

# فرآوری شیشه بر پایه‌ی $\text{SiO}_2\text{-CaO-SrO}$ به روش سل-ژل و بررسی زیست‌فعالی این شیشه

سارا شهرابی<sup>۱</sup>، سعید حصارکی<sup>۲</sup>، محمدرضا واعظی<sup>۲</sup>، زهره همبردی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، پژوهشگاه مواد و انرژی

<sup>۲</sup> استادیار پژوهشگاه مواد و انرژی

<sup>۳</sup> هیأت علمی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای

Shahrabi\_s@merc.ac.ir

**چکیده:** شیشه‌های زیست‌فعال موادی هستند که امکان تشکیل آپاتیت بیو میمیتیک نانو ساختار روی سطح آن‌ها وجود دارد. پژوهش‌ها نشان داده است استفاده از یون‌هایی مانند استرانسیم در ترکیب آپاتیت و سایر بیو سرامیک‌ها باعث افزایش سرعت بازسازی بافت استخوانی آسیب دیده می‌شود. در این پژوهش زیست‌فعالی شیشه‌ی تهیه شده بر پایه‌ی سیستم  $\text{SiO}_2\text{-CaO-SrO}$  مورد بررسی قرار گرفت. شیشه مذکور توسط روش سل-ژل فرآوری شد. شیشه‌ی فرآوری شده به شکل قرص‌هایی با وزن یکسان برای مدت زمان‌های مشخص درون محلول مشابه بدن (SBF) قرار داده شد. بررسی‌های  $\text{FTIR}$ ،  $\text{XRD}$  و  $\text{SEM}$  بر روی قرص‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری درون SBF انجام گرفت. به منظور بررسی میزان رهاش یون‌ها از شیشه درون محلول SBF، مقدار معینی از این محلول در روزهای مشخص برداشت شده و غلظت یون‌های کلسیم، سیلیسیم و استرانسیم با آزمون ICP اندازه‌گیری شد. همچنین به منظور بررسی ویژگی‌های بیولوژیکی شیشه، سلول‌های استخوانی موش بر روی سطح شیشه کشت شده، برای بررسی تکثیر سلولی از آزمون MTT و برای بررسی مورفولوژی سلول‌های چسبیده روی سطح از میکروسکوپ الکترون روبشی SEM استفاده شد. نتیجه‌ی آزمون  $\text{XRD}$  قبل از غوطه‌وری یک ماده‌ی آمورف را نشان داد. پس از انجام مراحل غوطه‌وری، الگوی پراش پرتو ایکس حضور فاز آپاتیت با بلورینگی کم را به صورت یک پیک پهن نشان داد که شدت آن با افزایش زمان غوطه‌وری درون محلول SBF افزایش می‌یافت. در الگوی  $\text{FTIR}$  پس از انجام غوطه‌وری، پیک جذب پرتو مادون قرمز در طول موج‌های مربوط به فسفات و کربنات ظاهر شد که نشان‌دهنده‌ی تشکیل فاز آپاتیت کربناتی بر روی سطح شیشه بود. تصاویر SEM نشان داد فاز آپاتیت تشکیل شده روی سطح شیشه دارای مورفولوژی کروی می‌باشد که قطر کره‌های تشکیل شده کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود. نتایج آزمون MTT تکثیر سلول‌های استخوانی روی سطح شیشه با گذشت زمان را نشان دادند. عکس SEM تهیه شده بعد از کشت سلول نشان داد که سلول استخوانی روی سطح به خوبی چسبیده و با کریستال‌های سوزنی شکل روی سطح درگیر شده است. نتایج این پژوهش نشان دادند که شیشه‌ی  $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO}$  تهیه شده به روش سل-ژل، زیست‌فعال بوده و مستعد تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت نانو ساختار بر روی سطح شیشه می‌باشد و در عین حال توانایی تکثیر و رشد سلول را داراست.

**کلمات کلیدی:** شیشه زیست‌فعال، سل-ژل، استرانسیم، هیدروکسی آپاتیت نانو ساختار.

## ۱- مقدمه

شیشه‌های بایو اکتیو موادی زیست‌سازگار هستند که به هنگام قرار گرفتن در بدن، طی واکنش‌های سطحی با محیط فیزیولوژیک، با بافت بدن پیوند مناسبی برقرار می‌کنند [۱]. شیشه‌های زیست‌فعال را می‌توان جهت ترمیم و دوباره سازی بافت‌های آسیب دیده به خصوص بافت‌های سخت استفاده کرد [۲]. فرآوری شیشه‌های بایو اکتیو از دو طریق ممکن است: روش ذوب و روش سل-ژل. شیشه‌های تهیه شده به روش سل-ژل از اوایل دهه‌ی ۱۹۹۰، به واسطه‌ی تحقیقات لی و همکارانش پا به عرصه‌ی ظهور نهادند [۳ و ۴]. مزیت این



شیشه‌ها در امکان کنترل بهتر ترکیب و سطح ویژه‌ی بالاتر آن‌ها نسبت به شیشه‌های ذوبی است که این امر منجر به زیست فعالی بیشتر این شیشه‌ها نسبت به شیشه‌های ذوبی می‌شود. در ضمن شیشه‌های تهیه شده با روش سل-ژل امکان تشکیل آپاتیت داخل ماده را فراهم می‌کنند و در نتیجه پس از مدت کوتاهی شیشه قسمت غیر قابل تشخیصی از بافت استخوان می‌شود [۵]. در حالی که در شیشه‌های ذوبی ذرات شیشه همچنان در بافت باقی می‌مانند [۶و۷]. استرانسیم یونی است که باعث افزایش سرعت رشد استخوان و کاهش سرعت پوکی آن می‌شود [۸و۹]. مزایای حضور این یون در فرآیند ساخت استخوان گزارش شده است [۱۰و۱۱]. این یون فعالیت سلول‌های استخوانی را افزایش داده و به عنوان محرک رشد سلول‌های بافت استخوان ایفای نقش می‌کند [۱۲]. در این پژوهش، به ساخت شیشه‌ی حاوی یون استرانسیم از طریق فرآیند سل-ژل و بررسی زیست فعالی و زیست سازگاری آن پرداخته شده است.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

الف- فرآوری و ارزیابی خواص پودر

برای تهیه شیشه با فرمول  $70\text{SiO}_2-25\text{CaO}-5\text{SrO}$ ، مواد اولیه تترا اتیل اورتو سیلیکات (Merck 800658)، کلسیم نیترات تتراهیدرات (Merck 102123) و استرانسیم نیترات تتراهیدرات (MERCK 107871) در حضور اسید نیتریک ۱ مولار (Merck 101518) به عنوان کاتالیزور مخلوط شدند. سل شفاف سپس برای تبدیل به ژل درون ظرف تفلون ریخته شد. فرایند ژلاسیون در دمای اتاق ظرف مدت سه روز انجام شد. پس از آن، ژل حاصل به منظور پیرسازی و خشک کردن، به مدت ۷۲ ساعت در دمای  $70^\circ\text{C}$  و ۴۸ ساعت در دمای  $120^\circ\text{C}$  درون خشک کن نگهداری شد. پس از این مرحله ژل خشک شده برای تعیین دمای مناسب پایدارسازی پودر تحت آزمون حرارتی همزمان (STA) به وسیله‌ی دستگاه PL.STA 1640 با سرعت گرمایش  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  قرار گرفت. با توجه به نتایج آزمون حرارتی همزمان، پودر برای پایدارسازی به مدت ۴ ساعت در دمای  $700^\circ\text{C}$  نگهداری شد. سپس نمونه‌ی شیشه‌ی به دست آمده خرده شد و از الک ۱۴۰ میکرومتر عبور داده شد. پودر بدست آمده برای بررسی‌های فازی توسط پراش پرتو ایکس در بازه‌ی  $80-10=2\theta$  به وسیله‌ی دستگاه Philips PW3710 مورد آزمایش قرار گرفت.

ب- ارزیابی زیست فعالی پودر شیشه (آزمایش‌های *in vitro*)

برای بررسی‌های زیست فعالی، ابتدا محلول شبیه سازی شده به مایعات بدن (SBF) ساخته شد. محلول SBF مورد استفاده در این پژوهش، محلول معرفی شده توسط کوکوبو [۱۳] بود که ترکیب شیمیایی این محلول در جدول شماره ۱ آورده شده است. پودر شیشه به شکل قرص‌هایی (با قطر ۱۰ و ضخامت ۲ میلی متر) و با وزن‌های یکسان، با نیروی ۲۰ کیلو بار پرس شد. هر قرص درون  $50\text{cc}$  محلول SBF غوطه‌ور شده و برای زمان‌های ۱، ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۳۱ روز درون اینکوباتور با دمای  $37^\circ\text{C}$  نگهداری شد. پس از این زمان‌ها، نمونه‌ها از محلول خارج شده، توسط آب مقطر شستشو داده شده و در دمای محیط خشک شدند. نمونه‌های خشک شده برای بررسی‌های فازی توسط پراش پرتو ایکس در  $20-40=2\theta$  به وسیله‌ی دستگاه Philips PW3710 و نیز برای تشخیص گروه‌های شیمیایی توسط عبور نور مادون قرمز به وسیله‌ی دستگاه Perkin Elmer Spectrum 400 مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین مقدار مشخصی از محلول SBF در زمان‌های معینی برداشت شده و میزان رهایش یون‌های شیشه با آزمون ICP توسط دستگاه ARL 3410 اندازه‌گیری شد. در ادامه همین نمونه‌ها برای مشاهده‌ی فاز رسوب کرده بر روی سطح شیشه، توسط میکروسکوپ الکترون روبشی Stero Scan S360 Cambridge مورد بررسی قرار گرفتند.

پ- بررسی ویژگی‌های بیولوژیکی شیشه

برای بررسی ویژگی‌های بیولوژیکی شیشه‌ها، سلول‌های استخوانی از فک نوزاد موش استخراج شده و در محیط DMEM حاوی ۱۵٪ سرم جنین گاوی، پنی سیلین با غلظت ۱۰۰٪ در اینکوباتور با اتمسفر ۹۵٪ هوا و ۵٪ دی

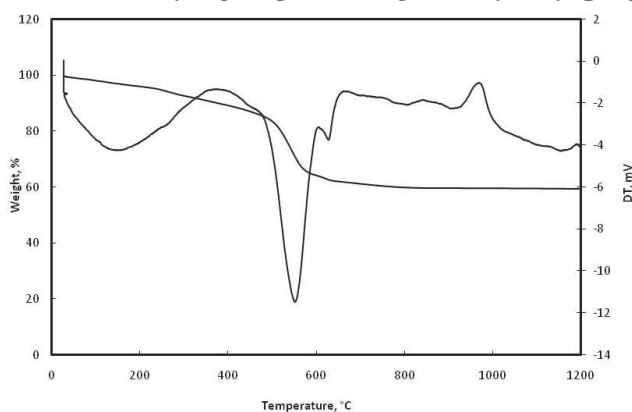
اکسید کربن به مدت یک هفته پاساژ داده شدند. برای بررسی تکثیر سلولی از روش MTT استفاده شد. به این ترتیب که قرص‌های شیشه با استفاده از ۷۰٪ اتانول استریلیزه شده و سلول‌های استخوانی بر روی سطح شیشه‌ها با غلظت  $10^4$  سلول/سطح کشت داده شدند. مجموعه‌ی نمونه-سلول درون ظرف کشت ۲۴ خانه‌ای قرار داده شد و برای ۳ ساعت درون اینکوباتور قرار داده شد تا سلول‌ها به نمونه‌ها بچسبند و ۳۰ میلی لیتر دیگر محیط کشت به هر خانه اضافه شد. آنگاه مجموعه‌ی نمونه-سلول در یک اینکوباتور  $37^{\circ}\text{C}$  با رطوبت ۱۰۰٪ و اتمسفر ۹۵٪ هوا-۵٪ دی اکسید کربن برای فاصله‌های زمانی ۱، ۷ و ۱۴ روز قرار داده شد. در این مدت محیط هر سه روز یکبار تعویض شد. MTT توسط سلول‌های فعال جذب شده و باعث رسوب فورمازون توسط سلول‌ها می‌شود. کریستال‌های فورمازون با محلول دی متیل سولفوکساید شستشو داده شده و دانسیته‌ی نوری محلول توسط اسپکتروفوتومتر Bio-Tex در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند و سپس با استفاده از منحنی کالیبراسیون با تعداد سلول‌های مشخص، تعداد سلول‌ها روی سطح نمونه اندازه‌گیری گردید. همچنین مورفولوژی سلول‌ها روی سطح نمونه پس از ۷ روز قرار گیری در محیط کشت با میکروسکوپ الکترون روبشی مورد بررسی قرار گرفت. نحوه تثبیت سلول‌ها روی سطح، طبق آنچه در مرجع اشاره شده است می‌باشد [۱۴].

جدول ۱- مواد مورد استفاده برای ساخت یک لیتر SBF [۱۳]

کد مرک	ماده	مقدار (g)
6404	NaCl	7.996
6323	NaHCO <sub>3</sub>	0.350
4935	KCl	0.224
5101	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	0.228
5833	MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.305
314	1M-HCl	40 ml
2389	CaCl <sub>2</sub>	0.278
	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.071
8382	(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>	6.057

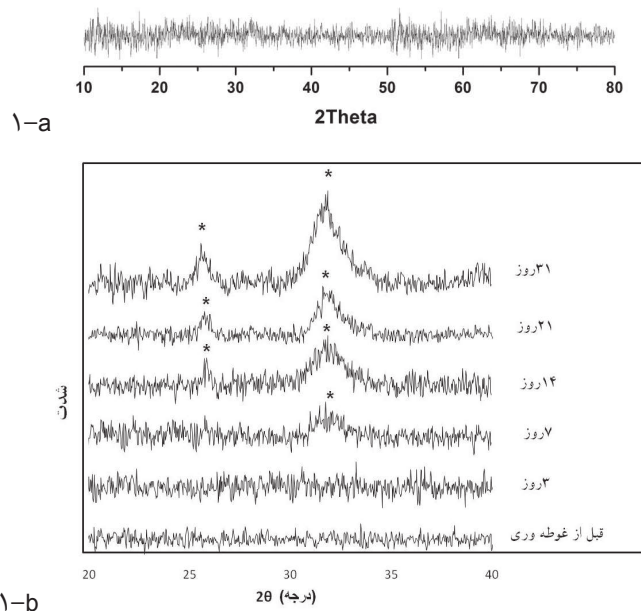
### ۳- نتایج و بحث

نتیجه آزمون حرارتی STA در نمودار شماره ۱ آورده شده است. در این طیف، پیک گرماگیری در منحنی DTA در بازه‌ی دمای  $400^{\circ}\text{C}$  تا حدود  $650^{\circ}\text{C}$  مشاهده می‌شود که همزمان با افت وزن در نمودار TG است. این پیک مربوط به خروج نیترات‌ها و مواد فرار دیگر از ژل است. همچنین دو پیک گرمازای ایجاد شده در محدوده‌ی دمایی  $900-1000^{\circ}\text{C}$  در منحنی DTA که بدون کاهش وزن مشاهده می‌شوند مربوط به تبلور فاز وولاستونیت [۱۴] در شیشه هستند. با استفاده از اطلاعات این نمودار دمای  $700^{\circ}\text{C}$  به عنوان دمای مناسب برای پایدارسازی ژل شیشه انتخاب شد. زیرا در دماهای کمتر از این دما مواد فرار به طور کامل از نمونه خارج شده و در ضمن هیچ‌گونه تبلوری در این بازه‌ی زمانی اتفاق نخواهد افتاد.



شکل ۱- نتیجه‌ی آزمون حرارتی همزمان (STA) پودر پس از فرآوری

نمودار شماره ۲ الگوی پراش پرتوی ایکس (XRD) نمونه‌ها را قبل و بعد از غوطه‌وری نشان می‌دهد. در این نمودار، قسمت a مربوط به پودر پس از عملیات پایدارسازی است که در فاصله‌ی  $2\theta$  بین  $10^\circ$  تا  $80^\circ$  تهیه شده است. این طیف گواه این مطلب است که محصول فرآوری یک ماده‌ی بی شکل است. قسمت b در همین نمودار، الگوی پراش پرتوی ایکس در فاصله‌ی  $2\theta$  بین  $20^\circ$  تا  $40^\circ$  شیشه پس از فرآوری و نمونه‌های خارج شده از SBF بعد از فاصله‌های زمانی مختلف جهت مقایسه آورده شده است. همانطور که در این نمودار دیده می‌شود قبل از غوطه‌وری درون محلول SBF الگوی پراش پرتو ایکس تنها یک ماده‌ی بی شکل را نشان می‌دهد. پس از گذشت سه روز از قرار گرفتن نمونه‌ها درون SBF هنوز تغییری در الگوی پراش پرتوی ایکس مشاهده نمی‌شود. با گذشت هفت روز، تغییر کوچکی در الگوی پراش پرتوی ایکس ایجاد شده و برآمدگی کوچکی در حوالی  $32^\circ$  مشاهده شد. با افزایش زمان غوطه‌وری تا چهارده روز دو تغییر در الگوی پراش پرتوی ایکس به وجود آمد: پیک کوچک در  $32^\circ$  شدت بیشتری یافته و به شکل یک پیک نسبتاً پهن نمایان شد که مربوط به تبلور صفحه‌ی اتمی (۲۱۱) فاز آپاتیت با بلورینگی کم روی سطح شیشه بود و یک پیک جدید در حوالی  $26^\circ$  ظاهر شد که مربوط به تبلور صفحه‌ی اتمی (۰۰۲) فاز آپاتیت بود. با افزایش زمان قرار گیری نمونه تا روز بیست و یکم و سی و یکم، دیده شد که شدت پیک پهن در  $26^\circ$  و  $32^\circ$  افزایش یافته که این افزایش نشان‌دهنده‌ی تبلور مقدار بیشتر فاز آپاتیت به ازای افزایش زمان قرار گیری نمونه‌ها درون SBF است.

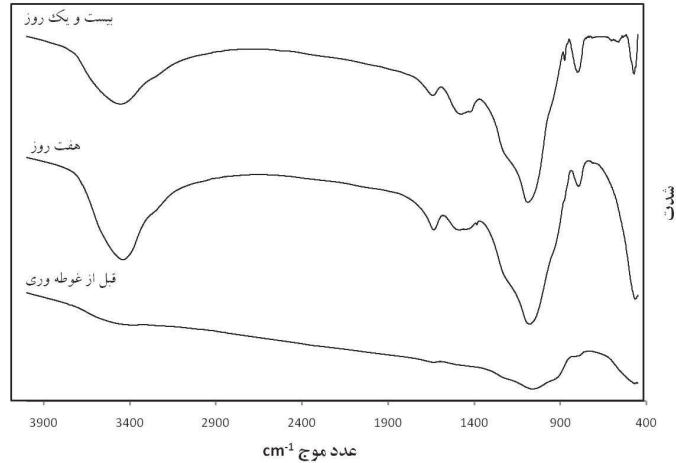


شکل ۲- الگوی پراش پرتو ایکس (a) پودر حاصل از فرآوری و (b) پودر بعد از زمان‌های سه، هفت، چهارده، بیست و یک و سی و یک روز غوطه‌وری درون محلول SBF

نتایج آزمون طیف سنجی پرتوی مادون قرمز در نمودار شماره ۳ آورده شده است. در این نمودار الگو جذب پرتوی مادون قرمز برای نمونه‌های شیشه قبل و بعد از غوطه‌وری درون SBF آورده شده است. در الگوی مربوط به تمام نمونه‌ها، پیک موجود در عدد موج  $470-460\text{ cm}^{-1}$  مربوط به مد خمشی پیوند Si-O-Si شیشه است. در الگوی مربوط به نمونه‌ی قبل از غوطه‌وری، پیک ضعیفی به چشم می‌خورد که در عدد موج حدود  $1070\text{ cm}^{-1}$  قرار دارد. این پیک مربوط به جذب پرنوی مادون قرمز توسط پیوند Si-O-Si است. در الگوی نمونه‌های مربوط به بعد از انجام غوطه‌وری، پیک موجود در  $1070\text{ cm}^{-1}$  شدیدتر می‌شود. دلیل این افزایش، آشکار شدن پیک جذب مد ارتعاشی پیوند در شبکه‌ی P-O است که با پیک مربوط به Si-O-Si همپوشانی می‌کند. در الگوی مربوط به تمام نمونه‌ها بعد از غوطه‌وری، پیک موجود در عدد موج حدود  $3450\text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوند O-H است. در روز هفتم غوطه‌وری، یک پیک دیگر در عدد موج حدود

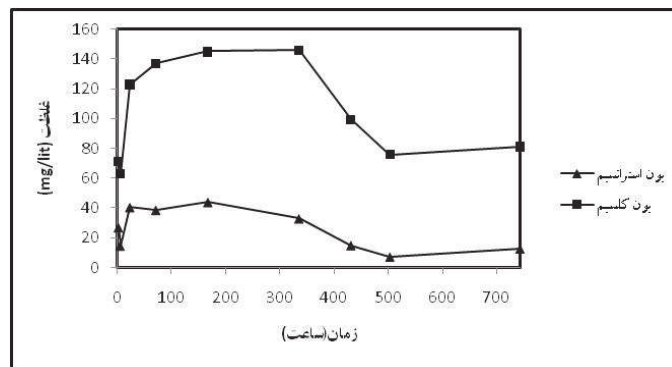


$1482\text{cm}^{-1}$  آشکار می‌شود که مربوط به حضور گروه‌های C-O در شبکه‌ی آپاتیت است. آشکار شدن این گروه‌ها نشان از کربناتی بودن فاز آپاتیت ایجاد شده بر روی سطح دارند. با افزایش زمان قرار گیری نمونه‌ها در محلول SBF دو پیک دیگر مربوط به گروه‌های C-O در عدد موج‌های  $870\text{cm}^{-1}$  و  $1422\text{cm}^{-1}$  آشکار می‌شود و می‌تواند نشان دهنده‌ی تشکیل مقدار بیشتر فاز آپاتیت کربناتی تشکیل شده روی سطح شیشه باشد.



شکل ۳- الگوی جذب پرتوی مادون قرمز قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF

نتایج آزمون عنصری ICP در نمودار شماره ۴ آورده شده است. این آزمایش به منظور بررسی میزان رهایش یون‌ها بر روی محلول SBF برداشت شده از محلولی که نمونه‌های شیشه درون آن قرار داشتند انجام شد. تیلور هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح شیشه‌ها و شیشه-سرامیک‌های زیست فعال در محلول SBF توسط کوکوبو [۱۳] به این صورت شرح داده شده است: یون کلسیم از سطح شیشه و شیشه-سرامیک حل شده و فعالیت یونی برای تشکیل آپاتیت در محلول اطراف را افزایش می‌دهد و در عین حال شبکه‌ی سیلیس در سطح تبدیل به سیلیس هیدراته شده که مکان‌های مناسبی برای جوانه‌زنی هیدروکسی آپاتیت فراهم می‌کند. سپس جوانه‌های هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح رشد می‌کنند.



شکل ۴- غلظت یون‌های کلسیم و استرانسیم درون محلول SBF

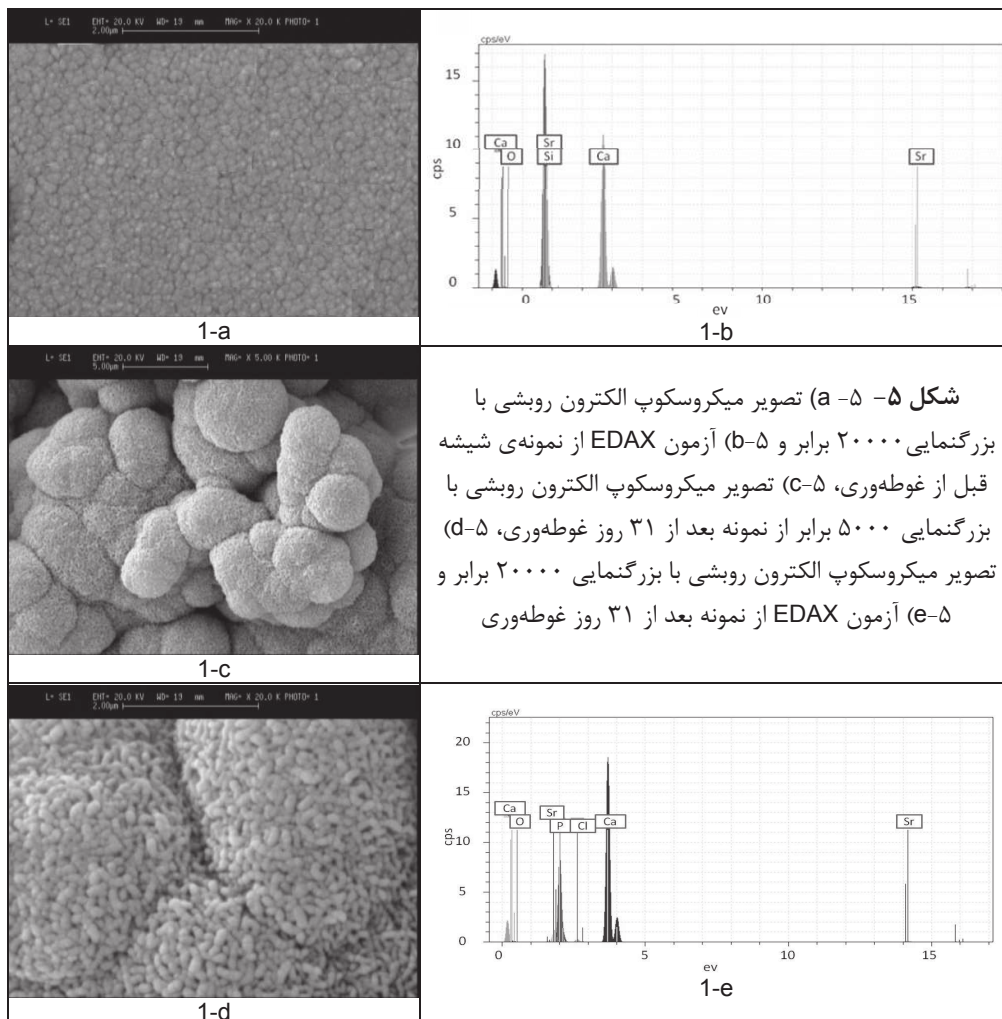
در این نمودار غلظت یون‌های استرانسیم و کلسیم رها شده در محلول SBF بر حسب زمان رسم شده است. در ابتدا رهایش سریع یون کلسیم تا ۲۴ ساعت اول مشاهده می‌شود. پس از آن رهایش یون کلسیم تا روز چهاردهم غوطه‌وری ادامه دارد اما رهایش با نرخ کمتری صورت می‌گیرد. این مطلب به دلیل تشکیل رسوب آپاتیت بر روی سطح شیشه است. در واقع در کنار پدیده‌ی انحلال، تراسب فاز آپاتیت باعث می‌شود که یون کلسیم موجود در SBF مصرف شده و غلظت این یون با سرعت کمتری افزایش پیدا کند. با این حال تا این زمان، هنوز انحلال شیشه پدیده‌ی پیروز است. از روز چهاردهم تا پایان دوره، غلظت یون کلسیم کاهش می‌یابد. دلیل این مطلب افزایش رسوب فاز آپاتیت بر روی سطح شیشه است. این موضوع باعث می‌شود





مقدار بیشتری از کلسیم محلول مصرف شود. از سوی دیگر این لایه در مقابل انحلال بیشتر یون‌های شیشه مقاومت می‌کند. این نتیجه با توضیح کوکوبو که در فوق بدان اشاره شده است مطابقت دارد. غلظت یون‌های استرانسیم نیز تا ۱۴ روز افزایش و پس از آن کاهش می‌یابد. افزایش اول به دلیل انحلال این یون از شیشه‌ی زیست فعال استکه برای کمک به رشد سلول‌های استخوانی در درمان جراحات بافت سخت بسیار مفید است. کاهش غلظت، به دلیل ممانعت لایه‌ی آپاتیت تشکیل شده از انحلال این یون است.

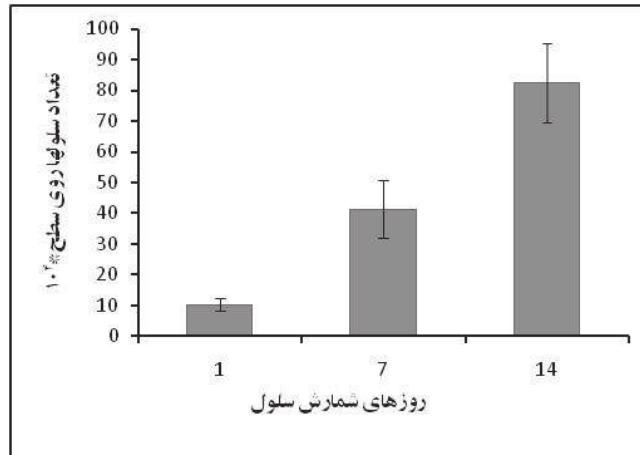
عکس‌های الکترون ثانویه‌ی میکروسکوپ الکترونی روبشی قرص‌های شیشه قبل و بعد از غوطه‌وری درون محلول مشابه محلول بدن به همراه آزمون EDAX همین نمونه‌ها در شکل شماره ۵ آورده شده است. شکل ۵-a تصویر قرص شیشه قبل از غوطه‌وری درون محلول مشابه بدن و شکل‌های ۵-b و ۵-c تصاویر قرص شیشه بعد از ۳۱ روز غوطه‌وری را با دو بزرگ‌نمایی متفاوت نشان می‌دهد. همچنین قسمت‌های ۵-b و ۵-d نشان دهنده‌ی آنالیز EDAX از نمونه‌های قبل و بعد از ۳۱ روز غوطه‌وری درون محلول SBF است. در تصویر ۵-a ذرات شیشه دیده می‌شوند که به وسیله‌ی نیروی پرس در کنار هم قرار گرفته‌اند. پس از ۲۱ روز، تصویر SEM فاز بلورین با مورفولوژی کروی را بر روی سطح شیشه نشان می‌دهد. در کنار همین عکس نتیجه‌ی آزمون EDAX نیز آورده شده است. در الگوی مربوط به قبل از غوطه‌وری، یون‌های Si دارای بیشترین غلظت بوده و یون‌های کلسیم نیز مشاهده می‌شوند. بعد از گذشت ۳۱ روز غوطه‌وری درون محلول SBF الگوی EDAX ترکیب عنصری بسیار متفاوتی را نشان می‌دهد به طوری که بیشترین غلظت مربوط به کلسیم و سپس فسفر است. این نتیجه، تشکیل فاز آپاتیت با مورفولوژی کروی شکل بر روی سطح شیشه را تأیید می‌کند. همچنین دیده می‌شود که قطر کره‌های آپاتیت کمتر از ۱۰۰ نانومتر است.



شکل ۵- (a) تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی با بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰۰ برابر و (b) آزمون EDAX از نمونه‌ی شیشه قبل از غوطه‌وری، (c) تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی با بزرگ‌نمایی ۵۰۰۰ برابر از نمونه بعد از ۳۱ روز غوطه‌وری، (d) تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی با بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰۰ برابر و (e) آزمون EDAX از نمونه بعد از ۳۱ روز غوطه‌وری

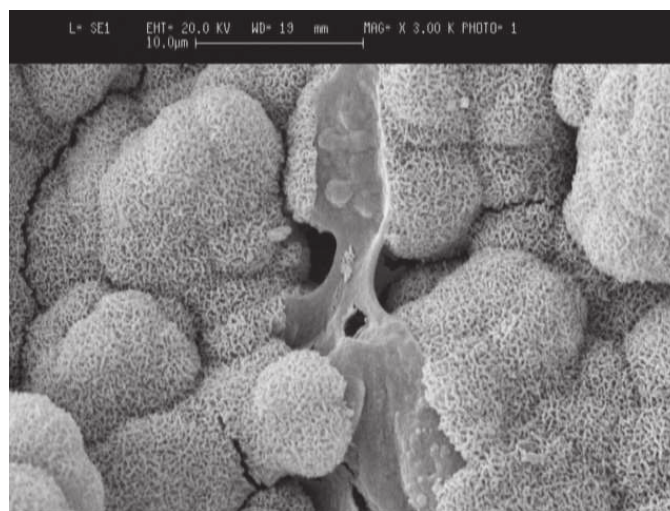


نمودار شماره ۶ نشان دهنده‌ی تعداد سلول‌های شمارش شده بر روی سطح بعد از ۱، ۷ و ۱۴ روز است. ملاحظه می‌شود که با گذشت زمان تعداد سلول‌ها روی سطح افزایش می‌یابد به طوری که در پایان روز چهاردهم این مقدار به  $82/5 \times 10^3$  سلول روی سطح نمونه می‌رسد. این مطلب حاکی از مناسب بودن نمونه‌ها از لحاظ سطحی (توپوگرافی سطح برای چسبندگی سلول) و ترکیبی (عدم سمیت) برای رشد سلول‌ها است.



شکل ۶- غلظت یون‌های کلسیم و استرانسیم درون محلول SBF

شکل ۷ تصویر SEM تهیه شده از نمونه‌ی تحت کشت بعد از ۷ روز را نشان می‌دهد. در این تصویر مورفولوژی سلول‌های استخوانی روی سطح نمونه دیده می‌شود. سلول‌ها با یک غشاء پهن شده که با کریستال‌های سوزنی شکل سطح پیوند برقرار کرده‌اند، دیده می‌شوند. به نظر می‌رسد چسبندگی سلول به خاطر مورفولوژی خشن سطح و درگیر شدن زائده‌های سلول روی آن‌ها باشد و حالت پهن شدگی سلول حاکی از تمایل آن به سطح است که نشان دهنده‌ی زیست سازگاری نمونه‌ها می‌باشد.



شکل ۷- تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی با بزرگنمایی ۳۰۰۰ برابر از سطح نمونه‌ی حاوی سلول بعد از ۷ روز

#### ۴- نتیجه گیری

شیشه در سیستم  $\text{SiO}_2\text{-CaO-SrO}$  فرآوری شده با روش سل-ژل زیست فعال بوده و با قرار گیری درون محلول مشابه بدن، بر روی سطح آن فاز آپاتیت تشکیل می‌شود. مقدار فاز آپاتیت تشکیل شده که از نوع کربناتی است، با افزایش زمان غوطه‌وری این شیشه‌ها، افزایش پیدا می‌کند آپاتیت تشکیل شده روی سطح شیشه دارای بلورهای کروی شکل با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. از سوی دیگر این شیشه‌ها زیست

سازگار بوده توانایی رشد و تکثیر سلول بر روی سطح خود را دارند. این بدان معنی است که شیشه‌ی فرآوری شده هم امکان برقراری پیوند با بافت استخوان (از طریق تشکیل آپاتیت بر روی سطحش) و هم توانایی رشد سلول‌های استخوانی را دارد که در پروسه‌ی بازسازی استخوان مؤثر است.

## مراجع

1. Hench LL, Splinter, RJ, Allen WC, Greenlee TK. "Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials." J. Biomed. Mater. Res. Symp. 1998; 2 (Part I): 117-141.
2. Marta Giulia Cerruti, "Characterization of bioactive glasses. Effect of the immersion in solutions that simulate body fluids." Ph.D. dissertation, university of Turin, 2004.
3. Li R. "Sol-gel processing of bioactive glass powders." Ph.D. dissertation, University of Florida, 1991.
4. Li R, Clark AE, Hench LL. "An investigation of bioactive glass powders by sol-gel processing." J Appl Biomater 1991; 2: 231-9.
5. Hench LL. Biomaterials: a forecast for the future. Biomaterials 1998; 19: 1419-1423. J. Radioanal. Nucl. Chem. 262 (2) (2004) 479.
6. Oonishi H, Kutrshtani S, Yasukawa E, Iwaki H, Hench LL, Wilson J, Tsuji E, Sugihara T. "Particulate bioglass and hydroxyapatite as a bone graft substitute." J Clin Orthop Related Res. 1997; 334: 316-325.
7. Wheeler DL, Stokes KE. In vivo evaluation of sol-gel Bioglass®. Part I: histological findings. Trans 23rd Annual Meeting of the Soc Biomater, New Orleans, LA, 1997.
8. E. Canalis, M. Hott, P. Deloffre, Y. Tsouderos, P.J. Marie, "The divalent strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro." J. Bone 18(1996)517.
9. J. Buehler, P. Chappuis, J. L. Saffar, Y. Tsouderos, A. Vignery, "Strontium ranelate inhibits bone resorption while maintaining bone formation in alveolar bone in monkeys." Bone 29(2001)176.
10. M. Hott, P. Deloffre, Y. Tsouderos, P.J. Marie, "S12911-2 reduces bone loss induced by short-term immobilization in rats." Bone 33(2003)112.
11. P. J. Meunier, C. Roux, E. Seeman, S. Ortolani, J. E. Badurski, T. D. Spector, J. Cannata, A. Balogh, E. M. Lemmel, S. Pors-Nielsen, R. Rizzoli, H. K. Genant, J. Y. Reginster, "The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis." N. Engl. J. Med. 350(2004) 350.
12. E. Seeman, J. P. Devogelaer, R. Lorenc, T. Spector, K. Brixen, A. Balogh, G. Stucki, J. Y. Reginster, "Strontium ranelate reduces the risk of vertebral fractures in patients with osteopenia." J. Bone Miner. Res. 23(2008)433.
13. T. kokubo, H. Kshitani, S. Sakka and T. Yamanuro, "Solution able to reproduce in vivo surface- structure changes in bioactive glass-ceramic A-W", J. Biomed. Mater. Res, 24, 721-734 (1990).
14. H. M. Elgendy, M. E. Norman, A. R. Keaton, C. T. Laurencin, "Osteo-like cell (MC3T3-E1) proliferation on bioerodible polymers: an approach towards the development of a bone-bioerodible polymer composite material. J. Biomaterials. 14(1993)263.
15. S. Hesaraki, M. Golami, S. Vazehrad, S. Shahrabi, "The effect of Sr concentration on bioactivity and biocompatibility of sol-gel derived glasses based on CaO-SrO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> quaternary system", J. Material Science and Engineering C, 30 (2010) 383-390.

