

مطالعه زیست سازگاری کامپوزیت‌های سیلیکون/هیدروکسی آپاتیت و سیلیکون/بتاتری کلسیم فسفات با هدف استفاده از آنها در ساخت کاپ پروتز مفصل ران

علیرضا طلوعⁱ، حمید میرزادهⁱⁱ، فتح الله مضطرزادهⁱⁱⁱ، محمد تقی خراسانی^{iv}،
سعید امانپور^v، روشنک مرادی^{vi}

چکیده

در پروتز کامل مفصل ران، ایجاد اتصال اولیه پایدار و محکم مابین کاپ استابولوم و استخوان لگن و حذف سیمان و یا قاب فلزی پشتیبان از اهمیت بالایی برخوردار است. بدین منظور کامپوزیتی ساخته شد که دارای زمینه‌ای از لاستیک سیلیکون (PDMS) و پرکننده‌ای از بیوسرامیک‌های هیدروکسی آپاتیت (HA) یا بتاتری کلسیم فسفات (β -TCP) می‌باشد. هدف از تهیه این کامپوزیت‌ها استفاده از آنها در ساخت لایه خارجی کاپ به عنوان لایه مجاور استخوان در پروتز مفصل کامل ران است؛ به طوری که ضمن دارا بودن خواص استخوان سازگاری، باعث اتصال اولیه پایدار، توزیع یکنواخت تنش‌ها به روی استابولوم، جذب شوک‌های ناشی از سیکل راه رفتن و ممانعت از لقی پروتز در طولانی مدت شود.

بر اساس نتایج بررسی مورفولوژی مقطع شکست نمونه‌های کامپوزیت با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشخص شد که مابین پرکننده و زمینه در کامپوزیت PDMS/ β -TCP اتصال مناسب و به هم پیوستگی بیشتری در مقایسه با کامپوزیت PDMS/HA وجود دارد.

به منظور بررسی زیست سازگاری نمونه‌های کامپوزیت در مجاورت سلول زنده، نمونه‌های تهیه شده تحت آزمون *in vitro* از نوع سمیت سلولی قرار گرفتند. نتایج حاکی از آن بود که نمونه کامپوزیت PDMS/ β -TCP با میزان ۲۵ phr پرکننده در آزمون‌های سمیت سلولی از رشد عالی سلول‌های L929 در مجاورت خود برخوردار بوده و برای آزمون‌های *in vivo* مناسب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی:

هیدروکسی آپاتیت، پلی دی‌متیل سیلوکسان، بتاتری کلسیم فسفات، تعویض مفصل ران، آزمون‌های *in vitro*.

ⁱ دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پزشکی، مقطع دکتری بیومتریال: a.toolou@aut.ac.ir

ⁱⁱ دانشگاه صنعتی امیرکبیر، استاد دانشکده مهندسی پلیمر: h.mirzadeh@ippi.ac.ir

ⁱⁱⁱ دانشگاه صنعتی امیرکبیر، استاد دانشکده مهندسی پزشکی: moztarzadeh@aut.ac.ir

^{iv} پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، دانشیار گروه بیومتریال: m.khorasani@ippi.ac.ir

^v دانشگاه علوم پزشکی تهران، استادیار انستیتو کانسر: samanpour@yahoo.com

^{vi} بیمارستان فوق تخصصی میلاد، فوق تخصص جراحی دست: rmoradi_2000@yahoo.com

Biological Evaluation of PDMS/HA and PDMS/ β -TCP Composites Used for Fabricating of Acetabular Cup in Hip Joint Prosthesis

Toolou, A.ⁱ; Mirzadeh, H.ⁱⁱ; Moztarzadeh, F.ⁱⁱⁱ; Khorasani, M.^{iv}; Amanpour, S. ^v; Moradi, R.^{vi}

ABSTRACT

The purpose of this study was to obtain primary fixation between the acetabular cup and bone and omitting cement or metal back in total hip joint prosthesis. In this study different composites of poly dimethyl siloxan (PDMS) matrix with Hydroxyapatite (HA) or beta-tricalcium phosphate (β -TCP) filler have been fabricated. The purpose is to apply composite as outer layer of the acetabular cup to achieve proper bone bonding ability, stable fixation, optimal stress distribution on acetabulum, absorbing mechanical shock during gate and prevention of loosening acetabular cup in long life. Due to SEM micrograph observation, β -TCP particles were bonded to rubber and distributed in PDMS matrix much better than HA powder. Cytotoxicity test was done with L929 fibroblast cell on the sheet of composites. The result was shown very good growth of cell on the composite sheet of PDMS/ β -TCP with 25 phr filler in comparison the other composites.

KEYWORDS:

Hydroxyapatite; PDMS; Hip Joint Prosthesis; Beta tricalcium phosphate (β -TCP); in vitro test.

۱- مقدمه

می‌شوند [۶]. در شکل (۱) تصویر شماتیک از پروتز کامل مفصل ران از نوع بدون سیمان و در شکل (۲) تصویر اشعه ایکس همین نوع پروتز؛ که در یک بیمار ۵۵ ساله زن کاشته شده، نشان داده شده است [۷]. علی‌رغم تمامی مزایایی که این نوع از پروتزها برای بیماران به همراه داشته اند هنوز فاصله زیادی تا دستیابی به مفصل مصنوعی با دوام طولانی در بدن وجود دارد. در پروتز مفصل مصنوعی ران با در نظر گرفتن تاثیر کاپ استابولوم در عملکرد مناسب مفصل، رعایت معیارهای طراحی نظیر سهولت جایگذاری، حداقل بودن حجم استخوان برداشته شده از استابولوم و عدم چرخش و جابجایی کاپ، اتصال محکم و مناسب، سایس و خزش کم و توزیع مناسب تنش‌های مکانیکی وارده حین سیکل راه رفتن به کاپ از اهمیت بسزایی برخوردارند [۸]. امروزه در بین معیارهای طراحی اشاره شده، تلاش عمده محققین به اتصال مناسب کاپ به حفره استابولوم شده معطوف است؛ به طوری که در کاپ‌های محکم شونده با سیمان تلاش برای توزیع یکنواخت سیمان در اطراف کاپ و اتصال بهتر و محکم‌تر مابین کاپ و سیمان می‌باشد [۹]. حال آنکه در کاپ‌های غیرسیمانی هدف اصلی ایجاد پوشش متخلخل بادوام و ترغیب کننده استخوان به رشد در قاب فلزی (Metal Back) و حذف پیچ‌های محکم کننده آن به استخوان لگن است [۱۰]. نتایج تحقیقات بالینی نشان می‌دهد که به لحاظ مکانیزم اتصال (Fixation) کاپ به حفره استابولوم برای افرادی با امید زندگی بیش از ۲۰ سال و دارای استخوان

در سال‌های اخیر، استفاده از پروتزهای کامل مفصل ران به علت بیماری‌های التهاب مفصلی، روماتوئید و پوکی استخوان در سنین بالا بسیار شایع شده است. در دو دهه اخیر طیف وسیعی از پروتزهای مفصل ران با طراحی‌های متنوع و مواد مهندسی مختلف اعم از فلزات، سرامیک‌ها و پلیمرها تهیه و در بدن انسان کاشته شد و مورد ارزیابی‌های کلینیکی قرار گرفته‌اند [۱] تا [۴]. هر یک از این طرح‌ها، معایب خاصی دارند که نشان‌دهنده تفاوت عملکرد آنها نسبت به مفصل ران ایده‌آل و طبیعی بدن است. مفاصل فلزی از استحکام و پایداری زیادی برخوردارند؛ ولی معایبی چون ایجاد سپر تنشی (Stress shielding) و رها کردن ذرات سایشی ویون‌های فلزی دارند. در مفاصل سرامیکی حجم ذرات سایشی بسیار ناچیز است؛ ولی عدم تطابق مکانیکی با استخوان و ایجاد سپر تنشی و مهم‌تر از آن حساسیت به رشد ترک و احتمال بالای شکست سرامیک‌ها، کاربرد آنها را محدود می‌کند [۵]. تحقیقات متعدد محققین بیانگر آن است که مفاصل مصنوعی ترکیبی فلز- پلیمر عملکرد بهتری نسبت به سایر مدل‌ها دارند. در این نوع مفصل گوی فلزی معمولاً از آلیاژ کرم کبالت و کاپ پلیمری از جنس پلی‌اتیلن با جرم مولکولی فوق سنگین (UHMWPE) می‌باشد. براساس گزارش‌های کلینیکی بیشترین موارد لقی غیر عفونی (Aseptic Loosening) و تعویض مجدد مفصل به ذرات سایشی پلی‌اتیلن مربوط است که حین تماس گوی فلزی با کاپ پلیمری، از آن جدا شده و در سطح مفصلی رها

استابولوم نرمال، مدل‌های بدون سیمان و با اتصال بیولوژیکی مناسب‌تر هستند. در پروتزهای سیمانی احتمال جابجایی و لقی کاپ نسبت به نوع بدون سیمان بیشتر است. علاوه بر اینکه مشکلات استفاده از سیمان استخوان نظیر تخریب بافت‌های اطراف به علت دمای پلیمریزاسیون سیمان حین جایگذاری کاپ در استابولوم در عمل جراحی تعویض کامل مفصل ران (Total Hip Arthroplasty) و جدا شدن ذرات شکسته شده سیمان و به دنبال ورود آنها به سطح مفصلی و ایجاد خراش و سایش مضاعف (Three Body Wear) نیز وجود دارد [۱۱]. در حال حاضر طراحی‌های مختلفی از کاپ با هدف پیشگیری از سایش مفراط سطح پلی‌اتیلنی، ایجاد اتصال اولیه مناسب به استخوان لگن، ایجاد اتصال بیولوژیکی مناسب با رشد استخوان در تخریفات سطحی پروتز [۱۲] و توزیع یکنواخت نیروها به روی حفره استابولوم برای ممانعت از سپر تنش و عدم یکنواختی حواص مکانیکی استخوان اطراف کاپ به بازار عرضه شده است [۱۳]. بنابراین با در نظر گرفتن معایب و مزایای کاپ‌های امروزی، در این کار تحقیقاتی سعی بر آن است که ابتدا با افزایش خواص استخوان سازگاری سطح بیرونی کاپ، نیاز به استفاده از سیمان و یا قاب فلزی برای اتصال اولیه برطرف شود. همچنین با استفاده از لاستیک سیلیکون در ساخت کاپ، شوک‌های مکانیکی اعمالی به کاپ پلیمری جذب و از جابجایی و لقی آن جلوگیری به عمل آید. با در نظر گرفتن کاربردهای فراوان لاستیک سیلیکون در کاشتنی‌های مختلف پزشکی و خواص منحصر بفرد آن نظیر زیست سازگاری خوب، فرآیندپذیری مناسب، یکپارچگی و شباهت به بافت‌های بدن، الاستیسیته و مقاومت شیمیایی زیاد [۱۴]، در این طراحی سعی شده است تا با بکارگیری این ترکیب به همراه سرامیک‌های بیواکتیو نظیر هیدروکسی آپاتیت (HA) و بتا تری کلسیم فسفات (β -TCP) کامپوزیتی تهیه شود [۱۵] که لایه بیرونی کاپ پلی‌اتیلنی را پوشانده و ضمن اتصال اولیه مناسب به حفره استابولوم، خاصیت جذب ضربات و شوک‌های مکانیکی وارده طی سیکل راه رفتن را دارا باشد. هدف نهایی این نوع تحقیقات دستیابی به پروتزی بادوام و عمر طولانی در بدن است که نیاز به جایگزینی نداشته باشد. بر اساس تحقیقات نویسنده اول مقاله، نتیجه شد که در لایه بیرونی کاپ، خواص مکانیکی بهینه کامپوزیت در ترکیب ۲۵ قسمت β -TCP در ۱۰۰ قسمت لاستیک سیلیکون (ST25) حاصل شده و لاستیک سیلیکون حاوی β -TCP نسبت به HA از خواص مکانیکی بهتری برخوردار است [۱۶]. در این مقاله، مورفولوژی شکست و نحوه توزیع و اتصال پودر بیوسرامیک در زمینه سیلیکونی بررسی شد. در ادامه آزمون‌های سازگاری زیستی

به روش *in vitro* از نوع سمیت سلولی (Cytotoxicity) بر کامپوزیت‌های PDMS/ β -TCP و PDMS/HA انجام پذیرفت که نتایج قابل قبولی به همراه داشت.

۲- مواد و روش‌های آزمایش

سیلیکون مورد استفاده در ساخت تمامی کامپوزیت‌ها از نوع HTV، ساخت کارخانه WACKER گرید پزشکی ELASTOSIL R401/60 است. عامل پخت (Curing Agent) مورد استفاده در ایجاد اتصالات عرضی از نوع دی کیومیل پراکساید (DCP) ساخت شرکت Degussa می‌باشد. با توجه به اینکه بهترین نسبت درصد عامل پخت در سیلیکون $1/2 - 1/8$ phr است و معمولاً در کاربردهای پزشکی به دلیل ویژگی‌های سرطان‌زایی عوامل پخت باقیمانده در لاستیک سیلیکونی سعی بر آن است که از حداقل مقدار ممکن آنها استفاده شود؛ لذا میزان DCP مورد استفاده در تهیه کلیه آمیزه‌های این تحقیق به طور ثابت برابر یک قسمت از یکصد قسمت سیلیکون (parts per hundred rubber) 1ph در نظر گرفته شده است. هیدروکسی آپاتیت (Hydroxyapatite) مورد استفاده در آمیزه به صورت پودر و با قطر متوسط ذرات $500 \mu\text{m}$ می‌باشد. میزان بلورینگی نمونه پودر، با دستگاه پراش اشعه ایکس (XRD) بررسی شد و نتایج حاکی از آن بود که فاز اصلی هیدروکسی آپاتیت و فاز فرعی کلسیم فسفات می‌باشد. HA مورد استفاده ساخت کشور روسیه و مطابق با استاندارد ASTM F1185-1993 است. به منظور شناسایی نمونه HA از سیستم ICP-AES مدل ARL 3410 ساخت کشور سوئیس استفاده شد و نسبت کلسیم به فسفر برابر با 2.673 تعیین شد. پودر به کار رفته بتا تری کلسیم فسفات (β -TCP) متعلق به شرکت Aldrich و دارای درجه پزشکی می‌باشد که مطابق با استاندارد ASTM F1088-1992 تهیه شده است. اندازه دانه‌های پودر بسیار ریز است، به طوری که امکان کلوخه شدن (Agglomeration) آنها زیاد است. به منظور تهیه نمونه‌های ورقه‌ای از کامپوزیت، قالبی به ابعاد $90 \times 40 \times 2 \text{ mm}$ مکعب تهیه شد. آمیزه‌های تهیه شده مطابق با نسبت‌ها و مشخصات مواد ارایه شده در جدول (۱) پس از اختلاط کامل در مخلوط کن دوغلتکی، در پرس آزمایشگاهی ساخت شرکت DAVENPORT فشرده و پخت شدند. برای شکل‌دهی و پخت کامپوزیت، پس از پیش‌گرم‌سازی قالب، آمیزه در داخل قالب قرار گرفت و در مدت زمان ۱۰ دقیقه در فشار 150 kg/cm^2 و درجه حرارت 165°C عملیات شکل‌دهی و پخت به اتمام رسید. پس از عملیات شکل‌دهی و پخت، کلیه نمونه‌ها در دمای 180°C و به مدت دو ساعت در خشک‌کن آزمایشگاهی قرار گرفت و پخت تکمیلی

(Post Cure) در آنها صورت پذیرفت. بر اساس آزمایش‌های متعدد به روی کامپوزیت‌های مختلف با درصد‌های متفاوت بیوسرامیک مشخص شد نمونه ST25 بهترین خواص مکانیکی را نسبت به سایر نمونه‌ها دارد [۱۶]. برای مشاهده مورفولوژی کامپوزیت‌های تهیه شده بویژه مرز بین پرکننده بیوسرامیکی و زمینه سیلیکونی و میزان توزیع ذرات سرامیکی در فاز سیلیکون از دستگاه میکروسکوپ الکترونی (SEM) Cambridge S360 استفاده شد. در شکل (۲) تصاویر میکروسکوپ الکترونی نمونه‌های ST25 و SH25 با بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر نشان داده شده است. طول خط مقیاس ۲۰ میکرومتر است و شاخص مناسبی برای درک توزیع اندازه ذرات بیوسرامیکی در زمینه سیلیکونی می‌باشد. ذرات بیوسرامیک در تصاویر، به رنگ سفید و فاز سیلیکون سیاه‌رنگ است. قطر متوسط ذرات HA در حدود ۱۰۰ میکرون می‌باشد.

۱-۲- آزمون سمیت سلولی به روش In-Vitro

به منظور انجام آزمون‌های ارزیابی بیولوژیکی In-Vitro نمونه‌هایی با سطح متوسط 1 cm^2 از ورقه‌های کامپوزیتی تهیه شده بریده شد و عملیات سوکسله به مدت ۲۴ ساعت در مخلوط 50/50 حجمی متانول و تولوئن بر روی آنها انجام شد. نمونه‌های انتخابی برای آزمون‌های بیولوژیکی پس از عملیات سوکسله، دو بار توسط الکل و آب دوبار تقطیر، شستشو و آبکشی شد و در بسته بندی ویژه برای سترون‌سازی (Sterilization) قرار داده شدند. نمونه‌ها به وسیله اتوکلاو بخار در دمای 134°C و فشار بخار ۲/۱۵ اتمسفر طی مدت زمان ۱۲ دقیقه سترون شدند. برای انجام آزمون کشت سلولی بر روی نمونه‌های آماده شده از روش استاندارد بین‌المللی مرجع ISO 10993-5 استفاده شد. آزمون به روش تماس مستقیم کاشتنی با سلول‌های فیبروبلاستی L929 تخمدان موش صورت پذیرفت. برای تهیه سوسپانسیون سلولی مناسب، ابتدا سلول‌های منجمد شده به آرامی گرم و در محیط کشت سترون RPMI-1640 قرار داده شدند. به منظور خارج کردن ماده پایدار کننده سلول‌ها در برابر دمای پایین (DMSO) سوسپانسیون در ۲۰۰۰ دور سانتیفریوژ و DMSO خارج شد. سپس سلول‌ها در مجاور محیط کشت سترون RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گوساله (FCS) و 60 mg/L پنی‌سیلین و 100 mg/L استریتوماپسین قرار گرفتند و به مدت یک هفته در انکوباتور CO_2 کشت داده شدند. با توجه به عدم تغییر رنگ محیط و ناچیز بودن سلول‌های مرده به روی آن و تعداد مناسب سلول‌ها در هر میلی‌لیتر، سوسپانسیون سلولی مناسب آماده شد. تعداد ۱۰ نمونه تهیه شده از ۵ نوع کامپوزیت انتخابی در

پلیت قرار گرفتند. در هر پلیت شش قسمتی علاوه بر نمونه‌های کامپوزیت، یک قسمت پلیت بدون نمونه به عنوان کنترل منفی (که از جنس پلی استایرین اصلاح سطح شده) و در یک قسمت کنترل مثبت از جنس لاتکس با سمیت سلولی بالا قرار داده شد. در هر قسمت پلیت سوسپانسیون سلولی حاوی سلول‌های L929 به تعداد تقریبی $4 \times 10^5 \text{ Cell/ml}$ ریخته شد به گونه‌ای که سلول‌ها به‌طور کامل سطح نمونه را بپوشانند. نمونه‌ها در شرایط CO_2 ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سلسیوس و رطوبت ۹۰٪ به مدت یک هفته در انکوباتور قرار گرفتند و پس از خارج شدن با فسفات بافر سالین شستشو شدند. برای تثبیت سلول‌ها، نمونه‌ها به ترتیب در الکل‌های ۷۰٪، ۸۰٪ و ۹۶٪ هر یک به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور شد و سپس بر روی لام قرار داده شد و با گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. پس از ۱۵ دقیقه نمونه‌ها با آب و الکل شستشو و در مجاورت هوا خشک شدند. نمونه‌های آماده شده، با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر تصویر برداری شدند. ارزیابی نتایج آزمون سمیت سلولی به روی نمونه‌های کامپوزیت به روش کیفی انجام شد. در روش کیفی مورفولوژی عمومی سلول‌ها نظیر کشیدگی، دوکی شدن و رشد پایک‌ها و زائده‌های سیتوپلاسمیک، کروی شدن (Vacuolization)، میزان جدا شدن سلول‌ها از سطح نمونه و تخریب غشای سلول‌ها بررسی می‌شود و در مقایسه با نمونه کنترل منفی، میزان سازگاری زیستی به صورت چهار درجه عالی، خوب، متوسط و ضعیف تعیین می‌گردد. روش دیگر، ارزیابی سازگاری زیستی به طریق کمی است که در آن تعداد سلول‌های مرده به کل سلول‌های سوسپانسیون، میزان رهایش آنزیم‌ها، میزان پروتئین‌ها، نسبت سطح سلول‌های چسبیده به نمونه به سطح کل و سایر پارامترهای قابل اندازه‌گیری و شمارش به شرط صحت روش اندازه‌گیری و تکرارپذیری آن قابل اندازه‌گیری و ارزیابی است [۱۷] و [۱۸]. در این تحقیق از روش کیفی استفاده شد. تصاویر کشت سلول‌های L929 در مجاورت نمونه‌های کامپوزیت در شکل (۴) نشان داده شده است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مورفولوژی کامپوزیت

همان‌گونه که در شکل (۳-الف) نشان داده شده است پودر β -TCP به صورت ذرات پراکنده در زمینه سیلیکون توزیع شده است. در بعضی مناطق ذرات با اشکال و اندازه‌های نامشخص به یکدیگر چسبیده و کلوخه شده (Agglomeration) است. در شکل، به خوبی نمایان است که در هم‌رفتگی و اتصال مکانیکی

مابین ذرات β -TCP و سیلیکون بسیار خوب بوده و هیچ مرز جدایشی مابین دو فاز دیده نمی‌شود. توزیع مناسب ذرات در سطح باعث می‌شود میزان سازگاری زیستی سطحی این کامپوزیت از یکنواختی بیشتری برخوردار بوده و مواضع فعال برای ترغیب استخوان به رشد در مجاورت کاشتنی بیشتر باشد. در شکل (۳-ب) مشاهده می‌شود ذرات پودر بیوسرامیک HA اتصال مناسبی با زمینه سیلیکونی برقرار نکرده و تحت نیروی وارده برای شکستن نمونه در نیتروژن مایع، از زمینه الاستومری جدا شده‌اند. علاوه بر عدم اتصال مناسب، حساس بودن سرامیک‌ها به بارهای دینامیکی و رشد ترک و نهایتاً شکست از معضلات این کامپوزیت (PDMS/HA) محسوب می‌شود. برای رفع مشکل می‌بایست ابتدا پودر بیوسرامیک تا حد امکان آسیاب شود و در ادامه برای اتصال مناسب ذرات پودر به سیلیکون لازم است از ترکیبات سیلان نظیر وینیل تری اکسی سیلان با نام تجاری $\text{DYNASILAN}^{\text{®}}\text{VETO}$ به عنوان عامل جفت‌کننده (Coupling Agent) استفاده شود. این ترکیبات با داشتن گروه‌های وینیلی باعث افزایش چسبندگی پرکننده‌های معدنی به زمینه‌های ترموپلاستیکی و الاستومری، اختلاط بهتر، کاهش به هم پیوستگی (Fewer Agglomerates) و نهایتاً افزایش استحکام زمینه پلیمری می‌شود [۱۹].

۳-۲- آزمایش‌های In-Vitro

در این تحقیق، ارزیابی سازگاری زیستی کاشتنی به وسیله آزمون سمیت سلولی بررسی کیفی صورت پذیرفت. در جدول (۲) میزان سازگاری زیستی به صورت چهار درجه عالی، خوب، متوسط و ضعیف نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در مورد کلیه نمونه‌های تهیه شده آزمون موفقیت آمیز بوده است. شکل (۴-الف) رفتار سلول‌های L929 را در مجاورت نمونه سیلیکونی نشان می‌دهد. اگرچه سلول‌های چسبیده دوکی شکل سطح زیادی را پوشانده‌اند؛ ولی تعداد سلول‌های مرده در مقایسه با نمونه کنترل قابل توجه بوده است به طوری که در بررسی مقایسه‌ای درجه متوسط به لحاظ سازگاری به سیلیکون تعلق می‌گیرد. در شکل (۴-ب) رشد سلولی بسیار خوبی در مجاورت نمونه ST25 مشاهده می‌شود. رشد مناسب سلول‌ها و پوشیده شدن تمامی سطح از سلول‌های دوکی شکل و پهن شدن آنها و از طرفی ناچیز بودن تعداد سلول‌های مرده، دال بر سازگاری عالی نمونه در مقایسه با نمونه کنترل می‌باشد. در شکل (۴-ج) کشت سلولی نمونه SH25 نمایانگر آن است که اگرچه تعداد سلول‌های چسبیده به سطح زیاد می‌باشد؛ ولی عدم پهن شدن کافی آنها و تعداد قابل توجه سلول‌های مرده؛ دال بر سازگاری با درجه خوب نمونه

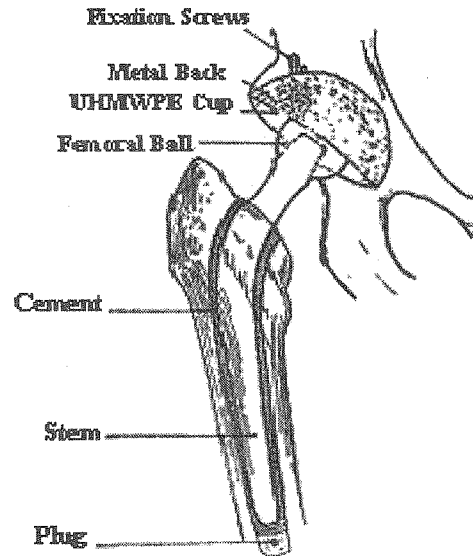
در مقایسه با کنترل می‌باشد. شکل (۴-د) کشت سلولی نمونه ST25V5 با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر را نشان می‌دهد. وجود سطوح نمونه خالی از سلول، عدم پهن شدن کافی سلول‌ها و تعدد سلول‌های مرده شناور بر سطح سوسپانسیون دال بر درجه متوسط سازگاری زیستی است. در شکل (۴-ه) رفتار سلول‌ها در مجاورت نمونه SP25 با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر نشان داده شده است. وجود سطوح نمونه خالی از سلول و عدم چسبیدن سلول‌ها، دال بر درجه متوسط سازگاری زیستی می‌باشد. در شکل (۴-و) رشد مناسبی از سلول‌های فیبروبلاست در مجاورت کنترل منفی مشاهده می‌شود و این حاکی از آن است که شرایط آزمایشگاهی برای رشد سلول‌ها مناسب بوده است. تعداد زیاد سلول‌های چسبیده به نمونه، پهن و دوکی شدن و تعداد کم سلول‌های مرده کروی شناور بر سطح سوسپانسیون، نشان از سازگاری بیولوژیکی عالی نمونه کنترل می‌باشد. در جدول (۲) رفتار سلول‌ها در مجاورت نمونه‌های کامپوزیت به طور خلاصه نوشته شده است. نمونه‌های ST25 و SH25 بیشترین زیست سازگاری را در آزمونهای سمیت سلولی داراست.

۴- نتیجه‌گیری

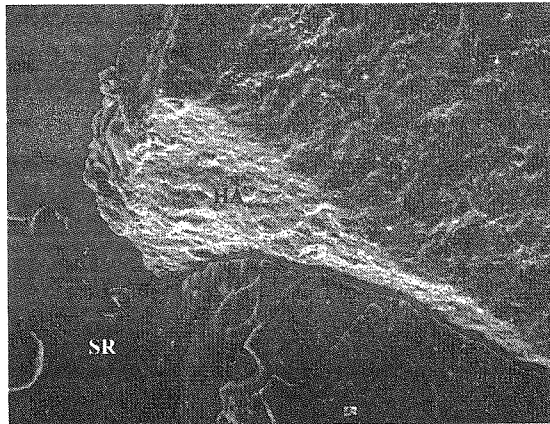
همان‌گونه که در جدول (۲) مشاهده می‌شود نمونه‌های ST25 و SH25 بیشترین زیست سازگاری را در آزمونهای سمیت سلولی داراست. نتایج ارزیابی بیولوژیکی به طریق مذکور دال بر این است که این نمونه‌ها می‌توانند جهت کاشت در بدن حیوان بکار روند. همچنین در صورت موفقیت نمونه‌های کامپوزیت در آزمونهای *in vivo* حیوانی، می‌توان از آنها به عنوان لایه مجاور استخوان در پروتزهای تحت بار در بدن انسان استفاده کرد. لازم به ذکر است که در پروتز مفصل ران برای اتصال مناسب کاپ با استخوان استابولوم و ایجاد اتصال بادوام و محکم لازم است در مورد اثرات تخلخل، زبری سطح، آبدوستی، میزان جذب پروتئین، شیمی سطح و در نهایت دوام کاپ سه لایه در برابر تنشهای سیکی بررسی و تحلیل شود. در صورتی که نمونه‌های کامپوزیت به طور متخلخل ساخته شوند امکان بررسی نفوذ بافت استخوانی به آنها، رگزایی، غضروفی شدن، و تشکیل خارهای استخوانی (Trabeculation) بسته به اندازه حفرات و میزان تخلخل وجود خواهد داشت.



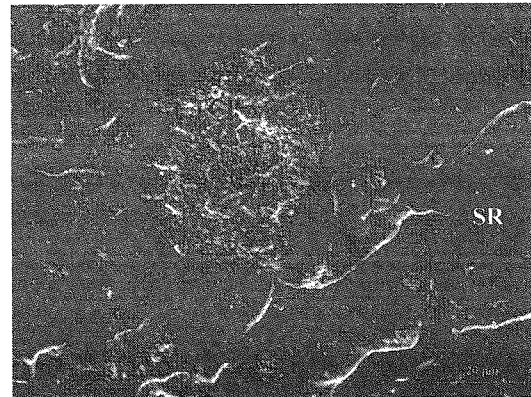
شکل (۲): تصویر برداری اشعه ایکس از مفصل مصنوعی بدون سیمان کاشته شده در خانم ۶۳ ساله مبتلا به التهاب مفاصل [۷]



شکل (۱): شکل شماتیک پروتز مفصل ران از نوع بدون سیمان که در آن قاب فلزی متخلخل به وسیله پیچ به استخوان لگن محکم شده است [۷]



۳-ب: ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت در زمینه سیلیکونی



۳-الف: ذرات پودر بسیار ریز (beta-TCP) در زمینه سیلیکونی

شکل (۳): تصاویر میکروسکوپ الکترونی $\times 1000$ (SEM) از سطح مقطع شکست نمونه های کامپوزیت الف) ST25 ب) SH25

جدول (۱): فرمولاسیون کامپوزیت های بیوسرامیک - سیلیکون

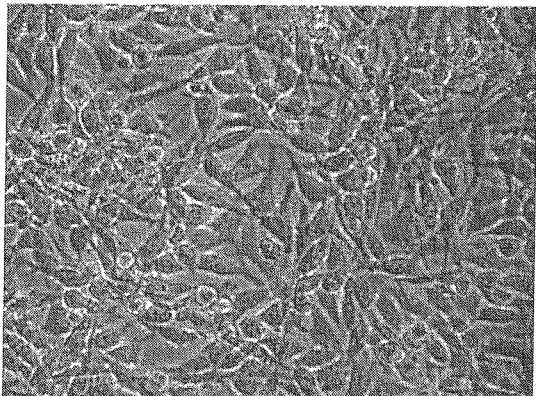
DCP(phr)	DYNASYLAN	VETO(phr)	UHMWPE(phr)	β -TCP(phr)	HA(phr)	PDMS (phr)	کامپوزیت
1	----	----	----	----	----	100	S
1	----	----	----	25	----	100	ST25
1	----	----	----	----	25	100	SH25
1	----	5	----	25	----	100	ST25V5
1	----	----	25	----	----	100	SP25

S: Silicone Rubber(WACKER- ELASTOSIL[®] R 401/60-HTV) ; T: β -TCP(Powder- Aldrich- ASTM F1088-1992);
H: Hydroxyapatite(Powder-500 μ m- ASTM F1185-1993 Russia University); P:UHMWPE(Ticona-GUR 1050)

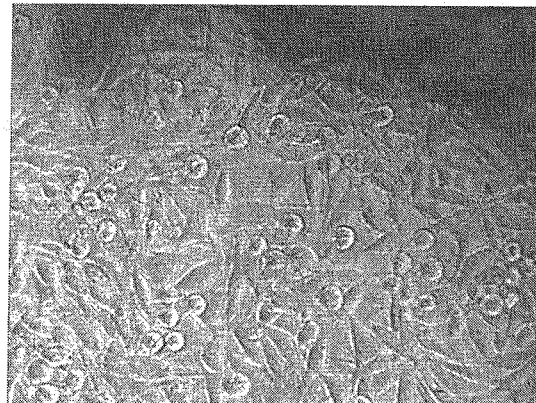
D: Vinylethoxysilane , oligomer Dynasylan[®] 6498 V:Vinyltriethoxy silane Dynasylan[®] VETO
DCP:Dicumyl Peroxide(Degussa)

جدول (۲): نتایج آزمونهای In-Vitro کشت سلولهای L929 در مجاورت نمونه‌های کامپوزیت

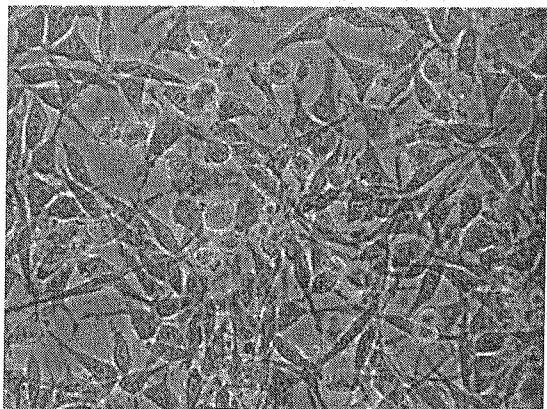
ردیف	کامپوزیت	میزان سازگاری زیستی	شماره شکل
۱	S	متوسط	شکل ۴-الف
۲	ST25	عالی	شکل ۴-ب
۳	SH25	خوب	شکل ۴-ج
۴	ST25V5	متوسط	شکل ۴-د
۵	SP25	متوسط	شکل ۴-ه
۶	کنترل منفی - پلی استایرین	عالی	شکل ۴-و



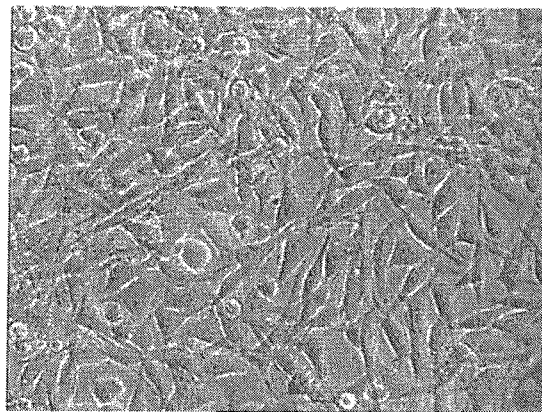
شکل (۴-ج): تصویر میکروسکوپ نوری از کشت سلولی نمونه SH25 (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر). اگرچه تعداد سلول‌های چسبیده به سطح زیاد می‌باشد ولی عدم پهن شدن کافی آنها و تعداد قابل توجه سلول‌های مرده دال بر سازگاری با درجه خوب نمونه در مقایسه با کنترل است.



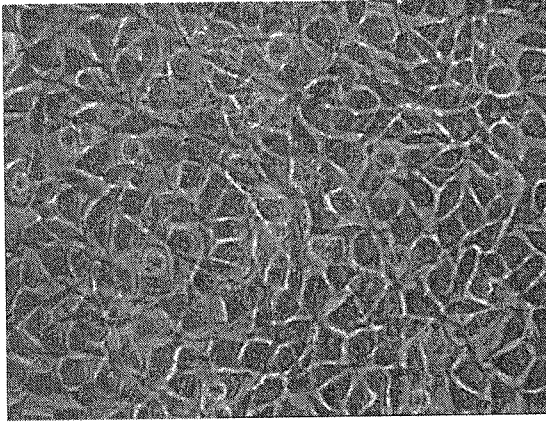
شکل (۴-الف): تصویر میکروسکوپ نوری از کشت سلولی نمونه S (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر). اگرچه سلول‌های چسبیده دوکی شکل سطح زیادی از ورقه سیلیکونی را پوشانده‌اند؛ ولی تعداد سلول‌های مرده در مقایسه با نمونه کنترل زیاد بوده و درجه سازگاری متوسط است.



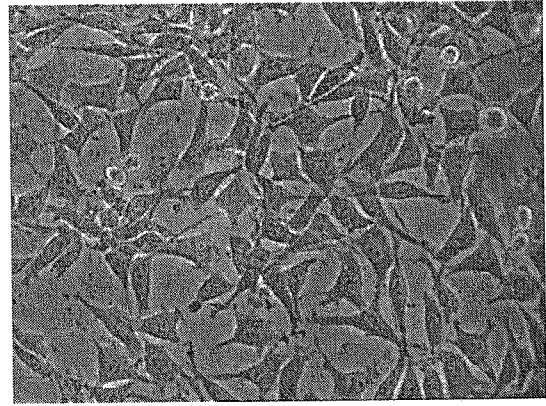
شکل (۴-د): تصویر میکروسکوپ نوری از کشت سلولی نمونه ST25V5 (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر). وجود سطوح نمونه خالی از سلول، عدم پهن شدن کافی سلول‌ها و تعدد سلول‌های مرده شناور بر سطح سوسپانسیون دال بر درجه متوسط سازگاری زیستی است.



شکل (۴-ب): تصویر میکروسکوپ نوری از کشت سلولی نمونه ST25 (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر). رشد مناسب سلول‌ها و پوشیده شدن تمامی سطح از سلول‌های دوکی شکل و پهن شدن آنها و از طرفی ناچیز بودن تعداد سلول‌های مرده دال بر سازگاری عالی نمونه در مقایسه با نمونه کنترل است.



شکل (۴-۵): تصویر میکروسکوپ نوری از کشت سلولی کنترل منفی پلی استایرین (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر). تعداد زیاد سلول‌های چسبیده به نمونه، پهن و دوکی شدن و تعداد کم سلول‌های مرده کروی شده شناور بر سطح سوسپانسیون، نشان از سازگاری بیولوژیکی عالی نمونه کنترل است.



شکل (۴-۵): تصویر میکروسکوپ نوری از کشت سلولی نمونه SP25 (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر). وجود سطوح نمونه خالی از سلول و عدم چسبیدن سلول‌ها نتیجتاً، دال بر درجه متوسط سازگاری زیستی است.

مراجع

- McCombe, P.; Williams, SA.; "A comparison of polyethylene wears rates between cemented and cementless cups. A prospective, randomised trial"; J Bone Joint Surg Br.; 86B; P. 344-9; 2004. [۱۲]
- Ritter, MA.; "The cemented acetabular component of a total hip replacement"; Clin Ortho. Rel. Res.; P. 69-75.; 1995. [۱۳]
- Mirzadeh, H.; Bogdanov, V.V.; "A Thermoplastic Rubber Composition for Medical Purpose" Iranian Polymer Journal, Vol. 10 No. 1, 2001 [۱۴]
- Furuzono, T. et al.; "Physical and Biological Evaluation of Sintered HA/PDMS Composite with covalent Bonding for a Percutaneous Implant Material"; J Biomed Mater Res; 65B; P. 217-226; 2003 [۱۵]
- طلوع کوروشی، علیرضا؛ طراحی و ساخت کاپ پروتز مفصل ران بر پایه UHMWPE, PDMS, HA و بهینه سازی خواص پایان نامه دکتری مهندسی پزشکی؛ فصل سوم؛ خواص مکانیکی؛ دانشگاه صنعتی امیرکبیر؛ ۱۳۸۵ [۱۶]
- ISO 10993-5 "Biological Evaluation of Medical Devices-Test for Cytotoxicity: in Vitro Methods" 1992. [۱۷]
- AS 3787 "Blood Collection Bags-Methods of Test for Cytotoxicity" Appendix P, 1997. [۱۸]
- Yerby, SA.; Paal, A.; Young, P.; Beaupre, G.; Ohashi, K.; Goodman, S.; "The effect of a silane coupling agent on the bond strength of bone cement and cobalt-chrome alloy" J. Biomed Mater Res; Jan; 49(1):127-33; 2000. [۱۹]
- Canale, T.; "Campbell's Operative Orthopedic" Vol.1, 11th Edition, Mosby, 2003. [۱]
- Cameron, H.U.; "The Technique of Total Hip Arthroplasty" Mosby, 2002. [۲]
- Adams; "Fundamentals of Orthopedic and Fractures" 4th, 1999. [۳]
- Charnley, J.; "Low Friction Arthroplasty of the Hip-Theory and Practice"; Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York; 1979. [۴]
- Hrlmer, P.; Nielsen, PT.; "Fracture of ceramic femoral heads in total hip arthroplasty"; J of Arthroplasty 8:567, 1993. [۵]
- Elfick, A.; Hall, R.; Pinder, I., Unsworth, A.; "The influence of femoral head surface roughness on the wear of ultrahigh molecular weight polyethylene sockets in cementless total hip replacement"; J. Biomed. Mater. Res. 48 P. 712-718; 1999. [۶]
- Sedel, L.; Cabanela M.E.; "Hip Surgery-Materials and Developments" Mosby, USA, 1998. [۷]
- Heck, DA.; Partridge, CM.; Reuben, JD. et al; "Prosthetic component failures in hip arthroplasty surgery"; J Arthroplasty 10; P. 575; 1995. [۸]
- Park, D.; Park, J.B.; "Interfacial Strength of Compression-Molded Specimens Between PMMA Powder and PMMA/MMA Monomer Solution - Treated UHMWPE Powder" J. Biomed. Mater. Res.; 53; P.737-747; 2000. [۹]
- Engh, CA.; Bobyn, JD.; Glassman, AH.; "Porous-coated hip replacement: the factors governing bone ingrowth, stress shielding, and clinical results"; J. Bone Joint Surg. 69-B:45 1987. [۱۰]
- Cook, SD.; Barrack, RL.; Thomas, KA.; Haddad, RJ.; "Quantitative analysis of tissue growth into human porous total hip components"; J Arthroplasty; 3:249, 1988. [۱۱]

۵- زیر نویس:

Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry