

# بررسی استحکام بیوسرامیک هیدروکسی آپاتیت در محلول شبیه سازی شده با محیط بدن

سید محمود ربیعی<sup>i</sup>؛ فتح الله مضطرزاده<sup>ii</sup>؛ مهران صولتی هاشجین<sup>iii</sup>

## چکیده

سیمان‌های استخوانی به عنوان عامل تثبیت پروتز و پرکننده استخوانی در جراحی‌های ارتوپدی به کار می‌روند. از مهم‌ترین این مواد، سیمان‌های پلیمری پلی متیل متا اکریلاتی (PMMA) هستند. با وجود کثرت استفاده از این سیمان‌ها، مشکلات زیستی فراوانی در خصوص این مواد وجود داشته است، از این رو، تحقیقات زیادی روی ساخت سیمان‌های سرامیکی شده است. در این تحقیق، به بررسی نوع جدیدی از سیمان کلسیم فسفاتی سنتز شده و استحکام مکانیکی آن در محیط شبیه سازی شده با بدن پرداخته شد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد، محیط خورنده بدن نه تنها سبب کاهش استحکام سیمان نیست؛ بلکه در بسیاری از موارد افزایش استحکام را نیز به همراه داشته است.

## کلمات کلیدی

بیوسرامیک، سیمان استخوان، هیدروکسی آپاتیت، محلول شبیه سازی شده با محیط بدن، استحکام مکانیکی

## *Strength Evaluation of Hydroxyapatite Bioceramic in Simulated Body Fluid*

S. M. Rabiee; F. Moztarzadeh; M. Solati Hashjin

### ABSTRACT

Bone cements are being used as both stabilizing prosthesis and bone filler in orthopedic surgeries. Among the most important of such materials are polymethyl methacrylate (PMMA) cements, which have great and multiple applications. However, many environmental problems are encountered with these polymeric cements and therefore these related researches are stimulated toward environmentally compatible ceramics bone cements. In this research, Synthesis of a Calcium phosphate Bone Cement and the effect of the simulated body fluid (SBF) on the strength of the cement is studied. The results indicate that the corrosive body environment not only does not reduce the strength of the cement, but also increase it in many cases.

### KEYWORDS

Bioceramics, Bone cements, Hydroxyapatite, Simulated Body Fluid, Mechanical Strength

<sup>i</sup> دانشجوی دوره دکتری مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر: ramez.rabiee@gmail.com

<sup>ii</sup> استاد دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

<sup>iii</sup> استادیار دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

استحکام خمشی و چقرمگی شکست نسبت به سیمان اکریلیکی می‌باشد که کاربرد آن را در نواحی تحت بار مکانیکی با مشکلاتی همراه ساخته است [۱۴]، [۱۵].

تحقیقات جدید نشان می‌دهد که کامپوزیت کردن این سیمان‌ها با بیوپلیمرهای زیست سازگاری همچون کایتوسان اثر زیادی در افزایش استحکام این سیمان‌ها داشته است [۱۶]، [۱۷].

در این تحقیق، ساخت سیمان کلسیم فسفاتی جدیدی بررسی شد و سپس با توجه به استفاده این سیمان در محیط بدن، اثر مایع شبیه سازی شده با محیط فیزیولوژیکی بدن بر روی استحکام آن بررسی شد.

## ۲- مواد اولیه و روش بررسی

### ۲-۱- فاز جامد و مایع سیمان

مواد به کار رفته در فاز جامد سیمان از ترکیبات متفاوت فسفاتی و کلسیمی تهیه شده است. هدف از اختلاط این مواد، رسیدن به فاز معدنی استخوان؛ یعنی هیدروکسی آپاتیت است. با توجه به فرمول هیدروکسی آپاتیت،  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ، آنچه در این فاز مورد تأکید است رسیدن به نسبت مولی  $Ca/P=1/67$  می‌باشد. برای تهیه قسمت جامد بیوسیمان مورد مطالعه از ترکیبات تری کلسیم فسفات (TCP)، کربنات کلسیم ( $CaCO_3$ )، مونیتیت ( $CaHPO_4$ ) و مقدار کمی (در حدود ۲٪) هیدروکسی آپاتیت HA استفاده شد. فاز مایع این سیمان شامل محلول سدیم دی هیدرژن فسفات با دو مولکول آب،  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ، بوده است. همه مواد به کار رفته در این تحقیق از شرکت Merck تهیه و خلوص آن از نظر پزشکی و زیستی تأیید شد.

### ۲-۲- تهیه محلول شبیه سازی شده با محیط بدن

#### (SBF: Simulated Body Fluid)

با توجه به استفاده سیمان مورد نظر در داخل بدن، تهیه محلول شبیه سازی شده با محیط بدن از دیگر کارهای انجام یافته در این تحقیق بوده است.

برای تهیه محلول SBF با توجه به آنیون‌ها و کاتیون‌های موجود در محیط بدن و غلظت آنها، از موادی با غلظت‌های معین استفاده شد. این مواد شامل ۰/۰۳۵ مول  $NaHCO_3$ ، ۰/۱۰۵ مول  $NaCl$ ، ۰/۰۰۲ مول  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  و ۰/۰۰۴ مول  $K_2CO_3$  است. این مواد در داخل آب دی یونیزه حل شده و به صورت محلول در می‌آیند [۱۸].

سیمان‌های استخوانی نقش عمده‌ای را در جراحی‌های ارتوپدی بر عهده دارند. از مهم‌ترین این سیمان‌ها می‌توان سیمان پلیمری پلی متیل متا اکریلات (PMMA) را نام برد که به طور وسیعی در تثبیت ایمپلنت‌ها و پرکردن عیوب استخوانی استفاده می‌شوند. با وجود کثرت استفاده، مشکلات و معایب زیادی از این مواد گزارش شده است [۲]-[۶]. به عنوان مثال جدا شدن ذرات منومر متیل متا اکریلات موجود در این سیمان‌ها در محیط خورنده بدن، ممکن است سبب بروز بیماری‌ها و مشکلات فراوانی در بدن شود [۲]. همچنین گرمای واکنش پلیمریزاسیون در هنگام گیرش سیمان؛ که دمایی در حدود  $90^\circ C$  را ایجاد می‌کند، سبب از بین رفتن سلول‌ها و نکروز سلولی در نواحی اتصال می‌شود [۵]، [۴]. علاوه بر آن؛ این حرارت ممکن است سبب انقباض قطر رگ‌های خونی و در نتیجه سخته قلبی شود [۶]. با توجه به این مشکلات، تحقیقات زیادی برای جایگزینی این نوع سیمان انجام شده است. سیمان‌های سرامیکی مهم‌ترین گزینه این مواد جایگزین هستند. سیمان‌هایی که بر پایه مواد سرامیکی بنا گذارده شده‌اند، از خواص زیستی بسیار خوبی برخوردارند. این سیمان‌ها از موادی همچون کلسیم، فسفر، سدیم و پتاسیم تشکیل می‌شوند که به طور طبیعی در محیط فیزیولوژیکی بدن وجود دارند؛ از این رو، از زیست سازگاری مناسبی در بدن برخوردارند [۷].

در خانواده بیوسرامیک‌ها، کلسیم فسفات‌ها به دلیل مشابهت فازی و شیمیایی با مینرال‌های تشکیل دهنده استخوان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند [۷]-[۱۱]؛ از این رو تحقیقات و تلاش‌های بسیاری برای تهیه سیمان‌هایی از نوع کلسیم فسفاتی انجام گرفته و یا در حال انجام است. تنوع مواد به کار رفته در ساخت و سنتز این سیمان‌ها بسیار زیاد بوده و گزارش‌های فراوانی از انواع مختلف مواد اولیه به کار رفته در این سیمان‌ها وجود دارد [۱۲]-[۱۶]. اولین سیمان استخوانی فسفات کلسیمی، در سال ۱۹۸۷ در مرکز تحقیقاتی NIST در آمریکا سنتز شد. فاز جامد این سیمان شامل تتراکلسیم فسفات (TTCP)، کربنات کلسیم ( $CaCO_3$ )، براشیت ( $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ ) و فاز مایع آن آب مقطر بوده است. این سیمان بعد از طی مراحل مختلف تحقیقاتی و آزمایشی سرانجام در سال ۱۹۹۶ مجوز FDA را اخذ کرد [۱۳].

استحکام مکانیکی، تزریق پذیری، زمان‌های گیرش اولیه و نهایی و ... از مهم‌ترین پارامترهای قابل توجه در این سیمان‌ها است که تحقیقات زیادی را به خود اختصاص داده‌اند؛ اما مشکل عمده این سیمان‌ها همچون هر سرامیک دیگر، پایین بودن

### ۳-۲- تهیه سیمان هیدروکسی آپاتیت

مطابق محاسبات تئوری، سعی شده است که در ترکیبات نسبت  $Ca/P = 1/1.7$  رعایت شود. پس از محاسبه و به دست آوردن نسبت‌های معینی از مواد پودری، این مواد با آسیاب ماهواره‌ای با هم مخلوط شدند. عمل اختلاط با آسیاب ماهواره‌ای با سرعت ۶۰ دور در دقیقه و به مدت ۶ ساعت در قالب‌های پلی اتیلنی صورت پذیرفت.

قسمت مایع سیمان نیز که شامل  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  است؛ با غلظت‌های مختلف یک تا چهار درصد و نسبت فاز مایع به جامد  $L/P = 0.4$  (ml/g) به قسمت پودری اضافه شد. عمل اختلاط فاز مایع و جامد؛ دست و پا کاردک صورت گرفت تا خمیر یکنواختی حاصل شود.

### ۳-۴- بررسی‌های انجام شده بر روی نمونه سیمانی

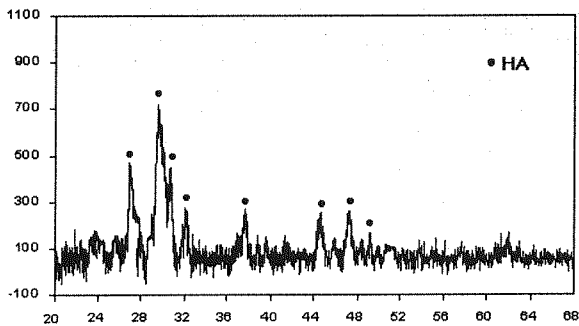
با کمک پرس هیدرولیک تک محور، قرص‌های سیمانی به وزن تقریبی ۵ gr و تحت نیرو ۱KN تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده در داخل حمام بخار بارطوبت ۱۰۰٪ و دمای  $37^\circ C$  قرار داده شد. پس از گیرش نهایی، قرص‌های سیمانی در داخل محلول SBF قرار داده شد. برای تعیین استحکام فشاری، میانگین قطر سطوح بالا و پایین نمونه‌ها اندازه گیری شد و پس از اعمال نیرو لازم برای گسیختگی نمونه‌ها، استحکام فشاری تعیین شد. استحکام فشاری این سیمان‌ها با استفاده از دستگاه Instron Universal Testing Machine 1196 اندازه گیری شد. (پنج نمونه برای هر آزمون) برای تعیین فاز نهایی سیمان سنتز شده در محلول شبیه سازی شده با محیط بدن (SBF)، از روش پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده شد. الگوهای پراش اشعه ایکس با استفاده از دستگاه دیفرانکتومتر Simens, Model D- 500 ساخت آلمان با پرتو  $\alpha Cu$  به طول موج ۱/۵۴ میکرومتر در محدوده  $2\theta$  مختلف تهیه شد و شناسایی الگوها با استفاده از کارت‌های مرجع JCPDS انجام گرفت. بررسی‌های میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل Stereo Scan 360-Leica Cambridge انجام شد. برای بررسی با SEM، لایه بسیار نازکی از طلا با دستگاه اسپاترکوتینگ بر روی نمونه‌ها نشانده شد.

### ۳- نتایج و بحث

عمل اختلاط فاز جامد سیمان، در آسیاب ماهواره‌ای صورت گرفته است. بر اثر برخورد گلوله‌های سنگین آلومینایی به ذرات سبک و ریز پودرها، این ذرات علاوه بر مخلوط شدن، برانگیخته می‌شوند و انرژی لازم برای ترکیب با دیگر قسمت‌ها را به دست می‌آورند. واکنش بین فاز مایع و جامد سیمان از

قوانین اسید-باز تبعیت می‌کند. رسیدن به فاز هیدروکسی آپاتیت در pH های خنثی و بالاتر از ۷ رخ می‌دهد. بنابراین با توجه به قلیایی بودن قسمت پودری، افزودن فاز مایع اسیدی  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  باید در حدی باشد که pH نهایی سیمان در محدوده طبیعی و خنثی قرار گیرد. بررسی‌های انجام شده، محدوده زیر چهار درصد از فاز مایع را برای این امر تأیید می‌کند [۱].

در بررسی‌های فازی؛ تفاوت محسوسی بین غلظت‌های یک تا چهار درصد فاز مایع مشاهده نشد. پس از سه روز قرار گرفتن نمونه‌ها در محلول SBF، پیک‌های مربوط به فاز هیدروکسی آپاتیت در الگوی پراش پرتو ایکس ظاهر شد. با گذشت زمان، شدت این پیک‌ها افزایش می‌یابد به طوری که پس از دو هفته، حضور الگوهای مربوط به ترکیبات دیگر بسیار ناچیز است و سیمان به فاز دلخواه هیدروکسی آپاتیت رسیده است.



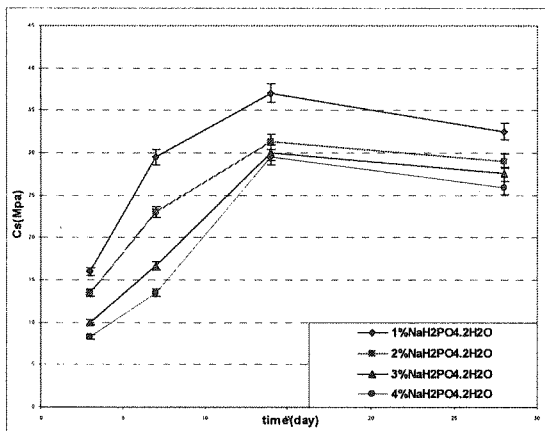
شکل (۱): الگوی XRD سیمان با غلظت  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  ۳٪ پس از دو هفته در محلول SBF

همان طور که در شکل (۱) مشخص است فاز غالب در الگوی XRD نمونه سنتز شده با غلظت  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  ۳٪ و نسبت فاز مایع به جامد ۰/۴ ml/gr پس از دو هفته قرار گرفتن در محلول SBF، هیدروکسی آپاتیت می‌باشد.

جدول (۱) رابطه بین استحکام فشاری سیمان بر مدت زمان خیساندن در محلول SBF را نشان می‌دهد. در تمام نمونه‌ها قسمت پودری ثابت در نظر گرفته شد و استحکام در غلظت‌های یک، دو، سه و چهار درصد از فاز مایع  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  و نسبت  $L/P = 0.4$  ml/gr بررسی شد.

جدول (۱): استحکام فشاری بر حسب MPa با  $L/P = 0.4$  (ml/g) در محلول SBF

Liquid%	Time(Day)			
	0	7	14	28
1	16	29.5	37	32.8
2	13.5	23	31.3	29
3	10	16.7	30	27.5
4	8.3	13.5	29.5	25.9



شکل (۳): تغییرات: استحکام فشاری در زمانهای مختلف قرارگرفتن در محلول SBF

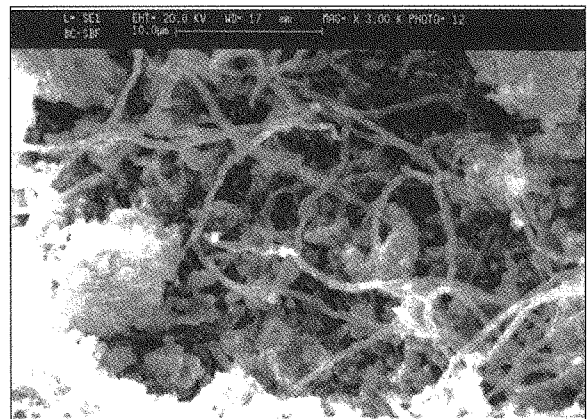
### ۴- نتیجه گیری

از اختلاط قسمت پودری با خواص قلیایی و قسمت فاز مایع اسیدی، pH سیمان در محدودهٔ خنثی و بالاتر قرار می‌گیرد که فاز نهایی سیمان را به سمت تشکیل هیدروکسی آپاتیت سوق می‌دهد. خنثی بودن محیط شبیه سازی شده با بدن به روند تشکیل هر چه سریع تر فاز هیدروکسی آپاتیت کمک می‌کند. در دو هفتهٔ اول قرارگیری نمونه‌ها در محلول SBF، استحکام فشاری افزایش می‌یابد؛ اما پس از آن با کاهش استحکام همراه خواهد بود. عملیات ترسیب و تبلور مجدد ذرات سیمان و وجود الیاف هیدروکسی آپاتیت از عوامل افزایش استحکام سیمان می‌باشد. پس از دو هفته، با متوقف شدن تبلور و شروع هیدرولیز و تخریب سیمان، میزان استحکام سیر نزولی را طی خواهد کرد. همچنین در نسبت ثابت از فاز مایع به جامد، استحکام فشاری با غلظت فاز مایع نسبت عکس دارد؛ یعنی با افزایش غلظت  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، استحکام فشاری کاهش می‌یابد. بیشترین استحکام به دست آمده با غلظت ۱٪ پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول SBF، ۳۷ Mpa، به دست آمده است. نتایج نشان می‌دهد، تا دو هفته اول، محیط خورنده بدن نه تنها سبب کاهش استحکام سیمان نشده؛ بلکه در بسیاری از موارد افزایش استحکام را نیز به همراه داشته است.

### ۵- مراجع

- [۱] ربیعی، سید محمود؛ پایان نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی پزشکی - بیومتریال؛ "تهیه و بررسی خواص سیمان استخوانی بر پایه هیدروکسی آپاتیت"، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، ۱۳۸۲.
- [۲] Shakelford, J. F.; Bioceramics: Applications of Ceramic and Glass, Trans. Tech. Publications Ltd., Switzerland, 1999
- [۳] Driessens, F.C.M.; Boltong, M.G.; "Applied aspects of Calcium Phosphate Bone Cement

در تمام غلظت‌ها بیشترین استحکام پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول SBF به دست آمده است و از آن پس با گذشت زمان استحکام کاهش خواهد یافت. افزایش استحکام را می‌توان به ترسیب و تبلور مجدد ذرات سیمان نسبت داد. در دو هفته اول به علت رشد بلورها، میزان استحکام سیمان افزایش می‌یابد؛ اما پس از دو هفته، با متوقف شدن تبلور و شروع هیدرولیز و تخریب سیمان، میزان استحکام سیر نزولی را طی خواهد کرد. از دیگر عوامل افزایش استحکام سیمان ایجاد الیاف‌های هیدروکسی آپاتیت پس از قرار گرفتن سیمان در محلول SBF می‌باشد. شکل (۲) تصویر میکروسکوپ الکترونی از این الیاف‌ها را نشان می‌دهد. این الیاف‌ها به عنوان فاز ثانویه در زمینه سیمانی، سبب افزایش استحکام سیمان می‌شود.



شکل (۲): تصویر میکروسکوپ الکترونی SEM از نمونه سیمانی با غلظت  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ۳٪ پس از دو هفته قرارگرفتن در محلول SBF

همچنین نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که غلظت فاز مایع در استحکام سیمان سنتز شده مؤثر است. در نسبت ثابت از فاز مایع به جامد، استحکام فشاری با غلظت فاز مایع نسبت عکس دارد؛ یعنی با افزایش غلظت  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، استحکام فشاری کاهش می‌یابد. بالاترین استحکام به دست آمده مربوط به غلظت یک درصد از فاز مایع  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  است. همچنین بیشترین استحکام به دست آمده از نمونه سیمانی در حدود ۳۷ Mpa بوده است که پس از ۱۴ روز ماندگاری در محلول SBF با فاز مایع یک درصد به دست آمده است. نمودار شکل (۳) مؤید این مطلب است.

- Application”, *Biomater. Eng. Dev., Human Applications*, vol. 2, p.p. 253-259, 1999 .
- Oonishi, H.; Degardation/resorption in bioactive ceramics in orthopedics: Hand book of Biomaterial Properties, Chapman & Hall, 1998 . [۴]
- Cooper, Kvine; “Hard tissue bone cements and substitutes”, USA. Patent: 5679723, 1997 [۵]
- Thomson, R.C.; Yaszemski, M.J.; Powers J.M.; Mikos, A.G.; “Hydroxyapatite fiber reinforced poly( $\alpha$ -hydroxy ester) foams for bone regeneration”, *J. Biomater.*, vol. 19 p.p.1935-1943, 1998.. [۶]
- Hench, L.; Wilson, J.; “An Introduction to Bioceramics”, world scientific publishing Co., 1993.. [۷]
- Laverina, C.; Schoenung; J.M.; “Calcium Phosphate Ceramics as Bone Substitutes”, *Ceram. Bull.*, vol. 70 [1], p.p.95100 , 1991 [۸]
- Hench, L.; “Bioceramics: From Concept to Clinic”, *J. Am. Ceram. Soc.*, vol.74[ 7], p.p. 1487-1510, 1991. [۹]
- Bako, Z.; Kotsis, I.; “Composition of Precipitated Calcium Phosphate Ceramic”, *Ceram. Inter*, vol. 18, p.p. 373- 378, 1992 [۱۰]
- Cao, W.; Hench, L.; “Bioactive Materials”, *Ceram. Inter.*, vol. 22 p.p. 493-507, 1996. [۱۱]
- Watanabe, M.; Makoto, S.; Maeda, M.; “Development of Calcium Phosphate cement”, *Europ. Ceram. Soc.* vol. 26 p.p. 549-552, 2006. [۱۲]
- Doi, Y.; Shimizu, Y.; “Development of calcium phosphate cement that contains sodium calcium phosphate”, *J. Biomat.*, vol. 22 p.p. 847-854, 2001. [۱۳]
- Takagi, S.; Chow, L.C.; Ishikawa, K.; “Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements”, *J. Biomat.*, vol. 19 p.p. 15931599 , 1998. [۱۴]
- Yamamoto, H.; Niwa, S., “Mechanical strength of calcium phosphate cement in vivo and in vitro”, *J.Biomat.*, vol. 19 p.p. 15871591 , 1998 [۱۵]
- Wolke, J.G.C.; Ooms, E.M.; Jansen, J.A.; “In Vivo Resorption of a High Strength Injectable Calcium-Phosphate Cement”, *Key Eng. Mat.*, vol. 192-195, p.p. 793-796, 2002. [۱۶]
- Hockin, H.K.; Carl G.S., “Fast setting calcium phosphate – chitosan scaffold: mechanical properties and biocompatibility”, *J.Biomat.*, vol. 26 p.p. 1337-1348 2005. [۱۷]
- Themenoff, J.S.; Mikos, A.G.; “Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering”, *J. Biomater.*, vol. 21 p.p. 2402412 , 2000. [۱۸]