

Recent advances in bioglass applications for bone tissue engineering

Nafiseh Baheiraei^{1*}, Saeedeh Zare Jalise², Seyed Ali Sanei³

1- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- M.Sc. Student, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- M.Sc. Student, Department of Biomedical Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

**Corresponding Address: Postal Code: 1411713116, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: n.baheiraei@modares.ac.ir*

Received: 14/Apr/2017, Accepted: 11/Jun/2017

Abstract

Synthetic biomaterials are currently used as bone graft substitutes to treat bone disorders. Based on biomechanical properties, these biomaterials are selected to engineer bioactive and bioresorbable scaffolds that increase tissue ingrowth. These porous scaffolds play an important role in new bone formation and vascularization with the ability to incorporate genes, drugs, growth factors, and stem cells. This review focuses on recent advances on bioactive glass materials for bone regeneration. Despite inherent brittleness, bioactive glasses have many promising characteristics for bone engineering scaffolds. Compared to silicate bioactive glasses, borate and borosilicate have the ability to enhance new bone formation. These materials have controllable degradation rates that closely match new bone formation. Interestingly, bioactive glasses can be doped with elements such as Cu, Zn, and Sr, which are advantageous for healthy bone growth. Although bioactive glasses have been examined in detail for bone repair, few investigations have been performed on their applications for repair of soft tissues. A recent work has shown bioactive glass has the ability to promote angiogenesis for healing of soft tissue wounds.

In this review, we highlight current advances in the use of bioactive glass materials and their conversion into scaffolds with the essential anatomical shape. Methods used to manipulate the materials' structures in bone tissue engineering applications and growth factors involved in bone regeneration will be briefly discussed.

Keywords: Bioactive glass, Tissue engineering, Scaffolds, Bone repair

Pathobiology Research, Vol. 20 (2017), No.2, Pages: 1-22

پیشرفت‌های اخیر در به کارگیری شیشه‌های زیست فعال در مهندسی بافت استخوان

نقیسه بحیرائی^{۱*}، سعیده زارع جلیسه^۱، سید علی صانعی^۲

۱- استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی زیست پزشکی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۴۱۷۱۳۱۱۶، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه علوم تشریح

Email: n.baheiraei@modares.ac.ir

دریافت مقاله: ۹۶/۰۱/۲۵

پذیرش مقاله: ۹۶/۰۳/۲۱

چکیده

در حال حاضر مواد زیستی سنتزی تا حد زیادی جایگزین پیوندهای استخوانی در درمان آسیب‌های استخوانی شده‌اند. این مواد عمدتاً بر اساس خواص مکانیکی - زیستی انتخاب شده و با کمک آن‌ها داربست‌هایی مهندسی می‌شوند که زیست فعال و زیست تخریب‌پذیر بوده و رشد بافتی را افزایش می‌دهند. همچنین، این داربست‌های متخلخل نقش مهمی در تشکیل استخوان جدید و عروق‌زایی داشته و قابلیت قرارگیری ژن‌ها، داروها، فاکتورهای رشد و سلول‌های بنیادی را دارا می‌باشند.

هدف از نگارش این مقاله مروری بررسی نقش زیر مجموعه‌ای از مواد زیستی در کاربردهای مهندسی بافت، به نام شیشه‌های زیست فعال برای استخوان می‌باشد. علی‌رغم شکنندگی ذاتی، این شیشه‌ها خواص مطلوبی برای به کارگیری در ساخت داربست برای مهندسی بافت استخوان را دارند. شیشه‌های زیست فعال نوین برپایه بورات و بوروسیلیکات نیز توانایی خوبی برای افزایش تشکیل استخوان جدید در مقایسه با شیشه‌های سیلیکاتی از خود نشان داده‌اند. این شیشه‌ها، همچنین، دارای سرعت تخریب کنترل شده‌ای نزدیک به سرعت تشکیل استخوان جدید می‌باشند و می‌توانند با فلزاتی چون مس، روی و استرانسیوم که همگی برای رشد استخوان سالم مفید هستند دوپ گردند. اگر چه این شیشه‌ها به طور وسیعی در درمان‌های استخوانی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، اما تحقیقات کمی در زمینه کاربرد آن‌ها برای بافت‌های نرم صورت گرفته است. مطالعات اخیر نقش این شیشه‌ها را در بهبود رگ‌زایی برای زخم‌های بافت نرم به اثبات رسانیده است. هدف عمده این مقاله بررسی تحولات اخیر در زمینه کاربرد شیشه‌های زیست فعال و تبدیل آن‌ها به داربست می‌باشد. همچنین، به روش‌های دستکاری ساختار مواد و متغیرهای دخیل در عملکرد مواد در مهندسی بافت و عوامل رشد دخیل در بازسازی استخوان نیز اشاره می‌گردد.

کلیدواژگان: شیشه زیست فعال، مهندسی بافت، داربست، ترمیم استخوان

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶، صفحات: ۲۲-۱

ضایعات استخوانی و روش‌های ترمیم آن

ضایعات استخوانی به دلایل مختلف اتفاق می‌افتد. از جمله دلایل آن می‌توان به سن، بیماری‌های متابولیکی مانند بیماری پوکی استخوان و یا استئوپروز (Osteoporosis)، علل عفونی با منشأ باکتریایی و یا قارچی [استئومایست (Osteomycitis)]، اشاره کرد. استخوان بافتی است که قابلیت ترمیم زیادی دارد اما این قابلیت دارای محدودیت‌هایی نیز می‌باشد. نقص‌های ناشی از ضربه یا بیماری اگر به صورت وسیع و گسترده باشد احتمال این‌که بافت استخوانی نتواند خود را ترمیم کند وجود دارد، به همین دلیل برای ترمیم آن به پیوندهای استخوانی نیاز پیدا می‌کنیم [۱]. نرخ شکستگی‌های استخوانی در جهان ۲ میلیون نفر در سال است، همچنین در مطالعاتی که در کشور آمریکا انجام شده است حدود ۶۰۰ هزار پیوند استخوانی در هر سال انجام می‌شود و این نرخ در جهان تقریباً به ۲/۲ میلیون در سال می‌رسد [۲].

بهترین نوع پیوند، پیوند خودی (Autografts) می‌باشند که در این روش بافت استخوانی معمولاً از استخوان لگن خاصره خود فرد تهیه می‌شود. از مزایای این روش می‌توان به قابلیت ساخت استخوان‌های جدید و پاسخ زیستی مناسب به ساخت استخوان و استخوانی شدن، و از معایب آن به محدودیت در مقدار آن، درد ناشی از خارج کردن استخوان و احتمال آسیب به اعصاب اشاره کرد. روش دیگری که مورد استفاده قرار می‌گیرد پیوند هم نوع (Allografts) است که استخوان از فرد دیگری تهیه می‌شود و از مزایای آن قابلیت ساخت استخوان‌های جدید و فراوانی دسترسی به آن است. از این نوع پیوند به صورت موفقیت‌آمیزی در موارد بالینی به عنوان پیوند استخوانی استفاده می‌شود. اما از معایب این نوع پیوند می‌توان به ایجاد عفونت، احتمال پس زدن، محدودیت تکامل استخوان‌ها و احتمال ناسازگاری در میزبان را نام برد. میزان بالای آسیب‌پذیری بافت‌های استخوانی در سوانح

شیشه‌های زیست فعال در مهندسی بافت استخوان

مختلف، موجب شده است تا تحقیقات گسترده‌ای در زمینه مهندسی بافت، متوجه بافت‌های استخوانی گردد. مشکلات مربوط به پیوندهای استخوانی منجر به نگرش تهیه جایگزین‌هایی برای پیوندهای استخوانی گردیده است و بنابراین امروزه رویکرد درمانی دیگری به نام مهندسی بافت در حال توسعه است. مهندسی بافت استفاده‌ی ترکیبی از سلول‌ها، مواد مختلف، فاکتورهای زیست شیمیایی و مهندسی آن‌ها برای تکمیل و یا جایگزینی عملکردهای زیستی اندام‌های مختلف است. از مزایای مهندسی بافت، کاهش تعداد عمل‌های جراحی مورد نیاز و بهبود سریع‌تر بیمار می‌باشد [۳، ۴].

مهندسی بافت استخوان

مهندسی بافت، علم طراحی و تولید بافت‌های جدید برای ترمیم اندام‌های آسیب دیده و جایگزینی قسمت‌های از دست رفته به دلایل مختلف است. در بین بافت‌های بدن، استخوان پتانسیل بالایی برای تولید مجدد دارد و از این رو یک نمونه مناسب برای مهندسی بافت به شمار می‌رود [۵]. مهندسی بافت این قابلیت را دارد تا مشکلات مربوط به از دست رفتن بافت‌های زنده و اندام‌ها را با جایگزین کردن آن‌ها برطرف کند. در بیشتر یافته‌ها، داربست‌ها (Scaffolds) با مواد زیستی و معماری مناسب باعث فراهم آمدن ساختار مناسب برای سلول‌ها، راهنمایی رشد و تمایز به بافت و اعضای مورد انتظار می‌شود. فاکتورهای رشد و دیگر مولکول‌های زیستی می‌توانند با داربست همراه شده و عملکردهای سلولی را در طول بازسازی اعضا و بافت راهنمایی کنند [۶-۹]. همچنین داربست‌ها می‌توانند ساختاری حمایت کننده برای تشکیل سلول‌های بافتی جدید در شکل و ابعاد مورد انتظار فراهم کنند. طی دو دهه گذشته رشد گسترده‌ای در حیطه مهندسی بافت ایجاد شده است. این تلاش‌ها منجر به بازسازی با کمک استفاده از سلول‌ها در بافت‌هایی همانند پوست [۱۰-۱۳]، استخوان [۱۴-۱۶] و غضروف [۱۷، ۱۸] گردیده است. این پیشرفت‌ها بدون طراحی‌های ابتکاری و ساخت مواد زیستی و

داربست‌ها ممکن نیست. داربست‌ها همان‌طور که قبلاً هم گفته شد باید یک ساختار موقت برای سلول‌ها به وجود آورده تا بافت جدید احیا شود، در عین حال باید تخریب‌پذیر باشند تا بافت‌های جدید بتوانند جایگزین شوند [۱۹]. ساختار داربست برای فراهم آوردن ریزمحیط بهینه برای سلول‌ها تا زمان ساخت بافت جدید و همچنین برای انتشار مواد غذایی بین سلول‌ها و محیط اطراف ضروری می‌باشد. پیشرفت‌های اخیر در زمینه مواد نوظهور و فرآیندهای نوین ساخت داربست‌ها، امیدهای قابل توجهی را در درمان‌های بر پایه مهندسی بافت پیش رو گذاشته است. مهندسی بافت استخوان فرآیندی پیچیده و پویا می‌باشد که با مهاجرت و فراخوانی سلول‌های پیش ساز استخوانی و متعاقب آن تکثیر و تمایز این سلول‌ها به همراه تولید شبکه و بازسازی استخوان به وقوع می‌پیوندد.

داربست‌های استخوانی

داربست‌های استخوانی عمدتاً ساختارهایی متخلخل متشکل از مواد تخریب‌پذیر هستند که حمایت مکانیکی مناسبی را در طی ترمیم و بازسازی استخوان آسیب دیده ایجاد می‌کنند. داربست ایده‌آل جهت مهندسی بافت استخوان باید واجد ویژگی‌های زیر باشد: ۱- دارای ساختار متخلخل سه بعدی به هم پیوسته باشد تا سلول‌ها بتوانند روی آن رشد و رگ‌زایی کنند و مواد مغذی در بین آن‌ها انتشار پیدا کند ۲- زیست سازگار باشد (سمی نباشد) و چسبندگی و تکثیر سلولی را بهبود بخشد ۲- بعد از کشت سلولی دارای مقاومت مکانیکی مشابه با بافت از دست رفته باشد. ۳- نرخ تخریب داربست متناسب با سرعت تولید بافت مورد نظر باشد و محصولات ناشی از تخریب غیر سمی باشد و به راحتی توسط بدن قابل دفع باشد. ۴- قابلیت القای رشد استخوان جدید (Osteoinductive) و قابلیت هدایت رشد استخوانی (Osteoconductive) را داشته باشد ۵- فرآیند تولید آن از نظر اقتصادی مقرون به صرفه باشد و برای استفاده بالینی قابل سترون شدن باشد.

داربست‌های مورد استفاده برای مهندسی بافت معمولاً از مواد زیست تخریب‌پذیر پلیمری، سنتزی و یا طبیعی ساخته می‌شوند [۲۰-۲۵]. با این حال برای بازسازی استخوان‌های حمل‌کننده بار، استفاده از داربست‌های پلیمری زیست تخریب‌پذیر هنوز به دلیل استحکام مکانیکی پایین چالش برانگیز است. تلاش‌ها برای تقویت زیست تخریب‌پذیری پلیمرها با فاز معدنی زیست سازگار معمولاً هیدروکسی آپاتیت (Hydroxyapatite: HA) صورت می‌گیرد [۲۶-۲۹]. با وجود شکنندگی داربست‌هایی که از مواد معدنی بر پایه سرامیک‌های زیستی (Bioceramics) مانند کلسیم فسفات و شیشه‌های زیست فعال (Bioactive glass) تهیه می‌شوند، این داربست‌ها می‌توانند استقامت مکانیکی بالاتری نسبت به داربست‌های پلیمری از خود نشان دهند.

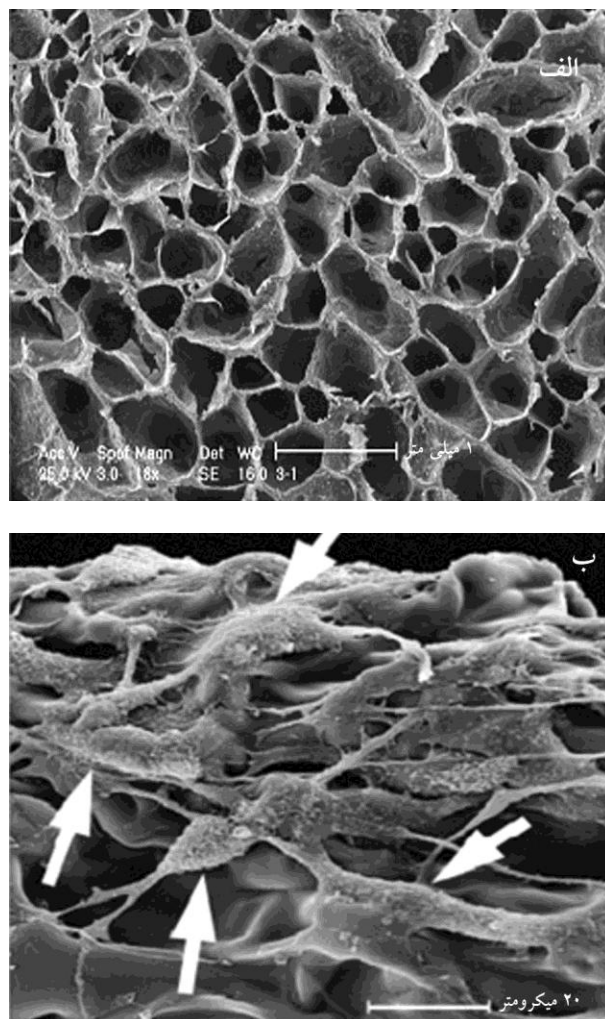
داربست‌های سرامیکی

سرامیک‌های زیستی بر پایه کلسیم فسفات‌ها، مانند HA $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ [۴]، بتا تری کلسیم فسفات (Beta-tricalcium phosphate: β -TCP) [۲۴] و کلسیم فسفات‌های دو فازی (ترکیب HA و β -TCP) مواد معدنی هستند که از یون‌های مشابه یون‌های استخوان تشکیل شده و توجه زیادی را برای ترمیم استخوان به خود اختصاص داده‌اند [۳۰-۳۳]. در مقایسه با β -TCP، HA به آرامی در بدن جذب شده و با نرخ تبدیل کم به مواد سازنده استخوان تبدیل می‌شود [۳۴، ۳۵]. با این حال، ساختارهای متخلخل مشابه تشکیل شده از داربست‌های حاوی β -TCP دارای مقاومت کمتری نسبت به داربست‌های بر پایه HA هستند و بنابراین استفاده از آن‌ها برای ترمیم استخوان‌های حمل‌کننده وزن چالش برانگیز است. استفاده از کلسیم فسفات‌های دو فازی با نسبت‌های مختلفی از HA به β -TCP اجازه دستکاری سرعت تخریب و سایر خواص را به وجود می‌آورد [۳۶]. در مطالعه‌ای داربست نانوکامپوزیتی ژلاتین/HA (HA/Gelatin Nanocomposite Scaffold)، زیست سازگاری و قابلیت تمایز استخوانی

شیشه‌های زیست فعال در مهندسی بافت استخوان

استخوانی در حجمه موش صحرایی گردید. محققین این نتایج امیدوارکننده را به علت حضور HA در ساختار داربست ذکر کردند و از داربست مذکور به عنوان جایگزینی مناسب در درمان ضایعات استخوانی نام بردند [۴].

بیشتری را به همراه چسبندگی بسیار خوب سلول‌های SaOS-2 نسبت به داربست ژلاتینی نشان داد (شکل ۱). همچنین، داربست کامپوزیتی طراحی شده قابلیت تمایز استخوانی را افزایش داده و کاشت این نانوکامپوزیت باعث بهبود رشد



شکل ۱ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از (الف) سطح داربست نانوکامپوزیت ژلاتین/HA، (ب) ریخت شناسی سلول‌های SaOS-2 کاشته شده روی کامپوزیت فوق که نشان دهنده چسبندگی و پراکندگی خوب این سلول‌ها در سطح داربست می‌باشد (برگرفته از آثار مؤلف) [۴].

(Alginate)، ابریشم، اسید هیالورونیک (Hyaluronic acid) و کیتوسان (Chitosan) می‌باشند [۳۷]. تنوع فرآیند ساخت به همراه توانایی کنترل شیمی پلیمرها از مزایای عمده آن‌ها می‌باشد. تخریب پلیمرهای سنتزی مانند پلی لاکتیک اسید (Polylactic acid):

داربست‌های پلیمری

پلیمرها می‌توانند زیست فعال و زیست تخریب پذیر باشند. پلیمرهای شایع طبیعی مورد استفاده در مهندسی بافت استخوان شامل کلاژن (Collagen)، فیبرین (Fibrin)، آلجینات

قرار گرفته است [۴۵].

داربست های نسل سوم (Third generation)

اگر چه داربست های کلسیم فسفاتی (CaP) امکان ایجاد استخوان جدید و معدنی شدن در محیط زیستی (Biom mineralization) را به خوبی فراهم می کنند، اما پیش بینی می شود که نسل جدید داربست ها باید قابلیت القای استخوان سازی را نیز دارا باشند. رویکردهای مختلفی برای ایجاد این قابلیت در داربست های کلسیم فسفاتی وجود دارد که شامل دستکاری شیمی سطح، به کارگیری سلول های بنیادی مزانشیمی و استفاده از فاکتورهای رشد، داروها و ژن ها در داخل داربست می باشد. این قابلیت ارتباط مستقیم با ترکیب مواد به کار گرفته شده در ساختار داربست و میزان تخلخل آن ها دارد. همچنین، می توان با جایگزینی یون هایی چون منیزیم (Mg) و فلوراید (F) و سایر یون ها در ساختار کلسیم فسفات های به کار گرفته شده در ساخت داربست ها، فازهای کریستالین جدید با ریخت شناسی های متفاوت در داربست ایجاد کرده و بنابراین با تغییر خواص زیستی و فیزیکوشیمیایی کامپوزیت نهایی اثرات مفیدی در بازسازی استخوان آسیب دیده اعمال کرد [۴۶، ۲۵]. جهت کسب اطلاعات بیشتر در مورد این رویکردها توجه شما را به مقاله مروری مرتبط جلب می نماید [۴۷-۴۹].

شیشه های زیست فعال در مهندسی بافت

استخوان

از بین مواد استفاده شده برای ساخت داربست های استخوانی شیشه های زیست فعال از اهمیت ویژه ای در مهندسی بافت استخوان برخوردارند. در یک مفهوم کلی، مواد زیست فعال موادی هستند که برای القای فعالیت زیستی خاصی طراحی شده اند [۵۰]. به طور اختصاصی تر، مواد زیست فعال موادی هستند که وقتی در بدن جای گذاری می شوند تحت واکنش های

PLA)، پلی گلیکولیک اسید (Polyglycolic acid: PGA) و پلی کاپرولاکتون (Poly caprolactone: PCL) منومرهای تولید می کند که به سرعت توسط چرخه فیزیولوژیک طبیعی بدن دفع می گردند. بسیاری از پلیمرها مانند پلی پروپیلن فمورات [Poly(propylene fumarate): PPF] استحکام فشاری بالایی مشابه استخوان قشری از خود نشان داده و زمان تخریب آن ها می تواند در بازه وسیعی کنترل شود [۳۸]. در عین حال، داربست های پلیمری حتی با وجود استحکام بالای اولیه تخریب سریعی را در محیط درون تنی نشان می دهند. همچنین، تخریب بعضی از پلیمرها مانند PLA و PGA محیطی اسیدی در محل ایجاد کرده که می تواند پاسخ بافتی معکوسی را به همراه داشته باشد [۳۹].

داربست های فلزی

فلزات دارای استحکام فشاری بالا و مقاومت به خستگی بسیار خوبی می باشند. داربست های متخلخل فلزی که عمدتاً از تیتانیوم (Titanium: Ti) و تانتالیوم (Tantalum: Ta) درست شده اند به عنوان جایگزینی های استخوان مورد مطالعه قرار گرفته اند [۴۰، ۴۱]. به عنوان مثال، داربست تیتانیومی LENSTM با میزان تخلخل ۱۷-۵۸ درصد و میانگین اندازه تخلخل ۸۰۰ میکرومتر چسبندگی و تکثیر خوب استئوبلاست ها (Osteoblasts) را نشان داده است [۴۲]. اما برخلاف داربست های پلیمری یا کلسیم فسفاتی، داربست های فلزی تخریب پذیر نبوده و زیست مولکول ها نمی توانند در داخل آن ها جای گیرند. همچنین، خوردگی این داربست ها و آزاد شدن یون های فلزی در محیط درون تنی نگرانی عمده ما را تشکیل می دهد. تکنیک های اصلاح سطح، معمولاً، برای بهبود زیست فعالی داربست های Ti استفاده شده است [۴۳]. پیشرفت های اخیر در فلزات زیست فعال حاکی از ساخت جایگزین های زیست تخریب پذیر ارتوپدی بوده که می توانند در نواحی تحت فشار به کار گرفته شوند [۴۴]. به عنوان مثال، زیست سازگاری برون تنی (In vitro) داربست های منیزیمی (Mg) مورد مطالعه

نمی‌شود [۵۸].

شیشه‌های زیست فعال سیلیکاتی

شیشه زیست فعال 45S5 با نام تجاری Bioglass® شایع‌ترین ترکیب مورد مطالعه برای کاربرهای پزشکی می‌باشد. این شیشه‌ها که شیشه‌های سیلیکاتی هستند از شبکه سه بعدی متشکل از SiO_2 که در آن سیلیسیم با چهار اتم اکسیژن ارتباط دارد تشکیل شده‌اند [۵۹]. ویژگی کلیدی که باعث زیست فعال بودن این ماده می‌شود میزان کم SiO_2 آن (در مقایسه با شیشه‌های سیلیکاتی که از نظر شیمیایی با دوام‌ترند)، محتوی CaO و Na_2O زیاد (تغییر دهنده شبکه شیشه‌ای) و نسبت بالای $\text{CaO/P}_2\text{O}_5$ می‌باشد. شیشه زیست فعال 45S5 از درصد‌های وزنی زیر تشکیل شده است: ۴۵ درصد سیلیکا (SiO_2)، ۲۴/۵ درصد اکسید کلسیم (CaO)، ۲۴/۵ درصد اکسید سدیم (Na_2O) و ۶ درصد پنتا اکسید فسفر (P_2O_5) (جدول ۱).

سطحی خاص، منجر به تشکیل لایه‌ای شبیه به HA می‌شوند که این لایه مسئول اتصال با بافت‌های سخت و نرم اطراف می‌باشد [۵۱]. توانایی یک ماده در تشکیل لایه سطحی مشابه HA وقتی که در مایع شبیه‌سازی شده بدن (Simulated Body Fluid) قرار می‌گیرد به عنوان یک نشانه از زیست فعال بودن آن ماده است [۵۲] و پیشنهاد می‌شود مشاهده این قابلیت در محیط برون‌تنی به عنوان نشانه‌ای از زیست فعال بودن آن ماده در محیط درون‌تنی (*In vivo*) هم در نظر گرفته شود [۵۳]. با این حال، این توضیح کوتاه از زیست فعال بودن به تازگی زیر سوال رفته است [۵۴]. برای مثال، دی کلسیم فسفات دی هیدرات ($\text{Dicalcium phosphate dihydrate}$)، تشکیل لایه سطحی شبیه به HA را در محیط شبیه‌سازی شده بدن در آزمایش‌های برون‌تنی نشان می‌دهد اما هیچ اتصال استخوانی مستقیمی در محیط درون‌تنی ایجاد نمی‌کند [۵۵-۵۷]. علاوه بر این، $\beta\text{-TCP}$ بر خلاف قابلیت خوب اتصالی که به استخوان دارد همیشه باعث تشکیل لایه سطحی شبیه HA در محیط شبیه‌سازی شده بدن

جدول ۱ ترکیبات شیشه‌های زیست فعال مختلف [۵۹]

ترکیب شیشه‌ای (درصد وزنی)	45S5	13-93	6P53B	58S	70S30C	13-93B1	13-93B3	$\text{P}_{50}\text{C}_{35}\text{N}_{15}$
Na_2O	۲۴/۵	۶/۰	۱۰/۳	۰	۰	۵/۸	۵/۵	۹/۳
K_2O	۰	۱۲/۰	۲/۸	۰	۰	۱۱/۷	۱۱/۱	۰
MgO	۰	۵/۰	۱۰/۲	۰	۰	۴/۹	۴/۶	۰
CaO	۲۴/۵	۲۰/۰	۱۸/۰	۳۲/۶	۲۸/۶	۱۹/۵	۱۸/۵	۱۹/۷
SiO_2	۴۵/۰	۵۳	۵۲/۷	۵۸/۲	۷۱/۴	۳۴/۴	۰	۰
P_2O_5	۶/۰	۴/۰	۶/۰	۹/۲	۰	۳/۸	۳/۷	۷۱/۰
B_2O_3	۰	۰	۰	۰	۰	۱۹/۹	۵۶/۶	۰

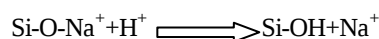
در حقیقت، شیشه‌های زیست فعال از مواد معدنی که به طور طبیعی در بدن وجود دارند مانند H , Na_2O , Ca , SiO_2 و P تشکیل شده‌اند. جالب آن‌که نسبت‌های مولکولی اکسیدهای کلسیم و فسفر در این شیشه‌ها، مشابه استخوان طبیعی می‌باشد. این شیشه‌ها ساختار استخوان را تقلید کرده و رشد دوباره استخوان را تحریک می‌کنند. بنابراین به علت زیست سازگاری

بالا و توانایی استخوان‌سازی به نام شیشه‌های زیست فعال خوانده می‌شوند [۶۰، ۶۱]. همچنین، این شیشه‌ها، دارای سرعت تخریب کنترل شده‌ای نزدیک به سرعت تشکیل استخوان جدید می‌باشند. شیشه‌های زیست فعال می‌توانند با فلزاتی چون مس (Cu)، روی (Zn)، نقره (Ag) و استرانسیوم (Sr) برای کاربردهای مختلف دوپ گردند [۶۲، ۶۳]. به عنوان

مثال، با به کارگیری Ag در ساختار شیشه‌های سیلیکاتی و تهیه فیلم Ag/SiO₂ می‌توان پوشش‌های ضد باکتری با میزان رهایش کنترل شده بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی تهیه کرد [۶۴].

مطالعات گسترده در زمینه ساز و کارهای زیست فعالی و پیوند استخوانی شیشه 45S5، اتصال این شیشه به استخوان را مربوط به تشکیل یک لایه جایگزین مشابه کربنات هیدروکسی آپاتیت (Carbonate-substituted hydroxyapatite like layer: HCA) بر سطح شیشه در تماس با مایعات بدن ذکر کرده‌اند. به دلیل این که این لایه HCA مشابه قسمت معدنی سازنده استخوان است، به صورت پایدار و محکم به استخوان زنده و بافت آن متصل می‌شود. به طور کلی همان‌طور که هیچ (Hench) توصیف کرده بود، اعتقاد بر این است که لایه HCA در نتیجه پنج مرحله واکنش به شرح زیر، جایگزین شیشه زیست فعال می‌شود [۶۵، ۵۹، ۴۸]:

مرحله ۱: واکنش تبادل یونی سریع بین تغییر دهنده شبکه شیشه (Na⁺ و Ca²⁺) با یون‌های H⁺ (و یا H₃O) در داخل محلول که منجر به آبکافت (Hydrolysis) گروه‌های سیلیکا و تولید گروه سیلانول (Si-OH) در سطح شیشه می‌شود. یعنی:



با توجه به مصرف یون‌های H⁺، pH محلول افزایش می‌یابد.

مرحله ۲: افزایش pH (یا غلظت OH⁻) منجر به حمله به شبکه شیشه‌ای SiO₂ و انحلال سیلیکا به شکل اسید سیلیسیک [Si(OH)₄] به داخل حلال شده و شکل‌گیری گروه‌های Si-OH در روی سطح شیشه ادامه می‌یابد:



اگرچه حلالیت سیلیکا کم است، اما حل شدن شیشه‌های 45S5 و شیشه -سرامیک‌ها با افزایش غلظت سیلیکا همراه

است [۶۶] که خود نشان دهنده این مطلب است که انحلال سیلیکا یک مکانیسم مهم است. با این حال، مکانیسم‌های دیگری نیز می‌توانند به افزایش غلظت Si کمک کنند.

مرحله ۳: پلیمریزاسیون تراکمی لایه بی شکل (Amorphous) غنی از SiO₂ (معمولاً ۱-۲ میکرون ضخامت) در سطح شیشه که Na⁺ و Ca²⁺ آن خارج شده است.

مرحله ۴: انحلال بیشتر شیشه، همراه با مهاجرت یون‌های Ca²⁺ و (PO₄)³⁻ از شیشه و همچنین محلول به لایه غنی از SiO₂ شده که منجر به تشکیل لایه کلسیم فسفات بی شکل (Amorphous Calcium Phosphate: ACP) در سطح لایه غنی از SiO₂ می‌شود.

مرحله ۵: حلالیت شیشه ادامه یافته و با قرارگیری یون‌های OH⁻ و (CO₃)²⁻ موجود در محلول، HCA بلورین می‌شود.

با شکل‌گیری اولیه لایه HCA، مکانیسم‌های زیستی اتصال به استخوان، شامل فراخوانی فاکتورهای رشد، چسبندگی، تکثیر و تمایز سلول‌های پیش‌ساز استخوانی اتفاق می‌افتد [۵۹]. استئوبلاست‌ها (سلول‌های تشکیل دهنده استخوان) شبکه خارج سلولی (کلاژن) را می‌سازند که معدنی شده و به موازات تخریب شیشه با گذشت زمان تشکیل کلاژن و نانوبلورها را روی سطح شیشه کاشته شده می‌دهند [۵۳]. با اندازه‌گیری ترشح سیلیکون در نمونه خون و ادرار برای مدت ۷ ماه بعد از جایگزینی و استفاده از تحلیل‌های شیمیایی و هیستوپاتولوژی (Histopathology) در بافت استخوان و چندین اعضای دیگر نشان داده شده است که سیلیکون آزاد شده در نتیجه تخریب 45S5 مضر نبوده و می‌تواند از طریق ادرار دفع گردد.

به کارگیری شیشه‌های 45S5 به عنوان یک استاندارد طلایی در ساخت داربست‌ها محدودیت‌هایی نیز دارد که یکی از آن‌ها سخت بودن فرآیند تبدیل به داربست سه بعدی است [۶۷]. یکی دیگر از محدودیت‌های شیشه‌های 45S5 سرعت تخریب آهسته آن‌ها و تبدیل به فاز معدنی مشابه HA می‌باشد که نمی‌تواند با سرعت تشکیل بافت جدید یکسان شود. در

شیشه‌های زیست فعال در مهندسی بافت استخوان

برون تنی ایستا (Static) دیده می‌شود، اما سمیت آن در محیط‌های کشت پویا (Dynamic) کاهش می‌یابد [۸۰]. تحقیقات اخیر توانایی کنترل نرخ تخریب شیشه‌های زیست فعال را با تغییر ترکیب آن‌ها نشان داده است. برای مثال با جایگزینی قسمتی از SiO_2 در 45S5 سیلیکاتی یا شیشه‌های 13-93 با B_2O_3 (تولید شیشه‌های زیست فعال بوروسیلیکات) یا جایگزینی کامل SiO_2 با B_2O_3 (تولید شیشه زیست فعال بوراتی) نرخ تخریب می‌تواند تا بازه گسترده‌ای تغییر پیدا کند [۶۸، ۶۹، ۸۱]. سهولت تولید و توانایی کنترل نرخ تخریب شیشه‌های زیست فعال بر پایه بورات قابلیت آن‌ها را به صورت موضعی برای افزایش ترمیم استخوان مورد تأیید قرار می‌دهد. با کنترل ترکیب شیشه، می‌توان نرخ تخریب شیشه‌های زیست فعال بوراتی را متناسب با نرخ بازسازی استخوان برابر کرد. همچنین، این امکان وجود دارد که بتوان عناصری مانند Zn، Cu، F، Mn، Sr و B که در رشد استخوان دخیل هستند را در داخل ترکیب این شیشه‌ها استفاده کرد که به موازات تخریب این شیشه‌ها در محیط درون تنی، این عناصر می‌توانند با سرعت زیستی قابل قبولی آزاد شوند.

شیشه‌های زیست فعال فسفاتی

شیشه‌های فسفاتی (جدول ۱)، بر پایه شبکه شیشه‌ای P_2O_5 می‌باشند که در آن‌ها CaO و Na_2O به عنوان تغییر دهنده استفاده شده و در مصارف زیست پزشکی به کار می‌روند [۸۲-۸۶]. از آن‌جا که یون‌های تشکیل دهنده آن‌ها مشابه فاز معدنی استخوان می‌باشد، این شیشه‌ها تمایل خوبی برای برقراری پیوند شیمیایی با استخوان داشته و بنابراین ظرفیت استفاده در امور بالینی به عنوان یک ماده قابل جذب را دارا هستند.

قابلیت رشد استخوانی و القای تولید استخوان

توسط داربست‌های بر پایه شیشه‌های زیست فعال

شیشه‌های زیست فعال 45S5 می‌توانند باعث افزایش

حقیقت تبدیل داربست به جزء معدنی HA ناقص بوده و بنابراین قسمتی از شیشه در ساختار داربست باقی مانده که استفاده آن را در دراز مدت، در محیط درون تنی، به علت اثرات حضور SiO_2 نامطمئن می‌سازد. همچنین یکی دیگر از مشکلاتی که استفاده از شیشه و سایر شیشه‌های زیست فعال و مواد زیست تخریب‌پذیر به همراه دارند تحت تأثیر قرارگیری ریزمحیط زیستی موضعی به علت فرآیند تخریب این شیشه‌ها می‌باشد. افزایش غلظت یون‌های سدیم و کلسیم و تغییرات pH می‌تواند در نتیجه تخریب موضعی به خصوص در روزهای اول رخ دهد که پیش‌گویی اثرات زیستی این تغییرات را بر اساس آزمایش‌های برون تنی مشکل می‌سازد. همچنین، نقش زیستی مواد آزاد شده، سمیت و دفع آن‌ها هنوز به درستی مشخص نمی‌باشد [۶۸-۷۰].

شیشه‌های زیست فعال بوراتی (Borate bioactive glass)

مطالعات اخیر بر روی سایر ترکیبات شیشه‌های زیست فعال مانند شیشه‌های بوراتی نیز انجام شده است (جدول ۱) [۷۵-۷۱]. برخی از شیشه‌های زیست فعال بوراتی به دلیل ماندگاری کم شیمیایی، سریع‌تر تخریب می‌شوند و در مقایسه با شیشه سیلیکاتی 45S5 به میزان بیشتری به مواد شبه HA تبدیل می‌شوند. فرآیند تبدیل شیشه‌های زیست فعال بوراتی به HA مشابه آنچه برای شیشه‌های 45S5 ذکر گردید می‌باشد، اما بدون ایجاد لایه غنی از SiO_2 [۶۸، ۷۶]. شیشه‌های زیست فعال بوراتی، رشد و تمایز سلولی را در محیط برون تنی [۷۷، ۷۸] و تشکیل بافت را در محیط درون تنی حمایت می‌کنند. این شیشه‌ها، همچنین، قابلیت رهایش دارو را برای درمان عفونت‌های استخوانی دارند [۷۹]. نگرانی که درباره شیشه‌های زیست فعال بورات وجود دارد مربوط به سمیت آن‌هاست که به دلیل آزاد شدن بورون در محلول به صورت یون بورات BO_3^{3-} می‌باشد. اگرچه این سمیت سلولی در شرایط کشت

تشکیل استخوان جدید در محیط درون تنی شوند. به عنوان مثال، وقتی که گرانول‌های این شیشه در استخوان ران خرگوش قرار گرفتند، تکثیر استخوانی سریع‌تری را نسبت به HA سنتزی نشان دادند [۸۷]. مطالعات زیادی در زمینه بررسی پیام‌هایی که شیشه 45S5 به سلول‌ها اعمال کرده و آن‌ها را وادار به تشکیل استخوان جدید می‌کند انجام شده است [۸۸-۹۰]. همان‌طور که قبلاً هم اشاره شد، شیشه 45S5 تخریب می‌شود و یون‌های سدیم، کلسیم و سیلیکای محلول [به صورت Si(OH)_4] آزاد می‌شوند. این باور وجود دارد که تعدادی از این یون‌ها باعث تحریک سلول‌ها برای ساخت استخوان می‌شوند [۵۹]. به طور خاص، میزان یون‌های کلسیم و Si(OH)_4 آزاد شده برای تشکیل استخوان ضروری هستند. با این حال، نقش سیلیسیم هنوز هم مورد سوال است. به عنوان مثال نشان داده شده است که ترکیبات خاصی از شیشه‌های زیست فعال بوراتی باعث افزایش تشکیل استخوان جدید در محدوده بالاتری نسبت به شیشه 45S5 می‌شوند با این‌که این شیشه‌ها فاقد سیلیسیم هستند [۹۱]. رایج‌ترین روش برای تهیه داربست‌های متخلخل حاوی شیشه‌های زیست فعال این است که ذرات یا الیاف شیشه‌ای تهیه شده به روش مذابی را به یک ساختار با هندسه مورد نظر تبدیل کرده و سپس آن را تحت عملیات تف جوشی قرار داده تا ذرات یا الیاف به هم اتصال پیدا کرده و ساختاری سه بعدی با استحکام مکانیکی مناسب و تخلخل‌های به هم پیوسته ایجاد شود. برای یک داربست ساخته شده از شیشه زیست فعال، میزان تخلخل، اندازه تخلخل‌ها و پیوستگی تخلخل‌ها پارامترهای مهمی هستند. به طور کلی، تخلخل‌های به هم پیوسته با میانگین قطری ۱۰۰ میکرومتر یا بیشتر و میزان تخلخل‌های باز (Open porosity) (بیشتر از ۵۰ درصد) جزء حداقل‌های لازم برای رشد بافتی در داخل داربست می‌باشد [۹۲، ۹۳]. با توجه به نقش بسیار مهم داربست در فناوری مهندسی بافت، امروزه روش‌های متعددی برای طراحی و ساخت داربست‌های مطلوب و مناسب به کار گرفته می‌شود

که توضیح این روش‌ها در مقوله این مقاله نمی‌گنجد.

مشخصه‌یابی شیشه‌های زیست فعال در محیط

برون تنی

مشخصه‌یابی برون تنی شیشه‌های زیست فعال مانند نرخ تخریب و تبدیل به ماده‌ی شبه HA، پاسخ مکانیکی و پاسخ به سلول‌ها عمدتاً بستگی به ترکیب شیشه‌ها و میکرو ساختار داربست‌ها دارد.

تخریب و تبدیل به HA

به طور معمول، پویایی تخریب شیشه‌ها و تبدیل آن‌ها به HA در محیط برون تنی با فرو بردن شیشه‌ها (به صورت ذرات، دیسک یا داربست متخلخل) در محلول SBF (Simulated body fluid) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و اندازه‌گیری وزن از دست رفته‌ی شیشه در زمان معین اتفاق می‌افتد. تخریب با حل شدن یون‌ها و مواد قابل حل در حلال [مانند BO_3^{3-} و Na^+ و Si(OH)_4 بسته به ترکیب] باعث تغییر در pH و غلظت یونی محلول با گذشت زمان می‌گردد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مکانیسم تبدیل به HA بستگی به ترکیب شیشه زیست فعال دارد [۹۴، ۹۵]. اگر زمان واکنش برای بلورین شدن (Crystallize) کافی باشد، الگوی پراش اشعه ایکس (X-ray diffraction: XRD) در شیشه تغییر یافته، اغلب نقاط بیشینه (Peaks) حاصل مربوط به تولید HA را نشان می‌دهد. با این حال، تجزیه و تحلیل میکروشیمیایی با روش‌های اسپکتروسکوپی پراش انرژی پرتو ایکس (-Energy EDX: dispersive X-ray spectroscopy)، معمولاً HA بدون کلسیم را که در آن نسبت اتمی کلسیم/فسفات کمتر از ۱/۶۷ (نسبت مرجع برای HA) است را نشان می‌دهد. ذکر این نکته لازم است که نسبت کلسیم/فسفات در شیشه تغییر یافته معمولاً از سطح شیشه واکنش داده تا به عمق آن متفاوت می‌باشد. از نظر شیمیایی، طیف مادون قرمز تبدیل فوریه

شیشه‌های زیست فعال در مهندسی بافت استخوان

انیزوتروپیک (Anisotropic) می‌باشد. براساس مطالعات انجام شده روی نمونه‌های بزرگ استخوانی، استحکام فشاری و مدول کشسانی استخوان‌های قشری در جهت موازی با محور بزرگ استخوان به ترتیب، در بازه‌ای بین ۱۰۰-۱۵۰ مگاپاسکال و ۵-۱۵ گیگاپاسکال گزارش شده است. استقامت و مدول آن‌ها در جهت عمود بر محور بزرگ تر ۱/۵-۲ بار کمتر است. بازه وسیعی برای مدول کشسانی (۱/۵-۵ گیگاپاسکال) و مقاومت فشاری (۲-۱۲ مگاپاسکال) استخوان‌های تراپیکولار (Trabecular) نیز گزارش شده است [۹۶-۹۸].

خواص مکانیکی داربست‌های متخلخل به نوع زیست ماده، ریزساختار آن و روش ساخت آن بستگی دارد. جدول ۲، استحکام فشاری داربست‌های ساخته شده بر پایه شیشه‌های زیست فعال با روش‌های مختلف را نشان می‌دهد. استفاده از روش‌های نوین ساخت مانند روش‌های مدل‌سازی سریع (Rapid prototyping) باعث تولید شیشه‌های زیست فعال با استحکام فشاری و مدول کشسانی قابل مقایسه با استخوان قشری انسانی، می‌شود. این داربست‌ها پتانسیل به کارگیری در بازسازی استخوانهای تحت فشار را دارا می‌باشد [۴۷].

پاسخ شیشه‌های زیست فعال به سلول‌ها

شبکه استخوان متشکل از مواد آلی و املاح معدنی است که هر کدام ۵۰ درصد وزن خشک استخوان را تشکیل می‌دهند. ۸۰ درصد ماده آلی شبکه استخوانی را، کلاژن نوع I و ۲۰ درصد بقیه را پروتئوگلیکان‌ها (Proteoglycans) تشکیل می‌دهند. عمده‌ترین مواد معدنی استخوان را کلسیم و فسفر تشکیل می‌دهند که قسمت اعظم آن‌ها به شکل بلورهای HA می‌باشد. ترکیب شیشه‌های زیست فعال تأثیر مهمی بر توانایی آن‌ها در حمایت از رشد و عملکرد سلول‌ها در محیط برون تنی دارد. شیشه‌های زیست فعال سیلیکاتی (مانند ۱۳-۹۳ یا ۴۵۵۵) به شکل دیسک‌ها یا داربست‌های متخلخل به خوبی می‌توانند باعث بهبود تکثیر و عملکرد سلول‌های استخوانی گردند [۸۰، ۹۹]. در مقابل، نشان داده شده است که شیشه‌های زیست فعال

(Fourier transform infrared spectroscopy: FTIR) از شیشه واکنش داده مربوط به گروه کربنات است، که به طور کلی نشان دهنده تشکیل کربنات HA است که در آن تعدادی از یون‌های $(PO_4)^{3-}$ در HA در نتیجه حل شدن CO_2 در محلول SBF به وسیله $(CO_3)^{2-}$ جایگزین شده‌اند. در عین حال، وجود فاز دوم $CaCO_3$ نیز نمی‌تواند رد شود. جایگزینی OH^- در HA به وسیله $(CO_3)^{2-}$ نیز می‌تواند اتفاق بیفتد، مخصوصاً در سیستم سنتزی غیر آبی (۱۰۰۰ درجه سلسیوس) اما نه در سیستم‌های آبی (۲۵-۱۰۰ درجه سلسیوس) یا آپاتیت زیستی [۳۰]. نکته مهم آن که مکانیسم تبدیل شیشه به طور پیوسته اتفاق نمی‌افتد و فرآیندی است که شروع شده و دوباره متوقف می‌شود. علت این امر وابستگی این فرآیند به غلظت یون‌های واکنش‌گر شیشه و محلول می‌باشد. به همین دلیل تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscope: SEM) از سطح مقطع شیشه تغییر یافته نشان می‌دهد که ریزساختار (Microstructure) یکنواخت نیست و به جای آن ساختار لایه‌ای مشاهده می‌شود [۶۸، ۶۹]. به طور معمول، لایه سطحی بیشترین فشردگی یا کمترین تخلخل را دارا می‌باشد.

خواص مکانیکی شیشه‌های زیست فعال

مشخصه مهم یک داربست برای ترمیم استخوان‌های تحت بار، توانایی تحمل بار می‌باشد. همان طور که قبلاً هم بیان شد، داربست باید دارای خواص مکانیکی متناسب با بافت مورد نظر باشد. از نظر تشریحی، دو نوع استخوان در بدن وجود دارد: استخوان‌های دراز و استخوان‌های پهن. استخوان‌های دراز معمولاً دارای بافت استخوانی متراکم (تخلخل ۵-۱۰ درصد) و استخوان‌های پهن دارای بافت اسفنجی با تخلخل بیشتر (۵۰-۹۰ درصد) هستند [۹۴]. خواص مکانیکی استخوان‌های مختلف با یکدیگر و نیز بین قسمت‌های مختلف یک استخوان متفاوت می‌باشد. همچنین، خواص مکانیکی به علت میکروساختار جهت دار استخوان (Oriented microstructure) به شدت

بورون مخصوصاً در نزدیکی سطح شیشه می‌شود. با این وجود با بهبود شرایط کشت به سمت محیطی پویاتر و کمک به تحرک محیط کشت می‌توان به تبدیل لایه سطحی شیشه‌های بوراتی به HA کمک کرده و بنابراین توانایی این شیشه‌ها را برای تکثیر و تمایز سلول‌ها افزایش داد.

بوراتی (مانند 13-93B3 یا 45S5B3) قابلیت کمتری برای حمایت از رشد و عملکرد سلولی دارند. به نظر می‌رسد علت این موضوع به دلیل نرخ تخریب سریع‌تر این شیشه‌ها و سمیت بورون آزاد شده به محیط کشت بوده که pH محیط را افزایش می‌دهد [۷۶، ۹۴]. این تخریب سریع باعث افزایش غلظت

جدول ۲ روش‌های مختلف برای ساخت داربست‌های بر پایه شیشه‌های زیست فعال و خصوصیات داربست‌های ساخته شده [۵۹]

روش ساخت	شیشه زیست فعال	درصد تخلخل	اندازه تخلخل‌ها (میکرومتر)	استحکام (مگاپاسکال)	منبع
پیوند حرارتی با (Thermal bonding of)					
ذرات (Partides)	13-93	۴۵-۴۰	۳۰۰-۱۰۰	۱±۲۲	[۹۴]
الیاف کوتاه (Short fibers)	13-93	۵۰-۴۵	>۱۰۰	۵	[۹۵]
تکثیر فومی پلیمر (Polymer foam replication)	45S5	۹۲-۸۹	۷۲۰-۵۱۰	۴/۰	[۹۶]
	13-93	۸۵-۷۵	۵۰۰-۱۰۰	۱±۱۱	[۹۷]
	13-93B3	۸۵-۸۰	۵۰۰-۱۰۰	۵	[۹۸]
فوم سول-ژل (Sol-gel foam)	70S30C	۸۲	۵۰۰-۱۰۰	۲/۴	[۹۹]
انجماد یک سویه سوسپانسیون‌ها (Unidirectional freezing of suspensions)	13-93	۵۷-۵۳	۱۱۰-۹۰	۳±۲۵	[۱۰۰]
	13-93	۵۵-۵۰	۱۲۰-۶۰	۸±۲۷	[۱۰۱]
	13-93	۵۰	۱۵۰-۵۰	۵±۴۷	[۱۰۲]
Solid freeform fabrication					
تف جوشی لیزری انتخابی (Selective laser sintering)	13-93	۶۰-۵۸	۱۰۰۰-۷۰۰	۱±۱۵	[۵۹]
تولید بیرونامدگی انجمادی (Freeze extrusion fabrication)	13-93	۵۰	۳۰۰	۷۰±۱۴۰	[۱۰۳]
ریخته گری رباتیک (Robocasting)	6P53B	۶۰	۵۰۰	۲۲±۱۳۶	[۱۰۴]

مشخصه‌یابی درون تنی داربست‌های شیشه‌های زیست فعال

همان طور که قبلاً هم گفته شد، قطعات و گرانول‌های شیشه‌های زیست فعال سیلیکاتی 45S5 می‌توانند تشکیل استخوان جدید را در محیط درون تنی افزایش دهند [۸۷، ۱۰۰]. مطالعات نشان داده است که ترکیب تشکیل دهنده شیشه‌های زیست فعال، اثرات قابل توجهی بر توانایی این شیشه‌ها در حمایت رشد بافتی در محیط درون تنی دارد. فو (Fu) و همکارانش اثر داربست‌های مشابه ریزساختار استخوان ترابکولار اما متشکل از ترکیبات مختلف (سیلیکاتی 13-93، بوروسیلیکاتی 13-93B1، بوراتی 13-93B3) را در کاشت ۶

هفته‌ای زیرپوستی بررسی کردند. نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش میزان B_2O_3 در ساختار شیشه، داربست سریع‌تر به مواد شبه HA تبدیل می‌شود. هر دو داربست بوراتی و بوروسیلیکاتی کاملاً با HA پوشانده شده بودند در حالی که فقط قسمتی از داربست سیلیکاتی 13-93 با HA پوشانده شده بود. نتایج حاصله کاملاً منطبق با مشاهدات در محیط برون تنی بود [۷۰]. بر خلاف مشاهدات برون تنی که شیشه‌های بوراتی توانایی کمتری برای تکثیر و عملکرد سلولی نشان می‌دهند، کاشت این شیشه‌ها در طی ۶ هفته توانایی خوبی را برای حمایت از نفوذ بافتی نشان داد. علاوه بر ترکیب، ریزساختار نیز می‌تواند تأثیراتی بر توانایی داربست‌های شیشه‌های زیست فعال برای حمایت از رشد

فاکتور رشد فیروپلاستی پایه (Base Fibroblast Growth Factor: bFGF)، ژن درمانی و درمان بر پایه سلول‌ها وجود دارد [۱۰۲]. با این وجود، فاکتورهای رشد گران قیمت هستند و روش‌های انتقال بهینه آن‌ها هنوز مشخص نیست. توانایی شیشه‌های زیست فعال در القای رگ‌زایی، جایگزین مناسبی برای فاکتورهای رشد گران قیمت در تحریک ایجاد عروق جدید در بافت‌های مهندسی شده می‌باشد [۱۰۳].

تأثیرات مفید استفاده از میزان کم شیشه‌های زیست فعال 45S5 برای تحریک عروق‌زایی در مطالعات جدید مورد بررسی قرار گرفته است [۱۰۴]. به عنوان مثال، سطوح پلی استایرنی پوشش داده شده با غلظت کم (۰/۰۱-۰/۲ درصد وزنی) ذرات کوچک‌تر از ۵ میکرومتر شیشه 45S5 نسبت به نمونه پوشش داده نشده باعث افزایش تکثیر سلول‌های فیروپلاستی 208F بعد از ۲۴ ساعت کشت گردید [۷۱]. همچنین، محیط کشت جمع‌آوری شده از رشد فیروپلاست‌ها برای مدت ۲۴ ساعت بر سطح پوشش داده شده با شیشه 45S5 (۰/۰۱ درصد وزنی) دارای غلظت بالاتری از VEGF بود. پوشش‌دار کردن پلی گلیکولیک اسید با شیشه زیست فعال 45S5 به طور معنی‌داری باعث افزایش تشکیل عروق جدید بعد از کارگذاری زیرپوستی داربست به مدت ۲۸ و ۴۲ روز گردید. در بررسی دیگری، پوشش‌دهی داربست تخریب پذیر Poly(Lactide-co-Glycolide) (دارای رهایش VEGF) با ذرات شیشه‌ای 45S5 منجر به افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیالی در محیط برون تنی شده و بعد از کاشت ۲ هفته‌ای در جمجمه موش صحرایی رگ‌زایی بیشتری در آن مشاهده گردید [۱۰۵]. بارگذاری غلظت‌های مختلف 45S5 بر روی اسفنج کلاژنی، همچنین، حضور عوامل پیش‌ساز عروقی را در محصولات ناشی از تخریب این شیشه‌ها و تحریک سلول‌ها برای ترشح حداقل یک فاکتور رشد از جمله VEGF به اثبات رسانید [۱۰۶]. ذکر این نکته ضروری است که این پتانسیل پیش‌ساز عروقی شیشه‌های زیست فعال وابسته به میزان (Dose dependent) بوده و اسفنج کلاژنی بارگذاری شده با میزان بهینه شیشه 45S5 رگ‌زایی بیشتری را دو هفته بعد از کاشت در جمجمه موش صحرایی در

بافت جدید داشته باشد. به عنوان مثال، داربست‌هایی با ساختار جهت دار (Oriented scaffolds) به میزان بیشتری از رشد بافت جدید حمایت می‌کنند که دلیل آن می‌تواند بهبود انتقال جرم (Mass transport) و افزایش تعامل سلول-سلول (Cell-cell interaction) باشد. کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal Stem Cell: MSC) بر روی داربست‌های تهیه شده از شیشه‌های زیست فعال، همچنین، می‌تواند نفوذ بافتی را افزایش دهد. به عنوان مثال، داربست‌های شیشه‌ای 13-93 کاشته شده در زیر پوست به همراه MSC های استخراج شده از مغز استخوان موش صحرایی، نفوذ بافتی بیشتری (۳ برابر) را نسبت به داربست‌های بدون سلول در طی ۴ هفته نشان داد.

علاوهم نتایج امیدبخش شیشه‌های زیست فعال بوراتی در بازسازی استخوان و این‌که مطالعات بافتی هیچ اثر مضر را در نتیجه کاشت این شیشه‌ها به صورت زیرپوستی [۹۴، ۱۰۱] و یا درون جمجمه موش‌های صحرایی نشان نداده است [۹۱]، اما سمیت بورون آزاد شده در محیط درون تنی هنوز جای نگرانی دارد چرا که این ماده در بالاتر از غلظت آستانه برای سلول‌ها سمی می‌باشد.

نقش شیشه‌های زیست فعال در رگ‌زایی و ترمیم بافت نرم

با این‌که شیشه‌های زیست فعال به طور گسترده‌ای برای ترمیم استخوان و بازسازی آن مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، مطالعات مرتبط کمی بر روی اثرات این شیشه‌ها در بازسازی بافت نرم انجام شده است. با این حال، تحقیقات جدید توانایی شیشه‌های زیست فعال در بهبود رگ‌زایی (Angiogenesis) (تشکیل عروق خونی) که بسیار ضروری و مهم در مهندسی بافت و بهبود زخم‌های بافت نرم هستند را نشان داده است. نگرش‌های جدیدی برای تحریک رگ‌زایی با استفاده از فاکتورهای رشد مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF) و

مقایسه با کلاژن تنها نشان داد [۱۰۷]. به نظر می‌آید که توانایی فوق‌العاده این شیشه‌ها برای ایجاد عروق جدید می‌تواند توجیه کننده تشکیل بیشتر استخوان در داربست‌های ترکیبی حاوی این شیشه‌ها باشد.

نقش مستقیم مس برای بهبود رگ‌زایی بیش از ۲ دهه است که شناخته شده است. نشان داده شده است که یون‌های مس (II) می‌توانند تکثیر سلول‌های اندوتلیال (وابسته به میزان) را در محیط کشت برون تنی افزایش دهند [۱۰۸]. توانایی یون‌های مسی برای بهبود ترمیم زخم به علت تنظیم افزایشی VEGF توسط سلول‌های تحریک شده می‌باشد [۱۰۹، ۱۱۰]. این یافته‌ها می‌تواند روش‌های نوینی را برای استفاده از شیشه‌های زیست فعال در بهبود رگ‌زایی بافت‌های مهندسی شده پیش روی محققین قرار دهد. یک رویکرد مؤثر، دستکاری ساختار شیشه‌ها به طریقی که حاوی میزان مناسب مس برای افزایش رگ‌زایی گردد می‌باشد. به موازات تخریب شیشه و تبدیل آن به مواد شبه HA، مس نیز با سرعت مطلوب آزاد می‌شود. به عنوان مثال، داربست‌های فیبری تهیه شده از شیشه زیست فعال بوراتی (93B3-13) در بر گیرنده مس نتایج خوبی را در بهبود رگ‌زایی در کاشت زیر پوستی موش صحرایی نشان داده‌اند [۱۱۱]. این موضوع، همچنین، نشان دهنده آن است که علاوه بر شیشه‌های سیلیکاتی سایر شیشه‌های زیست فعال نیز قادر به بهبود رگ‌زایی می‌باشند.

جمع‌بندی

با این‌که شیشه‌های زیست فعال بر پایه ترکیب 45S5 به

صورت گسترده‌ای در ۴۰ سال اخیر مورد بررسی قرار گرفته‌اند، به تازگی شیشه‌های زیست فعال بر پایه ترکیبات بورات و بوروسیلیکات فرصت‌های جدیدی را برای استفاده از این شیشه‌ها در مهندسی بافت پدید آورده‌اند. نگرانی‌ها درباره سمیت شیشه‌های بوراتی برای سلول‌ها و بافت‌ها با نتایج حاصل از عدم سمیت آن‌ها در حیوانات کوچک تا حدودی برطرف شده است. در حالی که توانایی این شیشه‌ها برای حمایت از استخوان‌سازی به خوبی شناخته شده است، تحقیقات اخیر نشان دهنده پتانسیل رگ‌زایی این شیشه‌ها بوده که خود نشان دهنده مزیت به کارگیری آن‌ها در ترمیم بافت نرم می‌باشد.

با وجود شکنندگی، شیشه‌های زیست فعال دارای مجموعه‌ای از خواص منحصر به فرد هستند؛ مانند توانایی تخریب قابل کنترل و تبدیل به مواد شبه HA، اتصال محکم به بافت سخت و نرم و آزاد کردن یون‌ها در طول فرآیند تخریب. این یون‌ها تأثیرات مفیدی بر ساخت استخوان و رگ‌زایی دارند و نتایج اخیر نشان داده‌اند که حتی می‌توانند تأثیرات مفیدی هم بر ساخت غضروف داشته باشند. مطالعات آینده می‌تواند با به کارگیری روش‌های نوین ساخت داربست، اثرات شکنندگی آن‌ها را محدود کرده و کاربرد آن‌ها را در استخوان‌های تحت بار وسیع‌تر گرداند. نتایج امیدوار کننده استفاده از شیشه‌های زیست فعال در افزایش چسبندگی، مهاجرت و تمایز سلول‌های استخوانی و به دنبال آن افزایش معدنی شدن استخوان گام بزرگی در مهندسی بافت استخوان برای درمان ضایعات استخوانی می‌باشد.

منابع

[1] Hafezi F, Hosseinejad F, Fooladi AA, Mafi SM, Amiri A, Nourani MR. Transplantation of nano-bioglass/gelatin scaffold in a non-autogenous setting for bone regeneration in a rabbit ulna. J Mater Sci Mater Med 2012;

23(11): 2783-92.

[2] Marino JT, Ziran BH. Use of solid and cancellous autologous bone graft for fractures and nonunions. Orthop Clin North Am 2010; 41(1): 15-26.

- [3] Hosseini Aghozbeni EA, Imani Fooladi AA, Nourani MR. Evaluation of Biocompatible Bioglass/Gelatin Scaffold Enhanced by Mesenchymal Stem Cell for Bone Tissue Regeneration. *J of Applied Tissue Engineering* 2014; 1(1): 8-12.
- [4] Azami M, Tavakol S, Samadikuchaksaraei A, Hashjin MS, Baheiraei N, Kamali M, Nourani MR. A Porous Hydroxyapatite/Gelatin Nanocomposite Scaffold for Bone Tissue Repair: In Vitro and In Vivo Evaluation. *J Biomater Sci Polym Ed* 2012; 23(18): 2353-68.
- [5] Mozafari M, Moztarzadeh F, editors. Novel porous gelatin/bioactive glass scaffolds with controlled pore structure engineered via compound techniques for bone tissue engineering. 2011 1st Middle East Conference on Biomedical Engineering, Sharjah, 2011; p: 104-7. Available from: <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=5752076&isnumber=5751960>
- [6] Elisseeff J, McIntosh W, Fu K, Blunk T, Langer R. Controlled-release of IGF-I and TGF- β 1 in a photopolymerizing hydrogel for cartilage tissue engineering. *Journal of Orthopaedic Research* 2001; 19(6): 1098-104.
- [7] Babensee JE, McIntire LV, Mikos AG. Growth factor delivery for tissue engineering. *Pharm Res* 2000; 17(5): 497-504.
- [8] Mahoney MJ, Saltzman WM. Transplantation of brain cells assembled around a programmable synthetic microenvironment. *Nat Biotechnol* 2001; 19(10): 934-9.
- [9] Shea LD, Smiley E, Bonadio J, Mooney DJ. DNA delivery from polymer matrices for tissue engineering. *Nature biotechnology*. 1999; 17: 551-4.
- [10] Cooper ML, Hansbrough JF. Use of a composite skin graft composed of cultured human keratinocytes and fibroblasts and a collagen-GAG matrix to cover full-thickness wounds on athymic mice. *Surgery* 1991; 109(2): 198-207.
- [11] Hansbrough JF, Morgan J, Greenleaf G, Parikh M, Nolte C, Wilkins L. Evaluation of Graftskin composite grafts on full-thickness wounds on athymic mice. *J Burn Care Rehabil* 1994; 15(4): 346-53.
- [12] Eaglstein WH, Falanga V. Tissue engineering and the development of Apligraf®, a human skin equivalent. *Clinical Therapeutics* 1997; 19(5): 894-905.
- [13] Black AF, Berthod F, L'heureux N, Germain L, Auger FA. In vitro reconstruction of a human capillary-like network in a tissue-engineered skin equivalent. *FASEB J* 1998; 12(13): 1331-40.
- [14] Vacanti CA, Bonassar LJ, Vacanti MP, Shufflebarger J. Replacement of an avulsed phalanx with tissue-engineered bone. *N Engl J Med* 2001; 344(20): 1511-4.
- [15] Kruey MC, van Gaalen SM, Oner FC, Verbout AJ, de Bruijn JD, Dhert WJ. Bone tissue engineering and spinal fusion: the potential of hybrid constructs by combining osteoprogenitor cells and scaffolds. *Biomaterials* 2004; 25(9): 1463-73.
- [16] Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng* 2007; 13(5): 947-55.

- [17] Cao Y, Vacanti JP, Paige KT, Upton J, Vacanti CA. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100(2): 297-302
- [18] Valonen PK, Moutos FT, Kusanagi A, Moretti MG, Diekman BO, Welter JF, Caplan AI, Guilak F, Freed LE. In vitro generation of mechanically functional cartilage grafts based on adult human stem cells and 3D-woven poly (ϵ -caprolactone) scaffolds. *Biomaterials* 2010; 31(8): 2193-200.
- [19] Hutmacher DW. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues - state of the art and future perspectives. *J Biomater Sci Polym Ed* 2001; 12(1): 107-24.
- [20] Griffith LG. Polymeric biomaterials. *Acta Materialia* 2000; 48(1): 263-77.
- [21] Agrawal CM, Ray RB. Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 2001; 55(2): 141-50.
- [22] Hayashi T. Biodegradable polymers for biomedical uses. *Progress in Polymer Science* 1994; 19(4): 663-702.
- [23] Reis RL, Neves NM, Mano JF, Gomes ME, Marques AP, Azevedo HS. Natural-based polymers for biomedical applications. A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Elsevier, 2008; p: 374-95.
- [24] Azami M, Moztarzadeh F, Tahriri M. Preparation, characterization and mechanical properties of controlled porous gelatin/hydroxyapatite nanocomposite through layer solvent casting combined with freeze-drying and lamination techniques. *J Porous Mater* 2010; 17(3): 313-20.
- [25] Baheiraei N, Azami M. Investigation of fluorine incorporation within gelatin/calcium phosphate nanocomposite scaffold prepared through a diffusion method. *Advanced Composites Letters* 2013; 22(5): 106-12.
- [26] Thomson RC, Yaszemski MJ, Powers JM, Mikos AG. Hydroxyapatite fiber reinforced poly (α -hydroxy ester) foams for bone regeneration. *Biomaterials* 1998; 19(21): 1935-43.
- [27] Zhang W, Shen Y, Pan H, Lin K, Liu X, Darvell BW, Lu WW, Chang J, Deng L, Wang D, Huang W. Effects of strontium in modified biomaterials. *Acta Biomater* 2011; 7(2): 800-8.
- [28] Lu HH, El-Amin SF, Scott KD, Laurencin CT. 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. *J Biomed Mater Res A* 2003; 64(3): 465-74.
- [29] Kim SS, Ahn KM, Park MS, Lee JH, Choi CY, Kim BS. A poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffold with enhanced osteoconductivity. *J Biomed Mater Res A* 2007; 80(1): 206-15.
- [30] LeGeros RZ, Legeros JP. Phosphate Minerals in Human Tissues. In: *Phosphate Minerals*. Edited by Nriagu JO, Moore PB. Berlin, Heidelberg: Springer, 1984; p: 351-85.
- [31] Jones JR. Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta biomater*

- 2015; 23 Suppl: S53-82.
- [32] Gauthier O, Goyenvall E, Bouler JM, Guicheux J, Pilet P, Weiss P, Daculsi G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics versus injectable bone substitute: a comparative study 3 and 8 weeks after implantation in rabbit bone. *J Mater Sci Mater Med* 2001; 12(5): 385-90.
- [33] Bandyopadhyay A, Bernard S, Xue W, Bose S. Calcium Phosphate-Based Resorbable Ceramics: Influence of MgO, ZnO, and SiO₂ Dopants. *Journal of the American Ceramic Society* 2006; 89(9): 2675-88.
- [34] Klein CP, Patka P, den Hollander W. Macroporous calcium phosphate bioceramics in dog femora: a histological study of interface and biodegradation. *Biomaterials* 1989; 10(1): 59-62.
- [35] Martin RB, Chapman MW, Sharkey NA, Zissimos SL, Bay B, Shors EC. Bone ingrowth and mechanical properties of coralline hydroxyapatite 1 yr after implantation. *Biomaterials* 1993; 14(5): 341-8.
- [36] Wagoner Johnson AJ, Herschler BA. A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair. *Acta Biomater* 2011; 7(1): 16-30.
- [37] Lee SH, Shin H. Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59(4-5): 339-59.
- [38] Yan J, Li J, Runge MB, Dadsetan M, Chen Q, Lu L, Yaszemski MJ. Cross-linking characteristics and mechanical properties of an injectable biomaterial composed of polypropylene fumarate and polycaprolactone co-polymer. *J Biomater Sci Polym Ed* 2011; 22(4-6): 489-504.
- [39] Cheung HY, Lau KT, Lu TP, Hui D. A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development. *Composites Part B: Engineering* 2007; 38(3): 291-300.
- [40] Balla VK, Bodhak S, Bose S, Bandyopadhyay A. Porous tantalum structures for bone implants: fabrication, mechanical and in vitro biological properties. *Acta Biomater* 2010; 6(8): 3349-59.
- [41] Luo CJ, Nangrejo M, Edirisinghe M. A novel method of selecting solvents for polymer electrospinning. *Polymer* 2010; 51(7): 1654-62.
- [42] Xue W, Krishna BV, Bandyopadhyay A, Bose S. Processing and biocompatibility evaluation of laser processed porous titanium. *Acta Biomater* 2007; 3(6): 1007-18.
- [43] Verron E, Khairoun I, Guicheux J, Bouler J-M. Calcium phosphate biomaterials as bone drug delivery systems: a review. *Drug Discovery Today* 2010; 15(13-14): 547-52.
- [44] Yun Y, Dong Z, Lee N, Liu Y, Xue D, Guo X, Kuhlmann J, Doepke A, Halsall HB, Heineman W, Sundaramurthy S, Schulz MJ, Yin Z, Shanov V, Hurd D, Nagy P, Li W, Fox C. Revolutionizing biodegradable metals. *Materials Today* 2009; 12(10): 22-32.
- [45] Witte F, Ulrich H, Rudert M, Willbold E. Biodegradable magnesium scaffolds: Part 1: appropriate inflammatory response. *J Biomed Mater Res A* 2007; 81(3): 748-56.
- [46] Baheiraei N, Azami M, Hosseinkhani H. Investigation of magnesium incorporation within gelatin/calcium phosphate

- nanocomposite scaffold for bone tissue engineering. *Int J Appl Ceram Technol* 2015; 12(2): 245-53.
- [47] Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends Biotechnol* 2012; 30(10): 546-54.
- [48] Lizzi F, Villat C, Attik N, Jackson P, Grosgeat B, Goutaudier C. Mechanical characteristic and biological behaviour of implanted and restorative bioglasses used in medicine and dentistry: A systematic review. *Dent Mater* 2017; 33(6): 702-712.
- [49] Rezwan K, Chen QZ, Blaker JJ, Boccaccini AR. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2006; 27(18): 3413-31.
- [50] Williams DF. Definitions in Biomaterials: Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 3-5, 1986, Volume 4, p: 54-7.
- [51] Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 2006; 27(15): 2907-15.
- [52] Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T. Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res* 1990; 24(6): 721-34.
- [53] Ducheyne P. Bioceramics: material characteristics versus in vivo behavior. *J Biomed Mater Res* 1987; 21(A2 Suppl): 219-36.
- [54] Böhner M, Lemaître J. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution? *Biomaterials* 2009; 30(12): 2175-9.
- [55] Ohura K, Böhner M, Hardouin P, Lemaître J, Pasquier G, Flautre B. Resorption of, and bone formation from, new beta-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements: an in vivo study. *J Biomed Mater Res* 1996; 30(2): 193-200.
- [56] Apelt D, Theiss F, El-Warrak AO, Zlinszky K, Bettschart-Wolfisberger R, Böhner M, Matter S, Auer JA, von Rechenberg B. In vivo behavior of three different injectable hydraulic calcium phosphate cements. *Biomaterials* 2004; 25(7-8): 1439-51.
- [57] Theiss F, Apelt D, Brand B, Kutter A, Zlinszky K, Böhner M, Matter S, Frei C, Auer JA, von Rechenberg B. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials* 2005; 26(21): 4383-94.
- [58] Kotani S, Fujita Y, Kitsugi T, Nakamura T, Yamamuro T, Ohtsuki C, Kokubo T. B Bone bonding mechanism of beta-tricalcium phosphate. *J Biomed Mater Res* 1991; 25(10): 1303-15.
- [59] Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science* 2002; 295(5557): 1014-7.
- [60] Krishnan V, Lakshmi T. Bioglass: A novel biocompatible innovation. *J Adv Pharm Technol Res* 2013; 4(2): 78-83.
- [61] Bellucci D, Anesi A, Salvatori R, Chiarini L, Cannillo V. A comparative in vivo evaluation of bioactive glasses and bioactive glass-based composites for bone tissue repair. *Materials Science and Engineering: C* 2017; 79: 286-95.
- [62] Huang M, Hill RG2, Rawlinson SCF. Zinc bioglasses regulate mineralization in human

- dental pulp stem cells. *Dent Mater* 2017; 33(5): 543-552.
- [63] Mariappan C, Ranga N. Influence of silver on the structure, dielectric and antibacterial effect of silver doped bioglass-ceramic nanoparticles. *Ceramics International* 2017; 43(2): 2196-201.
- [64] Baheiraei N, Moztaaradeh F, Hedayati M. Preparation and antibacterial activity of Ag/SiO₂ thin film on glazed ceramic tiles by sol-gel method. *Ceramics international* 2012; 38(4): 2921-5.
- [65] Vichery C, Nedelec JM. Bioactive Glass Nanoparticles: From Synthesis to Materials Design for Biomedical Applications. *Materials (Basel)* 2016; 9(4): 288.
- [66] Rohanová D, Boccaccini AR, Yunos DM, Horkavcová D, Březovská I, Helebrant A. TRIS buffer in simulated body fluid distorts the assessment of glass-ceramic scaffold bioactivity. *Acta Biomater* 2011; 7(6): 2623-30.
- [67] Chen QZ, Thompson ID, Boccaccini AR. 45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2006; 27(11): 2414-25.
- [68] Huang W, Day DE, Kittiratanapiboon K, Rahaman MN. Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions. *J Mater Sci Mater Med* 2006; 17(7): 583-96.
- [69] Huang W, Rahaman MN, Day DE, Li Y. Mechanisms for converting bioactive silicate, borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solution. *Phys Chem Glasses: Eur J Glass Sci Technol B* 2006; 47(6): 647-58.
- [70] Fu Q, Rahaman MN, Fu H, Liu X. Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. I. Preparation and in vitro degradation. *J Biomed Mater Res A* 2010; 95(1): 164-71.
- [71] Day D, White JE, Brown RF, McMenamin KD. Transformation of borate glasses into biologically useful materials. *Glass Technology* 2003; 44(2): 75-81.
- [72] Day RM, Boccaccini AR, Shurey S, Roether JA, Forbes A, Hench LL, Gabe SM. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds. *Biomaterials* 2004; 25(27): 5857-66.
- [73] Han X, Day DE. Reaction of sodium calcium borate glasses to form hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med* 2007; 18(9): 1837-47.
- [74] Zhao D, Huang W, Rahaman MN, Day DE, Wang D. Mechanism for converting Al₂O₃-containing borate glass to hydroxyapatite in aqueous phosphate solution. *Acta Biomater* 2009; 5(4): 1265-73.
- [75] Pan HB, Zhao XL, Zhang X, Zhang KB, Li LC, Li ZY, Lam WM, Lu WW, Wang DP, Huang WH, Lin KL, Chang J. Strontium borate glass: potential biomaterial for bone regeneration. *J R Soc Interface* 2010; 7(48): 1025-31.
- [76] Brown RF, Rahaman MN, Dwilewicz AB, Huang W, Day DE, Li Y, Bal BS. Effect of borate glass composition on its conversion to hydroxyapatite and on the proliferation of MC3T3-E1 cells. *J Biomed Mater Res A* 2009; 88(2): 392-400.

- [77] Marion NW, Liang W, Reilly GC, Day DE, Rahaman MN, Mao JJ. Borate glass supports the in vitro osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Mechanics of Advanced Materials and Structures* 2005; 12(3): 239-46.
- [78] Fu H, Fu Q, Zhou N, Huang W, Rahaman MN, Wang D, Liu X. In vitro evaluation of borate-based bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication method. *Materials Science and Engineering: C* 2009; 29(7): 2275-81.
- [79] Zhang X, Jia W, Gu Y, Xiao W, Liu X, Wang D, Zhang C, Huang W, Rahaman MN, Day DE, Zhou N. Teicoplanin-loaded borate bioactive glass implants for treating chronic bone infection in a rabbit tibia osteomyelitis model. *Biomaterials* 2010; 31(22): 5865-74.
- [80] Brown RF, Day DE, Day TE, Jung S, Rahaman MN, Fu Q. Growth and differentiation of osteoblastic cells on 13-93 bioactive glass fibers and scaffolds. *Acta Biomater* 2008; 4(2): 387-96.
- [81] Yao A, Wang D, Huang W, Fu Q, Rahaman MN, Day DE. In vitro bioactive characteristics of borate-based glasses with controllable degradation behavior. *Journal of the American Ceramic Society* 2007; 90(1): 303-6.
- [82] Uo M, Mizuno M, Kuboki Y, Makishima A, Watari F. Properties and cytotoxicity of water soluble Na₂O-CaO-P₂O₅ glasses. *Biomaterials* 1998; 19(24): 2277-84.
- [83] Franks K, Abrahams I, Knowles JC. Development of soluble glasses for biomedical use Part I: in vitro solubility measurement. *J Mater Sci Mater Med* 2000; 11(10): 609-14.
- [84] Salih V, Franks K, James M, Hastings GW, Knowles JC, Olsen I. Development of soluble glasses for biomedical use Part II: the biological response of human osteoblast cell lines to phosphate-based soluble glasses. *J Mater Sci Mater Med* 2000; 11(10): 615-20.
- [85] Ahmed I, Lewis M, Olsen I, Knowles JC. Phosphate glasses for tissue engineering: Part 1. Processing and characterisation of a ternary-based P₂O₅-CaO-Na₂O glass system. *Biomaterials*. 2004;25(3):491-9.
- [86] Ahmed I, Lewis M, Olsen I, Knowles JC. Phosphate glasses for tissue engineering: Part 2. Processing and characterisation of a ternary-based P₂O₅-CaO-Na₂O glass fibre system. *Biomaterials* 2004; 25(3): 501-7.
- [87] Oonishi H, Hench LL, Wilson J, Sugihara F, Tsuji E, Kushitani S, Iwaki H. Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes. *J Biomed Mater Res* 1999; 44(1): 31-43.
- [88] Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LD, Hench LL, Polak JM. Ionic products of bioactive glass dissolution increase proliferation of human osteoblasts and induce insulin-like growth factor II mRNA expression and protein synthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276(2): 461-5.
- [89] Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LD, Hench LL, Polak JM. Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5 dissolution. *J Biomed Mater Res* 2001; 55(2): 151-7.
- [90] Xynos ID, Hukkanen MV, Batten JJ, Buttery

- LD, Hench LL, Polak JM. Bioglass 45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation In vitro: implications and applications for bone tissue engineering. *Calcif Tissue Int* 2000; 67(4): 321-9.
- [91] Bi L, Jung S, Day D, Neidig K, Dusevich V, Eick D, Bonewald L. Evaluation of bone regeneration, angiogenesis, and hydroxyapatite conversion in critical-sized rat calvarial defects implanted with bioactive glass scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2012; 100(12): 3267-75.
- [92] Hulbert SF, Young FA, Mathews RS, Klawitter JJ, Talbert CD, Stelling FH. Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *J Biomed Mater Res* 1970; 4(3): 433-56.
- [93] Hollinger JO, Brekke J, Gruskin E, Lee D. Role of bone substitutes. *Clin Orthop Relat Res* 1996; (324): 55-65.
- [94] Fu Q, Rahaman MN, Bal BS, Bonewald LF, Kuroki K, Brown RF. Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. II. In vitro and in vivo biological evaluation. *J Biomed Mater Res A* 2010; 95(1): 172-9.
- [95] Jung SB, Day DE. Conversion kinetics of silicate, borosilicate, and borate bioactive glasses to hydroxyapatite. *Physics and Chemistry of Glasses: European Journal of Glass Science and Technology Part B* 2009; 50(2): 85-8.
- [96] Reilly DT, Burstein AH, Frankel VH. The elastic modulus for bone. *J Biomech* 1974; 7(3): 271-5.
- [97] Fung YC. *Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues*. New York: Springer, 1993; p: 510-3.
- [98] Rho JY, Hobatho MC, Ashman RB. Relations of mechanical properties to density and CT numbers in human bone. *Medical Engineering & Physics* 1995; 17(5): 347-55.
- [99] Fu Q, Rahaman MN, Bal BS, Brown RF, Day DE. Mechanical and in vitro performance of 13-93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique. *Acta Biomater* 2008; 4(6): 1854-64.
- [100] Wheeler DL, Stokes KE, Park HM, Hollinger JO. Evaluation of particulate Bioglass in a rabbit radius ostectomy model. *J Biomed Mater Res* 1997; 35(2): 249-54.
- [101] Lin Y, Brown RF, Jung SB, Day DE. Angiogenic effects of borate glass microfibers in a rodent model. *J Biomed Mater Res A* 2014; 102(12): 4491-9.
- [102] Carmeliet P. Manipulating angiogenesis in medicine. *Journal of Internal Medicine* 2004; 255(5): 538-61.
- [103] Gorustovich AA, Roether JA, Boccaccini AR. Effect of bioactive glasses on angiogenesis: a review of in vitro and in vivo evidences. *Tissue Eng Part B Rev* 2010; 16(2): 199-207.
- [104] Mao C, Chen X, Miao G, Lin C. Angiogenesis stimulated by novel nanoscale bioactive glasses. *Biomed Mater* 2015; 10(2): 025005.
- [105] Leach JK, Kaigler D, Wang Z, Krebsbach PH, Mooney DJ. Coating of VEGF-releasing scaffolds with bioactive glass for angiogenesis and bone regeneration. *Biomaterials* 2006; 27(17): 3249-55.
- [106] Leu A, Stieger SM, Dayton P, Ferrara KW,

- Leach JK. Angiogenic response to bioactive glass promotes bone healing in an irradiated calvarial defect. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(4): 877-85.
- [107] Leu A, Leach JK. Proangiogenic potential of a collagen/bioactive glass substrate. *Pharm Res* 2008; 25(5): 1222-9.
- [108] Hu GF. Copper stimulates proliferation of human endothelial cells under culture. *J Cell Biochem* 1998; 69(3): 326-35.
- [109] Sen CK, Khanna S, Venojarvi M, Trikha P, Ellison EC, Hunt TK, Roy S. Copper-induced vascular endothelial growth factor expression and wound healing. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282(5): H1821-7.
- [110] Frangoulis M, Georgiou P, Chrisostomidis C, Perrea D, Dontas I, Kavantzias N, Kostakis A, Papadopoulos O. Rat epigastric flap survival and VEGF expression after local copper application. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119(3): 837-43.
- [111] Rahaman MN, Day DE, Bal BS, Fu Q, Jung SB, Bonewald LF, Tomsia AP. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater* 2011; 7(6): 2355-73.