خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۶ شماره ۳ پاییز ۹۸ (۱۸۵-۱۷۲)

مقاله پژوهشی

تمایز استخوانی سلول بنیادی بر روی نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال 45S5

مهدی شمس[۱]، راحله حلبیان[۲]، محمد کریمی[۳]، مرضیه قلاسی[۴]، علی سلیمی[۵]

چکیده

سابقه و هدف

امروزه استفاده از سلول‌های بنیادی و نانو داربست‌ها در تمایز سلول‌های بنیادی، به عنوان یک راه‌کار درمانی مطرح می‌باشد. هدف از این پژوهش، ساخت و مشخصه‌یابی نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانوذرات شیشه زیست فعال ۴۵S۵ آسیاب شده و سپس بررسی دقیق‌تر تاثیر این کامپوزیت در تکثیر و رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان در محیط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تجربی، نانو ذرات شیشه زیست فعال به روش ذوبی و آسیاب سیاره‌ای ساخته و سپس بر روی نانوالیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید الکتروریسی شده پوشش داده شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی نانوداربست کامپوزیتی توسط آزمون‌های پراش پرتو ایکس، میکروسکوپ الکترونی رویشی، MTT ، آکریدین اورنج و آلکالین فسفاتاز ارزیابی گردید.

یافته‌ها

بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نشان داد، ساختار شیشه زیست فعال ساخته شده و الیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید کاملاً در مقیاس نانو بوده و نانو ذرات به صورت یکنواخت بر روی بستر فیبری توزیع شده است. آزمایش‌های سلولی افزایش چشمگیر رشد، تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های استخوانی بر روی نانو داربست کامپوزیتی را تایید کرد. در آزمایش سنجش MTT ، میزان حیات سلول بر حسب جذب نوری (OD) نمونه نانوداربست کامپوزیتی پس از ۷ روز کشت، ۰/۲ ± ۱/۹۶ بیان شد، در حالی که نمونه کنترل، ۰/۰۸ ± ۰/۷۶ بود.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج، نانوداربست کامپوزیتی فوق، سمیتی نداشته و از خواص زیست سازگاری مناسبی برخوردار است. علاوه بر آن، قابلیت استخوان‌سازی عالی دارد و در طب ترمیمی، جهت بازسازی بافت استخوان مفید خواهد بود.

کلمات کلیدی: **نانوکامپوزیت‌ها، سلول‌های بنیادی، شیشه، مغز استخوان**

تاریخ دریافت: ۹۸/۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۱۵

۱- کارشناس ارشد نانومواد ـ پژوهشکده نانوتکنولوژی و مواد پیشرفته ـ پژوهشگاه مواد و انرژی ـ کرج ـ ایران
۲- دکترای بیوتکنولوژی پزشکی ـ استادیار مرکز تحقیقات علوم میکروبی(میکروبیولوژی کاربردی) ـ دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله(عج) ـ تهران ـ ایران
۳- دکترای نانو مواد ـ پژوهشگاه مواد و انرژی ـ پژوهشکده نانوتکنولوژی و مواد پیشرفته ـ کرج ـ ایران
۴- دکترای بیوشیمی ـ استادیار دانشکده علوم زیست‌شناسی ـ دانشگاه خوارزمی ـ تهران ـ ایران
۵- مؤلف مسئول: دکترای نانوتکنولوژی ـ استادیار مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی ـ دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله(عج) ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۴۴۷۱۱-۱۴۳۵۹

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

مقدمه

در سال‌های اخیر، کامپوزیت‌های پلیمری/سرامیکی بیولوژیکی، به عنوان داربست‌های زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر برای ترمیم و بازسازی استخوان توسعه داده شده‌اند(۱). هنگامی که دو یا چند ماده بیولوژیکی به فرم کامپوزیت ساخته می‌شوند، هر جزء آن، نه تنها استقلال و خواص نصبی خود را حفظ می‌کند، بلکه مکمل نقاط قوت و ضعف یکدیگر می‌شوند، بنابراین تا حد زیادی نقایص و کاستی‌های یکدیگر را برطرف می‌کنند(۲). از میان کامپوزیت‌های پلیمری، پلی‌هیدروکسی اسید مثل پلی‌ال‌لاکتیک اسید(PLLA) به دلیل خاصیت زیست سازگاری و زیست تخریب‌پذیری ذاتی از جمله پلیمرهای سنتزی می‌باشد که امروزه کاربرد گسترده‌ای در این حوزه دارد و از طرف اداره کل غذا و دارو(FDA: Food And Drug Administration) مورد تائید قرار گرفته است(۳). با این که این گونه پلیمرها دارای خواص زیست سازگاری و هدایت استخوانی مناسبی هستند، از نظر القاء یا تحریک استخوان‌سازی محدود می‌باشند و قدرت کافی جهت ترمیم ضایعات استخوانی را ندارند لذا نمی‌توانند تمام الزامات داربست ایده‌آل را برآورده سازند(۵، ۴). بنابراین می‌توان به کمک مواد سرامیکی زیست فعال، خواص آن‌ها را بهبود بخشید.

یکی از انواع شیشه‌هایی که توانایی ایجاد پیوند با استخوان را دارند شیشه‌های بر پایه $Cao-P_2O_5-Sio_2$ هستند(۷، ۶). شیشه‌های زیستی هنگامی که در بدن قرار می‌گیرند به راحتی با سیال‌های فیزیولوژیکی واکنش داده و یک لایه هیدروکسی آپاتیت کربنات بر روی سطح خود تشکیل می‌دهند(۸). علاوه بر آن یون‌های کلسیم، فسفر و سیلیسیم آزاد شده می‌توانند تکثیر و تمایز سلول‌های استئوبلاستی را افزایش داده و منجر به بهبود استخوان‌سازی شود(۱۱-۹). دو روش کلی برای ساخت شیشه‌های زیست فعال(BGn) وجود دارد: روش ذوبی و سل ژل(۱۵-۱۲). در تحقیقات اخیر، شیشه زیست فعال (BGn) را در ترکیب پلی‌ال‌لاکتیک اسید(PLLA) قرار داده و به صورت کامپوزیت ساخته‌اند. نتایج آزمایش‌های سلولی این گونه تحقیقات ثابت کرد که افزودن شیشه، تاثیر مثبتی در تکثیر و رشد سلول‌ها بر روی کامپوزیت دارد(۱۸-۱۶). هم‌چنین در مطالعه‌هایی نانوالیاف شیشه و نانوذرات هیدروکسی آپاتیت را در بستر نانوالیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید اضافه نموده و به صورت داربست کامپوزیتی مورد بررسی قرار داده‌اند. نتایج این تحقیقات، تاثیر به سزای این نانو ذرات در رشد و تمایز سلول‌ها بر روی داربست کامپوزیتی بود(۱۹، ۳). اما هنوز هم داربست‌های کامپوزیتی اشاره شده در درمان ضایعات استخوانی ناتوان هستند.

هدف از این پژوهش، ساخت نانوداربست کامپوزیتی (پلیمری/سرامیکی) زیست سازگار و زیست فعال مناسب برای ترمیم و بازسازی عیوب استخوانی بود به طوری که قابلیت القای بافت استخوان‌ساز جهت استخوان‌سازی را داشته در عین حال که سمیت و عوارض جانبی دیگری نداشته باشد. در این پژوهش، برای اولین بار از ذرات شیشه فعال از نوع ۴۵S۵(BGn) که با آسیاب سیاره‌ای به ساختاری در مقیاس نانو تبدیل شده، در ترکیب پلی‌ال‌لاکتیک اسید استفاده شد. سپس جهت اثبات عدم سمیت و هم‌چنین قابلیت استخوان‌سازی، آزمایش‌های سلولی با استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان صورت گرفت.

استفاده از این نوع نانو ذرات شیشه به واسطه افزایش نسبت سطح به حجم، سبب واکنش‌پذیری بهتر این نوع فاز در ماتریس پلیمری پلی‌ال‌لاکتیک اسید که آن هم دارای ساختار نانو است، می‌گردد. تمامی این پارامترها در کنار ترکیب زیست فعال شیشه می‌تواند سبب افزایش کارآیی تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی بر روی نانو داربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال شود.

مواد و روش‌ها

ساخت نانو الیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید(PLLA):

مطالعه انجام شده از نوع تجربی بود. برای ساختن نانو الیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید، ۰/۴۳ گرم پلیمر پلی‌ال‌لاکتیک اسید(آلمان، مِرک) با وزن مولکولی ۶۰ کیلو دالتون در ۶ میلی‌لیتر کلروفرم با غلظت ۷٪ وزن به حجم بر روی همزن

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

مغناطیسی همزده شده و ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل فرمالدهید اضافه گردید. پس از همگن شدن و پایداری کامل، محلول فوق در یک سرنگ پلاستیکی ۱۰ میلی‌لیتر مخصوص دستگاه با سر سوزنی از جنس فولاد زنگ نزن با قطر خارجی ۱۸ گیج(معادل ۱/۲۷۰ میلی‌متر) انتقال داده شد. تنظیمات دستگاه به صورت زیر درنظر گرفته شد: ولتاژ ۱۸ کیلو ولت، نرخ تغذیه ۰/۶ میلی‌لیتر بر ساعت، فاصله نازل تا جمع‌کننده(جمع‌کننده متحرک) ۱۵ سانتی‌متر، سرعت حرکت جمع‌کننده ۳۰۰ دور بر دقیقه و سرعت حرکت رفت و برگشتی کلکتور ۵۰ میلی‌متر در دقیقه. به منظور آبدوست کردن و تغییر ویژگی‌های سطحی جهت چسبندگی و اتصال بهتر سلول‌ها، عملیات پلاسما(آلمان، Diener-NNO) با گاز اکسیژن تحت فشار ۰/۴ بار و به مدت ۴ دقیقه انجام شد.

ساخت نانوذرات شیشه زیست فعال ۴۵S۵ (BGn):

برای ساخت شیشه زیست فعال ۴۵S۵ ، ۲۲/۰۷ گرم Sio_2 و ۵/۸۸ گرم P_2O_5 ، ۲۱/۴۵ گرم $CaCo_3$ (آلمان، مِرک) و ۲۰/۶ گرم $NaCO_3$ (آلمان، مِرک) با هم مخلوط و سپس توسط هاون عقیق، آسیاب گردید. در ادامه با استفاده از ظرف پلی‌اتیلنی دربدار با چند عدد گلوله پلی‌اتیلنی مجدداً مخلوط کردن مواد کامل‌تر انجام شد. مواد فوق با استفاده از دستگاه پرس(ایران، تأسیسات صارم، T-35) به شکل قرص‌های دایره‌ای با قطر ۱۰ میلی‌متر، پرس گردید. قرص‌های حاصل درون کوره(ایران، تأسیسات صارم، T-35) قرار داده شد. تغییرات دمایی کوره بدین صورت انجام شد: ابتدا افزایش دما تا ۸۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰ درجه در دقیقه و ماندن در دمای فوق به مدت ۲/۵ ساعت و مجدداً افزایش دما از ۹۰۰ به ۱۴۰۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ ۱۰ درجه در دقیقه و قرار دادن در دمای ۱۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت. پس از عملیات مذاب، مواد ذوب شده حاصل از کوره خارج و درون آب مقطر کوینچ شدند. شیشه حاصل در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت با آون خشک گردید.

در ادامه، شیشه ساخته شده طی چند مرحله و در مجموع به مدت ۱۰۰ ساعت با استفاده از آسیاب سیاره‌ای با کاپ زیرکونیا(Petch PM400) به ساختار در مقیاس نانو تبدیل گردید. به منظور اطمینان از سایز اندازه ذرات در مقیاس نانو، از DLS استفاده شد، نتایج آن نیز ساختار نانویی، کمتر از ۷۰۰ نانومتر را تایید کرد.

ساخت نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید/نانو ذرات شیشه زیست فعال آسیاب شده(PLLA/BGn):

در این مرحله، نانو الیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید به شکل دایره پانچ و درون پلیت کشت سلول قرار داده شد. نانو ذرات شیشه زیست فعال در آب مقطر(با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) غوطه‌ور و با دستگاه اولترا سونیک (آلمان، hielscher ، UP400S) و فرکانس ۹۰ مگا هرتز به مدت ۲۰ دقیقه سونیکیت شد. نانوذرات سونیکیت شده به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به آرامی بر روی تمامی قسمت‌های نانوالیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید به طور یکنواخت پوشش داده و خشک گردید.

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی:

به منظور مطالعه مورفولوژی نانوداربست کامپوزیتی، آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی(کره جنوبی، سرون تکنولوژیس) با ولتاژ ۲۰ کیلوولت، انجام شد. نمونه‌ها قبل از انجام آزمایش پوشش طلا داده شدند.

آزمون پراش پرتو ایکس:

برای بررسی ساختار فازی، آزمون پراش پرتو ایکس (آلمان، Unisantis-Xmd 300)(XRD) در محدوده زاویه بین ۱۰ الی ۹۰ درجه سانتی‌گراد با ولتاژ ۴۵ کیلو ولت و جریان ۱میلی‌آمپر با کاتد مس صورت گرفت.

کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی:

قبل از انجام کشت سلول، نمونه‌ها در اتانول ۷۰٪ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و پس از آن با محلول فسفات بافر سالین شستشو داده به مدت ۲۰ دقیقه نیز تحت اشعه فرابنفش قرار گرفتند. جهت اطمینان از عدم وجود آلودگی میکروبی، تمامی چاهک‌ها و نمونه‌های استریل شده به مدت ۲۴ ساعت درون محیط کشت غنی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

شده از سرم جنین گاوی قرار گرفتند تا آلودگی احتمالی مشخص گردد. جهت انجام آزمایش‌های سلولی، ۳×۱۰^{۴} هزار سلول بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسان بر روی تمامی چاهک‌های حاوی نمونه ریخته و ۳۰۰ میکرولیتر محیط کشت اضافه گردید. محیط کشت حاوی ۴۵ میلی‌لیتر محیط با گلوکز بالا(DMEM-h)، ۱۰ میلی‌لیتر محلول سرم جنین گاوی (FBS) و ۵۰۰ میکرولیتر پنی‌سیلین/استرپتومایسین(آلمان، جیبکو) ۱٪ بود و هر روز یک بار تعویض گردید. برای نمونه کنترل، سلول‌ها در کف پلیت کشت سلول کشت شدند.

آزمون MTT:

این آزمون در بازه‌های زمانی ۱، ۳، ۵ و ۷ روز ارزیابی گردید. پس از اتمام هر دوره، چاهک‌ها با فسفات بافر سالین شستشو داده و ۵۰ میکرولیتر محلولMTT (آمریکا، سیگما آلدریچ)(۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط کشت پایه) به هر چاهک اضافه و به مدت۳ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد. پس از تشکیل بلورهای فارمازان، ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید(DMSO)(آمریکا، سیگما آلدریچ) جهت حل کردن بلورهای فارمازان اضافه شد. بعد از حل شدن کامل بلورها، میزان جذب محلول بنفش رنگ به دست آمده در طول موج ۵۷۰ نانومتر، به وسیله دستگاه الایزا ریدر(اتریش، Sunrise-basic) اندازه‌گیری شد.

آزمون آکریدین اورنج:

قابلیت زنده ماندن سلول‌ها بعد از ۱، ۳ و ۵ روز کشت با استفاده از رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج سلول مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش، محلول رنگ‌آمیزی فلورسنت به مقدار ۱ میکرولیتر اتیدیوم بروماید(آمریکا، سیگما آلدریچ) حاوی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محلول آکریدین اورنج(آمریکا، سیگما آلدریچ) به هر چاهک اضافه و بعد از ۲۰ دقیقه با محلول فسفات بافر سالین شستشو داده شد. با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت (Leica ، آلمان) از سلول‌های رنگ شده با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ میکرومتر تصویربرداری شد.

تمایز استخوانی:

جهت بررسی تمایز استخوانی، محیط کشت پایه با محیط تمایزی حاوی فاکتورهای تمایز استخوانی تعویض شد. محیط تمایزی حاوی ۴۵ میلی‌لیتر محیط کشت (DMEM-h)، ۱۰ میلی‌لیتر سرم جنین گاوی(FBS) و ۵۰۰ میکرولیتر بتاگلیسرول، ۵۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید و ۵۰ میکرولیتر دگزامتازون(آمریکا، سیگما آلدریچ) بود و هر ۲ روز تعویض گردید.

ارزیابی فعالیت آلکالین فسفاتاز(ALP):

فعالیت آلکالین فسفاتاز در فواصل زمانی ۷ و۱۴ روز مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا کل پروتئین سلول‌ها با استفاده از ۳۰۰ میکرولیتر محلول ریپا استخراج و به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردید. برای جدا کردن پروتئین‌ها از بقایای سلول‌ها، این محلول به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر کیت آلکالین فسفاتاز(ایران، پارس آزمون) با نسبت محلول $\frac{R1=4}{R2=1}$ به ۵۰ میکرولیتر هر نمونه اضافه و در طول موج ۴۵۰ نانومتر، مقدار فعالیت آلکالین فسفاتاز آن‌ها اندازه‌گیری شد.

بررسی مورفولوژی سلول‌های تمایز یافته:

مورفولوژی و اتصال سلول‌ها بر روی سطح نمونه فیبری نانوداربست کامپوزیتی پس از ۱۴ روز تمایز مورد بررسی قرار گرفت. پس از اتمام دوره، ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۲/۵٪ وزنیگلوتارآلدهید افزوده و به مدت ۳ ساعت در دمای محیط انکوبه شد. سپس با بافر فسفات سالین شستشو و پس از تثبیت سلولی، در محلول آبی اتانول با غلظت‌های ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته و دهیدراته شدند. در نهایت، نمونه‌ها کاملاً خشک شدند و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، مورفولوژی و رفتار آن‌ها مشاهده شد.

آنالیز آماری:

در این پژوهش، تمامی آزمایش‌ها برای هر نمونه، ۴ بار تکرار گردید و میانگین نتایج به صورت ± انحراف

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

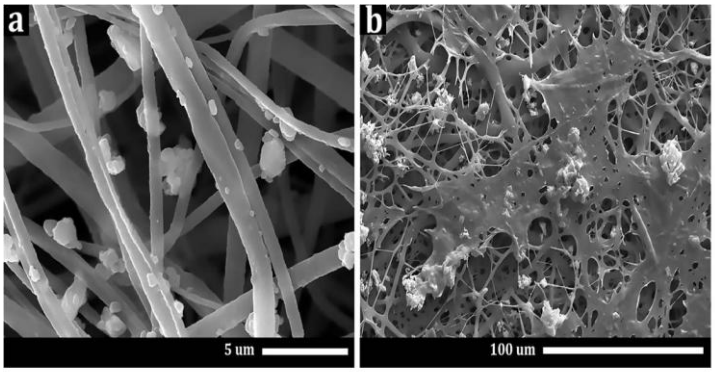
معیار گزارش شد. نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ برای تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه جهت تعیین میزان معنادار بودن مورد استفاده قرار گرفت. $p< ۰/۰۵$ مرز معنادار بودن تغییرات در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل مایکروسافت آفیس ۲۰۱۰ استفاده شد.

یافته‌ها

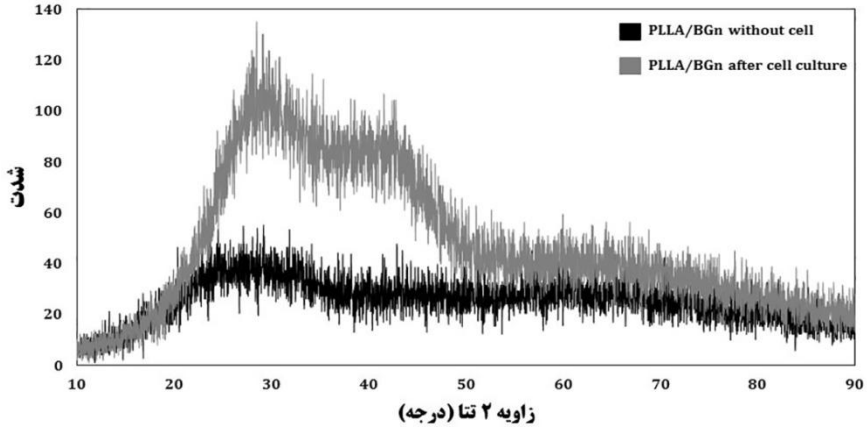
بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی:

مورفولوژی نانوداربست کامپوزیتی قبل کشت سلول و پس از ۱۴روز تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در شکل ۱ نشان داده شده است.

در شکل ۱ (a) نانو ذرات شیشه به خوبی بر روی نانوالیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید پوشش داده شده است و شباهت بالای ساختار کامپوزیت به ماتریس خارج سلولی طبیعی نمایان بود. شکل ۱ (b) پس از ۱۴ روز تمایز استخوانی، سلول‌ها دارای تراکم مناسب و شکل سه بعدی داشته و علاوه بر آن هم از چسبندگی مناسبی با ماتریکس نانوداربست کامپوزیتی برخوردار بودند. نتایج حاکی از آن بود که نانوداربست کامپوزیتی رفتار سلولی مناسب داشته و با توجه به شباهت ماتریس خارج سلولی طبیعی، این انتظار هم وجود داشت.



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی :a) نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید/شیشه زیست فعال ۴۵S۵(PLLA/BGn) قبل از کشت سلول، b) مورفولوژی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تمایز یافته پس از ۱۴ روز بر روی نانوداربست کامپوزیتی



شکل ۲: الگوی پراش پرتو ایکس نانوداربست. نتیجه حاصل از بررسی پرتو ایکس نانو داربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال ۴۵S۵ (PLLA/BGn) قبل از کشت سلول و پس از ۱۴ روز تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

پراش پرتو ایکس:

الگوی پراش پرتوایکس نانوداربست کامپوزیتی ساخته شده قبل از کشت سلول و پس از ۱۴روز تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در شکل نشان داده شده است (شکل ۲). طبق الگوی نانوداربست کامپوزیتی قبل از کشت سلول، ساختاری فازی کاملاً آمورف و غیر بلورین بود و پیک‌های مربوط به شیشه زیست فعال و پلی‌ال‌لاکتیک اسید، باهم هم‌پوشانی داده‌اند. لازم به ذکر است پیک‌ها در محدوده زاویه ۳۵-۲۰ درجه، از شدت بیشتری برخوردارند که می‌توان گفت این مربوط به پلی‌ال‌لاکتیک اسید و شیشه زیست فعال است. اما در الگو نانوداربست کامپوزیتی پس از تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی، شدت پیک‌ها در زاویه ۵۰ -۲۰ درجه افزایش پیدا کرد.

ارزیابی اندازه ذرات شیشه زیست فعال ساخته شده:

میانگین اندازه ذرات شیشه زیست فعال ۴۵S۵ ، کمتر از ۷۰۰ نانومتر بوده و ساختار کاملاً در مقیاس نانو بود(نمودار ۱). پودر نانومتری شیشه به دلیل نسبت سطح به حجم بالا و انرژی سطحی بالا باعث تسریع برهمکنش بافت با پودر شده و خواص زیست سازگاری و انحلال‌پذیری بهینه‌ای دارد.

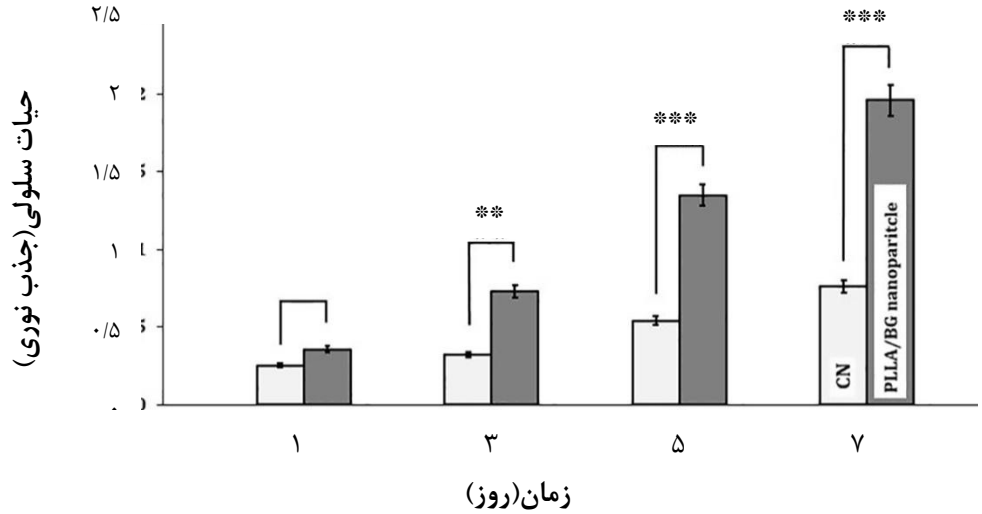
ارزیابی MTT:

طبق نتایج این آزمون، بیشترین حیات سلول‌های بنیادی مزانشیمی در همه بازه‌های زمانی مربوط به نمونه نانوداربست کامپوزیتی بود که این از عدم سمیت نمونه نانوداربست کامپوزیتی حکایت دارد(نمودار ۲). میزان حیات سلولی نانوداربست کامپوزیتی در فواصل زمانی ۱، ۳، ۵ و ۷ به ترتیب(۰/۰۶ ±۰/۳۵۶) (۰/۱±۰/۷۳) (۰/۱۶±۱/۳۵) و (۰/۲±۱/۹۶) بیان شد که روند افزایشی داشت. در نمونه کنترل نیز به ترتیب فواصل زمانی مقدار آن(۰/۰۴±۰/۲۵)(۰/۰۵±۰/۳۲)(۰/۰۷±۰/۵۴)و(۰/۰۸±۰/۷۶) بیان شد. با توجه به نتایج، تفاوت معناداری وجود داشت($p< ۰/۰۵$). نتایج بیان کرد که رشد سلول‌ها هرگز شبیه سلول‌های توموری نبوده است زیرا نرخ رشد سلول‌ها پس از آن که تجمع سلولی به بیشترین مقدار خود رسید، متعادل و نزدیک به هم شد.

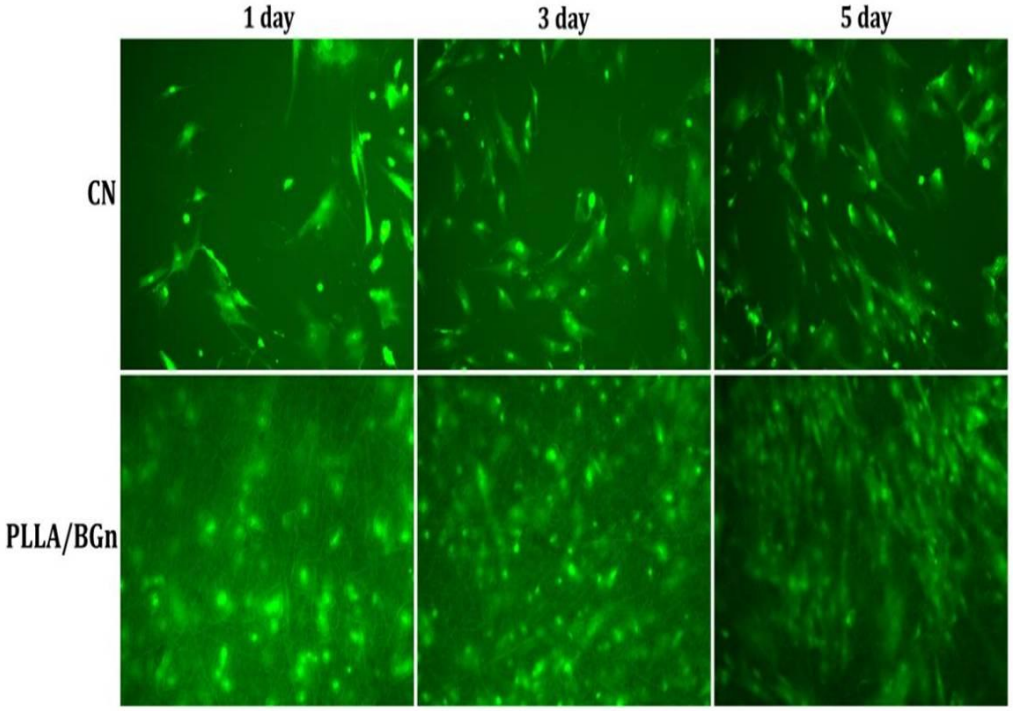


نمودار ۱: بررسی قطر نانو ذرات به روش DLS: تصویر نشانگر اندازه دانه‌های نانو ذرات شیشه زیست فعال ساخته شده با آسیاب سیاره‌ای به روش DLS را نمایش می‌دهد. میانگین اندازه ذرات کمتر از ۷۰۰ نانومتر بوده و ساختار کاملاً در مقیاس نانو است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

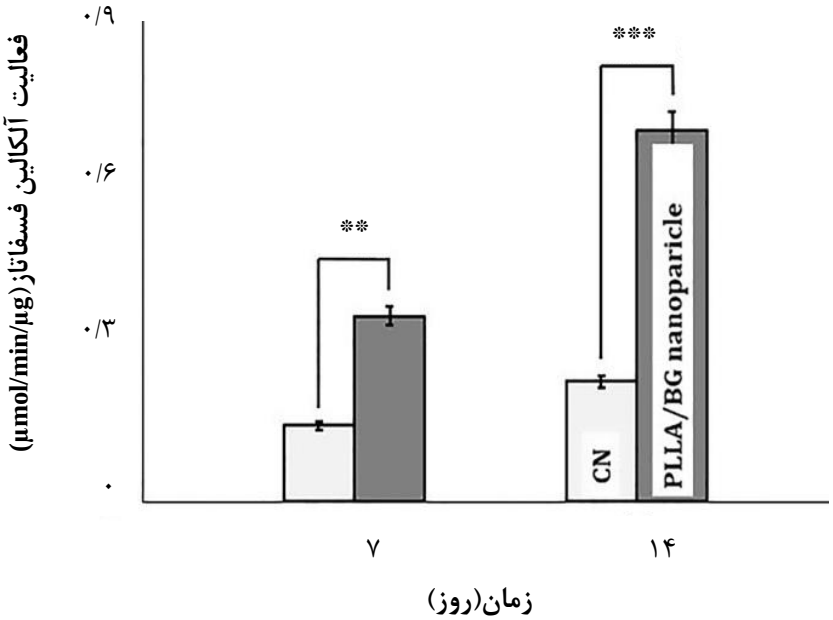


نمودار ۲: ارزیابی زنده‌مانی و تکثیر سلول‌ها بر روی نانوداربست: نتایج آزمایش MTT پس از ۱، ۳، ۵، ۷ روز کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه(PLLA/BGn) و نمونه کنترل. میزان زنده‌مانی و تکثیر سلول‌ها بر روی داربست حاوی نانو ذرات شیشه(PLLA/BGn) به صورت معنادار بالاتر از کنترل می‌باشد(۰/۰۰۱ >p * و ۰/۰۱ >p **).**



شکل ۳: ارزیابی بقای سلول‌ها بر روی داربست با استفاده از آزمایش آکریدین اورنج: تصاویر آزمایش آکریدین اورنج از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه(PLLA/BGn) و نمونه کنترل پس از ۱، ۳ و ۵ روز کشت سلول

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]



شکل ۴: آزمایش آلکالین فسفاتاز: فعالیت آلکالین فسفاتاز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان پس از ۷ و ۱۴ روز تمایز استخوانی بر روی نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه(PLLA/BGn) و نمونه کنترل(۰/۰۰۱ >p* و ۰/۰۱ >p**).**

بررسی تصاویر آکریدین اورنج:

در آزمون آکریدین اورنج، سلول‌هایی که مرده‌اند رنگ آکریدین اورنج را از خود عبور داده و دارای هسته و سیتوپلاسم قرمز یا نارنجی هستند و اما در صورتی که هسته و سیتوپلاسم کاملاً سبز باشند، سلول‌ها زنده‌اند (شکل ۳). مطابق تصاویر، مرگ سلولی رخ نداده و هسته و سیتوپلاسم سلول‌ها کاملاً سبز بود. تصاویر تایید کرد که رشد و تکثیر سلول‌ها در نانوداربست کامپوزیتی نسبت به دیگر چاهک‌های فاقد آن رشد بیشتری داشته است. نانوداربست کامپوزیتی با ایجاد فضای سه بعدی مناسب و زبری سطح بیشتر نسبت به نمونه کنترل، باعث افزایش قابل ملاحظه رشد سلول‌ها شد. این تکثیر و رشد در تمام دوره‌ها به همین ترتیب بود.

بررسی فعالیت آلکالین فسفاتاز:

فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز به عنوان یک مارکر اولیه فنوتیپ سلول‌های استخوانی در شکل نشان داده شده است(شکل ۴). مقدار فعالیت آلکالین فسفاتاز نانوداربست کامپوزیتی و نمونه کنترل به ترتیب در روز ۷ تمایز استخوانی، ۰/۰۱ ± ۰/۲۲ و ۰/۰۰۷ ± ۰/۱۴ اندازه‌گیری شد که این مقدار نشان‌دهنده تمایز بیشتر سلول‌ها بر روی نانوداربست کامپوزیتی بود. علاوه بر آن در روز ۱۴ تمایز، نانوداربست کامپوزیتی از سطح بالاتری برخوردار است، به طوری که مقدار فعالیت آن ۰/۰۳ ± ۰/۶۸ ولی نمونه کنترل ۰/۰۱ ± ۰/۳۴ بود.

بحث

در این پژوهش، نانوالیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید با استفاده از روش الکتروریسی ساخته و سپس نانوذرات شیشه زیست فعال ۴۵S۵(BGn) بر روی آن پوشش داده شد. نانو ذرات شیشه زیست فعال به روش ذوبی و با آسیاب سیاره‌ای ساخته شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و الگو پراش پرتو ایکس به ترتیب: مورفولوژی و ساختار فلزی مربوط به نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال ۴۵S۵ (PLLA/BGn)، را تایید کرد. نتایج آزمایش‌های سلولی صورت گرفته از قبیل: MTT ، آکریدین اورنج، آلکالین فسفاتاز و میکروسکوپ الکترونی رویشی، حاکی از عدم سمیت و تاثیر بالقوه این نانوداربست کامپوزیتی در

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

رشد و تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بود.

تاکنون تحقیقات زیادی بر روی داربست‌های پلیمری تقویت شده با شیشه زیست فعال(BG) توسط محققان صورت گرفته است. لیو و همکاران، نانوکامپوزیت پلی‌ال‌لاکتیک اسید/ شیشه زیست فعال(wt ٪۲۰ PLIA/BG) را سنتز کردند. در این بررسی شیشه زیست فعال (BG) به روش سل- ژل ساخته شد و اندازه ذرات حدود ۴۰ نانومتر بود. بر اساس نتایج به دست آمده، نانوکامپوزیت ساخته شده نسبت به پلی‌ال‌لاکتیک اسید خالص، بسیار زیست سازگارتر است و بر پیوستگی و رشد سلول‌ها تاثیر مثبت گذاشته است(۲۰). یو و همکاران، داربست پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید حاوی ۳۰٪ وزنی شیشه زیست فعال(PLGA- ٪۳۰ BG) با ساختار میکرو و متخلخل را ساختند. کامپوزیت ساخته شده به عنوان یک ماده جایگزین استخوان، توانایی بالقوه‌ای برای رشد سلول‌های استرومائیدی مغز استخوان به سلول‌های استئوبلاست را به وجود آورده است(۲۱). سلیمی و همکاران داربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید تقویت شده با الیاف شیشه زیست فعال تهیه شده(PLLA/BGf) به روش سل ژل و الکتروریسی ساخته‌اند. نتایج این تحقیق نشان داد که پوشش الیاف شیشه زیست فعال در بستر پلی‌ال‌لاکتیک اسید، اثر بالقوه‌ای بر رشد و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی دارد(۳). فرناندز و همکاران، از شیشه زیست فعال استرونیوم بروسیلیکات جهت تقویت غشاء پلیمر پلی‌ال‌لاکتیک اسید الکتروریسی شده(PLLA-BBG-Sr) استفاده کردند. نتایج این پژوهش نشان داد که شیشه زیست فعال استرونیوم بروسیلیکات(BBG-Sr) در ماتریس پلیمری، باعث بهبود خواص مکانیکی و افزایش رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌شود(۲۲). در تحقیقاتی دیگر، نانوالیاف کامپوزیت پلی‌لاکتیک اسید با پُر کننده شیشه زیست فعال(BG) ساخته شد. نتایج نشان داد که نانوکامپوزیت فوق باعث تشکیل بیشتر هیدروکسی آپاتیت در مایع شبیه‌سازی شده بدن می‌شود، علاوه بر آن رشد سلول‌های استئوبلاست افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است(۲۳).

از این جهت، با توجه به مطالعه‌های قبلی، نانوذارت شیشه زیست فعال جهت افزایش قابلیت استخوان‌سازی بر روی بستر فیبری نانوالیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید پوشش داده و رفتار سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان بر روی نانوداربست کامپوزیتی ساخته شده مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ظرفیت، تمایز استخوانی بالقوه دارند، بنابراین یک مدل منحصر به فرد برای درک بهتر درمان بالینی مرتبط با استخوان ارائه می‌دهد(۲۴).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ساختار نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید، حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال سنتز شده(PLLA/BGn)، کاملاً در مقیاس نانو است. هم چنین نانو ذرات شیشه زیست فعال ساخته شده به خوبی و به طور یکنواخت بر روی نانو الیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید توزیع شده و از پیوند مناسبی برخوردار است. باید به این نکته اشاره کرد که هر چه توزیع یکنواخت‌تر باشد، چسبندگی سلول‌ها و زیست فعالی بهتر خواهد بود و از طرفی هر چه قدر ساختار داربست به شبکه نانوفیبری ماتریس خارج سلولی طبیعی نزدیک‌تر باشد، در ایجاد رفتار مناسب از سلول موفق‌تر است. اندازه دانه‌های شیشه زیست فعال ساخته شده به علت این که در مقیاس نانو می‌باشد، می‌تواند تعداد محل‌های اتصال سلول به سطح و تعامل الکترواستاتیک بین پروتئین‌ها را افزایش دهد. در نتیجه افزایش جذب پروتئین، نسبت بالای سطح به حجم نانو ذرات شیشه زیست فعال (BGn)، می‌تواند دلایل اولیه رشد سلول را بهبود بخشد، از طرفی چسبندگی مولکول‌های کلاژن سریع‌تر صورت می‌گیرد و باعث رشد بلورهای هیدروکسی آپاتیت می‌شود. نانو ذرات شیشه زیست فعال به دلیل آن که سطح ویژه و واکنش‌پذیری بالایی دارد، منجر به انتشار سریع یون‌های زیست فعال از قبیل کلسیم و سیلیسیم می‌شود که باعث جذب، تکثیر، تمایز و کانی‌سازی سلول‌ها می‌گردند(۲۶، ۲۵). نانو داربست کامپوزیتی فوق، با ایجاد محیطی زبر و با ساختارهای نانو و تخلخل‌های متصل به هم، برای تحریک سلول‌ها و سازماندهی مناسب مجدد آن‌ها به عنوان الگویی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

برای چسبندگی و رشد سلول‌ها عمل می‌کند، علاوه بر آن سبب تسهیل در انتقال مواد غذایی و متابولیسم سلولی می‌گردد. چرا که هر چه سطح زبرتر باشد، چسبندگی، مهاجرت سلولی، تکثیر و تمایز سلول افزایش می‌یابد(۲۸، ۲۷). یافته‌های ما و دیگر محققین نشان داد که با وجود این که اندازه سلول حدود چند میکرومتر است، اما قادر به حس ساختار نانویی سطح است. به همین علت، سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی سطح متخلخل نانوداربست کامپوزیتی بر روی شیارهای نانو مقیاس، رشد کرده‌اند(۳۰، ۲۹).

الگوی پراش پرتو ایکس نانوداربست کامپوزیتی ساخته شده، ساختاری فازی کاملاً آمورف و غیر بلورین را نشان داد که حاکی از آمورف بودن نانو ذرات شیشه زیست فعال و هم چنین پلی‌ال‌لاکتیک اسید بود که در الگو، با هم همپوشانی رخ داده است. این مطلب با تحقیقات صورت گرفته بر روی پیک‌های شیشه زیست فعال و پلی‌ال‌لاکتیک اسید هم‌خوانی داشت(۳۲، ۳۱). ساختار آمورف عموماً محلول‌تر و واکنش‌پذیرتر از ساختار کریستالی است، در نتیجه سرعت فرآیند تشکیل آپاتیت و افزایش قابلیت زیست فعالی و زیست سازگاری را افزایش می‌دهد(۳۵-۳۳). تصاویر میکروسکوپی و نتایج آزمون DLS تایید کرد که تبدیل ساختار میکرو شیشه زیست فعال به ساختاری در مقیاس نانو با استفاده از فرآیند آسیاب سیاره‌ای امکان‌پذیر است. استفاده از این نوع نانو ذرات شیشه به واسطه افزایش نسبت سطح به حجم و یون‌های زیست فعال، سبب واکنش‌پذیری بهتر این نوع فاز در تکثیر و تمایز سلول‌ها خواهد شد. نتایج مطالعه‌ها ثابت کرده که هر چه اندازه ذرات شیشه زیست فعال ریزتر باشد، تاثیر به‌سزایی در رشد و تمایز سلول‌ها خواهد داشت(۳۶).

نتایج آزمون‌های آکریدین اورنج و MTT نیز حاکی از آن بود که سلول‌ها بر روی نانوداربست کامپوزیتی به طور معناداری رشد پیدا کرده بودند و هیچ گونه سمیتی ندارد($p< ۰/۰۵$). فراهم شدن یک بستر مناسب جهت رشد و تکثیر سلول‌ها، مهم‌ترین و مؤثرترین دلیل افزایش رشد سلول‌ها بر روی نانو کامپوزیت بود. پاسخ‌های سلولی به ماده زیست فعال نه تنها به مورفولوژی سطح بلکه به ترکیب شیمیایی ماده نیز بستگی دارد که این عوامل نقش به سزایی در تعیین برهم کنش سلول- ماده به واسطه رهایش میزان یون‌های موجود در ماده دارد(۳۸، ۳۷). نانو ذرات شیشه در بستر پلی‌ال‌لاکتیک اسید در عرض چند ثانیه پس از غوطه‌ور شدن درون محیط کشت، تبادل یونی انجام می‌دهند و زوائدی بر روی سطح تشکیل می‌شود. سپس انحلال شبکه شیشه و رسوب دوباره و رشد لایه سیلیس ژل بر روی سطح رخ می‌دهد و به مرور لایه بلوری هیدروکسی آپاتیت کربنات بر روی سطح شیشه تشکیل می‌شود. هم‌زمان با رشد این لایه‌ها، پروتئین‌های خارج سلولی در این لایه گیر می‌افتند و واکنش‌های بعدی سلولی را باعث می‌شوند که شامل چسبندگی، تکثیر و تمایز سلولی می‌باشد(۳۹).

بررسی تمایز استخوانی نیز نشان داد که فعالیت آلکالین فسفاتاز نانو داربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال نسبت به نمونه کنترل افزایش پیدا کرد. بالاتر بودن این مقدار در نانوکامپوزیت، نشان‌دهنده اثر تحریکی نانوذرات شیشه موجود در بستر پلی‌ال‌لاکتیک اسید، در تمایز استخوانی سلول های بنیادی مزانشیمی است. افزایش فعالیت را می‌توان به حضور اکسید سیلیسیم در شیشه زیست فعال(که به عنوان عامل ایجادکننده شبکه و هم‌چنین پیکربندی سه بعدی داربست کامپوزیتی PLLA/BGn عمل می‌کند) نسبت داد. گروه‌های سیلانول(Si-OH) منجر به مبادله یونی بین یون کلسیم(Ca_2) آزاد شده از BG زیست فعال و هیدرومون(H_3O) در محلول‌ها می‌شوند که حساسیت زیادی برای جوانه زنی فسفات کلسیم دارند (۴۱، ۴۰). حضور سیلیسیم آزاد شده توسط ترکیب شیشه به محیط کشت سلولی می‌تواند فعالیت سلولی را افزایش دهد. اکسید فسفر هم‌چنین جوانه زنی فسفر کلسیم فسفات را در سطح شیشه‌ای کمک می‌کند. علاوه بر این، افزایش جذب سلولی از کلسیم ناشی از افزایش حساسیت کانال باعث ایجاد کلسیم داخل سلولی است، الگوی پراش پرتو ایکس نیز وجود سلول‌های استخوانی را در بستر نانوداربست کامپوزیتی تایید کرد. این آزمایش ثابت کرد که سلول‌های تمایز یافته کاملاً استخوانی بوده و سلول‌های توموری نیستند. تصویر میکروسکوپی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

مورفولوژی سلول‌ها نیز، چسبندگی مناسب سلول بر روی نانو کامپوزیت را نشان داد. مطابق تصاویر، سلول‌ها به خوبی به سطح چسبیده و پخش شده‌اند و توانسته‌اند پاهای دروغین با مورفولوژی چند وجهی ایجاد نمایند. بنابراین هر چه اتصال و چسبندگی سلول‌ها بالا باشد می‌توان گفت که قابلیت زیست سازگاری، هدایت و رشد استخوان از کیفیت مطلوبتری برخوردار خواهد بود. همان طور که دیده شد، سلول‌ها رد پاهایی از ماتریس خارج سلولی از خود به جا گذاشته‌اند. اصولاً جهت بررسی درجه زیست سازگاری، برای تکثیر سلولی و اتصال، چهار مرحله درنظر گرفته می‌شود که عبارتند از: مرحله چسبیدن یا اتصال، مرحله ظاهر شدن پاهای دروغین، مرحله شبکه‌ای شدن و مرحله پهن شدن سلول. مطابق با مشاهدات، نانوکامپوزیت حاضر از نقطه نظر زیست سازگاری در وضعیت درجه چهارم است(۳۸، ۳۷).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال ۴۵S۵ (PLLA/BGn) ساخته شد. نتایج این پژوهش نشان داد که داربست کامپوزیتی فوق، کاملاً در مقیاس نانو بوده و ساختار آمورف دارد. بررسی‌ها مشخص کرد که نانو ذرات شیشه(BGn) به طور یکنواخت بر روی نانوالیاف پلی‌ال‌لاکتیک اسید توزیع شده بود. آزمایش‌های سلولی صورت گرفته از رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی نانوداربست کامپوزیتی اشاره داشت. علاوه بر آن، تمایز سلول‌های مزانشیمی به سلول‌های استخوانی بر روی بستر ساخته شده، به طور معناداری نسبت به نمونه کنترل بالاتر بود. بنابراین نانوداربست کامپوزیتی پلی‌ال‌لاکتیک اسید حاوی نانو ذرات شیشه زیست فعال ساخته شده(PLLA/BGn)، علاوه بر آن که هیچ‌گونه سمیتی نداشته، بلکه باعث تحریک و القای رشد سلول‌ها و هم چنین باعث افزایش تمایز استخوانی نیز می‌شود. با انجام تحقیقات بیشتر بر روی این نانوداربست کامپوزیتی ساخته شده در محیط درون تنی(*In Vivo*)، می‌توان مسیر استفاده از این بستر را در ترمیم طب ترمیمی هموارتر ساخت و در کاربردهای مربوط به بازسازی بافت استخوان استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این پروژه در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله(عج) به انجام رسیده است. از صندوق حمایت از پژوهشگران کشور و ستاد نانوتکنولوژی جهت حمایت در انجام پروژه نهایت قدردانی و تشکر به عمل می‌آید.

References:

1- Aixue L, Zhongkui H, Xiuli Z, Xuesi C, Yang C, Yi L, *et al*. Surface modification of bioactive glass nanoparticles and the mechanical and biological properties of poly(L-lactide) composites. Acta Biomater 2008; 4(4): 1005-15.
2- Dinghua L, Wei Nie, Dejian Li, Weizhong Wang, Lixia Zheng, Jingtian Zhang, *et al*. 3D printed PCL/SrHA scaffold for enhanced bone regeneration.Chemical Engineering Journal 2019; 362: 269-79.
3- Shamsi M, Karimi M, Ghollasi M, Nezafati N, Shahrousvand M, Kamali M, *et al*. *In vitro* proliferation and differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into osteoblasts on nanocomposite scaffolds based on bioactive glass (64SiO2-31CaO-5P2O5)-polyl-lactic acid nanofibers fabricated by electrospinning method. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2017; 78: 114-23.
4- Karageorgiou V, Tomkins M, Fajardo R, Meinel L, Snyder B, Wade K, *et al*. Porous silk fibroin3-D scaffolds for delivery of bone morphogenetic protein-2 *in vitro* and *in vivo*. J Biomed Mater Res A 2006; 78(2): 324-34.
5- Kim SS, Ahn KM, Park MS, Lee JH, Choi CY, Kim BS. A poly (lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffold withenhanced osteoconductivity. J Biomed Mater Res A 2007; 80(1): 206-15.
6- Yi Fan G, Ammar ZA, MuhammadA, Mohammed Rafiq AK, Rafaqat H. In-vitro characterization of antibacterial bioactive glass containing ceria. Ceramics International 2014; 40: 729-37.
7- Nabian N, Jahanshahi M, Rabiee SM. Synthesis of nano bioactive glass-ceramicpowders and it's *in vitro*bioactivity study inbovine serum albumin protein. Molecular Structure 2011; 998: 37-41.
8- Yi Fan G, Ammar ZA, Muhammad A, Mohammed Rafiq AK, Rafaqat H. Synthesis, Characterization and *In vitro* Study of Magnetic Biphasic Calcium Sulphate-Bioactive Glass. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2015; 53: 29-35.
9- Fu-Yin H, Hsien-Wen H, Yu-Han C, Jing-Lun Y, LihRou R, Shiao-Wen T. Macroporous microbeads containing apatite-modifiedmesoporous bioactive glass nanofibres for bone tissue engineeringapplications.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2018; 89: 346-54.
10- Shie MY, Ding SJ, Chang HC. The role of silicon in osteoblast-like cellproliferation and apoptosis. Acta Biomater 2011; 7: 2604-14.
11- Moorth A, PariharPR, Saravanan S, Vairamani M, Selvamurugan N. Effects of silica and calcium levels in nanobioglass ceramic particles on osteoblastproliferation. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2014; 43: 458-64.
12- Sharma K, Kedia S, Singh AK, Basak CB, Chauhan AK, Basu S, *et al*. Morphology and structural studies of laser treated 45S5 bioactive glass. J Non-Cryst. Solids 2016; 440: 43-8.
13- Cui Xu, Yadong Zh, Wang H, Gu Y, Li L, Zou J, *et al*. An injectable borate bioactive glass cement for bone repair: preparation, bioactivity and setting mechanism. J Non-Cryst Solids 2016; 432: 150-7.
14- Sriranganathan D, Chen X, Hing KA, Kanwal N, Hill RB. The effect of the incorporation of fluoride into strontium containing bioactive glasses. J Non-Cryst Solids 2017; 457: 25-30.
15- Romero-Gavilán F. Control of the degradation of silica sol-gel hybrid coatings for metal implants prepared by the triple combination of alkoxysilanes. J Non-Cryst Solids 2016; 453: 66-73.
16- Zhang K,Wang Y, Hillmyer MA, Francis LF. Processing and properties of porous poly(l-lactide)/bioactive glass composites. Biomaterials 2004; 25(13): 2489-500.
17- Hua Z, Ming J, PengZ, ChengZ, Long L. Preparation of poly-L-lactide/bioactive glass composite and evaluation of cytotoxicity *in vitro*.Transactions of Nonferrous Metals Society of China 2008; 18(5): 1151-6.
18- Liu A, Hong Z, Zhuang X, Chen X, Cui Y, Liu Y, *et al*. Surface modification of bioactive glass nanoparticles and the mechanical and biological properties of poly(L-lactide) composites. Acta Biomater 2008; 4(4): 1005-15.
19- Jaiswal AK, Chandra V, Bhonde RR. Mineralization of nanohydroxyapatite on electrospun poly(l-lactic acid)/gelatin by an alternate soaking process: A biomimetic scaffold for bone regeneration. Journal of Bioactive and Compatible Polymers 2012; 27(4): 356-74.
20- Yao J, Radin S, Leboy PS, Ducheyne P. The effect of bioactive glass content on synthesis and bioactivity of composite poly (lactic-co-glycolic acid)/bioactive glass substrate for tissue engineering. Biomaterials 2005; 26: 1935-43.
21- Liu A, Hong Z, Zhuang X, Chen X, Cui Y, Liu Y, *et al*. Surface modification of bioactive glass nanoparticles and the mechanical and biological properties of poly (L-lactide) composites. Acta Biomater 2008; 4: 1005-15.
22- João S. Reinforcement of Poly-L-lactic acid Electrospun Membranes with Strontium Borosilicate Bioactive Glasses for Bone Tissue Engineering. Acta Biomater 2016; 44: 168-77.
23- Noh KT, Lee HY, Shin US, Kim HW. Composite nanofiber of bioactive glass nanofiller incorporated poly (lactic acid) for bone regeneration. Mater Lett 2010; 64(7): 802-5.
24- Guan Z, Chen L, Li X, Cui Y, Liu R. Molecular mechanism of quercitrin on osteogenic differentiation and adipogenic differentiation of rat bone marrow stromal stem cells (rBMSCs). Chinese Herbal Medicines 2018; 10(2): 184-90.
25- Wang S, Gao X, Gong W, Zhang Z, Chen X, Dong Y. Odontogenic differentiation and dentin formation of dental pulp cells under nanobioactive glass induction. Acta Biomater 2014; 10(6): 2792-803.
26- Yu L, Li Y, Zhao K, Tang Y, Cheng Z, Chen J, *et al*. A Novel Injectable Calcium Phosphate Cement-Bioactive Glass Composite for Bone Regeneration, PLOS One 2013; 8(4): e62570.
27- Saha K, Keung AJ, Irwin EF, Li Y, Little L, Schaffer DV, *et al*. Substrate modulus directs neural stem cell behavior. Biophys J 2008; 95: 4426-38.
28- Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. Science 2005; 310: 1139-43.
29- Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. Cell 2006; 126: 677-89.
30- Shahrousvand M, Mohamad Sadeghi GM, Shahrousvand E, Ghollasi M, Salimi A. Superficial physicochemical properties of polyurethane biomaterials as osteogenic regulators in human mesenchymal stem cells fates. Colloids Surf B Biointerfaces 2017; 156: 292-304.
31- Thangaraju E, Srinivasan NT, Kumar R, Sehgal PK, Rajiv S. Fabrication of Electrospun Poly L-lactide and Curcumin Loaded Poly L-lactide Nanofibers for Drug Delivery. Fibers and Polymers 2012; 13(7): 823-30.
32- Himanshu T, Singh SP, Sampath KA, Prerna M, Ashish J. Studies on Preparation and Characterization of 45S5 Bioactive Glass Doped with (TiO2+ ZrO2) as Bioactive Ceramic Material. Bioceramics Development and Applications 2016; 6(1): 1-7.
33- Shalumon KT, Sowmya S, Sathish D, Chennazhi KP, Nair SP, Jayakumar R. Effect of incorporation of nanoscale bioactive glass and hydroxyapatite in PCL/ chitosan nanofibers for bone and periodontal tissue engineering. J Biomed Nanotechnol 2013; 9: 430-40.
34- Valenzuela F, Covarrubias C, Martinez C, Smith P, Diaz-Dosque M, Yazdani P. Preparation and bioactive properties of novel bone-repair bionanocomposites based on hydroxyapatite and bioactive glass nanoparticles. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2012; 100: 1672-82.
35- Mistry S, Kundu D, Datta S, Basu D. Effects of bioactive glass, hydroxyapatite and bioactive glass hydroxyapatite composite graft particles in the treatment of infrabony defects. J Indian Soc Periodontol 2012; 16: 241-6.
36- Kargozar S. When size matters: Biological response to strontium- and cobaltsubstituted bioactive glass particles. Materials Today: Proceedings 2018; 5: 15768-75.
37- Chou SY, ChangCM, Leduc PR. Composite polymer systems with control of local substrateelasticity and their effect on cytoskeletal and morphological characteristics of adherent cells. Biomaterials 2009; 30: 3136-42.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

38- Wu C, Zhu Y, Zheng R, Appleyard R, Howard A, Ramaswamy Y, *et al*. The effect of mesoporous bioactive glass on the physiochemical, biological and drug-release properties of poly (DL-lactide-co-glycolide) films. Biomater 2009; 30: 2199-208.
39- Li N, Jie Q, Zhu S, Wang R. A New Route to Prepare Macroporous Bioactive Sol Gel Glasse with High Mechanical Strength. Materials Letter 2004; 58: 2747-50.
40- Seeman E, Devogelaer JP, Lorenc R, Spector T, Brixen K, Balogh A, *et al*. Strontium ranelate reduces the risk of vertebral fractures in patients with osteopenia. J Bone Miner Res 2008; 23: 433-8.
41- Panzavolta S, Torricelli P, Sturba L, Bracci B, Giardino R, Bigi A. Setting properties and *in vitro* bioactivity of strontium-enriched gelatin–calcium phosphate bone cements. J. Biomed Mater Res A 2008; 84: 965-72.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2019;16 (3): 172-185

Original Article

Stem Cell Bone Differentiation on Polyol Lactic Acid Composite Nanoparticles Containing 45S5 Bioactive Glass Nanoparticles

Shams M.[1], Halabian R.[2], Karimi M.[1], Ghollasi M.[3], Salimi A.[4]

[1]Nanotechnology and Advanced Materials Institute, Materials and Energy Research Center(MERC), Karaj, Iran
[2]Applied Microbiology Research Center, Systems Biology and Poisonings Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3]Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[4]Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Now day, using of stem cells and nanoparticles in the differentiation of stem cells is considered as a therapeutic approach. The purpose of this study was to synthesize and characterize nanocomposite polyacrylic polycarboxylic acid containing nanoparticles of biologically active glass 45S5 crushed and assessment effect of this composite on the propagation and growth of bone marrow derived mesenchymal stem cells in the external environment.

Materials and Methods

In this experimental study, the bioactive glass nanoparticles were synthesized by planetary milling and coated on electrospun polyolactic acid nanofibers. The physicochemical and biological properties of the composite nanocarbon were evaluated by X-ray diffraction, scanning electron microscopy, MTT, acridine orange, and alkaline phosphatase assays.

Results

The physicochemical properties showed that the structure of synthesis bioactive glass and the lactic acid poly lactic acid fibers were completely nano size and the uniform distribution of nanoparticles was well placed on the fiber. The cell analysis demonstrated the significant increase proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells to bone cells.In the MTT assay, cell survival was expressed in the composite nanostructure after 7 days of cell culture (1.96 ± 0.2), while the control sample (0.76 ± 0.08).

Conclusions

According to the results of this study, the composite nanoscale composite is not cytotoxicity effects and has biocompatible. It is useful in bone tissue repair.

Key words: Nanocomposites, Stem Cells, Glass, Bone Marrow

Received: 10 Apr 2019
Accepted: 6 Jul 2019

Correspondence: Salimi A., PhD of Nanotechnology. Assistant Professor of Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences.
P.O.Box: 14359-44711, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 81263155; Fax: (+9821) 81263155
E-mail: *salimibio@gmail.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-13]