

بررسی اثر افزودن نانو ذرات تیتانیا بر خواص مکانیکی و قابلیت تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت سیمان کلسیم فسفاتی در محیط پلاسمای خون انسان

مریم محمدی^{۱*}، سعید حصارکی^۲، مسعود حافظی اردکانی^۲

^۱کارشناس ارشد، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی

^۲استادیار، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۱/۱۰/۲۷، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۲/۲/۳، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۲/۲/۴

چکیده سیمان‌های کلسیم فسفاتی به دلیل ویژگی‌های منحصر بفردشان جایگزین مناسبی برای بافت استخوان هستند اما استحکام مکانیکی کم، استفاده از آنها را به نواحی که نیازی به تحمل بار ندارد، محدود می‌کند. در تحقیق حاضر به منظور بهبود خواص مکانیکی سیمان‌های کلسیم فسفاتی، درصدهای مختلف نانو ذرات تیتانیا به ترکیب سیمان اضافه شد سپس نمونه‌ها برای زمانهای مشخص در پلاسمای خون انسان قرار داده شد و خواص مکانیکی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی‌های فازی با استفاده از پراش اشعه X و مطالعات ریزساختاری نیز با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام گردید. نتایج نشان داد افزودن نانو ذرات تیتانیا تاثیر مثبتی در استحکام فشاری اولیه سیمان داشته است. استحکام فشاری اولیه سیمان قبل از قرارگرفتن در محیط پلاسمای خون ۳/۱۲ MPa بود که با افزودن ۱۰٪ نانو ذرات تیتانیا به ۵/۵۴ MPa افزایش یافت. بعد از قرار گرفتن نمونه‌ها در پلاسمای خون نیز استحکام فشاری روند افزایشی را نشان داده است. آنالیز پرتوهای اشعه ایکس نشان داد، افزودن نانو ذرات تیتانیا هیچ گونه تاثیر بازدارنده‌ای در تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت نداشته است.

کلمات کلیدی: سیمان کلسیم فسفاتی، نانو ذرات تیتانیا، استحکام فشاری، پلاسمای خون انسان

Effect of adding nano-titania on mechanical properties and hydroxyapatite formation of calcium phosphate cement in human blood plasma

M. Mohamadi^{*1}, S. Hesaraki¹, M. Hafezi Ardakani¹

¹Nanotechnology and materials department Materials and Energy Research Centre
Tehran, Iran

Abstract Calcium phosphate cements have lots of advantages that make them proper choice for repairing bone defect, but their weak mechanical properties limit their usage in non-load bearing bone. In these research different percentages of nano-titania were added to the calcium phosphate cement and after soaking in human blood plasma their mechanical properties were investigated. X-ray pattern diffraction was used for phase analysis and investigating microstructure was done by scanning electronic microscopic (SEM). Before soaking, mechanical strength of cement sample was 3.12 MPa and by adding 10 wt. % nano-titania reached to 5.54 MPa and after soaking, adding nano-titania had positive effect on compressive strength. X-ray pattern diffraction showed adding nano-titania did not have any inhibition effect on hydroxyl apatite formation ability.

Keywords: Calcium phosphate cement, Nano-titania, Compressive strength, Human blood plasma.

*عهده‌دار مکاتبات

نشانی: پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج

تلفن: ۰۲۶-۳۶۲۰۴۱۳۲، دورنگار: ۰۲۶-۳۶۲۰۱۸۸۸، پیام نگار: 443mohamadi@gmail.com

۱- مقدمه

نقاطی که نیازی به تحمل بار نیست محدود می‌کند. تاکنون تلاش‌های زیادی در راستای برطرف کردن این مشکل انجام شده است [۷، ۸]. از جمله وارد کردن (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) در زمینه سیمان [۹] و یا وارد کردن الیاف پلی آمید تا ۱/۶٪ وزنی که به میزان کمی استحکام را بهبود بخشیده است [۱۰]. همچنین اضافه کردن الیاف قابل جذب پلی گلاکتین^۲ استحکام اولیه را افزایش داد [۱۱]. اضافه کردن الیاف کیتوسان^۳ و ژلاتین استحکام سیمان کلسیم فسفات را به میزان ۱۱۴٪ افزایش داد [۱۲]. امروزه نانو تکنولوژی روشهای جدیدی جهت تولید مواد با خواص مکانیکی و شیمیایی بهتر معرفی کرده است. نسل جدید کامپوزیت‌های سیمانی نانو ساختار، ویژگی‌های برجسته‌ای مانند استحکام مکانیکی بهتر، ماندگاری بیشتر و قابلیت خود ترمیمی برخوردار هستند [۱۳]. در تحقیق پیش رو استحکام مکانیکی و قابلیت تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت سیمان کلسیم فسفات در حضور نانو ذرات تیتانیا مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- نحوه انجام آزمایش

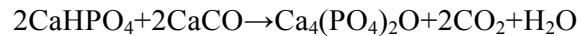
۲-۱- مواد

کربنات کلسیم (CaCO₃ No. 2069)، دی کلسیم فسفات دی هیدرات، (DCPA No. 2144) و سدیم دی هیدروژن فسفات (NaH₂PO₄ No. 1.06345.1000) از شرکت مرک آلمان تهیه شد. نانو تیتانیا با میانگین ذرات نانومتر ۲۵ از شرکت دگوسای آلمان تهیه شده است. تترا کلسیم فسفات از واکنش حالت جامد بین DCPA و CaCO₃ بوجود می‌آید. ترکیب فوق طبق معادله (۱) در دمای ۱۵۰۰°C به مدت ۶ ساعت حرارت داده شده است، سپس در دمای اتاق سرد شده و پودر میکرومتر ۱۰ تترا کلسیم فسفات پس از آسیاب و الک تهیه شده است [۱۴].

(معادله ۱)

به طور کلی سیمان‌های کلسیم فسفاتی از دو فاز جامد شامل یک یا چند کلسیم اورتوفسفات و یک فاز مایع که معمولاً یک محلول آبی است تشکیل شده‌اند [۱]. محصول واکنش گیرش سیمانهای کلسیم فسفاتی در بیشتر موارد هیدروکسی آپاتیت است که بدلیل تشکیل شدن در دمای بدن، دارای سطح ویژه بالا و بلورینگی کمی می‌باشد و بسیار مشابه هیدروکسی آپاتیت موجود در بافت استخوان است [۲]. واکنش گیرش طی مراحل فوق اشباع و رسوب گذاری تشکیل می‌شود و هیدروکسی آپاتیت رسوب کرده با میکروتخلخل‌های بهم پیوسته از لحاظ ساختاری بسیار مشابه آپاتیت بیولوژیک می‌باشد. سیمانهای کلسیم فسفاتی دارای مزایایی هستند که در مقایسه با سرامیک‌های بالک استفاده از آنها را آسانتر می‌سازد [۳، ۴]. همانطور که اشاره شد گیرش سیمان در دمای بدن اتفاق می‌افتد لذا قسمت صدمه دیده استخوانی با هر شکلی و به هر اندازه‌ای می‌تواند توسط سیمان پرشود به گونه‌ای که هیچ فاصله‌ای بین سیمان و بافت استخوانی اطرافش وجود نداشته باشد. در نتیجه سلولهای بدن به ویژه استئوبلاست‌ها^۱ می‌توانند در قسمت آسیب دیده مهاجرت کنند و بازسازی استخوان بدون هیچ وقفه- ای ادامه خواهد یافت [۵]. ویژگی دیگر سیمانهای کلسیم فسفاتی قابل تزریق بودن آنها است. استفاده از سرنگ جهت تزریق سیمان، صدمه کمتری به بافت در حال ترمیم وارد خواهد کرد در نتیجه بدن خون کمتری از دست خواهد داد، همچنین منجر به کوتاه‌تر شدن زمان بستری شدن در بیمارستان، و کوتاه‌تر شدن دوره نقاهت می‌شود. از سیمان‌های کلسیم فسفاتی می‌توان جهت سیستم رسانش دارو نیز استفاده کرد. دارو می‌تواند با فاز پودر سیمان مخلوط شده و در محل کاشت خمیر سیمان آزاد شود [۶].

علی رغم مزایای ذکر شده سیمانهای کلسیم فسفاتی استحکام مکانیکی کمی دارند که استفاده از آنها را به



جدول ۱. فرمول ترکیب سیمان به همراه درصدهای مختلف نانوذرات تیتانیا.

۲-۲-۳- اندازه گیری زمان گیرش

زمان گیرش اولیه و نهایی سیمان توسط سوزن گیلمور و طبق استاندارد ASTM C266-89 اندازه گیری شد. نمونه‌ها هنگامی گیرش کرده در نظر گرفته شدند که سوزن گیلمور اثری روی سطح آنها باقی نگذاشت.

Code	TTCP wt. %	DCPA wt. %	nano-TiO ₂ wt. %
TTCP-T0	73	27	-
TTCP-T2/5	73	27	2/5
TTCP-T5	73	27	5
TTCP-T10	73	27	10

۲-۲-۴- استحکام مکانیکی

خمیر سیمان در قالب های تفلونی استوانه‌ای با ابعاد میلی متر ۱۲ ارتفاع و میلی متر ۶ قطر شکل داده شدند پس از گیرش به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ °C و رطوبت ۱۰۰٪ قرار داده شدند. سپس استحکام مکانیکی نمونه‌ها قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون و پس از هر دوره قرار گرفتن در پلاسمای خون توسط دستگاه SANTAM STM-20 مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها پس از هر دوره بعد از خارج شدن از پلاسمای خون با آب مقطر شستشو شدند سپس استحکام مکانیکی تر آنها اندازه‌گیری شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- استحکام مکانیکی

شکل (۱) استحکام فشاری نمونه‌ها را در دوره‌های مختلف نشان می‌دهد. پیش از قرار گرفتن نمونه‌ها در

جهت تهیه سیمان پایه تتراکلسیم فسفات، TTCP و DCPA با نسبت ۱:۱ با هم مخلوط شده سپس طبق جدول (۱) نانوذرات تیتانیا با درصدهای مختلف به فاز پودر سیمان اضافه شده است. شایان ذکر است درصد افزودنی محاسبه واز میزان فاز پودر کاسته شده است. فاز مایع سیمان، محلول آبی ۳٪ NaH₂PO₄ می‌باشد. خمیر سیمان با اضافه کردن فاز مایع به پودر بانسبت مایع: پودر ۰/۳۳ (wt/wt) تهیه شد.

۲-۲- ارزیابی مشخصات

۲-۲-۱- تبدیل مواد اولیه سیمان به هیدروکسی آپاتیت در

پلاسمای خون انسان

خمیر سیمان در قالب‌های تفلون استوانه‌ای بصورت یکنواخت با نیروی ثابت ۱۰ N پر شدند. نمونه‌ها پس از گیرش از قالب خارج شده و در انکوباتور با دمای ۳۷ °C و رطوبت ۱۰۰٪ به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند.

سپس نمونه‌ها با نسبت پلاسمای خون: نمونه ۱:۵۰ در سه دوره ۱، ۷ و ۱۴ روز در پلاسمای خون قرار داده شدند. در انتهای هر دوره نمونه‌ها با آب مقطر شستشو شده، خشک شده و قابلیت تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت توسط آنالیز پراش اشعه ایکس مورد ارزیابی قرار گرفت (Rigaku (D/MAX-2200).

۲-۲-۲- بررسی ریزساختار و مورفولوژی

جهت ارزیابی ریز ساختار و مورفولوژی سطح نمونه‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. پس از هر دوره نمونه‌ها با آب مقطر شستشو و سپس خشک شدند. سطح نمونه‌ها توسط یک لایه نازک از طلا با روش پوششی (EMITECH K450X, England) پوشش داده شد سپس ریزساختار و مورفولوژی سطح نمونه‌ها توسط (Seron Technology, AIS-2100) مورد ارزیابی قرار گرفت.

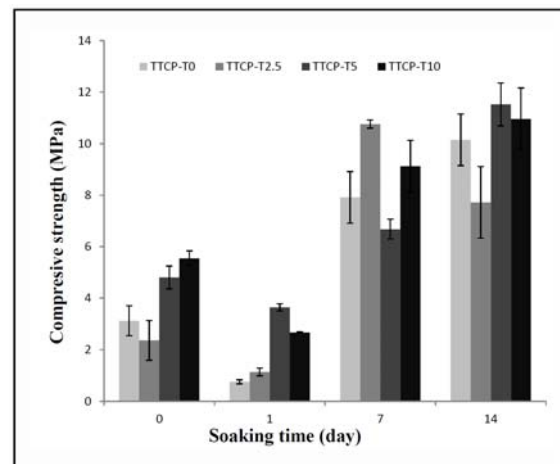
۳-۲- قابلیت تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت

شکل (۲) الگوهای پراش اشعه ایکس نمونه کنترل، TTCP-T0 و نمونه حاوی ۵٪ نانو ذرات تیتانیا، TTCP-T5 را در دوره‌های قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون، ۱، ۷ و ۱۴ روز پس از قرارگیری در پلاسمای خون نشان می‌دهد. الگوی پراش اشعه ایکس قبل از قرار گرفتن نمونه‌ها در پلاسمای خون تنها اجزای تشکیل دهنده سیمان را نشان می‌دهد و همانطور که در شکل (۲a) مشخص است در نمونه TTCP-T0 در صفر روز، هیچ گونه تبدیل فازی اتفاق نیافتاده است. اما پس از هفت روز ماندگاری نمونه‌ها در پلاسمای خون الگوی پراش اشعه ایکس تشکیل هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهد و فاز غالب در روز هفتم هیدروکسی آپاتیت است. پس از چهارده روز، همانند روز هفتم، فاز غالب هیدروکسی آپاتیت است اما هنوز مقداری از مواد اولیه بصورت واکنش نکرده باقی مانده است.

شکل (۲b) الگوی پراش اشعه ایکس را برای TTCP-T5 نشان می‌دهد. قبل از قرار گرفتن نمونه در پلاسمای خون هیچ گونه تبدیل فازی صورت نگرفته است و فقط اجزای سیمان مشاهده شده‌اند. هفت روز پس از قرار دادن نمونه‌ها در پلاسمای خون همانند نمونه کنترل، فاز غالب هیدروکسی آپاتیت است. پس از چهارده روز هنوز مقدار اندکی از مواد اولیه سیمان بصورت واکنش نکرده مشاهده می‌شود. همانطور که شکل (۲b) نشان می‌دهد نانو ذرات تیتانیا هیچ گونه تاثیر بازدارنده‌ای در تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت نداشته‌اند. پلاسمای خون انسان مایع زرد رنگی است که حاوی گستره‌ای از مواد مورد نیاز سلول‌های بدن است. پلاسمای خون شامل ۹۰٪ آب، ۸٪ پروتئین‌هایی مانند آلبومین، فیبرینوژن و گلوبولین، ۰/۹٪ یون‌هایی همانند کلسیم، پتاسیم، منیزیم و غیره و تقریباً ۱٪ مواد آلی مانند گلوکز، آمینو اسید و غیره هستند [۱۵]. نقش ماکرومولکول‌ها در جوانه زنی و رشد کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت بسیار موثر است.

پلاسمای خون افزودن نانو ذرات تیتانیا تاثیر مثبتی بر استحکام فشاری داشته است. استحکام نمونه TTCP-T10 در ۰ روز (قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون) بیشترین مقدار را داشته است و از ۳/۱۲ MPa به ۵/۵۴ MPa رسیده است. یک روز پس از قرار گرفتن در پلاسمای خون با افزایش مقدار نانو ذرات تیتانیا استحکام فشاری نیز افزایش می‌یابد. با افزایش زمان ماندگاری نمونه‌ها در پلاسمای خون در روز هفتم استحکام افزایش یافته و افزودن نانو ذرات تیتانیا استحکام را بهبود بخشیده است. چهارده روز پس از ماندگاری در پلاسمای خون استحکام همچنان روند افزایشی دارد و در این دوره نیز افزودن نانو ذرات تیتانیا تاثیر مشابهی مانند روز هفتم داشته است.

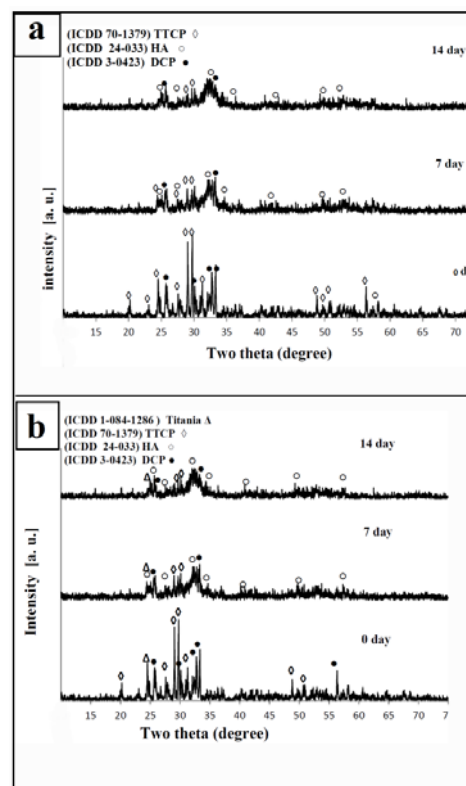
شکل ۱. استحکام مکانیکی نمونه‌های سیمان در وقته‌های مختلف



بهبود استحکام با افزایش نانو ذرات تیتانیا، می‌تواند به دلیل پر شدن تخلخل‌ها توسط نانو ذرات فوق دانست. آگلومره‌های نانو ذرات تیتانیا همانند پر کننده عمل می‌کند و تخلخل‌های موجود بین ذرات را پر می‌کند و منجر به افزایش استحکام نمونه می‌گردند.

گرفتن در پلاسمای خون نشان می‌دهد. که در این شکل ذرات بی شکل TTCP و DCPA به همراه تخلخل‌های موجود در بین آنها قابل مشاهده هستند. شکل (۳b) نمونه کنترل را پس از هفت روز قرار گرفتن در پلاسمای خون نشان می‌دهد. در این پیوستگی ذرات جدا از هم مواد تشکیل دهنده سیمان، تبدیل مواد اولیه به هیدروکسی آپاتیت و تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت را می‌توان دلیل پیوستگی مشاهده شده دانست. پس از چهارده روز تغییر محسوسی در نمونه اتفاق نیافتاده است (شکل (۳c)). شکل (۳d) نمونه TTCP-T5 را قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون نشان می‌دهد همانطور که در شکل مشخص است آگلومره‌های نانو ذرات تیتانیا روی سطح ذرات سیمان قرار گرفته‌اند. پس از هفت روز (۳e) همانند نمونه کنترل، پیوستگی ذرات بی شکل و جدا از هم مواد اولیه سیمان مشاهده می‌شود و پس از گذشت چهارده روز تغییر محسوسی در مورفولوژی نمونه‌ها مشاهده نشده است (شکل (۳f)). همانطور که اشاره شد پروتئین‌های موجود در پلاسمای، منجر به تاخیر در عمل جوانه‌زنی و رشد کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت می‌گردد و در شکل (۳) پس از ۷ و ۱۴ روز قرار گرفتن در پلاسمای خون، کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت که انتظار می‌رفت با مورفولوژی سوزنی شکل تشکیل شوند، مشاهده نمی‌شود اما پراش اشعه ایکس نشان داد فاز هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده‌است، که گویای این مطلب است که مورفولوژی هیدروکسی آپاتیت در حضور پروتئین‌های پلاسمای خون به مورفولوژی صفحه‌ای نزدیک‌تر است. آنالیز عنصری نمونه روشی برای مشخص کردن ترکیب عنصری سطح نمونه است. EDX به تنهایی بکار نمی‌رود بلکه سیستمی است که به همراه میکروسکوپ الکترونی عبوری SEM بوده و در حقیقت بخشی از این

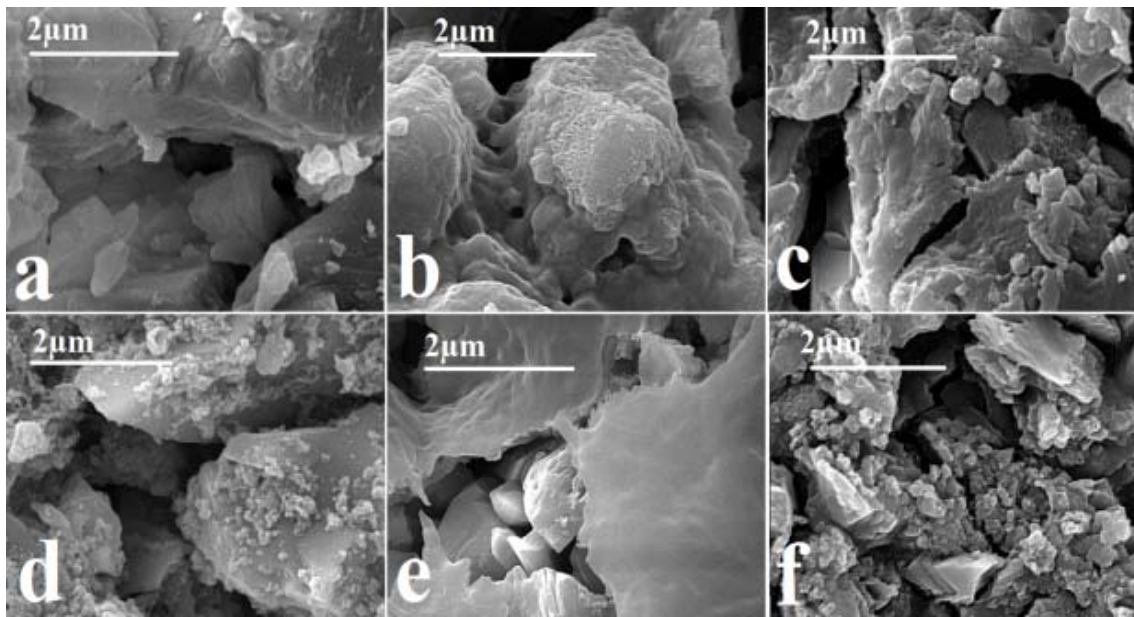
گزارش‌های بسیاری در رابطه با ممانعت کردن ماکرومولکول‌ها از جوانه‌زنی و رشد کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت وجود دارد. پروتئین‌های موجود در پلاسمای جذب سطح ذرات می‌شوند و تشکیل کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت و رشد آنها را به تاخیر می‌اندازند [۱۶] به همین دلیل حتی بعد از چهارده روز ماندگاری در پلاسمای خون هنوز مقداری از مواد اولیه بصورت واکنش نکرده باقی مانده‌اند و همه مواد اولیه تبدیل به هیدروکسی آپاتیت نشده‌اند.



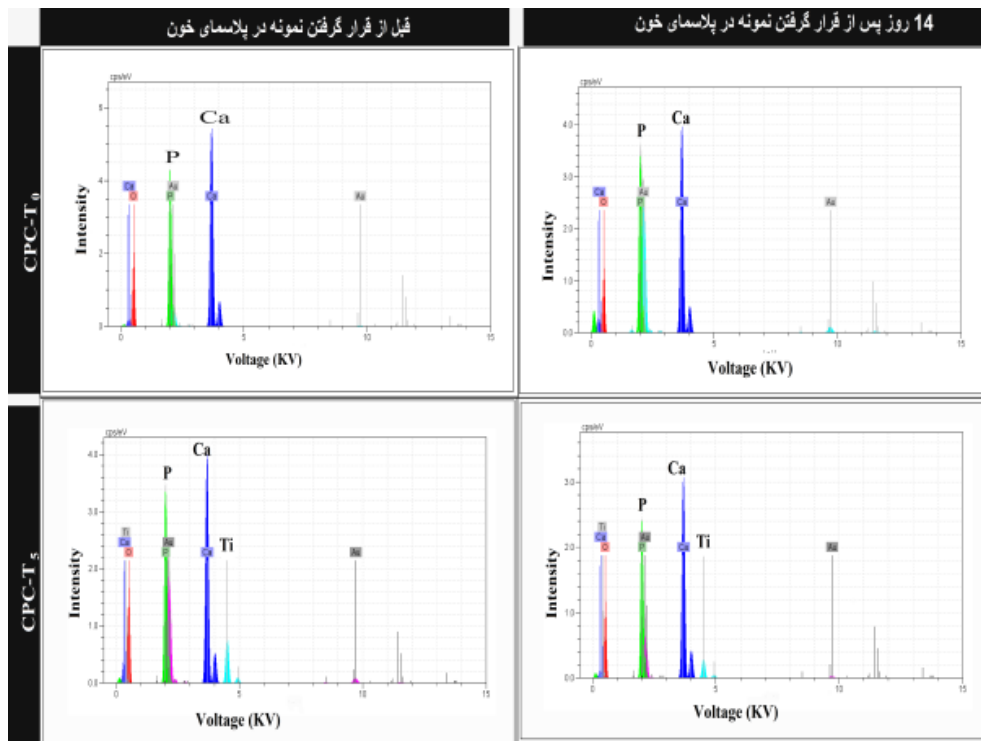
شکل ۲. الگوی پراش اشعه ایکس. a نمونه شاهد قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون و هفت و چهارده روز پس از قرار گرفتن در پلاسمای خون. b نمونه حاوی ۵٪ وزنی تیتانیا قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون و هفت و چهارده روز پس از قرار گرفتن در پلاسمای خون.

۳-۳- بررسی ریزساختار و مورفولوژی سطح نمونه‌ها

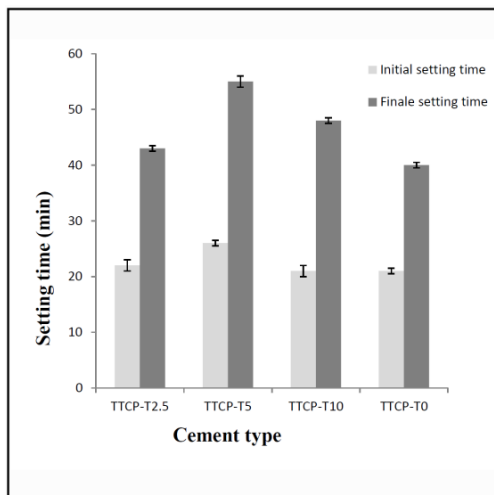
شکل (۳) ریز ساختار نمونه‌ها را در دوره‌های مختلف نشان می‌دهد. شکل (۳a) نمونه کنترل را قبل از قرار



شکل ۳. تصاویر SEM نمونه شاهد و نمونه حاوی ۵٪ وزنی سیمان. (a) نمونه شاهد قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون. (b) نمونه شاهد پس از هفت روز قرار گرفتن در پلاسمای خون. (c) نمونه شاهد پس از چهارده روز قرار گرفتن در پلاسمای خون. (d) نمونه حاوی ۵٪ وزنی تیتانیا قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون. (e) نمونه حاوی تیتانیا پس از هفت روز قرار گرفتن در پلاسمای خون. (f) نمونه حاوی ۵٪ وزنی تیتانیا پس از چهارده روز قرار گرفتن در پلاسمای خون. میکروسکوپ به شمار می‌رود.



شکل ۴. نمودار EDX تهیه شده از سطح نمونه شاهد و نمونه حاوی ۵٪ وزنی تیتانیا قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون و چهارده روز پس از قرار گرفتن در پلاسمای خون انسان.



شکل ۵. زمان گیرش اولیه و ثانویه نمونه‌های سیمان

۴- نتیجه گیری

افزودن نانوذرات تیتانیا استحکام مکانیکی و بویژه استحکام مکانیکی اولیه قبل از قرار گرفتن در پلاسمای خون را بهبود بخشیده است. آنالیز پراش اشعه ایکس نشان داد که نانو ذرات تیتانیا ممانعتی در تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت ایجاد نکرده‌اند و چهارده روز پس از قرار گرفتن نمونه TTCP-T5 در پلاسمای خون، همانند نمونه کنترل، فاز غالب هیدروکسی آپاتیت بوده است. حضور نانو ذرات تیتانیا در ترکیب سیمان زمان گیرش را افزایش داده است.

مراجع

1. M. Bohner, U. Gbureck, J.E. Barralet, Technological issues for the development of more efficient calcium phosphate bone cements: a critical assessment, *Biomaterials*, 2005, 26, 6423-6429.
2. M.P. Ginebra, M.G. Boltong, E. Fernández, J.A. Planell, F.C.M. Driessens, Effect of various additives and of the temperature on some properties of an apatitic calcium phosphate cement, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1995, 6, 612-616.

میکروسکوپ به شمار می‌رود. شکل (۴) آنالیز عنصری سطح نمونه را نشان می‌دهد.

همانطور که در شکل (۴) مشخص است عنصرهای کلسیم و فسفر در نمونه TTCP-T0 و عنصرهای کلسیم، فسفر و تیتانیوم در نمونه TTCP-T5 قابل مشاهده است. قبل قرار گرفتن در پلاسمای خون پیک عناصر در هر دو نمونه نسبت به نمونه‌هایی که ۱۴ روز در پلاسما قرار گرفتند شدت بیشتری دارد، که این موضوع را می‌توان به پوشانده شدن سطح هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده توسط پلاسمای خون، ۱۴ روز پس از قرار گرفتن در پلاسما نسبت داد.

۳-۴- اندازه گیری زمان گیرش

عوامل مختلفی بر زمان گیرش سیمان تاثیر گذار هستند از جمله نسبت پودر به مایع و یا اندازه ذرات فاز پودر سیمان [۱۷]. شکل (۵) نشان می‌دهد زمان گیرش اولیه و نهایی سیمان با افزودن نانوذرات تیتانیا افزایش یافته است. و بیشترین زمان گیرش متعلق به نمونه TTCP-T5 می‌باشد. نانو ذرات تیتانیا جذب سطح ذرات مواد اولیه تشکیل دهنده سیمان می‌گردد و از آنجا که واکنش گیرش سیمان و تشکیل هیدروکسی آپاتیت بعد از جوانه زنی بصورت دیفوزیون کنترل انجام می‌شود حضور ذرات تیتانیا روی سطح ذرات منجر به تاخیر در واکنش گیرش و طولانی تر شدن واکنش گیرش می‌شود.

10. L.A. dos Santos, L.C. de Oliveira, E.C.D. Rigo, R.G. Carrodeguas, A.O. Boschi, A.C.F. de Arruda, Fiber reinforced calcium phosphate cement, *Artif. Organs*, 2000, 24, 212-216
11. H.H.K. Xu, C.G. Simon, Self-hardening calcium phosphate cement/mesh composite: reinforcement, macropores and cell response, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2004, 69A, 267-278.
12. Z. Pan, P. Jiang, Q. Fan, Mechanical and biocompatible influences of chitosan fiber and gelatin on calcium phosphate cement, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2007, 82B, 246-252
13. F. Sanchez, K. Sobolev, Nanotechnology in concrete - A review, *Construction and Building Materials*, 2010, 24, 2060-2071
14. C. Moseke, U. Gbureck, Tetracalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications, *Acta Biomaterialia*, 2010, 6, 3815-3823.
15. S. Hesaraki, A. Zamanian and H. Nazarian, Physical and physicochemical evaluation of calcium phosphate cement made using human derived blood plasma, *Advances in Applied Ceramics*, 2009 VOL 108 NO 4.
16. Oyane A, Kim HM, Furuya T, Kokubo T, Miyazaki T, Nakamura T. Preparation and assessment of revised simulated body fluids. *Journal of Biomedical Materials Research A* 2003; 65: 188-95.
17. M. Komath, K.H. Varma, R. Sivakumar, On the development of an apatitic calcium phosphate bone cement, *Bulletin of Material Science* 2000, 23 , 135-140.
3. M.P. Ginebra, F.C.M. Driessens, J.A. Planell, Effect of the particle size on the micro and nanostructural features of a calcium phosphate cement: a kinetic analysis, *Biomaterials*, 2004, 25, 3453-3462.
4. K. Kurashina, et al., In vivo study of calcium phosphate cements: implantation of an α -tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement paste, *Biomaterials*, 1997, 18, 539-543.
5. D. Apelt, F. Theiss, A.O. El-Warrak, K. Zlinszky, R. Bettschart-Wolfisberger, M. Bohner, S. Matter, J.A. Auer, B. Von Rechenberg, In vivo behavior of three different injectable hydraulic calcium phosphate cements, *Biomaterials*, 2004, 25 (7-8), 1439-1451
6. N. Bouslama, F. Ben Ayed, J. Bouaziz, Mechanical properties of tricalcium phosphate-fluorapatite-alumina composites. *Physics Procedia* 2 (2009) 1441-1448
7. M.P. Ginebra, T. Traykova, J.A. Planell, Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: A review. *Journal of Controlled Release*, 2006, 113, 102-110
8. N. Nezafati, F. Moztarzadeh, S. Hesaraki, M. Mozafari, Synergistically reinforcement of a self-setting calcium phosphate cement with bioactive glass fibers. *Ceramics International*, 2011, 37 927-934.
9. D.P. Link, J. Van den Dolder, J. Van den Beucken, J.G. Wolke, A.G. Mikos, J.A. Jansen, Mechanical evaluation of implanted calcium phosphate cement incorporated with PLGA microparticles, *Biomaterials*, 2006, 27, 4941-4947.