



## بررسی خواص مکانیکی هایبرید ژلما/شیشه زیست فعال زیست سازگار و چند منظوره سنتز شده به روش سل ژل

امیرحسین مغنیان<sup>۱</sup>، صبا نصیری پور<sup>۲</sup>

[Moghanian@eng.ikiu.ac.ir](mailto:Moghanian@eng.ikiu.ac.ir)

### چکیده

کامپوزیت ژلما/شیشه زیست فعال از ترکیب هیدروژل و شیشه زیست فعال اصلاح شده و سنتز شده به روش سل ژل، با ایجاد پیوند عرضی از طریق نور مرئی تشکیل شده است. هرکدام از این فازها به تنهایی دارای ویژگی های مفیدی هستند. ولی برای دستیابی به ماده ای با تمام این ویژگی ها به ترکیبی از این دو فاز نیاز است. به گونه ای که شیشه زیست فعال به دلیل داشتن توانایی در افزایش استحکام پلیمیر نرم، ترمیم و استخوان زایی در داخل بدن، و داشتن ضعف در شکنندگی ذاتی و چقرمگی شکست کم، نیازمند ترکیب با پلیمری است تا بتواند به عنوان پر کننده در آن ها استفاده شود. در این آزمایش هدف اصلی بررسی و مقایسه خواص مکانیکی این کامپوزیت ها با استخوان طبیعی، برای استفاده از آن به عنوان ترمیم کننده در داربست های استخوانی است. نتایج تست های مکانیکی شامل تست کشش، تست فشار و استحکام نهایی بیانگر افزایش در مدول فشاری از  $10/29 \pm 142/49$  به  $75/75 \pm 757$ ، در مدول الاستیک از  $14/37 \pm 122/47$  به  $16/11 \pm 383/4$  و در استحکام کشش نهایی از  $10/29 \pm 295/8$  به  $21/01 \pm 394/8$  است. همچنین ضریب شدت تنش، جابجایی ها، تنش در اطراف نوک ترک، چقرمگی شکست و نرخ آزادسازی انرژی کرنشی بوسیله روش المان محدود توسعه یافته، برای دستیابی به خطای کمتر و ایجاد مقایسه بهتر با روش های تحلیلی انجام شد. با توجه به نتایج بدست آمده و قرار گرفتن خواص مکانیکی کامپوزیت در محدوده قابل قبول، در مقایسه با استخوان، می توان از کامپوزیت ژلما/شیشه زیست فعال سنتز شده به عنوان داربست های استخوانی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: شیشه زیست فعال، ژلما، خواص مکانیکی، زیست سازگار، مهندسی بافت استخوان

۱- استادیار گروه مهندسی مواد، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین  
۲- دانشجو رشته مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین



## ۱- مقدمه

با توجه به کاربرد گسترده مواد کاشتنی فلزی و سرامیکی، تا مدت‌ها این مواد به عنوان تنها راهکار موثر برای درمان بسیاری از بیماری‌های مربوط به استخوان بود. اما ناسازگاری خواص مکانیکی میان این کاشتنی‌ها و استخوان انسان سبب ایجاد مشکلاتی مانند از بین رفتن استخوان و عدم رضایت گیرنده کاشتنی‌ها می‌شود [۱] اما در سال‌های اخیر، ظهور ماده‌ای جامد و کاربردی تحت عنوان شیشه زیست‌فعال توانسته است گام مهمی در حل این معضل جهانی بردارد. اولین شیشه زیست‌فعال توسط هنج و در سال ۱۹۷۱ تولید شد [۲]. و به دنبال آن فرمول‌های متفاوتی از شیشه زیست‌فعال ارائه شد. روش‌های متفاوتی برای تولید شیشه زیست‌فعال وجود دارد که از میان آن‌ها می‌توان به روش سل-ژل که یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین روش‌ها است، اشاره کرد [۳-۶].

شیشه زیست‌فعال دارای خواص منحصر به فردی مانند زیست‌سازگاری بالا، ترمیم و استخوان زایی از طریق ایجاد لایه آپاتیت روی سطح استخوان است. اما به دلیل برخی از ویژگی‌های نامطلوب مانند سختی مکانیکی و تحمل بار کم نمی‌توان از آن به عنوان یک فاز جداگانه استفاده کرد. در نتیجه، به کارگیری کامپوزیت‌های زیست‌فعال در نقاط تحت بار توصیه شده است. نکته قابل توجه در کامپوزیت‌های زیست‌فعال این است که هر یک از اجزای کامپوزیت بایستی دارای زیست‌سازگاری قابل قبول باشند [۷] و فصل مشترک بین اجزای سازنده کامپوزیت زیست‌فعال نیز تا زمانی که بافت میزبان ترمیم و به استحکام کافی نرسیده است، در محیط زنده دچار آسیب نشود. به طور کلی کامپوزیت‌هایی که دارای حداقل یک جزء زیست‌فعال باشند را می‌توان در گروه کامپوزیت‌های زیست‌فعال قرار داد [۸]. محققان زیادی روش‌های مختلفی را برای به کارگیری شیشه‌های زیست‌فعال در نقاط تحت بار بررسی نموده‌اند؛ از جمله این تحقیقات می‌توان به پوشش‌دهی کاشتنی‌های فلزی با روکش شیشه زیست‌فعال [۹] و یا کامپوزیت‌های ذره‌ای اشاره نمود [۱۰-۱۲]. همچنین نشان داده شده است که کامپوزیت پلیمر/ شیشه زیست‌فعال خواص مکانیکی بالاتری نسبت به شیشه زیست‌فعال دارد و پس از قرار گرفتن در بدن علاوه بر اینکه شیشه زیست‌فعال شروع به تولید هیدروکسی آپاتیت می‌کند، زیست‌سازگاری مناسبی نیز بین کامپوزیت و استخوان طبیعی ایجاد می‌شود.

برخلاف خواص قابل توجه شیشه‌های زیست‌فعال، استفاده از آن‌ها به عنوان مواد داربست در مهندسی بافت استخوان، به علت شکنندگی ذاتی و چقرمگی شکست کم آن‌ها محدود است [۱۳]. هیدروژل‌ها شبکه‌های سه بعدی پلیمرهای هیدروفیلی هستند که با شبکه‌ای شدن، زمینه‌های نامحلول با خواص فیزیکی بسیار قابل تنظیم را تشکیل می‌دهد [۱۴]. داربست‌های مبتنی بر هیدروژل شامل یک شبکه بزرگ با هم مرتبط است که باعث پیوستگی، تکثیر و تمایز سلول‌ها می‌شود [۱۵]. با این حال، با توجه به نیازهای بایو مکانیکی بافت‌های استخوانی، داربست‌های مهندسی بافت برای برنامه‌های کاربردی ارتوپدی باید دارای سختی مکانیکی بالا باشد تا بتوانند خواص باربری و عملکرد استخوان طبیعی را تقلید کند [۱۶]. در این راستا، ترکیب مواد معدنی به شبکه‌های هیدروژنی نرم می‌تواند برای افزایش عملکرد مکانیکی آن‌ها و ارائه نشانه‌های زیست‌فعال مورد



استفاده قرار گیرد. از این رو با افزودن شیشه زیست‌فعال ۵/۵ به پیشساز ژلما<sup>۱</sup>، می‌توان کامپوزیت ژلما / شیشه زیست‌فعال تولید کرد که وجود غلظت‌های مختلف شیشه زیست‌فعال در آن می‌تواند خواص مکانیکی متفاوتی برای کامپوزیت ایجاد کند. تحقیقات نشان دادند که خواص مکانیکی این کامپوزیت‌ها قابل مقایسه با خواص مکانیکی استخوان انسان است [۱۷]، در حالی که رفتار شکست آن‌ها نامشخص می‌باشد. از طرف دیگر، این کامپوزیت‌ها زیست‌فعال هستند و با ملاحظات مناسب می‌توان از آن‌ها برای مصارف پزشکی درون بدن انسان استفاده نمود [۱۸].

رفتار شکست مواد، توسط خواص ماده یا مواد سازنده آن، و همچنین با هندسه نمونه آزمایش تعیین می‌شود. هدف علم مکانیک شکست، تحلیل و بررسی سهم این عوامل است، تا در نهایت داده‌های استاندارد برای هر ماده و هندسه قطعه تولید گردد، و در پیش‌بینی رفتار اجزاء، مورد استفاده قرار گیرد. یک اصل بنیادی در مکانیک شکست این است که همه مواد دارای ترک‌های کوچکی هستند که اگر شرایط در نوک این ریز ترک‌ها بحرانی شود، شکست رخ خواهد داد. معیارهای شکست برای بدترین حالت‌ها تعریف می‌شوند و فرض می‌گردد که ترک‌ها تیز هستند و تنش تسلیم مواد در حداقل مقدار خود قرار دارد [۱۹].

برای بررسی رفتار شکست معمولاً سه نوع بارگذاری در نظر گرفته می‌شود، که هندسه باز شدن ترک (مود اول) مهم‌ترین آن‌ها است. مقاومت شکست یک ماده به صورت  $G_{IC}$  (انرژی شکست) تعریف می‌شود، که برابر با مقدار انرژی جذب شده بر سطح واحد شکست تشکیل شده می‌باشد. علاوه بر این، مقاومت شکست یک ماده ممکن است به صورت  $K_{IC}$ ، که ضریب شدت میدان تنش بحرانی در نوک ترک است و چقرمگی شکست خوانده می‌شود، نیز نشان داده شود [۲۰]. چقرمگی شکست، به عنوان یکی از مهم‌ترین خواص مکانیکی مورد استفاده در طراحی سازه‌های مهندسی شناخته شده است [۲۱، ۲۲].

هدف اصلی تولید کامپوزیت ژلما / شیشه زیست‌فعال ۵/۵، بررسی خواص مکانیکی و رفتار شکست آن در مود اول، با استفاده از استاندارد ASTM D5045 می‌باشد [۲۳]، چرا که خواص شکست این کامپوزیت نامعلوم است. سپس رفتار شکست نمونه‌ها به صورت دو بعدی در متلب مدل‌سازی شده تا این رفتار شکست پیش‌بینی شود، و در ادامه از نرم‌افزار آباکوس<sup>۳</sup> استفاده شده تا با استفاده از مدل‌سازی‌های سه بعدی المان توسعه یافته، نتایج حاصل از کدنویسی، با یک نرم‌افزار تجاری مقایسه شود.

در پایان، و از آن جایی که راه حل تحلیلی برای این هندسه خاص از نمونه‌های شکست وجود دارد، نتایج بدست آمده با نتایج روش تحلیلی مقایسه شده است. با صحت سنجی و تایید نتایج مدل‌سازی، می‌توان از مدل‌سازی‌های انجام شده برای تحلیل هندسه‌ها و شرایط گوناگون که راه حل تحلیلی برای آن‌ها وجود ندارد، استفاده نمود.

در اینجا توسعه یک هیدروژل کامپوزیت چند منظوره برای مهندسی بافت استخوان، بر اساس ترکیب یک رشته استرانسیوم و لیتیوم دوتایی شیشه زیست‌فعال در یک هیدروژل نمایان فعال به نور ژلما کشف شد.

1-BG5.5  
2-Gelma  
3-Abaqus



اخیرا مجموعه‌ای از فرمولاسیون‌های جدید شیشه‌های زیست‌فعال، توسعه و بهینه‌سازی شده است که فرمولاسیون شامل  $60\text{SiO}_2-26\text{CaO}-4\text{P}_2\text{O}_5-5\text{SrO}-5\text{Li}_2\text{O}$  (% مول) (به نام شیشه زیست‌فعال ۵/۵) است، که بالاترین سازگاری سلولی و فعالیت آلكالین فسفاتاز<sup>۱</sup> را نشان داده است. در اینجا خواص فیزیکی و شیمیایی شیشه زیست‌فعال ۵/۵ از طریق تجزیه و تحلیل تفاضلی حرارتی<sup>۲</sup>، تجزیه و تحلیل ترموگرافی سنجی<sup>۳</sup> و تجزیه و تحلیل اشعه ایکس<sup>۴</sup> و همچنین طیف سنجی مادون قرمز فوریه<sup>۵</sup> و طیف سنجی انتشار اتم‌های پلاسما به صورت القایی<sup>۶</sup> مشخص شد. همچنین سازگاری سلولی برون‌تنی و زیست‌فعالی شیشه زیست‌فعال ۵/۵ از طریق سمیت سلولی استاندارد و آزمون‌های فعالیت ALP تایید شد. شیشه زیست‌فعال ۵/۵ با پیش‌ساز ژلما مخلوط شده تا هیدروژل‌های کامپوزیتی را از طریق ایجاد پیوند عرضی با نور مرئی تشکیل دهد. سپس ویژگی‌های فیزیکی هیدروژل‌های شیشه زیست‌فعال ژلما ۵/۵ را مانند تخلخل، متورم شدن، تجزیه پذیری، و همچنین خواص مکانیکی، مانند مدول الاستیک، استحکام کششی نهایی، مدول فشاری، استحکام خمشی و برخی دیگر از خواص مکانیکی با استفاده از آزمون‌های استاندارد انجمن آمریکایی (ASTM)، آزمایش و مشخص شد. سپس سازگاری سلولی و استحکام استخوانی کامپوزیت‌ها از طریق کشت سطحی دوبعدی MC3T3-M1 قبل از استخوان سازی بررسی شد. در مجموع، نتایج ما پتانسیل قابل توجهی از هیدروژل‌های شیشه زیست‌فعال ۵/۵ / ژلما برای توسعه داربست‌های چند منظوره با خواص مکانیکی و زیست‌سازگاری ذاتی برای مهندسی بافت استخوان را نشان داد.

## ۲- مواد و روش تحقیق

### ۲-۱- سنتز شیشه زیست‌فعال با استرانسیوم و لیتیوم آلایش یافته

تترا اتیل اورتو سیلیکات ( $\text{TEOS: Si(OC}_2\text{H}_5)_4$ )، تری اتیل فسفات ( $\text{TEP: PO(OC}_2\text{H}_5)_3$ )، نیترات کلسیم  $\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، نیترات استرانسیوم  $\text{Sr(NO}_3)_2$  و لیتیوم نیترات  $\text{LiNO}_3$  به ترتیب به عنوان منبع سیلیکون، فسفر، کلسیم، استرانسیوم و لیتیوم برای سنتز شیشه زیست‌فعال استفاده می‌شود. روش سل-ژل برای سنتز شیشه زیست‌فعال  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SrO-Li}_2\text{O}$  و ترکیبات مختلفی که برای سنتز استفاده می‌شود، در جدول ۱ نشان داده شده است. برای سنتز ۲۵ گرم  $60\text{SiO}_2-26\text{CaO}-4\text{P}_2\text{O}_5-5\text{SrO}-5\text{Li}_2\text{O}$  (%مولی) یک محیط اسیدی با مخلوط کردن ۱۱۶/۹۶ سانتی متر مکعب آب مقطر با ۱۹/۵۰ سانتی متر مکعب اسید نیتریک (۱N) در یک همزن مغناطیسی با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه برای ۳۰ دقیقه ایجاد شد. سپس برای تهیه یک محلول شفاف، ۵۳/۱۶۵ سانتی متر مکعب از تترا اتیل اورتو سیلیکات [مرک  $\text{SiC}_8\text{H}_{20}\text{O}_4$ ] (TEOS) به مخلوط اضافه شد و به مدت ۱ ساعت استیرر شد. بعد از این،

1- Alkaline phosphatase (Alp)

2- Differential Thermal Analysis (DTA)

3- Thermal Gravimetric Analysis (TGA)

4- X-ray diffraction (XRD)

5- Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

6- Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES)



۵/۴۱۳۵ سانتی متر مکعب تری اتیل فسفات [مرک،  $(\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P})(\text{TEP})$ ] به صورت مخلوط یکنواخت اضافه شد و به مدت ۱ ساعت مخلوط شد. برای تولید محلول کلونییدی (SOL)،  $24/371$  گرم کلسیم نیترات ۴ آبه [مرک، خالص،  $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ ،  $4/200$  گرم نیترات استرانسیم [مرک،  $[\text{Sr}(\text{NO}_3)_2]$  و  $2/737$  گرم لیتیم نیترات  $[\text{LiNO}_3 \geq 99\%$ ، سیگما-الدیچ] به طور کامل به محلول در فواصل ۴۵ دقیقه‌ای اضافه شد تا محلول نمک نیترات کامل شود. در نهایت پس از هم زدن مخلوط نهایی به مدت ۱ ساعت، یک سل همگن و شفاف تشکیل شد. برای تشکیل شبکه یکپارچه (ژل)، سل سنتز شده در یک ظرف پیرکس ریخته شده و به مدت ۳ روز در دمای  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد انکوبه می‌شود. آب به طور کامل خارج شد و سوراخ‌های کوچکی روی درب ظرف تعبیه شد تا گازهای تولید شده بعد از گرم کردن ژل به مدت ۳ روز در  $75^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد خارج شود. بعد از آن، ژل‌های حاصل در یک آسیاب گلوله‌ای آسیاب شده و به مدت ۳ ساعت در دمای  $650^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد (به وسیله تجزیه و تحلیل TGA / DTA تعیین شده) با سرعت گرمایی  $5^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد در دقیقه ماند، تا نیترات و ترکیبات آلی حذف شود. در نهایت، پودر تثبیت شده در یک کوره با سرعت  $5^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد در دقیقه خنک شد.

جدول ۱: ترکیبات اسمی شیشه زیست‌فعال ۵/۵ و ۰ (مول٪)

شیشه	برچسب	$\text{SiO}_2$	$\text{CaO}$	$\text{P}_2\text{O}_5$	$\text{SrO}$	$\text{Li}_2\text{O}$
58S	BG	60	36	4	0	0
58S-5mol. % Sr-5mol. % Li	BG-5/5	60	26	4	5	5

## ۲-۲- مشخصه تحلیلی شیشه زیست‌فعال آلایش یافته با استرانسیم و لیتیم

تجزیه و تحلیل حرارتی ژل‌های خشک شده با استفاده از یک دستگاه DSC-50A<sup>۱</sup> برای بررسی انتقال فاز به عنوان تابع درجه حرارت (از دمای اتاق تا دمای  $1100^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد) در یک بوتله پلاتین، تحت گاز  $N_2$  (۵۰ میلی لیتر در دقیقه) با سرعت ثابت ۱۰ درجه سانتیگراد در دقیقه انجام شد. برای تجزیه و تحلیل، تغییرات در ترکیب فاز، قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF<sup>۲</sup>، XRD (INEL-Equinox-3000، فرانسه) بر روی سطوح شیشه زیست‌فعال با استفاده از  $K\alpha$  X-ra با آند مسی در  $40$  کیلو ولت با طول موج  $0.15406$  نانومتر اعمال شد و در  $2\theta$ ، محدوده  $20^\circ$  تا  $50^\circ$  درجه انجام شد. علاوه بر این، FTIR (نیکولت آواتار ۶۶۰، نیکولت) برای ارزیابی تشکیل فاز آپاتیت روی سطح نمونه‌ها، با استفاده از محدوده عدد موجی  $4000-400$   $\text{cm}^{-1}$  مورد استفاده قرار گرفت. شیشه‌های زیست‌فعال دیسک شکل در SBF در دمای  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد برای ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز غوطه‌ور شدند. نسبت مساحت سطح نمونه به حجم SBF  $0.1$  سانتی متر بر میلی لیتر بود. غلظت یون‌های کلسیم، سیلیسیم، فسفر، استرانسیم و لیتیم در محلول SBF از طریق Varian ICP-OES

۱- دستگاهی برای آنالیز گرماسنج روبش تفاضلی

۲- محلول شبیه سازی بدن





زیست‌فعال تعیین شد [۲۴]. (Vista Pro, Palo Alto, USA) در دوره‌های خاص غوطه‌وری بر مبنای تغییرات شیمیایی شیشه‌های

۲-۳- ارزیابی بایولوژیکی شیشه زیست‌فعال با استفاده از استرانسیوم و لیتیوم آلایش یافته  
در این آزمون که MTT نام دارد، اثر شیشه زیست‌فعال برای تکثیر و زنده نگه داشتن سلول‌های زنده  
بوسیله محلول MTT در محلول فسفات بافر<sup>۲</sup> بررسی شد.

۲-۴- سنتز هیدروژل‌های ژلما و کامپوزیت‌های ژلما/ شیشه زیست‌فعال  
برای سنتز هیدروژل‌های ژلما، ژلاتین پوست خوک نوع A با ۱۰٪ (w/v) و DPBS (GIBCO) در دمای  
۶۰ درجه سانتیگراد مخلوط شد تا محلول شود. سپس آنهیدرید متاکریلیک با سرعت ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه  
به محلول ژلاتین در ۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد تا حجم مناسب اضافه شد و به مدت ۳  
ساعت واکنش انجام شد. برای متوقف کردن واکنش، یک محلول پنج برابر رقیق‌تر با DPBS با دمای گرم (۴۰)  
درجه سانتیگراد اضافه شد و دیالیز با آب مقطر و با استفاده از یک لوله برش خورده ۱۲-۱۴ kDa به مدت ۱  
هفته در ۴۰ درجه سانتیگراد انجام شد. در نهایت، محلول حاصل به مدت ۱ هفته برای تولید فوم متخلخل  
سفید و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تشکیل کامپوزیت‌های ژلما/ شیشه زیست‌فعال  
۵/۵، هر دو ژلما و غلظت‌های مختلف شیشه زیست‌فعال ۵/۵ (۱، ۵، ۱۰ و ۲۰٪ (w/v)) به یک شبکه پلیمری  
متصل شد. که از یک نور قابل مشاهده فعال، سیستم فتوسنتز به عنوان تصویر منتشر شده توضیح داده شده  
است [۲۵]. به طور خلاصه، ۱۰٪ ژلما (w/v) با محلول حاوی تری اتانولامین ((TEA, 1.88% (w/v)، N-  
وینیل کاپرولاکتام (VC, 1.25% (w/v) و نمک دی سدیم اوسین Y (۰/۵ میلی مولار) مخلوط شد. ایجاد پیوند  
عرضی از طریق نور مرئی<sup>۳</sup> برای هیدروژل‌ها در  $100 \text{ mW cm}^{-2}$  با استفاده از یک منبع نور جراحی زنون (۴۵۰  
تا ۵۵۰ نانومتر) انجام شد [۲۵].

## ۲-۵- مشخصات مکانیکی

دستگاه مکانیکی تست کشش Instron 5542 برای ارزیابی مشخصات مکانیکی سازه‌ها با استفاده از  
آزمون‌های کششی و فشاری استفاده شده است، [۲۵، ۲۶]. به طور خلاصه، از قالب‌های پلی دی متیل  
سیلوکسان<sup>۴</sup> برای شکل‌گیری نمونه‌های تست تراکم ژلما/ شیشه زیست‌فعال (استوانه‌ای، قطر: ۷ میلی متر،  
ارتفاع: ۴ میلی متر) و همچنین نمونه‌های کششی (مستطیلی، طول: ۱۲/۰۰ میلی متر، عرض: ۵/۰۰ میلی متر،  
عمق: ۱/۵ میلی متر) استفاده شد. برای تست‌های کشش، نمونه‌های مستطیلی ژلما/ شیشه زیست‌فعال بین دو  
دسته کششی بارگذاری شده و با سرعت ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه تا شکستگی کشیده شد. مدول فشردگی  
به عنوان شیب قسمت خطی منحنی تنش-کرنش بین ۰ میلی متر / میلی متر و کرنش فشاری ۰/۱ میلی متر

۳- آزمونی برای سنجش میزان سمیت مواد

4- Phosphate buffered saline (PBS)  
1- Photocrosslinking  
2- Polydimethylsiloxane(PDMS)



/ میلی متر تعیین شد. نتایج به صورت انحراف متوسط و استاندارد گزارش شد و حداقل برای هر گروه ۴ نمونه مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲-۶-آزمون خمش

آزمون خمش به صورت سه نقطه ای روی کامپوزیت ژلما/ شیشه زیست فعال انجام شد و نتایج آن با نتایج اورفیس [۶۶] که خمش چهار نقطه ای است مقایسه شد.

## ۲-۷-آزمون شکست خمشی

برای آزمون شکست خمشی ابتدا چقرمگی و انرژی شکست کامپوزیت براساس استاندارد ASTM D5045 تعیین شد. سپس نمونه‌ها در قالب سیلیکونی قرار گرفتند و خمش سه نقطه ای با سرعت ۱۰ میلی متر/ دقیقه انجام شد. که در صورت برقراری رابطه (۱)  $K_Q$  به عنوان چقرمگی شکست و  $G_Q$  به عنوان انرژی شکست در نظر گرفته می‌شود [۶۷].

$$B, a, (w - a) > 2.5 \left[ \frac{K_Q}{\sigma_y} \right]^2 \quad (1)$$

$$J = \int_A \left[ \sigma \frac{\partial u_i}{\partial x_1} - w \delta_{1j} \right] \frac{\partial q}{\partial x_j} dA \quad (2)$$

ضرایب شدت تنش، مهم‌ترین پارامترهای شکست هستند، که از آن‌ها برای بدست آوردن تنش در اطراف ترک، کرنش و میدان‌های جابجایی در تئوری مکانیک شکست الاستیک خطی استفاده می‌گردد. که در سیستم مختصات محلی نوک ترک  $(x_1, x_2)$  قرار دارد برای محاسبه ضرایب شدت تنش، انتگرال  $J$  مساحتی در رابطه (۲) ارائه شده است، که می‌توان آن را روی یک ناحیه از مش المان محدود اعمال نمود. بر اساس انتگرال  $J$  مساحتی ارائه شده در رابطه (۲)، انتگرال اثر متقابل به صورت زیر تعریف می‌شود [۶۸]:

$$I^{1,2} = \int_A \frac{\left[ -w^{(1,2)} \delta_{1j} + \sigma_{ij}^{(1)} \frac{\partial u_i^{(2)}}{\partial x_1} + \sigma_{ij}^{(2)} \frac{\partial u_i^{(1)}}{\partial x_1} \right] \partial q}{\partial x_j} dA \quad (3)$$

که در آن، توان‌های ۱ و ۲، به ترتیب اشاره به حالت اصلی (۱) و حالت فرضی (۲) دارند. برای بدست آوردن جابجایی، کرنش و تنش حالت اصلی (۱)، که  $\epsilon_{ij}^{(1)}$  و  $\sigma_{ij}^{(1)}$  می‌باشند، معادله تعادل المان محدود توسعه یافته،  $KU=F$  حل می‌شود. برای بدست آوردن جابجایی، کرنش و تنش حالت فرضی (۲)، که  $\epsilon_{ij}^{(2)}$  و  $\sigma_{ij}^{(2)}$  می‌باشند، یک میدان تقریبی مود اول خالص فرض می‌شود، که در آن  $k_I^{(2)}=1$  و  $k_{II}^{(2)}=0$ ؛ تا انتگرال کانتور  $I^{(1)}$  از رابطه (۳) بدست آید. به طور مشابه، با فرض میدان تقریبی مود دوم خالص، که در آن  $K_I^{(2)}=0$  و  $K_{II}^{(2)}=1$ ، انتگرال کانتور  $I^{(2)}$  بدست می‌آید. انتگرال کانتور ارائه شده در رابطه (۳) را می‌توان به صورت عددی و با استفاده از قانون انتگرال گیری گاوس، روی هر المان محاسبه نمود [۶۸]:

$$I^{(1,2)} = \sum_{m=1}^{N_{Gauss}} \left\{ \left( -w^{(1,2)} \delta_{1j} + \sigma_{ij}^{(1)} \frac{\partial u_i^{(2)}}{\partial x_1} + \sigma_{ij}^{(2)} \frac{\partial u_i^{(1)}}{\partial x_1} \right) \frac{\partial q}{\partial x_j} \right\}_m w_m detJ \quad (4)$$



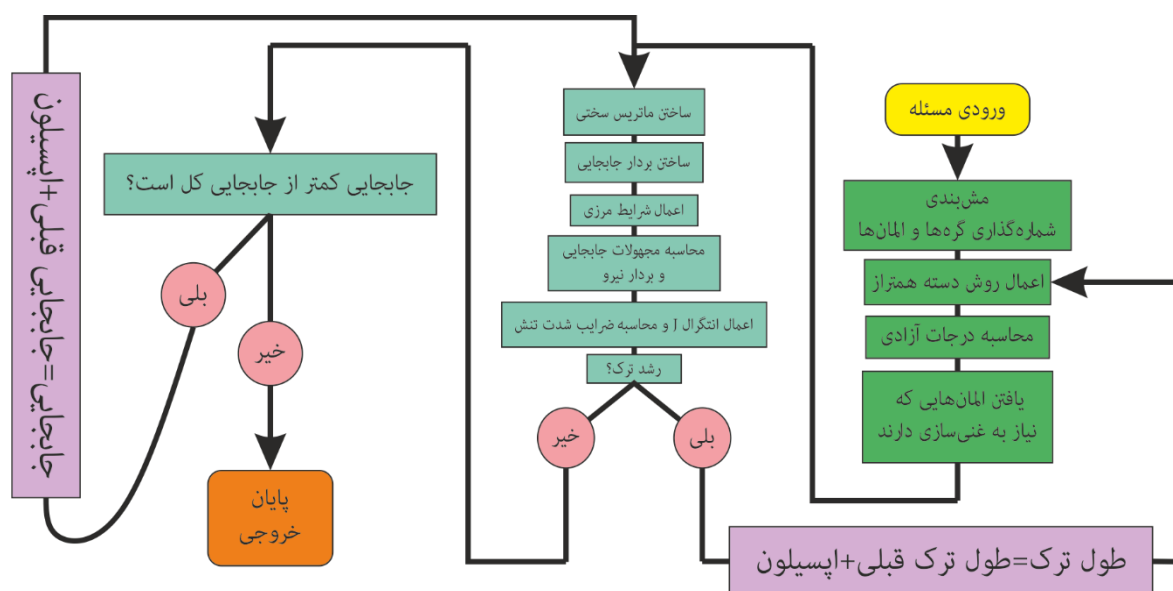
که در آن،  $N^{\text{Gauss}}$  تعداد نقاط انتگرال گیری در هر المان،  $w_m$  فاکتور وزنی گاوس، و  $J$  ماتریس ژاکوبین می‌باشد. با جایگذاری انتگرال‌های  $I^{(1)}$  و  $I^{(2)}$  بدست آمده از رابطه (۴) در روابط زیر، ضرایب شدت تنش مود اول و دوم بدست می‌آیند [۶۸]:

$$K_I^{(1)} = \frac{E'}{2} I_I^{(1)} \quad (5)$$

$$K_{II}^{(1)} = \frac{E'}{2} I_{II}^{(1)}$$

که در آن، برای حالت‌های تنش صفحه‌ای و کرنش صفحه‌ای، به ترتیب،  $E' = E$  و  $E' = \frac{E}{1-\nu^2}$  می‌باشد.

## ۸-۲- روش المان محدود توسعه یافته



شکل ۱- فلوچارت حل مسئله با استفاده از روش المان محدود توسعه یافته

شکل ۱ نشان دهنده فلوچارت مربوط به حل مسئله با استفاده از روش المان محدود توسعه یافته در متلب می‌باشد. پس از مش‌بندی دامنه حل، از روش دسته همتراز [۶۹] استفاده می‌شود تا مکان ترک در دامنه مشخص شود. پس از انجام محاسبات مربوط به المان محدود و محاسبه مجهولات جابجایی و نیرو، از روش انتگرال  $J$  استفاده شده تا ضرایب شدت تنش و نرخ آزادسازی انرژی کرنشی محاسبه گردد. با مقایسه ضریب شدت تنش مود اول محاسبه شده با مقدار چقرمگی شکست، مشخص می‌شود که آیا ترک رشد خواهد کرد یا





خیر. در صورتی که ترک رشد نماید، از روش دسته همتراز استفاده می‌شود تا مکان جدید ترک محاسبه شود و فرایند تکرار می‌شود. این فرایند تا زمانی که جابجایی بین فشاری بالای نمونه به مقدار تعیین شده خود برسد، ادامه خواهد داشت. ضرایب شدت تنش، مهم‌ترین پارامترهای شکست هستند، که از آن‌ها برای بدست آوردن تنش در اطراف ترک، کرنش و میدان‌های جابجایی در تئوری مکانیک شکست الاستیک خطی استفاده می‌گردد.

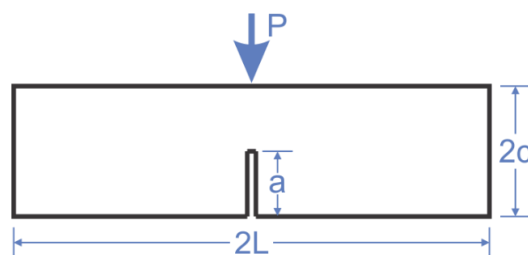
## ۹-۲- روش تحلیلی

در این بخش، از حل تحلیلی مسئله آزمون شکست خمشی ارائه شده توسط فت<sup>۱</sup> [۷۰] استفاده شده است تا نتایج عددی بدست آمده از متلب و آباکوس برای ضریب شدت تنش مود اول با حل تحلیلی مسئله مقایسه شوند. ضریب شدت تنش مود اول از رابطه (۶) محاسبه می‌گردد [۷۰]:

$$K_I = \sigma_0 F \sqrt{\pi a} \quad (6)$$

که در آن  $\sigma_0 = \frac{3PL}{BW^2}$  و  $F = \frac{F'}{(1-\frac{a}{W})^2}$ ؛ و  $F'$  در جدول‌های مربوطه [۷۰]، بر اساس مقدار  $L/W$  داده شده است. شکل

۲ نشان دهنده شماتیک کلی مسئله است؛ در مسئله حاضر،  $L=25\text{mm}$ ،  $B=6\text{mm}$ ،  $W=2c=15\text{mm}$  و  $P$  نیروی اعمال شده می‌باشد.



شکل ۲- شماتیک آزمون شکست خمشی برای راه حل تحلیلی مسئله ارائه شده توسط فت [۷۰]

حل تحلیلی ارائه شده، مربوط به هندسه خاص آزمون شکست خمشی<sup>۲</sup> می‌باشد. از نتایج این حل استفاده شده تا دقت روش المان محدود توسعه یافته ارزیابی گردد. با تایید مدل‌سازی انجام شده، می‌توان از روش المان محدود توسعه یافته برای مدل‌سازی هندسه‌های متفاوت که حل تحلیلی برای آن‌ها وجود ندارد، استفاده نمود.

## ۱۰-۲- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)<sup>۳</sup>

به منظور تجسم توزیع ذرات شیشه زیست‌فعال در شبکه هیدروژل ژلما با استفاده از میکروسکوپ الکترونی هیتاچی S-4800 (۱۰ کیلو ولت)، نمونه‌های استوانه‌ای شکل ژلما/ شیشه زیست‌فعال ۵/۵ (قطر ۷ میلی‌متر، ارتفاع ۲ میلی‌متر) تهیه، و بوسیله یخ خشک و پودر طلا / پالادیوم (Au / Pd) قبل از تجسم پوشش داده شد.

## ۱۱-۲- قابلیت تورم برون تنی

1-Fett

2-SENB

3-Scanning electron microscope (SEM)



به منظور بررسی تورم‌پذیری کامپوزیت‌ها، نمونه‌های استوانه‌ای ژلما/ شیشه زیست‌فعال به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به مدت ۱ روز به صورت منجمد، خشک<sup>۱</sup> شدند. و در نهایت نمونه‌ها در DPBS در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد جوشانده شد. هر کدام از این پنج نمونه به مدت یک شب در DPBS تحت این شرایط قرار گرفتند. بعد از این، مایع اضافی از نمونه‌ها حذف شد و تغییرات در توده تعیین شد. نسبت تورم با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$\frac{(Ws - Wd)}{Wd} = \text{نسبت تورم} \quad (۷)$$

جایی که (Ws) و (Wd) وزن نمونه‌های خشک و مرطوب را نشان می‌دهد.

## ۱۲-۲- تخریب برون‌تنی

نمونه‌های استوانه‌ای ژلما/ شیشه زیست‌فعال خشک، وزن و سپس در ۲۴ عدد بشقاب با ۱ میلی لیتر DPBS با افزودن ۱۰٪ FBS در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳ هفته انکوباسیون شدند. پس از ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز غوطه‌وری، مایع حذف شد و نمونه‌ها یک شبه یخ زده و وزن شدند. درصد تخریب در زمان t (%Dt) هیدروژل‌ها با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$\frac{(Wi - Wt)}{Wi} = \text{درصد تخریب} \quad (۸)$$

جایی که (Wi) و (Wt) وزن اولیه و وزن خشک در زمان t برای ژلما/ شیشه زیست‌فعال است.

## ۱۳-۲- زیست‌پذیری، تکثیر و فعالیت سوخت و ساز سلول‌ها

زیست‌پذیری و تکثیر سلول‌ها، ۱، ۳ و ۵ روز بعد از کشت به ترتیب بوسیله آزمون تجاری زنده/مرده<sup>۲</sup> و رنگ آمیزی فلورسنت<sup>۳</sup> f-actin / DAPI مورد بررسی قرار گرفت [۲۷]. همچنین فعالیت متابولیسمی سلول‌های MCT3T-M1 که روی سطح رشد می‌کند نیز توسط DPBS تعیین شد.

## ۱۴-۲- فعالیت آلکالین فسفاتاز (ALP)

این آزمون وسیله‌ای برای ارزیابی فعالیت استخوان‌سازی سلول‌های MC3T3-E1 در نمونه‌های شیشه زیست‌فعال، با استفاده از کیت تجاری ALP<sup>۴</sup> و دستورالعمل‌های تولید کننده است [۲۸].

## ۳- نتایج و بحث

### ۱-۳- مشخصات حرارتی شیشه زیست‌فعال ۵/۵

در ابتدا رفتار حرارتی پودر خشک‌شده شیشه زیست‌فعال ۵/۵ مشخص شد. تجزیه و تحلیل DTA (شکل ۱a) و منحنی TGA (شکل ۱b) مربوط به پودر شیشه زیست‌فعال به صورت آماده نشان داد که اولین پودرگرم‌گیر در حدود ۱۵۰ درجه سانتیگراد ظاهر شد که مربوط به از دست رفتن جذب فیزیکی آب در شبکه

4-Lyophilize  
1-Invitrogen

3-Sigma

۲- روشی برای مطالعه و تحلیل چرخه و هسته سلولی



شیشه‌ای و تبخیر اتانول بود [۴۶-۴۹]. پیک‌های دوم و سوم مربوط به تراکم گروه‌های سیلانول و حذف نیترات بود که به ترتیب در ۳۹۰-۴۳۰ درجه سانتیگراد و ۴۶۵-۴۳۵ درجه سانتیگراد رخ داد. به علت تکمیل واکنش شیمیایی و انتشار محصولات واکنش فرار، تغییرات قابل توجهی در بیش از ۷۰۰ درجه سانتیگراد مشاهده نشد. پیک‌های گرماده مربوط به شروع کریستاله شدن برای شیشه زیست فعال ۵/۵ به ترتیب حدود ۱۰۰۰ و ۹۰۰ درجه سانتیگراد بود. بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل DTA، ۷۰۰ درجه سانتیگراد برای تثبیت شیشه‌های زیست فعال انتخاب شد.

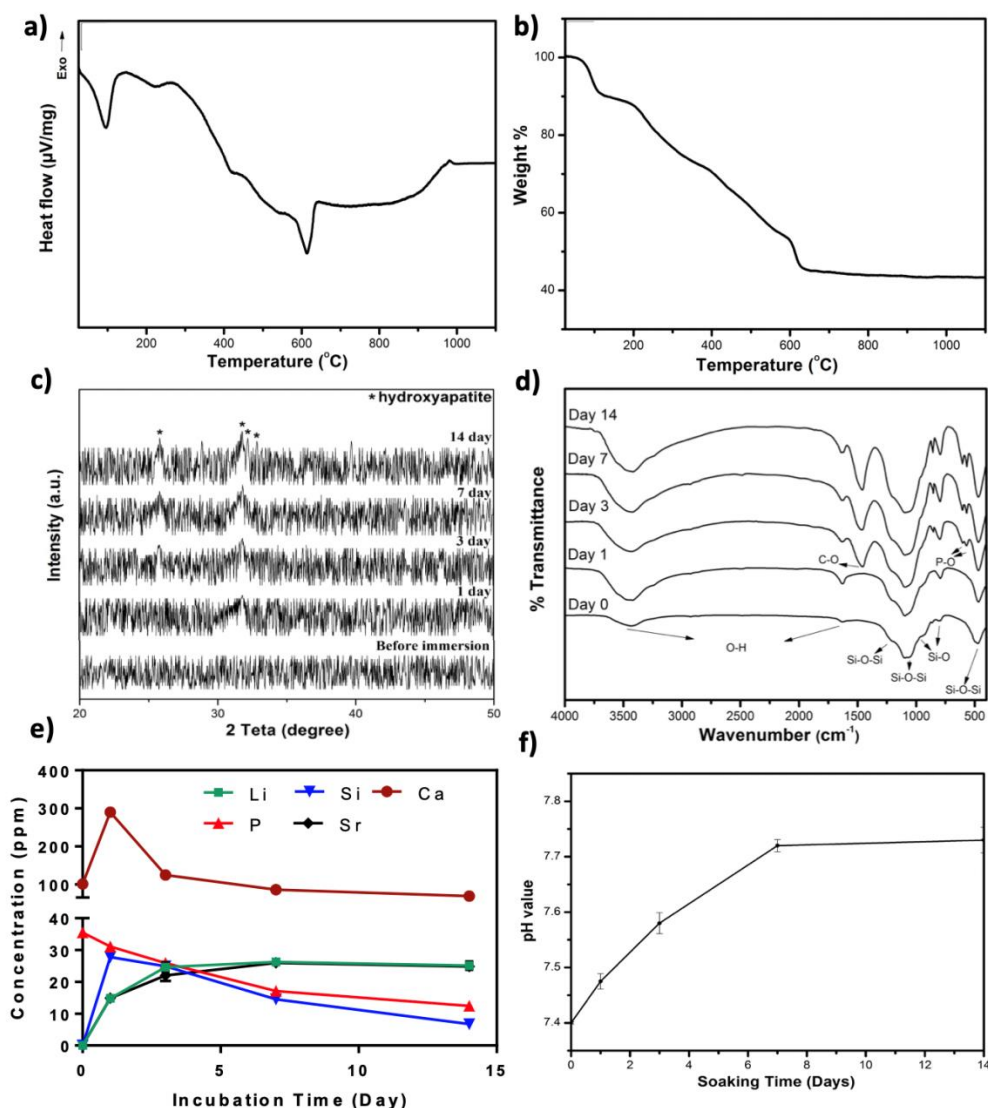
## ۲-۳- تجزیه پراش اشعه ایکس شیشه زیست فعال

شیشه‌های زیست فعال باعث تشدید فرایند پیوند استخوانی از طریق ایجاد یک لایه آپاتیت بین فازی می‌شوند که با استخوان طبیعی در محیط بایولوژیکی ارتباط دارد. این پدیده همچنین می‌تواند در داخل آزمایشگاه از طریق غوطه‌وری در یک محلول غیرسلولی شبیه‌سازی شده بدن (SBF) که دارای غلظت یونی مشابه پلاسمای خون انسان است، سنجیده شود [۵۰]. بنابراین، هدف ما ارزیابی توانایی شیشه زیست فعال ۵/۵ برای ترویج تشکیل یک لایه آپاتیت لایه‌ای در SBF در شرایط آزمایشگاهی است. تجزیه و تحلیل XRD نمونه‌های شیشه زیست فعال قبل از غوطه‌وری در SBF، ساختار بی‌شکل و طبیعت شیشه‌ای آن را تأیید کرد، که نشان دهنده عدم وجود پیک‌های مشخص (شکل ۱c) است. سپس نمونه شیشه زیست فعال ۵/۵ در SBF به مدت ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز غوطه‌ور شد. پس از ۱ روز غوطه‌وری، ساختار سطوح بی‌شکل باقی ماند، همانگونه که به وسیله عدم وجود پیک‌های متناظر در الگوهای XRD تایید شده است (شکل ۱c). به ترتیب، طبق استاندارد دراستانداردهای دیفرانسیل پودر (JCPDS) کارتها (۰۶۹۴-۷۶)، حداکثر پراکندگی در ۲۵/۸ و ۳۱/۸ (2teta) مطابق با (۲۰۰) و (۲۱۱) صفحات اتمی در شبکه آپاتیت بود. پس از ۳ روز غوطه‌وری، پیک‌های جدید به ترتیب ۲۵/۸ و ۳۱/۸ برای شیشه زیست فعال ۵/۵ ظاهر شدند (شکل ۱c). پس از ۷ روز غوطه‌ور شدن، افزایش شدت پیک‌های مربوط به صفحه‌های (۲۰۰) و (۲۱۱) برای شیشه زیست فعال ۵/۵ به دلیل افزایش تشکیل آپاتیت مشاهده شد. این با ظهور یک پیک در ۳۱/۸ همراه بود، که مربوط به صفحات اتمی (۲۱۱) بود. این مشاهدات نشان می‌دهد که افزایش تدریجی در تشدید پیک‌های صفحه (۲۱۱) از روز ۷ تا روز ۱۴ وجود داشته است، که نشان از تشکیل آپاتیت در سطح شیشه زیست فعال بود. علاوه بر این، بلوغ لایه جدید آپاتیت تشکیل شده بر روی سطح شیشه زیست فعال ۵/۵ پس از ۱۴ روز نیز با شناسایی پیک‌های جدید در ۳۲/۱۸ و ۳۲/۸۶ نشان داده شد که به ترتیب مربوط به کریستالی شدن صفحات اتمی (۱۱۲) و (۳۰۰) در شبکه آپاتیت بود [۵۱]. در مجموع نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل XRD، فعالیت زیستی شیشه زیست فعال را تایید کرد، که نشان دهنده ظهور پیک‌های مشخص در صفحه (۰۰۲) و (۲۱۱) اتمی در شبکه آپاتیت در ۲۵/۸، ۳۱/۸ (2teta) و همچنین پیک مربوط به صفحات اتمی (۱۱۲) و (۳۰۰) بود.

## ۳-۳- مشخصه FTIR شیشه زیست فعال ۵/۵



طیف سنجی FTIR برای ارزیابی تشخیص آپاتیت بر روی سطح شیشه زیست‌فعال قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF مورد استفاده قرار گرفت، که با تغییرات در گروه‌های عملکردی مشاهده شده در محدوده  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  با وضوح  $8\text{ cm}^{-1}$  آشکار شد. قبل از غوطه‌ور شدن در SBF، طیف FTIR نمونه‌های شیشه زیست‌فعال ۵/۵، باند مشخصه مربوط به شبکه سیلیکات را نشان داد، که نشان دهنده حضور  $\text{SiO}_2$  می‌باشد. نتایج ما نشان داد که همه طیف‌ها توزیع مشابهی را در مورد موقعیت‌های مختلف پیک‌های مشخصه نشان می‌دهد (شکل ۱d). برای همه دوره‌های غوطه‌وری، باندهای مادون قرمز اصلی در  $1250\text{ cm}^{-1}$  و  $1066$ ،  $922$ ،  $790$ ،  $470$ ، کشش متقارن Si-O-Si، کشش متقارن Si-O از اتم‌های اکسیژن بین چهار وجهی، Si-O کشش غیر برابر اتم‌های اکسیژن، کشش متقارن Si-O-Si و کشش نامتقارن Si-O-Si به ترتیب بود (شکل ۱d). گروهی که در  $609\text{ cm}^{-1}$  سانتیمتر مربع قرار دارد، مطابق با ارتعاش نامتقارن  $\text{PO}_4^{3-}$  بود [۵۲]، در حالیکه حالت کشش گروه OH در  $3500$  و  $1651\text{ cm}^{-1}$  ظاهر شد. نتایج ما همچنین نشان داد که ظهور پیک‌های جدیدی در طیف FTIR وجود دارد که تشکیل آپاتیت بر روی سطح شیشه زیست‌فعال در زمان غوطه‌وری بعدی را تایید می‌کند (شکل ۱d) [۵۳]. به عنوان مثال، دو پیک اضافی در حدود  $870$  و  $1455\text{ cm}^{-1}$  در طیف FTIR برای شیشه زیست‌فعال مشاهده شد، که مربوط به کشش در گروه‌های کربناته C-O با گروه  $\text{PO}_4^{3-}$  در شبکه آپاتیت پس از ۳ روز غوطه‌وری در SBF بود. علاوه بر این، نوارهای مربوط به جذب P-O به عنوان دو پیک حل شده با شدت افزایش در  $570$  و  $600\text{ cm}^{-1}$  ظاهر شد که مشخصه آپاتیت بلورین است [۵۴]. در مجموع، الگوهای پراش اشعه X (شکل ۱c) و FTIR طیف (شکل ۱d) تشکیل و بلورینگی آپاتیت تازه تشکیل شده بر روی سطوح شیشه زیست‌فعال را تایید کرد که به طور مستقیم نشان دهنده فعالیت زیست‌سازگار آنها بود.



شکل ۳- سنتز و خصوصیات مولکولی شیشه زیست‌فعال (a) DTA و (b) منحنی TGA شیشه زیست‌فعال ۵/۵ تا ۱۱۰۰ درجه سانتیگراد. (c) الگوهای XRD شیشه زیست‌فعال ۵/۵ قبل از غوطه‌وری در SBF و پس از ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF. (d) طیف FTIR شیشه زیست‌فعال ۵/۵ قبل و بعد از ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF. (e) تغییر غلظت عنصر در SBF در زمان غوطه‌وری مختلف برای کلسیم (Ca)، سیلیکون (Si)، فسفر (P)، استرانتیوم (Sr) و لیتیوم (Li). (f) تغییرات pH در طی ۱۴ روز غوطه‌وری نمونه‌های شیشه زیست‌فعال ۵/۵ در SBF است.

#### ۳-۴- بررسی محصولات انحلال یون شیشه زیست‌فعال ۵/۵ در SBF

شیشه‌های زیست‌فعال‌ها با تشکیل هیدروکسی آپاتیت اتصال محکمی با استخوان بومی برقرار می‌کنند، بنابراین، از ICP-OES برای بررسی غلظت یون‌های Ca، Si، P، Sr و Li از شیشه زیست‌فعال در طول زمان‌های مختلف غوطه‌ور شدن (به عنوان مثال، ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز) در SBF استفاده شد. نتایج نشان داد که غلظت یون‌های کلسیم پس از ۱ روز غوطه‌وری افزایش (شکل ۱) و سپس در روز ۳ به سرعت کاهش می‌یابد. این





مشاهدات بیشتر نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل‌های XRD و FTIR را تایید کرد که نشان می‌دهد هیچ پیکی نشان‌دهنده تشکیل آپاتیت پس از یک روز غوطه‌وری در SBF نیست. همچنین کاهش غلظت Ca محلول در SBF به علت شکل‌گیری HCA است (شکل ۱۴)، [۵۲]. با توجه به خصوصیات تحلیلی شیشه زیست‌فعال از طریق XRD، FTIR و ICP-OES فعالیت زیستی فرمولاسیون را تایید می‌کند، که شکل‌گیری HCA پس از غوطه‌وری در SBF را نشان می‌دهد. سپس با هدف تشکیل هیدروژل‌های کامپوزیتی زیست‌فعال از ترکیب شیشه زیست‌فعال با یک شبکه پلیمری بسیار سازگار با سلول، می‌تواند حمایت کند از ضمیمه و تکثیر سلول‌های پیشرو که به ترتیب بازسازی استخوان را انجام می‌دهد.

### ۵-۳- سنتز و مشخصات فیزیکی هیدروژل‌های ژلما/ شیشه زیست‌فعال

علیرغم فعالیت بایولوژیکی ذاتی شیشه‌های زیست‌فعال، استفاده از آن‌ها به عنوان مواد داربست برای مهندسی بافت استخوان به علت شکنندگی ذاتی و عدم توانایی آن‌ها برای حمایت از تکثیر سلولی محدود شده است. در مقابل، یک ماده بایولوژیک ایده‌آل باید به عنوان یک قالب شبیه‌سازی بایولوژیکی عمل کند که بازسازی سازه‌های آسیب دیده در محل زخم را ترویج دهد. برای این شیشه‌های زیست‌فعال باید دارای ریزساختارهای کافی باشد که تخلخل و ساختار متصل‌شده استخوان طبیعی را تقلید کند، که به نوبه خود می‌تواند سبب افزایش رشد بافت‌های اتولوگ<sup>۱</sup> و افزایش مناسب رگ‌زایی در داخل بدن شود [۵۶]. علاوه بر این، اگرچه ماهیت آبدوستی فراوان هیدروژل‌ها باعث ایجاد یک ریز محیط شبیه سازی شده بایولوژیکی می‌شود، جذب بیش از حد آب توسط هیدروژل بر روی خواص فیزیکی آن تاثیر می‌گذارد و مهاجرت سلولی و رتینوپاتی پرولراتیو<sup>۲</sup> تکثیری را مختل می‌کند [۵۷]. علاوه بر این، داربست‌ها باید بتوانند با نرخی که با تشکیل بافت جدید سازگار است، کاهش یابد و به مواد غیرسمی تبدیل شود که می‌تواند به راحتی توسط بدن متابولیزه شود [۵۸].

در اینجا، مواد بایولوژیکی کامپوزیتی با قابلیت افزایش کارایی مهندسی بافت برای استخوان، با ترکیب یک شیشه زیست‌فعال استخوان‌زا به یک شبکه هیدروژل ژلما+ با سازگاری سلولی بالا ساخته شد. ابتدا، با استفاده از فرمولاسیون پایه شیشه زیست‌فعال، با استفاده از استخوان‌زایی اولیه MC3T3-M1 و سمیت سلولی استاندارد و آزمون‌های فعالیت ALP، سازگاری سلولی و فعالیت ALP پایه فرمولاسیون شیشه زیست‌فعال در شرایط برون‌تنی تایید شد. نتایج نشان داد که سلول‌ها در حضور فرمول شیشه زیست‌فعال گسترش می‌یابند و فعالیت ALP به طور قابل توجهی تا ۷ روز از کشت افزایش می‌یابد.

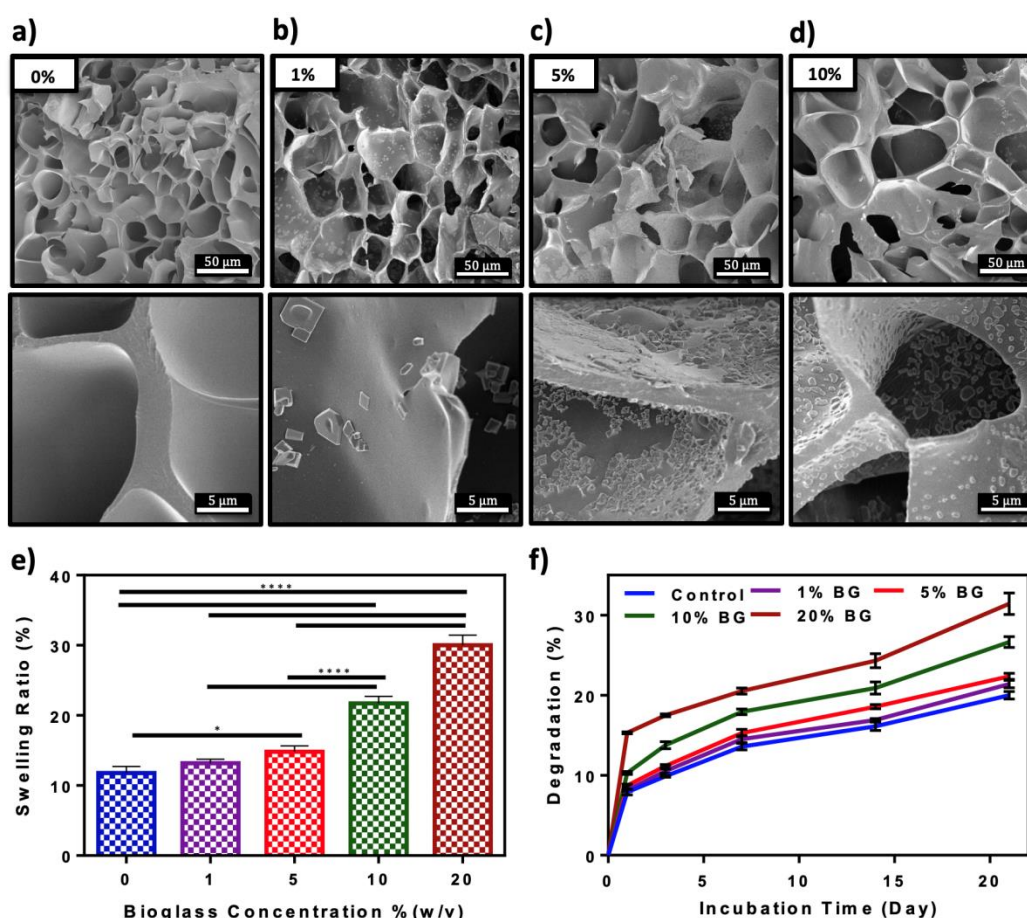
برای تشکیل کامپوزیت‌ها، غلظت‌های مختلف شیشه زیست‌فعال ۵/۵ (یعنی ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰٪ (w/v)) با ۱۰٪ (w/v) پیش ماده ژلما مخلوط شد، و سپس به وسیله ایجاد پیوند عرضی با نور از طریق نورمرئی انجام شد [۲۵]. سپس خصوصیات فیزیکی کامپوزیت‌های مهندسی شده از جمله تخلخل، قابلیت تورم و قابلیت

۱- بافت‌های گرفته شده از بدن

۲- حالتی است که رگهای خونی جدید و غیر طبیعی بر روی سطح شبکه رشد می‌کند



تجزیه‌پذیری آن در شرایط برون‌تنی مشخص شد. اولاً، کامپوزیت‌های هیدروژل با استفاده از قالب‌های استوانه‌ای (قطر ۷ میلی‌متر، ارتفاع ۲ میلی‌متر)، یخ خشک و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تشکیل شد. میکروگرافی SEM میکروساختارهای منافذ نامنظم و همبسته را برای همه نمونه‌هایی که دارای غلظت‌های مختلف شیشه زیست‌فعال (۰، ۱، ۵ و ۱۰٪) بودند نشان داد. علاوه بر این، مقدار ذرات شیشه زیست‌فعال ۵/۵ پراکنده در داخل شبکه پلیمر در غلظت بالاتر شیشه زیست‌فعال (شکل ۲a-d) افزایش می‌یابد. تخلخل کامپوزیت‌ها برای دستیابی به تکثیر و مهاجرت کافی سلولی در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی حیاتی است.



شکل ۴- بررسی برون‌تنی تخلخل، تورم و تجزیه‌پذیری کامپوزیت‌های شیشه زیست‌فعال ۵/۵ ژلما. تصاویر SEM نماینده کامپوزیت‌های سنتز شده با استفاده از ۱۰٪ (w/v) ژلما و (a) ۰٪، (b) ۱٪، (c) ۵٪ و (d) ۱۰٪ (w/v) غلظت شیشه زیست‌فعال ۵/۵ (e) نسبت تورم و (f) میزان تخریب کامپوزیت‌های ژلما/شیشه زیست‌فعال که در (DPBS) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انباشته می‌شود. داده‌ها به صورت میانگین (SD ± 0.05، \* p < 0.01، \*\* p < 0.001، \*\*\* p < 0.0001، \*\*\*\* p < 0.0001 و n ≥ 5).



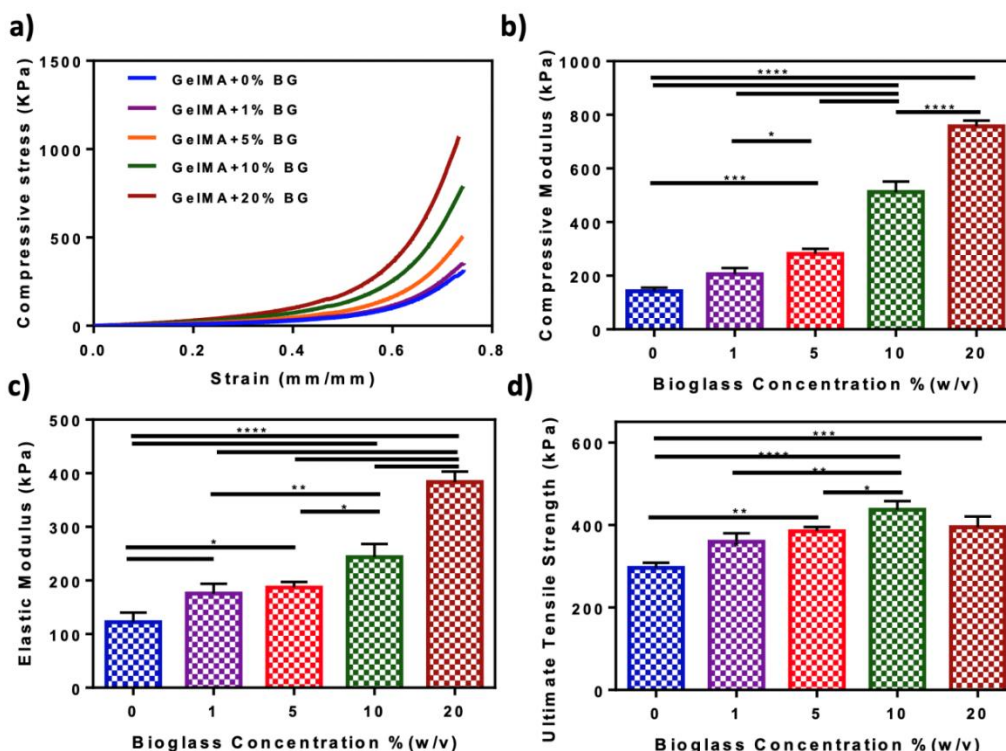
غلظت هیدروژل ژلما / شیشه زیست‌فعال با قراردادن کامپوزیت‌ها در محلول فسفات بافر در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت یک شب بررسی شد. نتایج ما نشان داد که با افزایش غلظت شیشه زیست‌فعال از ۰٪ به ۲۰٪، نسبت تورم کامپوزیت‌ها پس از ۲۴ ساعت، به طور قابل توجهی از  $0.77 \pm 11.78\%$  به  $11.17 \pm 30.02\%$  افزایش یافت (شکل ۲e). این افزایش ظرفیت تورم مشاهده شده در غلظت‌های بالاتر شیشه زیست‌فعال همچنین منجر به تخریب درصد بالایی در شرایط برون‌تنی شد (شکل ۲f). افزایش غلظت شیشه زیست‌فعال باعث ایجاد تخلخل بیشتر شده است که مشکلی ایجاد نمی‌کند چون، تخلخل امری ضروری در رشد بافت‌های طبیعی است. همچنین ترکیب غلظت‌های بالاتر شیشه زیست‌فعال به ژلما می‌تواند تراکم اتصال متقابل بین زنجیره‌های پلیمری را کاهش دهد، که ممکن است باعث تشکیل شبکه‌های کم هیدروژل با قابلیت جذب آب بیشتر شود. علاوه بر این، با توجه به افزایش جذب آب، کامپوزیت‌ها با غلظت بالاتر شیشه زیست‌فعال نیز میزان تخریب در شرایط برون‌تنی و کاهش استحکام را نشان دادند. به همین دلیل می‌توان از شیشه زیست‌فعال با اندازه ذرات کوچک‌تر استفاده کرد تا پیوندها تشکیل شده بیشتر باشد. در مقابل، گروه‌های پیشین گزارش داده‌اند که ترکیب انواع مختلف بایوسرامیک به کامپوزیت‌های مبتنی بر هیدروژل اغلب منجر به کاهش اندازه منافذ و جاذب بودن داربست می‌شود [۶۱-۵۹].

### ۳-۶- مشخصات مکانیکی کامپوزیت‌های شیشه زیست‌فعال ۵/۵ / ژلما

اثر افزایش غلظت شیشه زیست‌فعال ۵/۵ در خواص مکانیکی کامپوزیت‌ها مشخص شد (شکل ۳). ابتدا، کامپوزیت‌های هیدروژل با اضافه کردن مستقیم غلظت‌های مختلف شیشه زیست‌فعال ۵/۵ (یعنی ۱، ۵، ۱۰، و ۲۰٪) به پیش‌سازهای هیدروژل ترکیب و به دنبال آن فوتوکروسبیلینگ از طریق نور مرئی انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت شیشه زیست‌فعال ۵/۵ در هیدروژل‌های ژلما منجر به تنش فشاری بیشتر، بطور مداوم (شکل ۳a) و مدول‌های فشاری (شکل ۳b) می‌شود. به طور خاص، مدول فشاری هیدروژل‌ها از  $10.29 \pm 142.49$  کیلو پاسکال به  $32.25 \pm 511.83$  کیلو پاسکال و از  $17.75 \pm 75.7$  کیلو پاسکال زمانی افزایش یافته است که غلظت شیشه زیست‌فعال ۵/۵ به ترتیب از ۰٪ به ۱۰٪ و ۲۰٪ افزایش یافته است (شکل ۳b). همچنین نتایج نشان داد که مدول الاستیک (شکل ۳c) و مقاومت کششی نهایی (شکل ۳) کامپوزیت‌ها همزمان با افزایش غلظت شیشه زیست‌فعال افزایش یافت. به عنوان مثال، ترکیب ۲۰٪ شیشه زیست‌فعال ۵/۵ در پیش‌پلیمرهای ژلما باعث افزایش مدول الاستیک هیدروژل‌ها از  $14.37 \pm 122.47$  کیلو پاسکال (هیدروژل خالص ژلما) به  $16.11 \pm 383.4$  کیلو پاسکال (هیدروژل کامپوزیت) (شکل ۳c)، و استحکام کششی نهایی از ۲۹  $\pm 10$  / ۲۹۵/۸ به  $21.01 \pm 394.8$  شده است (شکل ۳d). علاوه بر این، اگرچه هیدروژل‌های سنتز شده با ۱۰٪ شیشه زیست‌فعال ۵/۵ بالاترین مقاومت کششی نهایی را نشان داده‌اند (به عنوان مثال،  $17.56 \pm 436.69$  کیلو پاسکال)، ولی در مقایسه با هیدروژل‌های سنتز شده با استفاده از ۲۰٪ شیشه زیست‌فعال ۵/۵ اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت. همچنین مشاهداتی که مطابق با مطالعات قبلی است نشان داده است که از طریق ترکیب پرکننده‌های شیشه زیست‌فعال معدنی می‌توان خواص مکانیکی شبکه‌های پلیمری نرم را افزایش داد.



کلاژن [۶۲] و ژلاتین [۶۳] گرفته شده از آن به دلیل توانایی در تشدید رگ‌زایی، بهبود زخم و استخوان‌زایی درون تنی پتانسیل بسیار خوبی برای مهندسی بافت استخوان نشان داده است. با این وجود، این پلیمرها معمولاً ظرفیت تحمل بار و مدول الاستیک کمتر، در مقایسه با ترکیب‌های فلزی و سرامیکی نشان می‌دهند [۶۴]. برای پرداختن به این محدودیت، انواع مختلفی از شیشه‌های زیست‌فعال با پلیمرها ترکیب شده‌اند تا پوشش‌های کامپوزیتی، پرکننده‌ها یا داربست‌هایی با فعالیت زیستی و عملکرد مکانیکی افزایش یافته تولید کنند [۵۹]. این موضوع بسیار مهم است زیرا خواص مکانیکی شیشه زیست‌فعال باید برای دستیابی به عملکرد برون‌تنی کافی باشد، در ضمن رشد و تکثیر سلول‌های پیش‌ساز را ترویج می‌دهد که واسطه تشکیل استخوان جدید شود. با این حال، تکرار دقیق رشد و نمو و خصوصیات فیزیکی بافت‌های استخوانی با توجه به سختی مکانیکی قابل توجه آن‌ها همچنان چالش برانگیز است. به عنوان مثال، در گروه‌های قبلی گزارش شده است که استحکام فشاری و کششی استخوان کورتیکال<sup>۱</sup> انسان به ترتیب بین ۹۰ تا ۲۳۰ مگاپاسکال و از ۹۰ تا ۱۹۰ مگاپاسکال تغییر می‌کند. در حالی که استحکام فشاری استخوان تراکولار<sup>۲</sup> بین ۲ تا ۴۵ مگاپاسکال است [۶۵]. بنابراین، رویکردهای جایگزین بر اساس استفاده از شبکه با مدول کم کشف شده است که می‌تواند تکثیر سلولی و تمایز استخوان‌سازی از طریق رویکردهای زیست‌سازگار که باعث معدنی شدن داربست و بلوغ درون تنی می‌شود را تقویت کند.



۱- استخوان کورتیکال لایه برونی استخوان‌های بدن را تشکیل می‌دهد

۲- دارای تراکم کم و خلل و فرج زیاد است





شکل ۵- مشخصات مکانیکی کامپوزیت‌های شیشه زیست‌فعال ۵/۵ ژلما. (الف) نماینده منحنی تنش فشاری - کرنش (ب) مدول فشاری، (ج) مدول الاستیک، و (د) استحکام کششی نهایی هیدروژل‌های سنتز شده با ۱۰٪ (w/v) ژلما و غلظت‌های مختلف شیشه زیست‌فعال ۵/۵ (یعنی ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰٪). داده‌ها به صورت میانگین ( $\pm SD$ )  $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$  و  $p < 0.0001$  (n  $\geq 5$ ) نشان داده شده است.

اگرچه می‌توان عملکرد مکانیکی هیدروژل‌ها را با پارامترهای مختلفی از جمله راهکار ایجاد پیوند عرضی و فرمول‌سازی هیدروژل پیش‌ساز افزایش داد، اما ماهیت نرم، اغلب آن‌ها را برای سازه‌های باربری که به سختی مکانیکی بالایی نیاز دارند نامناسب می‌کند [۱۶]. با توجه به اینکه تراکم بالای پیوند عرضی می‌تواند منجر به پاسخ منفی سلولی شود، عمدتاً به دلیل انتشار کمتر مواد مغذی و اکسیژن در داربست است. علاوه بر این، سختی مکانیکی بالا نیز می‌تواند باعث مهاجرت و نفوذ داربست توسط سلول‌هایی شود که باعث بهبودی در محل زخم می‌شود. بنابراین، طراحی کامپوزیت‌های هیدروژل برای مهندسی بافت استخوان باید با هدف هم‌افزایی خواص پشتیبانی سلول از شبکه پلیمری زیست‌سازگار فاز معدنی، بدون به خطر انداختن خواص مفید هر یک از آن‌ها انجام شود. بنابراین، اگرچه مشخصات مکانیکی کامپوزیت‌ها در محدوده استخوان بومی نبود، ولی می‌توان از هیدروژل‌های ژلما / شیشه زیست‌فعال ۵/۵ برای ایجاد یک جایگاه ترمیم‌کننده سطحی بین بافت‌های میزبان استفاده کرد. این امر عمدتاً به دلیل فعالیت زیستی ذاتی کامپوزیت‌هایی است که می‌توانند تمایز پوکی استخوان MSC‌های مهاجر را هدایت کنند، که به نوبه خود می‌توانند واسطه معدنی شدن و بلوغ داربست برون‌تنی باشند. گرچه توانایی استفاده از این کامپوزیت‌ها به عنوان سازه‌های باربری محدود است، ولی هیدروژل‌های ژلما / شیشه زیست‌فعال ۵/۵ دارای پتانسیل قابل توجهی به عنوان داربست‌های فعال زیستی و پوششی است که باعث ترمیم استخوان و ادغام بافت درون‌تنی می‌شود. بنابراین، هدف را می‌توان توصیف توانایی کامپوزیت‌ها برای اتصال به بافت‌های فیزیولوژیکی، که مستقیماً با کارایی درمانی داربست‌ها و ادغام درون‌تنی آن‌ها مرتبط است، تعریف کرد.

### ۷-۳- نتایج آزمون خمش

جدول زیر تغییر مقدار استحکام خمشی و کرنش شکست کامپوزیت ژلما/شیشه زیست‌فعال ۵/۵ را نشان می‌دهد که این در اثر افزودن شیشه زیست‌فعال با غلظت‌های مختلف (۱۰، ۵، ۰ و ۲۰٪) به وجود آمده است. همچنین آزمون خمش انجام شده نشان می‌دهد که استحکام خمشی کامپوزیت ژلما/شیشه زیست‌فعال، در محدوده استحکام استخوان طبیعی انسان قرار دارد.

جدول ۲- مقایسه خواص استحکام کششی و خمشی کامپوزیت ژلما/شیشه ۵۸S

مدول خمشی (GPa)	۲/۶	۴/۶	۵/۲۲۵	۶/۲
استحکام خمشی (MPa)	۱۰۷	۸۴	۶۶	۵۱





کرنش در شکست (%)	۵/۷	۲/۹	۲/۲	۱/۸
------------------	-----	-----	-----	-----

#### ۴- نتیجه‌گیری

کامپوزیت ژلما/شیشه زیست‌فعال از ترکیب شیشه زیست فعال ۵/۵ با هیدروژل ژلما، به روش ایجاد پیوند عرضی با نور مرئی برای تشکیل شبکه‌های پلیمری به وجود آمده است. پلیمرها ظرفیت تحمل بار و مدول الاستیک کمتری در مقایسه با ترکیب‌های فلزی و سرامیکی دارند لذا افزودن شیشه زیست فعال سنتز شده به روش سل ژل با غلظت‌های متفاوت به پلیمر نرم، میتواند راه حل مناسبی برای این مشکل باشد، و باعث تغییر خواص مکانیکی کامپوزیت در مقایسه با خواص مکانیکی هر دو فاز به صورت جداگانه شود. باتوجه به قرار دادن نمونه‌ها در شرایط مناسب برای تست کشش و فشار، نتایج حاکی از آن بود که افزایش غلظت شیشه زیست فعال از ۰٪ تا ۲۰٪ باعث افزایش مدول الاستیک، مدول فشاری و مقاومت کشش نهایی شده است. در حالی که غلظت ۱۰٪ بیشترین مقاومت کشش نهایی را دارد ولی بدلیل نبود اختلاف آماری زیاد می‌توان از مقدار زیاد کشش نهایی آن نسبت به بقیه غلظت‌ها صرف نظر کرد و افزایش این خواص را متناسب با افزایش غلظت دانست. همچنین آزمون خمشی سه نقطه ای نیز بر اساس استاندارد انجام شد که نتایج حاکی از افزایش مدول خمشی از ۴/۶ به ۶/۲ گیگا پاسکال و کاهش استحکام خمشی از ۸۴ به ۵۱ مگا پاسکال بود که می‌توان علت اصلی این کاهش در استحکام را مربوط به تخلخل‌های موجود در ساختار دانست که وجود آن‌ها امری ضروری در رشد بافت طبیعی در داخل بدن انسان است. در مجموع نتایج نشان می‌دهد که با وجود کاهش در استحکام باز هم این کامپوزیت در محدوده استحکام استخوان طبیعی قرار گرفته است و همچنین نتایج دیگر خواص مکانیکی، نشان دهنده قرار گرفتن آن در محدوده قابل قبول است.

#### مراجع

1. Niinimäki, T., J. Junila, and P. Jalovaara, A proximal fixed anatomic femoral stem reduces stress shielding. *Int Orthop*, 2001. **25**(2): p. 85-8.
2. Hench, L.L., The story of bioglass. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2006: p. 967-978.
3. Lu, H.H., et al., Three-dimensional, bioactive, biodegradable, polymer-bioactive glass composite scaffolds with improved mechanical properties support collagen synthesis and mineralization of human osteoblast-like cells in vitro. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 2003. **64**: p. 465-474.
4. Ravarian, R., et al., Synthesis, characterization and bioactivity investigation of bioglass/hydroxyapatite composite. *Ceramics International*, 2010. **36**: p. 291-297.
5. Vichery, C. and J.M. Nedelec, Bioactive Glass Nanoparticles: From Synthesis to Materials Design for Biomedical Applications. *Materials (Basel, Switzerland)*, 2016. **9**: p. 288.
6. Moghanian, A., et al., A comparative study on the in vitro formation of hydroxyapatite, cytotoxicity and antibacterial activity of 58S bioactive glass substituted by Li and Sr. *Materials Science and Engineering: C*, 2018. **91**: p. 349-360.



7. M. Ashuri, et al., Synthesis and Evaluation of Mechanical Properties of Hydroxyapatite/ Sol-gel Derived Bioactive Glass Particles Composites. Journal of Advanced Materials In Engineering, 2012. **31**(1): p. 57-72.
8. Malysheva, A.Y., B.I. Beletskii, and E.B. Vlasova, Structure and Properties of Composite Materials for Medical Application. Glass and Ceramics, 2001. **58**(1): p. 66-69.
9. Bertolla, L., et al., Effect of hybrid polymer coating of Bioglass® foams on mechanical response during tensile loading. Advances in Applied Ceramics, 2015. **114**: p. 63-69.
10. Thompson, I.D. and L.L. Hench, Mechanical properties of bioactive glasses, glass-ceramics and composites. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine, 1998. **212**: p. 127-136.
11. Zhang, K., Y. Ma, and L.F. Francis, Porous polymer/bioactive glass composites for soft-to-hard tissue interfaces. Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **61**: p. 551-563.
12. Lu and H. Helen, Three-dimensional, bioactive, biodegradable, polymer-bioactive glass composite scaffolds with improved mechanical properties support collagen synthesis and mineralization of human osteoblast-like cells in vitro. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2003. **64**: p. 465-474.
13. Gerhardt, L.-C. and A.R. Boccaccini, Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering. Materials, 2010. **3**(7): p. 3867-3910.
14. Bai, X., et al., Bioactive hydrogels for bone regeneration. Bioactive materials, 2018. **3**(4): p. 401-417.
15. Naahidi, S., et al., Biocompatibility of hydrogel-based scaffolds for tissue engineering applications. Biotechnology advances, 2017. **35**(5): p. 530-544.
16. Turnbull, G., et al., 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. Bioactive materials, 2018. **3**(3): p. 278-314.
17. Roohani-Esfahani, S.-I., P. Newman, and H. Zreiqat, Design and fabrication of 3D printed scaffolds with a mechanical strength comparable to cortical bone to repair large bone defects. Scientific reports, 2016. **6**.
18. Murphy, C., et al., 3d printing of a polymer bioactive glass composite for bone repair., in 27th Annual International Solid Freeform Fabrication Symposium. 2016: Austin.
19. Bucknall, C.B., 2 - Rubber-modified Plastics, in Comprehensive Polymer Science and Supplements, G. Allen and J.C. Bevington, Editors. 1989, Pergamon: Amsterdam. p. 27-49.
20. Turner, C.E., Fracture toughness and specific fracture energy: A re-analysis of results. Materials Science and Engineering, 1973. **11**(5): p. 275-282.
21. Meyers, M.C., Krishan., Mechanical Behavior of Materials, in Mechanical Behavior of Materials. 2007.
22. Hashemi, S.H. and M. Kymyabakhsh, Experimental and Numerical Determination of Fracture Toughness in Gas Pipeline Steel of Grade API X65. Amirkabir Journal of Mechanical Engineering, 2013. **45**(2): p. 1-9.
23. International, A., ASTM D5045-14, Standard Test Methods for Plane-Strain Fracture Toughness and Strain Energy Release Rate of Plastic Materials. 2014, [www.astm.org](http://www.astm.org): West Conshohocken.
24. O'donnell, M. and R. Hill, Influence of strontium and the importance of glass chemistry and structure when designing bioactive glasses for bone regeneration. Acta Biomaterialia, 2010. **6**(7): p. 2382-2385.
25. Noshadi, I., et al., In vitro and in vivo analysis of visible light crosslinkable gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels. Biomaterials science, 2017. **5**(10): p. 2093-2105.
26. Annabi, N., et al., Engineering a sprayable and elastic hydrogel adhesive with antimicrobial properties for wound healing. Biomaterials, 2017. **139**: p. 229-243.
27. Noshadi, I., et al., Engineering biodegradable and biocompatible bio-ionic liquid conjugated hydrogels with tunable conductivity and mechanical properties. Scientific reports, 2017. **7**(1): p. 4345.



28. Yellowley, C.E., et al., Functional gap junctions between osteocytic and osteoblastic cells. *Journal of bone and mineral research*, 2000. **15**(2): p. 209-217.
29. Hench, L.L. and J.R. Jones, Bioactive glasses: frontiers and challenges. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 2015. **3**: p. 194.
30. Jones, J.R., Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta biomaterialia*, 2013. **9**(1): p. 4457-4486.
31. Silver, I.A., J. Deas, and M. Erecińska, Interactions of bioactive glasses with osteoblasts in vitro: effects of 45S5 Bioglass®, and 58S and 77S bioactive glasses on metabolism, intracellular ion concentrations and cell viability. *Biomaterials*, 2001. **22**(2): p. 175-185.
32. Day, R.M., Bioactive glass stimulates the secretion of angiogenic growth factors and angiogenesis in vitro. *Tissue engineering*, 2005. **11**(5-6): p. 768-777.
33. Gorustovich, A.A., et al., Osteoconductivity of strontium-doped bioactive glass particles: A histomorphometric study in rats. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 2010. **92**(1): p. 232-237.
34. Hesaraki, S., et al., Physico-chemical and in vitro biological evaluation of strontium/calcium silicophosphate glass. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2010. **21**(2): p. 695-705.
35. Wu, C., et al., The effect of strontium incorporation into CaSiO<sub>3</sub> ceramics on their physical and biological properties. *Biomaterials*, 2007. **28**(21): p. 3171-3181.
36. Vallet-Regi, M., et al., Effect of magnesium content on the in vitro bioactivity of CaO-MgO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sol-gel glasses. *Journal of Materials Chemistry*, 1999. **9**(2): p. 515-518.
37. Moghanian, A., et al., The effect of magnesium content on in vitro bioactivity, biological behavior and antibacterial activity of sol-gel derived 58S bioactive glass. *Ceramics International*, 2018. **44**(8): p. 9422-9432.
38. Courthéoux, L., et al., Controlled bioactivity in zinc-doped sol-gel-derived binary bioactive glasses. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2008. **112**(35): p. 13663-13667.
39. Wu, C., et al., Copper-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity. *Biomaterials*, 2013. **34**(2): p. 422-433.
40. Blaker, J., S. Nazhat, and A. Boccaccini, Development and characterisation of silver-doped bioactive glass-coated sutures for tissue engineering and wound healing applications. *Biomaterials*, 2004. **25**(7-8): p. 1319-1329.
41. Khorami, M., et al., In vitro bioactivity and biocompatibility of lithium substituted 45S5 bioglass. *Materials Science and Engineering: C*, 2011. **31**(7): p. 1584-1592.
42. Miguez-Pacheco, V., et al., Development and characterization of lithium-releasing silicate bioactive glasses and their scaffolds for bone repair. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2016. **432**: p. 65-72.
43. Kavitha, R., et al., Synthesis and invitro characterisation of lithium doped bioactive glass through quick alkali Sol-Gel method. *Int J Innov Res Sci Eng*, 2014. **1**(2): p. 2347-3207.
44. Hoppe, A. and A.R. Boccaccini, Biological impact of bioactive glasses and their dissolution products, in *Biomaterials for Oral and Craniomaxillofacial Applications*. 2015, Karger Publishers. p. 22-32.
45. Brauer, D.S., et al., Bactericidal strontium-releasing injectable bone cements based on bioactive glasses. *Journal of the Royal Society Interface*, 2013. **10**(78): p. 20120647.
46. Lázaro, G.S., et al., Individual and combined effects of the elements Zn, Mg and Sr on the surface reactivity of a SiO<sub>2</sub>·CaO·Na<sub>2</sub>O·P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioglass system. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2014. **386**: p. 19-28.
47. Ma, J., et al., Synthesis, characterization and in vitro bioactivity of magnesium-doped sol-gel glass and glass-ceramics. *Ceramics International*, 2011. **37**(5): p. 1637-1644.



48. Saboori, A., et al., Synthesis, characterization and in vitro bioactivity of sol-gel-derived SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-MgO bioglass. Materials science and engineering: C, 2009. **29**(1): p. 335-340.
49. Siqueira, R.L., O. Peitl, and E.D. Zanotto, Gel-derived SiO<sub>2</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioactive powders: synthesis and in vitro bioactivity. Materials Science and Engineering: C, 2011. **31**(5): p. 983-991.
50. Kokubo, T., et al., Chemical reaction of bioactive glass and glass-ceramics with a simulated body fluid. Journal of Materials science: Materials in medicine, 1992. **3**(2): p. 79-83.
51. Shahrabi, S., et al., Structural discrepancies and in vitro nanoapatite formation ability of sol-gel derived glasses doped with different bone stimulator ions. Ceramics International, 2011. **37**(7): p. 2737-2746.
52. Mozafari, M., F. Moztarzadeh, and M. Tahriri, Investigation of the physico-chemical reactivity of a mesoporous bioactive SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glass in simulated body fluid. Journal of Non-Crystalline Solids, 2010. **356**(28-30): p. 1470-1478.
53. Vyas, V.K., et al., Bioactivity and mechanical behaviour of cobalt oxide-doped bioactive glass. Bulletin of Materials Science, 2015. **38**(4): p. 957-964.
54. Zhang, K., et al., Effects of materials parameters on mineralization and degradation of sol-gel bioactive glasses with 3D-ordered macroporous structures. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 2003. **66**(4): p. 860-869.
55. June, W., An introduction to bioceramics. Vol. 1. 1993: World scientific.
56. Hannink, G. and J.C. Arts, Bioresorbability, porosity and mechanical strength of bone substitutes: what is optimal for bone regeneration? Injury, 2011. **42**: p. S22-S25.
57. Seeherman, H. and J.M. Wozney, Delivery of bone morphogenetic proteins for orthopedic tissue regeneration. Cytokine & growth factor reviews, 2005. **16**(3): p. 329-345.
58. Rahaman, M.N., et al., Bioactive glass in tissue engineering. Acta biomaterialia, 2011. **7**(6): p. 2355-2373.
59. Killian, J.A., et al., Hydrogel/bioactive glass composites for bone regeneration applications: Synthesis and characterisation. Materials Science and Engineering: C, 2013. **33**(7): p. 4203-4212.
60. Liu, A., et al., Surface modification of bioactive glass nanoparticles and the mechanical and biological properties of poly (L-lactide) composites. Acta biomaterialia, 2008. **4**(4): p. 1005-1015.
61. Peter, M., et al., Nanocomposite scaffolds of bioactive glass ceramic nanoparticles disseminated chitosan matrix for tissue engineering applications. Carbohydrate Polymers, 2010. **79**(2): p. 284-289.
62. Sorushanova, A., et al., The collagen suprafamily: from biosynthesis to advanced biomaterial development. Advanced Materials, 2019. **31**(1): p. 1801651.
63. Klotz, B.J., et al., Gelatin-methacryloyl hydrogels: towards biofabrication-based tissue repair. Trends in biotechnology, 2016. **34**(5): p. 394-407.
64. Soucy, J.R., et al., Photocrosslinkable gelatin/tropoelastin hydrogel adhesives for peripheral nerve repair. Tissue Engineering Part A, 2018. **24**(17-18): p. 1393-1405.
65. An, Y.H. and R.A. Draughn, Mechanical testing of bone and the bone-implant interface. 1999: CRC press.
66. Oréface, R., et al., Processing, properties, and in vitro bioactivity of polysulfone-bioactive glass composites. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2007. **80**(3): p. 565-580.
67. ASTM, I., Standard test methods for plane-strain fracture toughness and strain energy release rate of plastic materials. ASTM D5045-99, 2007.
68. Khoei, A.R., Extended Finite Element Method: Theory and Applications. 2014.
69. Sethian, J.A., A fast marching level set method for monotonically advancing fronts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996. **93**(4): p. 1591-1595.





70. Fett, T., Stress intensity factors and weight functions for special crack problems. Vol 6025. 1998.