

## استجابة الخلايا للسماوات في المستوى النانوي

### وأثارها في تجديد الأنسجة: من منظور العظام

#### Cell Response to Nanoscale Features and Its Implications in Tissue Regeneration: An Orthopedic Perspective

*Batur Ercan and Thomas Webster*

#### المحتويات CONTENTS

١٩٠.....	BONE PHYSIOLOGY	العظم (علم وظائف)	(٥,١)
١٩٠.....	Properties and Structure of Bone	خصائص وبنية العظم	(٥,١,١)
١٩٣.....	Micro- and Nano-Architecture of Bone	البنية الهندسية المايكروية والنانوية للعظم	(٥,١,٢)
١٩٥.....	Bone Cells and Remodeling	الخلايا العظمية وإعادة التشكيل	(٥,١,٣)
١٩٥.....	Osteoblasts and Osteocytes	الخلايا البانية للعظم والخلايا العظمية	(٥,١,٣,١)
١٩٦.....	Osteoclasts	الخلايا الناقضة للعظم	(٥,١,٣,٢)
١٩٧.....	Cell Adhesion on Implant Surfaces	التصاق الخلايا على سطوح الطُعوم (المواد المغروسة)	(٥,١,٤)
٢٠٣.....	PROBLEMS WITH CURRENT IMPLANTS	المشاكل مع الطعوم أو المواد المزروعة الحالية	(٥,٢)
٢٠٤.....	Mechanical Factors	العوامل الميكانيكية	(٥,٢,١)
٢٠٤.....	Stress-Strain Imbalance	الاختلال الإجهادي-الانفعالي	(٥,٢,١,١)
٢٠٥.....	Implant Migration	هجرة الطعم أو المادة المزروعة	(٥,٢,١,٢)
٢٠٦.....	Wear	الاهتراء	(٥,٢,١,٣)
٢٠٧.....	Biological Factors	العوامل البيولوجية	(٥,٢,٢)

- ٢٠٧..... Host Response to Foreign Materials استجابة المضيف للمواد الغريبة (٥,٢,٢,١)
- ٢٠٩.....EMERGING FIELD: NANOTECHNOLOGY المجال الناشئ حديثاً: تقنية النانو (٥,٣)
- ٢٠٩..... Introduction مقدمة (٥,٣,١)
- ٢١٠..... Differences in Mechanical Properties الاختلافات في الخصائص الميكانيكية (٥,٣,٢)
- Stress–Strain Imbalances and Implant Stress–Strain Imbalances and Implant الاختلالات الإجهادية–الانفعالية وهجرة الطعم أو المادة المزروعة (٥,٣,٢,١)
- ٢١٠..... Migration (٥,٣,٢,١)
- ٢١٣..... Wear الأضرار (٥,٣,٢,٢)
- ٢١٥ . Differences In Biological Response And Bioactivity الاختلافات في الاستجابة البيولوجية والنشاط الحيوي (٥,٣,٣)
- Comparison for Wound Healing and Foreign Body مقارنة التئام الجرح واستجابات الجسم الغريب (٥,٣,٣,١)
- ٢١٥.....Responses (٥,٣,٣,٢)
- ٢١٨.....Comparison of Bioactivity مقارنة النشاط الحيوي (٥,٣,٣,٢)
- ٢١٨.....Metals المعادن (٥,٣,٣,٢,١)
- ٢٢٠.....Ceramics السيراميك (٥,٣,٣,٢,٢)
- ٢٢٨.....Polymers البوليمرات (٥,٣,٣,٢,٣)
- ٢٣٢.....Composites المركبات (٥,٣,٣,٢,٤)
- ٢٣٦.....Novel Materials المواد الجديدة (٥,٣,٣,٢,٥)
- Bone Cell Recognition on التعرف على الخلايا العظمية على المواد التقليدية والمواد ذات الطور النانوي (٥,٣,٣,٣)
- ٢٤٠.....Conventional and Nanophase Materials (٥,٣,٣,٣)
- ٢٤٣.....FUTURE DIRECTIONS الاتجاهات المستقبلية (٥,٤)
- ٢٤٣.....REFERENCES المراجع (٥,٤)

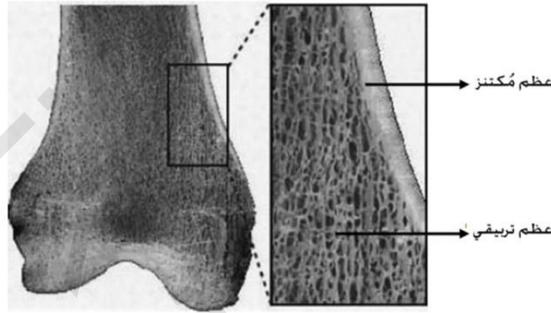
## (٥,١) فيزيولوجيا (علم وظائف) العظم BONE PHYSIOLOGY

### (٥,١,١) خصائص وبنية العظم Properties and Structure of Bone

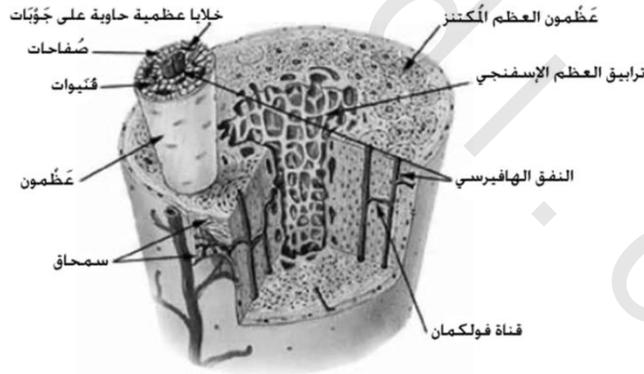
العظم هو النسيج الحي والنامي الذي يشكل الهيكل الداخلي للفقاريات (endoskeleton of vertebrates). إن الوظائف الرئيسية للعظم هي حمأي الأعضاء الداخلية وتحمل الإجهادات والانفعالات الفيزيولوجية (physiological stresses and strains) وتخزين الكالسيوم والفوسفور وتكوّن الدم (hematopoiesis) (أو إنتاج خلايا الدم في نخاع أو نقيّ العظم bone marrow) والتوازن الحمضي - القاعدي (acid - base balance) عن طريق امتصاص (absorbing) أو إطلاق الأملاح

القلوية (alkaline salts) لدرء أو عزل الدم عن التغييرات الزائدة في درجة الحموضة (pH) والتخلص من السموم (detoxification) في الجسم وذلك عن طريق إزالة المعادن الثقيلة من الدم [1].

يمكن تقسيم بنية العظم (bone structure) إلى فئتين رئيسيتين وفقاً إلى شكلها (وفقاً إلى المورفولوجيا) وهي: بنية قشرية (cortical) (مُكْتَنَزَة compact) أو إسْفَنْجِيَّة (cancellous) (تَرْبِيْقِيَّة trabecular). ويمكن ملاحظة الوضع المميز لكل من هذين العظمين في الأشكال رقم (٥.١ و ٥.٢) [2,3].



الشكل رقم (٥،١). العظم المُكْتَنَز (compact bone) والعظم التَرْبِيْقِي (trabecular bone) في النهاية القاصية (البعيدة) لعظم الفخذ (distal end of the femur). (من جامعة غلاسكو، <http://www.gla.ac.uk/ibls/fab/public/docs/xbone1x.html>).

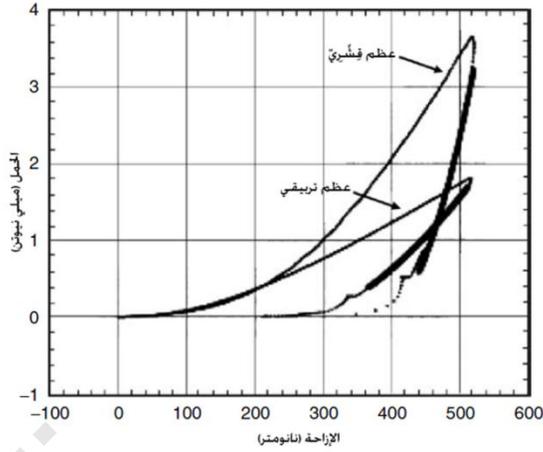


الشكل رقم (٥،٢). العظام المُكْتَنَزَة (compact) والتَرْبِيْقِيَّة (trabecular) تُسَلِّط الضوء على الصُفَاحَات (lamellae) الفردية والعَظْمُونَات (osteons) والقنوات الهافيرسية (Haversian canals). العظم التَرْبِيْقِي هو الجزء الداخلي من العظم. السمحاق (periosteum) هو غشاء من النسيج الضام يغطي السطح الخارجي للعظام. قناة فولكمان (Volkmann's canal) تربط العَظْمُونَات مع بعضها البعض ومع السمحاق. (من Young, J.L., Fritz, A., Adamo, M.P. et al., U.S. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program, Structure of bone tissue, [http://training.seer.cancer.gov/module\\_anatomy/unit3\\_2\\_bone\\_tissue.html](http://training.seer.cancer.gov/module_anatomy/unit3_2_bone_tissue.html)).

إن طبقة العظم الخارجية البيضاء الملساء والصلبة وهي العظم القشريّ (cortical bone)، تُمثل نسبة ٨٠٪ من مجموع كتلة العظم وتحتوي على مسامية (porosity) بنسبة ٣٠٪. وتتألف هذه الطبقة من عظمونات (osteons) (الوحدات الأساسية في بناء العظم) متراصة بشكلٍ مُحكم، وهي تمثل مصفوفة العظم (matrix of the bone) الواقعة على التوازي مع المحور الطويل للعظم. ويوجد في وسط هذه العظمونات قناة مركزية تُسمى "النفق الهافيرسي" ("Haversian canal") وهي تحتوي على أوعية دموية وأعصاب وتحيط بها مصفوفات مُتراكزة (متحدة المركز) من العظم القشريّ أو الصُّفاحات (lamellae) ذات شكل حلقي. وتحتوي هذه الصُّفاحات على خلايا عظمية تكون محصورة ضمن مساحات تُسمى جُوبَات (lacunae) (فجوات صغيرة). يتم الاتصال بين هذه الجُوبَات والقنوات (الأنفاق) الهافيرسية عن طريق قنوات صغيرة تُسمى القُنُيُوات أو النُفُيقات (canaliculi) [4].

وفي المقابل، فإن العظم التريبيقيّ (trabecular bone) هو الجزء الداخلي من العظم. وهو يمثل ٢٠٪ من كتلة العظم، وتتألف بنيتها المايكروية الدقيقة من مساحات كبيرة بين الترابيق (trabeculae) المفردة (على شكل صفائح (plates))، والتي تؤدي إلى محتوى عالٍ من المسامية التي تقترب من نسبة ٥٠٪ إلى ٩٠٪ [5] مما يقلل من وزن البنية الكلية للعظم. وعلى الرغم من أنه يبدو أن الترابيق تكون مرتبة بشكلٍ عشوائي، إلا أنها مُنظمة لتعطي أكبر قدر من المتانة (أقصى متانة maximum strength). وبالإضافة إلى ذلك، فإن العظم التريبيقيّ يكون مُحاطًا بنخاع أو نقيّ العظم، وهو لا يحتوي على الدم أو العضلات أو الأعصاب [5]. وبالمقارنة بين هذين النوعين من العظام، فإن العظم المكتنيز لديه صلابة أعلى من العظم التريبيقيّ.

يبين الشكل رقم (٥.٣) الرسم البياني للحمل مقابل الإزاحة (load versus displacement) لعظم فخذ إنسان (human femur) تحت ثلثة أحماد نانوية (فجوة نانوية عميقة) (nano - indentation)، والذي يصف الاختلافات في معاملات المرونة (elastic moduli) من أجل هذين النوعين من العظام [6]. وقد لوحظ بأن لعظم الفخذ لدى إنسان بعمر من ٢٠ إلى ٣٩ سنة متانة شد (tensile strength) بقيمة ١٢٤ ميغا باسكال (MPa) مع معامل مرونة شد (tensile elastic modulus) بقيمة ١٧.٦ غيغا باسكال (GPa) ومتانة ضغط (compressive strength) بقيمة ١٧٠ ميغا باسكال [7]. ومن المهم الإشارة إلى أن الخصائص الميكانيكية للعظم تتغير بشكلٍ شديد بالنسبة إلى العمر والأصناف أو الأجناس والنوع (مُكتنيز أو إسْفنجي) والمسامية والاختلافات التشريحية (anatomical differences) والظروف الصحية للفرد. وعلى سبيل المثال، يمكن لمعامل مرونة عظم فخذ جثة إنسان أن ينخفض من ١٥.٦ إلى ١١.٥ غيغا باسكال بالنسبة للمرضى الذين تم تشخيص أمراض العظام لديهم [8].



الشكل رقم (٣، ٥). منحنيات القوة-الإزاحة (force - displacement curves) التي تم الحصول عليها عن طريق اختبارات ثلثة الأخدود أو الفجوة العميقة (indentation tests) (يُظهر الجزء العريض معامل مرونة العظم). للعظم القشري معامل مرونة (elastic modulus) أعلى من العظم التريبيقي. (من Zysset, P.K., Guo, X.E., Hoffler, C.E. et al., *J. Biomech.*, 32, 1005, 1999).

بالإضافة إلى ذلك، فإن للعظم بنية متباينة جداً، ولديه معامل مرونة مختلف وذلك اعتماداً على اتجاه التحميل (direction of loading). فعلى سبيل المثال، فإن لنسيج العظم القشري معامل مرونة طولاني (longitudinal elastic modulus) قدره ١٧.٤ غيغا باسكال ومعامل مُستعرض (transverse modulus) قدره ٩.٦ غيغا باسكال ومعامل انحناء (bending modulus) قدره ١٤.٨ غيغا باسكال، ومعامل قص (shear modulus) قدره ٣.٥ غيغا باسكال. بالإضافة إلى هذه الخصائص، فإنه حساس لمعدل الانفعال (strain rate) [9] وهو مطاطي لزج (viscoelastic) [10]. وعندما يصل عمر الشخص إلى ٤٠ سنة أو أكثر، تنقص كتلة العظم التريبيقي بنسبة ٥٠٪ تقريباً وتنقص كتلة العظم القشري بنسبة حوالي ٢٥٪ وذلك بسبب ارتشاف العظم (bone resorption) عندما يكبر الإنسان في العمر؛ مما يؤدي إلى نقص في المتانة (strength) وزيادة في الصلابة (stiffness).

#### (٥، ١، ٢) البنية الهندسية المايكروية والنانوية للعظم Micro- and Nano-Architecture of Bone

يمكن تصنيف العظام إلى فئتين اعتماداً على بنيتها الهندسية المايكروية الدقيقة (micro - architecture): عظم مُحبوك (woven bone) وعظم صُفاحي (lamellar bone). يتألف العظم المحبوك من ألياف الكولاجين الخشنة (coarse collagen fibers) الموجهة بطريقة غير منتظمة. ونتيجة لهذا التنظيم العشوائي لألياف الكولاجين؛ فإن الخصائص الميكانيكية للعظم المحبوك تكون مُتسقة أو موحدة (isotropic) أكثر من تلك الخصائص للعظم الصفاحي. ونظراً لوجود العظم المحبوك وبشكلٍ أساسي في كل العظام الجنينية (fetal bones)؛ فإن العظم الصفاحي يحل محل العظم المحبوك بشكلٍ تدريجي عندما ينمو الشخص. وعلاوةً على ذلك، فإنه موجود أيضاً في المناطق النامية بشكلٍ سريع، والمناطق التي تتكون بشكلٍ جديد (مثل منطقة الشام الكسر fracture healing)، وكذلك المناطق الكُردوسية (metaphyseal regions) (أو منطقة العظم النامية).



ويتألف الطور غير العضوي بشكل أساسي من هيدروكسي أباتيت (HA) الكالسيوم البلوري (crystalline calcium hydroxyapatite). وتركيبه الكيميائي هو  $(Ca_5(PO_4)_3(OH))$  (ويتم كتابته بصورة تقليدية على الشكل  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ) وذلك للتأكيد على أن جزيئي الهيدروكسي أباتيت (HA) ضمن خلية الوحدة) وذو بنية خلية وحدة سداسية الشكل (hexagonal unit cell structure). ويمكن أن يتراوح سمك وطول هذه البلورات من ٢ إلى ٥ نانومترات ومن ٢٠ إلى ٨٠ نانومتراً، على التوالي. إن زيادة بلورات الهيدروكسي أباتيت (HA) تلك تكون ناجمة عن نضج أو اكتمال نمو العظم وتشير البلورات الأصغر إلى أن مصفوفة العظم جديدة [5]. وتكون صلابة العظم ناجمة بشكل أساسي عن وجود بلورات الهيدروكسي أباتيت (HA) تلك.

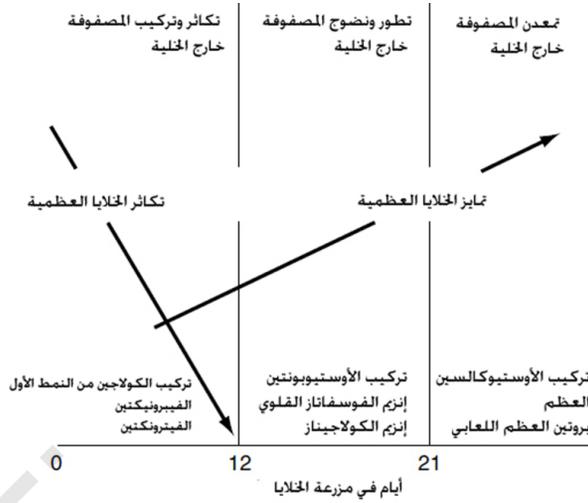
### (٥،١،٣) الخلايا العظمية وإعادة التشكيل Bone Cells and Remodeling

توجد ثلاثة أنواع من الخلايا العظمية هي: الخلايا البانية للعظم (osteoblasts)، والخلايا العظمية (osteocytes)، والخلايا الناقضة للعظم (osteoclasts). ونظراً للبنية الهرمية للعظم؛ فقد اعتادت كل الخلايا العظمية على أن تتفاعل بشكل طبيعي مع الكيانات ذات البنية المايكروية والنانوية. إن وظائف هذه الخلايا موصوفة أدناه.

### (٥،١،٣،١) الخلايا البانية للعظم والخلايا العظمية Osteoblasts and Osteocytes

الخلايا البانية للعظم والخلايا العظمية (أو الخلايا البانية للعظم المتميزة (differentiated osteoblasts)) هي خلايا مُكوّنة للعظم وهي تتميز من خلايا السلف المتوسّطة متعددة القدرات (pluripotent mesenchymal progenitor cells) [12]. تُفرز الخلايا البانية للعظم المستقطبة (polarized) بجهاز غولجي (Golgi apparatus)، وهو نموذجي في الخلايا عالية الإفراز [12]، مصفوفة عظمية (bone matrix) (عظمانية osteoid) والتي من ناحية أخرى تتمعدن لتُكوّن العظم. وهي تُفرز أيضاً بروتينات عضوية (أي الكولاجين من النمط الأول والأوستيو بونتين والأوستيو كالسين وبروتين العظم اللعابي، ... إلخ) وإنزيم الفسفاتاز القلوي (alkaline phosphatase) (وهو إنزيم نزع الفسفات النشط في البيئات القلوية، والذي يُعتبر مؤشراً للتحوّل العظمي ووظيفة الخلايا العظمية). بعد ذلك تتمعدن بروتينات المصفوفة تلك من خلال تشكيل بلورات الهيدروكسي أباتيت (HA)، ولم تُفهم الآلية الخاصة بها تماماً حتى الآن.

عندما تكون الخلايا البانية للعظم محصورة ضمن المصفوفة العظمية، فإنه يتم تركيبها أو إنشاؤها، وتسمى "بالخلايا العظمية". توجد الخلايا العظمية داخل الجُوبَات التي تقع داخل صُفاحات العظم الفردية. وهي تلعب دوراً مهماً في تكوين العظم عن طريق إفراز عوامل النمو مثل عامل النمو الأول المشابه للإنسولين وعامل نمو الأنسجة بيتا (tissue growth factor  $\beta$ )، التي تتحكم من ناحية أخرى في وظائف الخلايا البانية للعظم وذلك عن طريق تعزيز تمايزها من خلايا بانية للعظم غير ناضجة (immature osteoblasts) (التي لا تفرز الكالسيوم) إلى خلايا بانية للعظم ناضجة (mature osteoblasts) (التي تفرز الكالسيوم) [13]. وقد أظهرت الدراسات التي أجريت في المختبر (in vitro) أن الخلايا البانية للعظم تستمر لثلاث مراحل مختلفة من النمو بعد الالتصاق بسطح المادة المزروعة (المغروسة) وهي: التكاثر (proliferation) وتركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM synthesis)، وتطوير ونضج المصفوفة خارج الخلية (ECM)، وتمعدن المصفوفة خارج الخلية (mineralization). هذه المراحل مُوجزة في الشكل رقم (٥.٥) [7].



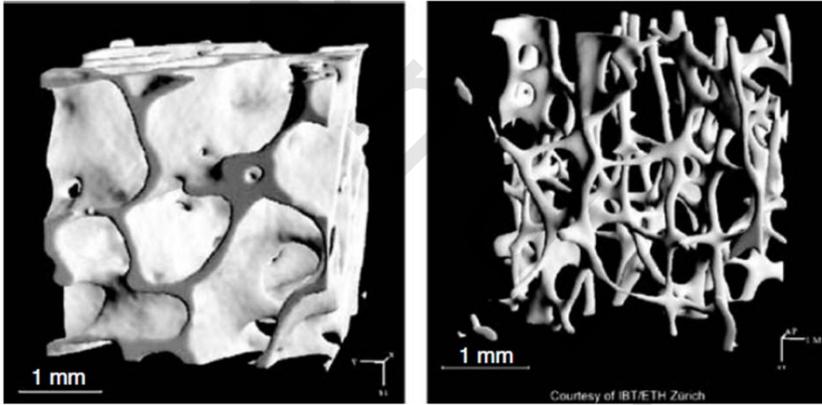
الشكل رقم (٥,٥). أطوار التمايز (differentiation phases) التي تكملها الخلايا البانية للعظم (osteoblasts) بعد التصاقها على سطح جديد (أي على مادة حيوية مزروعة (implanted biomaterial)). هذه المراحل هي التكاثر (proliferation) وتركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM synthesis) وتطوير ونضج المصفوفة خارج الخلية (ECM development and maturation) وتمعدن المصفوفة خارج الخلية (ECM mineralization). (من Webster, T.J., *Adv. Chem. Eng.*, 27, 125, 2001).

### (٥,١,٣,٢) الخلايا الناقضة للعظم Osteoclasts

نشأ من سلالة الخلايا الجذعية المكوّنة للدم (hematopoietic stem cell lineage)، والخلايا الناقضة للعظم هي خلايا ترتشف العظم (bone resorbing cells) وتكون كبيرة ومتعددة النوى (multinucleated) (عادةً من ٦ إلى ٨ نوى [12] nuclei). فأثناء ارتشاف العظم، تشكل هذه الخلايا حواف غشاء خلية تغضني (ruffled cell membrane) والتي تزيد من مساحة الارتكاز أو الالتصاق. وتفرز هذه الخلايا إنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطُّرَّرات (tartrate - resistant acid phosphatase - TRAP) وتُشكّل جَوَّيات هاوشيب (Howship's lacunae) (ذُرَّوات ارتشافية resorption peaks). وتستخدم هذه الخلايا نشاط إنزيم الأنهيداز الكربوني (carbonic anhydrase) (تميه hydration ثاني أكسيد الكربون CO<sub>2</sub>) لتخفيض درجة حموضة البيئة (pH)؛ مما يزيد من ذوبانية الهيدروكسي أباتيت (HA).

تخضع العظام في جسم الإنسان وبشكلٍ مستمر إلى إعادة التشكيل (remodeling) وذلك من خلال تكوين وحدة صوغ أو تشكيل العظم (bone modeling unit - BMU). وتعمل كلُّ من الخلايا البانية للعظم والخلايا الناقضة للعظم وفي نفس الوقت في اتجاه إعادة تشكيل العظم والتي هي في الأساس، إحلال للأنسجة العظمية الجديدة محل القديمة. ويحدث تنشيط الخلايا الناقضة للعظم في طريقتين مختلفتين، كما في الاستشعار بالشقوق المايكروية (sensing of microcracks) بواسطة الخلايا العظمية. وتقوم الخلايا الأولية البانية للعظم المعطلة (inactivated preosteoblasts) بتفعيل الخلايا الأولية الناقضة للعظم (preosteoclasts) عن طريق لجين الـ (RANK) (RANK ligand) (أي البروتين الذي ينشط مستقبل الـ (RANK) في الخلايا

الأولى الناقضة للعظم). وتؤدي هذه العملية إلى توحيد أو ربط الخلايا الأولية الناقضة للعظم وتشكيل خلايا ناقضة للعظم متعددة النوى (multinuclear osteoclasts)، والتي ترتشف العظم في مدة تقرب من أسبوعين. وفي نهاية عملية ارتشاف العظم، تخضع هذه الخلايا للموت المبرمج (apoptosis) (أو انتحار الخلايا). إن المرحلة التالية في إعادة تشكيل العظم هي الإفراز العظماني (osteoid secretion) عن طريق الخلايا البانية للعظم. وتستغرق حوالي ١١ يوماً للبدء بعملية التمعدن وفي نهاية المطاف من ٢ إلى ٣ أشهر لتشكيل عظم ناضج جديد (new mature bone) [14]. إن سرعة عملية إعادة التشكيل تلك تخضع لبعض التغييرات طوال فترة حياة الشخص، وهي تتباطأ عندما يهرم الشخص. فبعد سن الأربعين، لا يمكن مواكبة عملية تشكيل العظم مع عملية ارتشاف العظم؛ مما يؤدي إلى نقص في كثافة العظم (bone density) [5]. إن واحداً من أمراض العظام الرئيسية التي تسببها الزيادة في ارتشاف العظم هو مرض هشاشة أو ترقق العظام (osteoporosis). في الشكل (٥،٦)، تتم مقارنة البنية المايكروية الدقيقة لعظم صحي وعظم مترقق أو هش (osteoporotic bone) [15]. إن المرضى الذين يعانون من مرض هشاشة أو ترقق العظام لديهم عظام أضعف وأكثر هشاشة والتي تكون عرضة للكسر. وبعد سن معينة، فإن العلاج الطبي الوحيد القابل للتطبيق للمرضى الذين لديهم كسر في العظم هو إدراج أو إدخال طُعْم عظمي (orthopedic implant).



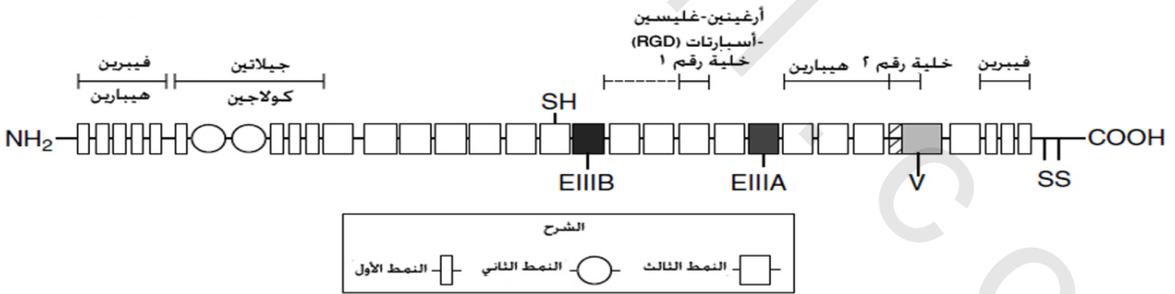
الشكل (٥،٦). صور مجهرية لعظم صحي طبيعي (normal healthy bone) (على اليسار) وعظم مترقق أو هش (osteoporotic bone) (على اليمين). (من (Rüeggsegger P., *Calcified Tissue International*. 58(1), 24, 1996).

#### (٥،١،٤) التصاق الخلايا على سطوح الطُعوم (المواد المغروسة) Cell Adhesion on Implant Surfaces

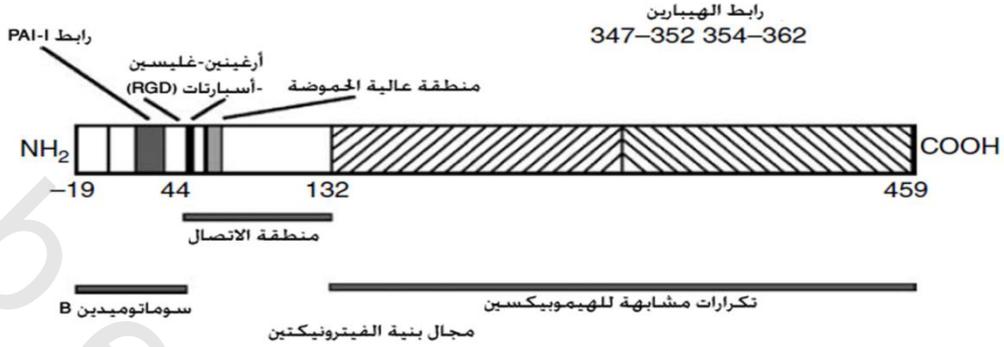
لقد تم مناقشة أن مصير الطُعْم أو المادة المغروسة يتحدد في الثواني الأولى بعد عملية الزرع (implantation). فعندما يتم إدخال طُعْم في الجسم، تحدث عملية امتزاز البروتين (protein adsorption) في الثواني القليلة الأولى. إن هذا الامتزاز للبروتين هو حاسم لأنه يتوسط من ناحية أخرى عملية التصاق الخلايا على سطح مادة الطعم المزروعة. وفي الدرجة الأولى، فإن نوع البروتينات الممزوجة على سطوح الطُعوم أو المواد المغروسة وتشكلها عندما يتم امتزازها تعتبر المحددات أو البارامترات الرئيسية التي تتحكم في التصاق الخلايا [16-18]. ويتم التحكم بشكل أساسي بالامتزاز الأولي للبروتين عن

طريق خصائص سطح الطعم (implant surface properties) مثل الطوبوغرافيا السطحية (surface topography) (السمات السطحية) وقابلية الابتلال أو الترطيب (wettability) والتركيب الكيميائي (chemistry) [17,19-21]. وقد أُجري العديد من الدراسات للتحقق من تأثيرات الامتزاز الأولي للبروتين على التصاق الخلايا بسطوح المواد الحيوية. ويوجد هناك نوعان رئيسيان من البروتينات المعروفة بتأثيرها على ارتكاز أو التصاق الخلايا العظمية بسطح الطعم أو المادة المغروسة، وهما الفيترونيكتين (vitronectin) والفيبرونيكتين (fibronectin).

الفيبرونيكتين هو غليكوبروتين (glycoprotein) ذو وزن جزيئي كبير بعض الشيء (٢٧٣٧١٥ دالتون Da) [7]، وهو يوجد في بلازما الدم (blood plasma) والمصفوفة خارج الخلية (ECM) [22]. ويعزز الفيبرونيكتين التصاق وهجرة وتمايز الخلايا ويؤثر على مورفولوجيا أو شكل الخلايا. ويبين الشكل رقم (٥.٧) بنية جزيء الفيبرونيكتين. إن الفيترونيكتين هو أيضاً غليكوبروتين آخر لبلازما الدم وهو يوجد في المصفوفة خارج الخلية (ECM) للعديد من الأنسجة [22]. ويوجد الفيترونيكتين البشري في شكلين: على شكل سلسلة واحدة وعلى شكل سلسلتين. إن للفيترونيكتين ذي السلسلة الواحدة شريطاً ذا وزن جزيئي بقيمة ٧٥ كيلو دالتون (KDa) ويتفكك الفيترونيكتين ذو السلسلتين إلى شريطين مع وزن جزيئي بقيمة ٦٥ و ١٠ كيلو دالتون بالرحلان الكهربائي (electrophoresis) على هلام البولي أكريل أميد (polyacrylamide gel) [22]. ويلعب الفيترونيكتين دوراً مهماً في الكثير من العمليات الفيزيولوجية (مثل التوسط في الاستجابة المناعية (mediating the immune response) والاستثباب أو التوازن (homeostasis) وتحت الدم (blood coagulation)). وهو أيضاً هام جداً في التوسط في التصاق وهجرة الخلايا [7]. وتظهر بنية الفيترونيكتين في الشكل رقم (٥.٨). ومن المهم ملاحظة أن الفيبرونيكتين والفيترونيكتين (وكذلك جميع البروتينات) هي مواد طبيعية ذات بنية نانوية وهي التي تتفاعل معها الخلايا العظمية بشكل مستمر.



الشكل رقم (٥.٧). بنية الفيبرونيكتين (structure of fibronectin). وهو يتألف من ثلاثة أنواع من تكرر الوحدات الفرعية، وهي النوع الأول والنوع الثاني والنوع الثالث والتي تتكون تقريباً من نحو ٤٥ و ٦٠ و ٩٠ حمضاً أمينياً، على التوالي. ويسبب الربط المتناوب في المواضع الثلاث (EIIIB و EIIIA و V) اختلافات في البنية. ويُشاهد ربط المنطقة (V) في البشر حيث يمكن لهذه المنطقة (V) أن تتغير من ٠ إلى ١٢٠ حمضاً أمينياً. ويُشار إلى موقعي ربط الخلايا (cell-binding sites) في الشكل كخلية رقم ١ (cell # 1) و خلية رقم ٢ (cell # 2) وتتضمن تسلسل الببتيد (RGD) (حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك) المعروف بشكل جيد. وقد تمت الإشارة أيضاً إلى مواقع ربط الفيبرين والجيلاتين والكولاجين والهيبارين / سلفات (كبرينات) الهيبارين. (من) Kreis, T. and Vale, R., *Guidebook to the Extracellular Matrix*, (Anchor, and Adhesion Proteins, Oxford: Oxford University Press, 1999).

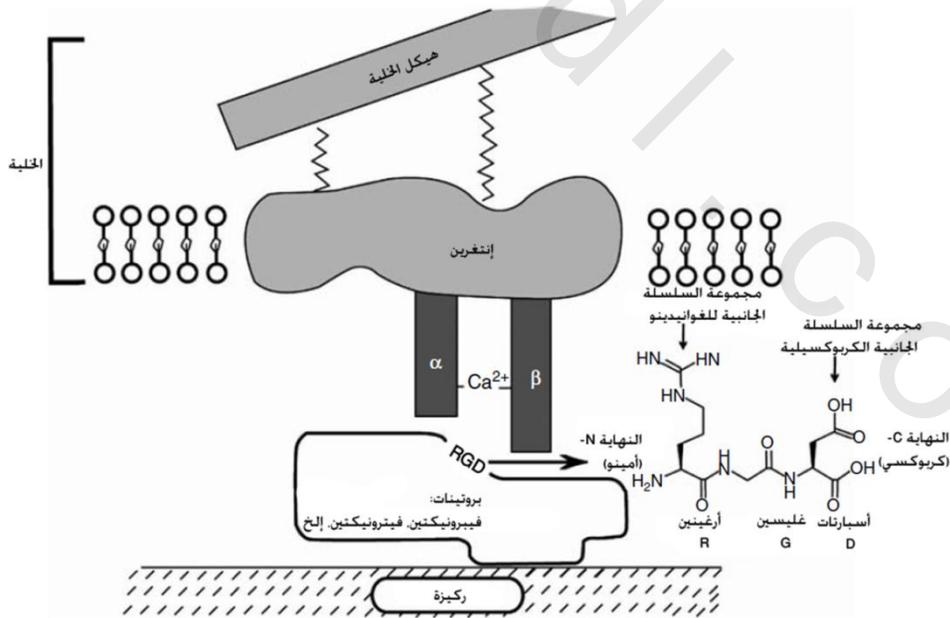


الشكل رقم (٨، ٥). بنية الفيترونكتين (structure of vitronectin). مجال السوماتوميدين (B) (somatomedin B) (في موقع الحمض الأميني من ١ إلى ٤٤ عند النهاية N) يحتوي على موقع ربط المنشط المثبط-١ (activator inhibitor-1 PAI-1). ويكون هذا متبوعاً بمنطقة حمضية للغاية (highly acidic region)، والتي تساهم في البنية الثالثية للبروتين (tertiary structure of the protein). وتوجد أيضاً منطقة ربط ومنطقة مشابهة للهيموبيكسين (heme group - like region) (أي البروتين الذي يرتبط بالحديد والذي يحتوي على مجموعة الهيم (heme group)). ويوجد مجال الـ (RGD) (حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتات) مباشرة بعد مجال السوماتوميدين (B)، بين الأحماض الأمينية ٤٥ و ٤٧. إن موقعي ربط الهيبارين (heparin binding sites) يكونا بين الأحماض الأمينية ٣٤٧ - ٣٥٢ و ٣٥٤ - ٣٦٢. (من Kreis, T. and Vale, R., 1999. *Guidebook to the Extracellular Matrix, Anchor, and Adhesion Proteins*, Oxford: Oxford University Press, 1999).

إن هذه البروتينات هامة على وجه التحديد من أجل الخلايا العظمية. على سبيل المثال، لقد لوحظ أن السطوح ذات درجة الامتصاص العالي للقطبية (high hydrophilicity) (السطوح المحبة للماء) وذات الخشونة العالية تزيد من التصاق الفيترونكتين والفيبرونيكتين [18,23]. ولم يُلاحظ أي انتشار للخلايا على سطوح التيتانيوم (titanium surfaces) في غياب الفيترونكتين والفيبرونيكتين والمصل العجلى الجنيني (fetal calf serum) [18]. وقد وُجد بأن التصاق وانتشار الخلايا المستمدة من العظم (bone derived cells) كان قد انخفض بنسبة من ٧٣٪ إلى ٨٣٪ فقط عندما تمت إزالة الفيترونكتين من وسط زراعة الخلايا [24]. وعندما تمت إزالة الفيبرونيكتين فقط من وسط زراعة الخلايا، كان الانخفاض في انتشار والتصاق الخلايا على هذه السطوح أقل بشكل ملحوظ مما كان عليه عندما تم استخدام وسط زراعة خلايا مصلي (serum cell culture medium) يُستنفد منه الفيبرونيكتين. وعندما لم يكن أي من هذه البروتينات موجود في وسط زراعة الخلايا، فشلت الخلايا المستمدة من العظم في الالتصاق [24]. إضافة إلى ذلك، فقد لوحظ أن قوة التصاق الخلايا تزداد خطأً مع الكثافة السطحية للفيبرونيكتين المتمتر على الركيزة في طريقة غير محددة [25,26]. وقد ظهر بأن كلاً من هذين البروتينين يغيران التشكل (conformation) عند التعرض إلى بيئة خارج خلوية (extracellular environment). وقد ظهر بأن درجة الحرارة ودرجة الحموضة (pH) وتركيز الأملاح والارتباط بالسطوح (سطوح الطعوم أو المواد المغروسة) والارتباط بالجزئيات الحيوية الفعالة (bioactive molecules) تُحدث هذه التغييرات في التشكل [5,22]. إن ثمة مثالاً مهماً لهذه الظاهرة وهو تغيير تشكل الفيترونكتين عند الامتزاز. وبصورة خاصة، فقد أظهر Garcia وآخرون أنه

وبالرغم من أن نفس الكمية من الفيترونيكتين قد تم امتزازها أو امتصاصها على ركائز مختلفة، إلا أن الالتصاق المطابق للخلايا المشابهة للخلايا البانية للعظم (osteoblast - like cell) يمكن أن يختلف وذلك بسبب التغييرات الشكلية في الفيترونيكتين الممتز [26]. وفيما يتعلق بتقنية النانو، فقد لوحظ أهمية مشابهة لتشكيل البروتين في التصاق الخلايا (cell adhesion). وعلى وجه التحديد، فقد أظهرت دراسة الألومينا ذي الطور النانوي (nanophase alumina) زيادة في تفتُّح أو تَكشُّف الفيترونيكتين (unfolding of vitronectin) بالمقارنة مع نظيره ذي الطور التقليدي (أو بحجم الحبيبات المايكروية (micron grain size) [17]). وقد عرضت الزيادة في تفتُّح أو تَكشُّف الفيترونيكتين مواقع لاصقة وفعالة حيويًا أكثر، الأمر الذي أدى أيضاً إلى تعزيز التصاق الخلايا البانية للعظم على سطوح الألومينا ذي الطور النانوي.

توجد آليتان رئيسيتان لارتكاز أو التصاق الخلايا (cell attachment) على البروتينات الممتزة على سطح الطعم أو المادة المغروسة: من خلال تسلسلات ببتيدية (peptide sequences) معينة (مثل حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك - arginine - glycine - aspartic acid أو RGD) أو من خلال منطقة ارتباط الهيبارين (heparin - binding region) كبروتين لاصق. تحتوي بعض البروتينات خارج الخلوية (مثل الفيترونيكتين والفيبرونيكتين والكولاجين واللامينين (laminin)) على تسلسلات ببتيدية من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD). ومن خلال التسلسل الببتيدي لهذا الحمض (RGD) تلتصق البروتينات بالمستقبلات الخاصة بها على أغشية الخلايا (cell membrane receptors) والتي تُدعى الإنتغرينات (integrins). يبين الشكل رقم (٥.٩) ارتكاز أو التصاق الخلية من خلال مستقبل الإنتغرين (integrin receptor) [20].



الشكل رقم (٥.٩). ارتكاز أو التصاق الخلية (cell attachment) من خلال مستقبل الإنتغرين (integrin receptor) على ركيزة. (من

إن الإنتغرينات هي غليكوبروتينات عبر غشائية (transmembrane glycoproteins) وتتألف من وحدتين فرعيتين، هما الوحدة الفرعية ألفا ( $\alpha$ ) والوحدة الفرعية بيتا ( $\beta$ ). إن الوحدة الفرعية ( $\alpha$ ) هي بطول من ١٠٠٨ إلى ١١٥٢ حمض أميني، مع منطقة هَيُولِيَّة (cytoplasmic region) تتكون من ٢٢ إلى ٣٢ حمضاً أمينياً ومنطقة عبر غشائية تتكون من ٢٠ إلى ٢٩ حمضاً أمينياً [19]. وتكون الوحدة الفرعية ( $\beta$ ) بطول ٧٧٠ حمضاً أمينياً مع جزء داخل غشائي (intramembranous part) يتكون من ٢٦ إلى ٢٩ حمضاً أمينياً وجزء هَيُولِيَّة يتكون من ٢٠ إلى ٥٠ حمضاً أمينياً [19]. تُشكّل الأجزاء خارج الخلية لهذه الوحدات الفرعية الإنتغرينية مركباً مُثنوياً مُعَايَراً (heterodimer) (مركباً ثنائياً ذا صيغة جزيئية غير متجانسة). وتملك الخلايا البانية للعظم مجالاً واسعاً من التعابير الإنتغرينية (integrin expressions). هذه التعابير هي: ( $\alpha_1$  و  $\alpha_2$  و  $\alpha_3$  و  $\alpha_4$  و  $\alpha_5$  و  $\alpha_6$  و  $\alpha_v$  و  $\beta_1$  و  $\beta_3$  و  $\beta_5$ ). إن تركيبات أو مجموعات مختلفة (different combinations) من هذه الوحدات الفرعية ممكنة وتملك كل مجموعة أو تركيبة إمكانية الارتباط بواحدٍ أو أكثر من اللجائن (ligands) (اللجين هو جزيء يلتحم بجزيء آخر)، مع بعض التداخل في التحديدية (النوعية) (specificity)، حيث يمكن للعديد من الإنتغرينات أن ترتبط بأكثر من بروتين واحد ويمكن للعديد من البروتينات أن تكون لجين لأكثر من إنتغرين واحد [19]. ومن المرجح أن يكون ذلك على الأغلب بسبب التعرف على التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) عن طريق العديد من الإنتغرينات. وتلعب الإنتغرينات ( $\alpha_v\beta_3$ ) و ( $\alpha_v\beta_5$ ) دوراً رئيسياً في التصاق الخلايا البانية للعظم بالفيترونكتين في الوقت الذي يتم فيه استخدام الإنتغرين ( $\alpha_1\beta_5$ ) من أجل الفيترونكتين ويتم استخدام الإنتغرين ( $\alpha_2\beta_1$ ) من أجل الكولاجين [3]. وتلعب القوى الداخلية (internal forces) بين الإنتغرينات ولجائنها المطابقة لها دوراً مهماً في التوسط في وظائف الخلايا. وتُظهر الدراسات أن قوة التصاق الخلايا البانية للعظم بين الإنتغرين ( $\alpha_5\beta_1$ ) والببتيد (GRGDSP) (Gly - Arg - Gly - Asp - Ser - Pro) هي  $32 \pm 2$  بيكو نيوتن (pN) [27]. ويمكن أن تؤدي التغييرات في هذه القوى أيضاً إلى تغييرات في تشكيل (زخرفة) وبنية الأنسجة. بالإضافة إلى ذلك، تلعب الخصائص السطحية للطعم أو المادة المغروسة دوراً مهماً في التعبير الإنتغريني؛ حيث يعتبر التركيب الكيميائي والطوبوغرافيا أو السمات السطحية وقابلية الابتلال أو الترطيب (الحب للماء) الخاصة بالطعم أو المادة المغروسة من العوامل الرئيسية. فعلى سبيل المثال، على ركيزة من البوليسترين (polystyrene substrate)، كانت الوحدات الفرعية (subunits) المعبر عنها بواسطة المستقبلات الإنتغرينية للخلايا البانية للعظم ( $\alpha_2$  و  $\alpha_4$  و  $\alpha_6$  و  $\alpha_v$  و  $\beta_1$  و  $\beta_3$ ) [28]. وعلى أي حال، على ركيزة خشنة (rough) من خليط معدني من الـ (CoCrMo)، لم يتم التعبير عن الوحدات الفرعية ( $\alpha_6$  و  $\beta_3$ ) على هذه الخلايا [28]. ومن أجل الحالة التي استخدمت فيها ركيزة مَصْقولة من خليط معدني من التيتانيوم (polished titanium alloy) (على وجه التحديد، من التيتانيوم - الألومنيوم - الفاناديوم (titanium - aluminum - vanadium))، قامت الخلايا البانية للعظم بالتعبير وبشكل إضافي عن الإنتغرين ( $\alpha_3$ ) [28].

وقد التصقت أيضاً الخلايا البانية للعظم بشكلٍ مختلف اعتماداً على الطوبوغرافيا السطحية. وفي محاولة لمحاكاة البنية الطبيعية للعظم، فقد تم استخدام تقنية النانو. وعلى وجه التحديد، فإن المواد النانوية تحتوي على العديد من السمات أو الخصائص السطحية النانومترية التي يتم إنشاؤها بشكلٍ بيولوجي. وقد ظهر بأن الخلايا البانية للعظم تلتصق بفعالية أكبر بكثير من المواد

المستخدمة حالياً [29]. ومن الواضح بأن أي تغيير في كل من التركيب الكيميائي والطوبوغرافيا أو السمات السطحية وقابلية الابتلال أو الترطيب يؤثر على تكوّن العظم. فعندما تتغير هذه البارامترات أو المحددات فإنها تغير الامتزاز الأولي للبروتين على سطوح المواد الحيوية، والذي يؤثر من ناحية أخرى على التعبير الإلتغريني والتصاق الخلايا وانتشار الخلايا على هذه السطوح.

وعلى أي حال، ونظراً إلى حقيقة أن التسلسلات الببتيدية لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) تدعم التصاق الخلايا البانية للعظم، فقد تم وبشكلٍ واسع دراسة الطلاء أو التغليف المسبق للركائز (precoating substrates) باستخدام هذا التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD). وقد وُجد بأن تثبيت السطوح باستخدام التشكيل أو الزخرفة المايكروية الدقيقة مع ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGDS) يعزز وبشكلٍ كبير من التصاق الخلايا البانية للعظم وخلايا الأرومة الليفية [30]. وعلى الرغم من أن هذه الطريقة تُظهر بشير نجاح في الاختبارات التي أجريت في المختبر (والتي تشمل الزيادة في انتشار وتكاثر وتمايز الخلايا)، فإن بعض المشاكل قد حالت دون الاستخدام الكامل لهذه التقنية في الاختبارات التي تُجرى في الجسم الحي. فعلى سبيل المثال، تزداد فعالية الإلتغرينات التي ترتبط بببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مع وجود الببتيدات الأخرى في البروتينات الممتزة على الركيزة (مثل (Pro - His - Ser - Arg - Asn - PHSRN))، والذي يرتبط بالإلتغرين ( $\alpha_5\beta_1$ ) الخاص بالخلايا البانية للعظم [19,31]. بالإضافة إلى ذلك، يبدو أن طبيعة التقنية الجراحية تلعب أيضاً دوراً مهماً. فالعمليات الجراحية لتقويم العظام باستخدام الطعوم أو المواد المغروسة تعتبر مُحَرَّبَةً ميكانيكياً لقوى الالتصاق الضعيفة (weak adhesive forces) للببتيدات المثبتة على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة. فأتناء العملية الجراحية، يمكن لطبقة طلاء الببتيد (peptide coating) أن تتضرر بشدة. كما يمكن أن يكون هناك سبب آخر للنتائج السيئة في الجسم الحي وهو أنه عند إدخال الطعم أو المادة المغروسة والمطلية مسبقاً بطبقة من بببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) في الجسم، فإن بروتينات أخرى كبيرة ستبقى مَمْرُوزة على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة، الأمر الذي يؤدي إلى منع تفاعل التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مع المستقبل الإلتغريني للخلايا البانية للعظم. ونتيجة للأسباب المذكورة أعلاه، كان الباحثون أكثر اهتماماً في تعديل سطح الطعم أو المادة المغروسة الخام (raw implant surface) نفسها بدلاً من استخدام عملية المعالجة الببتيدية (peptide treatment process). وكما ستتم مناقشته فيما بعد، فقد قدمت تقنية النانو العديد من التقنيات المختلفة وذلك لتغيير الخصائص السطحية من أجل تعزيز تكوّن العظم.

إن الآلية الثانية لالتصاق الخلايا البانية للعظم على سطوح المواد الحيوية هي من خلال بروتيوغليكانات سلفات أو كبريتات الهيبارين (heparin sulfate proteoglycans) في غشاء الخلايا. إن الالتصاق أو الارتباط بمجالات ربط الهيبارين (heparin - binding domains) للبروتينات هو بطبيعته التصاق كهروستاتيكي (كهربي ساكن). ويحتوي المجال الذي يرتبط بالهيبارين على بعض الأحماض الأمينية الأساسية المشحونة إيجابياً والتي تتفاعل مع مجموعات الكربوكسيلات (carboxylate groups) ومجموعات السلفات أو الكبريتات (sulfate groups) المشحونة سلبياً والخاصة بالجليكوز أمينو غليكانات (glycosaminoglycans) الموجودة في غشاء الخلية [32]. وقد لوحظ بأن حجب أو منع مواقع ارتباط الهيبارين الخاصة بالفيبرونيكتين باستخدام الأجسام المضادة (الأضداد antibodies) (مثل عامل الصفائح الرابع (platelet factor IV)) قد أدى

إلى تثبيط التصاق الخلايا البانية للعظم بالفبرونيكتين بنسبة ٤٥ ٪ [33]، وأن التشكيل أو الزخرفة المايكروية الدقيقة (micropatterning) لسطوح الركائز باستخدام بيتيد الـ (KRSR) (وهو بيتيد ارتباط سلفات أو كبريتات الهيبارين (heparin sulfate - binding peptide)) قد زاد وبشكل كبير من التصاق الخلايا البانية للعظم [30]. ومن المثير للاهتمام أنه قد وجد بأن بيتيد الـ (KRSR) المثبت على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة يقلل من التصاق الأرومة الليفية (fibroblast) (وهي نسيج ليفي fibrous tissue) (مكون للخلايا). وبالتالي؛ فإن وجود المواقع التي ترتبط بالهيبارين في البروتينات الممزوجة هو أيضاً ضروري من أجل زيادة التصاق الخلايا البانية للعظم على المواد الحيوية إلى الحد الأقصى.

وأخيراً، تتوسط الإنتغرينات وبروتيوغليكانات سلفات (كبريتات) الهيبارين في عملية الاتصال بين بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) والخلية، وفي تمرير المعلومات من المصفوفة خارج الخلية (ECM) إلى الخلية والعكس بالعكس. إن هذه العملية لنقل الإشارات داخل الخلايا (intracellular signaling) معقدة جداً ولا تزال غير واضحة حتى الآن. ويُعتقد أن الخطوة الأولى هي الفسْفُتة الآلية (autophosphorylation) (وهي الإدخال الآلي لزمرة فسفات إلى الجزيء) لإنزيم الكيناز الخاص بالتصاق البؤري (focal adhesion kinase - FAK)، متبوعة بفسْفُتة التيروسين (tyrosine phosphorylation) (حمض أميني) وتراكم أو تجميع البروتينات الأخرى [19]. وتؤثر هذه البروتينات من ناحية أخرى على تبديل الإشارة (signal transduction) وتفعيل بعض عوامل النسخ (transcription factors) (مثل البروتين المنشط الأول AP-1 - activator protein - 1) من خلال مسارات معقدة (complex pathways) تتحكم بتكاثر وتمايز الخلايا [5].

## (٥،٢) المشاكل مع الطعوم أو المواد المزروعة الحالية PROBLEMS WITH CURRENT IMPLANTS

إن جراحة العظام (orthopedics) هي صناعة بمليارات الدولارات. وقد بلغ إجمالي تكاليف العلاج لاستبدال كامل الورك (total hip replacements) في الولايات المتحدة الأمريكية وحدها ٦.٧٧ مليار دولار في العام ٢٠٠٣ [34]. وفي العام ٢٠٠٤، بلغ عدد عمليات استبدال كامل الورك ٢٣٤٠٠٠ عملية، والذي بلغ ضعف عدد العمليات الجراحية لاستبدال كامل الورك في العام ١٩٩١ [35]. ولسوء الحظ، فقد تضاعف أيضاً عدد عمليات استبدال الورك من ٢٣٠٠٠ إلى ٤٦٠٠٠ في الفترة بين عامي ١٩٩٢ و ٢٠٠٣ [36]. وتُظهر الإحصائيات المشار إليها أعلاه وبصورة واضحة فشل الطرق المستخدمة حالياً في تلبية احتياجات المرضى ويجب إجراء التحسينات وبشكل جذري على إطالة عمر هذه الطعوم أو المواد المزروعة. في الولايات المتحدة الأمريكية وفي عام ٢٠٠٤ كان متوسط عمر المرضى الذين يخضعون لعمليات جراحية لاستبدال كامل الورك ٦٦ عاماً [37]، ٣٣ ٪ منهم كان تحت عمر ٦٥ عاماً. وعند مقارنة متوسط العمر (mean age) المتوقع لشخص في عمر ٦٥ (١٧.٩ عاماً [5]) مع متوسط العمر لطعم أو مادة مزروعة (والذي هو من ١٢ إلى ١٥ عاماً [38])، فإنه يمكننا ملاحظة أن الأخير أقصر نسبياً؛ ولهذا السبب فإنه من السهل فهم السبب وراء ارتفاع العدد الإجمالي لعمليات الاستبدال الجراحية اللازمة حالياً. وهذا يعني ان غالبية الأشخاص الذين خضعوا لعمليات جراحية لاستبدال كامل الورك سوف يحتاجون على الأقل إلى عملية استبدال جراحية واحدة، وفي حالة المرضى صغار السن فقد يتطلب الأمر عمليات جراحية متعددة. ومن أجل تقليل عدد عمليات الاستبدال الجراحية وتحسين نوعية حياة الكثير من المرضى، فإن هناك حاجة كبيرة إلى طعوم أو مواد مزروعة أفضل وتبقى ثابتة لفترة أطول.

منذ أول عملية استبدال ورك جراحية معروفة تم إجراؤها باستخدام مفاصل كروية الشكل (ball joints) ومفاصل سنخية الشكل (socket joints) مكوّنة من العاج وبراجي من الفولاذ المطلي بطبقة من النيكل وذلك للمساعدة في عملية التثبيت [39]، كان فشل الطعم أو المادة المزروعة مشكلة رئيسية تواجه عمليات تقويم العظام الجراحية. وقد كان من الممكن إجراء تحسينات في تصميم مادة الطعم المزروعة فقط من خلال استخدام طرق التجربة والخطأ (trial and error methods) [20] وذلك نظراً لعدم فهم الأسباب الرئيسية التي تؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة [5]. وهناك العديد من الأسباب التي تؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة. فعلى الرغم من أنه لم يتم فهمها أو التغلب عليها بشكل تام حتى الآن، إلا أنه يمكن تصنيفها إلى فئتين هما: العوامل الميكانيكية (mechanical factors) (وتتضمن الاختلالات أو فقد التوازنات الإجهادية - الانفعالية (stress - strain imbalances) وهجرة أو تحرك الطعم أو المادة المزروعة (implant migration) والحطام الناتج عن الاهتراء (wear debris))، وعوامل بيولوجية (biological factors) (وتتضمن رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب أو الدخيل (foreign body reaction)). وإلى الآن، فقد اعتمدت عملية التجربة والخطأ النموذجية من أجل تطوير طعم أو مادة مزروعة أفضل على تعديل التركيب الكيميائي للطعم أو المادة المزروعة (أي (CoCrMo) مقابل التيتانيوم (Ti) مقابل الفولاذ المقاوم للصدأ (stainless steel)، ... إلخ). بينما تتبع تقنية النانو أسلوباً آخر. فهي تُنشئ سمات أو خصائص سطحية نانوية (nanosurface features) من خلال مجموعة متنوعة من الوسائل على أي تركيب كيميائي للطعم أو المادة المزروعة. وتوفر هذه التقنية خاصية للمادة (وهي السمات أو الخصائص السطحية التي يتم إنشاؤها بشكل بيولوجي) والتي يمكن أن تُستخدم من أجل أي تركيب كيميائي للطعم أو المادة المزروعة وذلك لتعزيز نمو العظم (bone growth). في هذا الجزء الباقي من هذا القسم، سيكون التركيز الرئيسي على الأساسيات المتعلقة بالسطح البيني لطعم أو مادة الورك المزروعة / العظم (implant / bone interface)، وكيف يمكن لهذا التزاوج أو الربط أن يفشل من خلال استخدام طعوم أو مواد مزروعة تقليدية حيث أن تعزيز هذا التزاوج أو الربط هو الميزة الأساسية لتقنية النانو [5].

### (٥،٢،١) العوامل الميكانيكية Mechanical Factors

#### (٥،٢،١،١) الاختلال الإجهادي-الانفعالي Stress-Strain Imbalance

يتوقف تأثير الإجهاد على السطح البيني الفاصل بين النسيج ومادة الطعم المزروعة (tissue - implant interface) على العديد من العوامل (مثل التصميم والشكل الهندسي للطعم أو للمادة المزروعة ووجود الإسمنت أو الملاط العظمي (bone cement) والذي يتم استخدامه لربط مادة الطعم المزروعة بالعظم المحيط والخصائص الميكانيكية للطعم أو للمادة المزروعة نفسها) [40]. فعندما يكون توزيع الإجهاد والانفعال غير متساوٍ، يخضع العظم المجاور مباشرةً للطعم أو للمادة المزروعة إلى مستويات غير فيزيولوجية من القوة، والتي ستؤدي من ناحية أخرى إلى تفكك أو تخلخل عقيم (aseptic loosening) (لا إثنائي) [41] وإرتشاف العظم نتيجة لحجب أو تدريع الإجهاد (stress shielding) وتضرر في الأنسجة المحيطة وألم لدى المريض وفي نهاية المطاف فشل الطعم أو المادة المزروعة (implant failure). وقد أشارت النتائج التجريبية التي أجريت باستخدام مقاييس الانفعال (strain gauges) وتحليل العناصر المحدودة (finite element analysis) أن تركيز الإجهاد يكون موجوداً عند النهايات الدانية (proximal ends) (العلوية) والقاصية (distal ends) (السفلية) لطعم أو مادة الورك المزروعة. وباستخدام طرق تحليل العناصر

المحدودة، فإنه من الممكن إنشاء التصميم الأفضل الذي يسمح بالنقل الأمثل للحمل (optimal load transfer) ويقلل من تراكيز الإجهاد - الانفعال (stress - strain concentrations) عند السطح البيني الفاصل بين مادة الطعم المزروعة - والنسيج بنسبة تصل إلى حد ٧٠٪ [42]. وبالطبع فإن الزيادة في نمو العظم في هذه الأماكن سيوفر دعماً أكبر.

### (٥, ٢, ١, ٢) هجرة الطعم أو المادة المزروعة Implant Migration

إن التحرك أو الهجرة (migration) تعني الحركة المايكروية الدقيقة (micromotion) (من ٠.١ إلى ١ ميليمتر) لطعم أو مادة مزروعة عبر الزمن [43]. فعندما تزداد هذه الهجرة المايكروية، لا يحدث نمو أو نُشُوب (ingrowth) للعظم في داخل سطح مادة الطعم المزروعة [44]. بالإضافة إلى ذلك، تؤدي هجرة الطعم أو المادة المزروعة والحركة المايكروية الدقيقة عند السطح البيني الفاصل بين العظم والمفصل الاصطناعي البديل (bone - prosthetic interface) إلى إزالة ربط مادة الطعم المزروعة بالأنسجة المجاورة (juxtaposed tissue)، الأمر الذي يؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة. وقد ظهر بأن هجرة الكأس الحُقَيّ (acetabular cup) تكون أكبر بكثير من أجل تلك الكؤوس التي فشلت منها من أجل تلك الكؤوس التي كانت ناجحة. ونتيجة لهذه الأسباب، فإن تقليل الحركة المايكروية الدقيقة إلى الحد الأدنى هو أحد المشاكل الرئيسة المتعلقة بمجال جراحة تقويم العظام.

إن استخدام الإسمنت أو الملاط العظمي هو الطريقة الرئيسية لتقليل تحرك أو هجرة الطعم أو المادة المزروعة وقد ظهر بأنه فعال عند استخدامه بتنظيم الحجم في منع الحركة المايكروية الدقيقة [45]. إن الإسمنت أو الملاط العظمي هو في الأساس مادة حشو (filler material)، تتوضع بين العظم ومادة الطعم المزروعة. وإن المادة الأكثر استخداماً كإسمنت أو ملاط عظمي هي البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA - poly(methyl methacrylate)). وعلى الرغم من أن استخدام البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) يمنع الحركة المايكروية الدقيقة، إلا أن هناك بعض العيوب المتأصلة أو الملازمة للبولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). فعلى سبيل المثال، عند إزالة العظم لإفساح المجال للإسمنت أو الملاط العظمي، تم تحديد العيوب التالية: نُخر خلايا العظم (necrosis of bone cells) نتيجة لعملية بلمرة البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) التي تتم عند درجة حرارة عالية (من ٦٧ إلى ١٢٤ درجة مئوية) والمطلقة للحرارة (الأمر الذي يضر في عملية الدوران الدموي الموضعي (local blood circulation) [46]) وتسرب المونومرات غير المتفاعلة (unreacted monomers) قبل عملية البلمرة والانكماش أو التقلص (shrinkage) أثناء عملية البلمرة وعدم التطابق الكبير للصلابة بين الإسمنت أو الملاط العظمي والأنسجة المحيطة وإنشاء سطوح بينية فاصلة إضافية (المادة المزروعة - الإسمنت، الإسمنت - العظم) [47]. وعند عدم استخدام الإسمنت أو الملاط العظمي، تصبح عملية التثبيت الأولية للطعم أو المادة المزروعة بالعظم مشكلة كبيرة. ويجب أن يرتبط العظم بشكل كامل بسطح مادة الطعم المزروعة قبل تطبيق أي قوة على المادة المزروعة. لهذا السبب، فإن الترسيب المبكر للعظم (early bone deposition) ضروري وحيوي في عمليات جراحة تقويم العظام. ويجب على المواد المستخدمة في الطعوم المزروعة أن تُعزز تكون العظم وأن تُحرّض على الترسيب المبكر للعظم.

## Wear (٥, ٢, ١, ٣) الاهتراء

الاهتراء (wear) هو توليد للجسيمات عندما يتحرك سطحان متقابلان بالنسبة إلى بعضهما بعضاً تحت حمل، وهكذا يتم إنتاج حطام الاهتراء (wear debris). لا يسبب الاهتراء في الطعوم أو المواد المزروعة ترققاً في المكونات مع ظهور اختلالات أو فقد في التوازنات الإجهادية - الانفعالية وهجرة للطعم أو المادة المزروعة فحسب، بل يُنتج أيضاً حطام الاهتراء الذي يتم إطلاقه في البيئة البيولوجية [48]. ويمكن أن يكون سبب الاهتراء عوامل ميكانيكية (مثل الالتصاق والسحج أو الأسيحاح (abrasion) والتعب أو الإجهاد (fatigue)، ... إلخ) أو عوامل بيولوجية (مثل تآكل (corrosion) سطح مادة الطعم المزروعة بفعل الأنشطة أو الفعاليات البيولوجية، ... إلخ).

يسبب الحطام الناتج عن الاهتراء انحلال العظم (osteolysis) (أو الارتشاف الموضعي (localized resorption) أو ذوبان (dissolution) النسيج العظمي) في العظم المحيط. ولكي يسبب الحطام الناتج عن الاهتراء انحلالاً للعظم، فإنه توجد قيمة حدية عملية للاهتراء (عتبة الاهتراء (wear threshold)) والتي تم اقتراحها على أنها ٠.٥ ميليمترًا / سنة [49]. وعندما يتم تجاوز هذه القيمة الحدية أو العتبة، يزيد على الأرجح احتمال حدوث انحلال العظم. ومن المقبول وعلى نطاق واسع أنه كلما قلت نسبة الاهتراء، قل احتمال حدوث الانحلال العظمي. وقد أكد بعض الباحثين على أن المهم ليس هو التركيز الإجمالي لحجم الاهتراء، ولكن تركيز حجم الاهتراء ضمن المجال الحجمي الحرج أو الحدي (من ٠.٢ إلى ٠.٨ مايكرونًا) هو الأهم من أجل الاستجابة البيولوجية (biological response) [50].

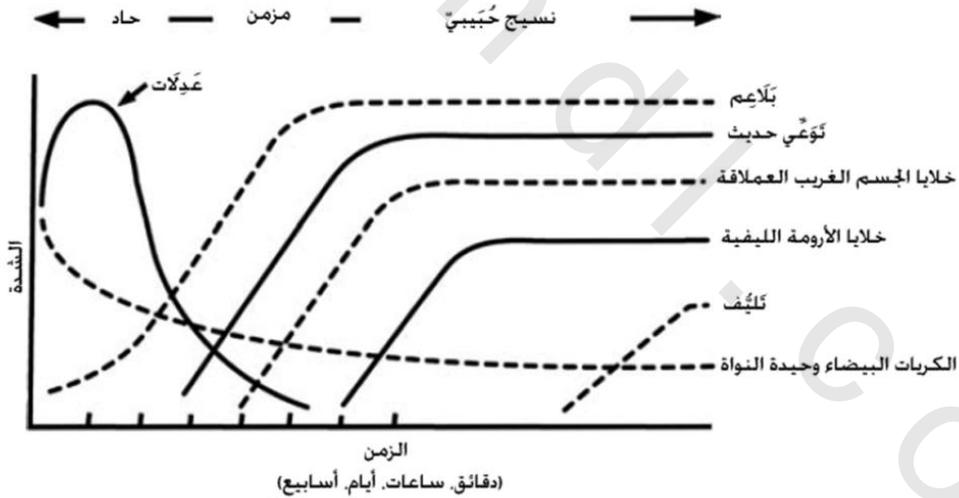
إن نوع المادة ونصف القطر الرأسي (head radius) والخلوص (clearance) وتشطيب أو إنهاء السطح (surface finish) والتزييت أو التشحيم (lubrication)، هي كلها عوامل مهمة ويمكن أن تزيد من خصائص الاهتراء الخاصة بمادة الطعم المزروعة. وبناءً على هذه المحددات أو البارامترات، يمكن أن تختلف خصائص الاهتراء الخاصة بالطعوم أو المواد المزروعة بشكل ملحوظ. فعلى سبيل المثال، يمتلك المعدن على البولي إيثيلين ذي الوزن الجزيئي العالي جداً (ultrahigh molecular weight polyethylene - UHMWPE)، معدل اهتراء قدره من ١٠٠ إلى ٣٠٠ مايكرومتر / سنة، ويمتلك السيراميك على البولي إيثيلين ذي الوزن الجزيئي العالي جداً (UHMWPE) معدل اهتراء قدره من ٥٠ إلى ١٥٠ مايكرومتر/سنة، ويمتلك المعدن على المعدن معدل اهتراء قدره من ٢ إلى ٢٠ مايكرومترًا / سنة، ويمتلك السيراميك على السيراميك معدل اهتراء قدره من ٢ إلى ٣٠ مايكرومترًا / سنة [51]. وعلى أي حال، وبالرغم من معدلات اهترائها المنخفضة، فقد تم انتقاد استخدام المعدن على الطعوم المعدنية المزروعة وذلك لأن لها معدلات تفكك أو تخلخل (loosening rates) أعلى؛ مما يسبب حساسية معدنية (metal sensitivity) تؤدي إلى حدوث تفاعلات بيولوجية للمكونات أو العناصر الرئيسية للخليط المعدني والذي يؤدي إلى إنتاج حطام اهتراء في مستوى النانومتر [52,53]. وهكذا، ونظراً لأنه يتم قياس معدل اهتراء منخفض؛ فإنه يجب أخذ العوامل البيولوجية لحطام الاهتراء المرافق في عين الاعتبار.

**Biological Factors** (٥, ٢, ٢) العوامل البيولوجية

عندما يتم إدخال طعام أو مادة مزروعة، تحدث بعض التفاعلات البيولوجية بالقرب من المنطقة المزروعة بالطعم. وتمثل هذه التفاعلات استجابة الجسم لهذه المادة الغريبة المزروعة حديثاً. إن مادة الطعم المزروعة الناجحة تعزز عملية التصاق الخلايا البانية للعظم على سطح الطعم المزروع وعملية تكوين نسيج عظمي جديد، ودمج الطعم أو المادة المزروعة في الجسم. وعلى أي حال، إذا غلّف الجسم المادة المزروعة عن طريق تكوين أنسجة ليفية ملساء (soft fibrous tissue) وحاول فصله قدر الإمكان عن العظم المحيط، فإن ذلك يمثل علامة للزراعة غير الناجحة. إن الهدف العام للطعوم أو المواد المزروعة المستخدمة في جراحة تقويم العظام هو تقليل مقدار تكوين الأنسجة الليفية حول المادة المزروعة إلى الحد الأدنى وزيادة نمو العظم الجديد إلى الحد الأقصى.

**Host Response to Foreign Materials** (٥, ٢, ٢, ١) استجابة المضيف للمواد الغريبة

بعد إجراء عملية الزراعة، يتبع الجسم سلسلة من الأحداث الموضعية أثناء الاستجابة للالتئام (healing response). وهذه الأحداث هي الالتهاب الحاد (acute inflammation) والالتهاب المزمن (chronic inflammation) وتكوين الأنسجة الحبيبية (granulation tissue) ورد فعل أو استجابة الجسم الغريب والتليف (fibrosis). إن الخطوات وأنواع الخلايا السائدة أثناء خطوات التئام أو شفاء الجرح تلك هي موضحة في الشكل رقم (٥.١٠) [54].



الشكل رقم (٥.١٠). الرسم البياني للوقت مقابل الشدة (time versus intensity) لردود الفعل أو الاستجابة للالتئام أو شفاء الجروح (wound healing responses) والذي يُظهر أنواع الخلايا السائدة أو المهيمنة في موقع الالتهاب (inflammation)

(site). (Anderson, J.M., *Cardiovascular pathology*, 2(3), 33, 1993).

إن الالتهاب هو رد فعل أو استجابة النسيج الحي المتوعي (vascularized living tissue) لضرر أو أذى موضعي [54]. فهو ينشط سلسلة من الأحداث التي يمكن أن تشفي أو تُلِّم النسيج بعد عملية الزراعة وذلك عن طريق جلب الخلايا المتنبية (parenchymal cells) أو الخلايا المراد بها تغليف (encapsulate) الطعام أو المادة المزروعة بأنسجة ليفية [55]. ويتم تفعيل الاستجابة الأولية المتعلقة بالالتهاب بغض النظر عن نوع المادة الحيوية وموضع الضرر أو الأذى. ويعتبر الالتهاب الحاد استجابة قصيرة الأمد (short - term response) (بضعة أيام) للضرر أو الأذى. فيزداد تدفق الدم إلى منطقة الضرر بعد العملية الجراحية مباشرةً. وهذا يعني زيادة في تدفق البروتينات (البعض منها يمكن أن يعزز التصاق الخلايا المعتمدة على التثبيت) والمواد الغذائية والخلايا المناعية (immune cells) والخلايا التي يمكن أن تساعد في الشفاء والخلايا الجذعية المتوسطة (mesenchymal stem cells)، ... إلخ. إن الخلايا التي تظهر أولاً في منطقة الزراعة هي خلايا الدم البيضاء (white blood cells) وبشكل أساسي العدلات (neutrophils). بعد ذلك تقوم العدلات بجلب الوحيدات (monocytes) (وهي نوع من الكريات البيضاء وحيدة النواة) إلى منطقة الالتهاب (حيث ستميز الوحيدات من ناحية أخرى إلى خلايا بلعمية أو بلاعم (macrophages) والتي من المعروف جيداً بأنها تساعد في تحلل مادة الطعام المزروع). ومن ثم يتم جلب العدلات إلى منطقة الالتهاب عن طريق وسائط كيميائية (chemical mediators) (عن طريق الأنجذاب الكيميائي chemotaxis) لتُبْلَع (phagocytose) الميكروبات أو الكائنات الحية المجهرية الدقيقة (microorganisms) والمواد الغريبة [55]. فهي تلتصق بسطوح المادة الحيوية عن طريق البروتينات الممزوجة، وبصورة أساسية الغلوبولين المناعي (immunoglobulin G - IgG) (G) والجزء المتمم المفعل (complement - activated C3b) (fragment - C3b) من خلال عملية تُسمى "الطهاية" ("opsonization"). ونظراً للاختلاف النسبي في الحجم بين المواد الحيوية الخاصة بجراحة تقويم العظام والخلايا البلعمية (phagocytotic cells)، فإنه لا يمكن للخلايا استيعاب الطعام أو المادة المزروعة. وهذا يؤدي إلى حالة تُسمى "البلعمة المحبطة" ("frustrated phagocytosis")، والتي هي تفعيل للخلايا البلعمية من أجل إنتاج منتجات خارج خلوية تسعى إلى تحلل المادة الحيوية، وفي نفس الوقت تقوم بجلب المزيد من الخلايا إلى منطقة المادة المزروعة. وبعد ذلك تُفرز البلاعم عوامل مُحلِّلة (مثل فوق الأكسيدات (superoxides) والجذور الحرة (free radicals)) والتي تُضُر بكل من الأنسجة المجاورة وربما بالمادة المزروعة بشكلٍ شديد.

تؤدي الاستجابات أو ردود الفعل المستمرة المتعلقة بالالتهاب إلى الالتهاب المزمن [55]. إن أهم أنواع الخلايا الرئيسية التي يتم ملاحظتها أثناء الالتهاب المزمن هي الوحيدات أو الكريات البيضاء أحادية النواة والبلاعم أو الخلايا البلعمية واللمفاويات أو الخلايا اللمفاوية (lymphocytes). ويبدأ التوعي الحديث (neovascularization) (تكوّن أوعية دموية جديدة) أيضاً أثناء هذه الخطوة من التئام الجرح. إن البلاعم أو الخلايا البلعمية هي نوع الخلايا الأكثر أهمية في حالة الالتهاب المزمن وذلك نظراً لإفراز عدد كبير من المنتجات الفعالة بيولوجياً مثل: البروتيازات (proteases) (وهي إنزيمات بروتينية) ومُستقلبات حمض الأراكيدونيك (arachidonic acid metabolites) ومُستقلبات الأوكسجين التفاعلية (reactive oxygen metabolites) وعوامل التخثر (coagulation factors) وعوامل النمو (growth factors) (والتي هي مهمة لجلب وتعزيز وظائف خلايا الأرومات الليفية).

إن الخطوة الثالثة في رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب هي تكوين النسيج الحبيبي (granulation tissue). تُشكّل خلايا الأرومة الليفية النسيج الحبيبي. وهذا النسيج هو السمة المميزة للاستجابة الشفائية. وهو حبيبي المظهر ويحتوي على العديد من الأوعية الدموية الصغيرة [5]. بالإضافة إلى ذلك، تندمج البلاعم مع بعضها بعضاً لتشكيل خلايا الجسم الغريب العملاقة (foreign body giant cells) وذلك لمحاولة بلعمة المواد الغريبة بفعالية أكبر بكثير. وتحدد كمية النسيج الحبيبي مدى التليف [5].

تحتوي الخطوة الرابعة في شفاء أو التئام الجرح، وهي رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب، على خلايا الجسم الغريب العملاقة ونسيج حبيبي (وهي تشمل خلايا الأرومة الليفية والشعيرات الدموية والبلاعم، ... إلخ). وتعتبر خصائص المادة الحيوية العامل الرئيسي المحدد في هذه الخطوة. وقد اتضح بأن السطوح الملساء (النعومة في مستوى المايكرون micron smooth) تحفز رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب وهي تتألف من بلاعم يبلغ سمكها من خلية واحدة إلى خليتين [55]. وعلى أي حال، فعندما تزداد الحشونة (الحشونة في مستوى المايكرون micron rough)، يزداد رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب.

الخطوة الأخيرة في رد الفعل أو الاستجابة لشفاء أو التئام الجرح هو التليّف، والذي هو تغليف للطعم أو المادة المزروعة بنسيج ليفي. ويتوقف نجاح عملية الزراعة بصورة عامة على قدرة تكاثر الخلايا في النسيج. إن الأنسجة التي تحتوي على خلايا غير مستقرة (labile cells) (تتكاثر طوال الوقت) أو خلايا مستقرة (stable cells) (تتوسع) هي أقل احتمالاً في دخول مرحلة التليّف. وعلى أي حال، إذا كانت الخلايا التي تضم تلك الأنسجة مستقرة (لا تنمو، وذات قدرة محدودة على التكاثر)، فإن فرص تشكيل الأنسجة الليفية تكون أكبر نسبياً. وبحسب ما ذكر آنفاً، فإن التمحفظ أو التغليف الليفى (fibrous encapsulation) غير مرغوب فيه في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية لأنه يؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة نظراً إلى الاختلالات أو فقد التوازنات الإجهادية - الانفعالية. وبكل بساطة، لا يمكن للأنسجة الليفية أن تدعم الإجهادات الفيزيائية (physical stresses) التي يمكن للعظم أن يدعمها. إن الحالة المرغوب فيها للطعم أو مادة الزراعة الخاصة بجراحة تقويم العظام هي جلب الخلايا المتئبة، وعلى وجه التحديد خلايا بانية للعظم أكثر، حول الطعم أو المادة المزروعة في أسرع وقت ممكن.

### (٥,٣) المجال الناشئ حديثاً: تقنية النانو EMERGING FIELD: NANOTECHNOLOGY

#### (٥,٣,١) مقدمة Introduction

إن تقنية النانو هي تطوير المواد والأجهزة والأنظمة التي تعرض وبشكل ملحوظ خصائص مُعدّلة وجديدة وذلك عن طريق التحكم بالمستوى الذري (atomic level) والمستوى الجزيئي (molecular level) والمستوى فوق الجزيئي (supramolecular level) [56,57]. لقد أحدثت هذه التقنية ثورة في العديد من المجالات، بما في ذلك صناعة الطعوم أو المواد المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام.

عندما يتم تقليل الأبعاد التقليدية للمادة إلى مستوى النانو، تحدث بعض التغييرات غير العادية في الخصائص الفيزيائية الكيميائية (physicochemical properties). ويمكن أن يُعزى ذلك إلى الحجم (أي توزيع الحجم (size distribution)) والتركيب الكيميائي (chemical composition) (أي النقاء (purity)) والتبلور (crystallinity) والخصائص الإلكترونية (electronic

((properties)) والبنية السطحية (surface structure) (أي التفاعلية (reactivity) والمجموعات السطحية (surface groups)) والذوبانية أو القابلية للذوبان (solubility) والشكل (shape) وتكدُّس أو تجمُّع (aggregation) المواد في المستوى النانومتري مقارنة بالمواد في المستوى المايكرومي [58]. وبالرغم من أن مختلف الخبراء يُعرِّفون "المادة النانوية" ("nanomaterial") بطرق مختلفة، إلا أن التعريف الأكثر قبولاً هو أن المادة النانوية هي مادة ذات وحدة بنيوية أساسية في المجال من ١ إلى ١٠٠ نانومتر.

إن طب النانو (Nanomedicine) هو مجموعة فرعية من تقنية النانو وهو تطبيق لتقنية النانو من أجل تشخيص الأمراض أو علاجها أو منع حدوثها. وعلى الرغم من أن هذا المجال لا يزال في مراحله الأولى، إلا أنه يتمتع بإمكانية كبيرة لتغيير منهجية العلوم الطبية في القرن الواحد والعشرين. على سبيل المثال، فإن كلاً من اكتشاف الخلايا السرطانية (cancer cell detection) [59] أو توصيل الدواء والجينات (drug and gene delivery) [60,61] وهندسة الأنسجة (tissue engineering) [62] والتصوير الحيوي (bioimaging) [63,64] سيستفيد من التطورات في طب النانو بشكل كبير جداً. وفي الوقت الحالي، لم يتم إظهار إلا القليل من مزايا تقنية النانو من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية والتي سوف يتم توضيحها أدناه.

واحدة من القوى الدافعة الأساسية لاكتشاف مواد نانوية في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية هي أن الأنسجة في جسم الإنسان ذات بنية نانوية، مما يفتح الأبواب وبشكل واضح على العديد من الفرص لتحسين الطب. فعلى سبيل المثال وحسب ما تمت الإشارة إليه، فإن جزيئات الهيدروكسي أباتيت (HA)، وهي المكوّن الرئيسي للطور غير العضوي للعظم، وهي ذات سماكة من ٢ إلى ٥ نانومترات والكولاجين من النمط الأول، وهو المكوّن الرئيسي للطور العضوي للعظم، وهو ذو قطر يبلغ ٠.٥ نانومتراً. وهذا يعني أن خلايا العظم معتادة على أن تتفاعل بشكل طبيعي مع السمات أو الخصائص والسطوح في المستوى النانوي. فعندما تتم هندسة سطوح الطعوم أو المواد المزروعة لمحاكاة المكونات الرئيسية للعظم، يمكن توقع دمج أفضل للطعم أو للمادة المزروعة مع الجسم. بالإضافة إلى ذلك، فإن للمواد في المستوى النانوي (nanoscale materials) مساحة سطحية أكبر وعبوياً سطحية أكثر وعدداً أكبر من الذرات على السطح وتوزيعات مُعدّلة أكثر للإلكترونات، الأمر الذي يغير من خصائص سطوحها (أي التفاعلية) بالمقارنة مع المواد التقليدية، ويؤثر من ناحية أخرى على التفاعلات بين السطح والبروتينات. وعلاوة على ذلك، فإن النقص في حجم الحبيبات أو الجسيمات في النظام النانومتري سيغير أيضاً من الخصائص الميكانيكية والخصائص الكهروضغطية (piezoelectric properties) والخصائص الكهربائية. وباختصار، يمكن تصنيف مزايا استخدام المواد في المستوى النانوي في التطبيقات المتعلقة بجراحة تقويم العظام إلى فئتين رئيسيتين: المزايا الميكانيكية والمزايا البيولوجية.

### (٥،٣،٢) الاختلافات في الخصائص الميكانيكية Differences In Mechanical Properties

### (٥،٣،٢،١) الاختلالات الإجهادية-الانفعالية وهجرة الطعم أو المادة المزروعة Stress-Strain Imbalances and Implant Migration

تسبب معظم أنواع السيراميك والمعادن المستخدمة في تطبيقات جراحة تقويم العظام تدرجاً أو وقاية من الإجهاد (وهو واحد من الأسباب الرئيسية لارتشاف العظم) نظراً إلى عدم تطابق الخصائص الميكانيكية بين مادة الطعم المزروعة والعظم المحيط،

مسبباً تفكك أو تخلخل عقيم (لا إئتاني) وهجرة الطعم أو المادة المزروعة. ولهذا السبب، فإن توزيع إجهادي - انفعالي (stress - strain distribution) أكثر انتظاماً ومنع التفكك أو التخلخل على السطح البيني الفاصل (interfacial loosening) هو الدافع الرئيسي لتعديل الخصائص الميكانيكية لمواد للطعوم العظمية المزروعة. وعلى وجه التخصيص، يبدو أن المواد ذات الطور النانوي تحقق مزايا كبيرة في هذا الصدد.

لتقديم أفضل أداء لمادة الطعم المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام، ينبغي أن تحاكي مادة الطعم المزروعة معامل المرونة، والمتانة، وصلابة أو متانة الكسر (fracture toughness) للعظم الطبيعي. فمن أجل شق أو صدع ذي حجم محدد، فإنه كلما زادت صلابة الكسر لمادة الطعم المزروعة، زادت متانتها، الأمر الذي يحل مشكلتين في آن واحد [65]. وفيما يتعلق بتطبيقات جراحة تقويم العظام، فإن زيادة أو تعزيز صلابة الكسر تكون ناجحة بشكل عام عن طريق استخدام طرق إنتاج المركب. فيمكن لاستخدام طور ثانوي من أجل الحصول على تحسن في صلابة الكسر أن يزيد من الطاقة لشرق (crack) أو أن يبدد الطاقة لانتشار شق بصورة أكثر فعالية من خلال آلية انحراف أو تغيير مسار الشق (crack deflection mechanism) أو آلية تجسير الشق (crack bridging mechanism) أو آلية التحول الطوري (phase transformation mechanism) [65].

وقد ركّز الباحثون على استخدام الهيدروكسي أباتيت (HA) من أجل إنتاج المركب، حيث يتم استخدام الهيدروكسي أباتيت (HA) إما كمصفوفة (matrix) وإما كعامل معزز أو داعم (reinforcing agent). لقد زاد الباحثون من صلابة الكسر عن طريق إضافة عوامل معززة أو داعمة. فعلى سبيل المثال، فإن إضافة الزركونيا المستقر جزئياً (partially stabilized zirconia - PSZ) كعامل معزز أو داعم إلى الهيدروكسي أباتيت (HA) (ذي الحجم التقليدي) يزيد من صلابة الكسر من ١.٧٣ ميغا باسكال × متر<sup>٢/١</sup> إلى ٢.٣ ميغا باسكال × متر<sup>٢/١</sup>؛ مما يؤدي إلى إنتاج صلابة أكبر عن طريق التحول الطوري للزركونيا المستقر جزئياً (PSZ) [66]. وعلى أي حال، فإن تقنية النانو ليست حول التراكيب الكيميائية الجديدة، بل هي حول استخدام نطاق حجمي جديد.

يمكن لمعاملات الانحناء التي يتم الحصول عليها من خلال استخدام المواد في المستوى النانوي أن تحاكي بشكل أفضل بكثير معاملات الانحناء لعظم فخذ إنسان (١٩ غيغا باسكال) مقارنة مع نظيراتها التقليدية في مستوى المايكرون. فعلى سبيل المثال، تمتلك الألومينا التقليدية (conventional alumina) معامل انحناء قدره ٥٢ غيغا باسكال، ولكن الألومينا ذات الطور النانوي (nanophase alumina) تمتلك معامل انحناء قدره ٣٥ غيغا باسكال، والتي تقلد العظم بشكل أكثر فعالية [67].

ومن خلال استخدام الهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) كطور للمصفوفة مع نسبة ١.٥٪ من الزركونيا كعامل للتعزيز أو الدعم، ازدادت متانة المادة المركبة من ١٨٣ إلى ٢٤٣ ميغا باسكال. وبإضافة طور ثانوي بنسبة ٤٪ وزن من أنابيب الكربون النانوية (carbon nanotube - CNT) إلى الهيدروكسي أباتيت (HA) ازدادت صلابة الكسر بنسبة ٥٦٪ [68] وبإضافة نسبة ٠.١٪ وزن من أنابيب الكربون النانوية (CNT) المعدلة وظيفياً بسلفات دودييسيل الصوديوم (sodium dodecyl sulfate) إلى بولي (فومارات البروبيلين) (poly(propylene fumarate)) ازداد معامل ضغط (compressive)

(modulus) البوليمر من ٣١٨ إلى ٩٨١ ميغا باسكال وذلك بسبب تكوّن الربط المتشابك [69]. وقد وُجد بأن دمج الهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) بنسبة ٥٥٪ وزن في البولي أميد القطبي (polar polyamide - PA66) هو أكثر فعالية من دمج الهيدروكسي أباتيت المايكروي (micro-HA)؛ مما يزيد من متانة الانحناء (bending strength) ومتانة الشد (tensile strength) ومتانة الصدم أو التأثير (impact strength) للمادة المركبة بنسبة ٣١.٣٪ و ٣٨.٩٪ و ٦٨٪، على التوالي [70]. وقد سمحت الطاقة السطحية (surface energy) العالية والفعالية السطحية (surface activity) العالية لبلورات الهيدروكسي أباتيت النانوية (nano-HA) بالمقارنة مع بلورات الهيدروكسي أباتيت المايكروية (micro-HA) بربط أقوى للهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) مع البولي أميد القطبي (PA66)؛ مما يؤدي إلى تحسّن في الخصائص الميكانيكية.

عند النظر في متانة المادة السيراميكية المحضّرة من خلال تقنية رص أو ضغط المسحوق (powder compaction technique)، فإن السيراميك النانوي (nanoceramics) يعتبر أقوى بكثير من نظرائه ذوي الحجم التقليدي. على سبيل المثال، فإن متانة انحناء الهيدروكسي أباتيت (HA) ذي الحجم التقليدي هي من ٣٨ إلى ١٦٠ ميغا باسكال، وهي للهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) ١٨٣ ميغا باسكال [71]. إن سبب هذا التحسن في المتانة هو تقليل حجم العيب إلى الحد الأدنى من خلال استخدام المساحيق النانوية (nanopowders)، والتي ينبغي أن تكون أقل من أبعاد المساحيق لو تمت معالجتها بصورة مناسبة. إلا أنه وبسبب العيوب الكبيرة التي تظهر أثناء استخدام تقنيات معالجة السيراميك، لم تتحقق ميزة المتانة الزائدة عبر استخدام الهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) لتصل إلى كامل قدرته. وسوف تزيد التحسينات التي تتم على تقنيات المعالجة من متانة السيراميك النانوي وصلابة أو متانة الكسر.

ونظراً إلى حقيقة أن العظم هو مركب من بروتينات الكولاجين (بوليمر) وسيراميك مبني على أساس الهيدروكسي أباتيت (HA)، فإن استخدام أنواع السيراميك كطور ثانوي (secondary phase) داخل البوليمرات يعتبر طريقة يجرى دراستها على نطاق واسع [72]. وقد وُجد بأن معاملات الانحناء لمركبات السيراميك (الألومينا (alumina) أو التيتانيا (titania) أو الهيدروكسي أباتيت (HA) / البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) ذات الطور النانوي بنسبة ٤٠٪ و ٥٠٪ وزن كانت أكبر بـ ٢ إلى ٤.٥ مرة بالمقارنة مع مركبات السيراميك / البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) التقليدية المقابلة [72]. على سبيل المثال، لقد زادت إضافة نسبة ٥٠٪ وزن من الألومينا معامل الانحناء للبولي (حمض اللاكتيك) (PLA) النقي من ٦٠ ميغا باسكال إلى ٣.٥ غيغا باسكال، محاكياً معامل انحناء عظم فخذ الإنسان بشكل أفضل بكثير وبالبلغ قدره ١٩ غيغا باسكال. وبصورة مشابهة، فقد أدت مركبات السيراميك (التيتانيا أو الهيدروكسي أباتيت) / البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) ذات الطور النانوي إلى زيادة معامل الانحناء وذلك بالمقارنة مع صيغ مركبات السيراميك / البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) التقليدية [72].

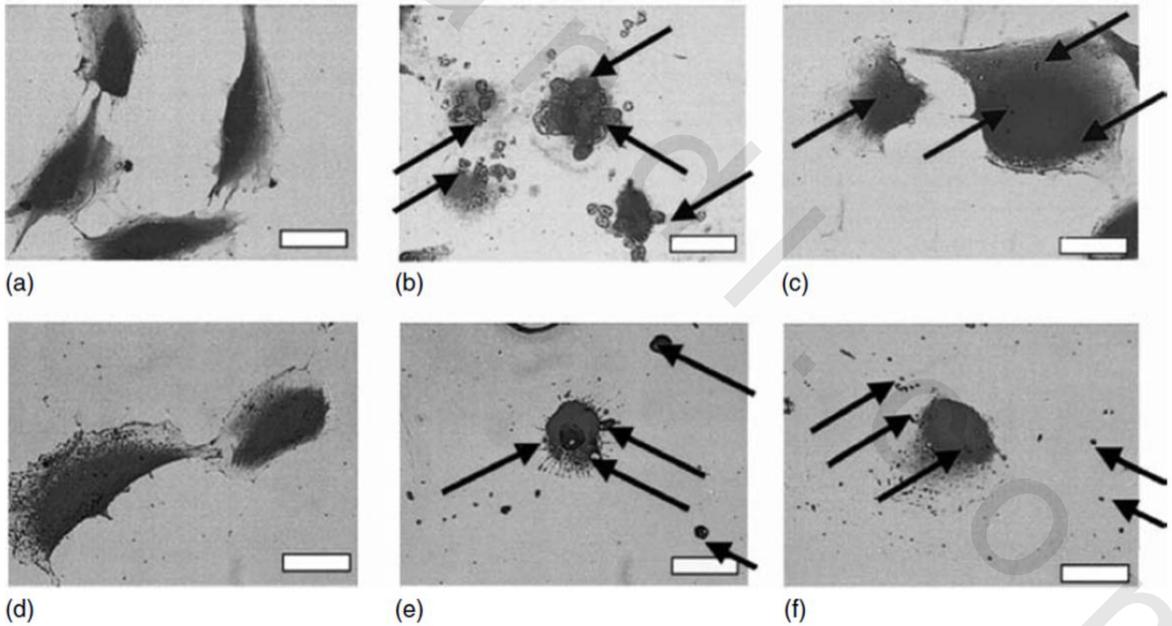
وبحسب ما تمت مناقشته سابقاً، فإن هجرة أو تحرك الطعام أو المادة المزروعة يمثل مشكلة أساسية في مجال جراحة تقويم العظام. ولمنع هجرة أو تحرك الطعام أو المادة المزروعة، يتم عادة استخدام الإسمنت أو الملاط العظمي. إلا أن الخصائص الميكانيكية السيئة (وعلى وجه التحديد خصائص الإجهاد أو التعب) والتأثيرات الضائرة أو العكسية (adverse effects)

لاستخدام البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) تستلزم إجراء بعض التحسينات ليس فقط في التراكيب الكيميائية للإسمنت أو الملاط العظمي، ولكن أيضاً في الخصائص الميكانيكية لهذا الإسمنت. إن تكوُّم أو تجمع المبادئ الراديوية (radiospacers) (وهي عادةً عبارة عن ١٠٪ وزن من جسيمات الـ  $ZrO_2$ ) أو  $BaSO_4$ ) كعوامل تباين لأشعة إكس (x-ray contrast agents) وبادئات أو مسببات للتفاعل (reaction initiators) والمستخدم في البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) هو واحد من الأسباب التي تؤدي إلى الخصائص الميكانيكية السيئة للبولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). وقد زاد استبدال المبادئ الراديوية ذات الحجم المايكروبي بمبادئ راديوية ذات حجم نانوي وبشكل كبير من متانة الشد للإسمنت أو الملاط العظمي ذي التركيب النانوي مقارنة مع تلك من أجل الإسمنت أو الملاط العظمي ذي التركيب المايكروبي وذلك نظراً لانخفاض حجم تجمع الجسيمات (particle agglomerate size) والمقاومة الزائدة لانتشار الكسر (crack propagation) [73,74]. وقد وُجد أن إضافة نسبة من ٥ إلى ١٠٪ وزن من مساحيق الهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) إلى البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) يزيد من متانة الشد ومعامل يونغ (Young's modulus) وصلابة أو متانة البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). إن دمج نَبَاتِيَّت أو عَيْدَان نانوية من الهيدروكسي أباتيت (HA nanorods) إلى مصفوفة الشيتوزان (chitosan matrix)، والذي تم اقتراحه من أجل الإسمنت أو الملاط العظمي، يُحسِّن من متانتها ومن معامل انحنائها؛ مما يؤدي إلى إنتاج صيغة أو تركيبة يبلغ قوتها ضعف قوة البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). بالإضافة إلى ذلك، يمكن لإضافة الهيدروكسي أباتيت (HA) أن تقلل من امتصاص الماء (water absorption)، مما يؤخر من الإبقاء على الخصائص الميكانيكية لمركب الشيتوزان (CS) / الهيدروكسي أباتيت (HA) في ظل ظروف الرطوبة (moisture conditions) [75].

#### (٢، ٣، ٥) الاهتراء Wear

لقد تمت دراسة التأثير الضار لحطام الاهتراء ذي الحجم التقليدي لمدة طويلة. وقد ذكر العديد من الدراسات أن حطام الاهتراء ذا الحجم التقليدي (من ١ إلى ١٠٠ مايكرومتر) قد قلل من تكاثر الخلايا البانية للعظم؛ مما يزيد من تأثيره الضار عندما تقل أحجام الجسيمات [76]، مؤكدةً على وجه التحديد الآثار الضارة للجسيمات التي يقل حجمها عن ١ مايكرومتر [77,78]. وعلى أي حال، لم يتم تأكيد تأثير حطام الاهتراء ذي الحجم النانوي (nanosize wear debris) في هذه الجهود البحثية. ولا زالت مسألة ما إذا كان حطام الاهتراء ذو الحجم النانوي أفضل أو أسوأ من حطام الاهتراء ذي الحجم المايكروبي (micron sized wear debris) موضوعاً مثيراً للجدل يقوم العديد من الباحثين بدراسته في الوقت الحالي. وبشكل خاص، تُسلط بعض الدراسات الضوء على الآثار الضارة لحطام الاهتراء ذي الحجم النانوي عن طريق التأكيد على الزيادة في عددها ومساحتها السطحية وقابلية ذوبانها بالمقارنة مع حطام الاهتراء ذي الحجم التقليدي [79]. فعلى سبيل المثال، لقد وُجد بأن التيتانيا وأنايب الكربون النانوية (CNTs) تُحدث تغييرات مورفولوجية أو شكلية في العَدَلَات وتقلل من معدل بقائها على قيد الحياة [80]. بالإضافة إلى ذلك، فقد أشارت بعض التقارير بأنه وعلى أساس تساوي - الوزن (equal - weight basis)، فإن أنايب الكربون النانوية (CNTs) سامة أكثر بكثير من الكربون الأسود، ويمكن أن تكون حتى أكثر سُمِيَّة من الكوارتز (quartz)، الذي يعتبر خطراً على الصحة المهنية بشكلٍ جسيم عند التعرض لاستنشاقه بصورة مزمنة أو متكررة [81].

ومن ناحية أخرى، فقد ذكرت تقارير أخرى بأن استجابات أو ردود فعل حطام الاهتراء ذي المستوى النانوي تكون أكثر ملاءمةً من خلال إظهار أن الخلايا البانية للعظم قد عاشت لفترة أطول في وجود السيراميك ذي الجسيمات النانوية مقارنةً بالسيراميك ذي الجسيمات المايكروية [82]. بالإضافة إلى ذلك، فقد لوحظ أيضاً أن المورفولوجيا أو الشكل يكون ذا انتشار جيد وبدرجة أكبر ولوحظ زيادة في تكاثر الخلايا في وجود الجسيمات ذات الطور النانوي مقارنةً بالجسيمات في المستوى المايكروبي؛ مما يعني أن هناك استجابة أو رد فعل عكسي أقل للخلايا تجاه حطام الاهتراء في السيراميك ذي الطور النانوي [83]. ويظهر في الشكل رقم (٥،١١) مورفولوجيا أو أشكال الخلايا البانية للعظم في وجود جسيمات الألومينا ذات الحجم المايكروبي أو النانوي. وقد أشارت هذه النتائج إلى أنه وعن طريق إنقاص حجم جسيمات الألومينا والتيتانيا إلى حجم النظام النانومتري، فإنه من الممكن التقليل من الآثار السلبية أو العكسية لحطام الاهتراء على الخلايا البانية للعظم والخلايا الغضروفية (chondrocytes) (خلايا الغضروف (cartilage cells)) إلى الحد الأدنى. وبالإضافة إلى ذلك، فقد أظهرت دراسات السمية بالاتصال المباشر (direct contact toxicity) تأثيرات ضارة أقل لألياف الكربون النانوية على الخلايا البانية للعظم بالمقارنة مع ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي [84]. ولم يتم بعد توضيح آلية التحسن في صحة الخلايا البانية للعظم في وجود الجسيمات النانوية بالمقارنة مع الجسيمات المايكروية.



الشكل رقم (٥،١١). مورفولوجيا أو شكل الخلايا البانية للعظم (osteoblast morphology) في وجود جسيمات الألومينا (alumina particles) بعد ساعتين (a, b, c) وبعد ست ساعات (d, e, f). (a, d) لا يوجد جسيمات (عينة مراقبة)، و (b, e) تقليدية، و (c, f) جسيمات الألومينا ذات الطور النانوي (nanophase alumina particles) بتركيز من ١٠٠ مايكروغرام / ميليلتر. تشير الأسهم إلى جسيمات الألومينا. شريط المقياس هو ١٠ مايكرومترات. (من Gutwein, L.G. and Webster, T.J., *J. Nanoparticle Res.*, 4, 231, 2002).

(٥,٣,٣) الاختلافات في الاستجابة البيولوجية والنشاط الحيوي Differences In Biological Response and Bioactivity

(٥,٣,٣,١) مقارنة التئام الجرح واستجابات الجسم الغريب Comparison for Wound Healing and Foreign Body Responses

بحسب ما تمت مناقشته في القسم (٥.٢.٢)، فإن التئام أو شفاء الجرح هو استجابة الجسم الطبيعية للطعم أو للمادة المزروعة. ويشمل التئام أو شفاء الجرح جلب الأنواع المختلفة من الخلايا مثل العدلات والوَحيدات والبلاعم وخلايا الجسم الغريب العملاقة. ويمكن تفسير ظهور أي من هذه الأنواع من الخلايا بالقرب من السطح البيئي الفاصل بين الطعم أو المادة المزروعة والنسيج على أنه علامة على التئام أو شفاء الجرح وهو غير مرغوب فيه وذلك بسبب التثبيط (inhibition) المصاحب لتكوّن العظم.

وقد ارتبط التصاق الوَحيدات (الخلايا أحادية النواة) بشكلٍ إيجابي بمولد الليف (الفيبرينوجين) (fibrinogen) الممزوج على العديد من السطوح البوليمرية. ولقد تبين أن البروتينات الممزوجة بشكلٍ مسبق (مثل الغلوبولين المناعيّ (G) (IgG) تنظم وبدرجة كبيرة إطلاق العامل ألفا الخاص بنخر ورم الوحيدات ( $\alpha$ -monocyte tumor necrosis factor) ونشاط مُحفّز التَّخَثُّر (procoagulant activity) [85]، ولا يُرغَب بوجود أيٍّ منهما على أو حول الطعم أو المادة المزروعة. إن منع التصاق الوحيدات هو الخطوة الحاسمة؛ لأن الوحيدات تتميز إلى بلاعم عند السطح البيئي الفاصل بين الطعم أو المادة المزروعة والنسيج. وقد ظهر بأن السطوح الملساء (ذات النعومة في مستوى المايكرون) تُحفّز تفاعل أو استجابة الجسم الغريب والذي يتألف من بلاعم ذات سماكة من خلية إلى خليتين. وعلى أي حال، كلما ازدادت الحشونة المايكروية، ازداد تفاعل أو رد فعل الجسم الغريب [88]. ومن الجدير بالذكر أن هذه الدراسات قد تناولت فقط بحث الطبوغرافيات (topographies) (السماوات السطحية) في المجال المايكروي وليس في المجال النانوي. ومع ذلك، فقد قدمت هذه الدراسات دليلاً على أن الطبوغرافيا السطحية للطعم أو للمادة المزروعة تلعب دوراً مهماً في كثافة تفاعلات أو ردود فعل الجسم الغريب.

وقد أظهر البحث الأخير المقدم من قبل Liu-Snyder وآخرين انخفاضاً في التصاق وتكاثر البلاعم بشكلٍ ملحوظ على الألومينا ذات الطور النانوي بالمقارنة مع الألومينا التقليدية بعد ١٢ و ٢٤ ساعة [86]. فعندما يقل التصاق البلاعم، فإن الآثار الضارة للالتهاب الزائد سوف تقل أيضاً، وهذا يمثل ميزة أخرى لاستخدام المواد النانوية كطعم أو مادة مزروعة خاصة بجراحة تقويم العظام. ولم تُظهر اختبارات التوافق الخلوي (cytocompatibility assays) على بلورات الهيدروكسي أباتيت النانوية (nano-HA crystals) باستخدام بلاعم بشرية مستمدة من الوحيدات إطلاقاً كبيراً لسيبتوكينات التهابية (inflammatory cytokines) (عامل نخر الورم ألفا (TNF- $\alpha$ )) ولكن تم قياس زيادة في إنزيم نازعة هيدروجين اللاكتات (lactate dehydrogenase - LDH)، وهو مؤشر على السُمّية، عند تراكيز عالية للهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA 100) مليون جسيم / ٠.٥ مليون خلية) [87]. بالإضافة إلى ذلك، فإن كمية الإنزيمات التي يتم إطلاقها أو تحريرها من البلاعم وخلايا الجسم الغريب العملاقة أثناء البلعمة المحبطة تتوقف على حجم جسيمات المادة الحيوية؛ فكلما كان حجم الجسيم الأساسي أصغر، قل عدد الإنزيمات التي يتم إطلاقها [55]. ويمكن تفسير هذا الإطلاق بأنه عندما يقل حجم الحبيبة أو الجسيم لمادة ما إلى الحجم النانوي، فينبغي توقع استجابات أو ردود فعل التهابية أقل.

فأثناء استجابة أو رد فعل الجسم الغريب، إذا حدثت البلعمة المحبطة، يتم إطلاق محتويات الخلايا البلعمية (إنزيمات مُحلِّلة degradative enzymes) وفوق الأكسيدات وجذور الأكسجين الحرة (free oxygen radicals)، ... (إلخ) إلى السطح البيئي الفاصل بين الطعام أو المادة المزروعة والأنسجة، والتي تكون تأثيراتها عكسية أو ضارة على كل من مادة الطعام المزروعة والأنسجة المجاورة. وعلى أي حال، ففي الوقت الذي يتم فيه إنتاج جذور الأكسجين الحرة تلك أثناء البلعمة المحبطة، فإن الطريقة الوحيدة للتخلص منها هي ربطها بسطح آخر. وفي هذا الشأن، لا يزال دور المواد ذات المستوى النانوي قيد المناقشة. فمن المعروف أن جسيمات النانو تجذب الجذور الحرة في المستوى الخلوي (cellular level) [88]، ونتيجة لهذه الخاصية، فقد تم الاقتراح بأن يتم استخدامها كعوامل دوائية (pharmacological agents) مثل كاسحات جذور الأكسجين الحرة (free radical scavengers of oxygen). ويمكن أن يكون استخدام الطعوم أو المواد المزروعة ذات الطور النانوي مفيداً من أجل جذب جذور الأكسجين الحرة على سطوحها، الأمر الذي سيحفز من ناحية أخرى المزيد من الاستجابة أو رد الفعل الضار للجسم الغريب. وعلى أي حال، فإنه من الواضح أيضاً أنه بالإضافة إلى جذب جذور الأكسجين الحرة، فإن المواد النانوية تُؤدِّد وبشكل طبيعي أنواع نشطة من الأكسجين [58]. ويؤدِّد الانكماش في حجم المواد النانوية عيوباً بنيوية ويعطل الترتيب أو التوزيع الإلكتروني للمواد؛ مما يؤدي إلى حدوث تغيير في الخصائص الكهربائية التي من الممكن أن تُنشئ مجموعات سطحية محددة تعمل كمواقع تفاعلية (reactive sites). فعلى سبيل المثال، في حالة نشوء أو إنتاج جذر فوق أكسيد الأكسجين (oxygen superoxide radical)، تتفاعل هذه المواقع التفاعلية مع جزيء الأكسجين ويُحدث التقاط الإلكترون جذر فوق أكسيد ( $O_2^-$ ) إن نشوء عينات الأكسجين التفاعلية (reactive oxygen species) يعتبر حتى الآن أكثر مسألة يتم انتقادها على نطاق واسع في سمية المواد النانوية؛ لأن الإجهاد التأكسدي (oxidative stress) في الجسم يمكن أن يحدث التهاباً وبكميات كبيرة؛ ويمكن أن يؤدي حتى إلى استماتة الخلايا (أو موت الخلايا المبرمج) [58]. وفي الوقت الحالي، لا توجد بيانات كافية عن الآثار السُمِّية للمواد في المستوى النانوي؛ إلا أن ذلك يعتبر مسألة سلامة خطيرة للغاية يجب معالجتها على نحو شامل قبل استخدام المواد ذات الطور النانوي بشكل واسع في التطبيقات البيولوجية.

وبشكل مشابه في الاهتمام، فإن هناك ميزة أخرى لاستخدام المواد في المستوى النانوي وهي تفاعلها مع الغلوبولين المناعي (G) (IgG). لقد تبين أن الغلوبولين المناعي (G) (IgG). يُمتاز أو يُمتص بصورة أقل على الألومينا ذات الطور النانوي بالمقارنة مع أنواع السيراميك التقليدية [17]. بسبب الامتصاص أو الامتزاز الأقل للغلوبولين المناعي (G) (IgG). التصاقاً أقل للعدلات على سطوح السيراميك ذات الطور النانوي، والذي يُعتبر الخطوة الأولى في تقليل استجابة أو رد فعل الجسم الغريب. وسيؤدي الامتصاص أو الامتزاز الأقل للغلوبولين المناعي (G) (IgG). أيضاً إلى جلب أقل للوحيدات إلى منطقة الالتهاب، والذي سيؤدي في نهاية المطاف إلى تشكيل أقل للبلاعم أو الخلايا البلعمية وتشكيل أقل لخلايا الجسم الغريب العملاقة. إن السطوح التي تمتص الغلوبولين المناعي (G) (IgG). تُعزز وبشكل كبير الالتصاق طويل الأمد للخلايا البلعمية (long - term macrophage adhesion)، والتي يجب تفاديها [89]. بالإضافة إلى ذلك، عندما يتم جلب كميات أقل من الخلايا البلعمية إلى منطقة الالتهاب، فسيكون هناك إفراز كمية أقل من الجذور الحرة والإنزيمات المحلِّلة، التي تضر بالخلايا

الموجودة بالقرب من منطقة الالتهاب. وتكشف هذه النتائج عن بشري نجاح واعد لاستخدام المواد ذات الطور النانوي لتقليل التأثيرات العكسية الضارة لاستجابة أو رد فعل الجسم الغريب. فإذا تم التمكن من تقليل كثافة ومدة جميع الخطوات الخمسة في شفاء أو التئام الجرح (وهي الالتهاب الحاد والالتهاب المزمن وتكوين الأنسجة الحبيبية واستجابة أو رد فعل الجسم الغريب والتلئف)، الأمر الذي تم تحقيقه مسبقاً بشكل جزئي عن طريق استخدام السيراميك ذي الطور النانوي، فإن المريض يمكن أن يُشفى بسرعة وتزداد فرص نجاح الطعم أو المادة المزروعة بشكل كبير. وعلى الرغم أنه من الصعب إجمال تأثيرات استخدام المواد ذات الطور النانوي على الاستجابة الشفائية للجرح من امتصاص أو امتزاز البروتين فقط وكذلك من بيانات التصاق البلاعم والعدلات وحدها، إلا أن النتائج مُبشرة.

بالإضافة إلى ذلك، فإن استجابة أو رد فعل الجهاز المناعي للمواد ذات الطور النانوي والمواد ذات الحجم التقليدي مختلفة. إن استجابة الجهاز المناعي لمادة الطعم المزروع غير مرغوب فيها؛ لأنها تسبب انحلال (lysis) خلايا الأنسجة المجاورة للطعم أو المادة المزروعة وتُثبِّط الخلايا في عملية شفاء أو التئام الجرح من خلال الالتصاق الخلوي الذي يتوسط فيه المستقبل - اللجين (ligand - receptor)، والتي تلعب في نهاية المطاف دوراً مهماً في فشل الطعم أو المادة المزروعة. في الأساس، وحتى يتسنى للنظام المكمل (complement system) (وهو الجزء من الجهاز المناعي الذي يستجيب للتعرف على الجسيمات الغريبة والقضاء عليها) أن يكون مُفعلاً، فإنه يتم شق رابطة الثيو إستر (thioester bond) الخاص بالبروتين المكمل (C4) (complement protein C4). وتشق المادة ذات الطور النانوي هذا الرابطة بصورة أقل فعالية بكثير من المادة ذات الحجم التقليدي؛ مما يؤدي نظرياً إلى تفعيل مُكمل واستجابات أو ردود فعل مناعية لاحقة أقل. إن واحداً من أسباب هذا السلوك يمكن أن يكون نتيجة للزيادة في عدم تمرکز الإلكترونات (delocalization of electrons)، والذي يجعل المواد ذات الطور النانوي أكثر استقراراً.

إضافة إلى ذلك، فإن الوظيفة الأخرى للجسم المضاد (الضدّ) الغلوبولين المناعي (G) (IgG antibody) في الجسم هو تنشيط الجهاز المناعي. فعندما يلتصق على سطوح الطعم أو المادة المزروعة، يُسهّل مختلف جوانب الاستجابة المناعية (immune response). وكما تم ذكره أعلاه، فإن المواد ذات الطور النانوي تعزز امتصاص أو امتزاز أقل للغلوبولين المناعي (G) (IgG). على سطوحها بالمقارنة مع نظيراتها التقليدية ذات الحجم الحبيبي، الأمر الذي يؤدي من ناحية أخرى إلى استجابات مناعية أقل [17].

إلى جانب هذه الدراسات التي تحدد مزايا المواد النانوية في تقليل الاستجابة المناعية إلى الحد الأدنى، فقد كانت هناك دراسات حول تفاعلات الخلايا (T) مع المواد النانوية. تعتبر الخلايا (T) واحدة من الأنواع الرئيسية للخلايا في الاستجابة المناعية. فعندما لا تستجيب هذه الخلايا لمادة حيوية ما، فسيكون هناك استجابة أقل للنظام المناعي. ولقد تبين أن استجابة الخلايا (T) للمواد ذات الطور النانوي تختلف تماماً عن استجابتها للمواد التقليدية. فعلى التيتانيا التقليدية، لم تكن الخلايا (T) متحركة جداً، مما يعني أنها كانت ملتصقة بشكلٍ قوي. وعلى أي حال، فقد وُجد بأنه على التيتانيا ذات الطور النانوي تكون الخلايا متحركة أكثر بكثير. وقد أظهرت هذه النتائج بأن المواد ذات الطور النانوي يمكن أن تتعرف عليها الخلايا (T) بصورة أقل من المواد التقليدية [90].

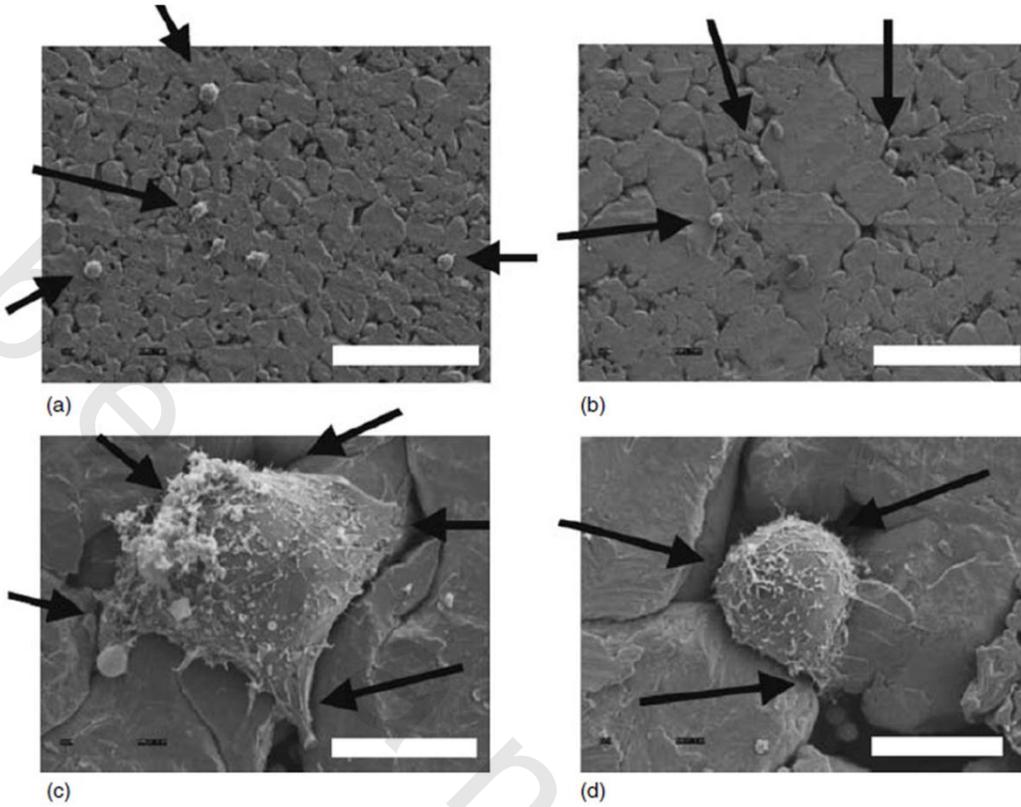
بعد تقليل الاستجابات الشفائية للجرح والاستجابات الالتهابية، يجب على المادة الناجحة المستخدمة في جراحة تقويم العظام أن تُعزز تكوين العظم. وقد كان هناك الكثير من البحوث التي أظهرت بأن المواد في المستوى النانوي تتيح فرصة كبيرة لسد هذه الفجوة لتعزيز تكوين العظم حيث فشلت فيه المواد التقليدية.

### (٥,٣,٣,٢) مقارنة النشاط الحيوي Comparison of Bioactivity

#### (٥,٣,٣,٢,١) المعادن Metals

في معظم الحالات، يتحقق إنشاء السمات أو الخصائص البنيوية النانوية على المعادن عن طريق الحفر الكيميائي (chemical etching) (مثل استخدام  $H_2O_2$ ) للمعادن التقليدية [91]. وعلى أي حال، فإن عملية الحفر الكيميائي لا تُحدث طوبوغرافيا نانوية (سمات سطحية نانوية) فحسب، بل إنها تغير أيضاً من التركيب الكيميائي للسطح العلوي؛ مما يؤدي إلى إنشاء طبقة رقيقة من أكسيد المعدن (thin metal oxide layer). ولهذا السبب؛ فإنه من الصعب تحديد ما إذا كانت التغييرات في سلوك الخلايا (cell behavior) هي نتيجة مباشرة للطوبوغرافيا النانوية المحدثة أو للتغيير في التركيب الكيميائي للسطح. في هذا الاستعراض وفي تقنية النانو بصورة عامة، فإن التركيز الرئيسي هو دراسة ما الذي يغير نمو العظم، هل هو التركيب الكيميائي أم الخشونة. إن تقنيات معالجة المساحيق (powder processing techniques)، وبشكل أكثر تحديداً، توحيد أو دمج (consolidation) المساحيق النانوية للمعادن بدون استخدام الحرارة، هي إحدى الطرق التي كان يستخدمها الباحثون لدراسة آثار التغييرات الطوبوغرافية للسطوح النانوية على نمو العظم.

وقد أظهرت مقارنة التصاق الخلايا البانية للعظم والترسيب المعدني (mineral deposition) بين المعادن التقليدية (Ti و  $Ti6Al4V$  و  $CoCrMo$ ) المستخدمة بشكل تقليدي في جراحة تقويم العظام ونظيراتها ذات الطور النانوي زيادة في وظائف الخلايا البانية للعظم على المعادن ذات الطور النانوي [92]، ويظهر أكبر ترسيب معدني على الـ ( $CoCrMo$ ) ذي الطور النانوي [93]. وعلاوة على ذلك، فقد لوحظ التصاق موجه للخلايا (directed cell adhesion) على حدود الجسيمات المعدنية (metal particle boundaries). إن خاصية الالتصاق تلك موصّحة في الشكل رقم (٥.١٢) من أجل التيتانيوم (Ti) ذي الطور النانوي والتيتانيوم (Ti) التقليدي على سبيل المثال. إن حقيقة أنه توجد هناك حدود حبيبية (grain boundaries) أكثر على سطوح التيتانيوم (Ti) ذات الطور النانوي بالمقارنة مع سطوح التيتانيوم (Ti) التقليدية، والتصاق الخلايا البانية للعظم عند حدود الجسيمات المعدنية، يمكن أن تكون توضيحاً لماذا يحدث نمو عظم أكثر على المعادن النانوية [94]. وقد ثبت أيضاً أن الزيادة في قيم الخشونة للمساحيق الفردية هي عامل حاسم في تنظيم أو تعديل طوبوغرافيا العينات وأظهرت الدراسات أنه كلما زادت الخشونة النانوية للمساحيق، كلما زاد الالتصاق [95]. بالإضافة إلى ذلك، فقد كان التيتانيوم (Ti) ذو الطور النانوي أكثر قوة في تعزيز التصاق الخلايا البانية للعظم من تثبيت الببتيدات (immobilizing peptides) (مثل ببتيد الـ (RGD) وببتيد الـ (KRSR) السالفة الذكر) على سطوح التيتانيوم (Ti) التقليدية [96].



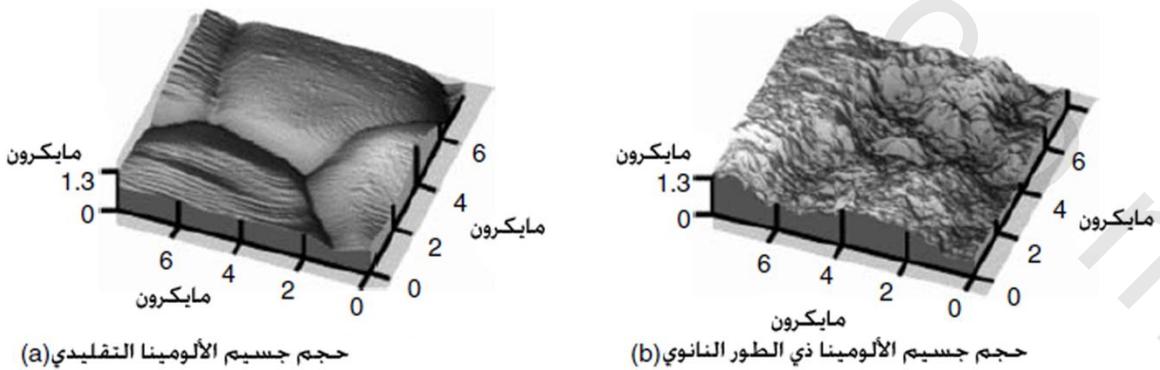
الشكل رقم (٥, ١٢). صور مجهرية بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) تُظهر (a, c) التصاق الخلايا البانية للعظم (osteoblast adhesion) على سطح تيتانيوم ذي الطور النانوي (nanophase Ti)؛ (b, d) والتصاق الخلايا البانية للعظم على سطح تيتانيوم (Ti) تقليدي. طول شريط المقياس يساوي ١٠٠ و ١٠ مايكرومترات للصور ذات التكبير المنخفض والعالي، على التوالي. وتشير الأسهم إلى الخلايا (تكبير منخفض) والمنطقة حيث يُلاحظ تنوعات أو بروزات الخلية (cell protrusions)، وتحديدًا عند حدود الجسم (particle boundaries) (تكبير عالٍ). (من Webster, T.J. and Ejiófor, (J.U., *Biomaterials*, 25, 19, 4731, 2004).

وقد أظهرت الفلزات المعدنية ذات الطور النانوي (nanophase metalloids) أيضًا بشير نجاح في تطبيقات جراحة تقويم العظام. وعلى وجه التحديد، يُبدي الكثير من المرضى الذين يخضعون لزراعة الطعم هذا التفاؤل نتيجة لإزالة العظم السرطاني (cancerous bone). ولمساعدة هؤلاء المرضى؛ فقد تمت مؤخرًا دراسة مركب كيميائي مضاد للسرطان (anticancer chemistry)، وهو السيلينيوم (selenium - Se) كطعم يُستخدم في جراحة تقويم العظام. إن الأساس المنطقي وراء استخدام السيلينيوم (Se) هو أن منتجات التآكل (corrosion products) يمكن أن تتفاعل مع الخلايا السرطانية أو يمكن أن تُستخدم من خلال الأنسجة المحيطة لمنع إعادة ظهور أو تكرار السرطان مرة أخرى. وقد وُجد أن أكثر التصاق للخلايا البانية للعظم يكون على مركبات السيلينيوم (Se) المدججة المكونة من جسيمات نانومترية [97].

## Ceramics السيراميك (٥, ٣, ٣, ٢, ٢)

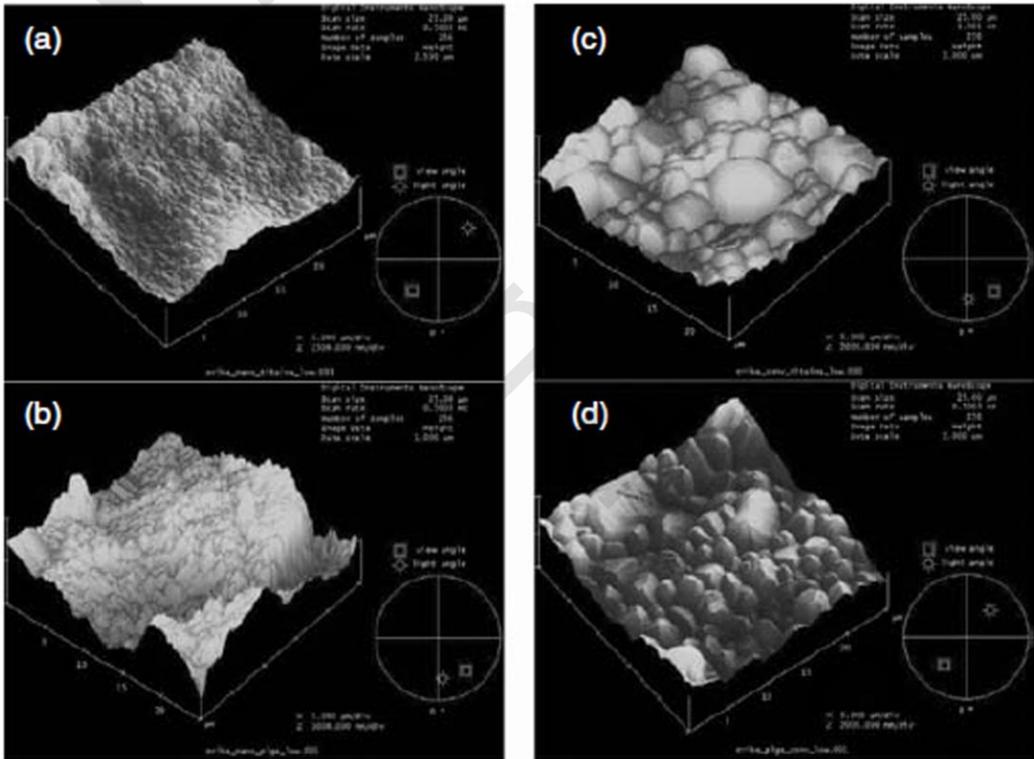
إن معظم الأبحاث في مجال هندسة الأنسجة العظمية ذات الطور النانوي (nanophase bone tissue engineering) هي على أنواع السيراميك ذي الطور النانوي، بما في ذلك التقرير الأول المعروف الذي يربط وظيفة الخلايا العظمية المتزايدة مع حجم الحبيبات المتناقصة [98]. وقد عرضت كل الدراسات زيادة في التصاق وتكاثر وترسيب الكالسيوم (calcium deposition) (وهو مؤشر لتمعدن المصفوفة العظمية)، والتركيب البروتيني للمصفوفة خارج الخلية (ECM protein synthesis) (مثل إنزيم الفسفاتاز القلوي) للخلايا البانية للعظم في التجارب التي أجريت في المختبر وذلك عندما ينقص الحجم الجسيماني (particulate size) لمادة إلى النظام النانومتري، وبشكل خاص إلى أقل من ١٠٠ نانومتر [17,29,99-104].

إن أكثر أنواع السيراميك ذي الطور النانوي التي تمت دراستها من أجل تطبيقات جراحة تقويم العظام هي الهيدروكسي آباتيت (HA) والتيتانيا والألومينا. إن الطريقة الرئيسية لإنتاج مواد الطعوم السيراميكية ذات الطور النانوي الخاصة بجراحة تقويم العظام هي توحيد أو دمج المسحوق المتبوع بالتليد أو التصلب (sintering). فعن طريق معالجة زمن ودرجة حرارة التليد أو التصلب، فإنه من الممكن الحصول على الأحجام المرغوبة للحبيبات. وقد أظهرت تجارب التصاق الخلايا البانية للعظم زيادة بنسبة ٣٠٪ و ٤٠٪ على التيتانيا ذات الطور النانوي (مع حجم حبيبي بقيمة ٣٢ نانومتراً). والألومينا (مع حجم حبيبي بقيمة ٤٦ نانومتراً)، على التوالي، عند المقارنة بأنواع السيراميك التقليدية [99]. يصف الشكل رقم (٥.١٣) الطوبوغرافيا أو السمات السطحية للألومينا ذات الطور النانوي والألومينا التقليدية. بالإضافة إلى ذلك، فقد لوحظ زيادة خطوة - وظيفة (step - function) في التصاق الخلايا البانية للعظم بالنسبة للألومينا ذات الأحجام الحبيبية بين ٤٩ و ٦٧ نانومتراً وللتيتانيا بين ٣٢ و ٥٦ نانومتراً. ويعتبر هذا الحجم الحاسم مهماً لأنه لوحظ أن السيراميك الذي يقل حجمه الحبيبي عن ١٠٠ نانومتر يعزز الخصائص الأخرى للسيراميك مثل الخصائص الكهربية والتحفيزية (catalytic) والميكانيكية، ... إلخ [58]. كما أنه يعطي أيضاً دليلاً على أن البنى السطحية المثالية للسيراميك هي ذات أبعاد أقل من ٦٠ نانومتراً.



الشكل رقم (٥.١٣). صور مجهر القوة الذرية (AFM) لـ (a) الألومينا التقليدية (conventional alumina) و (b) الألومينا ذات الطور النانوي (nanophase alumina). (من Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R., *Biomaterials*, 20, 13, 1221, 1999).

إن نقل الطوبوغرافيات أو السمات السطحية النانوية للتيتانيا التقليدية والتيتانيا ذات الطور النانوي إلى قالب نموذجي مصنوع من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (poly(lactic-co-glycolic acid) - PLGA) قد زاد أيضاً من التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم. ويُظهر الشكل رقم (٥.١٤) الطوبوغرافيات أو السمات السطحية للتيتانيا ذات الطور النانوي والتيتانيا التقليدية مع قوالب البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) المقابلة. وقد أثبتت هذه النتيجة بأن السطوح السيراميكية ذات البنية النانوية المحوّلة أو المنقولة إلى البوليمرات تعزز من زيادة التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم. فكلما كانت السمات أو الخصائص النانوية محاكية أكثر لتلك من أجل العظم الطبيعي، كانت الزيادة أكثر في التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم [105].



الشكل رقم (٥.١٤). صور مجهر القوة الذرية (AFM) لـ (a) التيتانيا ذات الطور النانوي (nanophase titania)، و (b) قالب من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA mold) للتيتانيا ذات الطور النانوي، و (c) التيتانيا التقليدية، و (d) قالب من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) للتيتانيا التقليدية. إن قيم مربع متوسط الجذر (root - mean - square) من مجهر القوة الذرية (AFM) لمقاطع مسحية (a) و (b) و (c) و (d) من  $5 \times 5 \mu\text{m}^2$  و  $25 \times 25 \mu\text{m}^2$  هي ٢٩ و ٢٢ و ١٣ و ١٢ نانومتر، على التوالي. (من التوالي. (Palin, E., Liu, H., and Webster, T.J., *Nanotechnology*, 16, 1828, 2005).

علاوة على ذلك، فقد لوحظ أن محتوى الكالسيوم (calcium content) في المصفوفة خارج الخلية (ECM) الخاصة بالخلايا البانية للعظم والمزروعة على سطوح الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي يكون أكبر بأربع مرات وست مرات ومرتين منه للخلايا المزروعة على السطوح السيراميكية التقليدية بعد ٢٨ يوماً على التوالي. وقد وُجد أن تركيب إنزيم الفوسفاتاز القلوي المقابل لذلك يكون أكبر بنسبة ٣٦٪ و ٢٢٪ و ٣٧٪ على صيغ أو تركيبات الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي مقارنة بالصيغ أو التركيبات التقليدية. بالإضافة إلى ذلك، فقد نقصت مساحة المستعمرة الخلوية للخلايا البانية للعظم (osteoblast cell colony) (وهي قياس لالتصاق الخلايا؛ فكلما التصقت الخلايا بقوة، قلت هجرتها أو تحركها، محتلةً مساحةً سطحية أقل) على الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) عندما تم تقليل الحجم الحبيبي إلى المستوى النانوي. يلخص الجدول رقم (٥.١) أنشطة الخلايا البانية للعظم على هذه الأنواع الثلاثة من السيراميك التي تمت دراستها بصورة جيدة مع أحجام حبيبية نانوية وتقليدية [100].

الجدول رقم (٥.١). الزيادة بالنسبة المئوية في إنزيم الفوسفاتاز القلوي (Alkaline Phosphatase) ومحتوى كالسيوم المصفوفة خارج الخلية (Extracellular Matrix Calcium) من أجل الخلايا البانية للعظم المزروعة على الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) النانوية بالمقارنة مع التقليدية بعد ٢٨ يوماً.

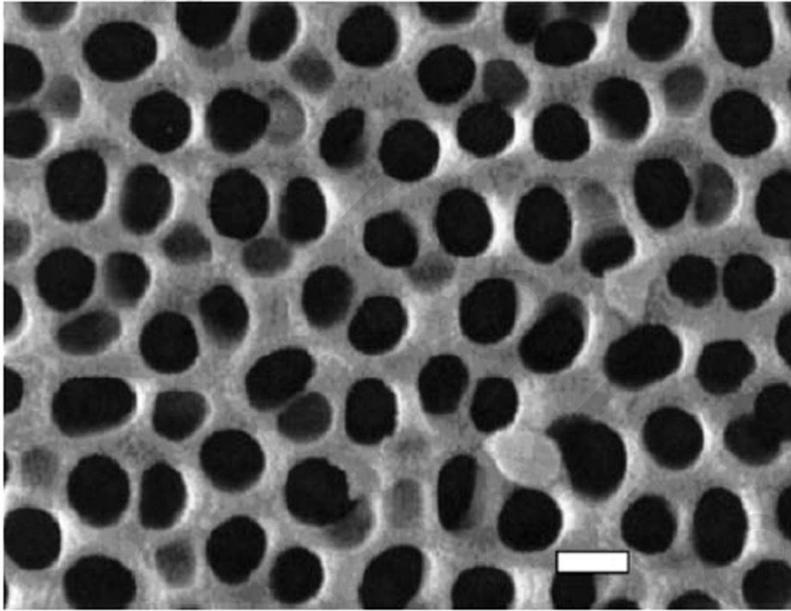
التركيب الكيميائي Chemistry	الحجم الحبيبي (نانومتر) Grain Size (nm)	نسبة الزيادة المئوية في تركيب إنزيم الفوسفاتاز القلوي على الطور النانوي مقارنة بالتقليدي	الزيادة في كالسيوم المصفوفة خارج الخلية على الطور النانوي مقارنة بالتقليدي
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	تقليدي	٣٦	أربع مرات
	نانوي		
TiO <sub>2</sub>	تقليدي	٢٢	ست مرات
	نانوي		
(HA)	تقليدي	٣٧	مرتين
	نانوي		

المصدر: من Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al., *Biomaterials*, 21, 17, 1803, 2000

ملاحظة: (HA) = هيدروكسي آباتيت

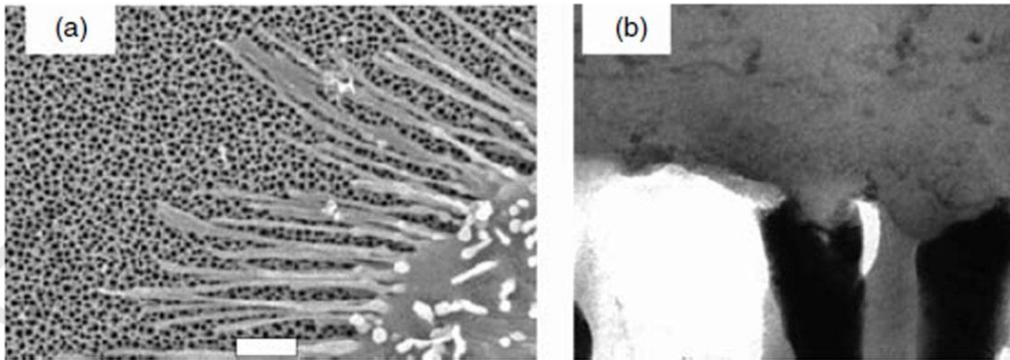
الطريقة الأخرى الممكنة لإنشاء سمات أو خصائص ذات بنية نانوية (nanostructured features) على المواد هي طريقة المعالجة الأنودية (anodization) (عملية طلاء أو تغطية معدن بطبقة أكسيد واقية باستخدام وسائل كهربية)، وهي عملية تشكيل طبقة أكسيد ذات مسامات نانوية (oxide nanopore layer) أو طبقة أكسيد ذات أنابيب نانوية (oxide nanotube layer) على سطح المعادن عن طريق استخدام الطرق الكهركيميائية (electrochemical methods). ويوضح

الشكل رقم (٥،١٥) البنية المايكروية الدقيقة لغشاء الألومينا المعدّ من خلال طريقة المعالجة الأنودية. وقد تمت دراسة الألومينا والتيتانيوم وال (Ti6A14V) المؤكسدة أو المطلية بطبقة من الأكسيد من أجل التطبيقات الخاصة بجراحة تقويم العظام [106-108]. وقد لوحظ بأن كلاً من الالتصاق والتكاثف والترسيب المعدني للخلايا البانية للعظم يزداد على هذه السطوح. وعلاوة على ذلك، فقد لوحظ أن امتصاص أو امتزاز الفيترونيكتين والفيبرونيكتين يكون أكبر على البنى الثانوية الأنبوبية التي تم تشكيلها عن طريق المعالجة الأنودية أو أكسدة التيتانيوم [109] (Ti). ومن المثير للاهتمام، أنه قد وُجد أن المسامات التي تم إنشاؤها على سطوح الألومينا المؤكسدة عن طريق المعالجة الأنودية لها نفس حجم الفيليبوديا (filipodia) (الامتدادات الخلوية للخلايا البانية للعظم) حيث من الممكن اختراق هذه الامتدادات الخلوية داخل الغشاء المسامي؛ مما يسبب التصاقاً قوياً للخلايا من خلال العمل كنقاط تثبيت (anchorage points) للخلايا البانية للعظم [108]. إن هذا السلوك مبين في الشكل رقم (٥،١٦).



الشكل رقم (٥،١٥). صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لأغشية الألومينا (alumina membranes) عند جهد ٦٠ فولتًا تظهر البنية المسامية (porous structure). شريط المقياس = ١٠٠ نانومتر. (من Swan, E.E.L., Popat, K.C., Grimes, C.A. et al.,

*J. Biomed. Mater. Res. A*, 72A, 3, 288, 2005).



الشكل رقم (١٦، ٥). (a) صور مجهرية بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) خلية بانية للعظم (osteoblast) على غشاء الألومينا (alumina membrane) و (b) مقطع عرضي بالمجهر الإلكتروني الانتقالي (TEM) يظهر اختراق الفيليبوديا (filipodia) في مسام الألومينا (alumina pores). شريط المقياس = ٢ مايكرومتر. (من Karlsson, M., Palsgard, E., Wilshaw, P.R. et al., *Biomaterials*, 24(18), 3039, 2003).

وكذلك تعتبر النسبة الجانبية للجسيم (particle aspect ratio) (نسبة طوله إلى عرضه) مُحدِّداً أو بارامتراً آخر يؤثر على الاستجابة البيولوجية للمادة النانوية. ويمكن للشكل الهندسي لألياف النانو أن يحاكي بأبعاده أطوار التأسيسية للعظم (constituent phases of bone) وبلورات الهيدروكسي آباتيت (HA) وألياف الكولاجين التي اعتادت الخلايا العظمية على التفاعل معها. وقد أكدت التجارب التي أجريت في المختبر هذه الفرضية من خلال إظهار زيادة في وظائف الخلايا البانية للعظم على الألومينا ذات الألياف النانوية (بقطر من ٢ نانومتر، وبطول أكبر من ٥٠ نانومتراً) وذلك بالمقارنة مع الألومينا ذات الشكل الهندسي الكروي النانوي [104,110]. وقد لوحظ زيادة قدرها ٢٩٪ في تكاثر الخلايا البانية للعظم وزيادة قدرها ٥٧٪ في ترسيب الكالسيوم على الألومينا ذات الألياف النانوية بالمقارنة مع سطوح الألومينا الأخرى [111].

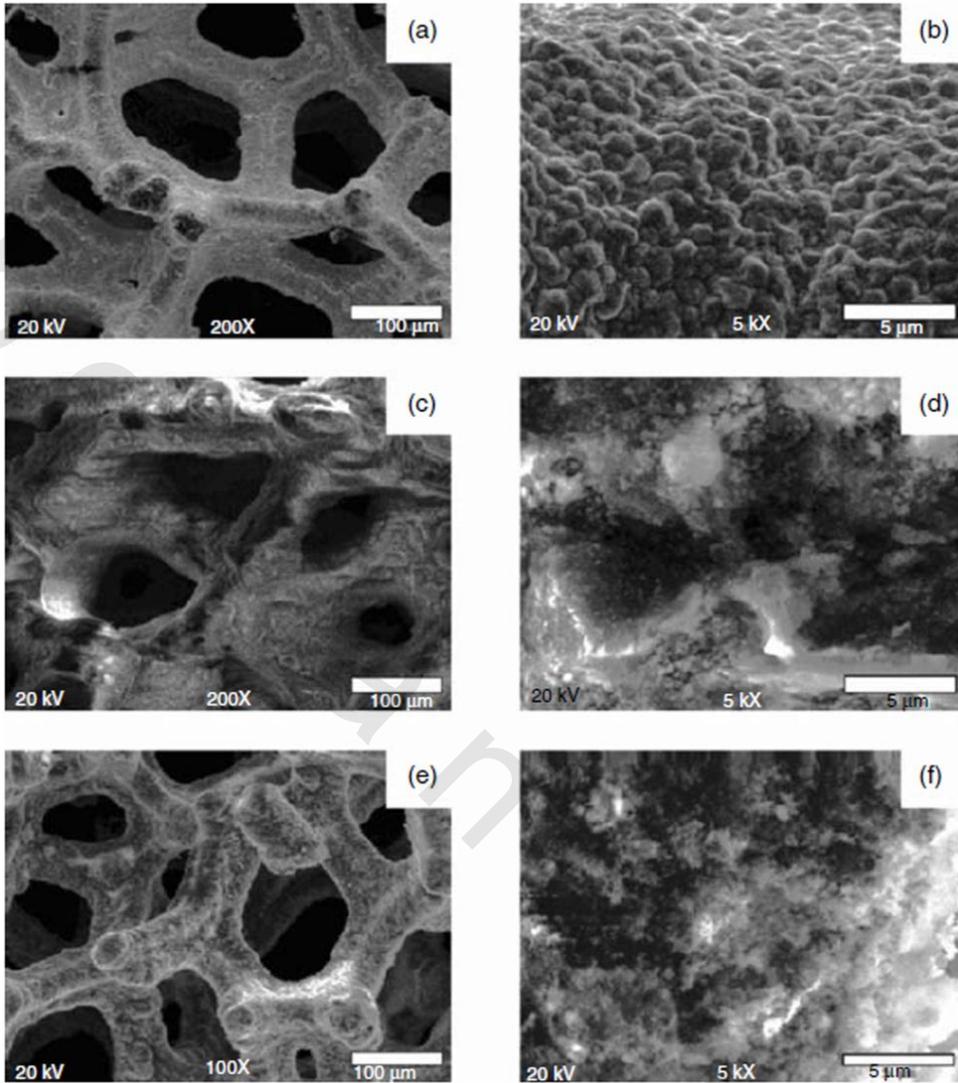
وعلى الرغم من أن الطور والتركيب الكيميائي للمواد لم تكن هي نفسها في هذه الدراسة الأخيرة، إلا أنها قد أظهرت بشير نجاح كبير في زيادة وظائف الخلايا البانية للعظم بناءً على تغييرات النسب الجانبية للجسيمات النانوية.

ونظراً لوجود الهيدروكسي آباتيت (HA) في العظم؛ فقد بحث العديد من الدراسات أنواع سيراميك الهيدروكسي آباتيت (HA) وسيراميك فوسفات الكالسيوم من أجل التطبيقات الخاصة بجراحة تقويم العظام [112-114]. وفي الوقت الحالي، يتم استخدام الهيدروكسي آباتيت (HA) بشكل أساسي كمادة طلاء أو تغليف (coating material) على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة والطريقة الأكثر انتشاراً للطلاء أو التغليف هي الترسيب برش البلازما (plasma spray deposition). وعلى أي حال، فإنه من الصعب الحصول على أحجام حبيبية نانوية نتيجة لدرجات الحرارة العالية والتبريد السريع جداً أثناء عملية رش البلازما. ولهذا السبب، يقوم الباحثون في الوقت الحالي بدراسة طرق جديدة لطلاء أو تغطية مواد الطعوم بالهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) [115,116]. وقد تم اقتراح طرق التركيب الكيميائي الرطبة (wet chemistry methods)، حيث

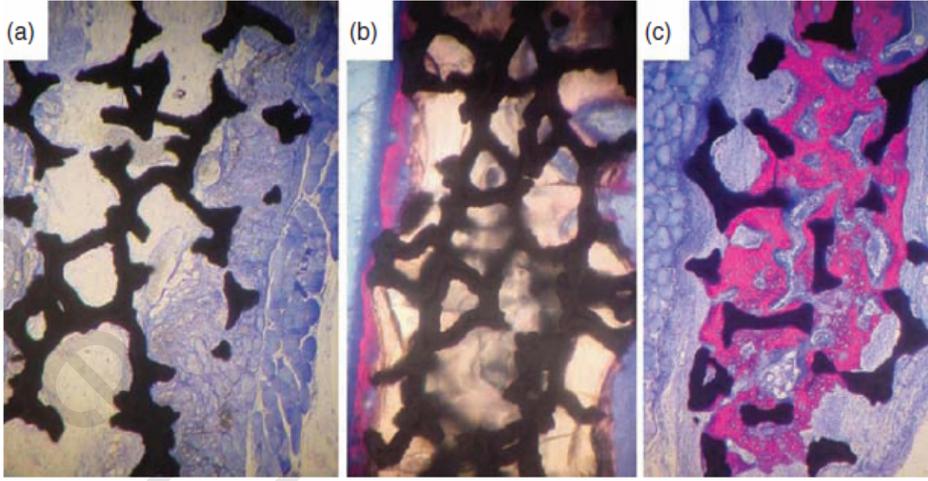
يُسمح للهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) بالترسب من أجل طلاء أو تغطية السطوح بالهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA). وعلى الرغم من أنه يمكن تطبيق عملية طلاء أو تغليف طبقات من الأباتيتات في الطور النانوي (nanophase coatings of apatites) بصورة ناجحة على سطوح التيتانيوم (Ti) وأنه من الممكن تعزيز تشكيل العظم في الجسم الحي [117]، فإن عمليات الطلاء أو التغليف المعدة من خلال طرق الترسيب لا يمكن التحكم بها تماماً وتستغرق وقتاً كبيراً. وتعتبر طريقة (IonTite)، وهي طريقة للطلاء أو التغليف عند درجة حرارة منخفضة وتعتمد على الضغط العالي، طريقة أخرى مقترحة أيضاً للطلاء أو التغليف. وقد أظهرت الدراسات أن عمليات الطلاء أو التغليف بالهيدروكسي أباتيت (HA) البلوري النانوي المترسب باستخدام طريقة (IonTite) تعزز المزيد من التصاق الخلايا البانية للعظم والمزيد من ترسيب الكالسيوم بالمقارنة مع عمليات الطلاء أو التغليف بالهيدروكسي أباتيت (HA) باستخدام طريقة رش البلازما المتوفرة تجارياً [113].

وبشكلٍ مشابه في الاهتمام، تُبين النتائج الأخيرة أن الهيدروكسي أباتيت البلوري النانوي (nanocrystalline HA) وفوسفات الكالسيوم غير المتبلور (amorphous calcium phosphate) يمكن تحديدهما وظيفياً باستخدام التسلسل الببتيدي (peptide sequence) لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) اللاصق للخلايا حيث خضعا لدراسة واسعة على نظرائهما ذوي الحجم التقليدي. وقد تبين أن الانقاص من حجم الجسيمات إلى النظام النانومتري جنباً إلى جنب مع التقليل من تبلور سيراميك فوسفات الكالسيوم يعزز من التصاق الخلايا البانية للعظم بنفس الدرجة التي يحققها التحديد الوظيفي للهيدروكسي أباتيت (HA) التقليدي باستخدام حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) [112]. علاوة على ذلك، يتم في الوقت الحالي دراسة فوسفات الكالسيوم النانوي غير المتبلور والهيدروكسي أباتيت النانوي البلوري المطليان أو المغلفان بالجسيمات النانوية المغناطيسية ( $Fe_3O_4$ ) (magnetic nanoparticles) كأنظمة جديدة لحمل أو نقل الأدوية ترتبط بشكل خاص بالعظم المخلخل أو الهش (osteoporotic bone) عن طريق الأجسام المضادة ذات السطوح المحددة وظيفياً (surface functionalized antibodies) والتي يمكن توجيهها أيضاً من خلال استخدام حقل مغناطيس خارجي (external magnet field) [114].

ومن الجدير بالذكر أن جميع الدراسات التي تم مناقشتها حتى الآن قد تم إجراؤها في المختبر. إن الظروف في جسم الإنسان معقدة أكثر بكثير مما يمكن توليده بشكل مصطنع في بيئة المختبر. ولهذا السبب، فإنه من الأهمية بمكان اختبار فعالية هذه النتائج المخبرية في الجسم الحي. وقد أفادت دراسة حالية بأن المزايا المذكورة أعلاه للسيراميك ذي الطور النانوي كانت أيضاً صالحة في الجسم الحي (الشكلين رقم ٥.١٧ و ٥.١٨). فعلى سبيل المثال، في هذه الدراسة، تم طلاء أو تغليف حاملات خلايا وأنسجة مسامية مصنوعة من التانتالوم (tantalum) باستخدام إما جسيمات من الهيدروكسي أباتيت (HA) ذات الطور النانوي وإما جسيمات الهيدروكسي أباتيت (HA) ذات الحجم التقليدي. فبعد ٦ أسابيع من الزراعة في قبة قحف أو جمجمة (calvaria) جرد، لوحظ اندماج عظمي (osseointegration) أكبر بكثير من أجل حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من التانتالوم، والتي تم طلاؤها أو تغليفها بالهيدروكسي أباتيت (HA) ذي الطور النانوي بالمقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من التانتالوم، والتي تم طلاؤها أو تغليفها بالهيدروكسي أباتيت (HA) ذي الحجم التقليدي [118].



الشكل رقم (١٧، ٥). صور مجهرية بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) للتانتالوم غير المطلي أو المغطى (uncoated tantalum) عند تكبير منخفض و (b) تكبير عالٍ. طلاء أو تغليف التانتالوم إما بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الجببي المايكروي عند تكبير منخفض و (c) تكبير عالٍ، وإما بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الجببي النانوي عند تكبير منخفض و (f) تكبير عالٍ. شريط المقياس = ١٠٠ و ٥ مايكرومترات، على التوالي. (من Sato, M., An, Y.H., Slamovich, E.B. et al., *Int. J. Nanomedicine*, 2008).



الشكل رقم (١٨، ٥). صور هيستولوجية نسيجية (histology) بعد ٦ أسابيع من عملية الزرع في قبة فخف أو هجمة جرد (rat calvaria) لـ (a) التانتالوم غير المطلي أو المغلف وطلاء أو تغليف التانتالوم، و (b) الهيدروكسي آباتيت (HA) ذو الحجم الحبيبي المايكروي، و (c) الهيدروكسي آباتيت (HA) ذو الحجم الحبيبي في الطور النانوي. الملون = أزرق (Stevenel) وملون مابين البيكروفوسين بحسب فان غيزون (van Gieson's microfuchsin). في حين لوحظ نمو قليل في العظم من أجل (a) التانتالوم غير المطلي أو المغلف، و (b) التانتالوم المطلي أو المغلف بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الحبيبي المايكروي، وقد لوحظ كثيراً من أجل (c) التانتالوم المطلي أو المغلف بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الحبيبي النانوي. (من Sato, M., An, Y.H., Slamovich, E.B. et al., *Int. J. Nanomedicine*, 2008).

والأهم من ذلك، أن استجابة الخلايا التنافسية (competitive cell response) تكون مختلفة على السيراميك ذي الطور النانوي بالمقارنة مع السيراميك التقليدي. فبعد إدخال الطعم أو المادة المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام في الجسم، وعندما تبدأ عملية التئام أو شفاء الجرح (والتي يمكن أن تنتهي إما باندماج ناجح لمادة الطعم المزروعة وإما بتكوين خلايا متبينة حول مادة الطعم المزروعة أو بفشل الطعم أو المادة المزروعة)، يمكن أن تبدأ عملية التمحفظ أو التغليف الليفي وتكوين الثفن أو الدشبذ (callus formation) (نسيج صلب يتكون في منطقة انكسار العظم في مرحلة الترميم) حول مادة الطعم المزروعة. ويتم تركيب النسيج الليفي بشكل أساسي عن طريق الخلايا البانية للعظم؛ لذا فإن التصاق الخلايا البانية للعظم على مادة الطعم المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام هو غير مرغوب فيه. وهو كذلك وبنفس القدر من الأهمية من أجل الخلايا التنافسية الأخرى (مثل الخلايا البطانية (endothelial cells)) ألا تلتصق بسطوح مادة الطعم المزروعة؛ لأن التصاقها يعني توفر مساحة أقل لالتصاق الخلايا البانية للعظم. وقد أوضحت الدراسات أن هناك التصاقاً أقل لخلايا الأرومة الليفية والخلايا البطانية على سطوح التيتانيا والألومينا والهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي بالمقارنة مع نظرائهم في الحجم التقليدي [29,119]. علاوة على ذلك، فقد كان التصاق الخلايا البانية للعظم أكبر وبنسبة تتجاوز ٣٠٠٪ على هذه الأنواع من السيراميك ذي الطور النانوي بالمقارنة مع التصاق خلايا الأرومة الليفية والخلايا البطانية [29]. وعلى عكس الخلايا البانية للعظم، فقد لوحظ أن التصاقات خلايا الأرومة الليفية والخلايا البطانية تقل مع ازدياد الحشونة النانوية [119].

يجب ألا تعزز مادة الطعم المثالية المزروعة تكوين العظم (bone formation) فحسب، بل يجب أن تدعم أيضاً إعادة تشكيل العظم من خلال تعزيز عملية ارتشاف العظم. إن هذا الأمر مهم وذلك للعديد من الأسباب مثل منع سوء التغذية (malnourishment) الناتج عن الترسيب الزائد للعظم والتحكم في إفراز عامل النمو بواسطة الخلايا الناقضة للعظم والتي تعزز بدورها ترسيب العظم (عما يعني أن نمو العظم يحدث بعد ارتشاف العظم مباشرة). وبطريقة مماثلة للخلايا البانية للعظم، فقد لوحظ أن وظيفة الخلايا الناقضة للعظم تزداد على السيراميك ذي الطور النانوي [119]. وقد كان تركيب إنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطرطرات وتشكيل فجوات أو حفر ارتشاف (resorption pits) على الألومينا والهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي أكبر بالمقارنة مع نظرائهم في الحجم التقليدي. وقد اقترح بأن الزيادة في ذوبانية السيراميك ذي الطور النانوي عند التعرض لإنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطرطرات (TRAP) هي السبب وراء هذا السلوك [120]. ومن المعروف جيداً أن لأنواع السيراميك ذات الطور النانوي خصائص ذوبانية زائدة.

وقد تم أيضاً اقتراح السيراميك ذي الطور النانوي للزراعة نظراً لخصائصه المقاومة للبكتيريا (antibacterial properties). فأتى العملية الجراحية، تدخل البكتيريا (وبالتحديد العقنوديات البشرية *Staphylococcus epidermidis*) من جلد المريض نفسه أو من غشائه المخاطي (mucosa) إلى مكان الجرح؛ مما يؤدي إلى تكوين غشاء (فيلم) حيوي مبني على الكربوهيدرات (carbohydrate - based biofilm) متعذر الغاؤه ولا رجعة فيه على سطح الطعم أو المادة المزروعة مما يسبب الفشل السريري (clinical failure). ونتيجة لذلك؛ فإن التركيب الكيميائي لمادة الطعم المزروعة الذي يقلل من إنشاء مستعمرة بكتيريا العقنوديات البشرية (*S. epidermidis* colonization) هو ضروري. ويقلل كلٌّ من أكسيد الزنك (ZnO) ذي الطور النانوي، والمعروف عنه بشكل جيد أنه عامل مضاد للبكتيريا (antibacterial agent)، وثاني أكسيد التيتانيوم ( $TiO_2$ ) ذي الطور النانوي من التصاق بكتيريا العقنوديات البشرية، مع انخفاض في نشوء المستعمرة عند استخدام أكسيد الزنك (ZnO) النانوي أكثر منه عند استخدام ثاني أكسيد التيتانيوم ( $TiO_2$ ) النانوي [121]. مقرونًا بالنمو الزائد للعظم على هذه الأنواع من السيراميك ذات الطور النانوي، يمكن لمثل هذه التراكيب الكيميائية أن يكون لها ميزتان أساسيتان للزراعة وهما: مقاومة العدوى (resist infection) وزيادة نمو العظم.

والأهم من كل ذلك، هو أن جميع الدراسات المذكورة أعلاه قد قدمت دليلاً على زيادة وظائف الخلايا العظمية عند انخفاض الأحجام الحبيبية إلى أقل من ١٠٠ نانومتر؛ مما يضيف خاصية أخرى جديدة للمواد ذات المستوى النانوي في هذا المجال.

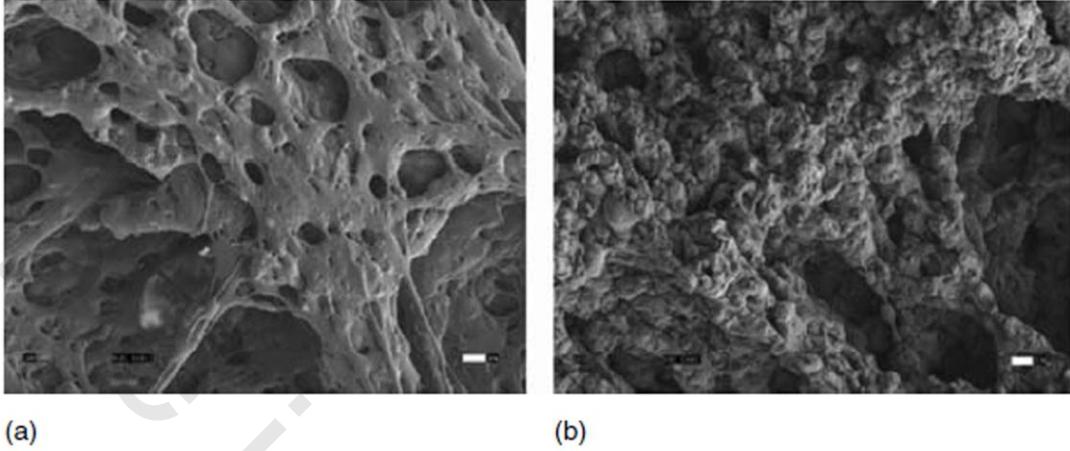
### ٣,٢,٣,٣,٥) البوليمرات Polymers

بحسب ما ذكر آنفاً، فإن المكوّن الرئيسي للطور العضوي للعظم هو مادة الكولاجين المبنية على أساس بوليمري. بالإضافة إلى ذلك، فإن تشكيل تراكيب كيميائية بوليمرية قابلة للتحلل الحيوي من أجل هندسة الأنسجة العظمية يكون مرغوباً فيه بشكل كبير. ويحاول الباحثون التحكم بهذه البوليمرات ومطابقة معدل تحللها مع معدل نمو العظم بحيث أنه عندما يذوب البوليمر، يمكن للنسيج الأصلي أن يخترق أو يتوغل في داخل الجزء المتحلل من الطعم أو المادة المزروعة، مشكلاً الحيز

الجديد المفتوح إلى الأعلى. إن التراكيب الكيميائية البوليمرية الرئيسية ذات الطور النانوي المستخدمة في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية هي البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) والبولي (حمض الغليكوليك) (PGA) والبولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والبولي كابرولاكتون (PCL).

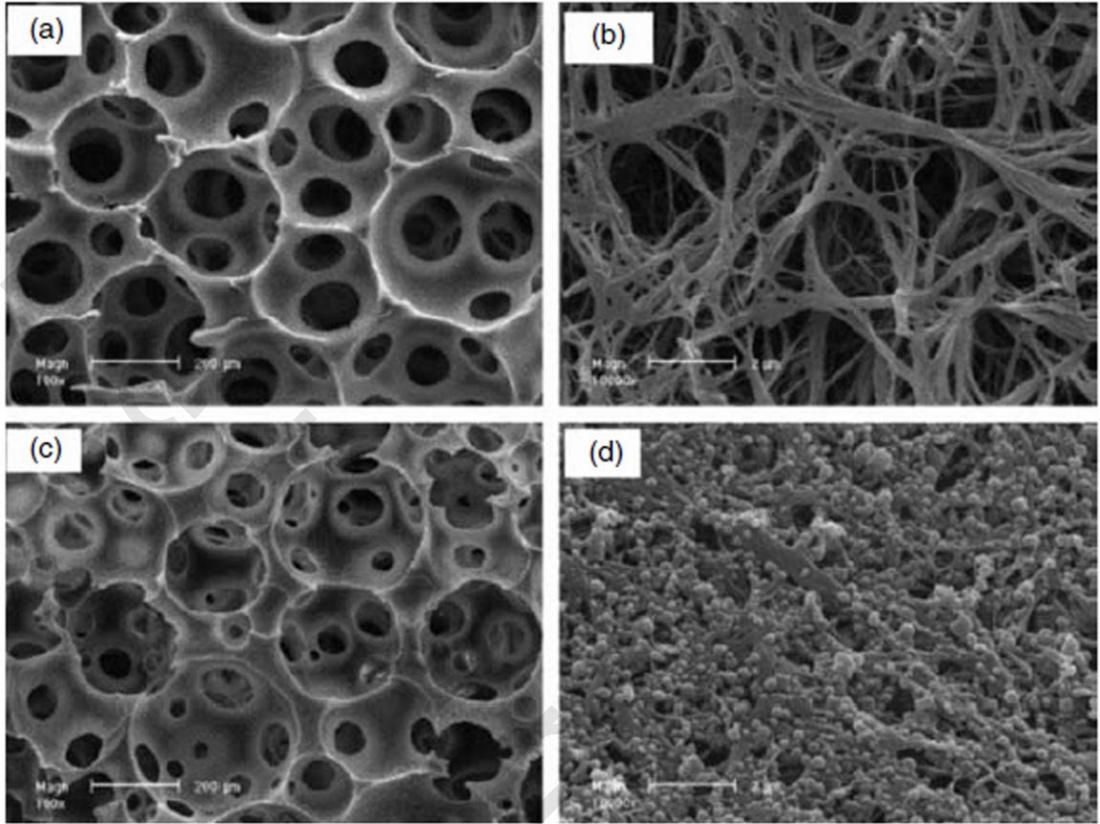
إن التقنيات المستخدمة لإنشاء طوبوغرافيات أو سمات سطحية نانوية في البوليمرات هي الحفر بواسطة الحزمة الإلكترونية (electron beam lithography) والحفر الضوئي (photolithography) من أجل إنشاء طوبوغرافيا مُنظمة أو مرتبة (ordered topography) وإزالة خلط أو مزج البوليمر (polymer demixing) والفصل الطوري (phase separation) والحفر الغرواني (colloidal lithography) والحفر الكيميائي (chemical etching) والغزل الكهربائي (electrospinning) من أجل إنشاء سطوح غير مُنظمة (unordered surfaces) (ويمكن استخدام الغزل الكهربائي أيضاً لتشكيل طوبوغرافيات أو سمات سطحية مُنظمة من الألياف المتحاذية أو المتراصفة (aligned fibers) [122]).

تعتبر المعالجة الكيميائية للبوليمرات ذات البنية المايكروية الدقيقة (microstructured polymers) حلاً سهلاً ورخيصاً لإنشاء طوبوغرافيات أو سمات سطحية نانوية. ويمكن للبوليمرات ذات البنية الحمضية (acidic structured polymers) (مثل البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والبولي كابرولاكتون (PCL)) أن تُعالج باستخدام أساس أو قاعدة، مثل هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)، في حين أن البوليمرات الأساسية (مثل البولي يوريثان (polyurethane - PU)) يمكن معالجتها باستخدام حمض، مثل حمض النتريك (HNO<sub>3</sub>) وذلك لإنشاء سمات أو خصائص سطحية نانومترية. يبين الشكل رقم (٥.١٩) سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) النانوية المعدّة عن طريق الحفر في (1N) هيدروكسيد الصوديوم (1N NaOH) لمدة عشر دقائق [123]. وبالمقارنة مع سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) التقليدية، أظهرت سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) ذات الحشونة النانوية زيادة في التصاق الخلايا البانية للعظم على كل من حاملات الخلايا والأنسجة ثنائية الأبعاد [124] وثلاثية الأبعاد [123]. وبصورةٍ مثيرة، فقد لوحظ أن التصاق وتكاثر الخلايا البطانية (والتي هي مقبولة مبدئياً كخلايا تنافسية في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية) ينخفض على السطوح ذات البنية النانوية المعالجة كيميائياً [125]. وعلى الرغم من عدم ارتباطها بتطبيقات هندسة الأنسجة العظمية إلا أنه من المهم الإشارة هنا إلى أنه قد لوحظ أن التصاق وتكاثر الخلايا الغضروفية والخلايا العضلية المثنائية الملساء (bladder smooth muscle cells) والخلايا العضلية القلبية (cardiac muscle cells) هو أفضل بكثير على سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) ذات البنية النانوية، والتي تم إنشاؤها من خلال طريقة الحفر الجديدة هذه [126-128].



الشكل (١٩، ٥). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) تُظهر (a) البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) التقليدي، و (b) البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) النانوي التي يتم إنتاجها من خلال طريقة الحفر بالملح (salt etching method). شريط المقياس = ١٠ ميكرومترات. (من Pattison, M.A., Wurster, S., Webster, T.J. et al., *Biomaterials*, 26, 15, 2491, 2005).

وقد تم أيضاً استخدام قابلية التحلل الحيوي (biodegradability) للبوليمرات وذلك لأغراض توصيل الدواء (drug delivery). ففي ورقة بحث حديثة، تم استخدام طرق الفصل الطوري وطرق انْتِفاذ أو استِغْسَال القالب (template leaching methods) وذلك لإنتاج حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد جديدة من البولي (إل - حمض اللاكتيك) ذات مسامات مايكروية (microporous) وألياف نانوية (nanofibrous)، والتي تم تثبيت سطحها بجسيمات كروية نانوية (nanospheres) من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA). وقد تم تغليف بروتين تشكيل العظم البشري المأشوب أو المعاد تجميعه (recombinant human bone morphogenetic protein 7 - rhBMP-7)، والذي يحفز نمو ووظيفة الخلايا العظمية ضمن هذه الجسيمات الكروية النانوية من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) [129]. إن البنية المايكروية الدقيقة للقالب الجديد مُوضّحة في الشكل رقم (٥٢٠). وقد أظهرت حاملات الخلايا والأنسجة المزودة بسطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) المثبتة إطلاقاً أو تحريراً للدواء (drug release) بفعالية أعلى بكثير بالمقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة الممتصة أو الممتازة ببروتين تشكيل العظم البشري المأشوب أو المعاد تجميعه (rhBMP-7)، والمطابق لتكوين العظم الأعلى بكثير في الجسم الحي.



الشكل رقم (٢٠، ٥). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لحاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مصنوعة من البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) (a, b) قبل، و (c, d) بعد دمج بروتين تشكيل العظم البشري المأشوب أو المعد تجميعه (rhBMP-7) في الجسيمات الكروية النانوية المصنوعة من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA nanospheres). شريط المقياس = ٢٠٠ مايكرومتر (c, a) و ٢ مايكرومتر (d, b). (Wei, G., Jin, Q., Giannobile, من). (W.V. et al., *Biomaterials*, 28, 12, 2087, 2007).

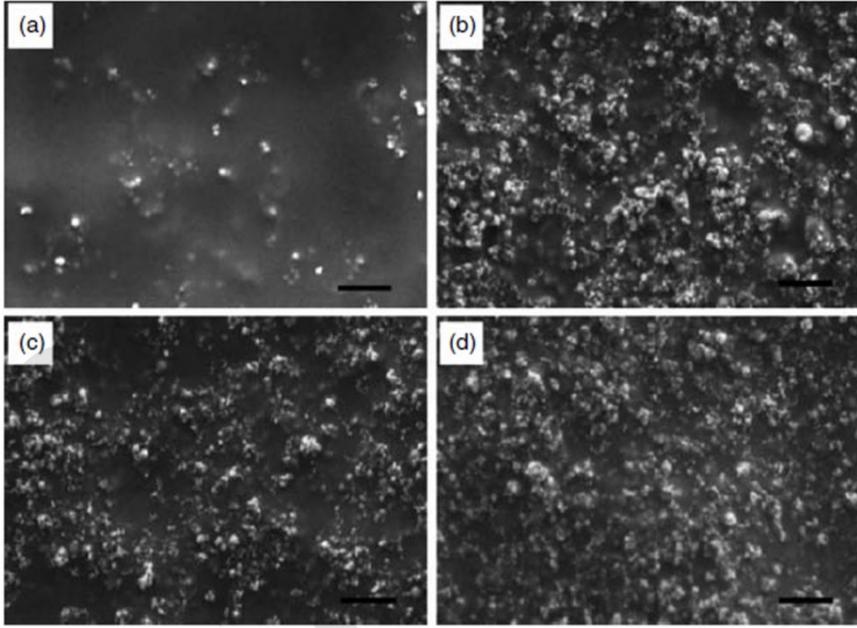
ويعتبر الغزل الكهربائي طريقة جديدة أخرى لتصنيع بوليمرات نانوية (nanopolymers). إن الغزل الكهربائي هو عملية حقن محلول البوليمر من خلال إبرة، حيث يتم تطبيق جهد كهربائي عالي للتغلب على التوتر السطحي (surface tension) لمحلول البوليمر؛ مما يسبب البدء في عملية الدفع أو النفث (jet). ويمكن للبوليمرات المغزولة كهربائياً (electrospun polymers) أن تحاكي الأبعاد النانوية للبروتينات خارج الخلية المترسبة بواسطة الخلايا العظمية ويمكن أن تحوز على مساميات (porosities) تصل إلى ٩٠٪ مع أقطار مسام تصل إلى ١٠٠ مايكرومتر [130]. وقد تبين أن حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً ذات الأساس النشوي (starch - based scaffolds) والتي تحتوي على كل من الألياف ذات الحجم النانوي وذات الحجم المايكروني تحاكي وبصورة أفضل مورفولوجيا أو شكل المصفوفة خارج الخلية (ECM) الخاصة بالعظم وتزيد من تكاثر الخلايا البانية للعظم ونشاط إنزيم الفوسفاتاز القلوي وتحدث انتشاراً جيداً أكثر لمورفولوجيا أو شكل الخلايا البانية للعظم وذلك بالمقارنة

مع حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف المايكروية الدقيقة فقط [131]. كما لوحظ أيضاً وللمرة الأولى أن استخدام نفس حاملة الخلايا والأنسجة البوليمرية، المصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) النانوي قد أدى إلى تمايز الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (human mesenchymal stem cells) المعزولة وبشكل انتقائي إلى سلالة الخلايا المكوّنة للعظم [132]. بالإضافة إلى ذلك، فقد تبين أيضاً أن ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية المعزولة كهربائياً تعزز التمايز المكوّن للعظم (osteogenic differentiation) من الخلايا الجذعية المتوسطة في الجسم الحي، مُظهرةً خلايا بانية للعظم مُدمجة أو مغروسة وتمعدناً في جميع أنحاء حاملة الخلايا والأنسجة البوليمرية النانوية (nanopolymer scaffold) [133].

#### (٤, ٢, ٣, ٥) المركبات Composites

على الرغم من أن كلاً من السيراميك والبوليمرات ذات الطور النانوي تزيد من وظائف الخلايا البانية للعظم، فإن الضعف المتأصل فيهما كل على حده (أي متانة أو صلابة الكسر المنخفضة للسيراميك والمتانة المنخفضة للبوليمرات) قد قاد الباحثين إلى دراسة تركيبات أو مجموعات مختلفة من المواد المركبة، حيث يمكن دمج مزايا الأنواع المختلفة من المواد لتحقيق الغرض النهائي لطعم أو مادة مزروعة مندججة بشكل أفضل.

لقد ركزت معظم الأبحاث في مجال المركبات ذات الطور النانوي على مركبات المصفوفات البوليمرية مع السيراميك ذي الطور النانوي المدمج أو المغروس نظراً لمقدرتها على محاكاة العظم الطبيعي (mimic natural bone). إن واحداً من التراكيب الكيميائية التي تمت دراستها على نطاق واسع هو البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) / التيتانيا (PLGA / titania). وقد اتضح أنه بإضافة التيتانيا ذات الطور النانوي كطور ثانوي إلى داخل البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) القابل للتحلل الحيوي يُحسن من التصاق الخلايا البانية للعظم ونشاط إنزيم الفوسفاتاز القلوي وترسيب الكالسيوم، والتي زادت من وظيفة الخلايا البانية للعظم (إن ما تمت دراسته يصل إلى حد ٣٠٪ وزن من التيتانيا) [134]. بالإضافة إلى ذلك، فقد أظهرت مركبات التيتانيا ذات الطور النانوي / البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) ذات الطور النانوي (PLGA / titania) أعلى معدلات التصاق للخلايا البانية للعظم بالمقارنة مع تركيبات مركب التيتانيا / البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA / titania) التقليدية الأخرى [135]. ومن أجل فهم تأثير محددات أو بارامترات إنتاج المركب، وعلى وجه التحديد قوة التشتت أو التبدد (dispersion power) على خصائص المادة وسلوك الخلايا البانية للعظم، فقد تم استخدام قوى صوتية (sonication powers) مختلفة (التعريض للأصوات الصوتية) عند مزج التيتانيا داخل البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA). ويظهر في الشكل رقم (٥.٢١) الصور المجهرية (micrographs) للعينات التي تم إنتاجها. وقد ربطت النتائج تشتت (dispersion) التيتانيا الزائد مع انخفاض في التكتل (agglomeration) في نفس الوقت مع ازدياد في وظائف الخلايا البانية للعظم [136]. وفي الواقع، لقد تمت ملاحظة أن الكمية الأكبر من تركيب الكولاجين (المكوّن العضوي الرئيسي في العظم) كانت على العينات التي تمت صوتتها (تعريضها للأصوات الصوتية) عند أكبر قوة [137]. علاوة على ذلك، فقد ظهر بأن العينات التي تحاكي الخشونة النانوية للعظم بشكل أفضل، هي أكثرها تحسناً لالتصاق ووظيفة الخلايا البانية للعظم [138].



الشكل رقم (٥, ٢١). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لمركبات البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) / التيتانيا (PLGA / titania composites) تم صوتتها أو تعريضها للأمواج الصوتية (sonicated) لمدة ١٠ دقائق عند (a) ٢٥ ٪ و (b) ٤٥ ٪ و (c) ٤٥ ٪ و (d) ٧٠ ٪ من القوة القصوى للصوتنة أو الأمواج الصوتية ( maximum sonication power)، والتي تعتبر مؤشراً لمستوى التبدد أو التشتت (dispersion). شريط المقياس = ١ مايكرومتر. (من Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J., *Nanotechnology*, 16, 601, 2005).

نظراً للخصائص الكهربائية والميكانيكية والشكلية الهندسية الفريدة لأنابيب الكربون النانوية (carbon nanotubes) وألياف الكربون النانوية (carbon nanofibers)، فقد كانت لها أهمية كبرى في هندسة الأنسجة العظمية. وقد تم بحث استخدام ألياف الكربون النانوية (CNFs) كطور ثانوي في المواد المركبة على نطاقٍ واسع. لقد زادت مركبات البولي يوريثان/ألياف الكربون النانوية (PU / CNF) من كثافة الخلايا البانية للعظم عندما ازداد محتوى ألياف الكربون النانوية (CNF) في المركبات. ومن المثير أن كثافة خلايا الأرومة الليفية (والتي تسبب التمحفظ أو التغليف الليفي للطعم أو المادة المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام) انخفضت عندما زاد محتوى ألياف الكربون النانوية في مركبات البولي يوريثان/ألياف الكربون النانوية (PU / CNF) [139]. وتظهر صور هذه المركبات باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (scanning electron microscopy - SEM) في الشكل رقم (٥, ٢٢). إن هذه النزعات أو الاتجاهات في التصاق الخلايا والتي لوحظت عند استخدام مركبات البولي يوريثان / ألياف الكربون النانوية (PU / CNF) كانت قد لوحظت أيضاً من أجل مركبات البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) / ألياف الكربون النانوية (PLGA / CNF). لقد ضاعف دمج أو مزج نسبة ٥ ٪ وزن من ألياف الكربون النانوية داخل مصفوفة البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) من التصاق الخلايا البانية للعظم بالمقارنة مع مركبات البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) النقية. وفي حالة المواد المركبة من بولي



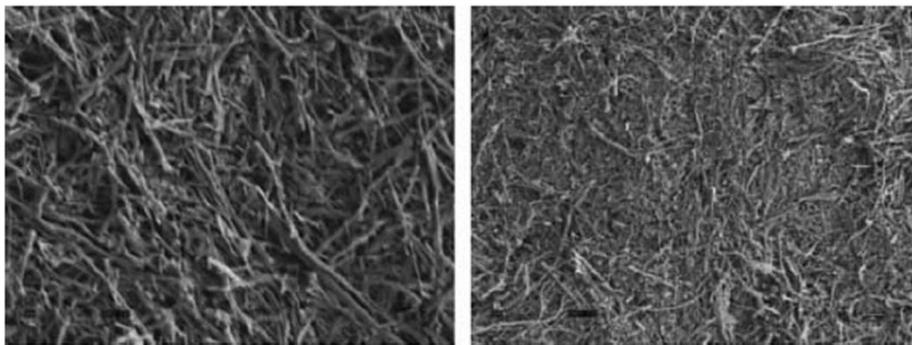
إن استخدام الهيدروكسي آباتيت (HA) كطور ثانوي لصيغة مركب هو أيضاً شائع في هندسة الأنسجة العظمية [143]. وذلك نظراً لأن مادة مركب الهيدروكسي آباتيت النانوي / الكولاجين (nano-HA / collagen) تمتلك كلاً من المكونات العضوية وغير العضوية التي تشبه العظم، والتي لا تحاكي تركيبه الكيميائي فحسب، بل تحاكي أيضاً خصائصه الطوبوغرافيا أو سماته السطحية. فعندما تتم زراعة مثل هذه المركبات بشكلٍ مشتركٍ في المختبر مع الخلايا البانية للعظم، فإنه من الممكن إنشاء بنية ثلاثية الأبعاد من الخلايا المكوّنة للعظم / المركب، حيث يمكن أن يتحقق فيها تركيب مصفوفة العظم الجديد (new bone matrix synthesis) [141]. إن الاختبارات التي يتم إجراؤها في الجسم الحي تقدم الدليل على أن المركبات المؤلفة من الهيدروكسي آباتيت النانوي / الكولاجين (nano-HA / collagen) تتحلل حيويًا عندما تتوسطها خلايا الجسم الغريب العملاقة وتعزز تشكيل العظم الجديد [145]. ومن أجل تحسين الخصائص الميكانيكية الرديئة لمركبات الهيدروكسي آباتيت النانوي / الكولاجين (nano-HA / collagen) المسامية، فإنه من الممكن دمج أو مزج بوليمر ثانوي، وهو البولي (حمض اللاكتيك) (PLC) [146]. وقد أظهرت الدراسات التي تم إجراؤها في المختبر نمو الخلايا البانية للعظم على طول حاملة الخلايا والأنسجة وعلى عمق حوالي من ٢٠٠ إلى ٤٠٠ مايكرومتر في ١٢ يوماً [147]. وقد أظهرت النتائج التصاقاً وانتشاراً وتكاثراً ناجحاً للخلايا البانية للعظم بعد أسبوع واحد، معطيةً نتائج واعدة في المختبر وفي الجسم الحي معاً [146]. بالإضافة إلى ذلك، فإنه يمكن دمج أو مزج الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) في البولي (حمض اللاكتيك) (poly(lactic acid) - PLA) وذلك عن طريق استخدام تقنية الفصل الطوري المحرّصة حراريًا (thermally induced phase separation technique)، والتي يمكن أن تُنتج مركبًا ثلاثي الأبعاد ذا مسامية عالية (٩٠٪) [148]. وقد وُجد أن إضافة الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) تزيد من امتزاز أو امتصاص البروتين على حاملات الخلايا والأنسجة تلك عند مقارنتها بجسيمات الهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الحجم التقليدي [148].

كما أن إضافة طور ثانوي من السيراميك قد حسّن أيضاً الخصائص الميكانيكية لحاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية. وقد أدى ذلك إلى قيام الباحثين بدراسة المركبات المؤلفة من السيراميك / السيراميك. إن مركبات الزركونيا المستقر جزئياً / الهيدروكسي آباتيت (PSZ / HA)، حيث إنه من المعروف عن الزركونيا ومنذ فترة طويلة أنه يُحسّن الصلابة أو المتانة (toughness) عن طريق إخضاعه لتقوية التحول المحرّض بالإجهاد (stress - induced transformation toughening) [149]، يمكن استخدامها كطور ثانوي لتحسين صلابة أو متانة الكسر للهيدروكسي آباتيت (HA) [150]. وقد لوحظ بالنسبة للتركيزات التي تم اختبارها (١٠ و ٢٥ و ٤٠٪ وزن من الزركونيا المستقر جزئياً)، أنه كلما قل الحجم الحبيبي إلى المستوى النانوي، زاد التصاق الخلايا البانية للعظم. وعلاوة على ذلك، فقد تم استخدام الهيدروكسي آباتيت (HA) لتحسين التوافقية الحيوية للمركبات النانوية (nanocomposites) المصنوعة من ثاني أكسيد الزركونيوم - أكسيد الألومنيوم (ZrO<sub>2</sub> - Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)، حيث أعطت إضافة نسبة ٣٠٪ حجم الاستجابة المثلى للخلايا البانية للعظم وتركيبية ميكانيكية خاصة [151].

## Novel Materials الجديدة (٥, ٣, ٣, ٢, ٥)

بالمقارنة مع ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي، فإن ألياف الكربون النانوية (CNFs) تمتلك خصائص ميكانيكية مُحسَّنة (أي أنها أقوى، فهي تمتلك معدلات أعلى من المائة إلى الوزن (strength to weight ratios)) وخصائص كهربائية مُحسَّنة (الموصلية conductivity) وخصائص سطحية مُحسَّنة (القدرة على تحديدها أو تخصيصها وظيفياً) [152]، والعديد منها مرغوب من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية. وعلاوة على ذلك، يمكن استخدام النسبة الجانبية (aspect ratio) (نسبة الطول إلى العرض) المرتفعة لألياف الكربون النانوية / أنابيب الكربون النانوية وذلك لمحاكاة المكونات الأساسية للعظم بشكل أفضل. إن الاستخدام الرئيسي لألياف الكربون النانوية / أنابيب الكربون النانوية هو استخدامها كطور ثانوي في صيغة المركب، الأمر الذي تمت مناقشته في القسم (٥.٣.٣.٢.٤). وعلى أي حال، توجد أبحاث إضافية تبين تفاعلات حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف الكربون النانوية [154-155] وحاملات الخلايا والأنسجة ذات أنابيب الكربون النانوية [155-159] فقط مع الخلايا الحية، وعلى وجه التحديد الخلايا البانية للعظم.

وقد أظهرت مثل هذه الدراسات زيادة في التصاق [110] وتكاثر ووظيفة الخلايا البانية للعظم (أي تركيب إنزيم الفوسفاتاز القلوي وترسيب الكالسيوم خارج الخلية) على مركبات من ألياف الكربون النانوية (CNF) بالمقارنة مع ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي [152]. وقد تم توضيح ذلك أيضاً عن طريق صب أو قولبة (molding) مركبات من ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي ومركبات من ألياف الكربون ذات الحجم النانوي على سطح نموذجي من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA)، بحيث تم فقط تكرار تأثيرات السمات أو الخصائص السطحية لألياف الكربون النانوية (CNF). وقد ازداد التصاق الخلايا البانية للعظم على قوالب بوليمر ألياف الكربون النانوية (CNF polymer) بالمقارنة مع قوالب بوليمر ألياف الكربون النانوية (CNF polymer) التقليدية [160]. ويُوضح الشكل رقم (٥.٢٣) البنى المايكروية الدقيقة لألياف الكربون التقليدية وألياف الكربون النانوية (CNFs) [161].



(a)

(b)

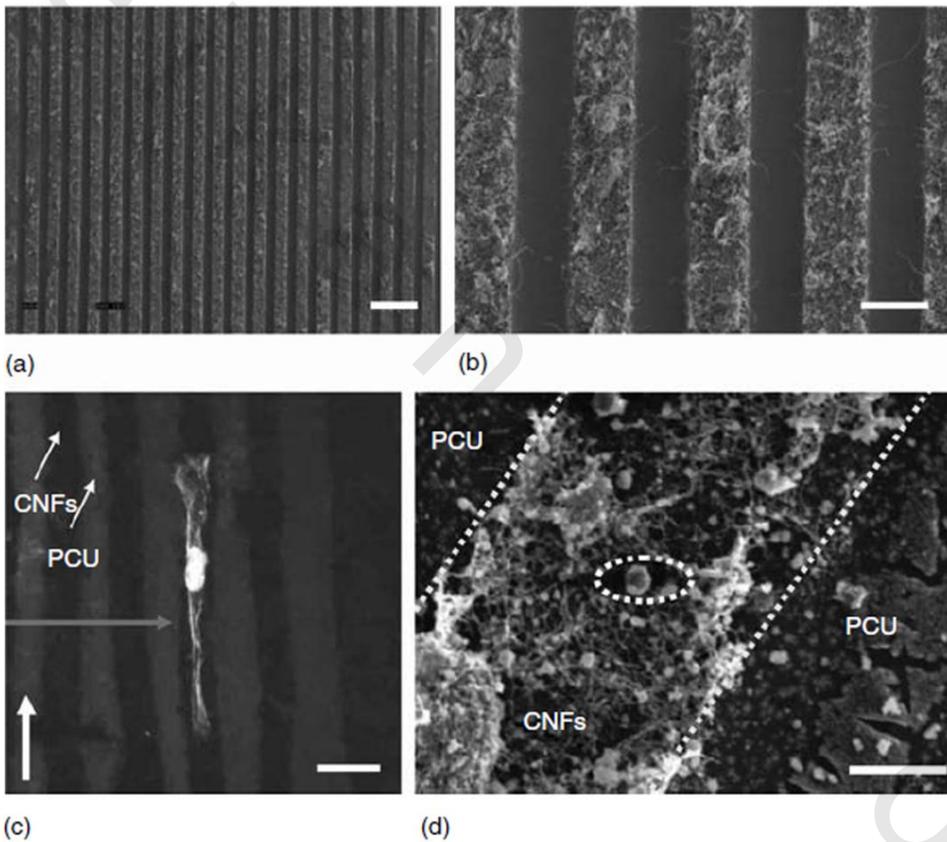
الشكل رقم (٥.٢٣). صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) تصف (a) ألياف الكربون التقليدية (ذات قطر ١٢٥، ٠، ١٢٥ ميكرومترًا) بالمقارنة مع (b) ألياف الكربون النانوية (ذات قطر ٦٠ نانومترًا). وتمثل الأشرطة ١ مايكرومتر. إن وظيفة الخلايا العظمية

تحسن على الطور النانوي بالمقارنة مع ألياف الكربون التقليدية. (من Sato, M. and Webster, T.J., *Exp. Rev. Med.*

في دراسة حديثة، تم تطوير أنماط أو أشكال من ألياف الكربون النانوية (CNF) على بوليمر نموذجي (بولي كربونات اليورثان (PCU)) باستخدام طريقة الطبقات الجديدة (novel imprinting method). وقد لوحظ التصاق انتقائي وتراسف أو محاذة انتقائية للخلايا البانية للعظم على أنماط أو زخارف من ألياف الكربون النانوية (CNF). وقد أظهرت النتائج أيضاً ترسيب مباشر للكالسيوم على أنماط أو زخارف من ألياف الكربون النانوية (CNF) على بولي كربونات اليورثان (PCU) وذلك نتيجة للتصاق التفضيلي (preferential adhesion) للخلايا البانية للعظم على ألياف الكربون النانوية (CNFs) بشكل أفضل من الالتصاق على سطوح بولي كربونات اليورثان (PCU) [153,154]. إن هذه النتائج واعدة في اتجاه محاكاة التراسف أو المحاذة المايكروية (micro - alignment) لبلورات فوسفات الكالسيوم التي تنشأ بشكل طبيعي في العظام الطويلة للجسم عن طريق تشكيل أو زخرفة سطح ألياف الكربون النانوية (CNF). ويُظهر الشكل رقم (٥.٢٤) سطح ألياف الكربون النانوية (CNF) المشكّلة أو المزخرفة والالتصاق التفضيلي للخلايا البانية للعظم على أشكال أو زخارف من ألياف الكربون النانوية [153]. أن أهمية هذه الطريقة هي أنه يمكن دمجها باستخدام التحفيز الكهربائي (electrical stimulation)، والذي يُعرف بأنه يُحسّن من وظيفة الخلايا البانية للعظم [162]، ويمكن أن يؤدي إلى ترسيب اتجاهي (directional deposition) أسرع للكالسيوم على سطوح ألياف الكربون النانوية (CNF). في الواقع قامت إحدى الدراسات بالتحفيز الكهربائي للخلايا البانية للعظم على حاملات هندسة الأنسجة العظمية (bone tissue engineering scaffolds) لمركبات مصنوعة من بولي حمض اللاكتيك - أنابيب الكربون النانوية (polylactic acid - carbon nanotube) (بنسبة ٨٠ / ٢٠ ٪ وزن). وعلى الرغم من أن بولي (حمض اللاكتيك) (PLA) هو مادة عازلة، إلا أن إضافة ٢٠ ٪ من أنابيب الكربون النانوية (CNT) تجعله مادة مُوصّلة؛ مما يسمح بمرور التيار الكهربائي. وعندما يتم تعريض هذا المركب إلى تيار كهربائي متناوب بشدة ١٠ مايكرو أمبير لمدة ٦ ساعات في اليوم، لوحظ زيادة بنسبة ٤٦ ٪ في تكاثر الخلايا البانية للعظم بعد يومين ولوحظ زيادة بنسبة ٣٠٧ ٪ في ترسيب الكالسيوم بعد ٢١ يوماً بالمقارنة مع العينات التي تم تحفيزها بكهرباء نانوية؛ مما يُظهر وظائف مُحسّنة للخلايا البانية للعظم [163].

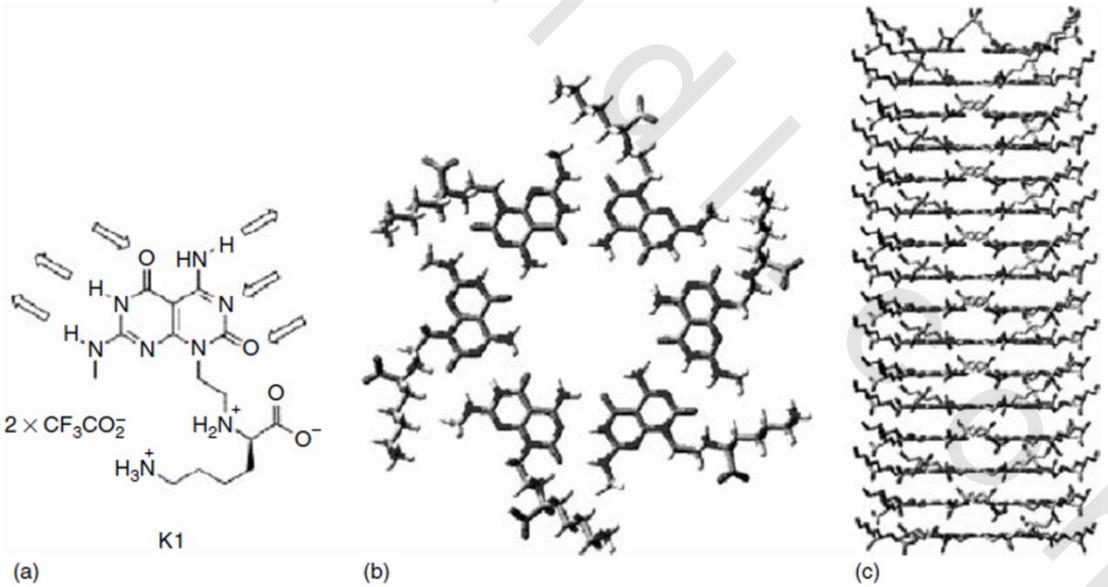
بالإضافة إلى ذلك، لم تُظهر الخلايا البانية للعظم المزروعة على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) انخفاضاً في نشاط القناة الأيونية للغشاء (membrane ion channel)، والتي تكون ضرورية من أجل إفراز البروتينات الرئيسية المرتبطة بالعظم من خلال الخلايا البانية للعظم؛ مما يؤكد ملاءمة أنابيب الكربون النانوية (CNTs) من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية [156]. وعلاوة على ذلك، فقد لوحظ شكل ممدود للخلايا البانية للعظم (extended osteoblast morphology) على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [155]. وقد تم تأكيد هذه النتيجة من قبل باحثين آخرين أظهروا المعدل الأعلى للتكاثر على ألياف الكربون النانوية (CNTs) أحادية الجدار ومتعادلة الشحنة [159]. ومن المثير للاهتمام أكثر، فقد قام Tsuchiya وآخرون بربط التصاق الخلايا البانية للعظم بقطر أنبوب الكربون النانوي. وقد أظهرت أنابيب الكربون النانوية (CNTs) مع قطر بقيمة ١٠ نانومتر تصاقاً أكبر للخلايا وتركيباً أكبر لعامل النمو (TGE- $\beta_1$ ) (وهو مؤشر على النمو الطبيعي للخلايا) وذلك بالمقارنة مع أنابيب الكربون النانوية (CNTs) مع قطر بقيمة ٢٠٠ نانومتر [157]. ومن ناحية أخرى، فقد أكدت بعض الدراسات نتائج متناقضة [158]. فعلى سبيل المثال، وُجد أن للخلايا البانية للعظم مجال من المورفولوجيات أو الأشكال،

بحيث أظهر بعضها انتشاراً أقل وأظهر البعض الآخر توسعاً أقل ولكن استطالة متزايدة على أسطح أنابيب الكربون النانوية (CNTs). ويُظهر الاختلاف في استجابة الخلايا البانية للعظم لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) بوضوح بأن الكثير من المحددات أو البارامترات تلعب دوراً في الاستجابات لهذه الأسطح وبأن ليس جميع أنابيب الكربون النانوية (CNTs) متساوية. وعلى وجه التحديد، فإن طريقة إنتاج أنابيب الكربون النانوية (CNT) (والتي تحدد من ناحية أخرى البنية المايكروية والنانوية للأنابيب) ووجود المادة الكيميائية المحفزة غير المتفاعلة (unreacted catalyst) (بشكل عام، الحديد (iron) أو النيكل (nickel) أو الكوبالت (cobalt) التي تعتبر معادن ثقيلة) والشحنة السطحية (surface charge) والتركيب الكيميائي للسطح (surface chemistry) والقطر، ... إلخ، كلها تتغير كثيراً من أنبوب كربوني نانوي (CNT) إلى آخر.

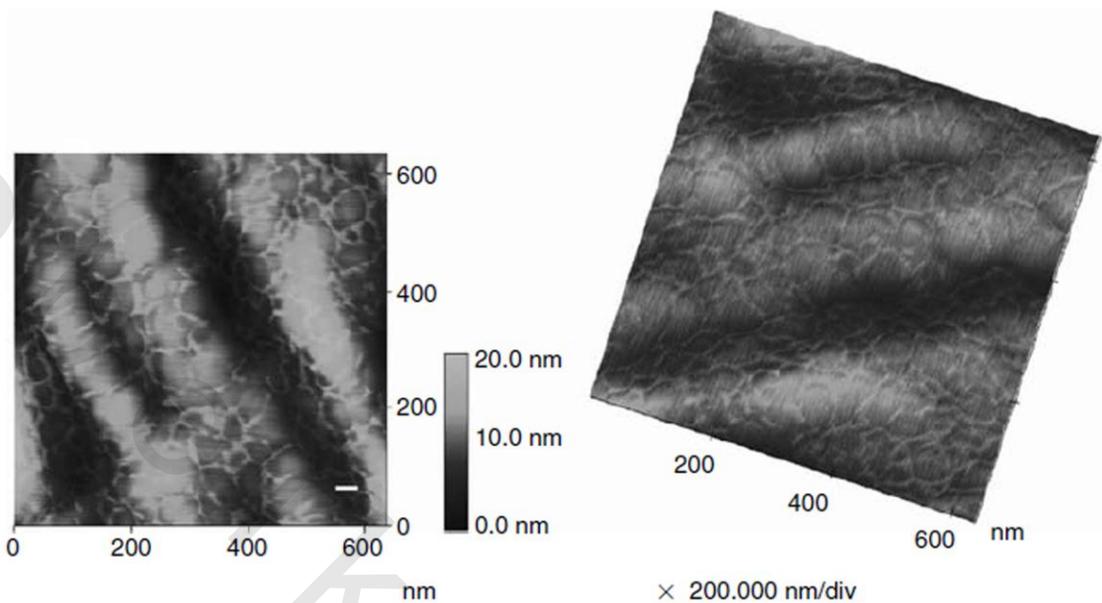


الشكل رقم (٥، ٢٤). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لـ (a, b) تشكيل أو زخرفة بألياف الكربون النانوية (CNF) على بولي كربونات البوريتان (PCU) في تكبير منخفض وعالي، على التوالي؛ (c) أكتين مترافف أو متحاذي (aligned actin) في خلية بانية للعظم ملتصقة بشكل انتقائي على ليف كربون نانوي (CNF)؛ (d) بلورة فوسفات الكالسيوم (calcium phosphate crystal) على ليف كربون نانوي (CNF). شرائط القياس هي (a) ١٠٠ مايكرومتر و (b) ٣٠ مايكرومترًا، و (c) ٢٠ مايكرومترًا، و (d) ١٠ مايكرومترات. (من Khang, D., Sato, M., Price, R.L. et al., *Int. J. Nanomedicine*, 1, 1, 65, 2006).

تقدم البيولوجيا أو علم الأحياء نماذج ملهمة لتقنية النانو. وباعتبار أن العظم هو مجموعة ذاتية التجميع من ألياف النانو [164]، فإن البنى النانوية ذاتية التجميع (self - assembled nanostructures) يمكن أن تعطي نتائج مباشرة. إن الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (على شكل وردة) (Helical Rosette Nanotubes - HRN)، والتي هي أنابيب نانوية عضوية ذاتية التجميع وذات أبعاد تحاكي المكونات الأساسية للعظم ذات البنية النانوية، هي واحدة من هذه الصيغ الجديدة [165]. ويُظهر الشكل رقم (٥.٢٥) تنظيم هذا الأنبوب النانوي. يبلغ قطر الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) 3.5 نانومتراً، ويبلغ طولها عدة مايكروونات. وهي تتألف من أزواج قاعدية من القوانين (guanine) والسيتوزين (cytosine) في الحمض النووي (DNA) والتي يتم الحصول عليها من خلال التجميع الذاتي الموجه بواسطة الإنتروبي (self - assembly entropically driven) (بواسطة نظام ديناميكي حراري) في الظروف الفيزيولوجية (عندما تُضاف إلى الماء) أو عند تعريضها لدرجات حرارة الجسم. وقد أظهرت ركائز التيتانيوم (titanium substrates) المطلية أو المغلفة بالأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) زيادة في التصاق الخلايا البانية للعظام. ويظهر الشكل رقم (٥.٢٦) ركائز التيتانيوم المطلية أو المغلفة بالأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) [166]. تقوم الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) ذاتية التجميع المقادة أو الموجهة بالحرارة (عند درجة حرارة ٦٨ درجة مئوية) على التيتانيوم بتعزيز التصاق الخلايا البانية للعظم بقدر ما يعززه التيتانيوم غير المطلي أو المغلف في وجود بروتينات مصلى الدم (serum proteins)؛ مما يبين قدرة الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) على العمل كمادة بديلة للبروتين (protein substitute).



الشكل رقم (٥.٢٥). (a) الوحدة ذاتية التجميع (K1) (self-assembling module K1) تخضع إلى تجميع ذاتي عفوي (spontaneous self-assembly) في الظروف الفيزيولوجية بدأي في (b) دورة فوق ماكروية وردية (rosette super-macrocyle) يتم الحفاظ عليها عن طريق الروابط (H) ومن ثم في (c) كومة حلزونية من وريدات (helical stack of rosettes) بطول عدة مايكرومترات. (من (Chun, A.L., Moralez, J.G., Webster, T.J. et al., *Biomaterials*, 26, 35, 7304, 2005).



الشكل رقم (٥, ٢٦). صور مجهرية باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM) لركائز من التيتانيوم (Ti) مطلية أو مُغلّفة بـ (1 mg / mL) من (HRN-K1) والتي تظهر شبكات الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) المُشكّلة على سطوح التيتانيوم (Ti). (من

.(Chun, A.L., Moralez, J.G., Webster, T.J. et al., *Biomaterials*, 26, 35, 7304, 2005

ونظراً لهذه النزعات أو الاتجاهات الشاملة لزيادة وظائف الخلايا البانية للعظم على الكثير من المواد النانوية، فإنه من المثير للاهتمام أن نسأل: لماذا تتصرف الخلايا البانية للعظم بشكلٍ إيجابي جداً على هذه المواد الجديدة ذات الطور النانوي؟ ويصبح هذا السؤال أكثر إثارة للاهتمام عندما نسأل: لماذا لا تتصرف الأنواع الأخرى من الخلايا (مثل خلايا الأرومة الليفية) هكذا؟. إن هذا الأمر مُوضّح في القسم التالي.

### (٥, ٣, ٣, ٣) التعرف على الخلايا العظمية على المواد التقليدية والمواد ذات الطور النانوي **Bone Cell Recognition on Conventional and Nanophase Materials**

إن فهم الأسباب وراء السلوك المعزّز للخلايا البانية للعظم على المواد ذات الطور النانوي والمواد التقليدية هو أكثر خطوة حاسمة في تصاميم الطعوم أو المواد المزروعة المستقبلية. في القسم (٥.١.٣)، تم تقديم موضوع التصاق الخلايا العظمية على سطح الطعم أو المادة المزروعة. في هذا القسم، ستم دراسة السؤال "لماذا النانو؟" من وجهة نظر هندسة الأنسجة العظمية.

كما ذكر آنفاً، فإن التغييرات في خصائص المادة تُعالج ببراعة أو تقوم بالتلاعب بخصائص امتصاص أو ارتشاف البروتين؛ مما يغير من سلوك امتصاص أو ارتشاف البروتين، والذي يؤثر أيضاً على التصاق الخلايا على سطوح المواد الحيوية. وعندما يقل الحجم الحبيبي لمادة إلى النظام النانوي، تتغير بعض الخصائص مثل الزيادة في عدم تمرکز الإلكترونات (electron delocalization) وزيادة المساحة السطحية وزيادة عدد الذرات عند السطح وزيادة العيوب السطحية، والتي تعتبر تفاعلات سطحية / بروتينية مؤثرة. يبين الشكل رقم (٥.٢٧) الاختلافات في مواضع الذرات من أجل المواد التقليدية

بالمقارنة مع المواد ذات الطور النانوي. ويتأثر امتصاص أو ارتشاف معظم البروتينات اللاصقة للخلايا والتي تحتوي على التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) (الفيترونيكتين والفبرونيكتين والكولاجين واللامينين) بسبب هذه التغييرات في الخصائص السطحية؛ ونتيجة لذلك تُمتص أو تُتمز البروتينات على السطوح بطريقة مختلفة، وعلى وجه التحديد بكميات أكبر وفي تعديلات أو تشكلات أكثر مثالية فإنها تزيد من توفر مجالات ربط الخلايا. فعند توفر الكثير من تسلسلات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) النشطة حيويًا، يلتصق الكثير من الخلايا البانية للعظم. ونظرًا إلى حقيقة أن كلاً من تكاثر ووظائف الخلايا البانية للعظم تعتمد على الالتصاق الأولي على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة، فإن الخطوة الأولى، وهي التصاق الخلايا البانية للعظم، تكون ذات أهمية قصوى.

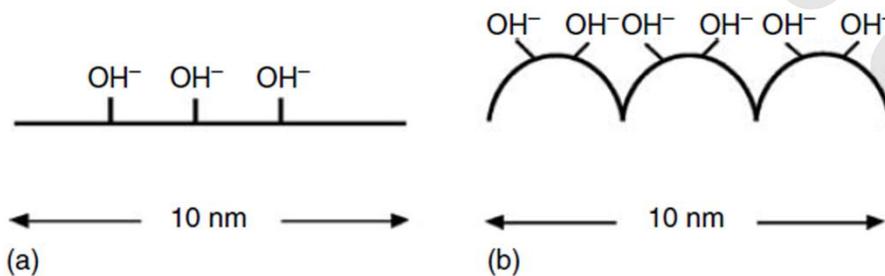


الشكل رقم (٥, ٢٧). رسم بياني لعدد الذرات (atom position) المقابل لموقع الذرات (number of atoms). ويظهر أن العدد الأكبر من الذرات يكون على سطوح المواد ذات الطور النانوي. (من Webster, T.J., *Adv. Chem. Eng.*, 27, 125, 2001).

وكما تم التأكيد هنا عدة مرات، فإن المواد ذات الطور النانوي تزيد من التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم. إن امتصاص أو ارتشاف كميات أكبر من البروتينات، مثل الفيترونيكتين، على البنى ذات الطور النانوي بالمقارنة مع المواد التقليدية هو واحدٌ من الأسباب لهذا السلوك. وقد أظهرت الأبحاث أن امتصاص أو ارتشاف الفيترونيكتين يكون أكبر بنسبة ٣٠٪ من أجل الألومينا ذات الطور النانوي بالمقارنة مع الألومينا التقليدية، وفي المقابل يزداد التصاق الخلايا [17]. والسبب الآخر لهذا السلوك هو الامتصاص أو الارتشاف المنخفض للبروتين التنافسي (competitive protein) (مثل الامتصاص أو الارتشاف المنخفض لصميم البروتين الشحمي (apolipoprotein) والألبومين (albumin) على الألومينا ذات الطور النانوي [17]). فعندما يكون هناك امتصاص أو ارتشاف أقل للبروتين التنافسي على السطوح ذات الطور النانوي، فستتوفر مواقع أكثر للبروتينات مثل الفيترونيكتين الذي يدعم التصاق الخلايا البانية للعظم. بالإضافة إلى ذلك، يعتبر الامتصاص أو الارتشاف الأولي المعزّز للكالسيوم على السطوح المحبة للماء (hydrophilic surfaces) أيضاً عاملاً مساهماً، حيث تم

اقترح آلية يدعمها أو يتوسطها الكالسيوم لتكون مسؤولة عن امتصاص أو امتزاز الفيرونيكتين. والأهم من كل ذلك، هو أن المواد ذات الطور النانوي تغير من تشكل البروتينات الممتصة أو الممزوجة عن طريق تعزيز نشرها على السطح. وكمثال لهذا السلوك نشر (unfolding) الفيرونيكتين. فعند امتصاص أو امتزاز الفيرونيكتين على السطوح ذات الطور النانوي، يتغير تشكل البروتين في مثل الطريقة التي يتم فيها التعرض للحواتم (epitopes) (في المستضد) أو الببتيدات اللاصقة للخلايا (RGD و KRSR)، مما يعزز من ناحية أخرى التفاعلات مع المستقبلات الخاصة بالخلية البانية للعظم - الغشاء.

وبصورة عامة، تزداد وظائف الخلايا البانية للعظم على السطوح ذات الخشونة النانوية الأعلى (أي النقصان في الحجم الحبيبي أو قطر الألياف إلى النظام النانوي، والزيادة في محتوى الألياف النانوية، ... إلخ) [5]. إن أبسط تفسير لهذا الأمر هو أن حجم البروتينات التي تتوسط التصاق الخلايا البانية للعظم هو في النظام النانومتري. ويؤثر السطح ذو الطوبوغرافيا أو السمات النانوية على توافر بروتينات التصاق الخلايا بقدر أكبر من السطوح التقليدية ذات النعومة النانوية. وبصورة علمية أكثر، فإن سبب زيادة التصاق الخلايا البانية للعظم هو الزيادة في عدم تركز الإلكترونات من أجل المواد في المستوى النانوي. ففي نفس الحيز الخطي (linear space)، توجد مساحة سطحية (surface area) أكبر للمواد ذات الطور النانوي. وهذا يؤدي إلى عدم تركز أكبر للإلكترونات. وتوضيحاً لهذا الأمر، فإن لأوكسيد المغنسيوم (MgO) مجموعات هيدروكسيد حمضية ( $\text{OH}^-$ ) أقل على السطح بسبب وجود نسبة أعلى بكثير من المواقع الحدية (edge sites) لأوكسيد المغنسيوم ذي الطور النانوي (nanophase MgO)، مما يسبب عدم تركز للإلكترونات. ويوضح الشكل رقم (٥.٢٨) الرسم التخطيطي لعدم تركز الإلكترونات. ويؤدي ارتفاع عدم تركز الإلكترونات في المواد ذات الطور النانوي إلى إنشاء سطوح ذات شحنات كهربائية سالبة أكثر وذلك بالمقارنة مع المواد التقليدية، والتي تزيد من التجاذبات الكهرستاتيكية (electrostatic attractions) (التجاذبات الكهرائية الساكنة) بين السطوح والبروتينات؛ مما يغير وبشكل جذري من الطريقة التي تتفاعل بها السطوح مع البروتينات. إن سبب زيادة امتصاص أو امتزاز البروتينات على السطوح ذات الطور النانوي يرجع إلى ذلك التغيير في التجاذبات الكهرستاتيكية [29].



الشكل رقم (٥، ٢٨). رسم تخطيطي يظهر (a) مواد تقليدية و (b) مواد ذات طور نانوي. (من Sato, M. and Webster, T.J., *Exp. Rev. Med.*

وتعتبر قابلية الابتلال أو الترطيب (الحب للماء) أيضاً محدداً أو بارامتراً آخر يتغير عندما ينقص الحجم الحبيبي للمادة إلى النظام النانوي. وبصورة عامة، فإنه كلما قل الحجم الحبيبي، ازداد الحب إلى الماء أو الاسترطاب. ومثال ذلك هو الألومينا ذات الطور النانوي، والتي تُظهر زوايا اتصال مائي (aqueous contact angles) أصغر بثلاث مرات عندما ينقص الحجم الحبيبي من ١٦٧ إلى ٢٤ نانومتراً [99]. وتؤدي زيادة الحب إلى الماء على السطح أو الاسترطاب السطحي ( surface hydrophilicity) إلى زيادة في امتصاص أو ارتشاف البروتين، والذي يزيد من ناحية أخرى من التصاق الخلايا على المواد الحيوية. وقد تبين بأن امتصاص أو ارتشاف الفيرونيكتين، والذي يعتبر عاملاً حاسماً في التصاق الخلايا البانية للعظم، يزداد على السيراميك ذي الطور النانوي مع قابلية أكبر للابتلال أو الترطيب.

#### (٥،٤) الاتجاهات المستقبلية FUTURE DIRECTIONS

على الرغم من أن المحاولات الأولية لاستخدام المواد في المستوى النانوي في هندسة الأنسجة العظمية تبدو مشجعة، إلا أن الأسئلة المهمة لا تزال بدون إجابة. ولا تزال سمية الجسيمات النانوية بحاجة إلى معالجة من وجهة نظر التصنيع على نطاق تجاري والاستخدام كطعم أو مادة مزروعة. فعلى سبيل المثال، يمكن للجسيمات النانوية الصغيرة أن تتوغل في داخل الجسم البشري من خلال المسام، والآثار الصحية لهذه الجسيمات غير معروفة بعد. أما وقد لوحظ الآن زيادة كبيرة في نمو العظم على العديد من المواد النانوية، فقد حان الوقت لدراسة سميتها بشكل كامل أثناء عملية التصنيع و / أو الزراعة.

#### المراجع REFERENCES

- [1] Marieb, E.N. 1998. Human Anatomy & Physiology, 4th ed. Menlo Park, California: Benjamin/Cummings Science Publishing.
- [2] University of Glasgow. <http://www.gla.ac.uk/ibls/fab/public/docs/xbone1x.html>
- [3] Young, J.L., Fritz, A., Adamo, M.P. et al. U.S. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program, Structure of bone tissue, [http://training.seer.cancer.gov/module\\_anatomy/unit3\\_2\\_bone\\_tissue.html](http://training.seer.cancer.gov/module_anatomy/unit3_2_bone_tissue.html)
- [4] Young, J.L., Fritz, A., Adamo, M.P. et al. U.S. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program. <http://www.web-books.com/eLibrary/Medicine/Physiology/Skeletal/Skeletal.htm>
- [5] Price, R.L. 2004. Evaluation of nanofiber carbon and alumina for orthopedic/dental applications, PhD dissertation, Purdue University.
- [6] Zysset, P.K., Guo, X.E., Hoffler, C.E. et al. 1999. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nano-indentation in the human femur. *Journal of Biomechanics*, 32: 1005–1012.
- [7] Webster, T.J. 2001. Nanophase ceramics: The future orthopedic and dental implant material. *Advances in Chemical Engineering*, 27: 125–166.
- [8] Dickenson, R.P., Hutton, W.C., and Stott, J.R.R. 1981. The mechanical properties of bone in osteoporosis. *Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 63B(2): 233–238.

- [9] Linde, F., Norgaard, P., Hvid, I. et al. 1991. Mechanical properties of trabecular bone. Dependency on strain rate. *Journal of Biomechanics*, 24(9): 803–809.
- [10] Linde, F. 1994. Elastic and viscoelastic properties of trabecular bone by a compression testing approach. *Danish Medical Bulletin*, 41(2): 119–138.
- [11] Lakers, R.S. 1993. Materials with structural hierarchy. *Nature*, 361: 511–515.
- [12] Doll, B.A. 2005. Basic Bone Biology and Tissue Engineering in *Bone Tissue Engineering*, eds., Hollinger, J.O., Einhorn, T.A., Doll, B.A., Sfeir, C., pp. 3–90, CRC Press, LLC.
- [13] Kaplan, F.S., Hayes, W.C., Keaveny, T.M. et al. 1994. Form and function of bone. In: *Orthopaedic Basic Science*, ed., Simon, S.R., pp. 127–184. American Academy of Orthopedic Surgeons, Rosemont, IL.
- [14] American Society for Bone and Mineral Research, *Bone Curriculum, Bone Growth and Remodeling*. 2007. <http://depts.washington.edu/bonebio/ASBMRed/growth.html>
- [15] Rügsegger, P. 1996. “A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture”. *Calcified Tissue International*, 58(1):24–29.
- [16] Garcia, A.J., Ducheyne, P., and Boettiger, D. 1998. Effect of surface reaction stage on fibronectin-mediated adhesion of osteoblast-like cells to bioactive glass. *Journal of Biomedical Materials Research*, 40(1): 48–56.
- [17] Webster, T.J., Schadler, L.S., Siegel, R.W. et al. 2001. Mechanisms of enhanced osteoblast adhesion on nanophase alumina involve vitronectin. *Tissue Engineering*, 7(3): 291–301.
- [18] Degasne, I., Basle, M.F., Demais, V. et al. 1999. Effects of roughness, fibronectin and vitronectin on attachment, spreading, and proliferation of human osteoblast-like cells (saos-2) on titanium surfaces. *Calcified Tissue International*, 64: 499–507.
- [19] Siebers, M.C., Brugge, P.J., Walboomers, X.F. et al. 2005. Integrins as linker proteins between osteoblasts and bone replacing materials. A critical review. *Biomaterials*, 26(2): 137–146.
- [20] Balasundaram, G. and Webster, T.J. 2006. A perspective on nanophase materials for orthopedic implant applications. *Journal of Materials Chemistry*, 16: 3737–3745.
- [21] Christenson, E.M., Anseth, K.S., Beucken, J.J.J.P. et al. 2006. Nanobiomaterial applications in orthopedics. *Journal of Orthopaedic Research*, 25(1): 11–22.
- [22] Kreis, T. and Vale, R. 1999. *Guidebook to the Extracellular Matrix, Anchor, and Adhesion Proteins*, Oxford: Oxford University Press.
- [23] Lopes, M.A., Monteiro, F.J., Santos, J.D. et al. 1999. Hydrophobicity, surface tension, and zeta potential measurements of glass-reinforced hydroxyapatite composites. *Journal of Biomedical Materials Research*, 45(4): 370–375.
- [24] Howlett, C.R., Evans, D.M.M., Walsh, W.R. et al. 1994. Mechanism of initial attachment of cells derived from human bone to commonly used prosthetic materials during cell culture. *Biomaterials*, 15(3): 213–222.
- [25] Garcia, A.J., Ducheyne, P., and Boettiger, D. 1997. Cell adhesion strength increases linearly with adsorbed fibronectin surface density. *Tissue Engineering*, 3(2): 197–206.
- [26] Garcia, J.A., Ducheyne, P., and Boettiger, D. 1998. Effect of surface reaction stage on fibronectin-mediated adhesion of osteoblast-like cells to bioactive glass. *Journal of Biomedical Materials Research*, 40(1): 48–56.
- [27] Lehenkari, P.P. and Horton, M.A. 1999. Single integrin molecule adhesion forces in intact cells measured by atomic force microscopy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 259: 645–650.
- [28] Sinha, R.K. and Tuan, R.S. 1996. Regulation of human osteoblast integrin expression by orthopedic implant materials. *Bone*, 18: 451–457.
- [29] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al. 2000. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research*, 51(3): 475–483.
- [30] Hasenbein, M.E., Andersen, T.T., and Bizios, R. 2002. Micropatterned surfaces modified with select peptides promote exclusive interactions with osteoblasts. *Biomaterials*, 23(19): 3937–3942.

- [31] Aota, S., Nomizu, M., and Yamada, K.M. 1994. The short amino acid sequence Pro-His-Ser-Arg-Asn in human fibronectin enhances cell-adhesive function. *Journal of Biological Chemistry*, 269: 24756–24761.
- [32] Rezanian, A. and Healy, K.E. 1999. Biomimetic peptide surfaces that regulate adhesion, spreading, cytoskeletal organization, and mineralization of the matrix deposited by osteoblast-like cells. *Biotechnology Progress*, 15: 19–32.
- [33] Puleo, D.A. and Bizios, R. 1992. Mechanisms of fibronectin mediated attachment of osteoblasts to substrates in vitro. *Bone and Mineral*, 18: 215–226.
- [34] American Academy of Orthopedic Surgeons, Agency for Healthcare Research and Quality, Total hospitalization costs for hip replacements. [http://www.aaos.org/Research/stats/Total %20Hospital %20Charges %20for %20Hip %20Replacement %20Chart.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Total%20Hospital%20Charges%20for%20Hip%20Replacement%20Chart.pdf)
- [35] American Academy of Orthopedic Surgeons. Number of total hip replacement surgeries. National Hospital Discharge Survey, 1991–2004. [http://www.aaos.org/Research/stats/Total %20Hip %20Replacement %20Chart.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Total%20Hip%20Replacement%20Chart.pdf)
- [36] American Academy of Orthopedic Surgeons, Number revision hip replacement, procedures. National Hospital Discharge Survey, 1991–2004. [http://www.aaos.org/Research/stats/Hip %20Revision %20Chart.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Hip%20Revision%20Chart.pdf)
- [37] American Academy of Orthopedic Surgeons, Facts on hip replacement. National Hospital Discharge Survey. 2004. [http://www.aaos.org/Research/stats/Hip %20Facts.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Hip%20Facts.pdf)
- [38] Dowson, D. 2001. New joints for the millennium: Wear control in total replacement hip joints. *Proceedings of the Institute of Mechanical Engineers. Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 215(4): 335–358.
- [39] Hastings, G.W. 1980. Biomedical engineering and materials for orthopaedic implants. *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 13: 599–607.
- [40] Akay, M. and Aslan, N. 1996. Numerical and experimental stress analysis of a polymeric composite hip joint prosthesis. *Journal of Biomedical Materials Research*, 31(2): 167–182.
- [41] Jacob, H.A.C., Bereiter, H.H., and Buergi, M.L. 2007. Design aspects and clinical performance of the thrust plate hip prosthesis. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 221(1): 29–37.
- [42] Huiskes, R. and Boeklagen, R. 1989. Mathematical shape optimization of hip prosthesis design. *Journal of Biomechanics*, 22(8–9): 793–804.
- [43] Nunn, D., Freeman, M.A., Hill, P.F. et al. 1989. The measurement of migration of the acetabular component of hip prostheses. *Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 71B(4): 629–631.
- [44] Burke, D.W., O'Connor, D.O., Zalenski, E.B. et al. 1991. Micromotion of cemented and uncemented femoral components. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 73B(1): 33–37.
- [45] Charnley, J. and Kettlewell, J. 1965. The elimination of slip between prosthesis and femur. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 47B(1): 56–60.
- [46] Mjoberg, B. 1986. Loosening of the cemented hip prosthesis. The importance of heat injury. *Acta Orthopaedica Scandinavica. Supplementum*, 221: 1–40.
- [47] Gladius, L. 1997. Properties of acrylic bone cement: state of the art review. *Journal of Biomedical Materials Research*, 38(2): 155–182.
- [48] Schmalzried, T.P. and Callaghan, J.J. 1999. Current concepts review wear in total hip and knee replacements. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 81A(1): 115–136.
- [49] Dumbleton, J.H., Manley, M.T., and Edidin, A.A. 2002. A literature review of the association between wear rate and osteolysis in total hip arthroplasty. *The Journal of Arthroplasty*, 17(5): 649–661.
- [50] Ingham, E. and Fisher, J. 2000. Biological reactions to wear debris in total joint replacement. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 214(1): 21–37.

- [51] Dowson, D. 2001. New joints for the millennium: Wear control in total replacement hip joints. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers*, 215(4): 335–358.
- [52] Dumbleton, J.H. and Mantley, M.T. 2005. Metal-on-metal total hip replacement. What does the literature say? *The Journal of Arthroplasty*, 20(2): 174–188.
- [53] Buscher, R., Tager, G., Dudzinski, W. et al. 2005. Subsurface microstructure of metal-on-metal hip joints and its relationship to wear particle generation. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 72B(1): 206–214.
- [54] Anderson, J.M., 1993. Mechanisms of inflammation and infection with implanted devices. *Cardiovascular pathology*, 2(3):33–41.
- [55] Anderson, J.M., Gristina, A.G., Hanson, S.R. et al. 1996. Host reactions to biomaterials and their evaluation. In: *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, eds. Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, A.S., and Lemons, J.E., pp. 165–214, San Diego: Academic Press, Inc.
- [56] Webster, T.J. 2003. Improved bone tissue engineering materials. *American Ceramic Society Bulletin*, 82(6): 23–28.
- [57] Roco, M.C. 2003. Nanotechnology: Convergence with modern biology and medicine. *Current Opinion in Biotechnology*, 14: 337–346.
- [58] Nel, A., Xia, T., Madler, L. et al. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311: 622–627.
- [59] Ferrar, M. 2005. Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges. *Nature Reviews Cancer*, 5(3): 161–171.
- [60] Lu, Y. and Chen, S.C. 2004. Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(11): 1621–1633.
- [61] Cohen, H., Levy, R.J., Gao, J. et al. 2000. Sustained delivery and expression of DNA encapsulated in polymeric nanoparticles. *Gene Therapy*, 7: 1896–1905.
- [62] Smith, L.A. and Ma, P.X. 2004. Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 39: 125–131.
- [63] Kobayashi, H. and Brechbiel, M.W. 2005. Nano-sized MRI contrast agents with dendrimer cores. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57: 2271–2286.
- [64] Thalhammer, S. and Heckl, W.M. 2004. Nanotechnology and medicine. 4th IEEE Conference on Nanotechnology, 577–579.
- [65] Webster, T.J. and Ahn, E.A. 2006. Nanostructured biomaterials for tissue engineering bone. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 103: 275–308.
- [66] Ioku, Y., Yoshimura, M., and Somiya, S. 1990. Microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite ceramics with zirconia dispersion prepared by post-sintering. *Biomaterials*, 11(1): 57–61.
- [67] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 2001. Enhanced surface and mechanical properties of nanophase ceramics to achieve orthopaedic/dental implant efficacy. *Key Engineering Materials*, 192–195: 321–324.
- [68] Balania, K., Andersonb, R., Lahaa, T. et al. 2007. Plasma-sprayed carbon nanotube reinforced hydroxyapatite coatings and their interaction with human osteoblasts in vitro. *Biomaterials*, 28(4): 618–624.
- [69] Shi, X., Hudson, J.L., Spicer, P.P. et al. 2006. Injectable nanocomposites of single-walled carbon nanotubes and biodegradable polymers for bone tissue engineering. *Biomacromolecules*, 7(7): 2237–2242.
- [70] Wang, X., Li, Y., Wei, J. et al. 2002. Development of biomimetic nano-hydroxyapatite/poly (hexamethylene adipamide) composites. *Biomaterials*, 23(24): 4787–4791.
- [71] Ahn, E.S., Gleason, N.J., and Ying, J.Y. 2005. The effect of zirconia reinforcing agents on the microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite-based nanocomposites. *Journal of the American Ceramic Society*, 88(12): 3374–3379.

- [72] McManus, A.J., Doremus, R.H., Siegel, R.W. et al. 2005. Evaluation of cytocompatibility and bending modulus of nanoceramic/polymer composites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 72(1): 98–106.
- [73] Turell, M. and Bellare, A. 2007. A USAXS study of dispersion of barium sulfate particles in polymethylmethacrylate bone cement, <http://aps.anl.gov/>
- [74] Gomoll, A.H., Bellare, A., Fitz, W. et al. 1999. Nano-composite poly(methyl-methacrylate) bone cement, MRS Fall Meeting; Nanophase and Nanocomposite Materials II: 399–404.
- [75] Hu, Q., Li, B., Wang, M. et al. 2004. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: A potential material as internal fixation of bone fracture. *Biomaterials*, 25(5): 779–785.
- [76] Martínez, M.E., Medina, S., Campo, M.T.D. et al. 1998. Effect of polyethylene particles on human osteoblastic cell growth. *Biomaterials*, 19(1–3): 183–187.
- [77] Vermes, C., Chandrasekaran, R., Jacobs, J.J. et al. 2001. The effects of particulate wear debris, cytokines, and growth factors on the functions of MG-63 osteoblasts. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 83A(2): 201–211.
- [78] Shanbhag, A.S., Jacobs, J.J., Glant, T.T. et al. 1994. Composition and morphology of wear debris in failed uncemented total hip replacement. *Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 76B(1): 60–67.
- [79] Papageorgiou, I., Brown, C., Schins, R. et al. 2007. The effect of nano- and micron-sized particles of cobalt-chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 28(19): 2946–2958.
- [80] Tamura, K., Takashi, N., Akasaka, T. et al. 2004. Effects of micro/nano particle size on cell function and morphology. *Key Engineering Materials*, 254–256: 919–922.
- [81] Lam, C.W., James, J.T., McCluskey, R. et al. 2004. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicology Science*, 77: 126–134.
- [82] Gutwein, L.G. and Webster, T.J. 2005. Increased viable osteoblasts density in the presence of nanophase compared to conventional alumina and titania particles. *Biomaterials*, 25(18): 4175–4183.
- [83] Gutwein, L.G. and Webster, T.J. 2002. Osteoblast and chondrocyte proliferation in the presence of alumina and titania nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 4: 231–238.
- [84] Price, R.L., Haberstroh, K.M., and Webster, T.J. 2004. Improved osteoblast viability in the presence of smaller nanometer dimensioned carbon fibres. *Nanotechnology*, 15: 892–900.
- [85] Shen, M. and Horbett, T.A. 2001. The effects of surface chemistry and adsorbed proteins on monocyte/macrophage adhesion to chemically modified polystyrene surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*, 57(3): 336–345.
- [86] Liv-Synder, P., Khang, D., and Webster, T.J., Reduced responses of macrophages to nanophase alumina, Unpublished work.
- [87] Huang, J., Best, S.M., and Bonfield, W. 2004. In vitro assessment of the biological response to nanosized hydroxyapatite. *Journal of Materials Science in Medicine*, 15: 441–445.
- [88] Rzigalinski, B.A., Danilisen, I., Strawn, E.T. et al. 2007. Nanoparticles for cell engineering—A radical concept. In: *Nanotechnologies for the Life Sciences, Tissue, Cell and Organ Engineering*, ed., Kumar, C.S.S.R., Volume 9, pp. 361–387, Wiley-VCH.
- [89] Jenney, C.R. and Anderson, J.M. 2000. Adsorbed serum proteins responsible for surface dependent human macrophage behavior. *Journal of Biomedical Materials Research*, 49(4): 435–447.
- [90] Khang, D., Webster, T.J., Unpublished work.
- [91] Oliveira, P.T.D. and Nanci, A. 2004. Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by culture osteogenic cells. *Biomaterials*, 25(3): 403–413.
- [92] Ward, B.C. and Webster, T.J. 2007. Increased functions of osteoblasts on nanophase metals. *Materials Science and Engineering C*, 27: 575–578.

- [93] Ward, B.C. and Webster, T.J. 2006. The effect of nanotopography on calcium and phosphorus deposition on metallic materials in vitro. *Biomaterials*, 27(16): 3064–3074.
- [94] Webster, T.J. and Ejiiofor, J.U. 2004. Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo. *Biomaterials*, 25(19): 4731–4739.
- [95] Ejiiofor, J.U. and Webster, T.J. 2004. Bone cell adhesion on titanium implants with nanoscale surface features. *International Journal of Powder Metallurgy*, 40(2): 43–54.
- [96] Balasundaram, G. and Webster, T.J. 2007. Increased osteoblast adhesion on nanograined Ti modified with KRSR. *Journal of Biomedical Research Part A*, 80(3): 602–611.
- [97] Perla, V. and Webster, T.J. 2005. Better osteoblast adhesion on nanoparticulate selenium—A promising orthopedic implant material. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 75A(2): 356–364.
- [98] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 1998. An in vitro evaluation of nanophase alumina for orthopaedic/dental applications, *Bioceramics 11: Proceedings of the 11th International Symposium on Ceramics in Medicine*, eds. LeGeros, R.Z., LeGeros, J.P., pp. 273–276, New York: World Scientific.
- [99] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 1999. Osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *Biomaterials*, 20(13): 1221–1227.
- [100] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al. 2000. Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics. *Biomaterials*, 21(17): 1803–1810.
- [101] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 1999. Design and evaluation of nanophase alumina for orthopaedic/dental applications. *NanoStructured Materials*, 12: 983–986.
- [102] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 2001. Nanoceramic surface roughness enhances osteoblast and osteoclast functions for improved orthopaedic/dental implant efficacy. *Scripta Materialia*, 44: 1639–1642.
- [103] Price, R.L., Gutwein, L.G., Kaledin, L. et al. 2003. Osteoblast function on nanophase alumina materials: Influence of chemistry, phase, and topography. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67: 1284–1293.
- [104] Webster, T.J., Hellenmeyer, E.L., and Price, R.L. 2005. Increased osteoblast functions on thetadelta nanofiber alumina. *Biomaterials*, 26(9): 953–960.
- [105] Palin, E., Liu, H., and Webster, T.J. 2005. Mimicking the nanofeatures of bone increases bone-forming cell adhesion and proliferation. *Nanotechnology*, 16: 1828–1835.
- [106] Swan, E.E.L., Popat, K.C., Grimes, C.A. et al. 2005. Fabrication and evaluation of nanoporous alumina membranes for osteoblast culture. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 72A(3): 288–295.
- [107] Yao, C., Perla, V., McKenzie, J. et al. 2005. Anodized Ti and Ti6Al4V possessing nanometer surface features enhances osteoblast adhesion. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 1(1): 68–73.
- [108] Karlsson, M., Palsgaard, E., Wilshaw, P.R. et al. 2003. Initial in vitro interaction of osteoblasts with nanoporous alumina. *Biomaterials*, 24(18): 3039–3046.
- [109] Yao, C. and Webster, T.J. 2006. Anodization: A promising nano-modification technique of titanium implants for orthopedic applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6(9–10): 2682–2692.
- [110] Price, R.L., Haberstroh, K.M., and Webster, T.J. 2003. Enhanced functions of osteoblasts on nanostructured surfaces of carbon and alumina. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 41: 372–375.
- [111] Price, R.L., Gutwein, L.G., Kaledin, L. et al. 2003. Osteoblast function on nanophase alumina materials: Influence of chemistry, phase and topography. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67(4): 1284–1293.
- [112] Balasundaram, G., Sato, M., and Webster, T.J. 2006. Using hydroxyapatite nanoparticles and decreased crystallinity to promote osteoblast adhesion similar to functionalizing with RGD. *Biomaterials*, 27(14): 2798–2805.

- [113] Sato, M., Sambito, M.A., Aslani, A. et al. 2006. Increased osteoblast functions on undoped and yttriumdoped nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium. *Biomaterials*, 27(11): 2358–2369.
- [114] Balasundaram, G. and Webster, T.J. 2006. Hydroxyapatite coated magnetic nanoparticles for the treatment of osteoporosis. Presented at the BMES Meeting, Chicago, IL.
- [115] Lee, S.H. and Kim, H.E. 2007. Nano-sized hydroxyapatite coatings on Ti substrate with TiO<sub>2</sub> buffer layer by e-beam deposition. *Journal of the American Ceramic Society*, 90(1): 50–56.
- [116] Wang, Z.C., Chen, F., Huang, L.M. et al. 2005. Electrophoretic deposition and characterization of nanosized hydroxyapatite particles. *Journal of Materials Science*, 40(18): 4955–4957.
- [117] Li, P., 2003. Biomimetic nano-apatite coating capable of promoting bone ingrowth. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 66A(1): 79–85.
- [118] Sato, M., An, Y.H., Slamovich, E.B. et al. 2008. Increased osteointegration for tantalum scaffolds coated with nanophase compared to conventional hydroxyapatite. *International Journal of Nanomedicine*, 2008.
- [119] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 2001. Nanoceramic surface roughness enhances osteoblast and osteoclast functions for improved orthopaedic/dental implant efficacy. *Scripta Materialia*, 44: 1639–1642.
- [120] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al. 2001. Enhanced osteoclast-like cell functions on nanophase ceramics. *Biomaterials*, 22(11): 1327–1333.
- [121] Colon, G., Ward, B.C., and Webster, T.J. 2006. Increased osteoblast and decreased *Staphylococcus epidermidis* functions on nanophase ZnO and TiO<sub>2</sub>. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 78A(3): 595–604.
- [122] Norman, J.J. and Desai, T.A. 2006. Methods for fabrication of nanoscale topography for tissue engineering scaffolds. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(1): 89–101.
- [123] Pattison, M.A., Wurster, S., Webster, T.J. et al. 2005. Three-dimensional, nano-structured PLGA scaffolds for bladder tissue replacement applications. *Biomaterials*, 26(15): 2491–2500.
- [124] Kay, S., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2002. Nanostructured polymer/nanophase ceramic composites enhance osteoblast and chondrocyte adhesion. *Tissue Engineering*, 8(5): 753–761.
- [125] Miller, D.C., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2004. Endothelial and vascular smooth muscle cell function on poly(lactic-co-glycolic acid) with nano-structured surface features. *Biomaterials*, 25(1): 53–61.
- [126] Park, G.E., Pattison, M.A., Park, K. et al. 2005. Accelerated chondrocyte functions on NaOH-treated PLGA scaffolds. *Biomaterials*, 26(16): 3075–3082.
- [127] Thapa, A., Miller, D.C., Webster, T.J. et al. 2003. Nano-structured polymers enhance bladder smooth muscle cell function. *Biomaterials*, 24(17): 2915–2926.
- [128] Miller, D.C., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2002. Enhanced functions of cells on polymers with nanostructures surfaces. *Proceedings of the Second Joint EMBS/BMES Conference, Houston, TX*, 1: 755–756.
- [129] Wei, G., Jin, Q., Giannobile, W.V. et al. 2007. The enhancement of osteogenesis by nano-fibrous scaffolds incorporating rhBMP-7 nanospheres. *Biomaterials*, 28(12): 2087–2096.
- [130] Pham, Q.P., Sharma, U., and Mikos, A.G. 2006. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review. *Tissue Engineering*, 12(5): 1197–1211.
- [131] Tuzlakogu, K., Bolgen, N., Salgado, A.J. et al. 2005. Nano- and micro-fiber combined scaffolds: A new architecture for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16(12): 1099–1104.
- [132] Li, W.J., Tuli, R., Huang, X. et al. 2005. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three-dimensional nanofibrous scaffold. *Biomaterials*, 26(25): 5158–5166.

- [133] Shin, M., Yoshimoto, H., and Vacanti, J.P. 2004. In vivo bone tissue engineering using mesenchymal stem cells on a novel electrospun nanofibrous scaffold. *Tissue Engineering*, 10(1–2): 33–41.
- [134] Webster, T.J. and Smith, T.A. 2005. Increased osteoblast functions on PLGA composites containing nanophase titania. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 74A(4): 677–686.
- [135] Kay, S., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2002. Nanostructured polymer/nanophase ceramic composites enhance osteoblast and chondrocyte adhesion. *Tissue Engineering*, 8(5): 753–761.
- [136] Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J. 2005. Increased osteoblast functions on (poly-lactic-co-glycolic acid) with highly dispersed nanophase titania. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 1(1): 83–89.
- [137] Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J. 2005. Increased osteoblast functions on nanophase titania dispersed in poly-lactic-co-glycolic acid composites. *Nanotechnology*, 16: 601–608.
- [138] Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J. 2006. Increased osteoblast functions among nanophase titania/poly(lactide-co-glycolide) composites of the highest nanometer surface roughness. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 78A(4): 798–807.
- [139] Webster, T.J., Waid, M.C., McKenzie, J.L. et al. 2004. Nano-biotechnology: Carbon nanofibres as improved neural and orthopaedic implants. *Nanotechnology*, 15: 48–54.
- [140] Price, R.L., Haberstroh, K.M., and Webster, T.J. 2002. Increased adhesion on carbon nanofibers/polymer composite materials, Proceedings of the Second Joint EMBS/BMES Conference, Houston, TX, 625–626.
- [141] Price, R.L., Waid, M.C., Haberstroh, K.M. et al. 2003. Selective bone cell adhesion on formulations containing carbon nanofibers. *Biomaterials*, 24(11): 1877–1887.
- [142] McKenzie, J.L., Waid, M.C., Shi, R. et al. 2004. Decreased functions of astrocyte on carbon nanofiber materials. *Biomaterials*, 25(7–8): 1309–1317.
- [143] Murugan, R. and Ramakrishna, S. 2005. Development of nanocomposites for bone grafting. *Composites Science and Technology*, 65(15–16): 2385–2406.
- [144] Du, C., Cui, F.Z., Zhu, X.D. et al. 1999. Three-dimensional nano-HAp/collagen matrix loading with osteogenic cells in organ culture. *Journal of Biomedical Materials Research*, 44(4): 407–415.
- [145] Du, C., Cui, F.Z., Feng, Q.L. et al. 1998. Tissue response to nano-hydroxyapatite/collagen composite implants in marrow cavity. *Journal of Biomedical Materials Research*, 42(4): 540–548.
- [146] Liao, S.S., Cui, F.Z., Zhang, W. et al. 2004. Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: Nano-HA/collagen/PLA composite. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 69B(2): 158–165.
- [147] Liao, S.S., Cui, F.Z., and Zhu, Y. 2004. Osteoblasts adherence and migration through three dimensional porous mineralized collagen based composite: nHAC/PLA. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 19(2): 117–130.
- [148] Wei, G. and Ma, P.X. 2004. Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 25(19): 4749–4757.
- [149] Piconi, C. and Maccauro, G. 1999. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*, 20(1): 1–25.
- [150] Evis, Z., Sato, M., and Webster, T.J. 2006. Increased osteoblast adhesion on nanograined hydroxyapatite and partially stabilized zirconia composites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 78A(3): 500–507.
- [151] Kong, Y.M.K., Bae, C.J., Lee, S.H. et al. 2005. Improvement in biocompatibility of ZrO<sub>2</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocomposite by addition of HA. *Biomaterials*, 26(5): 509–517.
- [152] Elias, K.L., Price, R.L., and Webster, T.J. 2002. Enhanced functions of osteoblasts on nanometer diameter carbon fibers. *Biomaterials*, 23(15): 3279–3287.

- [153] Khang, D., Sato, M., Price, R.L. et al. 2006. Selective adhesion and mineral deposition by osteoblasts on carbon nanofibers patterns. *International Journal of Nanomedicine*, 1(1): 65–72.
- [154] Khang, D., Sato, M., and Webster, T.J. 2005. Directed osteoblast functions on micro-aligned patterns of carbon nanofibers on a polymer matrix. *Advanced Materials Science*, 3(10): 205–208.
- [155] Aoki, N., Yokoyama, A., Nodasaka, Y. et al. 2006. Strikingly extended morphology of cells grown on carbon nanotubes. *Chemistry Letters*, 25(5): 508–509.
- [156] Zanello, L.P. 2006. Electrical properties of osteoblasts cultured on carbon nanotubes. *Micro & Nano Letters*, 1(1): 19–22.
- [157] Tsuchiya, N., Sato, Y., Aoki, N. et al. 2007. Evaluation of multi-walled carbon nanotube scaffolds for osteoblast growth. *AIP Conference Proceedings*, 4th International Workshop on Water Dynamics, 898: 166–169.
- [158] George, J.H., Shaffer, M.S., and Stevens, M.M. 2006. Investigating the cellular response to nanofibrous materials by use of a multi-walled carbon nanotube model. *Journal of Experimental Nanoscience*, 1(1): 1–12.
- [159] Zanello, L.P., Zhao, B., Hu, H. et al. 2006. Bone cell proliferation on carbon nanotubes. *Nanoletters*, 6(3): 562–567.
- [160] Price, R.L., Ellison, K., Haberstroh, K.M. et al. 2004. Nanometer surface roughness increases select osteoblast adhesion on carbon nanofibers compacts. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 70A(1): 129–138.
- [161] Sato, M. and Webster, T.J. 2004. Nanobiotechnology: Implications for the future of nanotechnology in orthopedic applications. *Expert Review of Medical Devices*, 1(1): 105–114.
- [162] Wiesmann, H.P., Hartig, M., Stratmann, U. et al. 2001. Electrical stimulation influences mineral formation of osteoblast-like cells in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta—Molecular Cell Research*, 1538(1): 28–37.
- [163] Supronowicz, P.R., Ajayan, P.M., Ullmann, K.R. et al. 2001. Novel current-conducting composite substrates for exposing osteoblasts to alternating current stimulation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 59(3): 499–506.
- [164] Thomas, J.B., Peppas, N.A., Sato, M. et al. 2006. Nanotechnology and biomaterials. In: *CRC Nanomaterials Handbook*, ed. Gogotsi, Y., pp. 605–636, Boca Raton, CRC Press.
- [165] Chun, A.L., Moralez, J.G., Webster, T.J. et al. 2005. Helical rosette nanotubes: A biomimetic coating for orthopedics? *Biomaterials*, 26(35): 7304–7309.
- [166] Chun, A.L., Moralez, J.G., Fenniri, H. et al. 2004. Helical rosette nanotubes: A more effective orthopaedic implant material. *Nanotechnology*, 15: 234–239.