مقاله تحقیقی

مطالعه اثر سرامیکهای زیست سازگار در محیط زنده به منظور ساخت پروتز استخوان

مژده صالح‌نیا Ph.D.*، ابراهیم اصالتی M.Sc.**، عبدالهادی رئیسی M.Sc.**، مهرداد کوکبی Ph.D.**

* گروه علوم تشریح دانشگاه تربیت مدرس

** گروه پلیمر بخش مهندسی شیمی دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ وصول: اسفند ماه ۸۱، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۸۲

چکیده

هدف: امروزه تلاشهای فراوانی به‌منظور جبران ضایعات استخوانی، به‌ویژه ضایعات ناشی از درمان سرطان با استفاده از ترکیباتی شبیه به استخوان صورت می‌گیرد. از مناسب‌ترین این ترکیبات، سرامیکهای زیست سازگار است. تحقیقات اخیر نشان داده است که سرامیکهای زیست سازگار در محیط زنده باعث پرولیفراسیون استئوبلاست و تحریک آنها برای تولید ماتریکس استخوانی می‌شوند. مهمترین هدف تحقیق حاضر بررسی امکان استفاده از آلومینا، به عنوان سرامیک زیست سازگار، به منظور ساخت قطعات استخوانی و به‌کارگیری آنها در بدن است، تا بتوان از قطعهٔ مذکور در جایگزینی ضایعات استخوانی ایجاد شده در اثر برداشت بافت سرطانی، استفاده نمود. در اولین گام واکنشهای دفاعی بدن میزبان و عملکرد این ترکیب در محیط زنده بررسی شد.

مواد و روشها: تحت شرایط بیهوشی کنترل شده، مقدار ۲۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم از ترکیب سرامیک زیست سازگار آلومینا در چند ناحیه از زیر جلد خرگوش و موش سوری بالغ کاشته و به ترتیب پس از گذشت یک و دو ماه نمونهٔ پوستی برداشته شد. بعد از تثبیت کردن، پاساژ دادن و قالب‌گیری در پارافین، برشهای بافتی با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده، نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، واکنش التهابی مشاهده نشد و تراکم سلولهای لنفوئیدی طبیعی بود، همچنین تغییرات مورفولوژیک در سطح پوست دیده نشد.

نتیجه‌گیری: بنابراین می‌توان اظهار داشت؛ ترکیب سرامیک زیست سازگار آلومینا برای ساخت مدل استخوانی و جایگزینی ضایعات استخوانی ناشی از درمان سرطان قابل استفاده است.

واژه‌های کلیدی: آلومینا، سرامیک زیست سازگار، کاشت زیر پوستی

مقدمه

امروزه تلاشهای فراوانی به‌منظور جبران ضایعات استخوانی، به‌ویژه ضایعات ناشی از درمان سرطان یا تصادفات با استفاده از ترکیباتی شبیه به استخوان صورت می‌گیرد. یکی از مناسب‌ترین این ترکیبات، سرامیکهای زیست سازگار[1] است [۵-۱].

سرامیکهای زیست سازگار را می‌توان به سه گروه عمده تقسیم کرد:

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، گروه علوم تشریح
صندوق پستی ۱۱۱-۱۴۱۱۵ Email: mogdeh@dr.com

1- Bioceramics

۱ـ آنهایی که از نظر زیستی خنثی[1] هستند ۲ـ سرامیکهای زیست فعال سطحی[2] ۳ـ سرامیکهای زیست فعال قابل جذب[3]

از گروه اول آلومینا، از گروه دوم ئیدروکسی آپاتیت و شیشه‌های زیست سازگار[4] و از گروه سوم تری کلسیم فسفات و تترااکسید فسفات را می‌توان نام برد [۶].

بیوسرامیکها بیشتر در ساخت پروتزها در کلینیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. علت این امر می‌تواند مربوط به خصوصیات خاص این ترکیب باشد از جمله استحکام بالا و مقاومت در برابر فرسایش و تخریب و همچنین سمّی نبودن آن برای بدن و قدرت سازگاری بالای آن با شرایط درون بدن است [۳و۷]. تحقیقات همچنین نشان داده است که سرامیکهای زیست سازگار در محیط بدن[5] باعث پرولیفراسیون و تحریک استئوبلاستها برای ساخت ماتریس استخوانی می‌شود [۱۱-۸].

ابتدایی‌ترین کاربرد آلومینا در پزشکی مربوط به دهۀ ۱۹۳۰ است، پس از آن تاکنون استفاده‌های مختلفی از بیوسرامیکها در پزشکی مطرح شده است که می‌توان به پروتزهای بخش آلوئلار استخوان فک، زانوی کامل، نمونه دندانهای مختلف، سر استخوان ران و حفرۀ استابولوم استخوان هیپ و قطعاتی از گوش میانی اشاره کرد [۲و۴].

علاوه بر این؛ گزارشهای زیادی درخصوص استفاده از سرامیکهای زیست سازگار در معالجه بیماران دچار متاستاز نخاعی که مهره‌های ستون فقرات آنها دچار آسیب شده بود، منتشر شده است. تحقیقات نشان داده که در این خصوص موفقیت خوبی نیز کسب شده است [۱۲ و ۱۳].

به هر حال هر ترکیبی که وارد بدن می‌شود می‌تواند پاسخ بافت زنده بدن را در برداشته باشد. اما سرامیکهای زیست سازگار با وجود این که از نظر ساختمان ملکولی از بافت زنده بدن متفاوت هستند، خوشبختانه در بدن نسبتاً پایدار بوده و با گذشت زمان کمتر دچار تخریب می‌شود و بدن نسبت به آنها واکنش خاصی ایجاد نمی‌کند [۱۴و۱۵].

یکی از روشهای مطرح شده توسط استانداردهای ASTM[6] و ISO[7] بررسی کوتاه مدت و درازمدت انتقال سرامیک زیست سازگار در بافتهای نرم و نحوۀ واکنش این بخشها نسبت به یکدیگر از طریق مطالعۀ بافتی است [۱۶].

با توجه به اهمیت و افزایش کاربرد سرامیکهای زیست سازگار در ساخت پروتزهای استخوانی و به دلیل قدرت زیست سازگاری بالا و نیز مقاومت زیاد این ترکیبات، سعی شده است برای اولین بار در ایران نسبت به ساخت پروتز استخوانی (استخوان مصنوعی) از سرامیک زیست سازگار آلومینا اقدام شود. بنابراین لازم است در اولین گام با توجه به استانداردهای نوع ISO و ASTM واکنش بدن در مقابل این ترکیب بررسی و نحوۀ سازگاری این ترکیب مشخص شود. بدین منظور در این تحقیق پس از انتقال زیر پوستی پودرآلومینا نحوۀ واکنش متقابل بدن و آلومینا توسط میکروسکوپ نوری ارزیابی شد.

مواد و روشها

برای بررسی خصوصیات و واکنش متقابل سرامیکهای زیست سازگار آلومینا و بدن مطالعۀ کیفی بر روی دوگونۀ جانور انجام شد.

نگهداری حیوانات و روش بیهوش کردن آنها

جانوران مورد مطالعه شامل گروههای زیر بودند:

۱ـ موش نر بالغ نژاد Balb/c با سنی بین ۱۰-۶ هفته (۸ رأس)

۲ـ خرگوش مادۀ بالغ با وزن ۳-۲ـ کیلوگرم (۲ رأس)

پس از تهیه جانوران به‌منظور تطبیق با شرایط حیوانخانه به مدت یک هفته در شرایط یکسان قرار گرفتند.

موشهای نر با به‌کارگیری ۰/۵ میلی‌لیتر ترکیب بیهوشی آورتین ۲/۵ درصد که به شکل داخل صفاتی تزریق شد، بیهوش شدند. خرگوشها نیز با به‌کارگیری ترکیب کتامین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و رامپان (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به شکل داخل وریدی بیهوش شدند.

1- Bioinert bioceramics 2- Surface bioactive ceramics

3- Resorbable bioactive bioceramics

4- Bioglasses 5- In vivo

6- American Standard of Testing Material

7- International Standard Organization

مرحله کاشت سرامیک زیست سازگار

در چند ناحیه از پشت خرگوشها پس از تمیز کردن و تراشیدن موهای سطح بدن تعداد ۳-۱ شکاف به طول ۱سانتی‌متر با کمک تیغ جراحی استریل ایجاد شد. در مورد موشها در ناحیهٔ پشت سر جانوران پس از تراشیدن موهای ناحیه، برش پوستی به طول ۰/۵ سانتی‌متر ایجاد شد. سپس با کمک پنس ناحیهٔ زیر جلدی نمایان شده، آماده برای قرار دادن پودر سرامیک زیست سازگار شد. مقدار ۲۰mg/kg از پودر سرامیک آلومینا به شکل زیر جلدی منتقل شد. پس از بخیه و ضدعفونی کردن محل کاشت نمونه سرامیک زیست سازگار، جانوران در شرایط حیوانخانه تحت مراقبت قرار گرفتند.

نمونه‌برداری

پس از گذشت به ترتیب یک هفته، یک و دو ماه نمونه‌های بافتی از محل کاشت سرامیک زیست سازگار و نیز نواحی دیگر پوستی خرگوش به عنوان شاهد برداشته شد و نمونه‌های مربوط به موشها نیز پس از گذشت یک ماه برداشت شد.

نمونه‌های بافتی در محلول بوئن تثبیت و پس از گذشت ۴۸ ساعت به منظور مطالعه میکروسکوپ نوری با الکل اتیلیک آبگیری، با گزیلل شفاف سازی و در پارافین قالبگیری شد.

برشهایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شده، با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد و زیر میکروسکوپ نوری مورد مشاهده و ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

بررسی میکروسکوپ نوری روی نمونه‌های پوستی که در آنها پودر آلومینا کاشته شده است، در مقایسه با گروه شاهد خصوصیات زیر را نشان می‌دهد: از نظر مورفولوژی تفاوت خاصی بین پوست خرگوش و موش دیده نشد. همچنین نمونه‌های برداشت شده در سه دورهٔ زمانی تفاوت مورفولژیک نداشتند.

اپی‌تلیوم نمای طبیعی داشت و از نوع مطبق سنگفرشی شاخی بوده که ضخامت اپیتیلوم در پوست موشها (شکل ۱و ۲) در مقایسه با خرگوش (شکل ۳) کمی کمتر بود. علائمی از واکنش التهابی در محل کاشت سرامیک زیست سازگار یا حاشیه محل کاشت دیده نشد و تراکم لنفوسیتها یا لکوسیتهای مهاجر در مقایسه با گروه شاهد طبیعی بود (شکل ۲ و ۳).

پودر سرامیک زیست سازگار نمای تیره و سیاه‌رنگی داشته؛ در اطراف پودرها افزایش خاصی در بافت فیبروز دیده نشده، تراکم رشته‌های بافت همبند و عناصر سلول آن طبیعی بود.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پس از گذشت یک هفته، یک و دوماه هیچ واکنش التهابی خاصی در محل و اطراف کاشت پودر سرامیک زیست سازگار مشاهده نشد و اینفیلتراسیون سلولهای ماکروفاژ یا لکوسیت نیز دیده نشد. این امر نشان‌دهندهٔ قدرت زیست سازگاری خوب سرامیک آلومیناست. البته گزارشهای قبلی در این زمینه نیز نشان دهنده آن است که آلومینا قدرت تطبیق با شرایط داخل بدن را داشته، اثرهای سمّی آن نیز مشاهده نشد [۳،۴،۷و۱۷]. Geiger و همکارش در گزارش سال ۱۹۸۰ خود که از سرامیک آلومینو موکسید در پروتز استخوان ماگزیلا استفاده کرده بود، پس از گذشت ۴ ماه مشاهده کرد که بافت استخوانی جدیدی روی آلومینا شکل گرفته و هیچ‌گونه واکنش ایمنولوژیکی مشاهده نکرد[۴]. حتی اخیرا Liagra و همکارانش نشان دادند که به‌کارگیری بیوسرامیک آلومینا و زیرکونیوم در حضور سلولهای سینوویال تاثیر منفی را بر سنتز اینترلوکین ۱و ۶ یا فعالیت متابولیکی اسید آراشیدونیک ندارد [۱۷].

در پاره‌ای از موارد پس از کاشت سرامیک زیست سازگار بافت فیبروز در محل کاشت پروتز گسترش می‌یابد که این امر می‌تواند در کارآیی پروتز کاشته شده تأثیر منفی بگذارد [۱۸و۱۹]. ایجاد بافت کلاژنوس و بافت کپسولی در اطراف پروتز باعث مهار و محدود شدن حرکات مفاصل اطراف پروتز می‌شود. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تهاجم سلولهای فیبروبلاستی و نیز هیچ علائمی از تشکیل بافت فیبروز دیده نشد.

نتایج محققین قبلی و نیز نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که سرامیک آلومینا می‌تواند برای کاربردهای کلینیکی

مؤثر باشد؛ به‌خصوص که در محیطهای فیزیولوژیک به شدت زیست سازگار است. اگرچه مطالعات بیشتری برای حصول این هدف نیاز است زیرا پس از قرارگیری سرامیک زیست سازگار در بدن احتمال جذب شدن یا تحلیل (حل شدن) بخشی از عناصر آن با توجه به شرایط محیط اطراف کاشت پروتز[1] به خصوص تغییرات pH اطراف وجود دارد؛ حتی احتمال دارد که مورد هجوم سلولهای ماکروفاژو یا استئوکلاست قرار بگیرد. به هر حال این امر در ارتوپدی اهمیت دارد چراکه پس از گذشت زمان در صورت حل شدن عناصر پروتز و سست شدن آن، کارآیی عضو در محل پروتز کاهش می‌یابد.

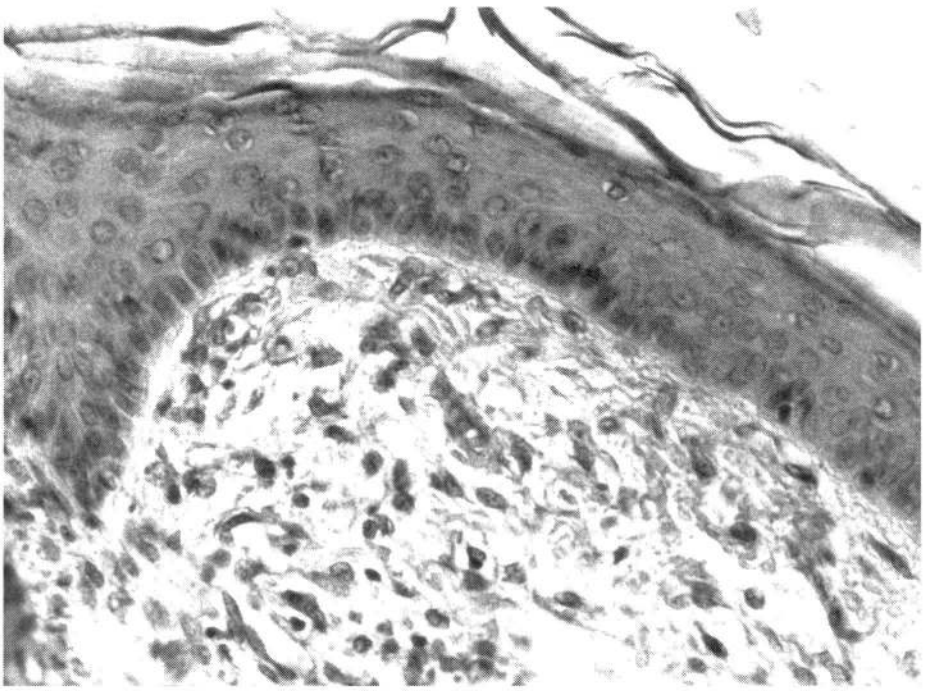
References

1. **Christel PS.** Biocompatibility of surgical-grade dense polycrystalline alumina. Clin Orthop 1992; 282: 10-18
2. **Gooke FW.** Ceramics in orthopedic surgery. Clin Orthop 1992; 276: 135-146
3. **Heimke G.** Use of alumina ceramics in medicine. In: Hulbert 3ed, Hulbert SF, eds. Bioceramics. Vol 3, Indiana: Rose-Hulman Institute of Technology. 1990, 19-30
4. **Geiger SA, Pesch HJ.** Long term behavior of aluminumoxide ceramic implantations in the region of pneumatized cavities in animal experiments. Dtsch Zahnarztl Z. 1980; 35: 57-60
5. **Boutin P, Christel P, Dorlot JM, Meunier A, De Requancourt A, Blanquaert D, Herman S, Sedel L, Witvoet J.** The use of dense alumina-alumina ceramic combination in total hip replacement. J Biomed Mater Res. 1988; 22: 1203-1232
6. **Oohishi H, Hench LL, Wilson J, Suginava F, Tsuji E, Kushitahi S, Iwaki H.** Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes. J Biomed Mater Res. 1999; 44: 31-43
7. **Griss P, Heimke G, Andrianwerbury H, Krempien B, Teipa S, Lauterbach HJ, Hartung HJ.** Morphological and biomedical aspects of Al2O3 ceramic joint replacement. Experimental results and design considerations for human endoprostheses. J Biomed Mater Res Symp. 1975; 6: 177-188
8. **Okumura M, Ohgushi H, Tamai S, Shos EC.** Primary bone formation in porous hydraxyapatite ceramic: a light and electron microscopic study. Cells and Materials, 1991: 1-1: 29-34
9. **Okumura M, Ohgashi H, Yoshikawa T, Clemens AB, Hendrik KK.** Analysis of primary bone formation in porous alumina: a fluorescence and scanning electron microscopic study of marrow cell induced osteogenesis. Biomed Mater Eng. 1992; 2: 191-201
10. **Takaoka T, Okumura M. Ohgushi H, Inone K, Takakura Y, Tamai S.** Histological and biochemical evaluation of osteogenic response in porous hydroxyapatite coated alumina ceramics. Biomaterials 1996; 17 (15): 1499-1505
11. **Oonishi- H, Hench LL, Wilson J,sugihara F, Tsuji E, Kushitani S, Iwaki H.** Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes. J Biomed Mater Res. 1999; 44(1): 31-44
12. **Ono K. Yonenobu K, Ebara S.** Prosthetic replacement surgery for spine metastasis. In: UchidaA, Ono K,eds. Recent advancesin musculoskeletal oncology. Tokyo, Springer-Verlog. 1992, pp 208-218
13. **Hosono N, Yonenobu K, Fuji T, Ebara S, Yamashita K and Ono K.** Vertebral body replacement with a ceramic prosthesis for metastatic spinal tumors. Spine

1- Microenvironmet

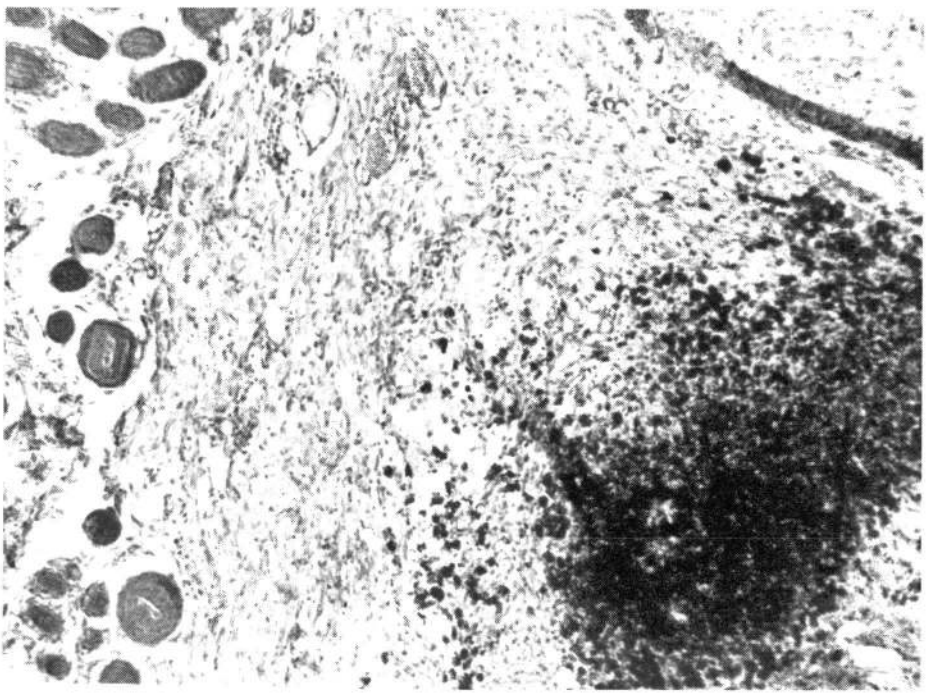
1995; 20 (22): 2454-2462

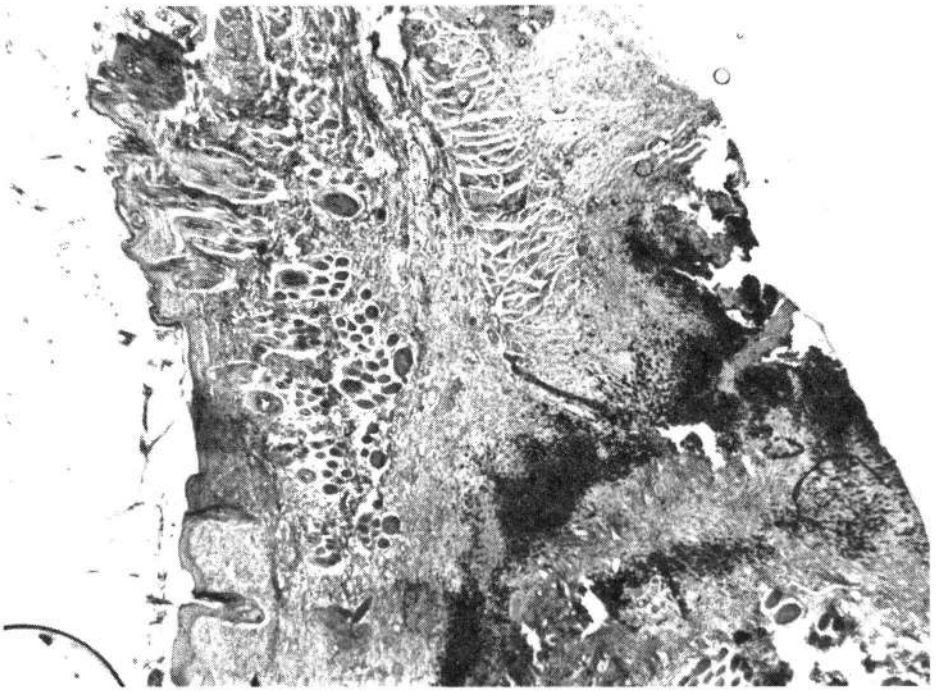
14. **Onoishi H.** Interfacial reactions to bioactive and non-bioactive bone cements: In: Davies JE, editor. The bone biomaterial interface. Toronto: University of Toronto Press: 1991, p. 321-333.
15. **Cole I, Dan N, Anker A.** Bone replacement in head and neck surgery: a biocompatible alternative. Aust N Z J Surg. 1996; 66(7): 469-72
16. **Bergsma JE, Rozema FR, Bos RRM, Boering G, Bruij WC, Pennigs AJ.** In vivo degradation and biocompatibility stude of invitro pre-degraded as polylactide particles. Biomaterials 1995; 16: 267-274
17. **Liagre B, Moalic S, Vergne P, Charissoux JL, Bernache-Assollant D, Beneytout JL.** Effects of alumina and zirconium dioxide particles on arachidonin acid metabolism and proinlammatory interleukin production in osteoarthritis and rheumatid syovial cells. J Bone Joint Surg Br. 2002; 84(6): 920-830
18. **Ratner BD.** New ideas in biomaterial science-a path to engineered biomaterials. J Biomed Mater Res. 1993; 27: 837-850
19. **Brauker JH, Martinson LA, Young SK, Johnson RC.** Local inflamatory response around diffusion chambers containing xenograft. Non specific destruction of tissue and decreased local vascularisation. Transplantation 1996; 61: 1671-1677



شکل ۱. تصویری از پوست موش که طبقات مختلف پوست دیده می‌شود. رنگ‌آمیزی: H&E . بزرگنمایی: ۴۰۰ ×

شکل ۲. محل کاشت سرامیک زیست سازگار آلومینا در ناحیه زیر پوستی موش،مناطق تیره نشانگر وجود سرامیک آلومینا است.واکنش التهابی نیز دیده نمی‌شود. رنگ‌آمیزی: H&E ، بزرگنمایی: ۲۰۰ ×





شکل ۳. محل کاشت سرامیک زیست سازگار آلومینا در ناحیه زیر پوستی خرگوش، رنگ‌آمیزی: H&E ، بزرگنمایی: ۱۰۰ ×