

ساخت و مشخصه‌یابی نانویوسرامیک نوین ویلمایت برای ترمیم نواقص استخوانی

سمیه محمدی، علی دوست محمدی* و محمدرضا سائری
گروه مهندسی مواد، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

(دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۷/۳ - دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۳/۴/۱)

چکیده - ویلمایت (Willemit) و سرامیک (Zn_2SiO_4) ، حاوی روی و سیلیکون، برای نواقص استخوانی بود. سرامیک و کمک روش واکنش حالت جامد تهیه و ساختار بلوری آن و سرامیک مورد ارزیابی قرار گرفت. پتانسیل زتا در محلول سرم ولوژیک تعیین گردید و استحکام فشاری و مدول آن اندازه‌گیری شد. این نتایج نشان داد که نانویوسرامیک بلوری و متبل با ترکیب مورد نظر و مقدار پتانسیل زتای مناسب نشان داد که توانا تشکیر دروکسی آپاتیت بر سطح و متبل در محلول شده بدن چندان قابل توجه نبود. آزمون MTT عدم سمیت و هم‌زیستی و تکثیر سلولی آدی مغز استخوان انسان در تماس با غلظت مشخص از نانوذرات و نتایج را تایید نمود. این نتایج نشان داد که نانویوسرامیک نوین و متبل با سازگاری زیستی (عدم سمیت) مناسب است و می‌تواند به عنوان یک بوماده مناسب برای نواقص استخوانی پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: ویلمایت، سرامیک، سلول بند آدی مغز استخوان

Fabrication and Characterization of Novel Willemite Nanobioceramic for Bone Defect Repair

S. Mohammadi, A. Doostmohammadi* and M.R. Saeri

Materials Department, Engineering Faculty, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Abstract: The positive effect of Si and Zn ions on bone formation and metabolism has already been confirmed. The aim of this study was preparation and characterization of Willemite (Zn_2SiO_4) for the repair of bone defects. Willemite was prepared through solid state reaction. Phase analysis and chemical compositions were investigated. The zeta potential of the nanoparticles

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alidm14@ma.iut.ac.ir

was determined in physiological saline, and compressive strength and Young's modulus of the samples were measured. The ability of hydroxyapatite formation was investigated in simulated body fluid (SBF) and cytotoxicity of the particles was evaluated in contact with human bone marrow stem cells. The results of this study showed that Willemite nanobioceramic is obtained with the expected chemical composition and negative zeta potential. The results also showed that the hydroxyapatite forming ability in SBF was not strong. MTT assay confirmed the cell proliferation and availability in contact with a specific concentration of Willemite nanoparticles. All these findings indicate that Willemite nanobioceramic with proper biocompatibility can be suggested as a novel biomaterial for the repair of bone defects.

Keywords: Nanbioceramic, Willemite, Cell toxicity, Bone marrow stem cells

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده از بیوسرامیک‌ها به عنوان مواد کاشتنی با رشد روزافزونی روبه‌رو شده است. یکی از مهم‌ترین دلایل استقبال از این مواد، سازگاری زیستی و زیست‌فعالی آن‌ها در مقایسه با کاشتنی‌های فلزی و پلیمری است [۱].

پژوهش‌های گذشته نشان داده‌اند که بیومواد دارای سیلیسیم (Si) موجب ترمیم و رشد استخوان می‌شوند. نقش اساسی سیلیسیم در رشد اسکلتی بدن به اثبات رسیده است [۲]. در سال ۱۹۷۰ گزارش شد که سیلیسیم به‌طور ویژه در مکان‌های کلسیم‌دار استخوان‌های جوان قرار دارد [۲]. سیلیسیم دارای رابطه‌ی مستقیم با کلسیم بوده و در مکان‌هایی که مقدار کلسیم نسبتاً کاهش یافته، به صورت ترکیبی مشابه با هیدروکسی آپاتیت بروز می‌کند [۲]. همچنین یافته‌ها نشان داده است که کمبود سیلیسیم در نوزادان دلیل کند شدن رشد اسکلت بندی و تغییر شکل جمجمه در آن‌ها شده است [۳]. رابطه‌ی سیلیسیم با کلسیم در شکل‌گیری استخوان به اثبات رسیده است و همچنین افزایش آن در رژیم غذایی، افزایش میزان معدنی شدن استخوان را به همراه داشته است [۳]. روی (Zn) نیز از عناصر مهم در رشد سیستم اسکلتی به شمار می‌رود. وجود روی ارتباط مستقیمی با رشد، بهبود و نگهداری از استخوان‌های بدن دارد. روی باعث برانگیزش معدنی شدن و استخوان‌سازی و بازدارنده تخریب استخوان‌ها می‌شود. عقب‌ماندگی جنین در طول رشد نشان دهنده‌ی کمبود روی بوده است. روی از راه خون مادر نقش مهمی را در رشد طولی جنین از طریق توسعه‌ی اسکلت بندی داشته است [۴]. دلیل کند شدن رشد استخوان‌ها و برخی عیوب رایج در بافت سخت

انسان‌ها و حیوانات در کمبود روی گزارش شده است [۵ و ۶]. بررسی‌ها نشان داده‌اند که روی نقش فیزیولوژیکی در رشد و معدنی شدن بافت استخوان دارد. مقدار روی با افزایش سن به تدریج در استخوان کاهش می‌یابد [۷]. نتایج نشان داده است که بیومواد حاوی روی می‌توانند فعالیت سلول‌های استخوان‌ساز را برانگیخته، تشکیل استخوان‌های جدید را نیز آسان کنند. سرامیک‌های دارای روی و سیلیسیم اخیراً به‌عنوان بیوسرامیک‌های مهم و سودمند مطرح شده‌اند. در این بررسی سرامیک ویلمایت (Zn_2SiO_4) به‌کمک روش واکنش حالت جامد تهیه شد. ویلمایت یک سرامیک مهم در سیستم سیلیکا-روی است. خواص فیزیکی و شیمیایی این سرامیک و همچنین سمیت آن در تماس با سلول‌های بنیادی مغز استخوان انسان مورد ارزیابی قرار گرفت. اخیراً سلول‌های بنیادی مغز استخوان انسان به‌عنوان منبع اساسی سلولی در درمان و مهندسی بافت مورد توجه قرار گرفته‌اند [۸ و ۹].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- ساخت نانوذرات ویلمایت

بیوسرامیک ویلمایت به کمک روش واکنش حالت جامد تهیه شد. در این روش اکسید سیلیسیم (SiO_2) و اکسید روی (ZnO) به عنوان مواد اولیه مورد استفاده قرار گرفت [۹]. این مواد به گونه‌ای توزین شدند که مخلوط نهایی شامل $73/04\%$ درصد ZnO و $26/96\%$ درصد SiO_2 باشد. روش ساخت به‌طور کامل به‌وسیله گو و همکاران [۱۰] توضیح داده شده است. به‌طور خلاصه، پودرهای ZnO و SiO_2 به کمک آسیاب گلوله‌ای در اتانول به مدت ۲۴ ساعت با هم مخلوط و سپس در

دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. مخلوط پودری خشک شده، در دمای ۱۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲ ساعت تفجوشی شد. بررسی خواص مکانیکی از جمله استحکام فشاری و مدول یانگ روی نمونه‌های فشرده شده انجام شد. برای این کار، پودرهای ترکیبی که ۶ درصد پلی‌ونیل‌الکل به عنوان چسب [۹] به آن‌ها اضافه شده بود، تحت فشار تک محوری ۵۰ مگاپاسگال به شکل استوانه کوچک با قطر ۱۰ و ضخامت ۲۰ میلی‌متر فشرده شدند.

۲-۲- مشخصه‌یابی سرامیک‌های ویلمایت

ساختار فازی مخلوط پودری تفجوشی شده به‌کمک آزمون پراش پرتو ایکس (XRD) (Philips Xpert-MPD) بررسی شد. لامپ مورد استفاده برای تولید پرتو ایکس، CuK با طول موج ۱٫۵۴۲ آنگستروم (۱٫۵۴۲ = λ) بود.

برای بررسی شکل و ظاهر ذرات تولید شده و برآورد نسبی از میزان اندازه آن‌ها، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (SUPRA 40 VP FE-SEM, Carl Zeiss AG, Germany) بهره گرفته شد. تحلیل عنصری ترکیب تولید شده، به‌کمک روش توزیع انرژی پرتو ایکس (EDAX) انجام شد. برای تعیین پایداری نانوذرات، پتانسیل زتای نمونه‌ها با دستگاه الکتروفورسیس دوپلر لیزری (LDE) (Nano Series, Malvern Instrument Ltd., UK) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های بیوسرامیک درون محلول سرم فیزیولوژیک (محلول ۰٫۱۵۴ مولار NaCl) با pH ۷٫۴ قرار داده شد. یافته‌های بگمبیس و همکارانش [۱۱] نشان می‌دهد که نتایج به‌دست آمده در محیط آزمایشگاهی قابل مقایسه با نتایج به‌دست آمده در بدن موجود زنده خواهد بود. پتانسیل زتا بعد از گذشت ۲۴ ساعت تعیین و مقدار میانگین و میزان انحراف آن از مقدار استاندارد حساب شد. دستگاه به صورت خودکار انرژی جنبشی الکتروفوریتیک (U) و هم‌چنین پتانسیل زتا را بر اساس رابطه اسمولوچوسکی (رابطه (۱)) محاسبه می‌کند [۱۲].

$$\text{رابطه (۱)} \quad = U /$$

استحکام فشاری و مدول یانگ نمونه‌ها به‌کمک دستگاه سنجش خواص مکانیکی (Hounsfield, H25KS) اندازه‌گیری شد. سرعت حرکت فک‌ها ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود.

۲-۳- فعالیت زیستی سطح

برای سنجش زیست‌فعالی ویلمایت ساخته شده، از آزمون غوطه‌وری نمونه‌ها در مایع شبیه‌سازی شده بدن (SBF) استفاده شد. غلظت یون‌های موجود در این محلول مشابه غلظت آن‌ها درون پلاسمای خون است [۱۳]. برای این کار دیسک‌هایی به قطر ۱۰ میلی‌متر و ضخامت ۲ میلی‌متر تهیه شد. دیسک‌های تولیدی در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های متفاوت درون محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) غوطه‌ور شدند. پس از غوطه‌وری، نمونه‌ها با آب مقطر شسته شده، به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت (مورفولوژی) سطح آن‌ها بررسی شد.

۲-۴- ارزیابی سمیت ذرات به کمک آزمون MTT

زیست‌سازگاری و غیر سمی بودن مواد زیستی از پرسش‌های کلیدی است که باید قبل از کاربردهای پزشکی مورد توجه قرار گیرد. روش MTT، روشی ساده برای اندازه‌گیری قابلیت تکثیر و زنده ماندن سلول است. در ابتدا نانو ذرات ویلمایت با دستگاه اتوکلاو ضدعفونی شده، تعداد ۱۰۰۰ سلول در هر خانه‌ی پلیت ۲۴ چاهکی در شرایط استاندارد در انکوباتور کشت داده شد. سپس غلظت‌های ۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از پودر ویلمایت در DMEM تهیه شد. محیط کشت سلول‌ها یک روز در میان تعویض شد. سلول‌های بنیادی مغز استخوان انسان با چگالی اولیه $10^3 \times 5$ در هر چاهک از پلیت ۲۴ چاهکی در DMEM حاوی ذرات کشت داده شدند. بعد از گذشت ۲۴، ۷۲ و ۹۶ ساعت از زمان کشت، زیستایی سلول‌های بنیادی به‌وسیله آزمون MTT ارزیابی شد. در هر نقطه‌ی زمانی، ۵۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در DMEM) به هر چاهک افزوده شد.

پس از سپری شدن هر دوره زمانی، محیط رویی هر چاهک تخلیه شده، ۲۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکسید برای انحلال بلورهای فورمازان به آن‌ها اضافه و برای ۲ ساعت در دمای اتاق در تاریکی قرار داده شد. چگالی نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر به روش طیف‌سنجی (اسپکترومتری) خوانده شد. فرایند مشابهی برای نمونه حاوی سلول‌های بنیادی بدون ذرات ویلمایت به عنوان نمونه شاهد انجام گرفت.

تمامی آزمون‌ها ۳ بار تکرار شد ($n=3$) و نتایج به صورت مقدار میانگین همراه با انحراف از معیار ارایه شد. آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) برای مقایسه نتایج استفاده و مقدار p کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد ($p < 0.05$).

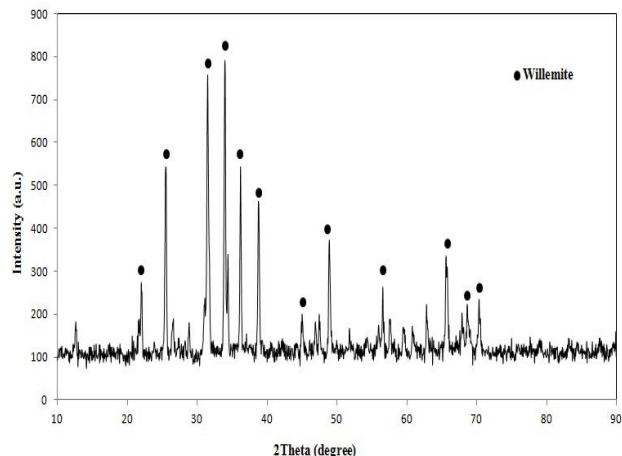
۳- نتایج

۳-۱- مشخصه‌یابی نانوذرات ویلمایت

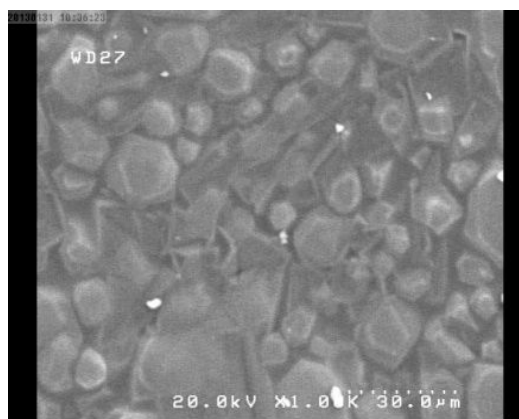
در شکل ۱ الگوی پراش پرتو ایکس ذرات سرامیکی تف‌جوشی شده در ۱۳۰۰ درجه سانتی‌گراد نشان داده شده است. در این الگوی پراش، فقط قله‌های فاز ویلمایت وجود دارد که نشان از تشکیل فاز خالص و کاملاً بلوری ویلمایت دارد [۹ و ۱۳].

ریخت سطح دیسک‌های سرامیکی در شکل ۲ نشان داده شده است. تصاویر گرفته شده به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی شکل و اندازه ذرات پودر ویلمایت را در شکل ۳ نشان می‌دهد. سطح دیسک‌ها غیریکنواخت و شامل ذراتی با اندازه‌های پراکنده است. اندازه ذرات در دامنه نانومتری بوده، ولی کاملاً مشخص است که ذرات به صورت کلوخه‌ای درآمده‌اند.

تحلیل عنصری ترکیب تولید شده، به کمک روش توزیع انرژی پرتو ایکس (EDAX) انجام شد. تحلیل عنصری ترکیبات تولید شده ویلمایت در جدول ۱ آورده شده است. این نتایج وجود عناصر اصلی روی (Zn) و سیلیسیم (Si) را در ویلمایت، هماهنگ با مقادیر مورد نظر در ترکیب نهایی اثبات نمود.



شکل ۱- الگوی پراش پرتو ایکس ویلمایت تف‌جوشی شده



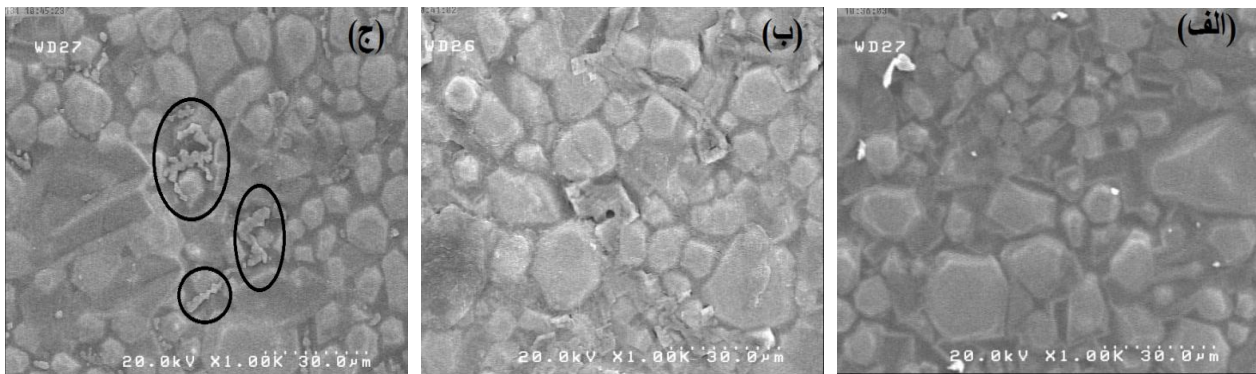
شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح دیسک سرامیکی ویلمایت



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از شکل و اندازه ذرات سرامیک‌ها

جدول ۱- ترکیب عنصری ویلمایت، اندازه‌گیری شده به کمک طیفسنجی توزیع انرژی ایکس

عنصر	غلظت (wt%)
سیلیسیم (Si)	۱۳٫۶۳
روی (Zn)	۶۳٫۶
اکسیژن (O)	۲۱٫۱۴



شکل ۴- قرص ویلمایت: الف) قبل از غوطه‌وری، ب) پس از ۷ روز غوطه‌وری و ج) پس از ۲۱ روز غوطه‌وری در محلول SBF

ترک‌دار بود. ولی بر سطح دیسک‌های ویلمایت بعد از ۷ و ۲۱ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن، ماده‌ی معدنی تشکیل نشد. ناهمواری‌های روی سطح سرامیک‌های ویلمایت پس از غوطه‌وری می‌تواند وابسته به تجزیه مواد درون محلول باشد (شکل ۴).

۳-۳- اثر ذرات ویلمایت بر تکثیر سلول‌های بنیادی

نتایج آزمون MTT در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود در اولین و دومین روزهای کشت، دگرگونی اساسی در زیستایی و توانایی تکثیر سلول‌های بنیادی در تماس با نانوذرات ویلمایت در غلظت‌های متفاوت دیده نشد ($p > 0.05$). بعد از ۳ روز، سلول‌های موجود در غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، زیستایی کم‌تری از خود نشان دادند ($p < 0.05$). در حالی که نمونه‌های با غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ذرات، تفاوت چندانی با نمونه شاهد نداشتند ($p > 0.05$). در نتیجه این‌گونه برداشت می‌شود که

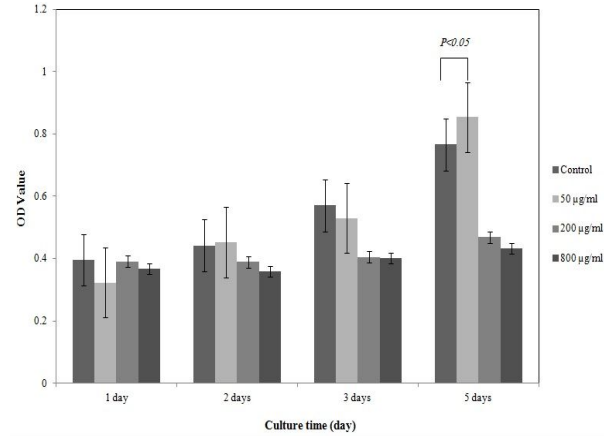
مقدار پتانسیل زتای سرامیک ویلمایت 1.2 ± 13.8 میلی‌ولت به دست آمد که هرچند مقدار زیادی است اما منفی بودن یک برتری شمرده می‌شود. مقادیر استحکام فشاری، 4 ± 88 و مدول یانگ، 2.2 ± 36 مگاپاسکال اندازه‌گیری شد که مقداری مناسب و تقریباً مشابه استخوان قشری انسان است [۹ و ۱۳].

۳-۲- توانایی تشکیل آپاتیت

فعالیت زیستی نمونه‌های آماده شده در محیط آزمایشگاهی به کمک غوطه‌وری نمونه‌های استوانه‌ای در محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) بررسی شد و میزان تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر سطح سرامیک‌ها مورد ارزیابی کیفی قرار گرفت. شکل ۴ تصاویر گرفته شده به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نمونه‌های ویلمایت را قبل (الف) و بعد از غوطه‌وری (ب و ج) پس از ۷ و ۲۱ روز نشان می‌دهد. سطح نمونه‌های تهیه شده قبل از غوطه‌وری صاف اما تا اندازه‌ای

نانومتری و هم به شکل کلوخه‌های درشت دیده می‌شوند. به‌دست آمدن این شکل و اندازه برای ذرات ویلمایت به‌دلیل روش تهیه این ذرات (واکنش حالت جامد در دمای بالا) است [۱۴ و ۱۵].

خوشه‌های و آگلومره شدن ذرات درون محلول سرم فیزیولوژیک عامل کاهش پتانسیل زتا ذرات است. اگرچه در شکل ۳ اندازه‌ی خوشه‌ها کم‌تر از ۵۰۰ نانومتر نشان داده شده است. بر اساس گزارش‌های داده شده پتانسیل زتای منفی اثر زیستی مهمی در محیط بدن دارد [۱۶] و پتانسیل زتای منفی تکثیر و چسبندگی سلولی را بهبود داده است [۱۵، ۱۷، ۱۸]. برخی از بررسی‌ها نشان داده‌اند که در مواد با انرژی سطحی منفی (پتانسیل زتای منفی) امکان تکثیر و چسبندگی سلول‌های استخوان‌ساز بیش‌تر از سطوح بدون بار یا سطوح با بار مثبت است [۱۹]. نتایج به‌دست آمده از این بررسی نشان داد که مقدار پتانسیل زتای ذرات ویلمایت در محلول فیزیولوژیک منفی است. دلیل تفاوت بین مقادیر زتا، به ترکیب شیمیایی شیشه، اندازه ذرات و محیط پیرامون بستگی دارد. یافته‌های تست مکانیکی نشان داد که استحکام فشاری (4 ± 88) و مدول یانگ ($2/2 \pm 36$) سرامیک‌های ویلمایت تقریباً مشابه با استحکام و مدول استخوان قشری انسان است. تشابه بین مدول مواد کاشتنی در بافت سخت و مدول استخوان به‌عنوان یک عامل مهم مورد توجه است. کاشتنی‌های فلزی قابلیت بارپذیری بیش‌تری دارند و در کاربردهایی به‌کار می‌روند که شامل فشار بر روی استخوان بوده یا استخوان تاب بار فیزیولوژیکی را ندارد. این عوامل در نهایت باعث بازجذب و سایش استخوان می‌شوند [۲۰ و ۲۱]. در مدول‌های بسیار پایین استخوانی حتی ضربه‌های کوچک هم باعث شکستگی استخوان شده است. بنابراین مدول مشابه با مدول استخوان قشری انسان کاملاً مطلوب است [۲۱]. در این بررسی نشان داده شد که مدول یانگ سرامیک‌های ویلمایت بسیار نزدیک به مدول استخوان قشری انسان است. این تشابه، میزان فشار وارد بر استخوان را کاهش داده و ترمیم استخوان را سرعت می‌بخشد [۲۰ و ۲۱]. اگرچه برخی از بیوسرامیک‌ها همچون هیدروکسی‌آپاتیت و



شکل ۵- زیستایی و توانایی تکثیر سلول‌های بنیادی مغز استخوان انسان در نزدیکی نانوذرات ویلمایت

غلظت بهینه برای ارزیابی کشت سلولی برای چنین نمونه‌هایی غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و پس از گذشت ۵ روز است. در مورد نانوذرات ویلمایت، فقط سلول‌های در تماس با غلظت ۵۰ میلی‌گرم از ذرات و پس از گذشت ۵ روز، در مقایسه با گروه‌های دیگر، تکثیر سلولی بیش‌تری از خود نشان داده‌اند ($p < 0/05$).

۴- بحث

الگوی پراش پرتو ایکس پودرهای ویلمایت نشان می‌دهد که این ماده کاملاً بلوری و بدون هرگونه ناخالصی است. تصاویر گرفته شده به کمک میکروسکوپ الکترونی رویشی (شکل ۲) نشان داد که نمونه‌های تهیه شده کم‌ترین میزان تخلخل را دارند. درجه حرارت تفجوشی به‌صورت مستقیم بر میزان تخلخل‌ها تأثیر دارد [۹]. بررسی‌های اخیر نشان داده که دمای بهینه برای تفجوشی سرامیک‌های ویلمایت ۱۳۰۰ درجه سانتی‌گراد است [۹] که به عنوان دمای تفجوشی در این بررسی به‌کار برده شد. پیش‌بینی شده که میزان تخلخل نمونه‌های تفجوشی شده در این دما بسیار پایین باشد. میزان تخلخل‌ها بر خواص مکانیکی نمونه‌های سرامیکی نیز تأثیرگذار است [۹]. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، شکل ذرات کاملاً نابسامان است و این ذرات هم به‌صورت ذرات

شیشه‌های زیست فعال، فعالیت زیستی بالایی دارند ولی کمبود اصلی آن‌ها خواص مکانیکی نامناسب است [۱۵].

نتایج آزمون غوطه وری نشان داد که توانایی تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر سطح ویلمایت ناچیز بوده است. فعالیت زیستی سرامیک‌ها در محلول شبیه‌سازی شده بدن به ترکیب شیمیایی آن‌ها بستگی دارد. در مورد ویلمایت نشان داده شد که این ترکیب سرامیکی توانایی چندانی در تشکیل آپاتیت پس از غوطه وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن ندارد.

بر اساس یافته‌های آزمون MTT، در روزهای اول و دوم کشت دگرگونی اساسی در تکثیر سلول‌های بنیادی در تماس با نانوذرات ویلمایت در غلظت‌های متفاوت مشاهده نشد ($p > 0/05$). توانایی رشد و تکثیر سلول‌های زنده در غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از ذرات در محیط کشت، تفاوت چندانی با نمونه شاهد نداشته است ($p > 0/05$). گمان می‌رود که یون‌های روی آزاد شده از سرامیک‌ها نقش مهمی را در برانگیختن تکثیر سلولی ایفا می‌کنند. غلظت یون سیلیسیم (Si) آزاد شده از سرامیک ویلمایت برابر غلظت فیزیولوژیک (۰/۰۵-۰/۰۲ میکرومولار) این یون در پلاسما است که به‌وسیله رفیت و همکارانش [۲۲] گزارش شده است. گزارش شده است که اسید اورتوسیلیکات در غلظت‌های فیزیولوژیک، ساخت کلاژن نوع I را در سلول‌های مشابه سلول‌های استخوان‌ساز برمی‌انگیزد و به تفکیک سلول‌های استخوان‌ساز کمک می‌کند [۹]. در بسیاری از بررسی‌ها، شیشه‌های زیست‌فعال [۲۳] و بیوسرامیک‌های سیلیکاتی [۲۴] به‌عنوان

منابع

1. Kim, J., Baek, S., Lee, S.H., Park, E.K., Kim, K.C., Kwun, I.S. and Shin, H.I., "Zinc-Deficient Diet Decreases Fetal Long Bone Growth through Decreased Bone Matrix Formation in Mice", *Journal of Medical Food*, Vol. 12, pp. 118-123, 2009.
2. Carlisle, E.M., "Silicon: A Possible Factor in Bone Calcification", *Science*, Vol. 167, pp. 279-280, 1970.
3. Carlisle, E.M., "Silicon: An Essential Element for Chick", *Nutrition Reviews*, Vol. 40, pp. 210-213, 1982.
4. Doostmohammadi, A., Monshi, A., Fathi, M.H. and Daniels, A.U., "A Comparative Physico-Chemical Study of Bioactiveglass and Bone-Derived Hydroxyapatite", *Ceramics International*, Vol. 37, pp. 1601-1607, 2011.
5. Parisi, A.F. and Vallee, B.L., "Zinc Metalloenzymes: Characteristics and Significance in Biology and Medicine", *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol 22, pp. 1222-1239, 1969.
6. Hsieh, H.S. and Navia, J.M., "Zinc Deficiency and Bone Formation Inguinea-Pigs Alveolar Implants",

عامل برانگیزش سلول‌های استخوان‌ساز پیشنهاد شده‌اند. تمامی این موارد می‌تواند دلیلی بر توانایی ویلمایت به‌عنوان یک سرامیک حاوی عناصر روی و سیلیسیم در تکثیر سلول‌های استخوانی باشد.

۵- نتیجه‌گیری

در این پژوهش بیوسرامیک ویلمایت به‌کمک روش حالت جامد و در دمای ۱۳۰۰ درجه سانتی‌گراد ساخته شد. استحکام فشاری (۸۸ مگاپاسگال) و مدول یانگ (۳۶ مگاپاسگال) سرامیک ویلمایت مناسب و مشابه استحکام و مدول استخوان قشری انسان بود. پتانسیل زتای ویلمایت در محلول سرم فیزیولوژیک مقداری منفی محاسبه شد. براساس آزمون غوطه‌وری (SBF) در محیط آزمایشگاه، سرامیک ویلمایت فعالیت زیستی مناسبی از خود نشان نداد. این در حالی بود که آزمون سمیت سنجی (MTT)، افزایش و تکثیر سلول‌های بنیادی مغز استخوان انسان را در تماس با ذرات این سرامیک تایید کرد. تمام این یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوبیوسرامیک ویلمایت، با وجود ناتوانی در تشکیل آپاتیت پس از غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن، سازگاری زیستی و فعالیت زیستی خوبی در تماس با سلول‌های مغز استخوان انسان دارد و برای استفاده در کاشتنی‌های زیر بار و در ترمیم نواقص استخوانی گزینه بسیار مناسبی به‌شمار می‌رود.

- Journal of Nutrition*, Vol. 8, pp. 1581-1588, 1980.
7. Yamaguchi, M., "Role of Zinc in Bone Formation Resorption", *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, Vol. 11, pp. 119-135, 1998.
 8. Caplan, A.L., "Adult Mesenchymal Stem Cells for Tissue Engineering Versus Regenerative Medicine", *Journal of Cell Physiology*, Vol. 213, pp. 341-347, 2007.
 9. Zhang, M., Zhai, W. and Chang, J., "Preparation and Characterization of a Novel Willemite Bioceramic", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 21, pp. 1169-1173, 2010.
 10. Guo, Y.P., Ohsato, H. and Kakimoto, K.I., "Characterization and Dielectric Behavior of Willemite and TiO₂-Doped Willemite Ceramics at Millimeter-Wave Frequency", *Journal of the European Ceramic Society*, Vol. 26, pp. 1827-1832, 2006.
 11. Bagambisa, F.B., Joos, U. and Schilli, W., "Mechanisms and Structure of the Bond Between Bone and Hydroxyapatite", *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 27, pp. 1047-1055, 1993.
 12. Oppermann, D.A., Crimp, M.J. and Bement, D.M., "In Vitro Stability Predictions for the Bone/Hydroxyapatite Composite System", *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 42, pp. 412-416, 1998.
 13. Balamurugan, A., Balossier, G., Kannan, S., Michel, J., Rebelo, A. and Ferreira, J., "Development and In Vitro Characterization of Sol-Gel Derived CaO-P₂O₅-SiO₂-ZnO Bioglass", *Acta Biomaterialia*, Vol. 3, pp. 255-262, 2007.
 14. Doostmohammadi A., Monshi, A., Salehi, R., Fathi, M.H., Golnia, Z. and Daniels, A.U., "Bioactive Glass Nanoparticles with Negative Zeta Potential", *Ceramics International*, Vol. 37, pp. 2311-2316, 2011.
 15. Smeets, R., Kolk, A., Gerressen, M., Driemel, O., Maciejewski, O., Hermanns-Sachweh, B., Riediger, D. and Stein, J.M., "A New Biphasic Osteoinductive Calcium Composite Material with a Negative Zeta Potential for Bone Augmentation", *Head Face Medicine*, Vol. 13, pp. 5-13, 2009.
 16. Cooper, J.J. and Hunt, J.A., "The Significance of Zeta Potential in Osteogenesis, Society for Biomaterials", *Proceedings of Transactions of the 31st Annual Meeting for Biomaterials*, London, pp. 33-592, 2006.
 17. Doostmohammadi A., Monshi, A., Salehi, R., Fathi, M.H., Karbasi, S., Pielek, U. and Daniels, A.U., "Preparation, Chemistry and Physical Properties of Bone-Derived Hydroxyapatite Particles Having a Negative Zeta Potential", *Materials Chemistry and Physics*, Vol. 132, pp. 446-452, 2012.
 18. Teng, N.C., Nakamura, S., Takagi, Y., Yamashita, Y., Ohgaki, M. and Yamashita, K., "A New Approach to Enhancement of Bone Formation by Electrically Polarized Hydroxyapatite", *Journal of Dental Research*, Vol. 80, pp. 1925-1929, 2001.
 19. Katherine, R., Evans, P. and Jason, P.C., "Feasibility of a Braided Composite for Orthopedic Bone Cast", *The Open Biomedical Engineering Journal*, Vol. 7, pp. 9-17, 2013.
 20. Zargar Kharazi, A., Fathi, M.H. and Bahmany, F., "Design of a Textile Composite Bone Plate Using 3D-Finite Element Method", *Materials Design*, Vol. 31, pp. 1468-1474, 2010.
 21. Huang, Z. and Fujihara, K., "Stiffness and Strength Design of Composite Bone Plates", *Composite Science Technology*, Vol. 65, pp. 73-85, 2005.
 22. Reffitt D.M., Meenan, N.J., Sanderson, J.D., Jugdaohsingh, R., Powell, J.J. and Thompson, R.P., "Bone Density Improves with Disease Remission in Patients with Inflammatory Bowel Disease", *European Journal Gastroenterol Hepatol*, Vol. 15, pp. 1267-1273, 2003..
 23. Xynos, I.D., Edgar, A.J., Buttery, L.D., Hench L.L. and Polak, J.M., "Ionic Products of Bioactive Glass Dissolution Increase Proliferation of Human Osteoblasts and Induce Insulin-Like Growth Factor II mRNA Expression and Protein Synthesis", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 276, pp. 461-465, 2000.
 24. Wu, C. and Chang, J., "Degradation, Bioactivity, and Cytocompatibility of Diopside, Akermanite, and Bredigite Ceramics", *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, Vol. 83, pp. 153-160, 2007.