

ساخت و مشخصه یابی داربست تیتانیومی متخلخل پوشش داده شده با آکرمائیت

مسعود ارسطویی^۱، علی دوست محمدی^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی پزشکی- مهندسی بافت، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد،

ایران

۲- استادیار، گروه مهندسی مواد، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

*Alidstm@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۲۳)

چکیده

هدف از این پژوهش، ساخت و مشخصه یابی داربست تیتانیومی پوشش داده شده با آکرمائیت برای استفاده در مهندسی بافت استخوان بود، به منظور ساخت داربست تیتانیومی، پودر تیتانیوم اولیه را با ذرات عوامل فضا ساز (کلرید سدیم) تهیه و همچنین پوشش آکرمائیت به روش سل- ژل تهیه و بر روی داربست اعمال شد، سپس پوشش سنتز شده به روش سل- ژل بر روی سطح داربست تیتانیومی قرار گرفت، داربست‌های پوشش داده شده بعد از عملیات حرارتی توسط میکروسکوپ الکترونی رویی (SEM) و طیف سنجی توزیع انرژی پرتو ایکس (EDX) بررسی شدند، برای ارزیابی زیست فعالی از مایع شبیه سازی شده بدن (SBF) استفاده شد و تصاویر میکروسکوپ الکترونی رویی از سطح داربست تیتانیومی بدون پوشش و داربست تیتانیومی پوشش داده شده با آکرمائیت را پس از ۲۱ و ۱۴-۷-۳ روز غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) تهیه شد، آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD) وجود پیک های فاز آکرمائیت را در پوشش تایید کرد، طبق نتایج به دست آمده، ایجاد یک پوشش آکرمائیت می تواند زیست فعالی سطح داربست تیتانیومی را افزایش دهد و نتیجه گیری نهایی این پژوهش نشان می دهد داربست تیتانیومی پوشش داده شده با آکرمائیت گزینه مناسبی برای استفاده در مهندسی بافت استخوان خواهد بود.

کلمات کلیدی:

مهندسی بافت، داربست تیتانیومی، آکرمائیت، زیست فعالی، مهندسی بافت.

۱- مقدمه

مانند پوست، استخوان، غضروف، عروق، دریچه های قلب، کلیه و اعصاب استفاده می شود [۱-۴]. اگر چه بسیاری از تحقیقات بر روی داربست های تخریب پذیر پلیمری و سرامیکی انجام شده است اما داربست های فلزی که

مهندسی بافت را فناوری ترغیب و تشویق بافت های آسیب دیده، خودبازسازی به کمک سلول ها، زیست مولکول ها و ساختارهای حمایت کننده مکانیکی می دانند، امروزه از فناوری مهندسی بافت برای ترمیم و بازسازی بافت ها و اندام هایی

و صورت و مهندسی بافت کاربرد دارند، این مواد به دلیل شکننده بودن و نیز استحکام، ضریب کشسانی و مقاومت در برابر خستگی کم، بیشتر به عنوان پوشش استفاده می شوند، شیشه زیست فعال آمورف برای پر کردن عیوب استخوان مناسب می باشد اما می تواند به عنوان پوشش کاشتنی ها در تماس با استخوان جهت افزایش خاصیت یکی شدن با استخوان به کار رود [۷-۱۰].

اخیراً آکرمایت ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) به عنوان یک ماده بیوسرامیکی نوین سیلیکاتی، حاوی کلسیم، منیزیم و سیلیسیم به دلیل خواص مکانیکی قابل کنترل مورد توجه بیشتری قرار گرفته است [۱۱-۱۲]. آکرمایت با قابلیت بالای استخوان سازی و تشکیل میزان آپاتیت، در سیستم تراگونال تبلور می یابد، همچنین آکرمایت از جمله مهم ترین بیوسرامیک های مورد استفاده در مهندسی بافت است، برخلاف مطالعاتی که صورت گرفته و نتایج مثبت به دست آمده مکانیزم اثرگذاری آکرمایت کاملاً شناخته شده نیست، یک ویژگی مهم مواد زیست فعالی مانند آکرمایت، توانایی آن ها در برقراری پیوند با استخوان موجود زنده از طریق شکل گیری لایه هیدروکسی آپاتیت در فصل مشترک است، مطالعه قابلیت تکثیر سلولی و استخوان سازی سلول های کشت یافته می تواند محققان را به درک درست از مزیت های آکرمایت در مقایسه با دیگر بیوسرامیک ها برساند. پژوهش های قبلی نشان داده است که قابلیت استخوان سازی آکرمایت بالاتر از بتا تری کلسیم فسفات می باشد، عامل اصلی این مزیت، قابلیت زیست سازگاری و تخریب پذیری بهتر آکرمایت در مقایسه با بتا تری کلسیم فسفات است، در نتیجه این ماده از لحاظ کاربردهای جدید استخوان سازی و مهندسی بافت می تواند مورد توجه زیادی قرار گیرد [۱۱-۱۲].

با توجه به توضیحات فوق، هدف از انجام این پژوهش، ساخت داربست تیتانیومی متخلخل به روش متالورژی پودر-فضانگاه-دارنده و اعمال پوشش بیوسرامیکی آکرمایت به روش سل-ژل بر روی آن می باشد.

قابلیت تحمل بار را دارند، اخیراً مورد توجه بیشتری قرار گرفته اند، از محدودیت های این داربست ها می توان به خوردگی، عدم انطباق بین کاشتنی و بافت میزبان و التهابات موضعی اشاره کرد [۲، ۵].

هم اکنون تحقیقات برای یافتن ماده ی مناسب پیرامون سرامیک ها در حال انجام است، هیچ ماده ای که در بدن موجود زنده قرار می گیرد را نمی توان به طور کامل بی اثر دانست، سرامیک ها به علت ذات ماده بر خلاف فلزات خورده نمی شوند، با توجه به این که فلزات گزینه های مناسب تری برای کاربردهای تحت بار در بدن هستند، باید با استفاده از روش های مناسب محدودیت های آن ها را کاهش داد یا بر طرف کرد، برای غلبه بر مشکل چگالی و ضریب کشسانی بالای فلزات، می توان از کامپوزیت فلز با یک فاز سبک تر و کم استحکام تر استفاده کرد یا فلز را به صورت متخلخل تولید کرد. در نتیجه هم چگالی و هم ضریب کشسانی آن کاهش می یابد، به علاوه، ایجاد تخلخل در فلز باعث بهبود تثبیت کاشتنی نیز خواهد شد [۶-۹].

روش فضانگاه دارنده یکی از روش های پر کاربرد برای ساخت کاشتنی متخلخل توسط محققین است، در این روش از مواد اولیه جامد پودری استفاده و تخلخل های ایجاد شده عمدتاً همگن و از نوع باز می باشد، با این روش می توان به درصد تخلخل بالاتری نسبت به روش های قبل دست یافت، در این روش پودر فلز با پودر یک عامل فضانگاه دارنده مناسب (مانند اوره یا نمک طعام) با ابعاد بزرگ تر مخلوط و فشرده می شود، سپس قطعه ی خام در دمای پایین حرارت دهی شده یا زینترینگ اولیه بین پودر فلز رخ دهد و در مرحله بعد ماده فضاساز به روشی چون حرارت دادن یا انحلال در آب از بین پودر فلز خارج می شود، در نهایت زینترینگ در دمای بالاتر برای رسیدن به استحکام نهایی انجام می شود، اندازه، شکل و مقدار ماده فضاساز بر خواص مکانیکی قطعه نهایی موثر است [۸-۹].

اکثر بیوسرامیک ها مانند هیدروکسی آپاتیت و شیشه زیست فعال مواد زیست سازگار هستند که قابلیت ایجاد اتصال بین بافت و استخوان را داشته و در ارتوپدی، دندان پزشکی، جراحی فک

گرم بر سانتی متر مکعب استفاده شد، پودر تیتانیوم خالص تجاری گرید ۴ با اندازه ذرات کوچکتر از ۴۴ میکرون (مش ۳۲۵) و مورفولوژی بی‌نظم (صنایع تیتانیوم واحد باوجی- چین) با گواهی آنالیز شرکت تولید کننده طبق جدول ۱، برای فلز زمینه مورد استفاده قرار گرفت.

۲- مواد و روش انجام تحقیق

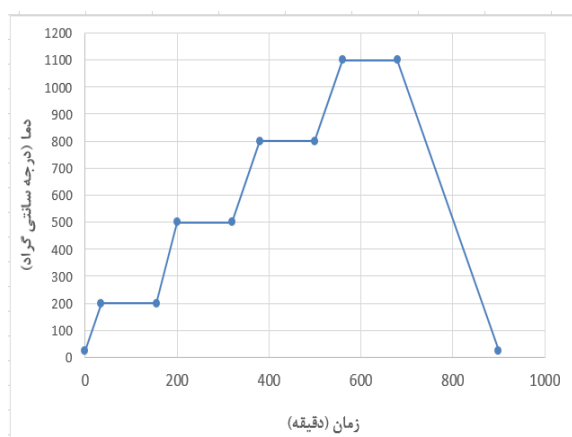
۱-۲- ساخت داربست تیتانیومی

برای ساخت داربست تیتانیومی از روش متالورژی پودر-فضانگه‌دارنده استفاده شد، برای عامل فضا‌ساز از کلرید سدیم (شیمیایی آراین، ایران) با ترکیب شیمیایی NaCl و چگالی ۲/۱۶

جدول (۱): آنالیز شیمیایی اسمی پودر تیتانیوم مورد استفاده

عنصر	Ti	C	H	O	N	Fe
درصد وزنی	99.5<	0.02>	0.02>	0.4>	0.02>	0.07>

سیکل حرارتی ارائه شده در شکل ۱ قرار گرفتند، زینتر کردن به منظور افزایش استحکام داربست های تیتانیومی انجام گرفت، در ادامه برای حذف عامل فضا‌ساز و ایجاد تخلخل، نمونه‌ها در آب دوبار تقطیر در دمای محیط قرار گرفتند تا نمک‌ها در آب حل شده خارج شوند، در آخر داربست تیتانیومی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد.



شکل (۱): سیکل حرارتی مورد استفاده در زینترینگ داربست های تیتانیومی

۲-۲- سنجش خواص مکانیکی داربست تیتانیومی

به منظور بررسی خواص مکانیکی داربست های تیتانیومی از آزمون فشار طبق استاندارد ISO 13314 با سرعت فک ۰/۵ میلیمتر بر دقیقه بر روی داربست هایی استوانه‌ای با قطر ۶ و

به منظور ساخت داربست تیتانیومی، پودر تیتانیوم اولیه را با ذرات عوامل فضا‌ساز (کلرید سدیم) مخلوط کرده سپس در قالب در فشار ۲۰۰ مگاپاسکال توسط دستگاه یونیورسال HOUNSFIELD (H50KS) در دمای محیط پرس دو محوره شدند، فشار نهایی به مدت دو دقیقه بر روی مخلوط پودر در قالب نگاه داشته شد، پس از محاسبه مقدار وزنی پودر تیتانیوم و عامل فضا‌ساز از رابطه ۱ برای دستیابی به درصد حجمی مطلوب تخلخل، پودرها و محلول آبی چسب پلی‌وینیل‌الکل (PVA) مخلوط شدند، در این قسمت برای تمام نمونه‌ها ۷۰ درصد حجمی عامل فضا‌ساز در نظر گرفته شد.

$$Ti = \frac{V_{Ti} \rho}{V_{Ti} \rho_{Ti} + V_{Salt} \rho_{Salt}} \quad (1)$$

جایی که V_{Ti} و V_{Salt} به ترتیب کسر حجمی تیتانیوم و عامل فضا‌ساز است، همچنین منظور از W_{Ti} کسر وزنی تیتانیوم در مخلوط، ρ_{Ti} چگالی تیتانیوم (۴/۵۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب) و ρ_{Salt} چگالی عامل فضا‌ساز است.

برای زینتر کردن داربست های تهیه شده در حالی که نمونه‌ها شامل ذرات کلرید سدیم به عنوان عامل فضا‌ساز بودند، تحت

۲-۳- تخلخل سنجی داربست تیتانیومی

به منظور بررسی میزان تخلخل باز و بسته از روش شناوری در مایعات ارشمیدس طبق استاندارد ASTM B962 استفاده شد، به این منظور، ابتدا داربست های خشک وزن شدند، (W_d) سپس وزن داربست ها حین غوطه‌وری در آب (W_s) و بلافاصله پس از خروج از آب (W_w) اندازه‌گیری شد، سپس با استفاده از رابطه ی ۲ درصد تخلخل ظاهری نمونه‌ها و با استفاده از رابطه ۳ درصد تخلخل واقعی نمونه‌ها محاسبه شدند.

$$\text{درصد تخلخل ظاهری} = \frac{W_w - W_d}{W_w - W_s} \times 100 \quad (2)$$

$$B = \frac{W_d}{W_w - W_s} \times 100 \quad \text{درصد تخلخل واقعی} = \frac{\rho - B}{\rho} \times 100 \quad (3)$$

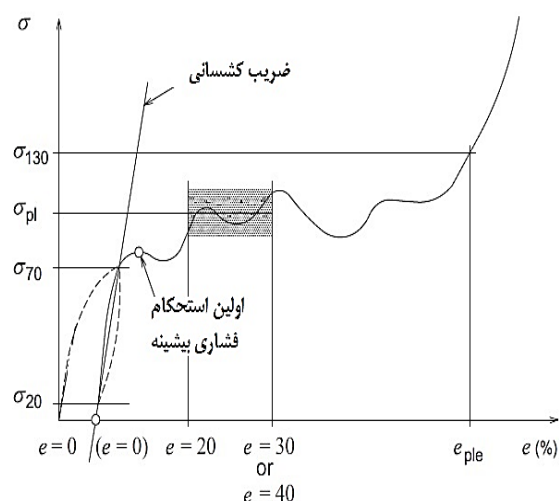
جایی که B چگالی حجمی و ρ چگالی تئوری تیتانیوم است، این آزمون برای هر نمونه سه بار تکرار شده و میانگین نتایج محاسبه شد.

۲-۴- پوشش دهی داربست

پوشش آکرماتیت به روش سل- ژل و با استفاده از تترا اتیل اورتوسیلیکات $[(C_2H_5O)_4Si, TEOS]$ ، منیزیم نترات هیدراته $[Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$ و کلسیم نترات هیدراته $[Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O]$ به عنوان پیش‌ساز اولیه تهیه شد، با آب دیونیزه و HNO_3 ۲ نرمال، با نسبت مولی $H_2O : 16 : 8 : 1$ $TEOS // HNO_3 =$ مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در همزن مغناطیسی با سرعت متوسط همزده شد، سپس، $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ و $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ با نسبت مولی ۲:۱:۲ به محلول سل اضافه و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق همزده شد، جدول ۲، مواد اولیه و مقادیر مورد استفاده آن‌ها را برای ساخت پودر آکرماتیت نشان می‌دهد.

ارتفاع ۹ میلیمتر قبل و پس از اصلاح سطح در دمای محیط استفاده شد.

برای ارزیابی خواص مکانیکی داربست تیتانیومی از دستگاه HOUNSFIELD (H30KS) استفاده شده و نمودار تنش- کرنش مهندسی نمونه‌ها ترسیم و اطلاعات لازم از آن‌ها استخراج گردید، پس از رسم نمودار تنش- کرنش هر نمونه، تنش مسطح (σ_{pl}) یا میانگین تنش در کرنش‌های بین ۱۰ و ۲۰ درصد) محاسبه شده سپس مقادیر σ_{20} (بیست درصد تنش مسطح یا $0.2 \times \sigma_{pl}$) و σ_{70} (هفتاد درصد تنش مسطح یا $0.7 \times \sigma_{pl}$) به دست آمدند، برای به دست آوردن ضریب کشسانی داربست تیتانیومی، یک نمونه جدید (فشرده نشده) تا σ_{70} (که هنوز در منطقه الاستیک است) فشرده شده، سپس تا σ_{20} بار برداشته می‌شود، سپس با رسم خط مستقیم بین تنش‌های این دو نقطه و محاسبه شیب خط، ضریب کشسانی هر نمونه محاسبه شد، همچنین پایان منطقه تنش مسطح، نقطه‌ای در نظر گرفته شده که تنش به $1/3$ برابر تنش مسطح رسیده باشد، نتایج خواص مکانیکی، میانگین سه بار تکرار بر هر نمونه هستند [استاندارد ISO 13314]. در شکل ۲ جزئیات استخراج نتایج از نمودار تنش- کرنش داربست تیتانیومی ارائه شده است.



شکل (۲): شماتیک روش استخراج نتایج از نمودار تنش-کرنش داربست

تیتانیومی [استاندارد ISO 13314]

جدول (۲): مواد اولیه و مقادیر مورد نیاز برای ساخت نانو ذرات آکرمانیت

ماده اولیه تشکیل دهنده سل	فرمول شیمیایی	جرم ماده اولیه (g)
تترا اتیل اورتو سیلیکات (TEOS)	Si(C ₂ H ₅ O)	208/3
نترات کلسیم هیدراته	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236/15
نترات منیزیم هیدراته	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	128/0555
اسید نیتریک	HNO ₃	10/08
آب دیونیزه	H ₂ O	144

یونی مشابه پلاسما ی خون بدن انسان دارد (pH=7.5) داربست ها در SBF، به مدت زمان ۲۱ و ۱۴-۷-۳ روز در حمام آب ۳۷ درجه ی سانتی گراد نگه داری شدند، برای بررسی تشکیل لایه آپاتیت بر روی داربست از میکروسکوپ الکترونی رویشی (SEM)، و آزمون پراش پرتو ایکس (XRD) بهره گرفته شد، نمونه ها قبل و بعد از قرارگیری در محلول بررسی شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشخصه یابی داربست

به منظور ساخت داربست تیتانیومی، از ذرات تیتانیوم خالص تجاری استفاده شده است، در فرآیند متالورژی پودر شکل، اندازه و توزیع اندازه ذرات پودر بر استحکام محصول پس از پرس و زینترینگ تاثیر به سزایی دارد، برای این منظور قبل از فرآیند پرس، ذرات تیتانیوم توسط میکروسکوپی الکترونی رویشی مورد بررسی قرار گرفته اند، شکل ۳ تصویر میکروسکوپ الکترونی رویشی از ذرات پودر تیتانیوم اولیه را نشان می دهد.

پوشش دهی به روش غوطه وری در سل انجام شد، ورود و خروج نمونه ها به سل توسط یک بالابر مکانیکی که به کمک رایانه کنترل می شد، با سرعت ۵ سانتی متر بر دقیقه انجام گرفت، ورود نمونه ها به سل باید قبل از زمان ژلی شدن صورت گیرد، در نقطه ژلی شدن ویسکوزیته محلول به طور ناگهانی افزایش می یابد، در تمامی آزمون ها که در دمای ثابت ۴۰ درجه سانتی گراد انجام شدند، ژلی شدن حدود ۲ ساعت پس از افزودن آخرین اجزای تشکیل دهنده سل رخ داد، با توجه به این زمان، نمونه ها با سرعت ثابت وارد محلول و به مدت ۲ دقیقه در سل غوطه ور شدند، خروج نمونه ها از محلول نیز با همان سرعت انجام شد.

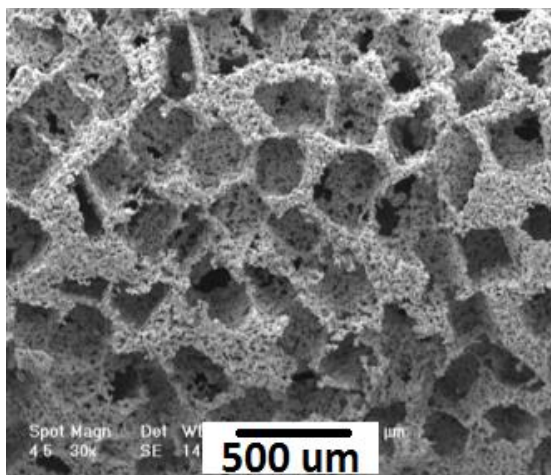
۲-۵- عملیات حرارتی نمونه ها

داربست های پوشش داده شده ابتدا در دمای ۸۰ درجه ی سانتی گراد خشک شدند تا آب و حلال ها از درون پوشش خارج شوند، سپس نمونه های خشک شده تحت عملیات پخت قرار گرفتند، دمای پخت نمونه ها، دمای لازم برای تبلور آکرمانیت یعنی ۱۱۰۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۳ ساعت انتخاب شد، تمامی عملیات حرارتی انجام شده بر روی نمونه ها در کوره قابل برنامه ریزی (Carbolite RHF 1400) انجام شد.

۲-۶- ارزیابی زیست فعالی

برای ارزیابی زیست فعالی داربست های پوشش داده شده از مایع شبیه سازی شده بدن (SBF) استفاده شد، این محلول ترکیب

در مهندسی بافت، ساختار داربست شامل شکل و اندازه حفرات و همچنین ارتباط داخلی بین حفرات بر رفتار و زنده ماندن سلول ها تاثیر گذار است، برای تعیین ساختار داربست، از میکروسکوپ الکترونی رویشی استفاده شده است، تصویر میکروسکوپی الکترونی رویشی از سطح جانبی فوم تیتانیومی با ۷۰ درصد تخلخل مشاهده می شود.

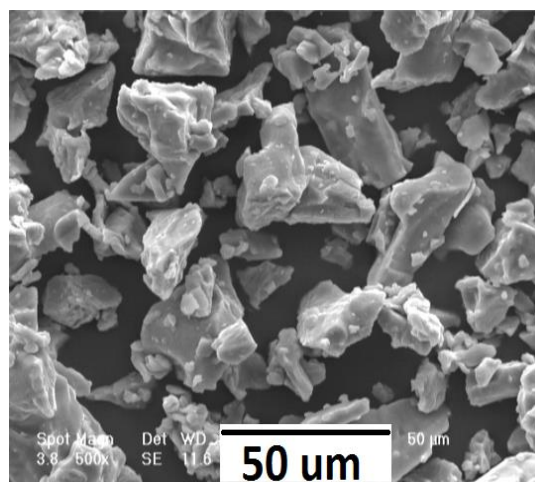


شکل (۵): تصویر میکروسکوپی الکترونی رویشی از سطح جانبی فوم تیتانیومی

همان طور که شکل ۵ نشان می دهد، اندازه ی متوسط تخلخل ها تقریباً ۳۰۰ میکرومتر است و تخلخل ها از توزیع یکنواختی نیز برخوردارند، این نتایج با نتایج سایر پژوهشگران نیز تطابق دارد.

۳-۲- خواص مکانیکی فوم تیتانیوم/کلرید سدیم

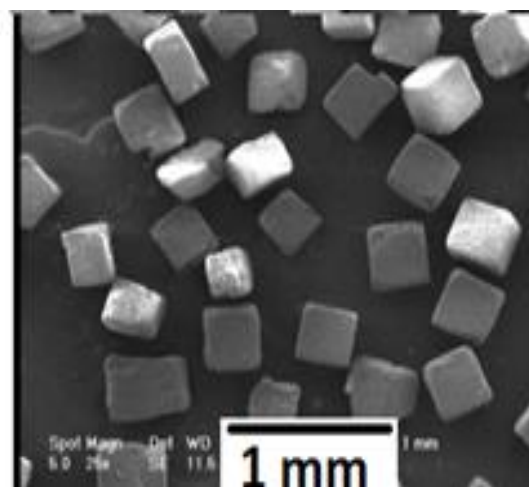
شکل ۶، منحنی تنش - کرنش مهندسی داربست تیتانیومی که با ۷۰ درصد وزنی کلرید سدیم تهیه شده است را نشان می دهد، به دلیل متخلخل بودن داربست ها، آزمون فشار سه بار تکرار شده است.



شکل (۳): تصویر میکروسکوپی الکترونی رویشی پودر تیتانیوم اولیه

همان طور که شکل ۳ نشان می دهد، اندازه ی ذرات پودر تیتانیوم اولیه، بین ۵۰ - ۱۰ میکرومتر و اشکال آن ها بی نظم است، همچنین توزیع اندازه ی ذرات نیز با توجه به شکل، در پودر اولیه ی تیتانیوم وجود دارد.

به منظور ساخت داربست تیتانیومی به روش زیترینگ پودر فضا ساز از ذرات کلرید سدیم برای ایجاد تخلخل استفاده شده است، شکل و اندازه ذرات کلرید سدیم بر ساختار داربست حاصل شده تاثیر گذار خواهد بود، تصویر میکروسکوپی الکترونی رویشی از ذرات کلرید سدیم به عنوان عوامل فضا ساز در شکل ۴ آمده است:



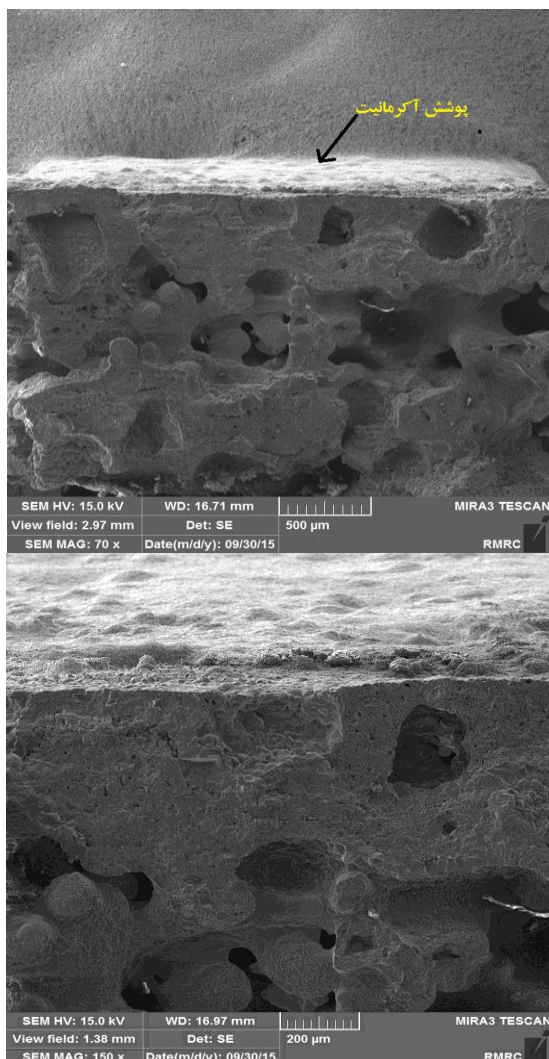
شکل (۴): تصویر میکروسکوپی الکترونی رویشی ذرات کلرید سدیم

۳-۳- درصد حجمی تخلخل داربست

در مطالعات مهندسی بافت، معمولاً درصد حجمی تخلخل مد نظر می باشد، درصد حجمی تخلخل داربست طبق رابطه ۱ محاسبه محاسبه شد و این مقدار حدود ۶۸٪ به دست آمد.

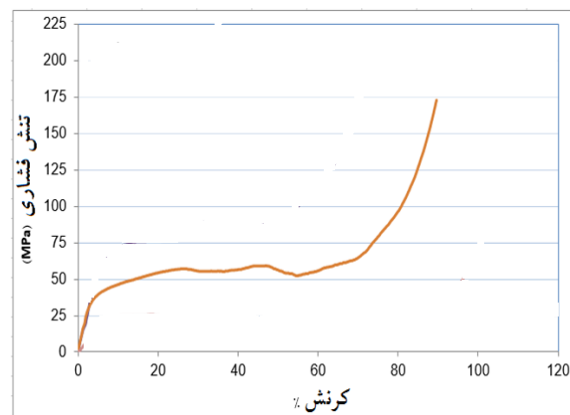
۳-۴- ارزیابی و مشخصه یابی پوشش

تصویر میکروسکوپی الکترونی رویشی از سطح داربست پوشش داده شده با آکرمائیت در شکل ۷ نشان داده شده است، این تصاویر نشان می دهد ضخامت پوشش سرامیکی اعمال شده ۲۰ تا ۳۰ میکرومتر است و چسبندگی خوبی با زیر لایه دارد.



شکل (۷): تصاویر میکروسکوپی الکترونی رویشی از سطح داربست پوشش

داده شده با آکرمائیت

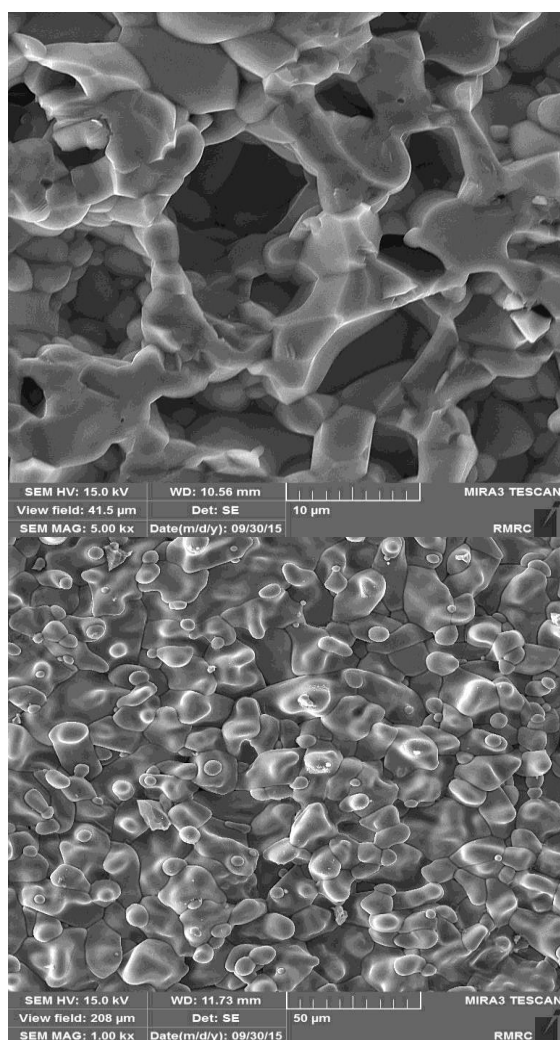


شکل (۶): نمونه منحنی تنش-کرنش مهندسی فوم های تیتانیومی تهیه شده با ۷۰ درصد وزنی کلرید سدیم با اندازه ۲۹۷-۳۵۴ میکرون

همان طور که در نمودار در شکل ۶ مشاهده می شود، منحنی تنش-کرنش مهندسی داربست تیتانیومی دارای یک منطقه تنش مسطح پس از نقطه تسلیم می باشد، منطقه تنش مسطح منطقه ای از نمودار تنش-کرنش است که در آن حفرات تدریجی و لایه به لایه تخریب می شوند، اندازه این منطقه به درصد تخلخل فوم و میزان حفرات آن بستگی دارد، خلاصه نتایج آزمون فشار ارائه شده در شکل ۶، در جدول ۳ آمده است، مشاهده می شود که در داربست تیتانیومی با ۷۰ درصد تخلخل، آغاز منطقه تراکم شدن پس از ۷۲ درصد کرنش است، در حالی که ون و همکاران انتهای منطقه تنش مسطح را برای فوم تیتانیومی با ۸۰ درصد تخلخل ۶۲ درصد کرنش گزارش کرده اند، بنابراین می توان نتیجه گرفت که داربست تهیه شده در این پروژه از ویژگی های مکانیکی مطلوبی برخوردار است [۷]. از طرفی مهم ترین عامل موثر بر تنش مسطح فوم های فلزی و پلیمری چگالی نسبی (نسبت چگالی فوم به چگالی فلز زمینه) آن ها می باشد [۸-۹]

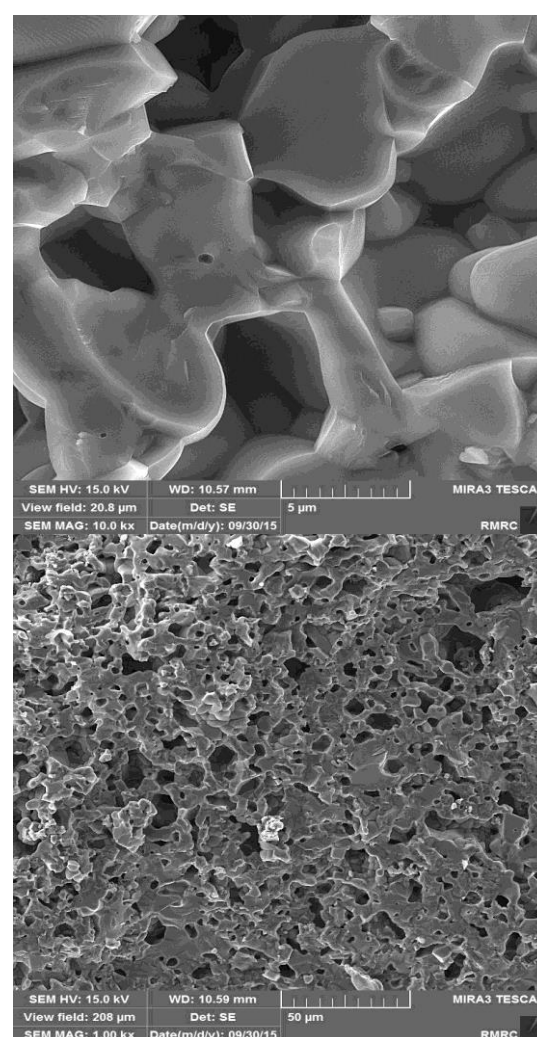
جدول (۳): نتایج آزمون فشار برای داربست تیتانیومی که با ۷۰ درصد وزنی کلرید سدیم با اندازه ۲۹۷-۳۵۴ میکرون

خواص داربست تیتانیومی	ضریب کشسانی (MPa)	تنش مسطح (MPa)	انتهای منطقه تنش مسطح (%)
	922 ± 5	56 ± 3	73 ± 5



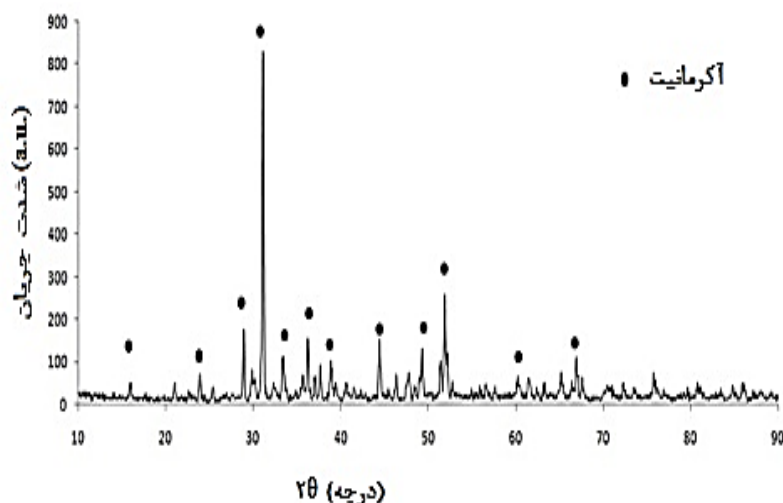
شکل (۸): تصاویر میکروسکوپی الکترونی رویشی از سطح داربست پوشش داده شده با آکرمایت

تصاویر گرفته شده به کمک میکروسکوپ الکترونی رویشی (SEM) از سطح داربست پوشش داده شده با آکرمایت در شکل ۷ نشان داده شده است، تصاویر نشان می دهد که پوشش یکنواختی خوبی دارد و تخلخل زیرلایه، باعث ایجاد تخلخل در پوشش نیز شده است، بیش از هر چیز، همگنی، یکنواختی و عاری از ترک بودن پوشش جلب نظر می کند. این مورفولوژی سطح که با گزارش سایر پژوهشگران نیز هماهنگی دارد، از مهمترین اهداف در پوشش دهی به روش سل-ژل است [۱۰].

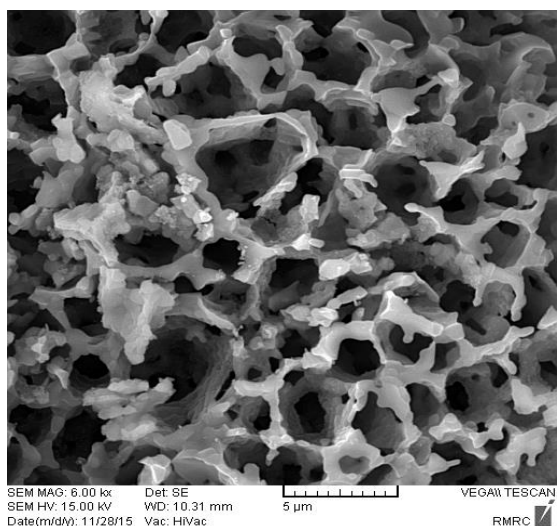


۳-۵- مطالعه ساختاری (فازی) پوشش

به منظور شناسایی ماده پوشش داده شده روی سطح داربست از آزمون پراش پرتو ایکس (XRD) بهره گرفته شد، آنالیز XRD از سطح داربست پوشش داده شده در شکل ۹ نشان داده شده است.



شکل (۹): آنالیز پراش پرتو ایکس از سطح داربست پوشش داده شده با آکرماتیت



شکل (۱۰): تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح داربست تیتانیومی بدون پوشش پس از ۲۱ روز غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن

همان طور که در شکل ۱۰ مشاهده می شود، بر روی داربست تیتانیومی بدون پوشش پس از ۲۱ روز غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن انسان (SBF)، تقریباً رسوب آپاتیتی تشکیل نشده است، این نتیجه که با نتایج سایر پژوهش ها در مورد زیست فعالی تیتانیوم در محلول شبیه سازی شده ی بدن انسان نیز تطابق دارد، نشان از زیست فعالی نه چندان بالای تیتانیوم در محلول SBF است.

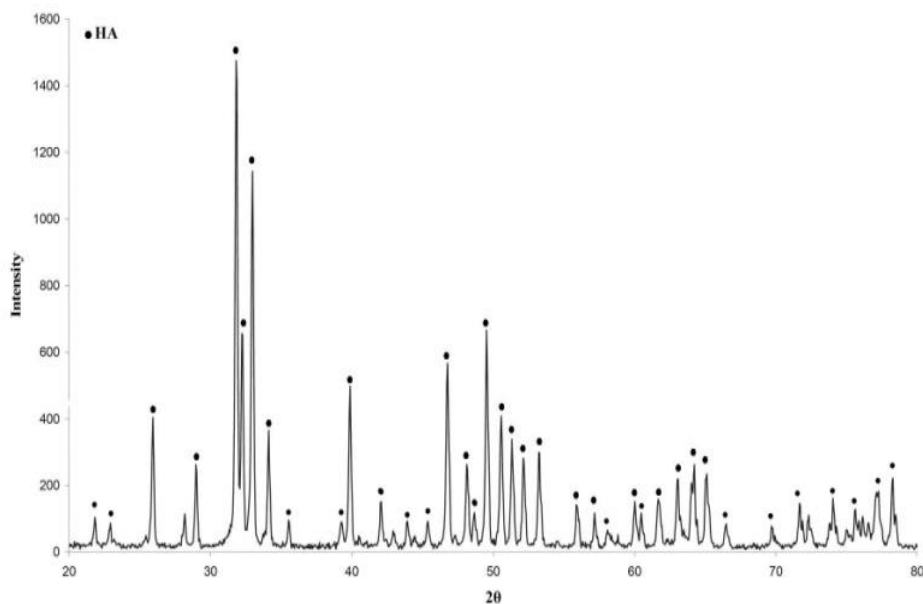
همان طور که شکل ۹ نشان می دهد، الگوی پراش پرتو ایکس آکرماتیت سنتز شده به روش سل-ژل و اعمال شده بر روی داربست تیتانیومی، از خلوص بسیار بالایی برخوردار است و تمامی پیک های مشاهده شده بر روی الگو، نشان از تشکیل فاز آکرماتیت را دارد. نتایج به دست آمده، نیز همین نتیجه را در سنتز آکرماتیت روش سل-ژل تایید می کند.

۳-۶- ارزیابی زیست فعالی

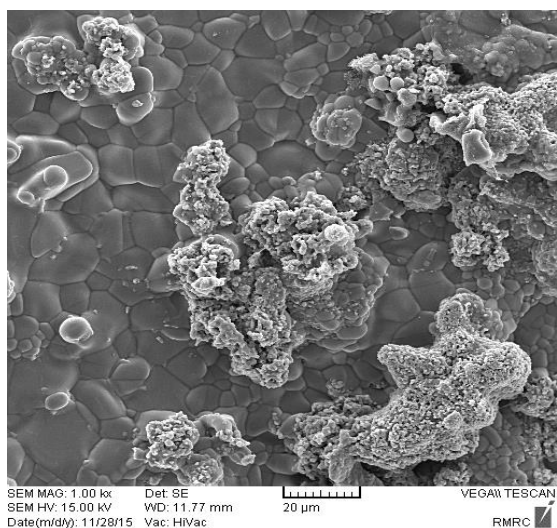
زیست فعالی داربست ها با غوطه وری آن ها در محلول SBF به مدت زمان ۲۱ و ۱۴-۷-۳ روز انجام شد. شکل ۱۰، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح داربست تیتانیومی بدون پوشش و داربست تیتانیومی پوشش داده شده با آکرماتیت را پس از ۲۱ و ۱۴-۷-۳ روز غوطه وری در محلول SBF نشان می دهد.

پوشش داده شده با آکرمائیت پس از ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن را نشان می دهد.

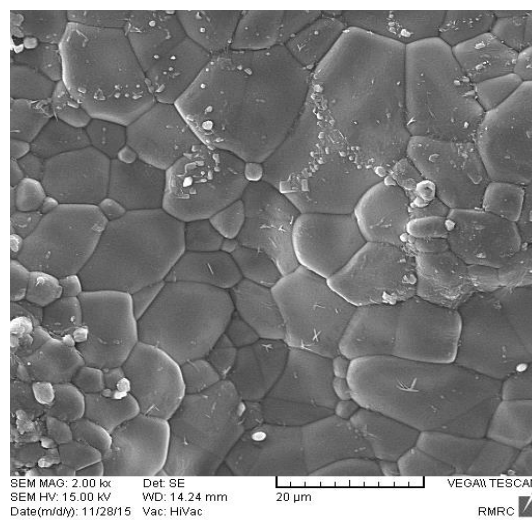
شکل ۱۱ نتیجه آزمون پراش پرتو ایکس را بر روی این نمونه پس از ۲۱ روز غوطه وری نشان می دهد. شکل ۱۲ نیز تصاویر میکروسکوپ الکترونی رویشی از سطح داربست تیتانیومی



شکل (۱۱): آنالیز پراش پرتو ایکس از سطح داربست پوشش داده شده با آکرمائیت پس از ۲۱ روز غوطه وری در SBF



ب



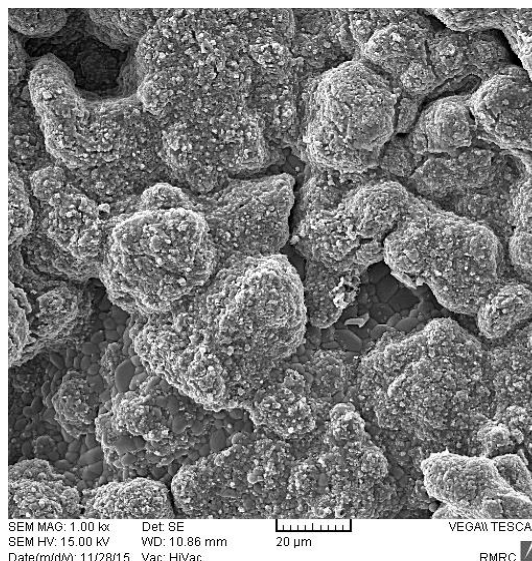
الف

سازی شده بدن) مشاهده می شود، میزان آپاتیت تشکیل شده بر روی داربست تیتانیومی پوشش داده شده با آکرمایت، نسبت به نمونه ی بدون پوشش، بسیار بیشتر است و با افزایش زمان غوطه وری، میزان تشکیل آپاتیت نیز افزایش یافته است، این نتایج با نتایج سایر پژوهشگران در مورد زیست فعالی بیوسرامیک آکرمایت در محلول شبیه سازی شده ی بدن تطابق دارد. نتیجه ی به دست آمده در این قسمت نشان می دهد که با اعمال پوشش بیوسرامیکی آکرمایت بر روی سطح داربست فلزی تیتانیومی، قابلیت تشکیل آپاتیت در محلول شبیه سازی شده ی بدن (زیست فعالی برون تنی) افزایش می یابد.

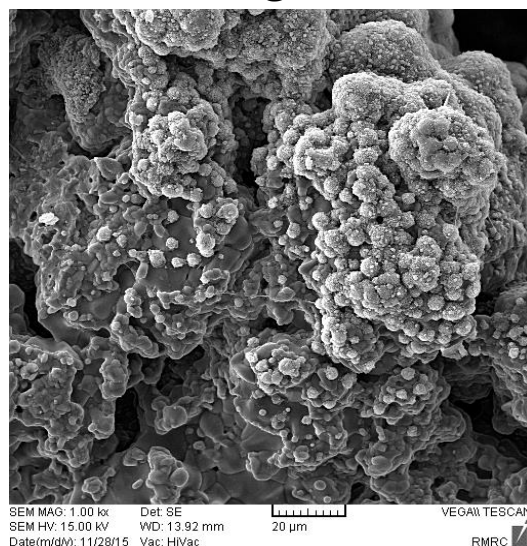
۴- نتیجه گیری

تاثیر مثبت بیوسرامیک ها بر فعالیت زیستی سلول ها و بافت های سخت و نرم بدن در پژوهش های متعددی به اثبات رسیده است، در این پژوهش از بیوسرامیک نوین آکرمایت به عنوان یک بیوسرامیک زیست فعال پایه سیلیکاتی حاوی منیزیم، برای افزایش زیست فعالی داربست متخلخل تیتانیومی استفاده شد، تاثیر آکرمایت بر روی سلول های بافت سخت، در پژوهش های پیشین توسط برخی پژوهشگران، اثبات شده بود ولی مطابق آخرین اطلاعات حال حاضر، گزارشی از اعمال پوشش بیوسرامیکی آکرمایت بر روی سطح داربست فلزی متخلخل در مستندات وجود نداشت.

با توجه به لزوم وجود زیست فعالی بالا در مورد داربست های مهندسی بافت استخوان به منظور ترغیب و تحریک رشد بافت آسیب دیده، استفاده از یک بیوسرامیک زیست فعال در تماس با بافت، بسیار ضروری به نظر می رسد، ولی اکثر مواد سرامیکی، خواص مکانیکی لازم جهت تحمل بار مکانیکی وارد شده پس از کاشت را ندارند، به همین دلیل استفاده از یک داربست فلزی تیتانیومی با خواص مکانیکی خوب و مدول الاستیسیته ی مناسب، بسیار مطلوب به نظر می رسد، طبق آن چه گفته شد سطح این داربست فلزی، بر خلاف این که دارای اثر سمی بر روی بافت های سخت بدن نیست، ولی فعالیت زیستی مناسبی نیز



ج



د

شکل (۱۲): تصویر میکروسکوپ الکترونی رویشی از سطح داربست تیتانیومی پوشش داده شده با آکرمایت: (الف): پس از ۳ روز، (ب): پس از ۷ روز، (ج): پس از ۱۴ روز و (د): پس از ۲۱ روز، غوطه وری در محلول شبیه سازی شده ی بدن انسان

شکل ۱۱ رسوب هیدروکسی آپاتیت را روی سطح نمونه پس از ۲۱ روز غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن را تایید می کند. همان طور که از شکل های ۱۲ (تصاویر میکروسکوپ الکترونی رویشی از سطح داربست تیتانیومی پوشش داده شده با آکرمایت پس از ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز غوطه وری در محلول شبیه

هیدروکسی آپاتیت / پلی هیدروکسی بوتیرات برای کاربرد در مهندسی بافت استخوان"، فصلنامه علمی پژوهشی فرآیندهای نوین در مهندسی مواد" شماره ۲، صفحه ۶۰-۵۱، تابستان ۱۳۹۱.

[6] N. Jha, D.P.Mondal, J. DuttaMajumdar, A. Badkul, A. K. Jha & A. K. Khare, "Highly porous open cell Ti-foam using NaCl as temporary space holder through powder metallurgy route", *Materials and Design*, Vol. 47, pp. 810-819, 2013.

[7] C. E. Wen, Y. Yamada, K. Shimojima, Y. Chino, T. Asahina & M. Mabuchi, "Processing and Mechanical Properties of Autogenous Titanium Implant Materials", *Journal of Material Science: Material in Medicine*, Vol. 3, pp. 397-401, 2002.

[۸] ش. حسینی، ش. میردامادی و ع. نعمتی، "بررسی ریز ساختار، خواص مکانیکی و رفتار خوردگی داربست متخلخل Ti6Al4V جهت کاربرد ایمپلنت دندان"، فصلنامه علمی پژوهشی فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، شماره ۹، صفحه ۴۳-۳۱، ۱۳۹۴.

[9] A. Saadat, A. A. Behnamghader, S. Karbasi, D. Abedi, M. Seleymani & A. Shafiee, "Comparison of acellular and Cellular Bioactivity of poly 3-hydroxybutyrate/ hydroxyapatite Nanocomposite and Poly 3-hydroxybutyrate Scaffolds", *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol. 18, pp. 587-593, 2013.

[10] R. I. M. Asri, W. S. W. Harun, M. A. Hassan, S. A. C. Ghani & Z. Buyong, "A review of hydroxyapatite-based coating techniques: Sol-gel and electrochemical depositions on biocompatible metals", *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Vol. 57, pp. 95-108, 2016.

[11] H. Sun, C. Wu, K. Dai, J. Chang & T. Tang, "Proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived stromal cells on akermanite-bioactive ceramics", *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 5651-5657, 2006.

[12] Y. Huang, X. Jin, X. Zhang, H. Sun, J. Tu, T. Tang, J. Chang & K. Dai, "In vitro and in vivo evaluation of akermanite bioceramics for bone regeneration", *Biomaterials*, Vol. 30, pp. 5041-5048, 2009.

ندارد و اثری بر تحریک و تشویق رشد بافت سخت نمی گذارد، در واقع داربست های فلزی تیتانیومی، دارای خاصیت هدایت استخوانی (Osteoconductivity) هستند ولی خاصیت القای استخوان (Osteoinductivity) را ندارند، برای ایجاد این خاصیت در مورد داربست های فلزی تیتانیومی، اعمال یک پوشش بیوسرامیکی زیست فعال، بهترین گزینه خواهد بود، مطابق پژوهش های پیشین، بیوسرامیک آکرمایت به عنوان یک بیوسرامیک حاوی یون های سیلیسیوم، کلسیوم و منیزیوم، دارای خاصیت القای استخوانی است و از این رو اعمال این پوشش بر روی داربست تیتانیومی ساخته شده در این پژوهش، خاصیت القای استخوانی را نیز به داربست می افزاید، این داربست (داربست تیتانیومی با پوشش آکرمایت) به دلیل داشتن خواص مکانیکی بسیار خوب و زیست فعال و خاصیت القای استخوانی همزمان، یک گزینه ی بسیار مناسب در مهندسی بافت استخوان به شمار می رود.

۵- مراجع

[1] S. J. Hollister, "Porous scaffold design for tissue engineering", *Nature materials*, pp. 518-524, 2005.

[2] F. Witte, "The history of biodegradable magnesium implants", A review, *Acta Biomaterialia*, Vol. 6, pp. 1680-1692, 2012.

[3] G. Ryan, A. Pandit & D. P. Apatsidis, "Fabrication methods of porous metals for use in orthopedic applications", *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 2651-2670, 2006.

[۴] ع. سعادت، ع. ا. بهنام قادر، س. کرباسی، م. رادمهر، م. صادقی و م. ر. فروغی، "تهیه و ارزیابی ساختاری داربست نانوکامپوزیتی PHB/nHA مورد استفاده در مهندسی بافت استخوان"، فصلنامه علمی پژوهشی فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، شماره ۱، صفحه ۲۳-۱۱، بهار ۱۳۹۱.

[۵] م. ر. فروغی، س. کرباسی، ر. ابراهیمی کهریزسنگی و ع. سعادت، "ارزیابی خواص فیزیکی داربست کامپوزیت نانوکریستال