

واژه‌های کلیدی:

نانوکامپوزیت
هیدروژل
مهندسی بافت استخوان

نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی حاوی نانوذرات سرامیکی با کارکردهای مهندسی بافت

پریسا نیک‌پور^۱، حامد سلیمی کناری^{۱*}، سید محمود ربیعی^۲

^۱ مازندران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی شیمی

^۲ مازندران، بابل، دانشگاه صنعتی نوشیروانی، دانشکده مهندسی مواد و صنایع

چکیده ...

هیدروژل‌ها، شبکه‌های پلیمری سه‌بعدی از هموپلیمرها یا کوپلیمرهای شبکه‌ای شده با توانایی جذب مقدار زیادی از آب یا سیالات زیستی هستند. هیدروژل‌ها با توجه به ویژگی‌های قابل توجه مانند تنوع در ساخت، قابلیت کنترل خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی، ساختار بسیار متخلخل، جذب آب بالا، زیست‌سازگاری بسیار عالی و شباهت با ماتریس خارج سلولی، از جمله مهم‌ترین زیست‌مواد با کاربردهای بالینی و دارویی هستند که به‌طور گسترده در تحقیقات دانشگاهی و صنعتی به کار می‌روند. از جمله روش‌های نوظهور برای توسعه کاربرد هیدروژل‌ها، بهبود خواص و غلبه بر محدودیت‌های ذاتی هیدروژل‌های پلیمری نظیر استحکام مکانیکی پایین، افزودن نانوذرات در شبکه هیدروژل است. کامپوزیت کردن آن‌ها با نانوذرات سرامیکی مانند نانوذرات خاک رس، شیشه‌های زیستی و هیدروکسی آپاتیت روشی مناسب برای دستیابی به نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی با خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی مناسب و منحصربه‌فرد است. در این مطالعه، اصول هیدروژل‌ها و نانوذرات سرامیکی به‌طور مختصر معرفی می‌شوند؛ سپس به دستاوردها و پیشرفت‌های اخیر در طراحی، سنتز و کاربردهای نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی حاوی نانوذرات سرامیکی به ویژه شیشه زیست‌فعال با تأکید بر مهندسی بافت استخوان پرداخته می‌شود.

*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

H. Salimi@umz.ac.ir

مقدمه

تمامی کاربردهای ذکر شده، خواص مکانیکی ضعیف و پاسخگویی محدود آنها به برخی از محرک‌های درمانی خارجی، کاربرد آنها را محدود ساخته است. این مشکلات را می‌توان ناشی از ماهیت پلیمری هیدروژل‌ها، واکنش نامنظم/تصادفی عامل شبکه‌ای کننده در نقاط مختلف و تجمع غیرهمگن نقاط شبکه‌ای شده، بالا بودن میزان جذب آب در هیدروژل‌ها و خاصیت کشسانی حاصل از آن و ... دانست [۱].

لازم به ذکر است که رفتار تورمی بسیاری از هیدروژل‌ها، به محرک‌های محیطی وابسته است. کاهش یا افزایش نسبت تورم در هیدروژل‌های حساس به محیط بیرونی، با تغییر در pH، دما، قدرت یونی و تابش الکترومغناطیسی در محیط رخ می‌دهد. به عنوان مثال، پلی ایزوپروپیل اکریل آمید (PNIPAAm, Poly(N-)) Isopropyl Acrylamide) پلیمری حساس به دما است که در کاربردهای بسیاری مطالعه شده است. این پلیمر دستخوش انتقال تورمی برگشت پذیر در اطراف کمترین دمای بحرانی محلول (LCST, Lower Critical Solution Temperature) که حدود ۳۳°C در محیط‌های آبی است، می‌شود. در دماهای پایین‌تر از LCST، هیدروژل پلی ایزوپروپیل اکریل آمید متورم و در دماهای بالاتر زنجیرهای پلیمری فشرده می‌شود. با توجه به قابلیت کنترل رفتار تورمی، هیدروژل حساس به دمای مذکور دارای کاربردهای گسترده‌ای نظیر انتقال دارو، مهندسی بافت، حسگرها و محرک است [۲]. لازم به ذکر است،

پیشرفت‌های اخیر در حوزه‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک به همراه افزایش تقاضا در بخش‌های بالینی و دارویی به ظهور و توسعه زیست مواد نوین منجر شده است. براساس تعاریف سازمان ملی سلامت آمریکا، زیست ماده، ماده یا ترکیبی از مواد (به جز دارو) با منشأ طبیعی یا سنتزی است که در بازه‌ی زمانی مشخصی، برای تقویت یا جایگزینی کامل یا جزئی بافت‌ها، ارگان‌های زنده یا عملکردی از بدن استفاده می‌شود و در نتیجه موجب حفظ و یا بهبود کیفیت حیات خواهد شد. این مواد براساس جنس در سه دسته، زیست مواد فلزی، سرامیکی و پلیمری قرار می‌گیرند. معایب و مشکلات زیست مواد سنتی که خلاصه‌ای از آن در جدول ۱ ارائه شده است، ظهور و توسعه دسته جدیدی از مواد کامپوزیتی بر پایه هیدروژل‌های پلیمری را به همراه داشته است.

هیدروژل‌ها به دلیل قابلیت تقلید خواص فیزیکی، شیمیایی، الکتریکی و بیولوژیکی بسیاری از بافت‌های بیولوژیک، کاربردهای گسترده‌ای در حوزه‌های بالینی نظیر رهایش کنترل شده دارو، زیست حسگرها، لنزهای تماسی، الکترودهای پزشکی، پانسمان و پوشش برای درمان سوختگی و یا دیگر آسیب‌های سخت دارند. هیدروژل‌ها ساختارهای سه‌بعدی پلیمری آبدوست هستند که پس از قرارگیری در آب و سیالات بیولوژیک، تا چندین برابر وزن خشک، آب جذب می‌کنند. علی‌رغم

جدول ۱ طبقه‌بندی زیست مواد.

زیست مواد	مزایا	معایب	کاربردها	مثال
فلزات	مستحکم، چقرمگی و انعطاف پذیری بالا	چگال، حساس به خوردگی	صفحات استخوان، ایمپلنت‌های تحت بار، سیم و براکت دندان	تیتانیوم، فولاد ضد زنگ، آلیاژهای کبالت-کروم و آلیاژهای تیتانیوم
پلیمر	انعطاف پذیر، قابل اصلاح سازی سطحی	غیر مستحکم، ذرات حاصل از اضم حلال سمی	داربست‌های مهندسی بافت، پیچ استخوان، صفحات استخوان و رهایش دارو	کلاژن، ژلاتین آلژینات، پلی لاکتیک اسید، پلی لاکتیک کوگلایکولیک اسید
سرامیک	زیست سازگار، زیست فعال، قابل جذب، مقاوم به سایش	ترد، استحکام کم، چقرمگی پایین	مفصل ران، پرکننده استخوان، پوشش روی ایمپلنت‌ها، مهندسی بافت و ...	آلومینا، زیرکونیا، هیدروکسی آپاتیت، تری کلسیم فسفات، براشیت، شیشه زیستی

فیزیکی، برهم‌کنش فیزیکی بین زنجیرها عامل اصلی اتصال بوده و هیچ‌گونه اتصال کوالانسی بین زنجیرها برقرار نیست. این شبکه‌ها برگشت پذیر بوده، در برابر محرک‌های خارجی مانند دما و pH تغییر حجم می‌دهند [۴]. حضور نانوذرات علاوه بر افزودن خواص جدید به هیدروژل‌ها بواسطه به دام افتادن نانوذرات در ساختار شبکه هیدروژل، سبب ایجاد ساختار شبکه‌ای از طریق جذب سطحی، اتصال ناشی از برهم‌کنش فیزیکی و یا شیمیایی بین نانوذرات و زنجیرهای پلیمری می‌شود (شکل ۱-ج).

حضور نانوذرات خواص منحصربه‌فردی در هیدروژل‌های پلیمری نظیر پاسخگویی به محرک‌های مکانیکی، نوری، حرارتی، صوتی، مغناطیسی و الکتریکی را به همراه دارد که منجر به کاربرد وسیع آن‌ها در حوزه‌های مختلفی نظیر الکترونیک، اپتیک، حسگرها، محرک‌های درمانی، سامانه جداسازی، انتقال دارو و بسیاری دیگر از حوزه‌های زیست فناوری می‌شود [۵]. از دیگر خواص بهبود یافته هیدروژل‌ها در حضور نانوذرات، خواص مکانیکی فوق‌العاده آن‌ها است. این ژل‌ها قادر به تحمل سطح بالایی از مقاومت در برابر تغییر شکل نظیر طولیل شدن، فشرده شدن، خم شدن، پاره شدن، چرخاندن و حتی پیچش هستند (شکل ۱-د) [۱].

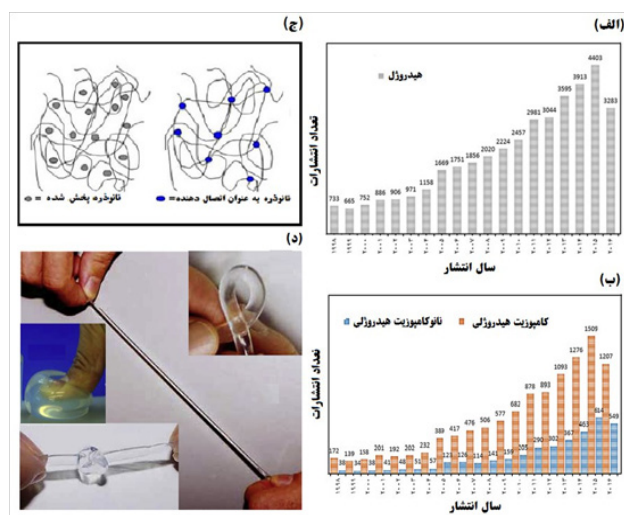
شکل ۲ طیف وسیعی از نانوذرات بر پایه کربن

مطالعه زیست سازگاری هیدروژل‌ها برای تعدادی از سامانه‌های هیدروژلی و کاربردهای بیولوژیک آن‌ها به طور کامل انجام شده است و نتایج مثبتی را به همراه داشته است. مشابه سایر زیست مواد، اطمینان از پاسخ مطلوب بدن به هیدروژل‌ها و عدم آسیب رسانی به بدن ضروری است.

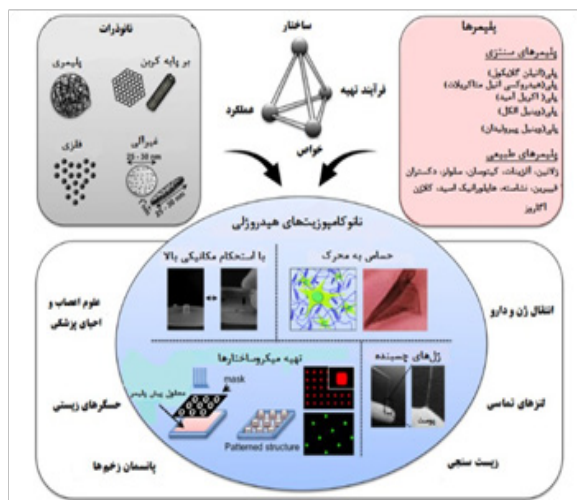
نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی

ظهور نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی در جهت بهبود و اصلاح خواص هیدروژل‌های مرسوم و افزودن خواصی منحصربه‌فرد به آن‌ها رخ داده است. براساس آنچه که در شکل ۱-الف و ب، روند انتشارات اخیر مقاله‌ها، علاقه چشمگیر و فزاینده در توسعه نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی در حوزه‌های بالینی را نشان می‌دهد.

به طور کلی، نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی که به آن‌ها هیدروژل‌های هیبریدی نیز اطلاق می‌شود، به عنوان مواد شبکه‌ای با اتصال عرضی و متورم با آب، در حضور نانوذرات یا نانوساختارها، تعریف می‌شوند. اتصال عرضی که مهم‌ترین معیار در دسته‌بندی هیدروژل‌ها است، به دو صورت شیمیایی و فیزیکی رخ می‌دهد. هیدروژل‌هایی با اتصال عرضی شیمیایی، ژل‌هایی دائمی، شامل اتصالات عرضی کووالانسی هستند. درحالی که در هیدروژل‌هایی با اتصال عرضی



شکل ۱ تعداد انتشارات مربوط به: هیدروژل‌ها (الف) و کامپوزیت و نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی براساس پایگاه بین المللی نمایه نشریات علمی (ب)، نانوذرات: پیچش شدن در زمینه و یا عمل نمودن به عنوان عامل شبکه‌ای کننده (ج) [۳] و نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی با استحکام مکانیکی فوق‌العاده در برابر طولیل شدن، خم شدن، گره خوردن و فشرده شدن [۱].



شکل ۲ نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی و کاربردهای آن [۵].

نانوذرات به زمینه پلیمری سبب بهبود استحکام مکانیکی، پایداری فیزیولوژیکی زمینه هیدروژلی و همچنین افزایش مشخصات چسبندگی سلولی شده است. اگرچه برهم‌کنش دقیق بین نانوهیدروکسی آپاتیت و شبکه پلیمری بررسی نشده است، انتظار می‌رود علاوه بر برهم‌کنش فیزیکی، برهم‌کنش یونی نیز نقش مهمی در چقرمگی بالا و خواص الاستومری شبکه نانوکامپوزیت ایفا کند. در جدول ۲ نمونه‌هایی از نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی بر پایه نانوذرات هیدروکسی آپاتیت، کاربردها و نتایج حاصل ارائه شده است. آزمایش‌های نشان داده است فاز معدنی قرار گرفته در این هیدروژل‌ها، منجر

نانولوله‌های کربنی (Carbon (CNT)) Nanotube)، گرافن و نانوالماس، نانوذرات پلیمری (نانوذرات پلیمری دندریمری/ پلی استرهای ماکرومولکول پرشاخه)، نانوذرات معدنی/ سرامیکی (هیدروکسی آپاتیت، سیلیکات و کلسیم فسفات) و نانوذرات فلز/ اکسید فلز (طلا، نقره و اکسید آهن) برای دستیابی به نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی با کاربردهای بالینی را، نشان می‌دهد [۵].

نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی با نانوذرات سرامیکی/ غیر آلی

با الهام از نانومواد زیست فعال یافت شده در بافت‌های بیولوژیک، محققان با ترکیب نانوذرات سرامیکی و پلیمرهای طبیعی/ سنتزی، نسل جدیدی از زیست مواد پیشرفته را توسعه داده‌اند. از جمله این نانوذرات می‌توان به هیدروکسی آپاتیت، نانوذرات سنتزی سیلیکات، سیلیکا، کلسیم فسفات، شیشه زیست فعال و شیشه سرامیکی اشاره کرد. بدین ترتیب نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی متنوعی با ترکیب نانوذرات سرامیکی در زمینه پلیمری، سنتز شده‌اند.

نانوهیدروکسی آپاتیت

هیدروکسی آپاتیت ترکیبی با فرمول ساختاری $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ، زیست تخریب پذیر، زیست فعال و غیرسمی است. نانوکامپوزیت‌های متشکل از این نانوذرات کاربرد گسترده‌ای در مهندسی بافت استخوان، بازسازی و جایگزینی غضروف دارند. افزودن این

جدول ۲ نمونه‌هایی از نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی بر پایه نانوذرات هیدروکسی آپاتیت، کاربردها و نتایج حاصل.

محققان	نانوذره	جزء هیدروژلی	کاربرد(ها)	نتایج حاصل
Kumar و همکاران [۶]	HA	بتا کیتین	مهندسی بافت	تخریب پذیری و جذب مناسب پروتئین، بهبود چسبندگی و تکثیر سلولی
Tripathi و همکاران [۷]	HA	کیتوسان	مهندسی بافت استخوان	افزایش تورم و جذب پروتئین
Chang و همکاران [۸]	HA	کیتین	مهندسی بافت	تقویت استحکام مکانیکی و تکثیر و چسبندگی سلولی
Kim و همکاران [۹]	HA	آلژینات/کیتوسان	مهندسی بافت استخوان	افزایش استحکام مکانیکی و زیست سازگاری مناسب
Fricain و همکاران [۱۰]	HA	پیلولان/ دکستران	مهندسی بافت استخوان	سبز کامپوزیتی با قابلیت تقلید کانی سازی زیستی استخوان
Rabiee و همکاران [۱۱]	HA	کیتوسان	جایگزین استخوان	بهبود خواص مکانیکی، زیست فعالی و زیست سازگاری

به کلسینه شدن اولیه و تشکیل بافت‌های استخوانی در چند مدل بالینی حیوانی، شده است [۱۳، ۱۲]. در همین راستا محققان برای تهیه هیدروژل‌های ترکیبی، نانوذرات هیدروکسی آپاتیت را با پلیمرهایی نظیر کیتین و کیتوسان ترکیب کرده‌اند. براساس آزمون‌های مکانیکی، مقاومت فشاری تمام نمونه‌ها، افزایش یافته است. در نتیجه هیدروژل حاصل از انعطاف‌پذیری و سختی خوبی برخوردار است. چنین نتایجی بیانگر بهبود خواص مکانیکی هیدروژل در حضور نانوذرات هیدروکسی آپاتیت است.

نانوذرات سنتزی سیلیکات / سیلیکا

نانوذرات سنتزی سیلیکات، که تحت عنوان نانو خاک رس (Clay) شناخته می‌شوند، از گسترده‌ترین نانوذرات مورد مطالعه در نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی است. تحقیقات نشان داده است این نانوذرات قادر به بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی هیدروژل‌های پلیمری است [۱۴]. مزیت عمده نانوذرات سیلیکاتی، افزایش استحکام مکانیکی هیدروژل پلیمری است. چنین بهبودی، ناشی از برهم‌کنش سطحی بالای پلیمر و نانوذرات، در نتیجه پراکندگی و توزیع مناسب نانوذرات و یا توانایی آن برای ایجاد ساختار ورقه‌ای شدن در بستر پلیمری است. از نانوذرات سیلیکاتی مورد استفاده در نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی، می‌توان به مونت موریلونیت، بنتونیت، هکتوریت و دیگر سیلیکات‌ها اشاره کرد. قرارگیری نانوذرات سیلیکا در زمینه پلیمری می‌تواند، منجر به بهبود استحکام مکانیکی و چسبندگی سلولی شود. به دلیل خواص مکانیکی مناسب و افزایش زیست‌فعالی، نانوکامپوزیت هیدروژلی حاصل به عنوان پرکننده‌های قابل تزریق در درمان‌های ارتوپدی استفاده می‌شود [۱۵].

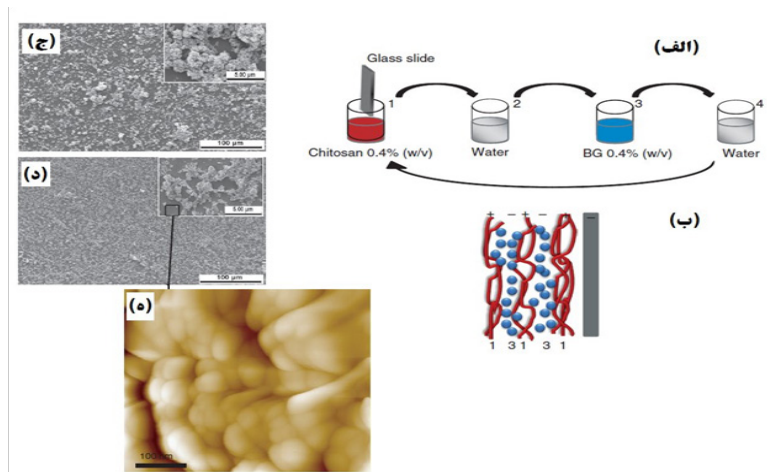
شیشه سرامیک‌های زیست‌فعال

شیشه‌های زیستی از دیگر نانوذرات سرامیکی هستند که برای دستیابی به نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی زیست‌فعال با پلیمرهای طبیعی و سنتزی مختلفی ترکیب شده‌اند. به دلیل استحکام مناسب، این نانوذرات اغلب برای انحلال این نانوذرات می‌تواند پاسخ‌های بیولوژیکی مطلوبی به همراه داشته باشد. مطالعات زیست‌شناسی مولکولی نشان داده است، محصولات حاصل از تخریب شیشه‌های زیست‌فعال

سبب برانگیختگی ۷ نوع ژن دخیل در استخوان‌سازی خواهند شد [۱۶]. تلاش‌های متعددی در راستای ترکیب شیشه‌های زیست‌فعال با پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر برای تهیه جایگزینی با زیست‌سازگاری، زیست‌فعالی، قابلیت تجزیه بیولوژیک و سختی بسیار خوب به منظور کاربرد در بافت استخوان صورت گرفته است. در این راستا، Wang و همکاران در سال ۲۰۰۶ [۱۷]، نانوکامپوزیت زیست‌فعال متخلخل جدیدی، متشکل از نانوذرات شیشه زیست‌فعال، کلاژن، هیالورانیک اسید و فسفاتیدیل‌سرین (Phosphatidylserine) تهیه کردند. داربست مذکور بسیار متخلخل با اندازه حفراتی در محدوده ۱۰۰-۴۰۰ μm بوده است.

در ادامه تحقیقات در سال ۲۰۰۹ Couto و همکاران [۱۸]، با تهیه پوشش‌های چندلایه‌ای از نانوذرات شیشه زیست‌فعال و کیتوسان به روش لایه به لایه (LbL, Layer-by-Layer) (شکل ۳-الف و ب) داربستی در مهندسی بافت استخوان طراحی کردند. براساس مشاهدات میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, Scanning Electron Microscope) در شکل ۳-ج، نانوذرات کروی شکل شیشه زیست‌فعال با اندازه ۱۰۰ nm-۳۰، بطور همگن در سطح پوشش چند لایه پراکنده شده‌اند. کیتوسان خواص ویسکوالاستیک پوشش و شیشه زیست‌فعال، زیست‌فعالی آن را تامین می‌کند. مطالعات آزمایشگاهی نیز تشکیل آپاتیت را به عنوان نشانه‌ای از زیست‌فعالی پوشش‌ها تایید کردند. در تحقیقی دیگر Peter و همکاران در سال ۲۰۰۹ [۱۹]، نانوذرات شیشه زیست‌فعال را با داربست کیتین ترکیب کردند.

داربست مذکور، ماکرومتخلخل با حفراتی در محدوده ۵۰۰-۱۵۰ μm بوده و نانوذرات بطور همگن در دیواره حفرات توزیع شده‌اند. داربست‌های هیدروژلی در حضور نانوذرات، تورم و تخریب مناسبی از خود نشان داده‌اند. مطالعات زیست‌معدنی شدن، زیست‌فعالی داربست را تایید کرده است. همچنین نتایج حاصل از آزمون زیست‌سازگاری (MTT, Microculture Tetrazolium Test) و آزمون تماس مستقیم سلول‌ها، حاکی از عدم سمیت و در نتیجه زیست‌سازگاری و اتصال سلول‌ها به دیواره حفرات بوده است. در ادامه این تحقیقات در سال ۲۰۱۰ Peter و همکاران [۲۰]، داربست نانوکامپوزیتی جدیدی شامل کیتوسان و نانوذرات شیشه-سرامیک زیست‌فعال را معرفی

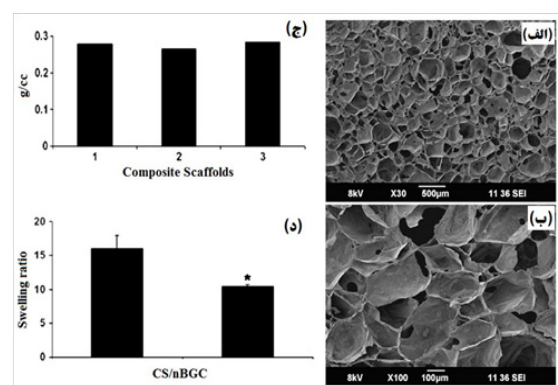


شکل ۳ نمایش روند لایه به لایه پوشش: جذب محلول کاتیونی کیتوسان در شیشه زیست فعال (آنیونی) (الف)، تشکیل فیلم چند لایه بر سطح شیشه پس از چند چرخه (ب) و تصویرهای SEM پوشش‌های بدست آمده از ۵ دو لایه (ج) و ۱۰ دو لایه (د) کیتوسان و نانوذرات شیشه زیست فعال [۱۸].

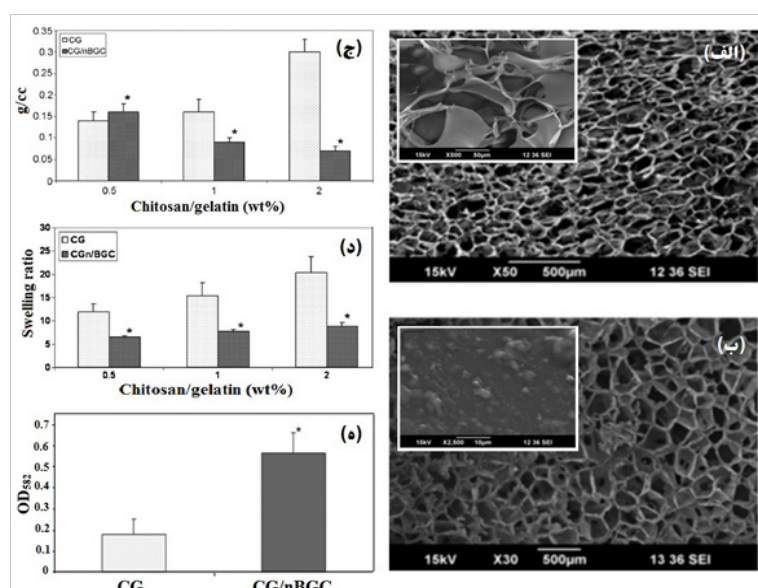
نانوذرات شیشه زیست فعال و زمینه کیتوسان، می‌توانند به عنوان داربست برای کاربردهای مهندسی بافت مورد استفاده قرار گیرند. در تحقیق دیگری در سال ۲۰۱۰، Peter و همکاران [۲۱]، برای افزایش چسبندگی، مهاجرت، تمایز و تکثیر سلولی از ژلاتین در داربست کامپوزیتی کیتوسان- شیشه زیست استفاده نکردند. براساس نتایج حاصل از تحلیل‌های انجام شده، مورفولوژی داخلی داربست ماکرو متخلخل با اندازه حفراتی در محدوده $300\text{--}150\ \mu\text{m}$ بوده است (شکل ۵-الف و ب) است. حضور نانوذرات شیشه زیست فعال کاهش چگالی و تورم داربست نانوکامپوزیتی و افزایش جذب پروتئین را به همراه داشته است (شکل ۵). کاهش تورم و چگالی در حضور نانوذرات را می‌توان ناشی از افزایش تخلخل و یا اندازه حفرات داربست دانست. براساس آزمون تماس مستقیم و مطالعات اتصال سلولی، داربست نانوکامپوزیتی خواص بهتری را نشان داده، محیط سالم‌تری را برای اتصال و پخش سلولی فراهم کرده است.

Mozafari و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ [۲۲]، داربستی نانوکامپوزیتی با ترکیب ژلاتین و نانوذرات شیشه زیست فعال را در سامانه سه‌تایی $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ ، به عنوان جایگزینی با زیست فعالی بسیار مناسب در مهندسی بافت استخوان تهیه کردند. داربست مورد نظر بسیار متخلخل با میکروساختار سه‌بعدی و به هم پیوسته از حفرات تقریباً کروی شکل با اندازه $200\text{--}500\ \mu\text{m}$ بوده که برای رشد سلول‌های استخوان مطلوب است (شکل

کردند. زمینه کیتوسان ماکرومتخلخل بوده، نانوذرات شیشه سرامیک زیست فعال بطور همگن در آن توزیع شده‌اند (شکل ۴). مطالعات تورمی نیز بیانگر کاهش نسبت تورم کامپوزیت در حضور نانوذرات است. تورم در هیدروژل‌ها سبب افزایش اندازه حفرات و تخلخل ماتریس که تامین‌کننده اکسیژن و مواد مغذی به درون آن است، می‌شود. همچنین در حضور نانوذرات و در نتیجه افزایش تخلخل، چگالی ضور نانوذرات بر نسبت تورم و چگالی داربست را نشان می‌دهد. براساس نتایج حاصل، داربست کامپوزیتی توسعه یافته با استفاده از



شکل ۴ تصاویر SEM نشان‌دهنده میکروساختار ماکرومتخلخل داربست کامپوزیتی نانوذرات کریستالی شیشه زیست فعال در ماتریس کیتوسان (الف و ب)، دانسیته کیتوسان (۱) و داربست‌های کامپوزیتی (۲ و ۳) و رفتار تورمی داربست‌ها (د) $p < 0.05$ [۲۰].



شکل ۵ تصاویر SEM از ساختار ماکرومتخلخل: داربست کیتوسان/ژلاتین (الف) و داربست کامپوزیتی کیتوسان/ژلاتین/شیشه زیست فعال (ب) در دو بزرگنمایی. چگالی داربست‌های کیتوسان/ژلاتین و کیتوسان/ژلاتین/نانوذرات شیشه زیست فعال (ج)، رفتار تورمی (د) و جذب پروتئین داربست‌ها (ه) $p < 0.05$ [۲۱].

Srinivasan و همکاران در سال ۲۰۱۲ [۲۴]، داربست‌هایی کامپوزیتی از آلژینات/نانوذرات سرامیکی شیشه زیست فعال، برای بازسازی بافت‌های دندان تهیه کردند. توانایی تورم، تخریب در شرایط آزمایشگاهی، زیست معدنی شدن و سمیت سلولی داربست مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از کاهش تورم و تخریب و افزایش بیومینرالیزاسیون و جذب پروتئین بوده است. علاوه بر این، داربست‌های کامپوزیتی آلژینات/شیشه زیستی در مقایسه با داربست آلژینات، پخش و چسبندگی سلولی بهتری را نشان داده‌اند. علاوه بر متخلخل بودن داربست کامپوزیتی آلژینات با اندازه حفرات ۱۰۰-۳۰۰ μm که برای مهاجرت و تکثیر سلولی، تامین مواد مغذی و عروق ضروری است، سطح داربست آلژینات در مقایسه با سطح داربست کامپوزیتی آلژینات/نانوذرات سرامیکی شیشه زیست فعال صاف بوده، که می‌تواند به دلیل حضور نانوذرات باشد.

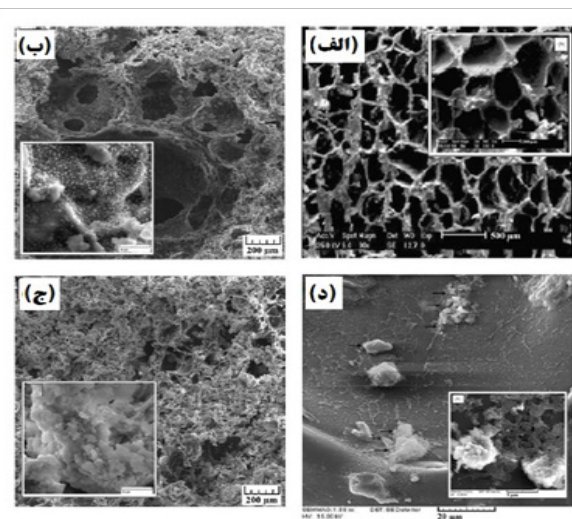
Mota و همکاران در سال ۲۰۱۲ [۲۵]، ترکیبی از کیتوسان با نانوذرات شیشه زیست فعال را به منظور تولید غشاء بازسازی بافت و استخوان، تهیه کردند. افزودن نانوذرات شیشه زیست فعال به غشای کیتوسان، کاهش پتانسیل مکانیکی این غشای و بهبود زیست فعالی را به همراه

تشکیل آپاتیت در سطح داربست کامپوزیتی و افزایش قابل توجه در زیست فعالی در طی چند روز از غوطه‌وری با قرارگیری در محلول شبیه‌سازی شده بدن (Simulated Body Fluid SBF) در فواصل زمانی مختلف تایید شد (شکل ۶-ب و ج). همچنین آزمون‌های آزمایشگاهی با سلول‌های استئوبلاست نشان‌دهنده نفوذ مناسب سلول‌ها به حفرات داربست، افزایش مداوم تجمع سلول در داربست‌های زیست فعال با افزایش زمان و در نتیجه توانایی داربست برای حمایت از رشد سلولی بوده است. شکل ۶-د، تصاویر SEM سلول‌های SaOS-2 را بر سطح داربست‌ها نشان می‌دهد.

Marelli و همکاران در سال ۲۰۱۱ [۲۳]، اثر ترکیب کلاژن با نانوذرات شیشه زیست فعال برای تولید داربست‌های هیدروژلی در مهندسی بافت استخوان مورد مطالعه قرار دادند. به دلیل سطح و واکنش‌پذیری بالای نانوذرات شیشه زیست فعال، تشکیل کلسیم فسفات بلافاصله در داربست ژل کامپوزیتی صورت گرفت. نانوذرات شیشه زیست فعال، بطور همگن در ژل کلاژن متراکم پخش شده، که موجب تسریع زیست معدنی شدن سه‌بعدی از ماتریس، با قرارگیری در معرض محیط فیزیولوژیک شده است.

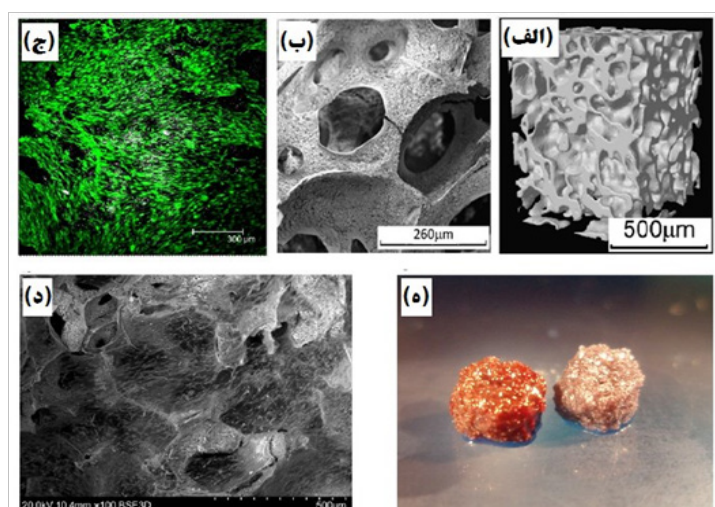
نقره حاوی $342 \mu\text{g}$ نانوذرات نقره اثرات سمیت سلولی نشان داده‌اند. که به غلظت نسبتاً بالایی از نانوذرات نقره در پوشش نسبت داده شده است. علی‌رغم سمیت سلولی، این تحقیقات مقدماتی راه را برای بهبود چنین ساختارهای چند منظوره هموار کرده است. Nadeem و همکاران در سال ۲۰۱۳ [۲۷]، داربست کامپوزیتی زیست فعال اسفنج مانندی، متشکل از شیشه زیست فعال و ژلاتین، برای استفاده در مهندسی بافت استخوان تهیه کردند. براساس تصاویر میکروسکوپی SEM ارائه شده در شکل ۷، فوم کامپوزیتی دارای ظاهر اسفنج مانند با تخلخل پیوسته و اندازه متوسط حفرات $170 \mu\text{m}$ ، مناسب برای تکثیر سلول‌ها و رشد بافت بوده است. این ویژگی که به طور معمول در فوم‌های سرامیکی ساخته شده با فرآیند مشابه [۲۸] مشاهده نشد، ناشی از محتوای پایین جامد، همراه با ژل شدن کند فوم است. تشکیل آپاتیت در طول غوطه‌وری داربست در محلول شبیه‌سازی شده بدن نشان‌دهنده زیست فعالی آن بوده است. مطالعات آزمایشگاهی بیانگر زیست سازگاری عالی و قابلیت حمایت داربست‌های کامپوزیتی از رشد سلول‌های بنیادی دندانی (HDSPCs, Human Dental Pulp Stem Cells) بوده است. براساس تصویر فلورسنت میکروسکوپ کانفوکال در شکل ۷-ج، بیشتر سلول‌ها پس از شش هفته کشت در داربست‌ها زنده ماندند. نتایج SEM رشد سلول‌های دندانی را در داربست کامپوزیتی تایید کرد (شکل ۷-د). رنگ آمیزی مثبت فسفات قلیایی در شکل ۷-ج بیانگر توانایی سلول‌ها به حفظ عملکرد و تمایز استئوژنیک خود پس از رشد بوده است. در نتیجه داربست کامپوزیتی حاصل جایگزینی مناسب برای فناوری‌های فعلی در ساخت داربست سه بعدی استخوان است.

El-Fiqi و همکاران، در سال ۲۰۱۳ [۲۹]، نانوکامپوزیت هیدروژلی جدیدی از کلاژن و نانوذرات شیشه زیست فعال مزومتخلخل اصلاح شده با گروه‌های آمین در سطح را، توسعه داده، اثرات حضور این نانوذرات و اصلاح سطح با آمین را در خواص فیزیکی و شیمیایی و مکانیکی هیدروژل بررسی کردند. لازم به ذکر است، آمین دار کردن سطح شیشه زیست فعال سبب پیوند شیمیایی با مولکول‌های کلاژن و در نتیجه، بهبود چشمگیر پایداری فیزیکی و شیمیایی و مکانیکی نانوکامپوزیت هیدروژلی شده است. همچنین حضور این نانوذرات، تخریب



شکل ۶ تصاویر SEM برگرفته از: نمای بالای داربست آلزینات/ نانوذرات شیشه زیست فعال (الف)، داربست‌ها پس از ۱ و ۱۴ روز غوطه‌وری (ب و ج) و سلول‌های SaOS-2 کشت شده بر سطح داربست‌ها (د) در دو بزرگ‌نمایی بالا و پایین [۲۲].

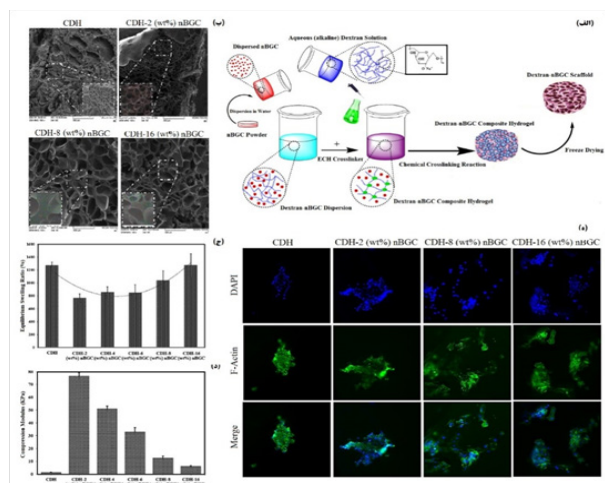
داشته است. غشای حاوی این نانوذرات موجب رسوب یک لایه آپاتیت، در محلول شبیه سازی شده بدن که خود بیانگر خاصیت هدایت استخوان سازی این نانوذرات است، سبب بهبود فعالیت متابولیک سلولی و زیست معدنی شدن و افزایش سختی غشای شده است. Pishbin و همکاران در سال ۲۰۱۲ [۲۶]، پوشش‌های ارتوپدی کامپوزیتی با قابلیت ضد باکتری حاوی کیتوسان، ذرات شیشه زیست فعال ($9/8 \mu\text{m}$) و نانوذرات نقره را با استفاده از روش رسوب الکتروفوریتیک تک مرحله‌ای تهیه نمودند. از فولاد ضد زنگ ۳۱۶ به عنوان بستر ارتوپدی فلزی استاندارد استفاده شد و با پوشش کیتوسان و کیتوسان/ شیشه زیست فعال مقایسه شد. از کیتوسان به عنوان یک عامل کمپلکس و پایدار کننده برای شد. حضور ذرات شیشه زیست فعال و در نتیجه تشکیل هیدروکسی آپاتیت در محلول SBF، نشان‌دهنده زیست فعالی پوشش‌ها بوده است. رهایش یون‌های نقره از پوشش فعالیت ضد باکتریایی را در شرایط آزمایشگاهی تسهیل کرده است. اگرچه پوشش کیتوسان و کیتوسان/ شیشه زیست فعال از پخش سلول‌های شبه استئوبلاست MG ۶۳ تا ۷ روز پس از کشت حمایت کرده است، پوشش کیتوسان/ شیشه زیست فعال/ نانوذرات



شکل ۷ مورفولوژی سطح و اتصال داربست کامپوزیتی: مدل μ -CT، نشان‌دهنده ساختار سه‌بعدی متخلخل و به هم پیوسته (الف) و تصویر SEM نشان‌دهنده مورفولوژی اسفنج مانند داربست کامپوزیتی (ب). رشد سلول‌های HDPSC در داربست کامپوزیتی: تصویر میکروسکوپ فلورسنت کوانتوکال ارزشمند HDPSC‌ها در داربست کامپوزیتی پس از ۶ هفته (ج)، تصویر SEM (د) و چپ- نمونه رنگ‌آمیزی شده با فسفات قلیای و راست- نمونه کنترل (ه) [۲۷].

هیدرولیتیک و آنزیمی هیدروژل نانوکامپوزیت مذکور را کند کرده، موجب افزایش چشم‌گیر خواص مکانیکی هیدروژل، خصوصاً مقاومت در برابر بارگذاری و همچنین سختی هیدروژل شده است. Gantar و همکاران در سال ۲۰۱۴ [۳۰]، نانوکامپوزیت هیدروژلی صمغ/ نانوشیشه زیست فعال را برای کاربرد به عنوان داربستی در مهندسی بافت استخوان تهیه کردند. براساس نتایج حاصل از SEM ارائه شده در شکل ۸، نانوذرات بطور یکنواخت در ماتریس پخش شده، موجب افزایش ضخامت دیواره حفرات، افزایش زبری سطح و کاهش اندازه حفرات شده‌اند. در شکل ۸-د و ۸-ه تصاویر حاصل از اسکن سه‌بعدی (μ -CT scan) هیدروژل‌ها در حالت خشک، ارائه شده است. همچنین نتایج آزمون استحکام فشاری نشان داد که مدول یانگ نانوکامپوزیت تقریباً، تا دو برابر افزایش یافت. لذا حضور نانوذرات شیشه زیست فعال موجب بهبود ریزساختار و خواص مکانیکی مواد شده است. خواص مکانیکی به ترکیب نانوذرات وابسته بوده، با مقدار شیشه زیست فعال بهبود یافته است. علاوه بر این، برای بررسی عملکرد بیولوژیکی نانوکامپوزیت، اثر حضور نانوذرات بر چسبندگی و پایداری سلول‌های بنیادی بافت استخوان (hASC, Human Adipose Derived

Stem Cell) بررسی شد. پس از فرارگیری نانوکامپوزیت مذکور، به مدت ۷۲ ساعت در محیط کشت، سلول‌ها قادر به چسبیدن و پخش شدن در نانوکامپوزیت بوده‌اند. Chen و همکاران در سال ۲۰۱۵ [۳۱]، داربست کامپوزیتی شیشه زیست فعال/ کیتوسان/ کربوکسی متیل سلولز (Carboxymethyl Cellulose) را برای جایگزینی موم (Wax) سنتی تهیه کرده‌اند. خون‌ریزی مغز استخوان (Bone Marrow) به طور عمده توسط موم استخوانی متوقف می‌شود. با این وجود، موم نمی‌تواند جذب شود، که منجر به سست شدن پروتز مصنوعی، واکنش ماده خارجی و عفونت می‌شود. تحلیل WST-1 Water (Soluble Tetrazolium-1) نشان داد که کامپوزیت مذکور منجر به زیست سازگاری عالی و بدون سمیت سلولی می‌شود. ارزیابی درون‌تنی تشکیل استخوان نشان داد که کامپوزیت تهیه شده نقش مهمی در بازسازی استخوان و هموستاسیس (Hemostasis) دارد. کامپوزیت به عنوان موم استخوانی اثر مشابه هموستاسیس داشته است. تجزیه زیستی آن همچنین به عملکرد ترمیم نقایص استخوان منجر شد. Sarker و همکاران در سال ۲۰۱۶ [۳۲]، هیدروژل کامپوزیتی شیشه زیست فعال و آلژینات-ژلاتین را با استفاده از روش خشک کن انجمادی به عنوان

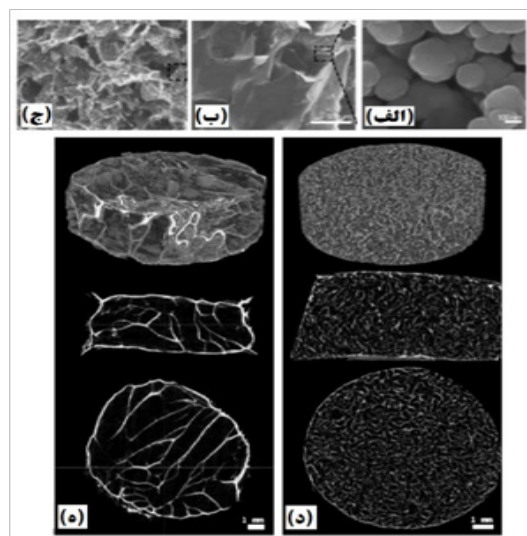


شکل ۹ نمایش چگونگی تهیه داربست‌های هیدروژلی دکستران-شیشه زیست فعال (الف)، تصاویر SEM داربست‌ها (ب)، رفتار تورمی و مدول فشاری داربست‌های کامپوزیتی (ج و د) و تصاویر فلئورسانس از سلول‌های HOB بر داربست‌های هیدروژلی (ه) [۳۳].

فعال‌دارای میکروساختاری سه‌بعدی با میانگین اندازه حفرات $240 \mu\text{m}$ بوده‌اند. نانوذرات کروی شکل شیشه سرامیک زیست فعال بطور همگن در غلظت‌های پایین و همراه با کلوخه‌هایی در غلظت بالا، در ماتریس هیدروژلی دکستران توزیع شده‌اند. فشار اسمزی و تشکیل کلوخه‌هایی از نانوذرات در غلظت‌های بالا موجب افزایش جذب آب و کاهش مدول فشاری داربست‌ها شده است (شکل ۹-ج و د). تشکیل بلورهای هیدروکسی آپاتیت بر سطح و مقطع داربست‌های کامپوزیتی پس از ۷، ۱۴ و ۲۸ روز غوطه‌وری در محلول SBF، تاییدکننده زیست‌فعالی کامپوزیت‌ها بوده است. همچنین افزایش غلظت نانوذرات در داربست‌های کامپوزیتی دکستران-شیشه سرامیک زیست فعال سبب افزایش تکثیر سلول‌های استئوبلاست (HOBs, Human Osteoblasts) (شکل ۹-ه) و فعالیت آلکالین فسفات (ALP) در طی ۱۴ روز شده‌اند. با توجه به خواص فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی مطلوب، هیدروژل‌های کامپوزیتی دکستران-شیشه سرامیک زیست فعال را می‌توان به عنوان داربست‌های امیدبخش برای کاربردهای مهندسی بافت استخوانی در نظر گرفت.

نتیجه‌گیری

نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی زیست موادی پیشرفته، با



شکل ۸ تصاویر SEM: شیشه زیست فعال (الف)، مقطع عرضی هیدروژل صمغ (ب) و کامپوزیت صمغ با ۵۰ درصد شیشه زیست فعال (ج) و اسکن سه‌بعدی هیدروژل‌های خشک: صمغ (د) و صمغ-نانوشیشه زیست فعال (ه) [۳۰].

داربست‌های متخلخل با سختی و تجزیه‌پذیری قابل تنظیم تهیه کردند. حضور شیشه‌های زیست فعال، افزایش سینتیک و درجه شبکه‌ای شدن و کاهش زمان ژل شدن هیدروژل‌ها را به همراه داشته است، که عامل اصلی برای افزایش مقاومت مکانیکی داربست‌های کامپوزیتی است. هیدروژل‌هایی با درجه شبکه‌ای شدن بالا، آزادسازی پروتئین و تجزیه‌پذیری کمی داشتند. مقایسه بین داربست‌های آلزینات خالص، آلزینات/ژلاتین، آلزینات/ژلاتین/۱ درصد شیشه زیست فعال و آلزینات/ژلاتین/۵ درصد شیشه زیست فعال بیانگر رشد سلولی بهتر با گسترش شکل‌شناسی بالاتر داربست‌های آلزینات/ژلاتین/۱ درصد شیشه زیست فعال، بوده است. در نتیجه داربست‌های هیدروژلی تهیه شده (علی‌الخصوص داربست‌های حاوی ۱ درصد شیشه زیستی) نامزدهای امیدوارکننده‌ای برای مهندسی بافت استخوان و سایر کاربردهای پزشکی هستند.

در سال ۲۰۱۸، نیکپور و همکاران [۳۳]، نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی دکستران و نانوذرات شیشه سرامیک زیست فعال (nBGC) را به عنوان داربست‌های زیست فعال برای مهندسی بافت استخوان تهیه کردند (شکل ۹-الف). براساس شکل ۹-ب، داربست‌های هیدروژلی شبکه‌ای شده دکستران (CDH) و دکستران-شیشه زیست

نیازمند است. بنابراین امروزه در راستای تهیه و ساخت شبکه‌های هیدروژلی اکثر تحقیقات بر روی طراحی شبکه چندجزئی از ترکیبات مختلف متمرکز است، زیرا سامانه‌های دوجزئی قادر به ارائه ویژگی‌های متعددی نیستند. علاوه بر این، مطالعات آینده نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی نیز بر درک برهم‌کنش بین زنجیرهای پلیمری و نانوذرات در مقیاس‌های مختلف متمرکز است که در نتیجه خواص نانوکامپوزیت هیدروژلی را متناسب با کاربردهای مورد نیاز تنظیم می‌کند.

کاربرد گسترده در حوزه‌های بالینی و دارویی هستند. از این شبکه‌های هیدروژلی در زیست‌حسگر، انتقال دارو، مهندسی سلول‌های بنیادی، مهندسی بافت و... استفاده می‌شود. در مقایسه با هیدروژل پلیمری مرسوم، نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی خواص فیزیکی، شیمیایی، الکتریکی و بیولوژیکی برتری دارند که ناشی از برهم‌کنش پلیمر و نانوذره است. طراحی نسل بعدی نانوکامپوزیت‌های هیدروژلی نه تنها به کنترل شدیدی بر خواص فیزیکی، شیمیایی و الکتریکی، بلکه به ادغام نشانه‌های بیولوژیکی مناسبی در داخل شبکه

مراجع

1. Haraguchi K., "Nanocomposite Hydrogels", *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 11, 47-54, **2007**.
2. Peppas N.A., Hilt J.Z., Khademhosseini A., Langer R., "Hydrogels in Biology and Medicine: from Molecular Principles to Bio Nanotechnology", *Advanced Materials*, 18, 1345-1360, **2006**.
3. Nelson A., Cosgrove T., "Dynamic Light Scattering Studies of Poly (Ethylene Oxide) Adsorbed on Laponite: Layer Conformation and Its Effect on Particle Stability", *Langmuir*, 20, 10382-10388, **2004**.
4. Landers R., Hübner U., Schmelzeisen R., Mülhaupt R., "Rapid Prototyping of Scaffolds Derived from Thermoreversible Hydrogels and Tailored for Applications in Tissue Engineering", *Biomaterials*, 23, 4437-4447, **2002**.
5. Goenka S., Sant V., Sant S., "Graphene-based Nanomaterials for Drug Delivery and Tissue Engineering", *Journal of Controlled Release*, 173, 75-88, **2014**.
6. Kumar P. S., Srinivasan S., Lakshmanan V-K., Tamura H., Nair S.V., Jayakumar R., "β-Chitin Hydrogel/nano Hydroxyapatite Composite Scaffolds for Tissue Engineering Applications", *Carbohydrate Polymers*, 85, 584-591, **2011**.
7. Tripathi A., Saravanan S., Pattnaik S., Moorthi A., Partridge N.C., Selvamurugan N., "Bio-composite Scaffolds Containing Chitosan/nano-hydroxyapatite/nano-copper-Zinc for Bone Tissue Engineering", *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 294-299, **2012**.
8. Chang C., Peng N., He M., Teramoto Y., Nishio Y., Zhang L., "Fabrication and Properties of Chitin/hydroxyapatite Hybrid Hydrogels as Scaffold Nano-Materials", *Carbohydrate Polymers*, 91, 7-13, **2013**.
9. Kim H-L., Jung G-Y., Yoon J-H., Han J-S., Park Y-J., Kim D-G., Zhang M., Kim D-J., "Preparation and Characterization of Nano-sized Hydroxyapatite/alginate/chitosan Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering", *Materials Science and Engineering: C*, 54, 20-25, **2015**.
10. Fricain J.C., Schlaubitz S., Le Visage C., Arnault I., Derkaoui S.M., Siadous R., Catros S., Lalande C., Bareille R., Renard M., Fabre T., Cornet S., Durand M., Léonard A., Sahraoui N., Letourneur D., Amédée J., "A Nano-hydroxyapatite-pullulan/dextran Polysaccharide Composite Macroporous Material for Bone Tissue Engineering", *Biomaterials*, 34, 2947-2959, **2013**.
11. Nikpour M., Rabiee S.M., Jahanshahi M., "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite/chitosan Nanocomposite Materials for Medical Engineering Applications", *Composites Part B: Engineering*, 43, 1881-1886, **2012**.
12. Tavakol S., Nikpour M.R., Amani A., Soltani M., Rabiee S.M., Rezayat S.M., Chen P., Jahanshahi M., "Bone Regeneration Based on Nano-hydroxyapatite and Hydroxyapatite/chitosan Nanocomposites: An In-Vitro and In-Vivo Comparative Study", *Journal of Nanoparticle Research*, 15, 1373, **2013**.
13. Rabiee S.M., Bioactive Ceramics as Bone Morphogenetic Proteins Carriers, in *Biomaterials Applications for Nanomedicine*, ResearchGate, **2011**.
14. Wu C-J., Gaharwar A.K., Schexnaider P.J., Schmidt G., "Development of Biomedical Polymer-silicate Nanocomposites: A Materials Science Perspective", *Materials*, 3, 2986-3005, **2010**.
15. Gaharwar A.K., Rivera C.P., Wu C-J., Schmidt G., "Transparent, Elastomeric and Tough Hydrogels from Poly (Ethylene Glycol) and Silicate Nanoparticles", *Acta Biomaterialia*, 7, 4139-4148, **2011**.
16. Zeimaran E., Pourshahrestani S., Djordjevic I., Pingguan-Murphy B., Kadri N.A., Towler M.R., "Bioactive Glass Reinforced Elastomer Composites for Skeletal Regeneration: A Review", *Materials Science and Engineering: C*, 53, 175-188, **2015**.
17. Wang Y., Yang C., Chen X., Zhao N., "Development and Characterization of Novel Biomimetic Composite Scaffolds Based on Bioglass-Collagen-Hyaluronic Acid-Phosphatidylserine for Tissue Engineering Applications", *Macromolecular Materials and Engineering*, 291, 254-262, **2006**.
18. Couto D.S., Alves N.M., Mano J.F., "Nanostructured Multilayer Coatings Combining Chitosan with Bioactive Glass Nanoparticles", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 9, 1741-1748, **2009**.
19. Peter M., Kumar P.T.S., Binulal N.S., Nair S.V., Tamura H., Jayakumar R., "Development of Novel α-chitin/nanobioactive Glass Ceramic Composite Scaffolds for Tissue Engineering Applications", *Carbohydrate Polymers*, 78, 926-931, **2009**.
20. Peter M., Binulal N.S., Soumya S., Nair S.V., Furuike T., Tamura H., Jayakumar R., "Nanocomposite Scaffolds of Bioactive Glass Ceramic Nanoparticles Disseminated Chitosan Matrix for Tissue Engineering Applications", *Carbohydrate Polymers*, 79, 284-289, **2010**.
21. Peter M., Binulal N.S., Nair S., Selvamurugan N., Tamu-

- ra H., Jayakumar R., "Novel Biodegradable Chitosan-gelatin/nano-bioactive Glass Ceramic Composite Scaffolds for Alveolar Bone Tissue Engineering", *Chemical Engineering Journal*, 158, 353-361, **2010**.
22. Mozafari M., Rabiee M., Azami M., Maleknia S., "Biomimetic Formation of Apatite on the Surface of Porous Gelatin/bioactive Glass Nanocomposite Scaffolds", *Applied Surface Science*, 257, 1740-1749, **2010**.
23. Marelli B., Ghezzi C.E., Mohn D., Stark W.J., Barralet J.E., Boccaccini A.R., Nazhat S.N., "Accelerated Mineralization of Dense Collagen-nano Bioactive Glass Hybrid Gels Increases Scaffold Stiffness and Regulates Osteoblastic Function", *Biomaterials*, 32, 8915-8926, **2011**.
24. Srinivasan S., Jayasree R., Chennazhi K., Nair S.V., Jayakumar R., "Biocompatible alginate/nano Bioactive Glass Ceramic Composite Scaffolds for Periodontal Tissue Regeneration", *Carbohydrate Polymers*, 87, 274-283, **2012**.
25. Mota J., Yu N., Caridade S.G., Luz G.M., Gomes M.E., Reis R.L., Jansen J.A., Walboomers X.F., Mano J.F., "Chitosan/bioactive Glass Nanoparticle Composite Membranes for Periodontal Regeneration", *Acta Biomaterialia*, 8, 4173-4180, **2012**.
26. Pishbin F., Mourino V., Gilchrist J.B., McComb D.W., Kreppel S., Salih V., Ryan M.P., Boccaccini A.R., "Single-step Electrochemical Deposition of Antimicrobial Orthopaedic Coatings Based on a Bioactive Glass/chitosan/nano-silver Composite System", *Acta biomaterialia*, 9, 7469-7479, **2013**.
27. Nadeem D., Kiamehr M., Yang X., Su B., "Fabrication and in Vitro Evaluation of a Sponge-like Bioactive-glass/gelatin Composite Scaffold for Bone Tissue Engineering", *Materials Science and Engineering: C*, 33, 2669-2678, **2013**.
28. Fisher O.Z., Khademhosseini A., Langer R., Peppas N.A., "Bioinspired Materials for Controlling Stem Cell Fate", *Accounts of Chemical Research*, 43, 419-428, **2009**.
29. El-Fiqi A., Lee J.H., Lee E-J., Kim H-W., "Collagen Hydrogels Incorporated with Surface-aminated Mesoporous Nanobioactive Glass: Improvement of Physicochemical Stability and Mechanical Properties is Effective for Hard Tissue Engineering", *Acta Biomaterialia*, 9, 9508-9521, **2013**.
30. Gantar A., da Silva L.P., Oliveira J.M., Marques A.P., Correlo V.M., Novak S., Reis R.L., "Nanoparticulate Bioactive-glass-reinforced Gellan-gum Hydrogels for Bone-tissue Engineering" *Materials Science and Engineering: C*, 43, 27-36, **2014**.
31. Chen C., Li H., Pan J., Yan Z., Yao Z., Fan W., Guo C., "Biodegradable Composite Scaffolds of Bioactive Glass/chitosan/carboxymethyl Cellulose for Hemostatic and Bone Regeneration", *Biotechnology Letters*, 37, 457-465, **2015**.
32. Sarker B., Li W., Zheng K., Detsch R., Boccaccini A.R., "Designing Porous Bone Tissue Engineering Scaffolds with Enhanced Mechanical Properties from Composite Hydrogels Composed of Modified Alginate, Gelatin, and Bioactive Glass", *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2, 2240-2254, **2016**.
33. Nikpour P., Salimi-Kenari H., Fahimipour F., Rabiee S.M., Imani M., Dashtimoghadam E., Tayebi L., "Dextran Hydrogels Incorporated with Bioactive Glass-ceramic: Nanocomposite Scaffolds for Bone Tissue Engineering", *Carbohydrate Polymers*, 190, 281-294, **2018**.

