skibiński, J., 2022. Elastic Properties of Open Cell Metallic Foams—Modeling of Pore Size Variation Effect. *Materials* 15, 6818.
- Deng, F., Liu, L., Li, Z., Liu, J., 2021. 3D printed Ti6Al4V bone scaffolds with different pore structure effects on bone ingrowth. *J. Biol. Eng.* 15, 4.
- Draper, S., Lerch, B., Rogers, R., Martin, R., Locci, I., Garg, A., 2016. Materials Characterization of Electron Beam Melted Ti-6Al-4V, in: Venkatesh, V., Pilchak, A.L., Allison, J.E., Ankem, S., Boyer, R., Christodoulou, J., Fraser, H.L., Imam, M.A., Kosaka, Y., Rack, H.J., Chatterjee, A., Woodfield, A. (Eds.), *Proceedings of the 13th World Conference on Titanium*. Wiley, pp. 1433–1440.
- Fan, B., Guo, Z., Li, X., Li, S., Gao, P., Xiao, X., Wu, J., Shen, C., Jiao, Y., Hou, W., 2020. Electroactive barium titanate coated titanium scaffold improves osteogenesis and osseointegration with low-intensity pulsed ultrasound for large segmental bone defects. *Bioact. Mater.* 5, 1087–1101.
- Heyland, M., Deppe, D., Reisener, M.J., Damm, P., Taylor, W.R., Reinke, S., Duda, G.N., Trepczynski, A., 2023. Lower-limb internal loading and potential consequences for fracture healing. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 11, 1284091.
- Gao, H., Yang, J., Jin, X., Zhang, D., Zhang, S., Zhang, F., Chen, H., 2023. Static Compressive Behavior and Failure Mechanism of Tantalum Scaffolds with Optimized Periodic Lattice Fabricated by Laser-Based Additive Manufacturing. *3D Print. Addit. Manuf.* 10, 887–904. <https://doi.org/10.1089/3dp.2021.0253>
- García-Gareta, E., Hua, J., Blunn, G.W., 2015. Osseointegration of acellular and cellularized osteoconductive scaffolds: Is tissue eng. using mesenchymal stem cells necessary for implant fixation? *J. Biomed. Mater. Res. A* 103, 1067–1076.
- Goparaju, A., Csecs, I., Morris, A., Kholmovski, E., Marrouche, N., Whitaker, R., Elhabian, S., 2018. On the Evaluation and Validation of Off-the-Shelf SSM Tools: A Clinical Application, in: Reuter, M., Wachinger, C., Lombaert, H., Paniagua, B., Lüthi, M., Egger, B. (Eds.), *Shape in Medical Imaging, Lecture Notes in Computer Science*. Springer International Publishing, Cham, pp. 14–27.
- Gu, Y., Sun, Y., Shujaat, S., Braem, A., Politis, C., Jacobs, R., 2022. 3D-printed porous Ti6Al4V scaffolds for long bone repair in animal models: a systematic review. *J. Orthop. Surg.* 17, 68.
- Guo, Y., Xie, K., Jiang, W., Wang, L., Li, G., Zhao, S., Wu, W., Hao, Y., 2019. In Vitro and in Vivo Study of 3D-Printed Porous Tantalum Scaffolds for Repairing Bone Defects. *ACS Biomater. Sci. Eng.* 5, 1123–1133.
- Hara, D., Nakashima, Y., Sato, T., Hirata, M., Kanazawa, M., Kohno, Y., Yoshimoto, K., Yoshihara, Y., Nakamura, A., Nakao, Y., Iwamoto, Y., 2016. Bone bonding strength of diamond-structured porous titanium-alloy implants manufactured using the electron beam-melting technique. *Mater. Sci. Eng. C* 59, 1047–1052.
- Huang, H., Lan, P.-H., Zhang, Y.-Q., Li, X.-K., Zhang, X., Yuan, C.-F., Zheng, X.-B., Guo, Z., 2015. Surface characterization and in vivo performance of plasma-sprayed hydroxyapatite-coated porous Ti6Al4V implants generated by electron beam melting. *Surf. Coat. Technol.* 283, 80–88.
- Koolen, M., Amin Yavari, S., Lietaert, K., Wauthle, R., Zadpoor, A.A., Weinans, H., 2020. Bone Regeneration in Critical-Sized Bone Defects Treated with Additively Manufactured Porous Metallic Biomaterials: The Effects of Inelastic Mechanical Properties. *Materials* 13, 1992.
- Li, J., Li, Z., Shi, Y., Wang, H., Li, R., Tu, J., Jin, G., 2019. In vitro and in vivo comparisons of the porous Ti6Al4V alloys fab. by the selective laser melting technique and a new sintering technique. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 91, 149–158.
- Li, L., Shi, J., Zhang, K., Yang, L., Yu, F., Zhu, L., Liang, H., Wang, X., Jiang, Q., 2019. Early osteointegration evaluation of porous Ti6Al4V scaffolds designed based on triply periodic minimal surface models. *J. Orthop. Transl.* 19, 94–105.
- Li, P., Jiang, W., Yan, J., Hu, K., Han, Z., Wang, B., Zhao, Y., Cui, G., Wang, Z., Mao, K., Wang, Y., Cui, F., 2019. A novel 3D printed cage with microporous structure and in vivo fusion function. *J. Biomed. Mater. Res. A* 107, 1386–1392.
- Li, S., Cui, Y., Liu, H., Tian, Y., Fan, Y., Wang, G., Wang, J., Wu, D., Wang, Y., 2024. Dual-functional 3D-printed porous bioactive scaffold enhanced bone repair by promoting osteogenesis and angiogenesis. *Mater. Today Bio* 24, 100943.
- Li, Y., Yang, W., Li, Xiaokang, Zhang, X., Wang, Cairu, Meng, X., Pei, Y., Fan, X., Lan, P., Wang, Chunhui, Li, Xiaojie, Guo, Z., 2015a. Improving Osteointegration and Osteogenesis of Three-Dimensional Porous Ti6Al4V Scaffolds by Polydopamine-Assisted Biomimetic Hydroxyapatite Coating. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 5715–5724.
- Li, Y., Yang, W., Li, Xiaokang, Zhang, X., Wang, Cairu, Meng, X., Pei, Y., Fan, X., Lan, P., Wang, Chunhui, Li, Xiaojie, Guo, Z., 2015b. Improving osteointegration and osteogenesis of three-dimensional porous Ti6Al4V scaffolds by polydopamine-assisted biomimetic hydroxyapatite coating. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 5715–5724.
- Li, Z., Liu, C., Wang, B., Wang, C., Wang, Z., Yang, F., Gao, C., Liu, H., Qin, Y., Wang, J., 2018. Heat treatment effect on the mec. properties, roughness and bone ingrowth capacity of 3D printing porous Ti alloy. *RSC Adv.* 8, 12471–12483.
- Limmahakhun, S., Oloyede, A., Sitthiseripratip, K., Xiao, Y., Yan, C., 2017. 3D-printed cellular structures for bone biomimetic implants. *Addit. Manuf.* 15, 93–101.
- Liu, H., Li, W., Liu, C., Tan, J., Wang, H., Hai, B., Cai, H., Leng, H.-J., Liu, Z.-J., Song, C.-L., 2016. Incorporating simvastatin/poloxamer 407 hydrogel into 3D-printed porous Ti 6 Al 4 V scaffolds for the promotion of angiogenesis, osseointegration and bone ingrowth. *Biofabrication* 8, 045012.
- Luan, H., Wang, L., Ren, W., Chu, Z., Huang, Y., Lu, C., Fan, Y., 2019. The effect of pore size and porosity of Ti6Al4V scaffolds on MC3T3-E1 cells and tissue in rabbits. *Sci. China Technol. Sci.* 62, 1160–1168.
- Lv, J., Xiu, P., Tan, J., Jia, Z., Cai, H., Liu, Z., 2015. Enhanced angiogenesis and osteogenesis in critical bone defects by the controlled release of BMP-2 and VEGF: implantation of electron beam melting-fabricated porous Ti 6 Al 4 V scaffolds incorporating growth factor-doped fibrin glue. *Biomed. Mater.* 10, 035013.
- McGilvray, K.C., Easley, J., Seim, H.B., Regan, D., Berven, S.H., Hsu, W.K., Mroz, T.E., Puttlitz, C.M., 2018. Bony ingrowth

- potential of 3D-printed porous titanium alloy: a direct comparison of interbody cage materials in an in vivo ovine lumbar fusion model. *Spine J.* 18, 1250–1260.
- Mróz, W., Budner, B., Syroka, R., Niedzielski, K., Golański, G., Słószarczyk, A., Schwarze, D., Douglas, T.E.L., 2015. *In vivo* implantation of porous titanium alloy implants coated with magnesium-doped octacalcium phosphate and hydroxyapatite thin films using pulsed laser deposition: Pulsed Laser Deposition of Mg-Enriched Ceramic Layers on Porous Ti6Al4V. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 103, 151–158.
- Mumith, A., Cheong, V.S., Fromme, P., Coathup, M.J., Blunn, G.W., 2020. The effect of strontium and silicon substituted hydroxyapatite electrochemical coatings on bone ingrowth and osseointegration of selective laser sintered porous metal implants. *PLOS ONE* 15, e0227232.
- Palmquist, A., Snis, A., Emanuelsson, L., Browne, M., Thomsen, P., 2013. Long-term biocompatibility and osseointegration of EBM, free-form-fabricated solid and porous Ti alloy: Experimental studies in sheep. *J. Biomater. Appl.* 27, 1003–1016.
- Pedemonte, F. A., Machain V. A., Galli, M., Maggini, J. N., Graf S., Bosio V. E., 3D Printed Biomechanically Optimized Metal Scaffolds for Bone Regeneration. A Pilot Study, 2020. *Rev. Arg. Bioingeniería*.
- Pobloth, A.-M., Checa, S., Razi, H., Petersen, A., Weaver, J.C., Schmidt-Bleek, K., Windolf, M., Tatai, A.Á., Roth, C.P., Schaser, K.-D., Duda, G.N., Schwabe, P., 2018. Mechanobiologically optimized 3D titanium-mesh scaffolds enhance bone regeneration in critical segmental defects in sheep. *Sci. Transl. Med.* 10, eaam8828.
- Ran, Q., Yang, W., Hu, Y., Shen, X., Yu, Y., Xiang, Y., Cai, K., 2018. Osteogenesis of 3D printed porous Ti6Al4V implants with different pore sizes. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 84, 1–11.
- Roffi, A., Krishnakumar, G.S., Gostynska, N., Kon, E., Candrian, C., Filardo, G., 2017. The Role of 3D Scaffolds in Treating Long Bone Defects: Evidence from Preclinical and Clinical Literature—A Systematic Review. *BioMed Res. Int.* 2017, 1–13.
- Room Ee1614, PO Box 2040, 3000CA Rotterdam, The Netherlands, Van Der Stok, J., Koolen, M., De Maat, M., Amin Yavari, S., Alblas, J., Patka, P., Verhaar, J., Van Lieshout, E., Zadpoor, A., Weinans, H., Jahr, H., 2015. Full regeneration of segmental bone defects using porous Ti implants loaded with BMP-2 containing fibrin gels. *Eur. Cell. Mater.* 29, 141–154.
- Shah, F.A., Snis, A., Matic, A., Thomsen, P., Palmquist, A., 2016. 3D printed Ti6Al4V implant surface promotes bone maturation and retains a higher density of less aged osteocytes at the bone-implant interface. *Acta Biomater.* 30, 357–367.
- Song, P., Hu, C., Pei, X., Sun, J., Sun, H., Wu, L., Jiang, Q., Fan, H., Yang, B., Zhou, C., Fan, Y., Zhang, X., 2019. Dual modulation of crystallinity and macro-/microstructures of 3D printed porous titanium implants to enhance stability and osseointegration. *J. Mater. Chem. B* 7, 2865–2877.
- Spece, H., Basgul, C., Andrews, C.E., MacDonald, D.W., Taheri, M.L., Kurtz, S.M., 2021. A systematic review of preclinical in vivo testing of 3D printed porous Ti6Al4V for orthopedic applications, part I: Animal models and bone ingrowth outcome measures. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 109, 1436–1454.
- Van Der Stok, J., Lozano, D., Chai, Y.C., Amin Yavari, S., Bastidas Coral, A.P., Verhaar, J.A.N., Gómez-Barrena, E., Schrooten, J., Jahr, H., Zadpoor, A.A., Esbrit, P., Weinans, H., 2015. Osteostatin-Coated Porous Titanium Can Improve Early Bone Regeneration of Cortical Bone Defects in Rats. *Tissue Eng. Part A* 21, 1495–1506.
- Van der Stok, J., Van der Jagt, O.P., Amin Yavari, S., De Haas, M.F.P., Waarsing, J.H., Jahr, H., Van Lieshout, E.M.M., Patka, P., Verhaar, J.A.N., Zadpoor, A.A., Weinans, H., 2013. Selective laser melting-produced porous titanium scaffolds regenerate bone in critical size cortical bone defects. *J. Orthop. Res. Off. Publ. Orthop. Res. Soc.* 31, 792–799.
- Van Der Stok, J., Wang, H., Amin Yavari, S., Siebelt, M., Sandker, M., Waarsing, J.H., Verhaar, J.A.N., Jahr, H., Zadpoor, A.A., Leeuwenburgh, S.C.G., Weinans, H., 2013. Enhanced Bone Regeneration of Cortical Segmental Bone Defects Using Porous Titanium Scaffolds Incorporated with Colloidal Gelatin Gels for Time- and Dose-Controlled Delivery of Dual Growth Factors. *Tissue Eng. Part A* 19, 2605–2614.
- Vlad, M.D., Fernández Aguado, E., Gómez González, S., Ivanov, I.C., Şindilar, E.V., Poetă, I., Iencean, A.Ş., Butnaru, M., Avădănei, E.R., López López, J., 2020. Novel titanium-apatite hybrid scaffolds with spongy bone-like micro architecture intended for spinal application: In vitro and in vivo study. *Mater. Sci. Eng.*
- Walsh, W.R., Pelletier, M.H., Wang, T., Lovric, V., Morberg, P., Mobbs, R.J., 2019. Does implantation site influence bone ingrowth into 3D-printed porous implants? *Spine J.* 19, 1885–1898.
- Wang, H., Su, K., Su, L., Liang, P., Ji, P., Wang, C., 2019. Comparison of 3D-printed porous tantalum and titanium scaffolds on osteointegration and osteogenesis. *Mater. Sci. Eng. C* 104, 109908.
- Wang, H., Su, K., Su, L., Liang, P., Ji, P., Wang, C., 2018. The effect of 3D-printed Ti6Al4V scaffolds with various macropore structures on osteointegration and osteogenesis: A biomechanical eval. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 88, 488–496.
- Wieding, J., Lindner, T., Bergschmidt, P., Bader, R., 2015. Biomechanical stability of novel mechanically adapted open-porous titanium scaffolds in metatarsal bone defects of sheep. *Biomaterials* 46, 35–47.
- Wu, S., Li, Y., Zhang, Y., Li, X., Yuan, C., Hao, Y., Zhang, Z., Guo, Z., 2013. Porous Ti6Al4V Cage Has Better Osseointegration and Less Micromotion Than a Poly-Ether-Ether-Ketone Cage in Sheep Vertebral Fusion. *Artif. Organs* 37.
- Xiu, P., Jia, Z., Lv, J., Yin, C., Cai, H., Song, C., Leng, H., Zheng, Y., Liu, Z., Cheng, Y., 2017. Hierarchical Micropore/Nanorod Apatite Hybrids In-Situ Grown from 3-D Printed Macroporous Ti6Al4V Implants with Improved Bioactivity and Osseointegration. *J. Mater. Sci. Technol.* 33, 179–186.
- Yin, B., Ma, P., Chen, J., Wang, H., Wu, G., Li, B., Li, Q., Huang, Z., Qiu, G., Wu, Z., 2016. Hybrid Macro-Porous Titanium Ornamented by Degradable 3D Gel/nHA Micro-Scaffolds for Bone Tissue Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 575.
- Yin, B., Xue, B., Wu, Z., Ma, J., Wang, K., n.d. A novel hybrid 3D-printed titanium scaffold for osteogenesis in a rabbit calvarial defect model.
- Zhang, B., Feng, J., Chen, S., Liao, R., Zhang, C., Luo, X., Yang, Z., Xiao, D., He, K., Duan, K., 2023. Cell response and bone ingrowth to 3D printed Ti6Al4V scaffolds with Mg-incorporating sol-gel Ta2O5 coating. *RSC Adv.* 13, 33053–33060.
- Zhang, T., Wei, Q., Fan, D., Liu, X., Li, W., Song, C., Cai, H., Zheng, Y., Liu, Z., 2020. Improved osseoint. with rhBMP-2 intraop. loaded in a specifically designed 3D-printed porous Ti6Al4V vertebral implant. *Biomater. Sci.* 8, 1279–1289.
- Zhang, W., Sun, C., Zhu, J., Zhang, Weifang, Leng, H., Song, C., 2020. 3D printed porous titanium cages filled with simvastatin hydrogel promotes bone ingrowth and spinal fusion in rhesus macaques. *Biomater. Sci.* 8, 4147–4156.
- Zhong, W., Li, J., Hu, C., Quan, Z., Jiang, D., Huang, G., Wang, Z., 2020. 3D-printed titanium implant-coated polydopamine for repairing femoral condyle defects in rabbits. *J. Orthop. Surg.* 15, 102.