

## دارورسانی هدفمند از ایمپلنت بافت سخت با پوشش دولایه

### نانولوله‌های اکسید تیتانیوم و نانوریسمان‌های پلیمری متخلخل

کمتر است. مواد زیست فعال با بدن پیوند شیمیایی برقرار کرده و تعویض یونی بین بافت و آن‌ها اتفاق می‌افتد؛ مانند هیدروکسی آپاتیت. دسته زیست تخریب پذیر، با گذشت زمان تخریب شده و خود و محصولات تخریبشان برای بدن سمی نیستند؛ برای مثال تری کلسیم فسفات.

برای کاشتنی جایگزین استخوان، علاوه بر سه ویژگی فوق، خصوصیت دیگری به نام یکپارچگی با بافت سخت نیز مطرح است. این ویژگی باعث می‌شود که ارتباط مستقیم و بی‌واسطه با بافت سخت بدون هیچ نوع بافت نرم، آب و یا خون برقرار شود. یک مثال بارز، تیتانیوم و آلیاژهای آن است که به دلیل چگالی مناسب، خواص مکانیکی کافی، استحکام بالا، مدول الاستیک پایین، مقاومت خوردگی خوب و زیست سازگاری مطلوب، بهترین گزینه برای جایگزینی بافت سخت است. این فلز زیست فعال نیست؛ بنابراین زمان زیادی طول می‌کشد تا بهبودی حاصل شود. از آنجاکه نخستین تماس سلول‌ها با کاشتنی در سطح ایمپلنت رخ می‌دهد، برای کمک به رشد بافت روی سطح و داخل حفره‌های متخلخل، لازم است عملیات سطحی روی آلیاژ انجام شود. یکی از راه‌های اصلاح سطح فلز که منجر به ایجاد زیست‌فعالی می‌شود، عملیات آندایزینگ است.

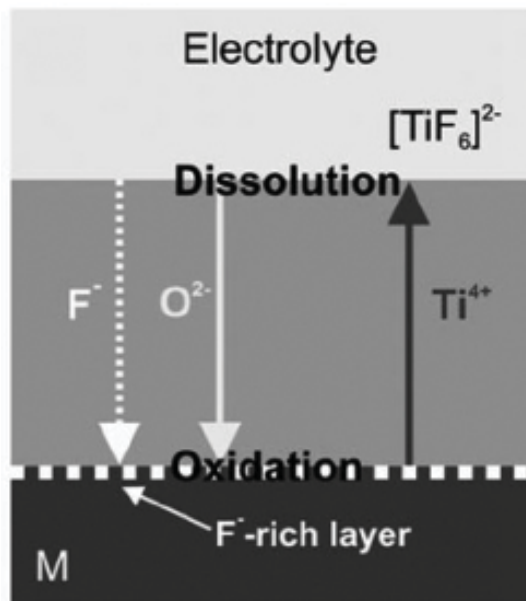
در حال حاضر، بهترین گزینه برای کاشتنی‌های بافت سخت، تیتانیوم است. تیتانیوم عنصری آلوتروپیک (یعنی دارای بیش از یک ساختار کریستالی است) که در دمای اتاق، فاز  $\alpha$  با ساختار کریستالی هگزاگونال فشرده (HCP) و در دمای  $883^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد به فاز  $\beta$  با ساختار کریستالی مکعب مرکزدار (BCC) تغییر می‌کند. آلیاژ دوفازی Ti6Al4V به دلیل داشتن چگالی مناسب، استحکام بالا و مقاومت خوردگی خوب، بیشترین مصرف را در بین آلیاژهای تیتانیوم داراست. اکسید تیتانیوم دارای ساختارهای کریستالی روتایل، آناتاز، و بروکایت است و به سبب خواص فتوکاتالیستی، برای گندزدایی و نابودسازی مواد سمی و میکروبی قابل استفاده است.

در این مقاله ضمن مرور کارهای انجام شده در سال‌های اخیر در ایران، در رابطه با کاشتنی‌های بافت سخت، اصلاح سطح و ایجاد تخلخل در ایمپلنت تیتانیومی، به عفونت‌های ناشی از قرارگیری

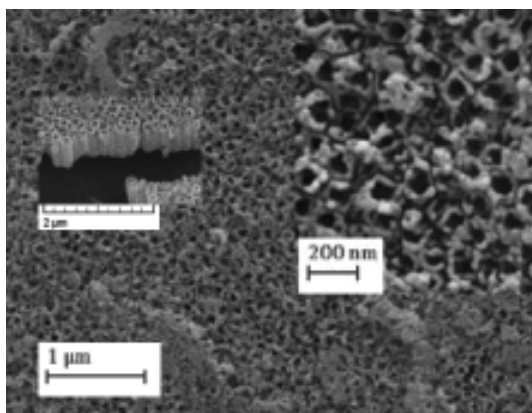
بیماری و آسیب استخوان، لزوم استفاده از ایمپلنت، پروتز و تثبیت‌کننده شکستگی و مفصل مصنوعی را ضروری می‌کند که علی‌رغم مزایای فراوان، موجب ایجاد عفونت، تورم و پس‌زدگی توسط بافت میزبان می‌شود. فلزاتی نظیر تیتانیوم و آلیاژهای آن، گزینه‌های مناسبی برای جایگزینی بافت سخت آسیب‌دیده هستند ولی عیوبی همچون وزن زیاد، خواص مکانیکی متفاوت و عدم زیست‌فعالی، نیاز به ایجاد تخلخل و اصلاح سطح پیش از به‌کارگیری را ضرورت می‌بخشد. در این صورت می‌توان به‌منظور کاهش احتمال عفونت، پوششی از داروهای آنتی‌بیوتیک بر زیست‌ماده افزود. برای جلوگیری از رهايش انفجاری و ایجاد رهايش تدریجی دارو، پوشش‌دهی به‌روش الکتروروسی یک بافت متخلخل و ریسمانی بر سطح ایمپلنت قابل انجام است. در این مقاله، ضمن مرور نحوه ساخت و بهبود خواص کاشتنی‌های بافت سخت، پیشرفت‌های اخیر در اصلاح سطح از طریق ایجاد نانولوله و بارگذاری و رهايش دارو و پوشش‌دهی لایه پلیمری ریسمانی برای بهبود ارتباط بین بافت زنده و کاشتنی مورد بررسی قرار گرفته است.

#### مقدمه

برای جایگزینی نسوج از دست‌رفته و ترمیم اعضای ازکارافتاده، از بیومواد (در اغلب موارد غیرزنده) استفاده می‌شود. میزان پذیرفته‌شدن ماده مورد استفاده توسط بافت میزبان را زیست‌سازگاری می‌نامند. اندرکنش مواد با بدن به سه دسته زیست‌ختنی، زیست‌فعال و زیست‌تخریب‌پذیر تقسیم می‌شود. مواد زیست‌ختنی وقتی در بدن قرار می‌گیرند، با یک لایه فیبروزی از جنس کلاژن احاطه می‌شوند. بیشتر بودن ضخامت کلاژن، نشانه زیست‌سازگاری



(الف)



(ب)

شکل ۱ (الف) طرحواره فرآیند آندایزینگ تیتانیوم برای تشکیل نانولوله‌های تیتانیا و (ب) تصویر نمونه ساخته شده به روش الکتروفوریتیک در این تحقیق

### عفونت کاشتنی‌های سنتزی و تشکیل بیوفیلم حاوی دارو

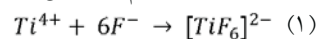
سهام زیادی از عفونت‌های کاشتنی‌های استخوانی از استافیلوکوکوسی‌ها ناشی می‌شود که از این میان دو نوع استافیلوکوکوس ارئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس گرم مثبت، مشترکاً حدود دو سوم عفونت‌ها را به وجود می‌آورند. گولاتی و همکاران از داروی غیراستروئیدی، ضدالتهاب و نامحلول در آب ایندومتاسین به روش بارگذاری Dip Coating استفاده کردند. متداول‌ترین داروهای مورد استفاده پنی‌سیلین، جت‌تامایسین، آموکسی‌سیلین و نکومایسین هستند.

کاشتنی در بدن، انواع داروهای قابل کاربرد، روش‌های بارگذاری دارو، نحوه دارورسانی هدفمند، ریسمان‌های پلیمری برای جلوگیری از رهایش انفجاری و فرآیند الکتروریسی برای تولید پوشش‌های ریسمانی اشاره می‌شود.

ساخت و مشخصه‌یابی ایمپلنت‌های تیتانیومی تک‌لایه برای استخوان انگشت و دو لایه برای استخوان‌های دورفشرده/وسط متخلخل انجام شد. ترشوندگی و زبری سطح ایمپلنت، بر چسبندگی سلولی تأثیر می‌گذارد؛ زیرا جذب فیبرونکتین (پروتئین الزامی برای چسبندگی سلولی) را افزایش می‌دهد. گرچه برخی محققین، سطح آب‌گریز را برای چسبندگی پروتئین جذاب معرفی کرده‌اند، اما به سبب باز شدن ساختار پروتئین در مجاورت سطح آب‌دوست و بلوکه شدن ساختار سلولی، برهم‌کنش سلول با سطح بیشتر می‌شود. افزایش زبری هم بر چسبندگی و تکثیر سلولی تأثیر بهبود دهنده داشته و با تولید استئوکلسین فعالیت آنزیم آکالین فسفاتاز که منجر به مینرالیزه شدن و تمایز سلول‌های استخوانی استئوبلاست می‌شوند را افزایش می‌دهد.

عملیات شیمیایی و مکانیکی برای اصلاح خواص و توپوگرافی سطح ایمپلنت‌های تیتانیومی انجام شد. پاشش پلاسمایی بر سطح ایمپلنت تیتانیومی، سندبلاست یا پاشش ذرات سرامیکی و فلزی، اچ کردن با اسید و آندایزینگ نیز باعث بهبود خواص سطح می‌شود. ایجاد ساختار متخلخل، راهی است برای کاهش نسبت وزن به استحکام و تدارک مکان مناسب برای نفوذ، لنگراندازی و چسبیدن بافت زنده به ایمپلنت. محققان نشان داده‌اند که نانولوله‌های تیتانیومی ساخته شده به روش آندایزینگ، دارای نسبت سطح به حجم بالا، فعالیت سلولی چشمگیر، تبادلات گازی و دفع مواد زائد، تغذیه خوب و انتقال مولکول‌های برقرارکننده سیگنال رشد بوده‌اند. به دلیل وجود فازهای معدنی و آلی نانومتری در استخوان، سلول‌های استئوبلاست به دلیل هماهنگی با محیط، به راحتی کلسیوم سازی می‌کنند. بار منفی دیواره نانولوله‌ها خاصیت آنتی‌باکتریال داشته و با پروتئین‌های دارای بار مثبت، اتصال استئوبلاست برقرار می‌کنند.

تیتانیوم به هر دو روش الکتروشیمیایی و الکتروفوریتیک آندایز شد. اکسیداسیون در حضور یون‌های فلوئور، ساختاری استوانه‌ای متشکل از نانولوله‌های اکسیدی تاحدی نامنظم ایجاد می‌کند:



بدون لایه فشرده دی‌اکسید تیتانیوم شکل گرفته و سپس از طریق تشکیل کمپلکس آنیونی  $TiF_6^{2-}$  و واکنش‌های اکسیداسیون و انحلال، وقتی دانسیته جریان به مقدار ثابت می‌رسد، نانولوله‌ها ایجاد می‌شوند. طرح‌واره فرآیند و مورفولوژی یک نمونه از نانولوله‌های ساخته شده در این تحقیق در شکل ۱ نشان داده شده است.

گرم مثبت به کار می‌رود. همچنین ونکومایسین مولکولی بزرگ و با بار مثبت دارد و قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی است. به دلیل آب‌دوستی، می‌تواند تا عمق نانولوله‌های تیتانیومی که آن‌ها هم آب‌دوست هستند، نفوذ کرده و رهایش کنترل شده‌تری نسبت به داروهای آب‌گریز نظیر ایندومتاسین داشته باشد.

### بارگذاری و رهایش کنترل شده دارو

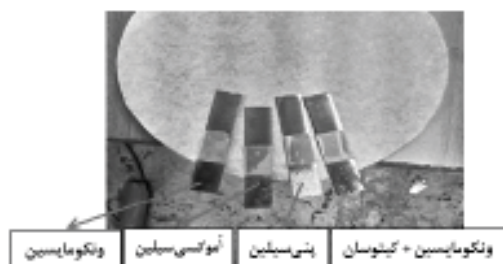
دارورسانی هدفمند فواید بسیاری از جمله کاهش میزان مصرف، تقلیل عوارض جانبی، افزایش اثرگذاری، تسریع درمان، کاهش هزینه و رضایت بیمار را به همراه دارد. مکانیزم رهایش از نانولوله‌ها مشتمل بر سه مرحله (الف) انفجار، (ب) خروج تدریجی، و (ج) رهایش پایا است. مرحله اول در ساعات نخستین و به دلیل تماس سطح حاوی دارو با محیط و مرحله دوم پس از شروع رهایش و مرحله سوم نیز در زمان پایاب شدن رهایش از درون نانولوله‌ها اتفاق می‌افتد. رهایش، به نحوه بارگذاری بستگی دارد.

بارگذاری به روش‌های گوناگون قابل انجام است؛ تبخیر روتاری Rotavapor، بستر سیال Fluidized bed، غوطه‌وری Dip Coating، اسپین کوتینگ Spincoating، رسوب‌دهی الکتریکی Electrodeposition، و رسوب‌دهی الکتروفوریتیک Electrodeposition. روش آخر به واسطه دمای فرآوری پائین، توانایی پوشش‌دهی چندجزیی بر اشکال پیچیده و زیرلایه غیرمسطح، امکان کنترل ضخامت، هزینه کم و تجهیزات ساده، در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ذرات باردار پخش شده در یک حلال مناسب تحت اعمال میدان الکتریکی به سمت الکتروود با بار مخالف حرکت کرده و در آنجا رسوب کردند (شکل ۱-الف).

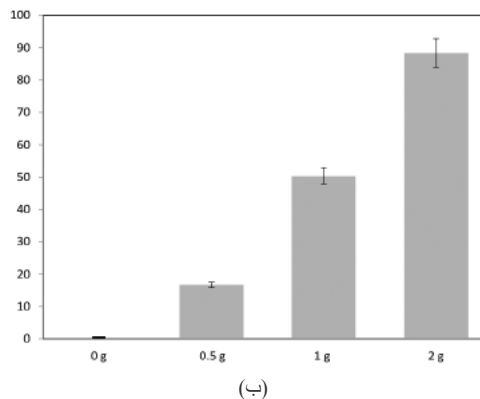
### تولید پوشش ریسمانی به کمک الکترورسی

الکترورسی روشی ساده و پرکاربرد برای تولید فیبرهای پلیمری دارای قطر چنده تا نانومتر تا چند میکرومتر با تخلخل ناهمگون است. دستگاه الکترورسی دارای منبع تغذیه، لوله موئین با یک رشته ساز متصل به ولتاژ الکتریکی بالا و یک جمع‌کننده فلزی متصل به زمین است. با اعمال میدان الکتریکی بین انتهای موئین سوزن و جمع‌کننده، مایع پلیمری از قطره معلق به مخروط تغییر شکل می‌دهد. هنگامی که میدان الکتریکی از مقدار آستانه بیشتر می‌شود، نیروی دافعه الکترواستاتیک بارهای سطحی بر کشش سطحی غلبه کرده و جت مایع باردار از نوک برآمدگی مخروطی بیرون می‌زند. غلظت محلول پلیمری باید آقدر زیاد باشد که درگیری کافی در پلیمر صورت گیرد اما آقدر هم زیاد نباشد که ویسکوزیته مانع جریان‌یابی درست پلیمر شود. کشش سطحی محلول باید به اندازه کافی کم و دانسیته بار به اندازه کافی زیاد باشد.

در این تحقیق برای بررسی اثر دارو بر قابلیت باکتری‌زدایی و جلوگیری از تشکیل بیوفیلم روی سطح کاشتنی‌های استخوانی از باکتری استافیلوکوکوس ارئوس *Staphylococcus aureus* و روش نفوذی آگار استفاده شد. باکتری داخل ارلن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور با سرعت ۱۱۰ دور بر دقیقه، کشت شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از داخل انکوباتور خارج شده و مساحت منطقه‌ای که در آن باکتری‌ها نتوانسته بودند رشد کنند اندازه‌گیری شد. آزمون ضدباکتری بر ۳ نمونه تکرار و میانگین داده‌ها گزارش شد. برای بررسی اثر غلظت دارو بر قابلیت باکتری‌زدایی، رسوب‌دهی الکتروفوریتیک از محلول حاوی مقادیر مختلف دارو انجام شد. در شکل ۲ تصویر نمونه‌های بارگذاری شده و نتیجه تست ضد باکتری برای نمونه بارگذاری شده با داروی ونکومایسین نشان داده شده است.



(الف)



شکل ۲ (الف) تصویر نمونه داروگذاری شده پس از آندایزینگ و (ب) تأثیر ضدباکتری غلظت ونکومایسین پس از ۸۰ دقیقه تماس

در میان گستره وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها، از ونکومایسین به عنوان مناسب‌ترین دارو برای درمان موضعی عفونت استخوانی استفاده شد. ونکومایسین از خانواده داروهای آنتی‌بیوتیکی گلیکوپپتیدی آب‌دوست است که خواص ضدباکتری قوی در مقابل باکتری‌های استافیلوکوکسی دارد و برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های

## ریسمان‌های پلیمری

برای ممانعت از رهایش انفجاری دارو، می‌توان از نانوریسمان‌های پلیمری متخلخل استفاده کرد. برای ساخت نانوریسمان‌ها، می‌توان محلول کیتوسان- پلی اتیلن‌اکساید را الکتروریسی کرد. کتین و کیتوسان به علت دارا بودن خواص مطلوبی همچون زیست‌سازگاری، عدم سمیت، خاصیت آنتی‌باکتریالی، و زیست‌تخریب‌پذیری، مواد امیدبخشی برای کاربردهای پزشکی هستند. کیتوسان از طریق گروه‌های عاملی OH و NH<sub>2</sub> با سطح نانوذرات رابطه برقرار می‌کند. خصوصیت کاتیونی کیتوسان باعث تمایل به برهم‌کنش الکترواستاتیک با مولکول‌های دارای بار منفی و آنیون‌های روی دیواره سلولی باکتری‌ها و ممانعت از ورود آن‌ها به سلول می‌شود. کیتوسان خواص ساختاری مشابه Glycocalyx و مخصوصاً هیالورونیک اسید داشته و می‌تواند با استخوان یکپارچه شود زیرا گروه‌های آمینه آن که بار مثبت دارند، یون‌های کلسیم و فسفات را جذب کرده و به تشکیل آپاتیت کمک می‌کنند. کیتوسان حلالیت کمی در حلال‌های آلی داشته و به سبب ویسکوزیته بالا، الکتروریسی آن چالش‌برانگیز است. برای بهبود الکتروریسی، می‌توان کیتوسان را با سایر پلیمرها مخلوط کرد. همچنین از استیک اسید آبی به عنوان حلال استفاده کرد. برخلاف کیتوسان، پلی اتیلن‌اکساید خواص الکتروریسی فوق‌العاده‌ای داشته و زیست‌سازگار است. افزودن پلی اتیلن‌اکساید به کیتوسان باعث کاهش ویسکوزیته، نرم‌شدن و تسهیل الکتروریسی می‌شود. به همین دلیل ساخت ریسمان پلیمری برای پوشش‌دهی همراه با بارگذاری دارو بر ایمپلنت بافت سخت به روش الکتروریسی مورد اقبال قرار گرفته است. در ادامه تحقیق از پوشش پلیمری برای کنترل رهایش استفاده شد که نتیجه اصل موضوع مقالات بعدی است.

## نتیجه‌گیری

هر دو قابلیت جایگزینی بافت سخت و دارو رسانی را در ایمپلنت تیتانیوم از طریق اکسیداسیون آندی و پوشش‌دهی الکتروریسی می‌توان به دست آورد. نظم و اندازه نانولوله‌های اکسید تیتانیوم قابل کنترل است و می‌تواند دارورسانی هدفمند را تسهیل کند. بارگذاری و نیکومایسین برای جلوگیری از عفونت موضعی در برابر باکتری‌ها از طریق رسوب‌دهی الکتروفوریتیک میسر است. برای جلوگیری از رهایش انفجاری، می‌توان ریسمان‌های پلیمری نانومتری را روی نانولوله‌های اکسیدتیتانیوم قرار داد.

## سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران کشور به سبب پشتیبانی از تحقیقات علمی و اعطای کرسی پژوهشی به نویسنده دوم مقاله قدردانی می‌شود.

## منابع

- [1] Ahmadi S, Mohammadi I, Sadrnezhaad SK. *Surface and Coatings Technology*. 2016;287:67-75.
- [2] Bayati MR, Aminzare M, Molaei R, Sadrnezhaad SK. *Materials Letters*. 2011;65:840-42.
- [3] Desai K, Kit K, Li J, Zivanovic S. *Biomacromolecules*. 2008;9(3):1000-6.
- [4] Gulati K, Ramakrishnan S, Aw MS, Atkins GJ, Findlay DM, Losic D. *Acta Biomaterialia*. 2012;8(1):449-56.
- [5] Homayoni H, Ravandi SA, Valizadeh M. *Carbohydrate polymers*. 2009;77(3):656-61.
- [6] Ignatova M, Manolova N, Rashkov I. *Macromolecular bioscience*. 2013;13(7):860-72.
- [7] Khalf A, Madihally SV. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;112:1-7.
- [8] Limnell T, Santos HA, Mäkilä E, Heikkilä T, Salonen J, Murzin DY, Kumar N, Laaksonen T, Peltonen L, Hirvonen J. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2011;100(8):3294-306.
- [9] Minagar S, Berndt CC, Wang J, Ivanova E, Wen C. *Acta biomaterialia*. 2012;1-8(8):2875-88.
- [10] Ogawa T, Sukotjo C, Nishimura I. *Journal of Prosthodontics*. 2002;11(4):241-7.
- [11] - Sadrnezhaad SK, Aryana M, Hassanzadeh Nemati N, Alizadeh M, Ebadifar A. *International Heat Treatment and Surface Engineering*. 2013;7(1):43-8.

[۱۲] زهره ریاحی. پروژه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی شریف، ۱۳۹۴.