

تأثیر عملیات اسیدی دو مرحله‌ای بر رفتار سطح و بهبود زیست‌فعالی آلیاژ نایتینول

مردعلی یوسف‌پور*#، امیر زارعی‌دوست**

* دانشیار گروه مهندسی مواد، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
 ** دانشجوی دکتری مهندسی مواد، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
 تاریخ ارائه مقاله: ۹۴/۹/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۲۳

Evaluation of the effect of Two-Step Acid Etching on the Surface Treatment and Improved Bioactivity of Nitinol

Mardali Yousefpour*#, Amir Zareidoost**

* Associate Professor of Materials Engineering, Faculty of Materials & Metallurgical Engineering, Semnan University, Semnan, Iran.

** Ph.D Student in Materials Engineering, Faculty of Materials & Metallurgical Engineering, Semnan University, Semnan, Iran.

Received: 8 December 2015 ; Accepted: 13 July 2016

Introduction: Surface properties, including morphology, submicron and chemical morphology, are important factors affecting the quality and biological responses at the contact location of tissue with the implant material. This could significantly affect the healing process of bones.

Materials & Methods: In this laboratory study, morphology and biocompatibility of polished mechanical nitinol (NiTi) shape memory alloys surfaces treated with mixed solution of three acids (HCl-HF-H₃PO₄) were evaluated. In the next stage, further chemical treatment was conducted in solution of HNO₃ and HCl with ratio of 1:1 Vol.% at room temperature and the results were assessed. Seventy-five samples were selected for chemical modification of the surface, biological evaluation and surface roughness; furthermore, nine samples were selected as control. Scanning the Electron Microscope (SEM), atomic force microscope (AFM) and inspection of Nitinol surface roughness (NiTi) were carried out to evaluate the surface. In addition, MG-63 cell was cultured on different nitinol surfaces to assess cell adhesion, growth and proliferation. Data analysis was performed using t-test and one-way ANOVA.

Results: The obtained results indicated that HNO₃ and HCl treatment produced significantly higher roughness compared to (HCl-HF-H₃PO₄) treatment and untreated surfaces. Moreover, evaluation of cell culture revealed significantly higher amounts of cell adhesion, growth and proliferation in two-stage modified nitinol surfaces, compared to the groups modified with triple acid solution and unmodified surfaces.

Conclusion: According to the results, not only chemical surface modification of nitinol changed the surface morphology and created submicron roughness, but it also led to altered chemistry of the surface. This could increase bone-bonding ability in implant and decrease the toxic effects of nickel in the body.

Key words: Nitinol alloy, chemical surface modification, cell culture, acid etching.

Corresponding Author: myousefpor@semnan.ac.ir

J Mash Dent Sch 2016; 40(3): 281-96.

چکیده

مقدمه: ویژگی‌های سطح شامل ریخت‌شناسی، ریخت‌شناسی زیر میکرون و شیمی سطح از عوامل مهمی هستند که کیفیت و نحوه پاسخ‌های بیولوژیکی در محل تماس بافت با ماده کاشتنی را تحت تأثیر قرار داده و این موضوع می‌تواند بر روی فرآیند التیام استخوان تأثیر گذار واقع شود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، ریخت‌شناسی و زیست‌سازگاری سطوح آلیاژ حافظه‌دار نایتینول صیقل‌کاری مکانیکی شده و اصلاح شده با محلول شیمیایی متشکل از سه نوع اسید (HCl-HF-H₃PO₄) و سپس عملیات شیمیایی در محلول (HCl و HNO₃) با نسبت حجمی ۱:۱ و در درجه حرارت محیط بررسی شده است. تعداد ۷۵ نمونه جهت اصلاح شیمیایی سطح، ارزیابی‌های بیولوژیکی و زبری سطوح و همچنین ۹ نمونه به عنوان شاهد استفاده گردید. به منظور تحلیل و بررسی سطوح، ارزیابی‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و زبری‌سنجی از سطوح آلیاژ نایتینول (NiTi) به عمل آمد. به‌علاوه، سلول MG-63 بر روی سطوح مختلف

مولف مسؤول، نشانی: سمنان، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، تلفن: ۰۹۱۲۷۳۲۴۳۱۳

E-mail: myousefpor@semnan.ac.ir

آلیاژ نایتینول برای ارزیابی چسبندگی و رشد و تکثیر سلولی کشت گردید. داده‌ها با استفاده از تست‌های آماری t -test و آنالیز واریانس یک طرفه، آنالیز گردید.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که عملیات اصلاح شیمیایی سطح با محلول اسیدی دو مرحله‌ای، زبری بالاتری در مقایسه با سطوح اصلاح نشده و عملیات اصلاح شیمیایی سطح با محلول اسیدی تنها با محلول متشکل از (HCl-HF-H₃PO₄) داشته است. همچنین ارزیابی‌های کشت سلولی مشخص نمود که سطوح نایتینول اصلاح شده دو مرحله‌ای، میزان چسبندگی سلولی و رشد و تکثیر قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه‌های اصلاح شده با محلول اسیدی سه‌تایی و سطوح اصلاح نشده، نشان داده است.

نتیجه‌گیری: روش اصلاح شیمیایی سطح در مورد آلیاژ نایتینول می‌تواند علاوه بر تغییر ریخت‌شناسی سطح و ایجاد زبری‌های در مقیاس زیرمیکرونی باعث تغییر شیمی سطح شود. این موضوع می‌تواند قابلیت پیوند بافت ایمپلنت را افزایش داده و از تأثیر سمی عنصر نیکل بکاهد.

کلمات کلیدی: آلیاژ نایتینول، اصلاح شیمیایی سطح، کشت سلولی، حکاکی اسیدی.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ۴۰ / شماره ۳: ۹۶-۲۸۱.

مقدمه

خود را دارند و از این منظر، زیست فعال تلقی می‌شوند.^(۱و۲)

همچنین عملیات قلیایی در زیست فعال نمودن سطح زیست مواد دیگر مانند تانتالیم نیز موثر پیشنهاد شده است. همچنین پیشنهاد شده است که اصلاح سطح تیتانیم با اچ اسیدی می‌تواند تأثیر مثبت بر روی یکپارچگی کاشتنی‌ها در استخوان داشته باشد.^(۷-۹) در یک مطالعه، رفتار استخوان به سطح زیست ماده (که سطح آن ماشین‌کاری شده و سپس با استفاده از محلول HCl-H₂SO₄ اصلاح شیمیایی سطح با محلول اسیدی شده است) نشان از افزایش قابلیت زیست سازگاری در کاشتنی دارد.^(۹) در این راستا، مطالعه قبلی نویسندگان مقاله که تأثیر محلول اسیدی سه‌تایی (HCl-HF-H₃PO₄) بر روی سطح کاشتنی تیتانیم خالص تجارتي بوده است، نیز موید این مطلب هست.^(۷) اما در مورد آلیاژهای نایتینول در بعضی شرایط، حضور عنصر نیکل بالا در آلیاژ برای زیست سازگاری آن‌ها مشکل ساز است.^(۱۰و۱۱) عنصر نیکل در ایجاد رفتارهای آلرژیک و سمیت‌های کلینیکی موثر است.^(۱۲) چندین پژوهشگر گزارش نموده‌اند که اگر یون‌های نیکل از سطح آلیاژ در تماس با سیال بیولوژیکی بدن آزاد شود این امر می‌تواند مشکل جدی برای بافت اطراف ماده کاشتنی ایجاد نماید.^(۱۳و۱۴) به‌علاوه، گزارش

آلیاژهای نایتینول با درصد اتمی برابر از نیکل و تیتانیم، به عنوان کاشتنی فلزی در ارتوپدی قابل کاربرد هستند؛ این موضوع به دلیل خواص فوق کشسانی و مقاومت به خوردگی آن‌ها است.^(۱-۳) با وجود استفاده کلینیکی رضایت‌بخش از آلیاژهای نایتینول در بعضی شرایط، حضور نیکل بالا در آلیاژ برای زیست‌سازگاری آن‌ها بسیار نگران‌کننده است.^(۴-۶) زیست فعالی در آلیاژهای نایتینول را می‌توان با روش‌های مختلفی مانند پاشش پلاسمایی، عملیات گرمایی، رسوب دادن به کمک پرتو یونی، روش سل-ژل و عملیات شیمیایی ساده برای آماده سازی سطح مانند استفاده از محلول‌های قلیایی (هیدروکسید سدیم) و یا اصلاح شیمیایی سطح با محلول اسیدی و همچنین عملیات اکسیداسیون با محلول پراکسید هیدروژن (H₂O₂) ایجاد نمود.^(۱۵-۱۸و۱۹) عملیات قلیایی لایه تیتانات سدیم بر روی سطح تیتانیم تولید می‌نماید؛^(۱۰-۱۲و۱۱-۲) در حالی که عملیات با پراکسید هیدروژن تشکیل لایه ژلی از تیتانیا بر روی سطح می‌دهد.^(۱) این موضوع در حالی است که هر دو لایه تیتانات سدیم و ژلی تیتانیا توانایی ایجاد رسوب آپاتیت شبه استخوانی در محیط آزمایشگاهی و کلینیکی بر روی

هیدروکسید سدیم (NaOH) و ۵۰ درصد حجمی اسید نیتریک (HNO_3) در محفظه التراسونیک (ATSmall, Iran) که دارای فرکانس ۴۰ هرتز (توان ۲۴۰ وات) و تایمر مکانیکی (گرمکن ۲۰۰ وات) به مدت ۱۵ دقیقه بود، شستشو داده شدند. سپس با تخلیه محلول شستشو، مجدداً نمونه‌ها با آب مقطر در محفظه اولتراسونیک شستشو داده شده و نهایتاً در درجه حرارت محیط در الکل اتانول ۷۰ درصد حجمی نگهداری شدند.^(۷)

نمونه‌های آلیاژ حافظه‌دار تمیز شده مطابق جدول ۱، در محلول‌های اسیدی قرار گرفتند و عملیات اصلاح سطح به روش شیمیایی بر روی آن‌ها انجام شد. لازم به ذکر است، انتخاب نوع اسید و شرایط محلول اسیدی به مطالعه قبلی نویسندگان مقاله در زمینه اصلاح سطوح زیست مواد بر می‌گردد.^(۶-۸)

هر کدام از محلول‌های اسیدی فوق به حجم ۱۰ سی‌سی در بشرهای پلاستیکی تهیه شدند و به مدت یک روز نگهداری گردیدند. سپس تعداد ۹ عدد نمونه نایتینول برای هر کدام از عملیات‌های اصلاح شیمیایی سطح انتخاب شدند و همچنین ۹ نمونه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس نمونه‌های نایتینول در هر کدام از محلول‌های اسیدی، به مدت زمان ۱۰ دقیقه برای عملیات اصلاح شیمیایی سطح و ۲۰ ساعت برای عملیات شیمیایی (به همراه مقدار بسیار کم از نمک سدیم کلراید برای ایجاد ترکیبات کمپلکس و تسریع واکنش خوردگی در سطح آلیاژ حاوی نیکل) در درجه حرارت محیط قرار گرفتند. بعد از انجام عملیات شیمیایی سطح، نمونه‌ها از محلول‌های با غلظت مشخص خارج شده و بلافاصله با آب مقطر و بعد با استون در محفظه التراسونیک شستشو داده شدند و بعد با استفاده از خشک‌کن الکتریکی، سطح نمونه‌ها در هوای معمولی خشک شد و سپس نمونه‌ها در

شده است که اصلاح سطح آلیاژ با استفاده از عملیات شیمیایی سطح می‌تواند از آزاد شدن عنصر نیکل به واسطه تشکیل یک لایه همگن و پایدار از اکسیدهای تیتانیم جلوگیری نماید؛ که نتیجه حاصل در بهبود قابلیت زیست سازگاری ماده بسیار موثر است.^(۱۲و۲) همچنین در یک مطالعه برای ایجاد خاصیت زیست فعالی در سطح، از اسیدکلریدریک و پراکسید هیدروژن استفاده گردیده است.^(۱۶) در نهایت سیر تحقیقاتی در این زمینه نشان می‌دهد که اهداف دنبال شده برای اصلاح و ارتقاء زیست‌سازگاری سطح نایتینول است.^(۱۴-۱۰) لذا، هدف از این پژوهش، بررسی رفتار سطح آلیاژ نایتینول در حضور محلول‌های اسیدی قوی و به دنبال آن تأثیر این عملیات بر افزایش قابلیت زیست سازگاری سطح این آلیاژ است. به علاوه، در این تحقیق از یک ایده جدید برای حضور کلسیم در سطح آلیاژ که به عنوان یک روش تقلید زیستی نیز مطرح است، استفاده شده است.^(۱۱و۸-۶)

مواد و روش‌ها

روش به کار رفته در این تحقیق از نوع آزمایشگاهی بود. نمونه‌های آلیاژ نایتینول (۵/۵ درصد اتمی نیکل) به صورت دیسکی شکل با قطر ۵ mm و ضخامت ۱ mm به تعداد ۷۵ نمونه برای اصلاح شیمیایی سطح، ارزیابی‌های بیولوژیکی و زبری سطوح و همچنین ۹ نمونه به عنوان شاهد انتخاب شدند. سپس سطح نمونه‌ها با استفاده از سنباده‌های با شماره‌های به ترتیب ۲۸۰، ۳۲۰، ۵۰۰، ۶۰۰ مورد عملیات صیقل‌کاری مکانیکی قرار گرفتند.^(۶) پس از انجام عملیات صیقل‌کاری مکانیکی برای حذف آلودگی‌های سطحی و بدست آوردن یک سطح تمیز برای انجام عملیات اصلاح سطح، نمونه‌ها در یک محفظه اولتراسونیک شستشو داده شدند. در این راستا، نمونه‌های صیقل‌کاری مکانیکی شده با ۴۰ درصد حجمی

بقاء سلول‌ها به کار می‌رود که استفاده از نمک زرد رنگ تترازولیوم است که این نمک بوسیله سلول‌ها جذب و سبب تشکیل کریستال‌های بنفش رنگ نامحلول فرمازان می‌گردد. در واقع این روش، براساس فعالیت آنزیم میتوکندریال سلولی استوار است. براین اساس، برای بررسی میزان رشد و تکثیر سلول بر روی سطح نمونه‌های تیتانیم دو زمان ۳ و ۶ روز در نظر گرفته شد. به علاوه، از تعداد $10^4 \frac{\text{Cell}}{\text{cm}^2}$ بر روی سطح نمونه‌های نایتینول استفاده گردید. لذا، با توجه به تکرار آزمایش‌ها تا ۳ مرتبه و زمان‌های ذکر شده در بالا تعداد ۶ پیلت ۹۶ حفره‌ای انتخاب شد که در هر کدام از آن‌ها یک دسته از گروه‌های انتخابی A تا D قرار داشت. برای تهیه محلول MTT با غلظت $5 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}$ ، ۵۰ mg از پودر MTT در ۱۰ mg از PBS، ۰/۱۵ مولار حل شد و هنگام استفاده در رنگ آمیزی ۱۰ برابر با PBS رقیق گردید تا محلول $0/5 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}$ MTT به دست آید.

دسیکاتور قرار گرفتند تا بررسی‌های لازم بر روی سطح آنها، صورت گیرد.

به‌منظور بررسی مورفولوژی سطح نمونه‌ها، تحلیل میکروسکوپ الکترونی روشی (Vega\Tescan, Sem) با ولتاژ ۲۰ کیلوولت انجام گردید. به‌علاوه، برای بررسی ریخت‌شناسی و زبری سطح، از میکروسکوپ نیروی اتمی (Auto Probe, Scientific Park Instruments, Usa, Afm) استفاده شد.

سلول استخوان‌ساز (MG-63) با استفاده از محیط کشت (DMEM, GIBCO, Scotland) و افزودن ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FCS, Seromed, Germany) به همراه آنتی‌بیوتیک به میزان $100 \frac{\text{IU}}{\text{ml}}$ پنی سیلین و $100 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ استرپتومایسین (Sigma, USA) تکثیر گردید تا سلول برای دو نوع ارزیابی بررسی چسبندگی و رشد و تکثیر سلولی آماده شود: (۹۱۹)

به منظور ارزیابی میزان رشد و تکثیر سلولی از روش MTT استفاده گردید. (۹) روش MTT معمولاً برای بررسی

جدول ۱: شرایط عملیات اصلاح شیمیایی سطح بر روی گروه‌های آلیاژ حافظه‌دار

نمونه	شرایط محلول اسیدی	عملیات شیمیایی
A(Control)	-	-
B	۸۰ درصد اسید کلریدریک-۱۰ درصد اسید فلئوئوریدریک-۱۰ درصد اسید فسفریک (۱۰ دقیقه، دمای محیط)	بدون عملیات شیمیایی
C	۸۰ درصد اسید کلریدریک-۱۰ درصد اسید فلئوئوریدریک-۱۰ درصد اسید فسفریک (۱۰ دقیقه، دمای محیط)	اسید نیتریک ۵۶ درصد، (۲۰ ساعت، در دمای محیط)
D	۸۰ درصد اسید کلریدریک-۱۰ درصد اسید فلئوئوریدریک-۱۰ درصد اسید فسفریک- ۱/۷ گرم کلسیم فلوراید (۱۰ دقیقه، دمای محیط)	بدون عملیات شیمیایی
E	۸۰ درصد اسید کلریدریک-۱۰ درصد اسید فلئوئوریدریک-۱۰ درصد اسید فسفریک- ۱/۷ گرم کلسیم فلوراید (۱۰ دقیقه، دمای محیط)	اسید نیتریک ۵۶ درصد+اسید کلریدریک ۳۷ درصد به نسبت حجمی (۱:۱)، (۲۰ ساعت، در دمای محیط)

استفاده شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در شکل ۱، تصویر میکروسکوپ الکترونی از سطح نایتینول صیقل‌کاری مکانیکی شده، آمده است. با بررسی این شکل، مشاهده می‌شود که سطح دارای خطوط شیاردار و موازی است. (شکل ۱-a). وقتی که، سطح آلیاژ حافظه‌دار صیقل‌کاری مکانیکی شده، در محلول ۸۰ درصد اسیدکلریدریک، ۱۰ درصد اسیدفلوئوریدریک، ۱۰ درصد اسیدفسفریک به مدت ۱۰ دقیقه و در درجه حرارت محیط قرار می‌گیرد، این محلول اسیدی تأثیر چندانی در ایجاد و بروز تخلخل‌های سطحی بر روی آلیاژ ندارد (شکل ۱-b).

همچنین در تصویر، شیاری‌های ناشی از صیقل‌کاری مکانیکی و کندگی‌های سطحی ناشی از خوردگی اسید به چشم می‌خورد. لذا، این محلول اسیدی با شرایط ذکر شده در بالا، قابلیت ایجاد حفرات با ابعاد میکرون را بر روی سطح نمی‌تواند داشته باشد. شکل ۱-c، سطح آلیاژ حافظه‌دار را پس از قرار گرفتن در محلول مربوط به گروه C نشان می‌دهد. همچنین حفرات ایجاد شده، تقریباً به شکل منظم بوده و از شکل هندسی کروی (تخلخل‌های کروی شکل) پیروی می‌کنند. نتایج مربوط به قرارگرفتن نایتینول در محلول اسیدی سه‌تایی به همراه عامل ایجاد کننده گروه‌های زیستی بر روی سطح (کلسیم فلوراید)، در شکل ۱-d آمده است که حفرات سطحی با اندازه کوچکتر نسبت به عملیات شیمیایی با اسیدنیتریک را نشان می‌دهد. به علاوه، در بعضی از نواحی، سطح تحت تأثیر محلول اسیدی قرار نگرفته است. در نتیجه، بافت سطحی مرجع ایجاد نشده است. شکل ۱-e، عملیات اصلاح سطح آلیاژ نایتینول را تحت شرایط ۸۰ درصد اسیدکلریدریک، ۱۰ درصد اسیدفلوئوریدریک، ۱۰ درصد

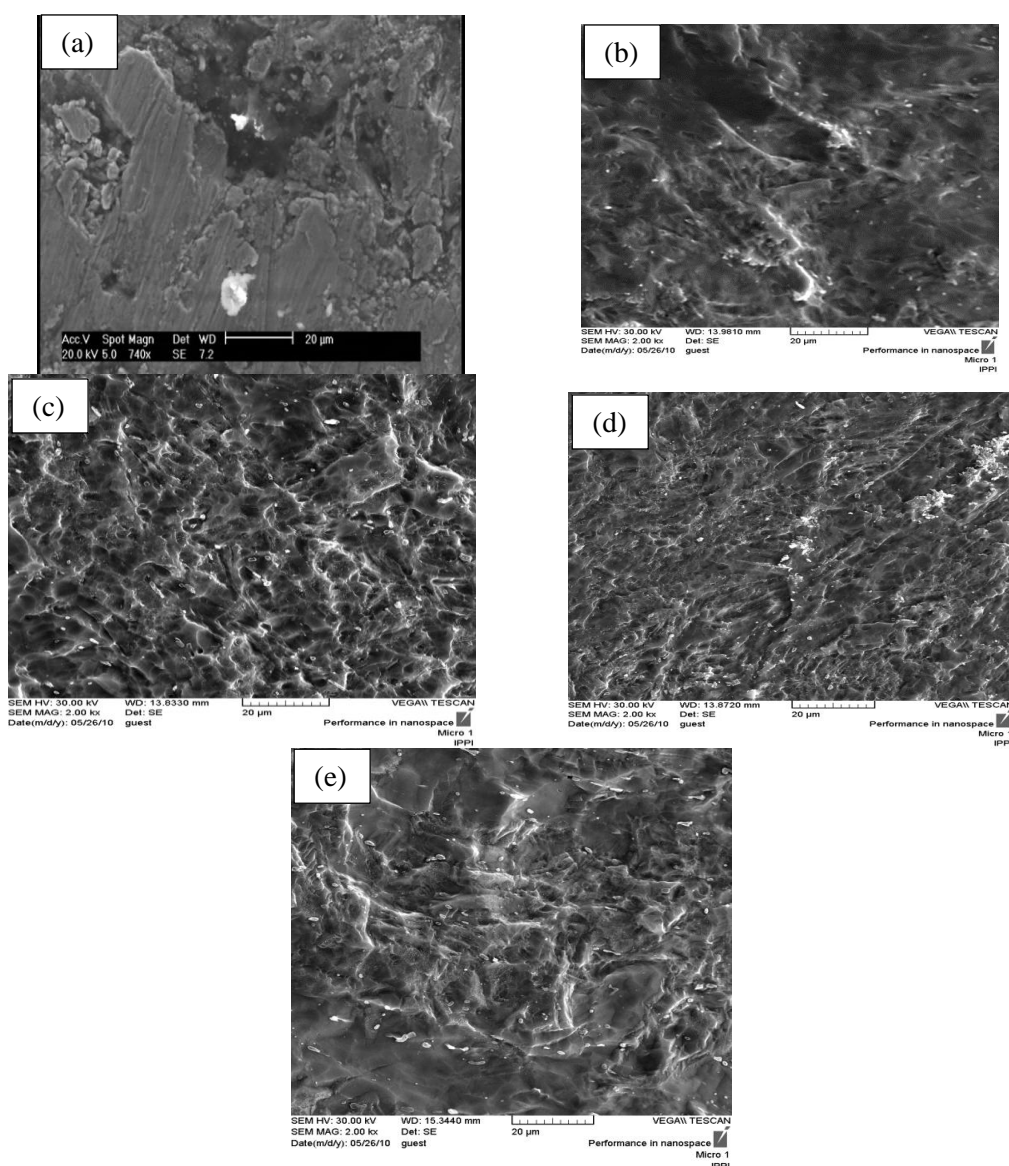
لازم به ذکر است که پس از تهیه PBS، محلول اتوکلاو گردید. پس از انکوباسیون سلول‌های MG-63 بر روی سطوح در فواصل زمانی ۳ و ۶ روز، پلیتهایی که در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه شده بودند با محلول $0/5 \frac{mg}{ml}$ MTT رنگ آمیزی شدند. پس از ۳ تا ۵ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مایع رویی سلول‌ها برداشته شد و به جای آن ۲۰۰ میکرولیتر محلول ایزوپروپانال (Merck, Germany) به حفره‌های مربوطه اضافه شد. پلیتهای مربوطه به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه روی شیکر قرار گرفت. سپس پلیتهای مربوط توسط یک میکروتیتور ریدر در ۵۷۰ نانومتر قرائت شد.^(۸)

برای آزمون چسبندگی سلولی، روش تریپان بلو استفاده شد. در این روش، غشاء سلول‌های زنده اجازه ورود رنگ‌های غیر الکترولیت را به درون سلول نمی‌دهند، اما سلول‌های مرده به خوبی رنگ می‌گیرند. با افزودن محلول تریپان بلو به PBS ۰/۱۵ مولار و سپس قرار دادن بر روی سطوح کشت داده شده درون چاهک‌های پلیت، سلول‌های مرده رنگ گرفته و از سلول‌های زنده (بی‌رنگ) قابل تمایز هستند. سپس با کمک یک هیستومتر (لام نئوبار) تعداد سلول‌های رنگ گرفته (مرده) و تعداد سلول‌های زنده (بدون رنگ) تعیین می‌شوند.^(۸) به منظور آزمون چسبندگی سلول، تعداد ۶۰۰۰ سلول بر روی سطح هر نمونه قرار گرفت (به منظور رسیدن به مقدار مورد نظر برای کشت ظرف کشت در انکوباتور قرار داده شد) و به مدت ۱۶ ساعت بر روی سطح نمونه‌های نایتینول کشت داده شد.

برای تحلیل نتایج حاصل از زبری سطح و ارزیابی‌های زیستی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی

خورندگی بالای محلول اسیدی است، مشخص است. همچنین انرژی سطح، تحت این شرایط بسیار بالا است؛ به طوری که ریزحفره‌های ایجاد شده تحت اثر محلول اسیدی سه‌تائی با عملیات سطحی بعدی از بین رفته و سطح صاف شده است.

اسید فسفریک، ۱/۷ گرم کلسیم فلوراید (۱۰ دقیقه، دمای محیط) و سپس عملیات شیمیایی با محلول متشکل از اسید نیتریک ۵۶ درصد، اسید کلریدریک ۳۷ درصد به نسبت حجمی ۱:۱ (۲۰ ساعت، در دمای محیط)، نشان می‌دهد. با بررسی این شکل وجود چین خوردگی و از بین رفتن لایه‌های سطحی آلیاژ نایتینول که ناشی از قابلیت



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نایتینول صیقل کاری مکانیکی شده و اصلاح شده با (a): عملیات A, (b) عملیات B,

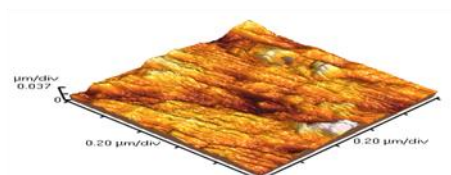
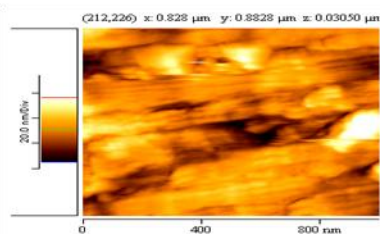
(c): عملیات C, (d) عملیات D, (e) عملیات E.

محلول اسیدی سه‌تائی به همراه عامل ایجاد کننده گروه‌های زیستی بر روی سطح (کلسیم فلوراید)، نشان می‌دهد. تصویر AFM مربوط به این عملیات نشان می‌دهد که محلول اسیدی تمرکز خوردگی شدیدی در نواحی داخل حفره‌های سطحی داشته است؛ به طوری که حفرات بسیار ریزی در کمتر از مقیاس میکرونی بر روی سطح ایجاد شده است. لازم به ذکر است که وجود فلوراید کلسیم پتانسیل خوردگی محلول اسیدی سه‌تائی را تحت تأثیر قرار داده است. همچنین حفرات ایجاد شده در اندازه کوچکتری نسبت به عملیات شیمیایی با اسیدنیتريك (شکل (c-۲))، حاصل شده‌اند. اما این موضوع نشان می‌دهد که در بعضی از نواحی، سطح تحت تأثیر محلول اسیدی قرار نگرفته است. شکل (e-۲)، تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی از سطح آلیاژ نایتینول را پس از اصلاح سطح تحت شرایط ۸۰ درصد اسیدکلریدریک، ۱۰ درصد اسیدفلوئوریدریک، ۱۰ درصد اسیدفسفریک، ۱/۷ گرم کلسیم فلوراید (۱۰ دقیقه، دمای محیط) و سپس عملیات شیمیایی با محلول متشکل از اسیدنیتريك ۵۶ درصد، اسیدکلریدریک ۳۷ درصد به نسبت حجمی ۱:۱ (۲۰ ساعت، در دمای محیط)، نشان می‌دهد. این شکل وجود چین خوردگی و از بین رفتن لایه‌های سطحی که می‌تواند در اثر قابلیت بالای خوردگی محلول اسیدی باشد، آشکار می‌کند. این موضوع در مورد تصویر میکروسکوپ الکترونی نیز مشخص بود. پستی و بلندی‌های سطح در این شرایط بسیار بالا بوده و تمام نقاط سطح آلیاژ تحت تأثیر واقع شده است. همچنین تأثیر اسیدکلریدریک در مرحله عملیات شیمیایی توانسته است که شرایط خوردگی سطح را تغییر دهد. بافت سطح از نظر وجود حفره‌ها به شکل نیم‌کره و هم اندازه ضعیف

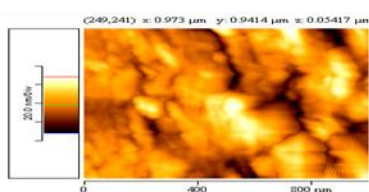
به منظور مطالعه بیشتر، علاوه بر میکروسکوپ الکترونی رویشی با استفاده از آنالیز میکروسکوپ نیروی اتمی^۱ AFM مورفولوژی سطح مورد ارزیابی قرار گرفت و در این حالت Ra و R.M.S که نشان دهنده زبری سطح هستند با استفاده از این آنالیز محاسبه شدند. شکل (a-e۲)، تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی از ریخت-شناسی سطح آلیاژ حافظه‌دار نایتینول پولیش و اصلاح سطح شده در دو حالت دو بعدی و سه بعدی نشان می‌دهد. با بررسی شکل (۲-a) مشاهده می‌شود، که سطح آلیاژ نایتینول حاوی خطوط و شیارهایی موازی شکل ناشی از انجام عملیات صیقل‌کاری مکانیکی است. به علاوه، این تصویر نشان می‌دهد اجرای عملیات صیقل-کاری مکانیکی، سطحی با حداقل زبری و فرورفتگی و برجستگی در مقیاس میکرون ایجاد می‌نماید. در مقابل، اجرای این عملیات می‌تواند سطح را در برخی نواحی دچار کندگی‌های موضعی در کمتر از مقیاس میکرونی نماید. تصویر AFM مربوط به سطح آلیاژ نایتینول پس از قرار گرفتن در محلول اسیدی ۸۰ درصد اسیدکلریدریک، ۱۰ درصد اسیدفلوئوریدریک، ۱۰ درصد اسیدفسفریک، در شکل (b-۲) معلوم است. بررسی شکل (b-۲) نشان می‌دهد، ریخت‌شناسی سطح با انجام عملیات شیمیایی اسیدی دچار تأثیر چندانی نشده است. همچنین خطوط و شیارهای ناشی از عملیات پرداخت سطحی در مرحله قبل از بین رفته و تخلخل‌های نامنظم سطحی به صورت محدود ایجاد شده که این امر در تصویر به‌خوبی روشن است. با مشاهده شکل (c-۲)، سطح تحت تأثیر قرار گرفته و بر روی سطح فرورفتگی و برآمدگی ایجاد شده است. این عامل، زبری سطح را افزایش داده است. شکل (d-۲)، نتایج مربوط به ریخت‌شناسی سطح آلیاژ نایتینول را در

1. Atomic force microscope (AFM)

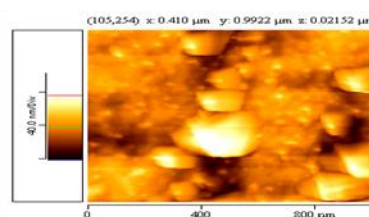
می‌باشد. مورفولوژی ترکیبی از حفره‌هایی بسیار ریز و سطوح لایه برداری شده با پستی و بلندی بالا است.



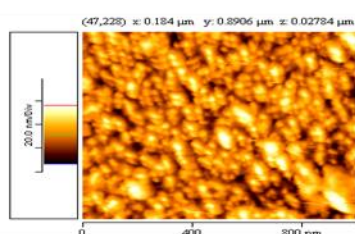
(a)



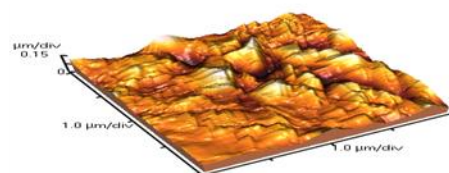
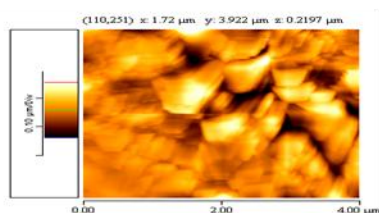
(b)



(c)



(d)



(e)

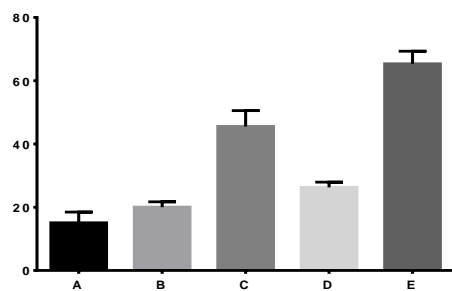
شکل ۲: تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی از سطح نایتینول صیقل کاری شده و اصلاح شده با (a): عملیات A، (b) عملیات B، (c) عملیات C، (d) عملیات D، (e) عملیات E.

گروه C پس از گروه E بالاتر از بقیه گروه‌های دیگر عملیات سطحی بوده است. سطح آلیاژ نایتینول صیقل-کاری شده دارای حداقل زبری بود. این امر برای عملیات اصلاح سطح با گروه B نیز صادق است.

نتایج حاصل از رشد و تکثیر سلول در روز سوم (نمودار ۴-ا) نشان می‌دهد، دو نمونه‌ی E و D تفاوت معنی‌داری با گروه نیکل-تیتانیم کنترل داشته‌اند ($n=3$) و اما، غیر از دو گروه ذکر شده، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دیگر مشاهده نشده است. اما، پس از شش روز کشت، میزان رشد و تکثیر سلولی بر روی سطوح آلیاژ حافظه‌دار نایتینول اصلاح شیمیایی شده اختلاف قابل ملاحظه‌ای را با سطح اصلاح نشده نشان داد.

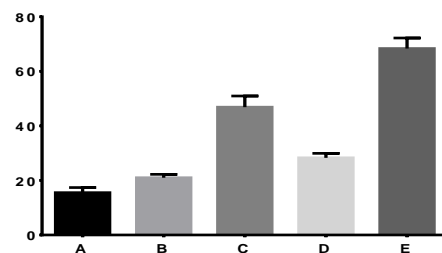
نمودار ۳-(a-b)، مقادیر میانگین زبری سطح (Ra) و میزان زبری سطح (R.M.S) از سطوح آلیاژ حافظه‌دار صیقل‌کاری مکانیکی شده و اصلاح شیمیایی شده را نشان می‌دهد. در این راستا، بالاترین زبری سطح مربوط به عملیات سطحی مربوط به اجرای عملیات E است. همان‌طور که از تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی مشخص است، مورفولوژی سطح آلیاژ حافظه‌دار نایتینول با اجرای عملیات E به شکل به هم پیچیده بوده است. به علاوه، ارتفاع پستی و بلندی‌های سطح نیز در این حالت بالاتر از سایر گروه‌های دیگر (A-D) می‌باشد. گروه C که دارای تخلخل‌های منظم بوده (شکل ۲-c) و از اسیدنیتریک برای عملیات شیمیایی بعدی استفاده گردیده، زبری سطح کمتری نسبت به گروه E داشته است. اما، زبری سطح

(R_a, nm)



(a)

(R.M.S, nm)

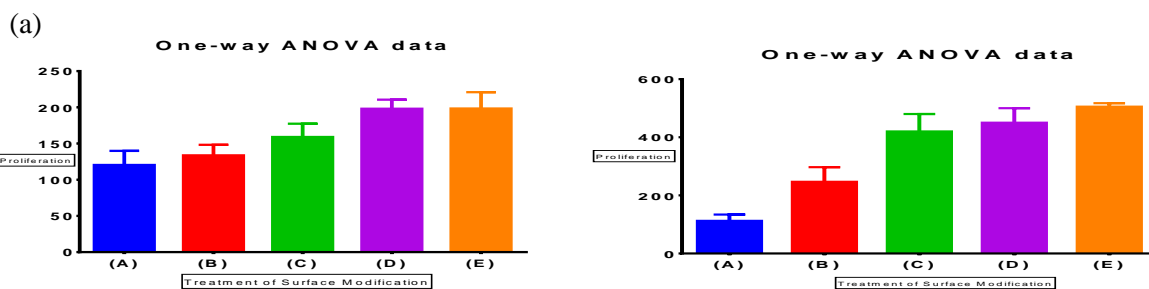


(b)

نمودار ۳: مقادیر زبری سطح (a): متوسط زبری سطح (Ra) و (b) میزان زبری سطح (R.M.S) از سطوح نایتینول صیقل‌کاری مکانیکی شده و اصلاح شیمیایی شده؛ (همه داده‌ها بر حسب $\text{mean} \pm \text{Standard Error}$ ($n = 3$) گزارش شده‌اند).

کنترل در روز ششم نسبت به روز سوم کاهش رشد و تکثیر سلولی را بر روی سطح خود داشته است و سلول‌های استخوان ساز نتوانسته‌اند بر روی سطح رشد و تکثیر یابند. این امر در حالی است که تمام سطوح اصلاح شده افزایش رشد و تکثیر را با افزایش زمان نشان می‌دهند. غیر از دو نمونه‌ی E و D که در روز سوم و ششم بالاترین میزان رشد و تکثیر را داشتند، نمونه C در روز ششم نسبت به روز سوم افزایش بیشتری در رشد و تکثیر سلولی بر روی سطح خود نشان داد. به‌علاوه، برای دو متغیر میزان زبری سطح Ra و یا RMS و فعالیت حیاتی، آنالیز واریانس دو عاملی انجام شد و مقادیر توصیفی و تحلیلی آن به صورت جدول ۲ و جدول ۳ ارائه شده است.

ارزیابی‌های آماری نشان داد، تفاوت‌های معنی‌دار بسیار بالایی بین گروه‌های (C، D و E) با سطح نیکل-تیتانیم اصلاح نشده (A) وجود دارد ($n=3$ ، $P<0.001$). همچنین بین گروه B و گروه‌های (C، D و E)، نیز این تفاوت قابل ملاحظه است اما، سطوح نیکل-تیتانیم اصلاح شده با محلول اسیدی ۸۰ درصد کلریدریک، ۱۰ درصد اسیدفلوئوریدریک، ۱۰ درصد اسیدفسفریک و سپس عملیات شیمیایی با محلول ترکیبی از اسیدکلریدریک و اسیدنیتریک (E)، به همراه محلول ۸۰ درصد اسیدکلریدریک، ۱۰ درصد اسیدفلوئوریدریک، ۱۰ درصد اسیدفسفریک، ۱/۷ گرم کلسیم فلوراید (D)، علاوه بر تفاوت‌های معنی‌دار با گروه کنترل، تفاوت‌های معنی‌داری نیز با سطوح نیکل-تیتانیم اصلاح شیمیایی شده، داشتند. مطالعه دیاگرام ستونی نشان می‌دهد، گروه



نمودار ۴: فعالیت حیاتی رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز بر روی سطوح نیکل-تیتانیم اصلاح شده و گروه کنترل پس از a: سه روز کشت و b: شش روز کشت.

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار فعالیت حیاتی و با متغیر میزان زبری سطح (Ra و یا RMS) بر حسب مدت زمان و گروه

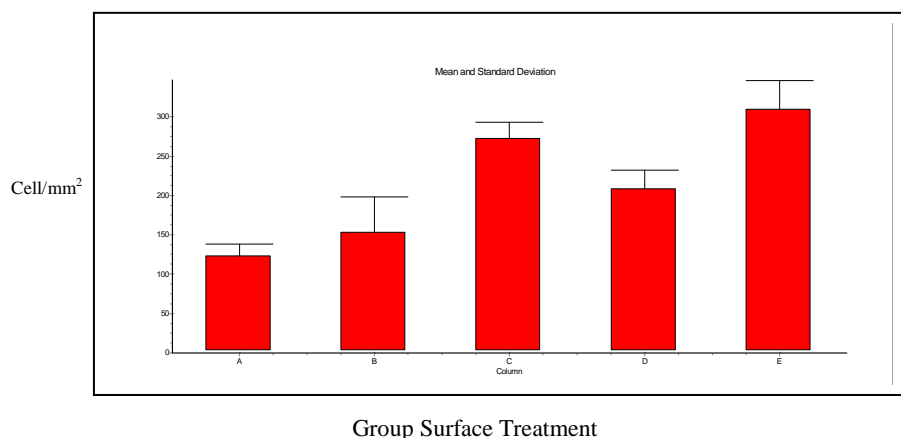
انحراف معیار \pm میانگین	روز ۳	روز ۶	
۱۲۸/۰ \pm ۱۰/۴۱۴	A	۲۱۸/۰ \pm ۳۶/۱۴	
۱۳۹/۷ \pm ۱۱/۲۶۰	B	۲۶۱/۳ \pm ۲۲/۲۶	
۱۵۸/۰ \pm ۱۵/۱۴۴	C	۴۵۴/۰ \pm ۲۷/۶۸	
۲۰۲/۷ \pm ۱۱/۵۶۶	D	۴۷۵/۳ \pm ۲۳/۲۴	
۲۰۲/۳ \pm ۱۳/۱۷۰	E	۵۱۹/۰ \pm ۱۱/۰۲	
نتیجه آزمون			
F=۳/۶۱ : زمان		P=۰/۲۳۷	
F=۱/۸۹ : گروه ها		P=۰/۵۲۰	

(E) که بیشترین زبری را در مقیاس نانو داشت، این میزان حداکثر و برای نمونه‌ی (C) نیز این مقدار بالا بود. ملاحظات آماری تفاوت قابل توجهی را بین نمونه (E) و گروه کنترل نشان داد ($n=3$ و $P<0/001$). تفاوت معنی‌داری نیز بین نمونه (C) و نمونه (B) و همچنین نمونه (E) و نمونه (A) وجود داشت ($n=3$ و $P<0/001$). همچنین ملاحظات آماری تفاوت قابل توجهی را بین نمونه (C) و گروه (B) نشان داد ($n=3$ و $P<0/001$).

نتایج چسبندگی سلولی (نمودار ۵)، نشان می‌دهد، دو نمونه (C) و (E) بالاترین میزان چسبندگی سلول را به سطح خود داشته‌اند. اما، نمونه‌هایی که بالاترین میزان زبری را داشته‌اند (نمونه‌هایی که با محلول ۸۰ درصد اسید کلریدریک، ۱۰ درصد اسید فلئوئوریدریک، ۱۰ درصد اسید فسفریک اصلاح شده‌اند و سپس از اسیدنیتریک به عنوان عملیات بعدی استفاده شده‌اند)، نسبت به سایر نمونه‌ها میزان چسبندگی بالاتری را نشان داده‌اند. در نمونه

جدول ۳: مقادیر میانگین و انحراف استاندارد عملیات‌های سطحی برای چسبندگی سلول

Standard Deviation	Mean	Group
۱۵/۲۷۵	۱۲۳/۳۳	A
۴۵/۰۹۲	۱۵۳/۳۳	B
۲۰/۵۲۶	۲۷۲/۶۷	C
۲۳/۶۲۹	۲۰۸/۳۳	D
۳۶/۰۵۶	۳۱۰/۰۰	E



نمودار ۵: تعداد سلول‌های استخوان ساز چسبیده بر روی سطوح نیکل-تیتانیوم اصلاح شده و گروه کنترل پس از ۱۶ ساعت کشت.

بحث

این موضوع نشان می‌دهد که تأثیر عملیات شیمیایی بعدی با محلول اسیدی دوتائی که متشکل از اسیدکلریدریک و اسیدنیتریک (با حضور نمک NaCl) بر روی مورفولوژی و ریخت‌شناسی سطح تأثیرگذار خواهد بود.

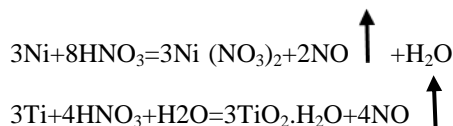
دلیل این موضوع را می‌توان تنها حذف خطوط ناشی از اجرا صیقل‌کاری مکانیکی بر روی سطح آلیاژ و عدم تغییرات ریخت‌شناسی سطح آلیاژ توسط این محلول اسیدی (گروه B) دانست.

استفاده از عملیات اصلاح شیمیایی برای آلیاژ حافظه‌دار می‌تواند ریخت‌شناسی سطح را تغییر دهد به طوری که، فرآیند اصلاح سطح با محلول اسیدی سه‌تایی و سپس به کار بردن عملیات شیمیایی با اسیدنیتریک بر روی سطح، ایجاد فرورفتگی و برآمدگی در مقیاس میکرون نمود (شکل ۱-c). بنابراین، می‌توان نقش محلول اسیدی را به عنوان یک پیش عملیات برای اصلاح سطح لازم دانست زیرا، این رفتار می‌تواند در چسبندگی و رشد

و تکثیر استخوان بر روی سطح موثر تلقی شود. همین‌طور بایستی به تشکیل ترکیبات کمپلکس به ازای افزودن سدیم کلراید به محلول اسیدی اشاره نمود. در این شرایط، بافت سطح دارای حداکثر میزان فرورفتگی با شکل‌های یکنواخت است. قرار گرفتن نایتینول در محلول اسیدی سه تائی به همراه عامل ایجاد کننده گروه‌های عاملی زیستی بر روی سطح که در شکل (۱-d) آمده است، نشان می‌دهد، ترکیب عوامل زیر کننده سطح (محلول اسیدی سه‌تائی) همراه با فلوراید کلسیم، شرایط خوردگی سطح و پتانسیل خوردگی محلول را تحت تأثیر قرار داده است. همچنین حفرات با اندازه کوچکتری نسبت به عملیات شیمیایی با اسیدنیتریک (شکل ۱-c) ایجاد شده است. در نتیجه، از نقطه نظر مورفولوژی سطح آلیاژ نایتینول، تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی شکل (۱-d-c) حفراتی با مقیاس میکرون بر روی سطح را، تأیید می‌نمایند. این حفرات سطحی تقریباً مشابه به یکدیگر و به شکل نیم کره‌های کوچک می‌باشند، اما تحت تأثیر نوع محلول اسیدی و اعمال عملیات شیمیایی بعدی بر روی

چسبندگی و رشد و تکثیر سلولی، تعیین شد که نمونه E که دارای بالاترین زبری سطح (R.M.S) بود، از چسبندگی و رشد و تکثیر سلولی قابل توجهی بر روی خود برخوردار بوده است. گروه B نیز زبری سطح تقریباً مشابهی را با گروه کنترل نشان داد. دلیل این امر را می-توان تنها حذف خطوط ناشی از اجرای صیقل کاری مکانیکی بر روی سطح آلیاژ و عدم تغییرات ریخت شناسی سطح آلیاژ توسط این محلول اسیدی (عملیات سطحی B) دانست.

به دلیل تأثیر قابل ملاحظه اسیدنیتریک در تغییر ریخت شناسی سطح و به منظور تحلیل برهم کنش این اسید با سطح نمونه، واکنش های شیمیایی زیر بیان شده اند. بطوریکه، قرار گرفتن آلیاژ حافظه دار در محلول HNO₃ سطح آن را دچار خوردگی انتخابی خواهد نمود. لذا، ابتدا نمونه های فعال نیکل بر روی سطح ماده حل شده و در نهایت اکسید تیتانیم بر طبق واکنش زیر بر روی سطح ایجاد می شود.



بنابراین، زمانی که آلیاژ نایتینول با محلول آبدار اصلاح می شود، لایه اکسیدی اساساً از نوع TiO₂ و یا TiO بر روی سطح تشکیل خواهد شد. به علاوه، TiO₂ زیست سازگاری بهتری نسبت به Ti دارد، و وجود یک لایه سطحی از TiO₂ می تواند از آزاد شدن بالقوه نیکل زیر لایه NiTi جلوگیری نماید.^(۲) مطالعات دیگری که از روش هیدروترمال و عملیات قلیایی- حرارتی جهت افزایش زیست فعالی سطح آلیاژ نایتینول استفاده شده نیز مبین وجود لایه ای از اکسید تیتانیم در سطح است.^(۳و۱۰)

سطح، اندازه این نیم کره ها متفاوت بوده و مورفولوژی نیز به شدت تغییر خواهد نمود. به علاوه، تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی مربوط به این عملیات (شکل (۲-d)) تمرکز خوردگی شدیدی در نواحی داخل حفره های سطحی را نشان می دهد؛ به طوریکه حفرات بسیار ریزی در کمتر از مقیاس میکرونی بر روی سطح ایجاد شده است. لازم به ذکر است که وجود فلوراید کلسیم، پتانسیل خوردگی محلول اسیدی سه تایی را تحت تأثیر قرار داده است. مقایسه شکل (e-۱) با تصاویر ۱-(b-d)، وجود چین خوردگی و از بین رفتن لایه های سطحی آلیاژ نایتینول که ناشی از قابلیت خوردگی بالای محلول اسیدی است را نشان می دهد. همچنین انرژی سطح تحت این شرایط بسیار بالا است (۷)؛ به طوری که ریز حفره های ایجاد شده تحت اثر محلول اسیدی سه تایی با عملیات سطحی بعدی از بین رفته و سطح صاف شده است. با افزایش زمان قرار گرفتن سطح آلیاژ در محلول اسیدی ذکر شده، انتظار می رود که خوردگی از حالت متمرکز خود خارج گردیده و سطح، تحت خوردگی شدید واقع می شود. در نتیجه، بافت سطحی مرجع ایجاد نمی شود.^(۷و۸) همچنین بالاترین مقادیر زبری سطح تصاویر ۳-(a-b) مربوط به عملیات سطحی E بود. این موضوع نشان می دهد که تأثیر عملیات شیمیایی بعدی با محلول اسیدی دو تایی که مشکل از اسید کلریدریک و اسیدنیتریک (با حضور نمک NaCl) بود. بر روی مورفولوژی و مورفولوژی سطح، تأثیر گذار است. زبری سطح در مقیاس میکرون تأثیر عمده ای بر فعالیت سلولی و خاصیت زیست مکانیکی در نتیجه ایجاد قفل های مکانیکی بین بافت و ماده کاشتنی دارد. دلیل این امر را می توان در رشد و تکثیر سلول ها و بافت های استخوانی درون حفره های با مقیاس میکرون سطح ماده - کاشتنی جستجو نمود. لذا، با بررسی نتایج مربوط به

به‌طور کلی، در حدود دو دهه پیش مطالعاتی برای گسترش سطوح تیتانیومی غیرپوششی آغاز گردید. میکروتوپوگرافی سطح می‌تواند بر تعداد و مورفولوژی پاهای کاذب چسبنده سلول و جهت‌گیری سلول‌ها (استئوبلاست‌ها) تأثیر گذاشته و مهاجرت سلول‌ها به‌داخل حفره‌های موجود در سطح ماده کاشتنی را هدایت کرده و در نتیجه رشد استخوان را افزایش دهد. این موضوع، با انرژی سطحی ایمپلنت و به عبارت دیگر میزان آبدوستی سطح می‌تواند ارتباط یابد.^(۶۷) لذا، ترشوندگی سطح همچنین در جهت چسبندگی بالاتر پروتئین‌ها پیشنهاد شده است. چسبندگی پروتئین‌ها، مهاجرت سلول‌های استخوان‌ساز در طول سطح را آماده می‌کند. بنابراین، در مورد نمونه E که بیشترین زبری سطح را دارا بود، چسبندگی و رشد و تکثیر سلولی بالاتری را می‌توان در مقایسه با نمونه‌های دیگر انتظار داشت. از مطالب بالا می‌توان گزارش کرد که زبری و شیمی سطح نقش فوق‌العاده مهمی را در رفتار سلول بر روی سطح ایمپلنت ایفا می‌نماید.^(۲۱-۲۰ و ۹) به‌علاوه، گزارش شده است که جذب فیبرونکتین روی سطوح خشن کمتر از سطوح صاف است. فیبرونکتین یک گلیکوپروتئین است که به‌طور سریعی به سطوح سخت چسبیده و در نتیجه باعث چسبیدن سلول‌های دیگر می‌شود.^(۲۳) همچنین در تحقیقی دیگر نشان داده شد که سطوح اصلاح شده با عملیات اسیدی نسبت به عملیات قلیایی دارای تأثیر بارزتری بر نحوه رشد آپاتیت بوده و استوکیومتری نزدیک‌تری از نسبت کلسیم به فسفات (۱/۵۵) در پوشش شبه استخوانی آپاتیت روی سطوح خود ایجاد می‌نماید.^(۶)

ایمپلنت تیتانیم در مقابل یون‌های فلوراید بسیار فعال بوده و ترا فلونورید تیتانیم را تشکیل می‌دهد. سطح تولید شده دارای توپوگرافی با زبری میکرون، است. به هر حال

سطح آلیاژ نایتینول محلول اسیدی سه‌تائی ۸۰ درصد اسیدکلریدریک، ۱۰ درصد اسیدفلوئوریدریک، ۱۰ درصد اسیدفسفریک (۱۰ دقیقه، دمای محیط) به تنهایی تأثیر چندانی در ایجاد تخلخل‌های با مقیاس میکرون نداشت (شکل ۱-b)، اما محلول اسیدی سه‌تائی می‌تواند سبب شکستن لایه اکسیدی و تشکیل تیتانیا بر روی سطح بود که این موضوع شرایط را برای اعمال عملیات شیمیایی بعدی و اصلاح سطح آلیاژ مذکور فراهم نماید. زبری سطح می‌تواند نقش مهمی در تشکیل لایه شبه آپاتیت بر روی سطح زیست ماده ایفا نماید.^(۶) از طرفی بایستی به گستردگی حفرات بر روی سطح نایتینول ناشی از تغییر شرایط محلول اسیدی اشاره نمود. در نمونه D که بیشترین گستردگی را از نظر حفره‌های سطحی داشت (۰/۵ تا ۷ میکرون)، رشد و تکثیر سلولی قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. این امر در حالی است که تحقیقات دیگر مربوط به مورفولوژی، سطحی با اندازه‌های حفرات ۶ تا ۱۰ میکرون و یا ۰/۵ تا ۲ میکرون را به عنوان سطحی ایده آل از رشد و تکثیر سلول در نظر گرفته بوده‌اند.^(۲۰ و ۱۹) قابلیت چسبندگی سلول به سطح برای گروه‌هایی از نایتینول که با اسیدنیتریک اصلاح شده بودند، مقدار بیشتری را نشان می‌داد که می‌توان علت آن را به افزایش بیشتر در زبری سطح ناشی از درصد این اسید دانست.^(۲۱) لازم به ذکر است که نقش ریخت‌شناسی حفره‌های سطح نیز از اهمیت خاصی در روند رشد و تکثیر سلول برخوردار است.^(۱۹)

در تمام حالت‌های فوق سطح آلیاژ نایتینول بدون عملیات اصلاح سطحی (گروه Control) از نظر رشد و تکثیر و چسبندگی سلول در مقایسه با سطوح اصلاح شده بسیار ضعیف عمل نموده بود. همچنین بافت رشته‌ای (کپسول فیروزه‌ای) که از تماس مستقیم استخوان به کاشتنی جلوگیری می‌نماید، در این حالت تشکیل شده بود.

اسیدنیتریک قرار می‌گیرد، نشان می‌دهد. این موضوع منجر به ایجاد حفره‌های با مقیاس میکرون بر روی سطح می‌شود. اسیدنیتریک در بروز حفره‌ها با مقیاس میکرون بسیار موثر است. غیر از اسیدنیتریک که مسئول اصلی در ایجاد زبری در سطح تیتانیم می‌باشد، اسیدکلریدریک به تغییر مورفولوژی سطح نیز کمک می‌نماید. به‌طور کلی، ارزیابی‌های کشت سلولی نشان داد که استفاده از محلول اسیدی متشکل از اسیدهای سه‌تایی ($\text{HCl-HF-H}_3\text{PO}_4$) همراه عملیات شیمیایی بعدی با اسیدنیتریک باعث افزایش قابلیت سطح نایتینول در چسبندگی و رشد و تکثیر سلولی می‌شود. بنابراین، استفاده از عملیات شیمیایی روشی آسان در زیست‌فعال کردن سطح آلیاژ نایتینول است. نتایج این تحقیق بر اساس آزمایش‌ها در خارج از محیط بدن بوده لیکن می‌تواند نتایج مشابهی را با آزمایش‌های درون بدن نشان دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه سمنان، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی دانشگاه سمنان، گروه پژوهشی بایونانو مواد زیست‌فعال دانشگاه سمنان و پژوهشگاه مواد و انرژی کرج به دلیل حمایت از مقاله حاضر تشکر نمایند.

عملیات اسیدی نظیر اسید فلئوئوریدریک می‌توانند جهت ایجاد توپوگرافی‌ها در مقیاس نانو، که به صورت معمول به عنوان ساختارهایی که حداقل یکی از ابعادشان در محدوده یک تا صد نانومتر است، استفاده شوند.^(۷) این عملیات شیمیایی، علاوه بر ایجاد یک سطح زبر منجر به حضور یون فلوراید در سطح تیتانیم می‌شود که تلفیق آنها به منظور همبندی استخوان کاشتنی تیتانیم با بافت استخوانی مساعد است.^(۷و۸) این موضوع برای آلیاژ نایتینول مشاهده نشد؛ زیرا عنصر نیکل نسبت به یون‌های فلئوئور مقاومت به خوردگی خوبی دارد. اما، استفاده از عملیات شیمیایی با اسیدنیتریک می‌تواند آلیاژ نایتینول را از لحاظ مورفولوژی سطح و همچنین تغییر لایه اکسیدی اصلاح نماید.^(۹) اصلاح شیمیایی سطح، تفکیک سلول‌های استخوان ساز را در مقایسه با نمونه‌های اصلاح نشده بالا می‌برد. همچنین این فرآیند قادر است پتانسیلی در جهت بهبود بالاتر تکیه‌گاه کاشتنی در استخوان توسط ارائه سطح کاشتنی زیست‌فعال، ارائه دهد.

نتیجه‌گیری

سطح آلیاژ نایتینول تغییرات قابل توجهی را زمانی‌که تحت محلول اسیدی متشکل از اسیدهای سه‌تایی ($\text{HCl-HF-H}_3\text{PO}_4$) همراه عملیات شیمیایی بعدی با

منابع

1. Chu CL, Chung CY. Bioactive NiTi shape memory alloy fabricated by oxidizing in H_2O_2 solution and subsequent NaOH treatment. *J Mat Sci* 2006; 41(5): 1671-4.
2. Chen MF, Yang XJ, Liu Y, Zhu SL, Cui ZD, Man HC. Study on the formation of an apatite layer on NiTi shape memory alloy using a chemical treatment method. *Surface and Coatings Technology* 2003; 173(2): 229-34.
3. Qiang W, Zhen-duo C, Xian-jin Y, Jie S. Improving the bioactivity of NiTi shape memory alloy by heat and alkali treatment. *Appl Sur Sci* 2008; 255(2): 462-5.
4. Cheng WY, Cai HT, Li Y, Zheng F. Surface modification of NiTi alloy with tantalum to improve its biocompatibility and radiopacity. *J Mat Sci* 2006; 41(15): 4961-4.
5. Chu CL, Wang RM, Hu T, Yin LH, Pu YP, Lin PH, et al. XPS and biocompatibility studies of titania film on anodized NiTi shape memory alloy. *J Mat Sci: Mat Med* 2009; 20(1): 223-8.
6. Yousefpour M, Afshar A, Chen J, Xingdong Z. Bioactive layer formation on alkaline-acid treated titanium in simulated body fluid. *Mater Des* 2007; 28(7): 2154-9.

7. Zareidoost A, Yousefpour M, Ghaseme B, Amanzadeh A. The relationship of surface roughness and cell response of chemical surface modification of titanium. *J Mat Sci: Mat Med* 2012; 23(6):1479-88.
8. Zareidoost A, Yousefpour M, Ghaseme B. Surface modification of titanium dental implants due to chemical method by a mixed solution of three acids. *J Mash Dent Sch* 2011; 35(2): 85-98. (Persian)
9. Liu X, Chu PK, Ding C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Mat Sci Eng* 2004; 47: 49-121.
10. Cheng FT, Shi P, Man HC. A preliminary study of TiO₂ deposition on NiTi by a hydrothermal method. *Surface & Coatings Technology* 2004; 187(1): 26-32.
11. Gu Y.W, Tay BY, Lim CS, Yong MS. Biomimetic deposition of apatite coating on surface-modified NiTi alloy. *Biomaterials* 2005; 26(34): 6916-23.
12. Chu CL, Chung CY, Pu YP, Lin PH. Graded surface structure in chemically polished NiTi shape memory alloy after NaOH treatment. *Scripta Materialia* 2005; 52(11): 1117-21.
13. Wirth C, Comte V, Lagneau C, Exbrayat P, Lissac M, Renault JN, et al. Nitinol surface roughness modulates in vitro cell response: A comparison between fibroblasts and osteoblasts. *Mat Sci Eng* 2005; 25(1): 51-60.
14. Sun T, Wang M. Low-temperature biomimetic formation of apatite/TiO₂ composite coatings on Ti and NiTi shape memory alloy and their characterization. *App Surf Sci* 2008; 255(2): 396-400.
15. Chen MF, Yang XJ, Liu Y, Zhu SL, Cui ZD, Man HC. Study on the formation of an apatite layer on NiTi shape memory alloy using a chemical treatment method. *Sur Coat Tech* 2003; 173(2-3): 229-34.
16. Xiao-Xiang W, Satoshi H, Kanji T, Akiyoshi O. Bioactive titania gel layers formed by chemical treatment of Ti substrate with a H₂O₂/HCl solution. *Biomaterials* 2002; 23(5): 1353-7.
17. Frauchigera VM, Schlottig F, Gasserc B, Textora M. Anodic plasma-chemical treatment of CP titanium surfaces for biomedical applications. *Biomaterials* 2004; 25(4): 593-606.
18. Xiaohui RF, Zhe Q, Marco W, Michael M, Andreas S. Differentiation and cytokine synthesis of human alveolar osteoblasts compared to osteoblast-like cells (MG63) in response to titanium surfaces. *Dent Mater* 2008; 24(1): 102-10.
19. Juodzbalys G, Sapragoniene M, Wennerberg A. New acid etched titanium dental implant surface. *Bal Den and Maxillofac J* 2003; 5: 101-5.
20. Guehennec LL, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 2007; 23(7): 844-54.
21. Lamolle FS, Monjo M, Rubert M, Haugen HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE. The effect of hydrofluoric acid treatment of titanium surface on nanostructural and chemical changes and the growth of MC3T3-E1 cells. *Biomaterials* 2009; 30(5): 736-42.
22. Mendonca G, Mendonca DBS, Aragao JL, Francisco LF. Advancing dental implant surface technology from micron to nanotopography. *Biomaterials* 2008; 29(28): 3822-35.
23. Sargolzaie N, Ghanbary H, Mohammadzadeh Rezaee Y. The effect of two types of implant surface coating on bone and surrounding tissues of prosthesis with implant supporting. *J Mash Dent Sch* 2008; 32(3): 207-12. (Persian)