

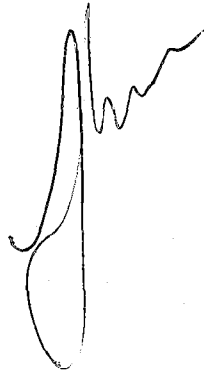
74742

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANA BİLİM DALI

İNSAN VE HAYVAN KEMİKLERİNDEN ELDE EDİLEN BİYOLOJİK KAYNAKLI
HİDROKSİAPATİTİN FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
SENTETİK HİDROKSİAPATİT İLE KARŞILAŞTIRILMASI

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Fahri ERDOĞAN



T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İSTANBUL-1991

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sayfa

ÖNSÖZ	
I - GİRİŞ VE TARİHÇE.....	1
II - GENEL BİLGİLER.....	5
III - MATERYEL VE METOD.....	20
IV - ARAŞTIRMA SONUÇLARI.....	42
V - TARTIŞMA.....	45
VI - SONUÇLAR.....	50
VII - ÖZET.....	53
VIII - KAYNAKLAR.....	54

ÖNSÖZ

Son zamanlarda gerek diş hekimliği, gerek rekonstrüktif cerrahi gerekse ortopedik cerrahi ile uğraşan bölümlerde kullanılan implant materyallerinin çeşitliliğinin çok artmasına karşın bunların getirdiği karmaşıklıkta aynı şekilde artmaktadır. Bir implantın fonksiyonunun yeterliliğinden çok daha önemlisi onun yapısına giren elementlerin nitelikleridir. Çok geçmeden anlaşılmıştır ki herhangi bir implantın başarı veya başarısızlığı onun dizaynına bağlı olduğu kadar materyal seçiminde bağlıdır.

Hidroksiapatit seramiğinin son on sene içerisinde çok güncel bir hale gelmesi ve aynı şekilde klinik uygulamada da başarılı olmasına rağmen, henüz gerek kimyasal yapısı gerekse fiziksel özellikleri konusunda pekçok tartışmalar süre geldiğinden bu konu üzerinde çalışmayı uygun gördük.

Çalışmamızın başından beri aktif olarak içinde bulunan İstanbul Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Profesör Doktor Macit ÜZEL'e Öğretim Üyelerinden Doçent Doktor Murat HIZ'a ve Operatör Doktor Işık AKGÜN'e, Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Öğretim Üyesi Profesör Doktor Sabri ALTINTAŞ'a İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Profesör Doktor Kâzım CEMAL GÜVEN'e İstanbul Teknik Üniversitesi Metalurji Bölümünden Profesör Doktor Adnan TEKİN'e ve çalışmamızı dışarıdan destekleyen Tokyo Nihon Üniversitesi Ortopedik Cerrahi Ana Bilim Dalından Associate Professor Hiromi MATSUZAKİ'ye yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

Ayrıca 4 yıllık eğitim sürem boyunca yetişmemde emeği geçen bütün öğretim üyelerine ve baş asistanlarıma teşekkür ederim.

I - GİRİŞ VE TARİHÇE

Organizmanın iskelet sistemini oluşturan kemik dokusunun hastalık, travma veya cerrahi nedenlerle oluşan defektlerinin giderilmesi, fonksiyonun geri döndürülmesi yönünden gereklidir. Bu defektler uzun kemiklerde fonksiyonel kusurlar yaparken yüz ve kafatası kemiklerinde hem fonksiyonel hemde kozmetik kusurlara neden olurlar.

Defektlerin doldurularak iyileşmenin sağlanması için kemik grefleri yaygın olarak kullanılmışlardır ve halen günümüzde de kullanılmaktadırlar.

Kemik transplante edilen organların ilkidir ve kayıtlara geçmiş ilk başarılı kemik transplantasyonu 1688 senesinde yapılmıştır (19).

Osteogenesis ile ilgili ilk bilimsel yaklaşım Duhamel tarafından yapılmış olup subperiostal olarak yerleştirilen gümüş tellerin implantasyondan birkaç hafta sonra kemik ile örtüldüğünü göstermiştir.

Bütün bu çalışmaların ışığı altında Ollier 18. asrın ortalarında periostun aktivitesinden bahsetmiş ve transplante edilen periost ile kemiğin yaşayabilen dokular olduğunu, eğer uygun koşullarda yapılırsa osteojenik yeteneği olduğunu deneysel hayvan çalışmaları ile göstermiştir.

Bununla beraber hemen arkasından Barth replante edilen kafatası kemiğinin kemik, kemik iliği ve periostunun öldüğünü ve yerindeki boşluğun çevre yumuşak dokuların büyümesi ile dolduğunu söylemiştir.

Kemik transplantasyonu konusundaki bu en erken döneme açıklamalardan sonra en kapsamlı ve en doğru yorum 1907 senesinde Axhausen tarafından yapılarak kemik greflerinin modern tedavideki yerlerini almalarının temeli atılmıştır. Ototreflerin osteojenik aktivitesinin olduğunu ve periostun canlı kalabilme konusunda büyük bir yeteneğe sahip olduğunu bir seri deneysel çalışma ile göstermiştir.

Daha sonra 1937 senesinde Phemister kemik greflerindeki histolojik değişiklikler ile ilgili açıklamaları geliştirmiş ve "creeping substitution" deyimini ortaya atmıştır. Transplante edilen kemiğin aktif vasküler granülasyon dokusu tarafından işgal edilerek rezorbe olduğunu ve bu çatıda yeni kemiğin aktif olarak üretildiğini söylemiştir.

1947 de Abbott ve arkadaşları kemik grefindeki yüzey hücrelerinin canlı kalabildiğini ve yeni kemik oluşmasına katkıda bulunduğunu söylemişlerdir.

Günümüzde taze otojen kemik en çok kullanılan kemik greflerinden biridir. Antijenik özelliklerinin olmaması, damarlanmalarının oldukça hızlı olması ve özellikle spongioz kemiğin osteoindüktif özelliğinden dolayı en yüksek değerlerde kemikleşmeyi otojen tür greflerin sağladığı düşünülmektedir.

Otojen kemik greflerinin yanısıra değişik kaynaklardan elde edilen allogref ve ksenogreflerde çeşitli işlemlerden sonra klinik uygulamada etkili olarak kullanılmışlardır.

Bütün bu avantajlarına rağmen özellikle otojen kemik dokusunun elde edilmesinin güçlüğü ve bu işlemin toplam ameliyat süresini uzatması, çoğu zaman alıcı bölgede ameliyat bölgesinden daha fazla ağrıya neden olması gibi dezavantajları vardır. Ayrıca değişen oranlarda rezorbe

olması ve bu nedenle korunması istenilen şeklin bozulması, infeksiyonlar için uygun bir ortam oluşturması ve istenilen stabiliteyi sağlayamaması gibi özelliklerede sahiptir.

Gereksinim duyulan gref miktarı ve şeklinin, donör bölgelerin kapasitesinin dışında olduğu durumlarda allogref ve ksenogrefler devreye girmiş, fakat bunların getirmiş olduğu immünolojik problemler günümüzde halen yeterli çözüme ulaşamamıştır.

Bu sorunların yok edilmesi için yapılan araştırmalar sentetik gref materyelleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu maddelerin kemik iyileşmesi üzerine çeşitli sistemik etkilerinin yanısıra kemik dokusunun regenerasyonunu kolaylaştırmaları istenmektedir. Polimetil metakrilat, poröz teflon, vitröz karbon, alüminyum oksit ve titanyum gibi maddeler bu amaçla kullanılmış ve bir kısımda halen kullanılmaktadır.

Kemik grefi yerini tutabilecek maddeler üzerindeki araştırmaların geçmişine bakıldığında bunların bir kısmının biyolojik alternatifler üzerinde toplandıkları görülmüştür. Biyolojik implantların gerek hacimsel gerekse immünolojik sakıncaları kemik yerini tutabilecek sentetik, bioinert bir madde ile ilgilenilmesi konusunda araştırmacıları yönlendirmiştir.

Araştırmacılar nonmetalik ve inorganik yapıda olan seramiğin bu alanda kullanılabileceğini düşünerek yapısına giren elementlerin ismi ile anılan oksit seramiklerini ortopedi ve diş hekimliği alanında kullanıma sokmuşlardır.

Bilinen en eski insan yapısı madde olmasına rağmen seramiğin biyomedikal kullanıma girmesi 1960 yılının ortasına denk gelir. Aslında seramiğin ilk ortopedik kullanımı diş tespit materyali olarak kullandığımız alçının, yani kalsiyum sülfat dihidritin bir kemik defektini doldurmak

için 1892'de kullanılmasıyla olmuştur. Zayıf biomekanik özelliği ve kemikle karşılaştırıldığında çabuk rezorbe olmasından dolayı beklenen sonucu vermeyen alçının bugün bu şekilde kullanımı yok gibidir.

Bunun yerine kalsiyum ve fosfatın poröz mineralleri sentetik greft materyelleri olarak günümüzde en iyi seçenek olma yolundadırlar. Biyolojik olarak uyumlu olmaları, her boy ve tipte kolayca üretilebilmeleri, yeni kemik yapımı için yüzey ve kimyasal yapı açısından elverişli olmaları gibi avantajları vardır. Son dönem araştırmaları hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat ve bu iki mineralin kombinasyonlarını içermektedir.

Alumina (Al_2O_3), ortopedik implantlar arasında en sık kullanılan ve biouyumluluğu en iyi olan seramiklerden biridir. Genellikle protez ve vida gibi implantların yapımında kullanılmakla beraber kemik çimentosu ile belli ölçülerde karıştırılarak kullanımı vardır (1.3).

Hench tarafından geliştirilen biocam (SiO_2) implantasyon materyelleri arasında bir dönem oldukça sık yer almıştır (30).

Düşük ısıllı isotropik pirolitik karbon içeren protezler primer olarak karbonu kullanıma sokmuştur. Karbon lifleri bağ veya kirişlerin greftleri olarak veya güçlendirilmesinde kullanılmaktadır (30).

II - GENEL BİLGİLER

A- Hidroksiapatitin Organizmadaki Yeri ve İşlevi :

Kemik kendine has hücreler ve bu hücreler arasında mineralize kollagen liflerden oluşmuş, vücudun iskelet desteğini sağlayan özel bir bağ dokusudur. Spongioz veya kompakt yapıdadır. Spongioz kemik, araları kemik iliği ile dolu olan çeşitli kalınlık ve şekilde birbiri ile birleşip çaprazlaşan kemik trabeküllerini içerir. Kompakt kemik ise devamlı bir kemik kitlesi olup birbiri ile ilişkili mikroskopik büyüklükte vasküler kanallar içerir. Hemen her kemikte hem spongioz hem de kompakt kemik bulunur.

Kemiğin yapısal taşları arasında olan kemik hücreleri osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar olmak üzere işlevlerine ve şekillerine göre dört ana gruba ayrılırlar.

Bu hücreler arasında yer alan ve kemiğin matriksi olarak isimlendirilen ara madde ise organik matriks ve inorganik tuzlardan meydana gelir.

Organik kısım yaklaşık olarak 5 mikron kalınlığında osteokollagenöz liflerin birbiri ile bağlantılı olarak uzanması sonucu oluşur. Bu liflerdeki kollagen moleküllerinin aralarında 400 A lük aralıklar vardır ve "hole zone" olarak adlandırılırlar.

Kemik matriksinin kuru ağırlığının % 50 kadarı kemiğin inorganik maddesidir. Bu mineraller osteokollagenöz liflerin "hole zone" olarak adlandırılan aralıklarına yaklaşık 600 A uzunluğunda yoğun yapılar olarak otururlar.

Kemiğin inorganik yapısına göre minerallerin en önemlileri kalsiyum ve fosfordur. Elektron mikroskobu ve X-ışınları enerji dağılımı ile yapılan analizler sonucu kalsiyum ve fosforun hidroksiapatit şeklinde birleşmiş olduğunu göstermiştir. $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$

Elektron mikroskobunda hidroksiapatit kristalleri 40x25x3 nm lik plaklar şeklinde görülür.(Foto 1)

Hidroksiapatitin yüzey iyonları hidrate bir halde olup su ve iyon tabakaları kristal etrafında şekillenirler. Bu tabaka hidrasyon kabuğu olarak isimlendirilip vücut sıvısı ve kristal arasında iyon değişimini kolaylaştırır.

Kollagen lifler ile hidroksiapatitin birlikte olması kemiğin genel karakteristiği olan sertlik ve dirençlilik halinin oluşmasını sağlar. Eğer kemik dekalsifiye edilirse şeklini korur, fakat bir tendon gibi kolayca bükülebilir hale gelir.

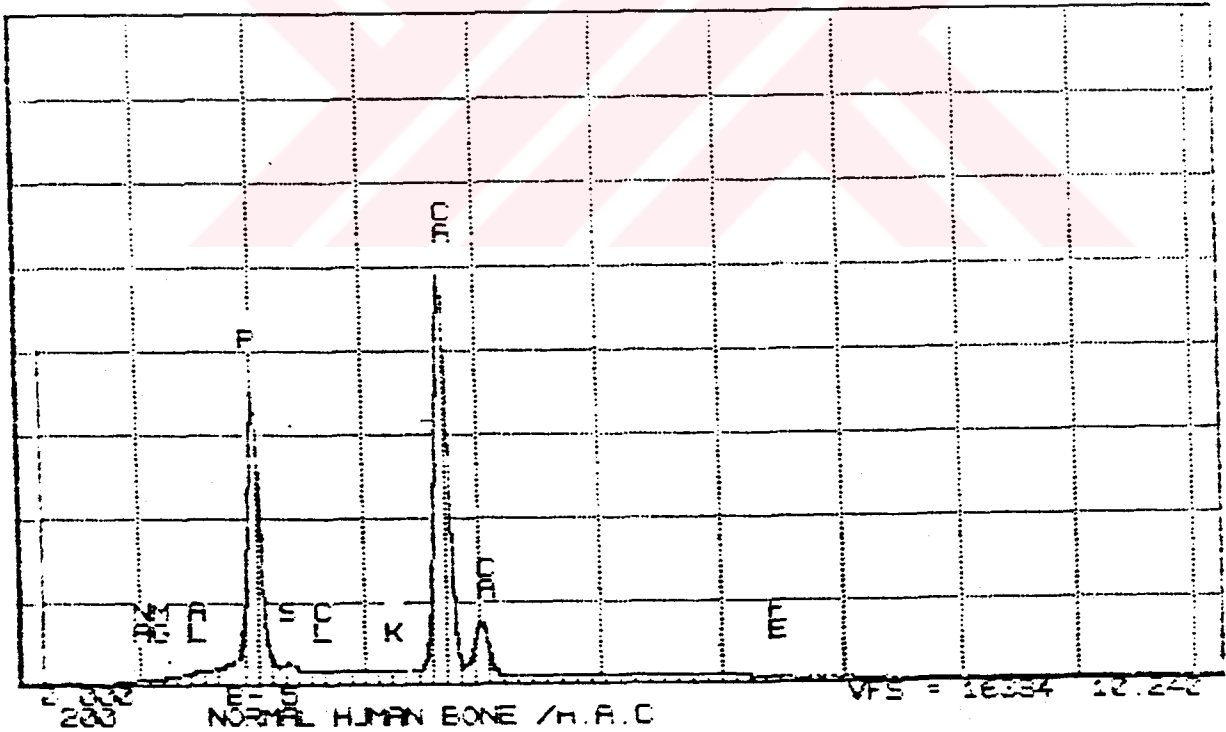
Veya bu işlemin tam tersi yapılarda matriksin organik kısmı çıkarılırsa kemik yine şeklini korur, fakat bununla beraber son derece frajil bir hal alır ve ele alınınca hemen kırılır.

İşte bu nedenle kemiğin sertliği, dayanıklılığı ve esnekliği organik maddenin inorganik madde ile yaptığı başarılı ve dengeli birlikteliğe bağlıdır.

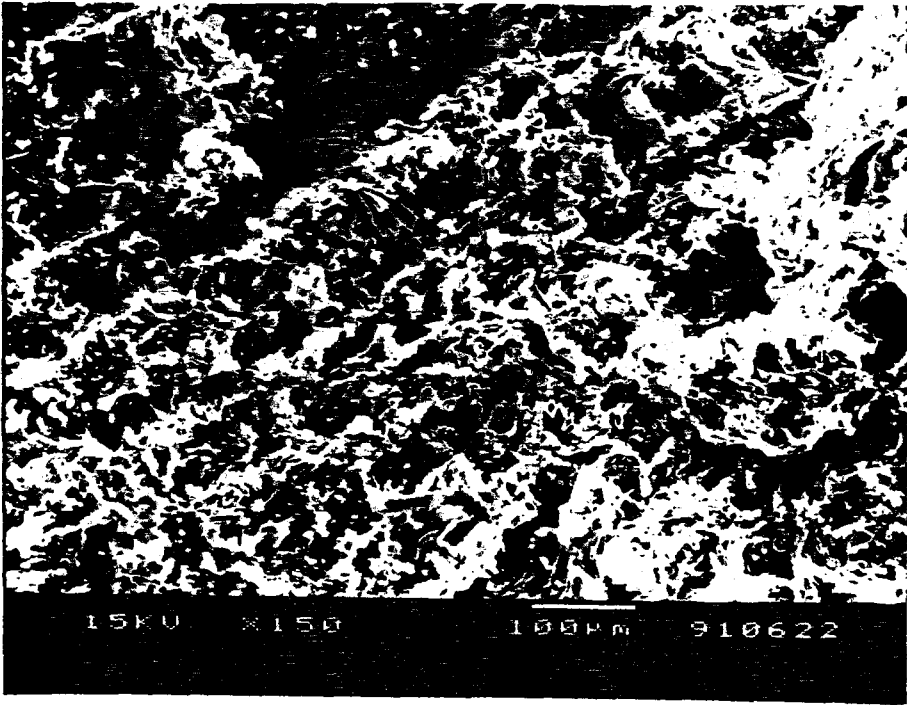
Kemikte kalsiyum ve fosfor dışında karbonat, sitrat, sodyum, magnezyum ve değişebilir miktarda ağır metallerde bulunur. Fakat bunların oranları kalsiyum ve fosfatla karşılaştırıldığında oldukça düşüktür. (Şekil 1) (21, 27, 35)

ZAF CORRECTION		15.00 KV	43.00 Degs			
NO.	Iterations			[ZAF]	ATOM. %	
1	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
2	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
3	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
4	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
5	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
6	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
7	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
8	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
9	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
10	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
11	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
12	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
13	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
14	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
15	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
16	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
17	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
18	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
19	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
20	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
21	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
22	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
23	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
24	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
25	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
26	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
27	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
28	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
29	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
30	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
31	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
32	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
33	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
34	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
35	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
36	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
37	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
38	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
39	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
40	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
41	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
42	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
43	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
44	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
45	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
46	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
47	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
48	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
49	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000
50	0.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.000000	0.000000

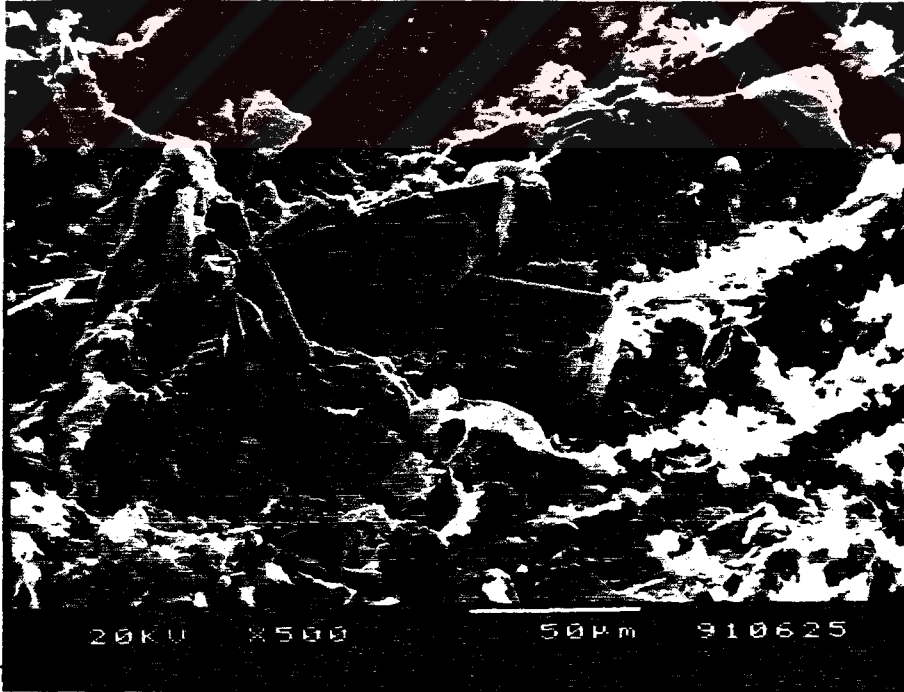
TECHNICAL UNIVERSITY OF METEOROL. ENI GILLY-91 15:55
 0.000000 0.000000 0.000000 0.000000



ŞEKİL 1



Fotoğraf 1 : Kollagen molekülleri arasındaki "hole zone"lara yerleşmiş hidroksiapatit kristalleri, insan kemiği, taramalı elektron mikroskobu, 150 X büyütme



Fotoğraf 2 : Taramalı elektron mikroskobunda hidroksiapatit kristalleri plaklar şeklinde oturmuş olarak görülüyor, 500 X büyütme

Hidroksiapatit organizmada;

- İskelet sisteminde % 68
- Dişlerde;
 - Sementte % 70
 - Dentinde % 77
 - Minede % 98 oranında bulunur.

B - Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Kemiklerin ve dişlerin mineral yapısına benzer kimyasal özelliklerinden dolayı hidroksiapatit oldukça çekici bir bioimplanttır.

Kalsiyum fosfat grubu içerisindeki hidroksiapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ve trikalsiyum fosfat $Ca_3(PO_4)_2$ yüksek sıcaklık ve basınç altında birleştirildikleri için (Sinterizasyon) polikristalin seramikleri olarak isimlendirilmektedirler.

Kalsiyum fosfat implantları kemiğin doğal yapısındaki kalsiyum ve fosfat iyonlarından oluşurlar. Bu nedenle implante edildikleri kemik dokusu ile kalsiyum ve fosfat alışverişi yaparak ortamdaki katı ve sıvı dengesine katılabilirler.

Kalsiyumfosfat bioseramikleri grubu içerisinde konumuz olan hidroksiapatit yapı bakımından;

- 1- Yoğun non poröz hidroksiapatit
- 2- Poröz hidroksiapatit olarak ikiye ayrılırlar.

1- **Yoğun Non Poröz Ha** : Oksidasyonla elde edilmiş olan hidroksiapatit partiküllerinin sinterizasyon denilen 1100 - 1300 C arasında değişen ısıda ve basınç altında birleştirilmesi sonucu elde edilen yoğun formudur. Bu materyalin yorulma ve kırılma dirençleri kompakt kemik ile

karşılaştırılacak olmasına rağmen, mine tabakası kadar kolay kırılğan bir özelliği olduğu görülmüştür. Yüklenme olmayan yerlerde kemik defekti tamirinde, alveolar kret yükseltilmesinde, alveolar kemiğin korunması amacıyla kullanılmaktadır. Dikdörtgen kavisli ve kök şeklinde hazırlanmış şekilleri vardır.

2- Poröz HA : Kalsiyum fosfat tuzlarının uygun boyutlardaki partiküllerinin birleştirilmesi ile oluştururlar. Poröz bir yapı oluşturmaktaki amaç implantın içine doğru kemik gelişiminin olmasını sağlamaktır. Yapılan bazı araştırmalarda kemik gelişimine izin veren en uygun yapının 90-200 mikron arasında porlar içerdiği gösterilmişken mercandan elde edilmiş hidroksiapatitle çalışan gurup, spongiöz kemikte kullanılacak seramiğin Genus Goniopora'dan elde edilen 500 mikron por boyutlu, kortikal kemikte kullanılacak seramiğin ise Genus Porites'ten elde edilen 200 mikron por boyutlu olması gerektiğini söylemişlerdir (20).

Poröz hidroksiapatitin, yoğun poröz olmayan hidroksiapatite karşı tek dezavantajı daha kolay kırılabilir olmasıdır. Yine de bu kırılğanlığın çok fazla olmaması nedeniyle alveolar kret yükseltilmesinde, periodontal ve cerrahi defektlerin onarımında ve lokal kemik kayıplarında başarı ile kullanılmaktadır.

Hidroksiapatitin bu blok tiplerinin dışında partiküller tipleride vardır. Bu partiküler tiplerinin çok köşeli ve yuvarlak olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Daha önceden yapılan bir çalışmada çok köşeli implant materyallerinin daha fazla inflamatuvar cevap oluşturduğu ve köşeli hidroksiapatitin düzensiz, keskin şekilleri nedeniyle çevre yumuşak dokuları irrite etmeğe devam ettiği ve böylece inflamatuvar cevabın daha uzun süreli olarak devam ettiği bulunmuştur.

Sentetik olarak elde edilmesinin yanısıra Güney Pasifik mercanlarından derive edilerek elde edilen hidroksiapatit de klinik uygulamada başarı ile kullanılmaktadır.

Mercan deniz omurgasızlarının değişik türlerinin kireçtaşı yapısındaki iskeletidir. Poröz yapısı ve boyutları türüne özgüdür. **Scleractian** tipi mercanlardan birinin alt türü olan **Genus Goniopora** adlı mercanın makroskopik mimari yapısı insan kemiğinin şaşılacak derecede benzeridir. Pennsylvania Eyalet Üniversitesi materyel araştırma laboratuvarında koral karbonat saf hidroksiapatite basit bir hidrotermal değişim metodu ile dönüştürülmüştür. Mercanın kendine özgü mimari yapısı kimyasal reaksiyon sürecinde değişimsiz kalmıştır ve reaksiyon sonunda ele geçen poröz hidroksiapatit herhangi bir organik materyel kalıntısından arıtılmıştır.

Goniopora implantı 500-600 mikron boyutlarında porlara sahip olup porlar arası kanallar 220-260 mikron ve trabeküllerin ortalama kalınlığı 130 mikron civarındadır.

Mercandan elde edilen bu implant ile de bir seri hayvan deneyleri yapılmış olup, sonuçların olumlu olması üzerine klinik uygulamada 1982 senesinden beri başarı ile kullanılmaktadır.

C - Biyolojik Özellikleri

Kemik yapısı içinde doğal olarak bulunan hidroksiapatitin sentetik olarak elde edilen şeklinin, yapılan araştırmalar sonucu saptanan özellikleri şunlardır ;

1 - Biyoyumluluk :

Seramik materyallerin pek çoğu ileri derecede inert ve bundan dolayı da çok az yabancı cisim reaksiyonu gösteren maddelerdir. Yüksek basınç ve ısı altında elde

edilmiş kalsiyum fosfat bileşiğinin biyolojik uyumluluğu, kendisini çevreleyen kemik dokusu ile sıkı bağlar oluşturabilme yeteneğinden dolayı diğer kemik yerini doldurabilen materyallerden çok daha üstündür. Rejenere olan kemik ve hidroksiapatit arasındaki bağlanma çok sıkı olup, alanda herhangi bir fibröz doku ve enflamasyon hücresi görülmemesi materyalin biyouyumluluğunun göstergesidir. (7, 20, 30)

Sonuç olarak hem biyolojik çevrenin materyal üzerine hem de materyalin bu çevre üzerine olan etkilerinin uyumlu olması istenmekte ve gerekmektedir. Vücut doku ve sıvılarında istenmeyen klinik değişikliklere neden olmadığından, implantın fonksiyonunu aksatacak fiziksel, kimyasal ve mekanik değişikliklere uğramadığından, aşınma ve metabolize olması sırasında ortaya çıkan artık ürünleri ile lokal çevresine zarar vermediğinden hidroksiapatitin biyouyumluluğu tam olarak kabul edilir.

2 - Osteointegrasyon :

Hidroksiapatit ile doku kültürlerinde yapılan çalışmalarda yeni oluşan kartilaj hücrelerinin yeni yapıyı oluşturarak fonksiyonel matriksi salgıladıkları bulunmuş ve bu hücrelerin hidroksiapatit ile temasta buldukları gözlenmiştir. Bu fenomen yeni oluşan kartilaj dokusu ile hidroksiapatit arasındaki afiniteyi göstermektedir. Ancak yapılan incelemelerde bu yeni kartilaj hücrelerinin apatitin iç yüzünde değil dış yüzünde yerleştiği gözlenmiştir. Bazı yazarlar kollejenöz kemik matriksinin mezenkimal hücrelerin tutunuşu için uygun bir ortam oluşturarak hidroksiapatitin yeni kemik gelişimi için osteokondüktif bir rol oynadığını kabul etmektedirler. Yumuşak doku içerisine hidroksiapatit uygulamaları ile yapılan çalışmalarda buralarda kemik formasyonunun olmadığı saptanmış ve böylece bu maddenin osteojenik etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Hatta hidroksiapatit içine BMF (Bone Maturing Faktör) eklenerek bu özelliğin sağlanılmasına çalışılan araştırmalar yapılmaktadır.

İmplant subperiostal olarak veya defekt içerisine uygulandığında kemik ile kimyasal bağlar oluşarak stabilite sağlanmaktadır. İmplant yerleştirildikten sonra düşük dereceli bir inflamasyona neden olurken, implant içerisindeki porlarda herhangi bir değişiklik olmamaktadır. Bu inflamatuvar cevap hızla ortadan kalkar.

Kemik ile implant arasındaki etkileşimleri belirli zaman süreçleri içerisinde göstermek için yapılan bir hayvan çalışmasında şunlar görülmüştür.

İmplantasyondan bir hafta sonra yapılan histolojik kesitlerde implantın etrafı adeta bir kapsül gibi mezenkimal hücreler tarafından sarılmıştır. Bu hücreler arasında rejeksiyon belirtileri olan multinükleler dev hücreler ve inflamatuvar hücreler yoktur. Bu safhada implant içerisine doğru yeni kemik gelişimi bulunmamaktadır. (4.7)

İmplantasyondan iki hafta sonra porlar mezenkimal hücreler ile dolmağa başlamakta ve bu hücreler kemik iliği orijinli hücreler gibi görünmektedir. Periferden itibaren implantın ortasına doğru kemikleşme başlamaktadır. Bu olayda implant ile kemik dokusu arasındaki temas yüzeyinin çokluğu ve yakınlığı önemli rol oynamaktadır. Bu arada dekortike edilmiş kemiklerde kemikleşmenin daha hızlı olduğu gözlenmektedir.

Dördüncü haftada implant içine yeni kemik gelişimi daha yoğun olmakta ve çevre kemik dokusu ile yeni kemik dokusu arasındaki devamlılık daha iyi duruma gelmektedir. Ayrıca por büyüklüğü küçük oldukça yeni oluşan kemik dokusu miktarı o kadar çok olmaktadır.

Hemopoetik fonksiyonu olan yeni kemik iliği, yeni kemik matriksinin yakınında 6. haftadan sonra görülmeye başlamaktadır. Bu safhada muhtemelen osteoklastların oluşturduğu parsiyel kemik rezorpsiyonu izlenmektedir ki bu da

kemik ve kemik iliği remodelizasyonunun bu safhada başladığını göstermektedir.

İmplantasyondan sonraki 10. haftada yeni kemik iliği sınırları daha belirgin olarak izlenmekte ve bu safhadan itibaren por büyüklüğü ile yeni kemik gelişimi arasında herhangi bir fark bulunmamaktadır.

Kuvvetlendirme amacıyla implant kullanılan vakalarda 12. haftada alttaki kemik korteksinin implant ile iyi bir kaynama gösterdiği ve bu safhada hemen periostun altındaki porlarda implant içerisine yumuşak doku büyümelerinin olduğu bulunmuştur.

Porlar içerisinde yeni kemik dokusu ile dolması 20. haftaya kadar hızla devam etmekte, 35. haftada maksimuma varmaktadır. Yapılan çalışmalarda genellikle implant içerisindeki tüm porların yeni kemik dokusu ile tam olarak dolmadığı gözlenmiştir.

İmplant içerisinde yeni kemik gelişimi süresince osteo blastlar genellikle porların kenarlarına yerleşmekte ve bunlar kemik matriksini salgılamaktadırlar. Daha sonra osteoid adı verilen ara madde mineralize olmakta ve daha ileri safhada yeni kemik dokusu içerisine kan damarları girerek haversian sistemleri oluşturmaktadır.

3 - Biyodegradasyon :

Biyodegradasyon bu tür implantlar için önemli bir özelliktir. Çeşitli alanlarda kullanılmalarından dolayı biyolojik çevreye karşı olan davranışları ve materyalin gerçek karakteri konusunda literatürde verilen kesin bir bilgi yoktur.

Bu konuda erken bir çalışma olarak trikalsiyum fosfat veya preparat adıyla β - Whitlockide ile hidroksiapatitin kontrollü olarak değişik porozitelerde üretilen

seramikleri karşılaştırılmışlardır. Bu çalışmanın sonunda trikalsiyum fosfatın porozitesinin değiştirilmesi ile biyodegradasyonunun azaltılabildiği görülmüş ve poroziteyi şu faktörlerin etkilediği belirlenmiştir;

- 1- Sinterizasyon sırasındaki basınç
- 2- Sinterizasyon öncesi, sinterizasyon sıcaklığına çıkarılmış toza gerekli sıkıştırmanın yapılması
- 3- Sinterizasyon süresi
- 4- Ayrıca Mg ve Fe gibi minerallerin eklenmesi ile biyodegradasyonun azaltılabileceği gösterilmiştir.

Oysaki hidroksiapatitin porozitelerinin değiştirilmesi degradasyonunu pek etkilememiş ve yapılan ilk çalışmalarda % 12 rezorpsiyona uğradığı bildirilen hidroksiapatitin daha sonraki gerek deneysel çalışmalarda gerekse klinik uygulamalarda çok az rezorbe olduğu ve bunun pratikte bir öneminin bulunmadığı gösterilmiştir. (7, 24, 25)

Diğer bir çalışmada ise kemik veya yumuşak doku içrisine implante edilen hidroksiapatitin biyodegradasyon olayından önemli ölçüde etkilenmediği, oysaki aynı şekilde uygulanan trikalsiyum fosfatın belirgin bir şekilde biyorezorpsiyona uğradığı gösterilmiştir.

Rezorpsiyon sıklıkla implantın periferinden başlamakta olup aynı şekilde yeni kemiğin gelişmesinde implantın periferinde yer almaktadır. Böylece degradasyon olayının kemik rejenerasyonunu engelleyeceği saptanmıştır.

Herhangi bir vakada biyorezorpsiyon oranı ideal olarak klinik gereksinimlere uyum göstermelidir. Kalsiyum fosfat bileşiklerinin yarı ömrü mekanik güç gerektiren boşluklar dolduğunda daha uzun, sadece boşluk doldurma amacıyla kullanıldığında ise daha kısa olmalıdır. Sonunda tüm implantlar içeri doğru büyüyen kemiğin derece derece

yeniden şekillenmesine izin vererek tamamen rezorbe olmalıdırlar. Ne yazıkki halen mevcut implantların hiç birisi biyodegradasyon oranlarını önceden belirlemeye izin veren yapısal ve kimyasal özellikleri açısından standardize edilmemişlerdir.

Rezorbsiyon implantın biyomekanik özelliğininide etkileyeceğinden dolayı oldukça önemli bir kriterdir. Trikalsiyum fosfat implantı belirgin bir şekilde biyodegradasyona uğradığı için yüklenme olan bölgelerde kullanılmamaktadır. Oysaki hidrosiapatit biyodegradasyona hiç uğramadığı için yüklenme olan bölgelerde rahatlıkla kullanılabilir (7, 24, 25)

4 - Hidroksiapatit Osteoindüktif mi, Osteokondüktif mi ?

Son zamanlarda poröz hidroksiapatitin osteofilik özellikleri ortaya konmuştur, fakat bu tür materyallerin herhangi birinin osteogenesisi uyarıcı etkisi olduğuna dair kesin bir kanıt yoktur. Çoğunlukla yerleştirildiği kemik yatağından içine doğru yeni kemiğin gelişmesine izin verecek iletici bir madde, yani osteokondüktif bir madde olduğu kabul edilir.

İmplantın cilt altı veya adele dokusu içine yerleştirilmesi sonucunda o bölgede implant içinde yeni kemik oluşumu gözlenmemiştir. Oysa implant + demineralize kemik tozunun Rhesus maymunlarının cilt altına yerleştirilmeleri ile bu bölgelerde yumuşak doku içerisinde kemikleşmeler saptanmıştır. Tek başına yerleştirilen poröz hidroksiapatit granülleri etrafı kalın bir fibröz tabaka ile çevrilirken, implant + demineralize kemik tozu yerleştirilen yerlerde böyle bir olaya rastlanmamıştır. (10)

Böylece implantın tek başına osteoindüktif bir özelliği olmadığı, fakat içerisine kemik büyümesi için bir zemin oluşturabildiğine karar verilmiştir.

Eğer kalsiyum fosfat biomateryellerinden sadece osteokondüktif değil aynı zamanda osteoindüktif olarak da yararlanılmak isteniyorsa bunu sağlayacak faktörler ilave edilmelidir.

Kollagen eklenmesi, osteoindüktif proteinlerin eklenmesi, aspire edilmiş kemik iliği eklenmesi ve elektrik stimülasyonu ile porlar içerisine kemik regenerasyonunu arttırmak için çalışmalar yapılmaktadır.

Ayrıca son zamanlarda kemiğin yüzey şarjından kaynaklanan elektro kinetik potansiyeli arttırmak için bioaktif seramik dediğimiz kalsiyum ve fosfor dengeleri bozulmuş, instabil hale getirilmiş hidroksiapatitlerle bu olayın stimüle edilmesi için çalışılmaktadır.

5 - Hidroksiapatitin Biomekanik Özellikleri :

Hidroksiapatit seramiği diğer bütün seramikler gibi kompresyon ve gerilme kuvvetiyle kolayca kırılabilen bir maddedir. Makaslama kuvveti ise diğerlerine göre daha az kuvvet ile seramiğin kırılmasına neden olur. Seramiklerin gerilmeye dirençlerinin düşük olmasının nedeni düzensiz bir yüzeye sahip olmalarındandır, (poröz hidroksiapatit seramiğinde olduğu gibi). Ezilme yükü altında seramikte yüzey düzensizliğinden dolayı bir stres konsantrasyonu gelişir, çünkü seramiğin plastik deformasyon ile rahatlaması söz konusu değildir. İşte bu durumdaki seramiğe gelen ezici kuvvetler stresin yüzeyde yoğunlaşmasına neden olurlar. Maddenin dayanıklılığının azalması sonucunda da yüzeyden başlayan mikro kırıklar oluşur ve yüklenmenin artmasıyla kırıklar derinleşir.

Özetlemek gerekirse gerilme kuvvetine neden olan herhangi bir güç, seramiğin yüzey gerilimini aştığı zaman yapıda bir çatlağın oluşması ile madde buna cevap verir. (22)

Hidroksiapatitin yapısal özelliği bütünüyle spongioz kemiğe benzemektedir. Yapılan mekanik testlerde;

Uygulanan sıkıştırıcı kuvvetin aksı kanal aksına paralel olduğu zaman dayanıklılık oranı yaklaşık 412 N/cm^2

Uygulanan sıkıştırıcı kuvvetin aksı kanal aksına dik olduğu zaman dayanıklılık oranı yaklaşık 84 N/cm^2 olduğu saptanmıştır.

Yapılan ek testler şunu göstermiştir, hidroksiapatitin longitudinal kanal aksı ile uygulanan kuvvetin aksı arasındaki açının artmasıyla hidroksiapatitin sıkıştırıcı kuvvetlere dayanıklılığı süratle azalır. Böylece 40° den büyük açılar için yüklenme kuvveti kanal aksının 90° lik yüklenme kuvveti aksına oranına neredeyse eşittir. (22)

Bu yapısal geometrik özelliğinden dolayı spongioz kemik gibi anizotropik özellikler gösterir. Oysa ki spongioz kemik kadar güçlü değildir ve herhangi bir yönde plastik özellik göstermez.

Bunun en büyük ve önemli nedenide yapısında kollagen matriksin olmamasıdır.

Gelen kuvvet seramiğin longitudinal kanal aksına paralel olarak yönlendirildiği zaman hidroksiapatitin elastik sertliği neredeyse kemiğe yaklaşır, fakat kollagen doku yokluğundan dolayı enerji emme kapasitesi asla kemik kadar olmaz. Maksimum dayanıklılığı ve enerji emme kapasitesi yüklenen kuvvet ile ilişkili olarak kanalların yerleştirildiği yönler bağıdır. Kuvvet seramiğin kanal aksına

paralel olarak uygulandığı zaman maksimum dayanıklılık, kollagen doku yokluğuna rağmen, spongioz kemiğin % 55'i kadar olabilmektedir. Bu da hidroksiapatitin belirgin bir şekilde spongioz kemikten daha zayıf olduğunu gösterir. (7, 20, 22)

Fakat hidroksiapatit ve normal spongioz kemik greftinin implantasyonundan 6 ay sonraki incelemelerinde her ikisinde normal spongioz kemikten daha sert ve daha dayanıklı oldukları görülmüştür. Bunun nedeni yeni oluşan kemiğin, greft veya implant trabeküllerinin üzerini örterek onları yoğun bir yapı haline getirmesidir. Hem implantın hem de greftin sertliği ve dayanıklılığı zamanla implantın degradasyonu veya kemiğin ramodele olması ile muhtemelen azalacaktır.

6 ay sonunda içerisine kemik büyüyen hidroksiapatitin spongioz kemikten daha güçlü olduğu fakat daha sert olmadığı görülmüştür. Maksimum dayanıklılık spongioz kemiğin 3 misline çıkar. Bu mekanik dayanıklılıktaki değişim muhtemelen içerisine dolan yeni kemiğin onu daha dens bir yapı haline getirmesi nedeniyledir.

Kemik greftinden daha az sert olan hidroksiapatitin enerji emme kapasitesi 1,68 kere kemik greftinden daha fazla olarak bulunmuştur. Bununda pratikte yararı şudur; hidroksiapatitin daha güçlü olmasının yanı sıra daha fleksibil ve enerji emme kapasitesinin daha fazla olması üzerini örten eklem kıkırdağına daha az zarar vermesine neden olacaktır.

Hidroksiapatit kortikal kemik ile karşılaştırıldığında kortikal kemiğin havers sistemlerinin daha yoğun olduğu görülür. Kortikal kemiğe yüklenme yapılan çalışmalarda, sonuçların yüklenmenin tipine göre değiştiği görülmüştür. Genel olarak çizgisel elastisite özelliklerini kırılincaya kadar korurlar. Gerilim kuvveti uygulandığında ise plastik deformasyon gösterirler.

III - MATERYEL VE METOD :

MATERYEL

Bu çalışmamızda yurt dışı kaynaklardan elde ettiğimiz sentetik hidroksiapatit konileri ile Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında Profesör Doktor Sabri ALTINTAŞ ve ekibi tarafından insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen doğal hidroksiapatiti karşılaştırdık. İnsan kemikleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalının ameliyathanesinden temin edildi.

İstanbul Teknik Üniversitesi Metalurji Fakültesi'nde Profesör Doktor Adnan TEKİN ve ekibi tarafından her iki maddenin benzer ve farklı yönlerini ortaya koymak için Jeol JSM-T 330 taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve buna bağlı EDX (Energy Dispersive X-Ray Spectrometers) ile çalışmalar yapıldı.

Örneklerimizi iletkenlik ve elektron akışının sağlanması açısından karbon ve altın ile kapladıktan sonra elektron mikroskobuna koyduk.

İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarında Profesör Doktor Kasım CEMAL GÜVEN ve ekibi tarafından her iki seramiğin pH değerleri ölçüldü ve içerlerinde Ağır Metal aranması yapıldı.

METOD

A - Taramalı Elektron Mikroskobu :

Ayırım gücü olarak tanımlanan, iki noktayı birbirinden ayırt edebilme yeteneği çeşitli optik sistemler için

farklıdır. İnsan gözünün ayırım gücü, aralarında 2.5 cm uzaklık olan iki noktayı 100 metreden ayrı ayrı görmeğe yetecek kadardır. Dolayısıyla insan gözünün çok ince ayrıntıları görebilme olanağı sınırlıdır. Bu nedenle görüntü iletimini sağlayan ışık yollarını merceklerle değiştirerek, daha küçük ayrıntıların görülebilmesine olanak sağlayan aygıtlar geliştirilmiştir. Elektron-optik prensipler çerçevesinde tasarlanmış tarama elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM) bu amaca hizmet eden aygıtlardan biridir. Gerek ayırım gücü, gerek odak derinliği ve gereksede görüntü ve analizi birleştirebilme özelliği tarama elektron mikroskobunu araştırma ve incelemelerde geniş ölçüde kullanılan bir aygıt haline getirmiştir.

Diğer taraftan mikro işleme aygıtı ve bilgisayarların mikroskopla birlikte kullanım kolaylıklarını getirmiş ve yeni araştırma yöntemlerine olanak sağlamıştır. Diğer yöntemlerle çok uzun zaman alabilecek ayrıntılı veri toplama ve toplanan veri üzerinde yapılan istatistiki işlemler artık otomatik olarak ve çok kısa zamanda tamamlanabilmektedir. Böylece incelenen örneklerin özellikleri daha kesin ve daha ayrıntılı olarak ortaya çıkmaktadır.

Tarama elektron mikroskoplarının belirli alanlarda diğer mikroskoplara üstün olduğu bazı özellikleri vardır. Özellikle topoğrafik ayrıntıların görüntülenmesinde odak derinliği çok önemlidir. Örneğin 1000 x büyütmede optik mikroskobun odak derinliği yalnızca 0.1 mikron iken tarama elektron mikroskobunda 30 mikrondur.

Tarama mikroskobuna girecek örneklerde aranılan başlıca özellikler vakumda bozulmamaları ve iletken olmalarıdır. Katı haldeki numuneler genellikle vakuma dayanıklıdır. Metaller gibi iletken numuneler doğrudan incelenebilirler. Seramik gibi yalıtkan maddeler ise mikroskoba konmadan önce

iletken bir tabaka ile kaplanırlar. Tarama elektron mikroskopundaki görüntü gözle görülenin büyütülmüş hali olduğundan sonuçların değerlendirilmesi kolaydır.

B - Enerji Dağılım Analizi Tekniği ile Mikro Analiz

1- Kalitatif Analiz :

Bir numunedeki elementlerin karakteristik X ışınları yardımıyla saptanmasına kalitatif analiz denir. Elektron demetinin örnek içinde elastik olmayan saçılması sonucu oluşan X ışın fotonları enerjilerine göre ayrılarak sayıldıktan sonra dağılımı kolayca izleyebilmek için bir spektrum şeklinde gösterilirler. Sayılan X ışını fotonlarının enerjileri spektrumun X ekseninde, sayım süresince algılanan değişik enerjideki X ışını fotonlarının sayısı ise spektrumun Y ekseninde gösterilirler. Örnekteki her element bu spektrumda karakteristik enerjisine denk gelen noktada bir pik oluşturur. Bazı elementlerin birden fazla piki olabilir. Kalitatif analizde spektrumdaki piklerin enerjileri belirlenir, bu enerjilerde X- ışını yayımlayan elementler bulunur, gerekli irdelemeler yapıldıktan sonra örnekteki elementler saptanmış olur.

Günümüzde modern sistemlerde kalitatif analiz bilgisayarlar yardımı ile yapılmakta olup, gerekli veri bilgisayarlara yüklenmiştir. Birçok uygulamada pikler bilgisayar tarafından otomatik olarak tanımlanabilir. Ancak karışık spektrumların analizinde bu programlar yeterli olmayabilir. Bu gibi durumlarda bilgisayar olasılıkları belirler, araştırmacı örnek hakkında sahip olduğu diğer bilgilerden de yararlanarak kesin saptamayı yapar.

Örnekteki elementlerin bileşimdeki yüzdeleri ne kadar az ise bu elemente ait pikler de o kadar küçük olacaktır. Kalitatif analizde duyarlılık sınırı taban sayımındaki dalgalanmalar arasında görülebilecek en küçük pikle sınırlanmıştır.

2 - Kantitatif Analiz :

Kantitatif analiz için 6rnekten alınan spektrumdaki pikler ile bileşimi belirlenmiş standart 6rneklerden alınan spektrumlardaki pikler karşılaştırılarak, her element için 6rnekteki pikle standarttaki pikin oranı olan k- oranları bulunur. k- oranları 6rneğın kaba bileşimini yansıtır ve bazı d6zeltme programlarında işlenerek daha gerçekçi bir bileşim elde edilir. Son bileşimi hesaplayacak olan d6zeltme programlarının ana girdisi olması nedeniyle k- oranlarının saptanmasında hata oranı ne kadar aza indirgenmişse o kadar güvenli olur.

Gerek 6rnekten gerekse de standartlardan toplanacak spektrumların aynı koşullarda toplanmış olmaları gereklidir. B6ylece spektrumlar arasındaki fark yalnızca bileşimindeki farkı yansıtacaktır.

ÖRNEK I - Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarının da insan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin toz hali;

Örnek temizlendikten sonra karbon ile kaplanarak iletken hale getirildi, taramalı elektron mikroskopunda 150 X, 500 X, 1000 X ve 5000 X büyütmelerde yüzey taranarak incelendi, fotoğrafları çekildi.

Ayrıca 150 X büyütmede EDX ile mikro analiz yapılarak, yapısına giren elementler ve oranları saptandı (Şekil 2).

SO: QUANTIFY

REF.S EDS:MKG EDS:ALK EDS:SIK EDS:PK EDS:CAK EDS:FEK

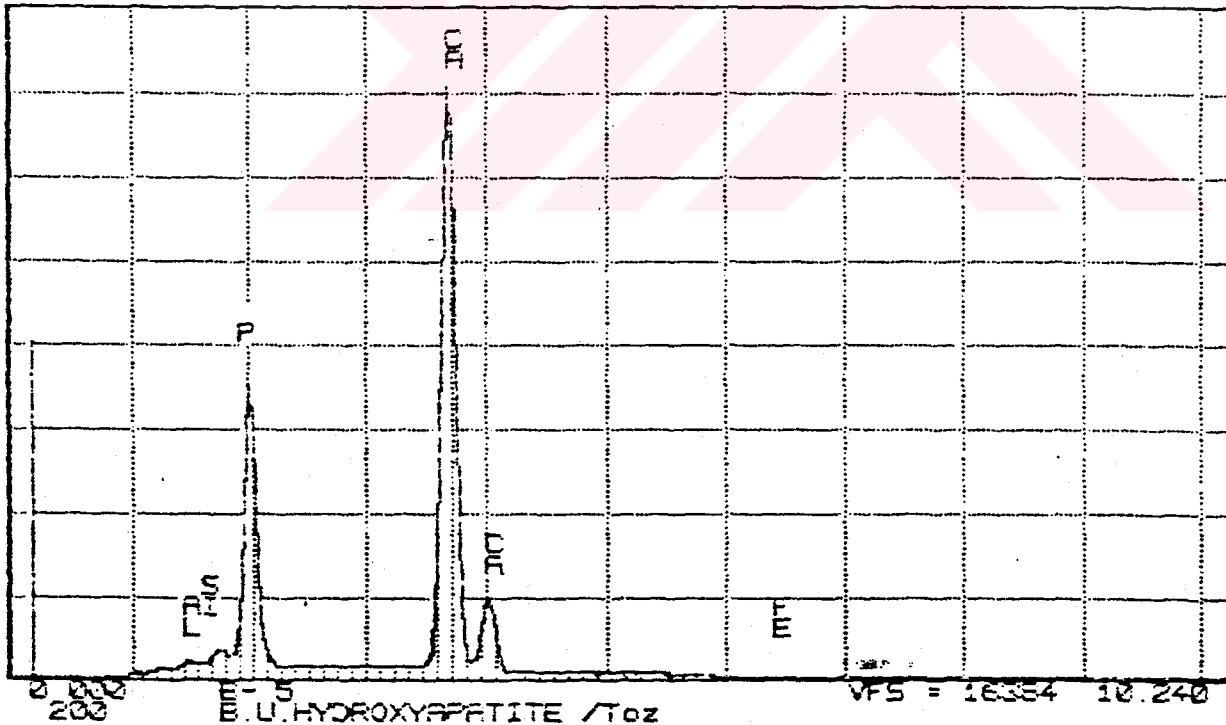
ZAF CORRECTION 20.00 KV 43.00 Degs

No. of iterations 3

----	K	[Z]	[A]	[F]	[ZAF]	ATOM.%	WT.%	
MG-K	0.000	0.977	1.777	0.989	1.719	0.00	0.00	G →
AL-K	0.004	1.005	1.439	0.978	1.416	0.85	0.43	*
SI-K	0.009	0.976	1.265	0.960	1.186	1.32	1.01	
P-K	0.263	1.009	1.164	0.976	1.148	32.95	27.71	
CA-K	0.721	0.996	1.069	0.999	1.066	64.78	70.50	
FE-K	0.001	1.089	1.077	1.000	1.173	0.10	0.15	

* - High Absorbance

IN-5400 TECHNICAL UNIVERSITY OF ISTANBUL FRI 29-MAR-91 13:20
CURSOR: 0.000keV = 0



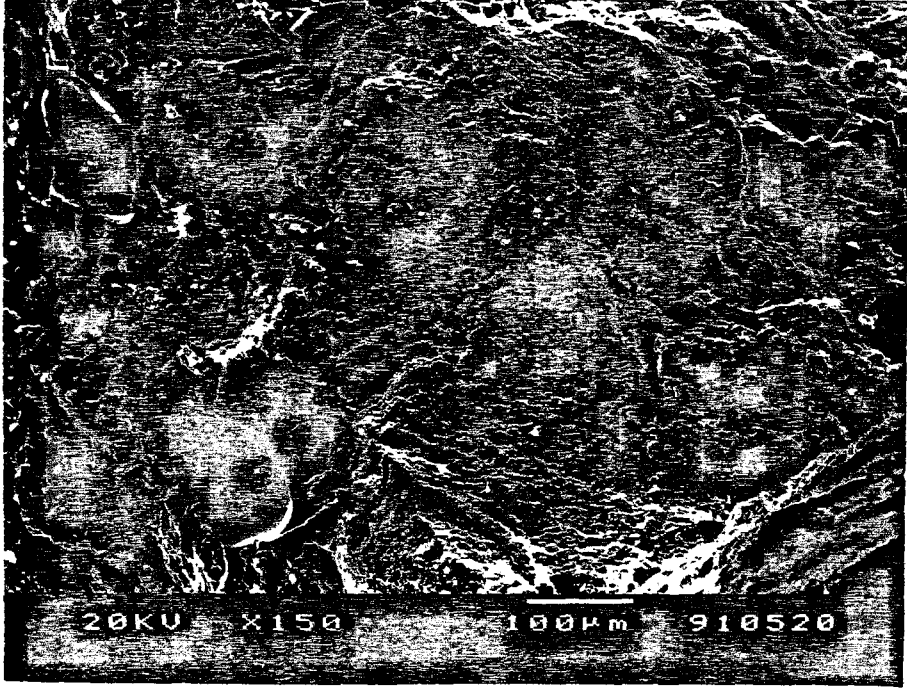
ŞEKİL 2

ÖRNEK II - Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında insan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin tozunun yüksek basınç ve ısı altında seramik haline getirilmiş şekli;

Örnek temizlendikten sonra karbon ile kaplanarak iletken hale getirildi, taramalı eletron mikroskopunda 150 X, 500 X, 1000 X ve 5000 X büyütmeleerde yüzey taranarak incelendi, fotoğrafları çekildi. (Foto 3, 4)

Ayrıca 150 X büyütmede EDX ile mikro analiz yapılarak, yapısına giren elementler ve oranları saptandı (Şekil 3)

Aynı örnekten alınan başka bir parça altın ile kaplanarak iletken hale getirilip mikroskop için hazırlandıktan sonra 5000 üzeri büyütmeleerde por ve partikül boyutları ölçüldü ve 7500 X büyütme ile fotoğrafı çekildi. (Foto 9)



Fotoğraf 3 : B.Ü.Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında insan kemiklerinden elde edilmiş hidroksiapatit seramik şekli 150 X büyütme



Fotoğraf 4: B.Ü.Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında insan kemiklerinden elde edilmiş hidroksiapatit seramik şekli 1000 X büyütme

SG: SETUP DEFINITIONS

SG: QUANTIFY

REF.S EDS:M3K EDS:ALK EDS:SIK EDS:P K EDS:CAK EDS:FEK

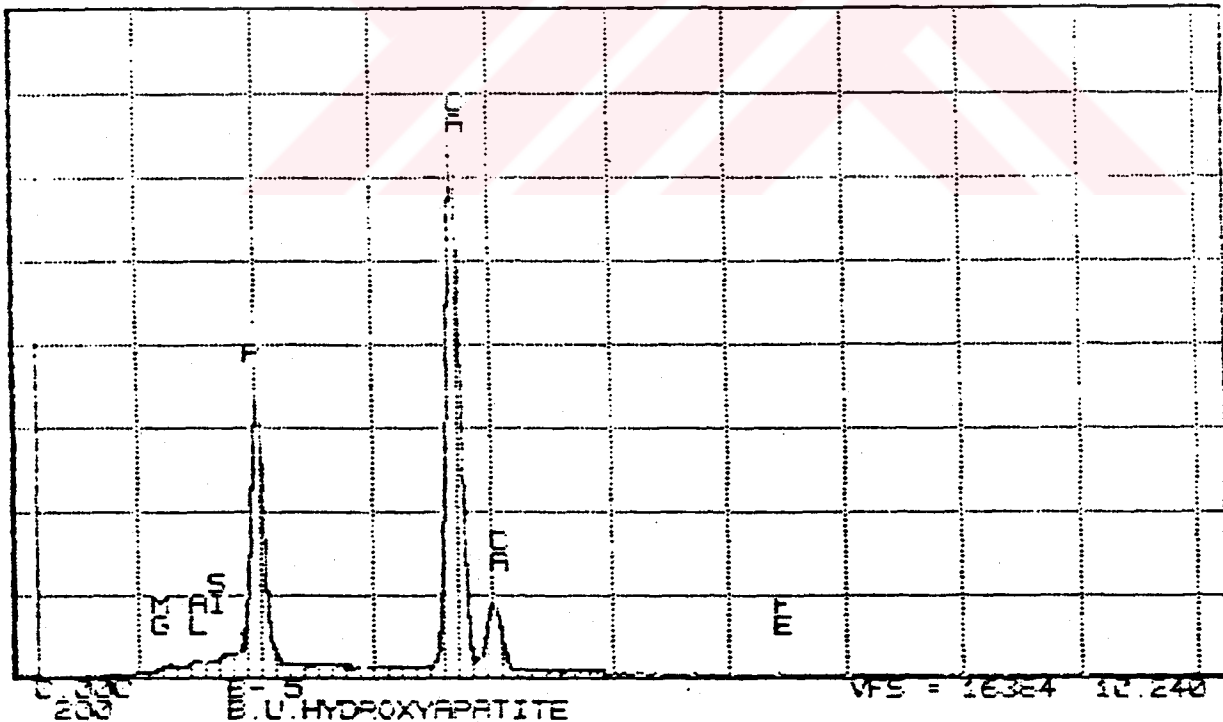
ZAF CORRECTION 20.00 KV 43.00 Degs

No. of Iterations 3

----	K	[Z]	[A]	[F]	[ZAF]	ATOM.%	WT.%	
M3-K	0.003	0.976	1.763	0.989	1.704	0.79	0.52	*
AL-K	0.003	1.005	1.449	0.978	1.428	0.65	0.49	*
SI-K	0.003	0.976	1.269	0.960	1.190	0.55	0.42	
P-K	0.273	1.009	1.159	0.976	1.143	33.94	22.60	
CA-K	0.712	0.998	1.071	0.999	1.067	48.60	49.59	
FE-K	0.003	1.068	1.077	1.000	1.172	0.22	0.40	

* - High Absorbance

TX-5400 TECHNICAL UNIVERSITY OF ISTANBUL FRI 25-MAR-91 11:33
Current: 0.000kev = 0



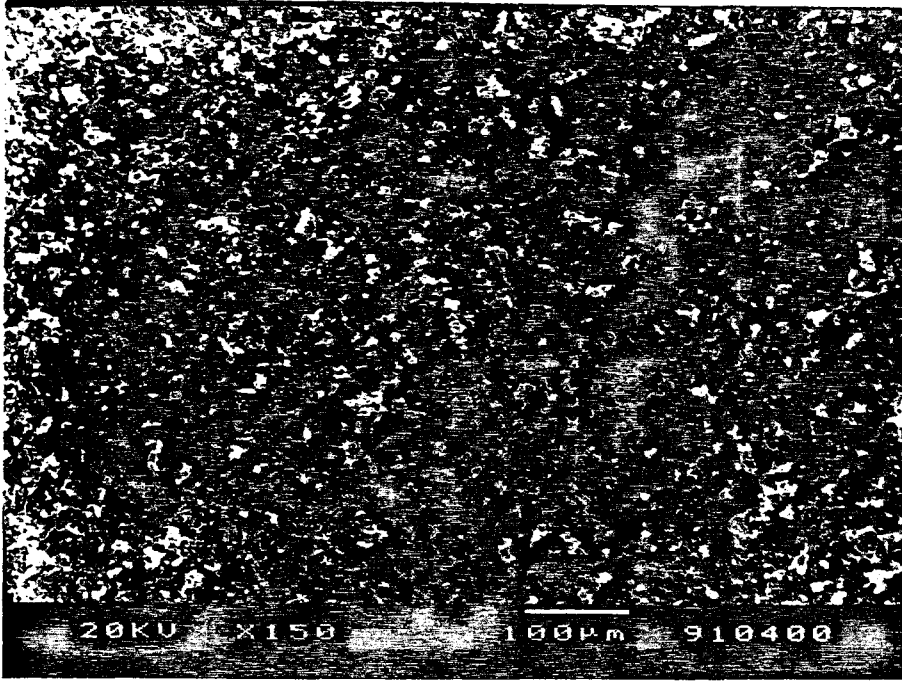
ŞEKİL 3

ÖRNEK III - Japonya'dan Bioceram firmasından getirtilen sentetik hidroksiapatit konisinden alınan bir örnek;

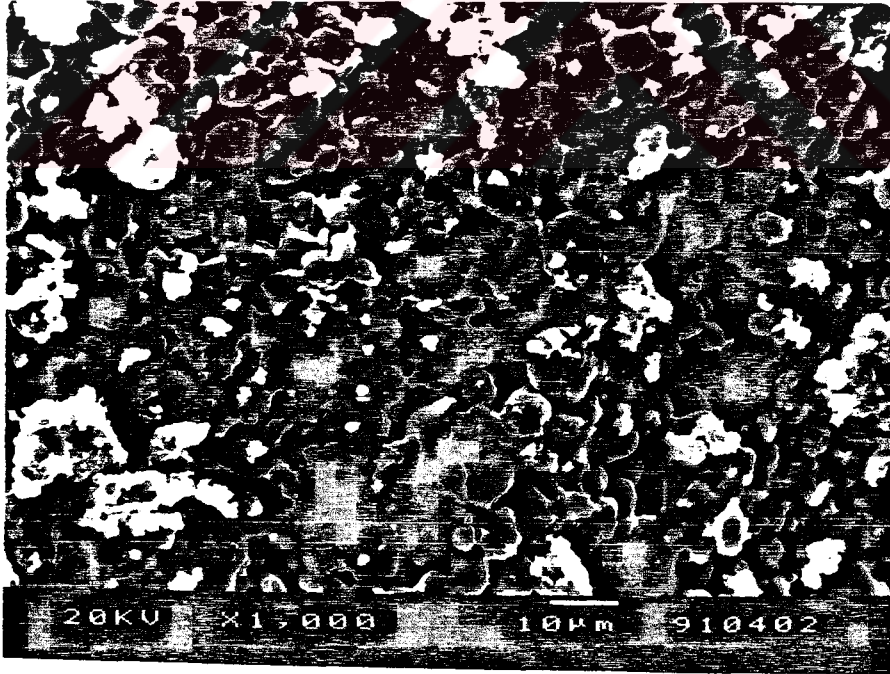
Örnek temizlendikten sonra karbon ile kaplanarak iletken hale getirildi, taramalı eletron mikroskobunda 150 X, 500 X, 1000 X ve 5000 X büyütmeleerde yüzey taranarak incelendi, fotoğrafları çekildi. (Foto 5,6)

Ayrıca 150 X büyütmede EDX ile mikro analiz yapılarak, yapısına giren elementler ve oranları saptandı. (Şekil 4)

Aynı örnekten alınan başka bir parça altın ile kaplanarak iletken hale getirilip eletron mikroskobu için hazırlandı ve 5000 üzeri büyütmeleerde por ve partikül boyutları ölçüldü. 7500 X büyütme ile fotoğrafı çekildi. (Foto 10)



Fotoğraf 5: Japonya'dan Bioceram firmasından getirtilen sentetik hidroksiapatitin 150 X büyütmedeki yüzey görüntüsü



Fotoğraf 6: Japonya'dan Bioceram firmasınidağ getirtilen sentetik hidroksiapatitin 1000 X büyütmedeki yüzey görüntüsü

10. SETUP DEFINITIONS

SG: QUANTIFY

REF.S EDS:F K EDS:CAK

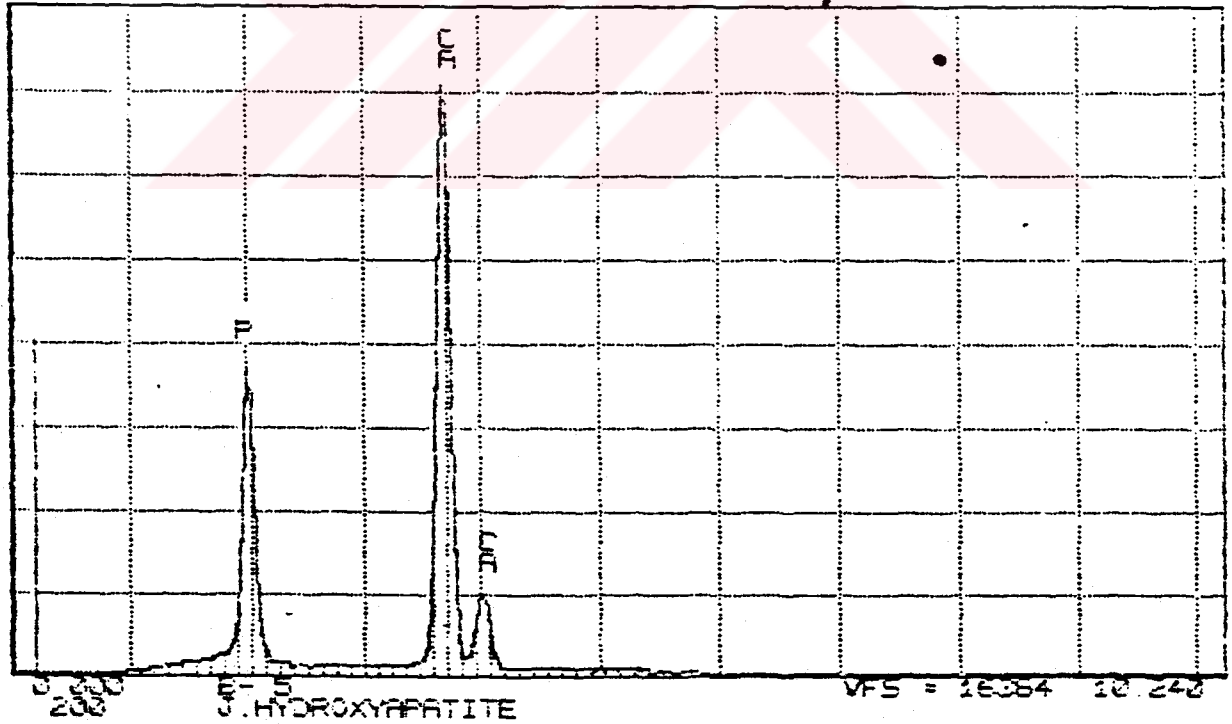
ZAF CORRECTION 20.00 KV 43.00 Degs

No. of iterations 3

	[P]	[ZAF]	[I]	[F]	[ZAF]	ATOM.%	WT.%
P	0.275	1.009	1.140	0.975	1.128	31.22	28.68
Ca	0.724	0.996	1.069	1.000	1.068	68.78	71.32

* - High Absorbance

INSTITUTION TECHNICAL UNIVERSITY OF ISTANBUL FRI 28-MAR-81 13:57
CURRENT: 0.030eV = 2



ŞEKİL 4

ÖRNEK IV - Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin toz hali :

Örnek temizlendikten sonra karbon ile kaplanarak iletken hale getirildi, taramalı elektron mikroskobunda 150 X, 500 X, 1000 X ve 5000 X büyütmeleerde yüzey taranarak incelendi, fotoğrafları çekildi.

Ayrıca 150 X büyütmede EDX ile mikro analiz yapılarak, yapısına giren elementler ve oranları saptandı. (Şekil 5)

ÖRNEK V - Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin tozunun yüksek basınç ve ısı altında sıkıştırılarak seramik haline getirilmiş şekli;

Örnek temizlendikten sonra karbon ile kaplanarak iletken hale getirildi, taramalı eletron mikroskopunda 150 X, 500 X, 1000 X ve 5000 X büyütmelerde yüzey taranarak incelendi. fotoğrafları çekildi. (Foto 7, 8)

Ayrıca 150 X büyütmede EDX ile mikro analiz yapılarak yapısına giren elementler ve oranları saptandı. (Şekil 6)

Aynı örnekten alınan başka bir parça altın ile kaplanarak iletken hale getirilip elektron mikroskobu için hazırlandı ve 5000 üzeri büyütmelerde por ve partikül boyutları ölçüldü. 7500 büyütme ile fotoğrafı çekildi (Foto 11)

SETUP DEFINITIONS
100,30
0,0
*X

SQ: SETUP DEFINITIONS

SQ: PROCESS

COEFF. LEAST SQUARES FIT [0.00->10.23 keV]

TIP-5 200 Secs.

REFERENCE	K-RATIO	NET COUNTS
(1)MGK	0.00166	210
(7)P K	0.45345	65472
(10)CAK	0.86368	128718

SQ: QUANTIFY

REF.S EDS:MGK EDS:ALK EDS:P K EDS:CAK

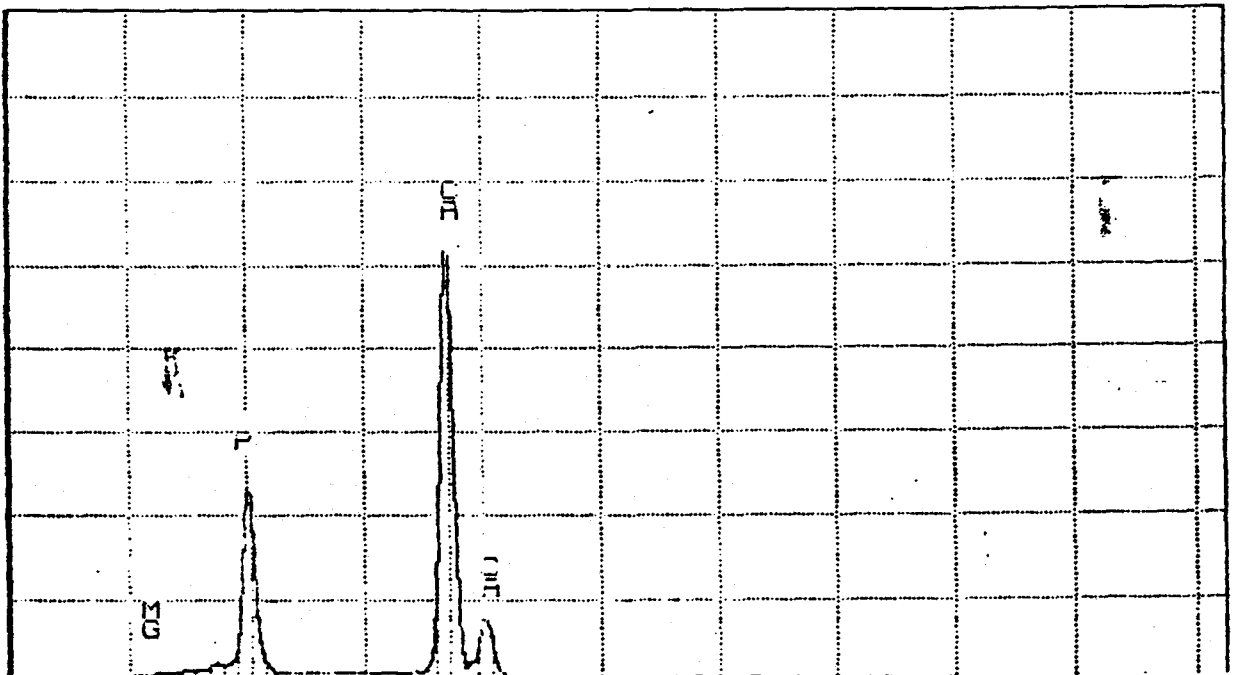
ZAF CORRECTION 20.00 KV 43.00 Degs

No. of Iterations 3

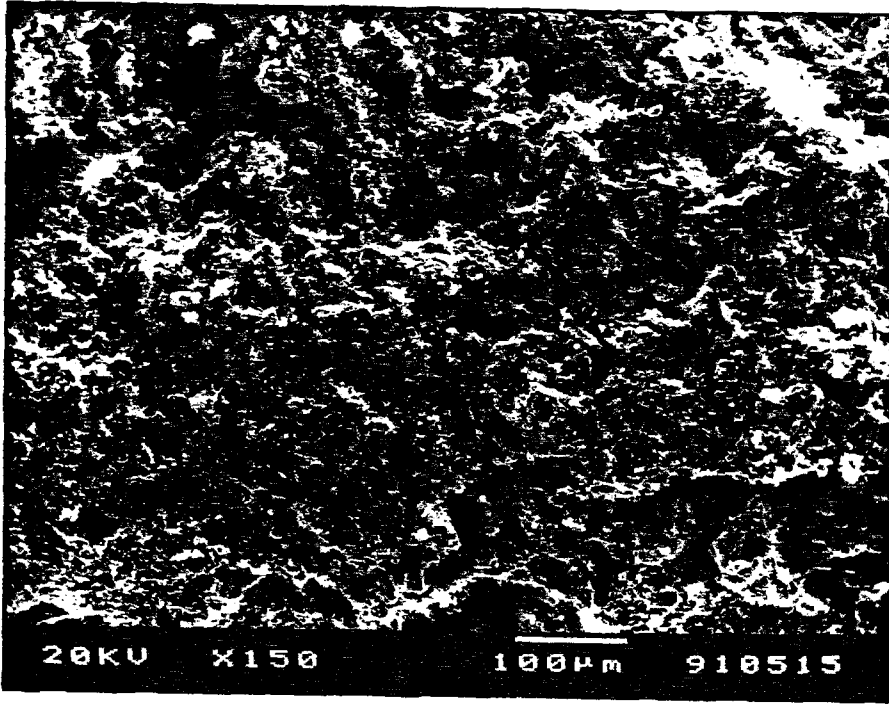
----	K	[Z]	[A]	[F]	[ZAF]	ATOM.%	WT.%	*
MG-K	0.001	0.977	1.801	0.990	1.744	0.28	0.18	*
AL-K	0.000	1.006	1.464	0.930	1.444	0.00	0.00	G *
P -K	0.243	1.010	1.152	0.974	1.134	30.62	25.64	
CA-K	0.755	0.997	1.062	1.000	1.058	68.90	74.18	

* - High Absorbance

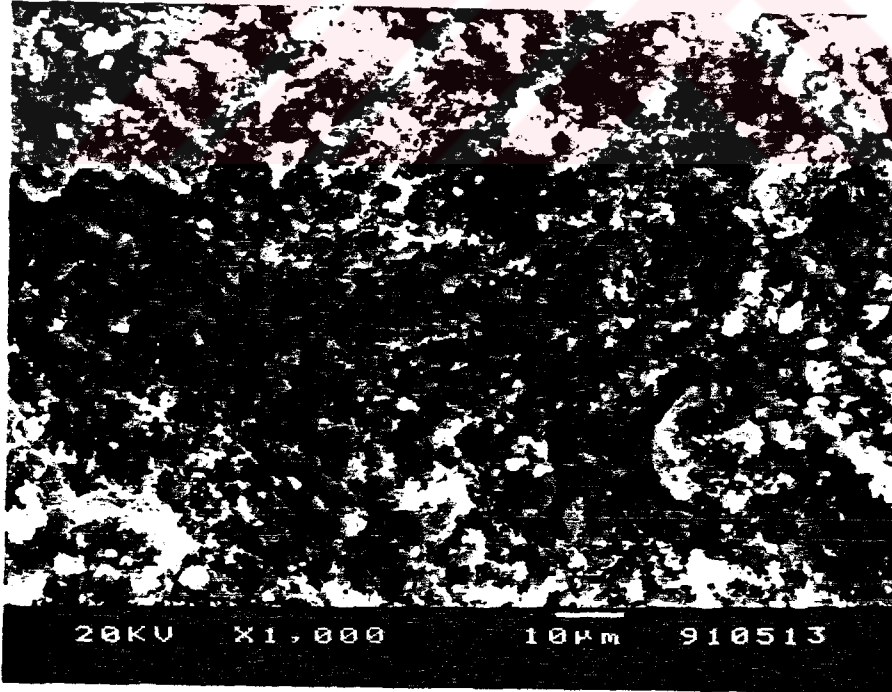
TN-5400 TECHNICAL UNIVERSITY OF ISTANBUL FRI 12-APR-91 12:18
Cursor: 0.000keV = 0



ŞEKİL 5



Fotoğraf 7: Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin yüksek ısı ve basınç ile seramik haline getirilmiş şeklinin 150 X büyütme ile yüzey görüntüsü



Fotoğraf 8: Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin yüksek ısı ve basınç altında sıkıştırılarak seramik tablet haline getirilmiş şeklinin 1000 X büyütme ile yüzey görüntüsü

0.020
200

TIP-5 / B.U. HYDROXYAPATITE Ani Press

Vrs = 15304 10.240

SQ: PROCESS

COEFF LEAST SQUARES FIT (0.00->10.23 keV)

TIP-5 / B.U. HYDROXYAPATITE Ani.Press X5000 200 Secs.

REFERENCE	K-RATIO	NET COUNTS
(1)MGK	0.00334	424
(7)P K	0.54008	77979
(10)CAK	1.02452	200139
(13)FEK	0.00199	486

SQ: QUANTIFY

REF.S EDS:MGK EDS:ALK EDS:P K EDS:CAK EDS:FEK

ZAF CORRECTION 20.00 KV 43.00 Degs

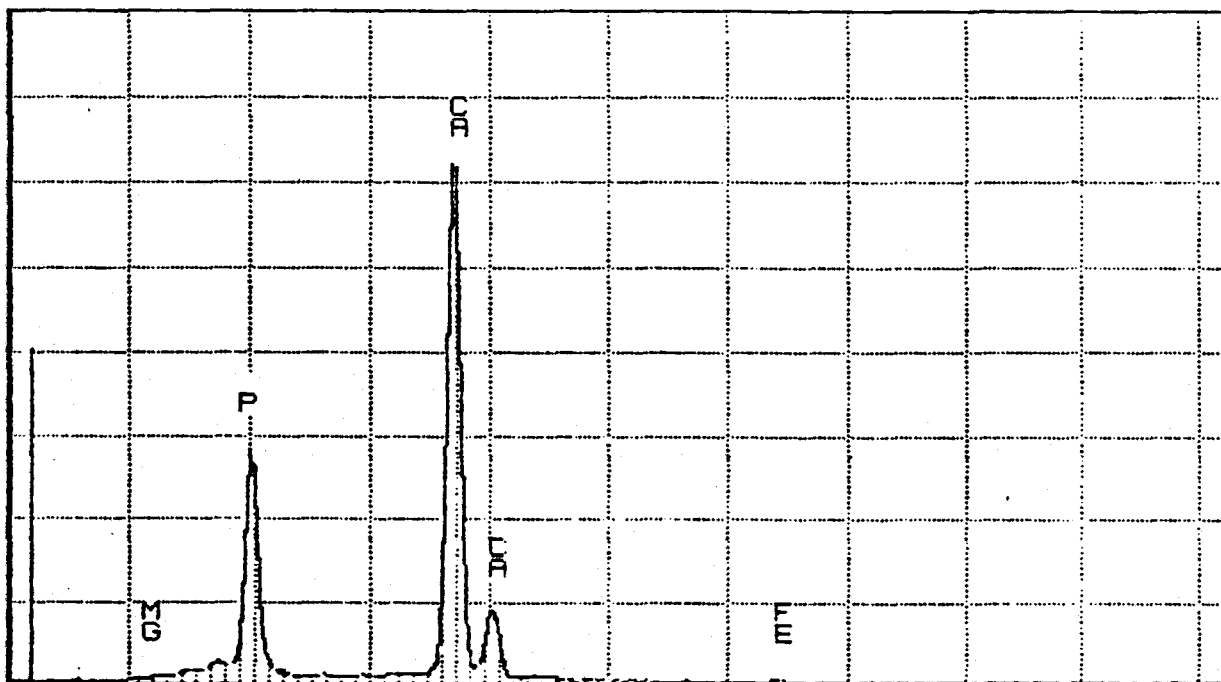
No. of Iterations 3

----	K	[Z]	[A]	[F]	[ZAF]	ATOM.%	WT.%
MG-K	0.001	0.977	1.796	0.990	1.738	0.47	0.31 *
AL-K	0.000	1.006	1.469	0.980	1.449	0.00	0.00 G *
P -K	0.243	1.009	1.155	0.974	1.136	30.81	25.62
CA-K	0.750	0.996	1.062	0.999	1.058	68.44	73.66
FE-K	0.003	1.088	1.079	1.000	1.175	0.28	0.41

* - High Absorbance

TN-5400 TECHNICAL UNIVERSITY OF ISTANBUL FRI 12-APR-91 12:31

Cursor: 0.000keV = 0



0.020
200

TIP-5 / B.U. HYDROXYAPATITE Ani.Press X5000

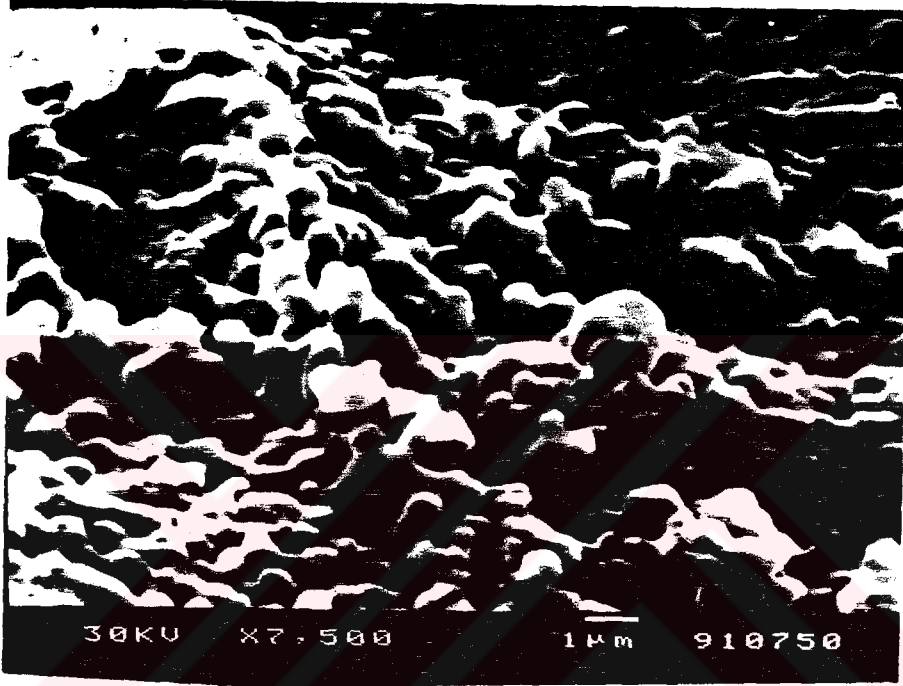
Vrs = 15304 10.240



Fotoğraf 9: Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarın da insan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin altın ile kaplanarak iletken hale getirilmesinden sonra 7500 X büyütme ile çekilen fotoğrafı.



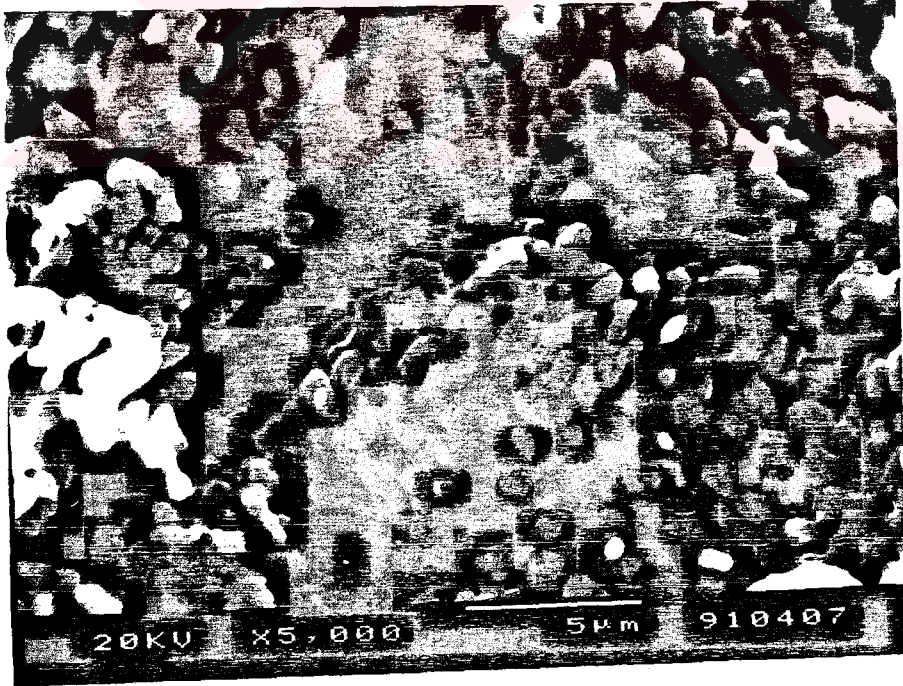
Fotoğraf 10: Japonya'dan Bioceram firmasından getirilen hidroksiapatit seramiğinin altın ile kaplanarak iletken hale getirilmesinden sonra 7500 X büyütme ile çekilen fotoğrafı



Fotoğraf 11: Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin altın ile kaplanarak iletken hale getirilmesinden sonra 7500 X büyütme ile çekilen fotoğrafı.



Fotoğraf 12: Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında insan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin partikül hali, 5000X büyütme



Fotoğraf 13: Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında insan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin seramik hali, 5000X büyütme

Bu çalışmalarla beraber aynı zamanda İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarında sentetik ve insan kemiğinden elde edilen hidroksiapatit seramiklerinin pH değerleri saptandı ve aşağıdaki yöntemlerle ağır metal aranması yapıldı.

I- İngiliz Farmakopesi 1980'e göre ağır metal aranması :

% 4 tiyoasetamid	0.2 gr
% 85 lik gliserin	20 ml
Su	5 ml
1 N NaOH	15 ml

Hazırlanan çözeltilerden 1 ml alınarak su banyosu içerisinde ısıtıldı ve soğutulduktan sonra hemen kullanıldı.

Bu çözelti ile hem sentetik hidroksiapatitte hem de kemikten elde edilen hidroksiapatitte ağır metale rastlanmadı.

II- Amerikan Farmakopesi 19'a göre ağır metal aranması :

2 ml standart kurşun çözeltisi 50 ml lik balon jöje içerisinde konuktan sonra 5 ml NaOH eklendi ve çözelti 50 ml ye su ile tamamlandı.

Test Çözeltisi : Hesaplanmış miktarda test edilecek madde 20 ml su içerisine konduktan sonra 5 ml NaOH eklendi. Çözelti su ile 50 ml ye tamamlandı.

İşlem : Standart çözelti ve test çözeltisi ayrı ayrı tüplere alındı. Sırayla tüplere 5'er damla sodyum sülfid eklenerek karıştırıldı. 5 dakika bekledikten sonra test çözeltisinin renginin standart çözelti renginden farklı olmadığı görülerek test maddesi içerisinde ağır metale rastlanmadığı anlaşıldı.

IV - ARAŞTIRMA SONUÇLARI :

- A-** Taramalı elektron mikroskopunda karbon ile kaplanarak sentetik hidroksiapatitin 150X, 500X, 1000X, 5000X ve altın ile kaplanarak 7500X büyütmede çekilen fotoğraflarından elde edilen görüntüler insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen, doğal kaynaklı hidroksiapatitin, aynı büyütmelelerdeki görüntüleri ile benzerlik göstermektedir. (Foto, 5,6,10)
- B-** İnsan ve hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiklerinin ayrı ayrı yüzey taramaları yapıldığında elde edilen yüzey görüntüleri her büyütmede benzer görüntü özelliklerini taşımaktadır. (Foto 4,8)
- C-** Sentetik olarak elde edilen hidroksiapatitin altın ile kaplandıktan sonra 7500X büyütme ile çekilen yüzey fotoğrafında por boyutları 3-5 mikron arasında ölçülmüştür (Foto 10).
- D-** İnsan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin altın kaplanarak 7500X büyütme ile çekilen yüzey fotoğrafında por boyutları 1-3 mikron arasında ölçülmüştür. Ayrıca partikül kümeleri arasında derin ve geniş yarıklar görüldü. (Foto 9)
- E-** Hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin altın kaplanarak 7500X büyütme ile çekilen yüzey fotoğrafında por boyutları 1-3 mikron arasında ölçüldü. Ayrıca partikül kümeleri arasında derin ve geniş yarıklar görüldü. (Foto 11)

F- İnsan ve hayvan kemiklerinden elde edilen toz ve seramik şeklindeki hidroksiapatitler taramalı elektron mikroskobu ile 5000X büyütmede, fotoğrafları çekilerek karşılaştırıldığında, seramik haline getirilmemiş 75 mikronluk partiküller halindeki hidroksiapatitin stabil ve homojen bir yapıya sahip olmadığı, oysa seramik haline getirilmek üzere işleme giren yapının partiküllerinin belli bir uyum içerisinde dizildikleri, daha stabil ve homojen bir yapı halini aldığı görülmüştür. (Foto 12, 13)

G- Sentetik hidroksiapatitin X-ışınları enerji dağılımı tekniği ile kalitatif ve kantitatif mikro analizi yapıldı. Buna göre yapısına giren elementler ve oranları saptandı. (Şekil 4)

Kalsiyum	% 71.32
Fosfor	% 28.18

H- İnsan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin X-ışınları enerji dağılımı tekniği ile kalitatif ve kantitatif mikro analizi yapıldı. Yapısına giren elementler ve oranları saptandı. (Şekil 3)

Kalsiyum	% 69.58
Fosfor	% 28.60
Magnezyum.....	% 0.52
Alüminyum	% 0.48
Silisyum	% 0.42
Demir	% 0.40

I- Hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin X-ışınları enerji dağılımı tekniği ile kalitatif ve kantitatif mikro analizi yapıldı. Yapısına giren elementler ve oranları saptandı. (Şekil 5)

Kalsiyum	% 73.66
Fosfor	% 25.62
Magnezyum	% 0.31
Demir	% 0.41

J- İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasotik Teknoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarında sentetik hidroksiapatitin ve insan kemiğinden elde edilen hidroksiapatitin pH değerleri ölçüldü.

Sentetik hidroksiapatit pH'sı..... 7.1

Kemikten elde edilen hidroksiapatit pH'sı.....8.8

olarak bulundu.

Kemikten elde edilen hidroksiapatitin alkali nitelikte olması üzerine, bu alkaliliğe karbonatın mı yoksa hidroksil grubunun mu neden olduğunu araştırmak için maddeye asit ilavesi yapıldı. Asit ilavesi ile CO₂ çıkışının olmaması üzerine alkaliliğin hidroksiapatit yapısında yer alan hidroksil grubundan geldiği anlaşıldı.

Alkali nitelikteki bu pH'yı sentetik hidroksiapatitin pH'sına ve aynı zamanda normal vücut pH'sı olan 7.34'e yaklaştırmak için şu işlem yapıldı:

100 gram insan kemiğinden elde edilen hidroksiapatit 4 kere ayrı ayrı 20 mililitre su ile yıkandı ve pH'sı 7,03'e düşürüldü.

K- Amerika farmakopesi (USP XIX) ve İngiliz farmakopesi (BP L980)'e göre ağır metal aranması ile ilgili testler yapıldı. Sentetik hidroksiapatit ve kemikten elde edilen hidroksiapatit içerisinde ağır metale rastlanmadı.

V - TARTIŞMA

Son 10 sene içerisinde bütün dikkatleri üzerine toplayan hidroksiapatitin hayvan deneylerinde beklenen başarı-
lı sonucu vermesinden sonra klinik uygulamada da aynı başa-
rıyla sürdürmesiyle değeri ve önemi kemik cerrahisi ile uğ-
raşan bölümlerde gittikçe artmaktadır. Kullanımının artma-
sına paralel olarak, maddenin yapısı ve özellikleri ile il-
gili tartışmalarda artmaktadır.

Bugün çeşitli merkezlerde sentetik olarak elde edil-
mesinin yanı sıra Genus Goniopora ve Genus Porites gibi tü-
rüne özgü özellikleri olan bazı mercanlardan da
hidroksiapatit elde edilmektedir.

Biz bu çalışmamızda, yukarıda söz edilen iki yönte-
min dışında olarak, Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü La-
boratuvarında insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen
hidroksiapatitin morfolojik ve kimyasal özelliklerini araş-
tırdık ve sentetik olarak elimizde bulunan hidroksiapatitle
karşılaştırarak bu maddeye ne kadar yakın ve ne kadar uzak
olduğumuzu görmeğe çalıştık.

Taramalı elektron mikroskopunda sentetik hidroksi-
apatitin aynı boy ve aynı şekle sahip bir sürü partikülle-
rin birleşmesi ile düzenli bir yapı halini alması sonucu
oluştüğunu gördük. (Foto 6) İnsan ve hayvan kemiklerinin
yakılma, arıtılma ve sinterlenmesinden sonra elde edilen
hidroksiapatitin incelenmesinde de aynı şekil ve aynı boyda
partiküllerin birleşmesiyle bu seramiğin oluştuğunu gördük.
(Foto 4,8) Fakat, bunların benzer yapıya sahip olmalarına

rağmen por ve partikül boyutlarının birbirinin aynı olmadığını, sentetik hidroksiapatitin porlarının 3-5 mikron arasında iken kemikten elde edilen hidroksiapatitin porlarının 1-3 mikron arasında, aynı şekilde porları oluşturan partiküllerin sentetik olanında 4-6 mikron iken kemikten elde edilende 2-4 mikron olduğunu gördük. (Foto 9,10)

Bugün gerekli bazı özel mercanlardan gerekse de sentetik olarak elde edilen hidroksiapatit seramiklerinin por boyutları tartışmalı olup, kaç mikron olacağı konusunda kesin bir sonuca ulaşılmış değildir. (7, 20, 34)

Klawitter 1971 de poröz seramik materyellerinin içerisinde olan kemik büyümesi ile ilgili olarak yaptığı çalışmada etkili bir büyüme için minimum 100 mikronluk por boyutunun gerekli olduğunu söylemiş, ideal por boyutunun 100-150 mikron arasında olması gerektiğini göstermiştir. Arkasından Flathey 1983 senesinde tavşanların vertebrasında yaptığı bir çalışmada uygun por boyutunun 500 mikron olduğunu söylemiştir.

Diğer taraftan bizim çalışmamızda karşılaştırma amacıyla kullandığımız, Bioceram firmasına ait sentetik hidroksiapatitin por boyutları 3-5 mikran arasında olarak tarafımızdan ölçülmüştür. Bu seramiklerin kullanıldığı ve selim kemik tümörlerinden meydana gelen 60 vakayı içeren, ortalama 36 ay takip süreli bir çalışmada 7 vakanın implantasyondan bir yıl sonra yapılan biopsilerinde yeni kemik büyümesinin seramiğin merkezine kadar ulaştığı, porların regenerere olmuş osteonlarla dolduğu gösterilmiştir.

Bütün bu örneklerde gösterildiği gibi por boyutları için bugün kesin bir sınır koymak son derece güçtür.

Bizim çalışmamızın konusu olan, insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen, doğal kaynaklı hidroksiapatit seramiğinin, 1-3 mikron boyutlarında olan porları bu

kaynaklarla karşılaştırıldığında yeterli görülmektedir. Ayrıca gerek öğütme sırasında partikül boyutlarını değiştirerek gerekse de seramik hamuru içerisine istenilen por boyutlarında, sonradan fırında yapabilecek naftalin gibi maddeler koyarak istenilen boyutlarda porların oluşturulması teknik olarak mümkündür. Elde ettiğimiz, doğal kaynaklı hidroksiapatitin değişik por boyutlarındaki seramikleriyle yapılan hayvan deneylerinin sonunda ideal por boyutlarına göre seramik üretilmesi olanaklar dahilindedir.

Çalışmamızın ikinci kısmında insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin EDX ile kalitatif ve kantitatif analizini yaparak sentetik hidroksiapatite ne kadar yakın olduğunu araştırmıştık. Normal kemik mineral yapısına uygun olarak üretilen sentetik hidroksiapatit seramiğinin % 71.32 kalsiyum ve % 28.18 forfor minerallerinin birleşmesi ile oluştuğu ve yapısına başka bir mineral girmediği saptanmıştı. (Şekil 4)

İnsan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin analizinden % 69.58 kalsiyum ve % 28.60 forfor, hayvan kemiklerinden elde edilenin analizinden ise % 73.66 kalsiyum ve % 25.62 forfor bulunmuştu. (Şekil 3,6)

Görüldüğü gibi oranlar normal kemik mineral yapısına ve buna bakılarak yapılan sentetik hidroksiapatit yapısına son derece yakınlık gösteriyordu.

Hayvan ve insan kemiklerinin ürünü olan hidroksiapatitlerin aralarındaki kalsiyum ve fosfor farklılıkları türlerinin farklılığına bağlandı. Farklı türlerinin kemiklerinin mineral içeriklerinde bu kadar ufak oranlarda farklılık olabileceği, hatta aynı tür içerisinde bile yaş, cinsiyet, ırk ve beslenme ile kemik mineral oranlarında değişiklikler olabileceği bilinmektedir. (21,27) :

Doğal kaynaklı, yani insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiklerinde kalsiyum ve fosfor minerallerinin dışında magnezyum, alüminyum, demir ve silisyum gibi diğer minerallerde eser miktarda rastlandı. Şekil 1 ile karşılaştırıldığında yani normal yapıdaki insan kemiğinin EDX ile yapılan mikro analizinde magnezyum, alüminyum ve demirin yine bu oranlara yakın olarak yapı içerisinde yer aldığını görmekteyiz. Bu nedenle eser miktardaki bu minerallerin seramiğin içerisine kemiğin girmesine engel olabilecek yapılar olduğunu düşünmemekteyiz.

Yine eser miktarda bulunan silisyumun ise üretim sırasında hidroksiapatit partiküllerinin içerisinde bekletildiği cam yüzeylerden gelmiş olabileceği düşünüldü ve bunun da üretimin bu aşamasında kolayca engellenebileceğine inanılmaktadır.

Üçüncü aşamada ise İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalında her iki seramiğin pH değerleri karşılaştırıldı. Sentetik olanın pH'sı 7.1 iken, kemikten elde edilen, doğal kaynaklı hidroksiapatitin pH'sı, 8.8 olarak bulundu. Nötr pH değeri 7 olarak kabul edildiğine göre maddemizin 8.8 pH değeri alkali bir özelliği olduğunu gösteriyordu.

Normal kan pH'sı 7.35-7.45 olarak bilinmektedir. Sentetik hidroksiapatitin 7.1 lik pH'sı buna oldukça yakındır. 8.8 lik alkali bir pH değerine sahip olan doğal kaynaklı maddemiz ise bu değerden oldukça farklıdır. Bununla beraber Brighton alkali ortamın osteogenesisi uyardığı görüşünü 1981 yılında 171 pseudoartroz olgusunun bu kurama uygun olarak elektrik stimülasyonu ile tedavisini yaparak kanıtlamıştır. Brighton'a göre doğru elektrik akımı verilerek kallusun şekillenmesi safhası hızlandırılmaktadır. Bunu sağlayanda doğru akımın hücre mikro çevresine etkisi ile yerel oksijen parsiyel basıncını düşürmesi ve bunun da lokal doku pH'sını alkali yönde arttırması ile osteogenesisin uyarılmasıdır. (9)

Bu kaynakların ışığında, kemikten elde ettiğimiz hidroksiapatitin 8.8 pH değerine sahip olup alkali özellik taşımasını, yeni kemik yapımı için bir ara madde niteliğinde olan hidroksiapatit seramiğine ait olumsuz bir özellik olarak düşünmemek gerekir kanısındayız. Bu alkali nitelikteki hidroksiapatiti hayvan deneylerimizde kullanmaktayız.

Fakat deneysel çalışmalarımızda bu hafif alkali durumun olumsuz bir etkisini görürsek, 8.8 pH değerini madde- nin su ile dört kere yıkınması gibi çok basit bir kimyasal reaksiyonla 7.03'e indirebilmekteyiz.



VI - SONUÇLAR :

- A- İnsan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin taramalı elektron mikroskopunda muhtelif büyütmelerindeki yüzey görüntülerinde 2-4 mikron büyüklüğünde partiküllerin 1-3 mikronluk porlar yapacak şekilde birleşerek seramiği oluşturduğunu gördük. Bütün yüzey taraması yapıldığında partikül grupları arasında yer yer çatlakların bulunduğu görüldü.
- B- Hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin taramalı elektron mikroskopunda muhtelif büyütmelerindeki yüzey görüntülerinde 2-4 mikron büyüklüğünde partiküllerin 1-3 mikronluka porlar yapacak şekilde birleşerek seramiği oluşturduğunu gördük. Bütün yüzey taraması yapıldığında partikül grupları arasında yer yer çatlakların bulunduğu görüldü.
- C- Sentetik hidroksiapatit seramiğinin taramalı elektron mikroskopunda muhtelif büyütmelerindeki yüzey görüntülerinde 4-6 mikron büyüklüğünde partiküllerin 3-5 mikronluk porlar yapacak şekilde birleşerek seramiği oluşturduğunu gördük. Bütün yüzey taraması yapıldığında seramiğin homojen olduğu, partiküllerin arasında çatlakların olmadığı görüldü.
- D- İnsan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiği ile hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiği taramalı elektron mikroskopu kullanılarak karşılaştırıldığında por ve partikül boyutları açısından bütünüyle aynı olduğu görülürken, kemik kökenli hidroksiapatit seramiklerinin sentetik olanına oldukça benzer bir yapıya sahip oldukları görüldü.

E- Sentetik hidroksiapatit seramiğinin X-ışınları enerji dağılımı tekniği ile kalitatif ve kantitatif yapıldı. Yapısına giren elementler ve oranları saptandı.

Kalsiyum % 71.32
Fosfor % 28.18
Ca/P $71.32/28.18=2.53$

İnsan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin X-ışınları enerji dağılımı tekniği ile kalitatif ve kantitatif analizi yapıldı, buna göre yapısındaki Ca ve P değerleri şu şekilde bulundu :

Kalsiyum % 69.58
Fosfor % 28.60
Ca/P $69.58/28.60=2.43$

Hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğinin X-ışınları enerji dağılımı tekniği ile kalitatif ve kantitatif analizi yapıldı, buna göre yapısına giren Ca ve P oranları şu şekilde bulundu;

Kalsiyum..... % 73.66
Fosfor..... % 25.62
Ca/P $73.66/25.62=2.87$

Görüldüğü gibi insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen seramiğin kalsiyum ve forfor oranları, sentetik hidroksiapatitinkine oldukça yakın olarak bulunmuştur. Bu doğrultuda bu maddelerin yapısına giren mineraller ve oranlarına bakarak kimyasal olarak aynı yapıda olduklarını söyleyebiliriz. Ayrıca kalsiyum ve forfor oranlarının bu şekilde birbirlerine yakın olması, elektrik yüklerinin meydana getirdiği yüzey şarjlarının da birbirine yakın olduğunu göstermektedir ki bu da osteogenesis için çok önemlidir (23).

Yalnız hayvan ve insan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiklerinin içinde eser miktarda Al, Mg, Fe gibi normal kemik yapısı içinde yer alan ve Si gibi maddenin hazırlanması sırasında temas ettiği yüzeyden karışan elementlerin olması, maddenin tam anlamıyla saf olmadığını göstermektedir.

F- İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasotik Anabilim Dalı Laboratuvarında sentetik hidroksiapatit seramiğinin pH sı 7,1 olarak, nötr kan pH sına yani 7.35-7.45 değerine yakın bulundu. Oysa kemikten elde edilen hidroksiapatit seramiğinin pH değeri 8.8 olarak hafif alkali bulundu.

G- Yine aynı laboratuvarda USP XIX ve BP 1980'e göre yapılan testlerde insan kemiğinden elde edilen ve sentetik olarak elde edilen hidroksiapatit seramiklerinde ağır metale rastlanmadı.

Ülkemizde insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen biyolojik hidroksiapatitin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin araştırılmasını ve yurt dışı kaynaklardan elde edilen sentetik hidroksiapatit ile karşılaştırılmasını konu alan bu çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz maddenin, sentetik olarak elde edilen hidroksiapatitle yeterli benzer özelliklere sahip olduğunu söyleyebiliriz.

VII - ÖZET

Bioceram firması tarafından sentetik olarak üretilen ve son derece saf olduğu öne sürülen hidroksiapatit seramiğinin fiziksel ve kimyasal özellikleri taramalı elektron mikroskopu ve enerji dağılım analizi tekniği ile incelendikten sonra, Boğaziçi Üniversitesi Makine Bölümü Malzeme Laboratuvarında insan ve hayvan kemiklerinden ayrı ayrı elde edilen, biyolojik kökenli hidroksiapatit üzerinde de aynı yöntemler ile incelemeler yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. İnsan ve hayvan kemiğinden elde edilen hidroksiapatitin taramalı elektron mikroskopunda 150, 500, 1000, 5000 ve 7500 büyütmelerdeki yüzey görüntüsü ile sentetik hidroksiapatitin aynı büyütmedeki yüzey görüntüsünün benzerlik gösterdiği saptandı. Ayrıca sentetik hidroksiapatitin enerji dağılım analizi tekniği ile yapısına giren elementlerin kalitatif özellikleri belirlendi. Aynı işlem insan ve hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramikleri için tekrarlandı ve sonuçlar karşılaştırıldı. Biyolojik kökenli, kemikten elde edilen hidroksiapatitin yapısına giren mineraller ve oranları, sentetik olarak elde edilen hidroksiapatitin yapısına giren minerallerin oranlarına son derece yakın bulundu.

Ayrıca insan ve hayvan kemiklerinden ayrı ayrı elde edilen hidroksiapatit seramiklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri sözü edilen tekniklerle incelendiğinde birbirine son derece benzer oldukları saptandı.

Diğer taraftan İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda yapılan çalışmalarda sentetik ve biyolojik kökenli, kemikten elde edilen hidroksiapatit seramiklerinin pH değerleri karşılaştırıldı. Sentetik hidroksiapatit seramiği 7.1 pH değeri ile nötr reaksiyon verirken, kemikten elde edilen hidroksiapatit 8.8 pH değerinde hafif alkali reaksiyon verdi.

VIII - KAYNAKLAR

- 1- Ackley, M.A., Monroe, E.: Alumina as a filler for bone cement: A feasibility study. *Biomaterials*, Vol: I, 217-221, 1980
- 2- Anderson, H.C.: Calcium accumulating vesicles in the intercellular matrix of bone. *Hard Tissue Growth, Repair and remineralization. Ciba Foundation Symposium 11*, 214-245, Elsevier. Excerpta Medica. North Holland, 1973
- 3- Asada, K., Yoshida, K., Shimazu, A.: Development of Alumina ceramic bipolar hip prosthesis and clinical application. *The Journal of the Japanese Orthopaedic Association*, Vol: 61, 59-72, 1987
- 4- Barney, V.C., Levin, M.P., Adams, D.F.: Bioceramic implants in surgical periodontal defects. *Journal Periodontology* December, 764-769, 1986
- 5- Berry, J.L., Geiger, J.M., Moran, J.M., Skraba, J.S., Greenwald, A.S.: Use of tricalcium phosphate or electric stimulation to enhance the bone-porous implant interface. *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol: 20, 65-77, 1986
- 6- Boyne, P.J.: Induction of bone repair by various bone grafting materials. *Hard Tissue Growth, Repair and Remineralization. Ed.: Elliot, K., Fitzsimons, D.W., Ciba Foundation Symposium 11*, 121-143, Elsevier. Excerpta Medica. North Holland., 1973
- 7- Bucholz, R.W., Carlton, A., Holmes, R.E.: Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthopaedic Clinics of North America*, Vol: 18, No: 2, 323-334, 1987
- 8- Clarke, I.C., Ebramzadek, E., Oonishi, H., Oette, P.H.: Clinical performans criteria for sapphire bone screws. *Orthopaedic Ceramic Implants*, Vol: 3, 297-307, 1983

- 9- Crues, R.L.: Healing of bone, tendon and ligament. Chap.: 2, In : Fractures, Ed.: Rockwood, C.A., Green, D.P., 2nd edition, Vol:I, 147-155 J.P. Lippincott Company, Philadelphia, 1975
- 10- Deeb, E.M., Hosny, M., Shrawy, M.: Osteogenesis in composite grafts of allogenic demineralized bone powder and porous hydroxyapatite. J. Oral Maxillofac. Surg., Vol:47, 50-56, 1990.
- 11- Di Fiore, M.S.H.: Bone, Developing. Atlas of Human Histology, 4th edition, 40-49, Lea and Febiger, Philadelphia, 1976
- 12- Ducheyne, P., Beight, J., Evans, B., Radin, S.: Effect of calcium phosphate coating characteristics on early post-operative bone tissue ingrowth. Biomaterials, Vol:11, 531-539, 1990
- 13- Ducheyne, P., Rodin, S., Heughebaert, J.C., Heughebaert, M.: Calcium phosphate ceramic coatings on metallic porous surfaces; the effect of structure and composition on the electrophoretic deposition, vacuum sintering and in vitro dissolution behavior. Biomaterials, Vol:11, 244-254, 1990.
- 14- Dumbach, J., Spitzer, W.J.: Knochenersatz mit pyrolisiertem xenogenen Knochen. Dtsch Zahnarztl Z:43, 45-48, 1988.
- 15- Engelke, W., de Valk, S., Ruttiman, U.: The diagnostic value of subtraction radiography in the assessment of granular hydroxyapatite implants. Oral-Surg-Oral-Med-Oral-Pathol., 69(5):636-641 1985.
- 16- Francis, M.D., Briner, W.W., Gray, J.H.: Chemical agents in the control of calcification process in biological systems. Hard Tissue Growth, Repair and Remineralization. Ed: Elliot, K., Fitzsimons, D.W Ciba Foundation Symposium 11, 57-90, Elsevier. Excerpta Medica. North Holland, 1973
- 17- Frentzen, M., Osborn, J.H., Nolden, R.: The use of porous hydroxyl apatite granules in surgical treatment of advanced periodontitis. Periodontics, Vol:20, No:7, 481-497, 1989.

- 18- Goldstein, J.I., Newbury, D.E., Echlin, P., Joy, D.E., Fiori, C.: Preparation of biological samples for SEM. Scanning Electron Microscopy and X-Ray microanalysis. 1'st edition, Vol:I, 495-534, Plenum Press-New York, 1981.
- 19- Heppenstall, R.B.: Bone Grafting. Chap.7, In: Surgery of the Musculoskeletal System, Ed.: Evarts, C.M., 1'st edition, Vol:I, 89-106, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 1983
- 20- Holmes, R., Mooney, V., Bucholz, R.W., Tencer, A.: A coralline hydroxyapatite bone graft substitute. Clinical Orthopaedics and Related Research, No:188, 252-262, 1984
- 21- Junqueira, L.C., Corneiro, J. John, A.L.: Bone Matrix. Basic Histology, Vol:2, Chap 6, 145-146, Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1971
- 22- Kangvonkit, P., Lemons, J.E., Matukas, V.J.: Compressive strength measurement and microstructure studies of hydroxyapatite cones The Journal of Prosthetic Dentistry, Vol:54(5), 691-696, 1985.
- 23- Kim, C.S., Ducheyne, P., Pollack, S.R.: The effect of phase differences on the time dependent variation of the zeta potential of hydroxyapatite. The 16'th Annual Meeting of the Society For Bio Materials, May 20-23, Charleston, South Caroline, USA, 1990
- 24- Klein, P.C., Groot, K., Driessen, A.A., Lubbe, H.B.M.: A comparative study of different beta-whitlockite ceramics in rabbit cortical bone with regard to their biodegradation behaviour. Biomaterials, Vol:7, March, 144-146, 1986.
- 25- Klein, P.C., Patka, P., Hollander, W.: Macro porous calcium phosphate bioceramics in dog femora: a histological study of interface and biodegradation. Biomaterials, Vol:10, 59-62, 1989.
- 26- Lekovic, V., Kenney, E.B., Carranza, F.A., Danilovic, V.: Treatment of class II furcation defects using porous hydroxyapatite in conjunction with a polytetrafluoroethylene membrane. J. Periodontology, September, 575-578, 1986.

- 27- Leeson, T.S., Leeson, C.R., Paparo, A.A.: Specialized connective tissue: Cartilage and Bone, Text/Atlas of Histology, Part I, Chap 4, 159-194, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1988.
- 28- Mc Andrew, M.P., Gorman, P.W., Lange, T.H.: Tricalcium phosphate as a bone graft substitute in trauma: Preliminary Report. Journal of Orthopaedic Trauma, Vol:2, No:4, 333-339, 1989.
- 29- Oremuna, S., Lekovic, V., Kenney, E.B., Carranza, A.F., Takei, H.H., Prokic, P.: Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects J.Periodontology, July, 399-404, 1990.
- 30- Saha, S.: Ceramics for Orthopaedic and Dental Applications. IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine, Vol:8, No:2, 37-39, 1989.
- 31- Shimizu, H.: Metal/Ceramic Implants. M.D. and D.I., July, 30-35 1986.
- 32- Tateishi, T., Shirasaki, Y., Yunoki, H.: Strength of sapphire bone screw. Orthopaedic Ceramic Implants, Vol:2, 315-322, 1982
- 33- Turec, S.L.: Ultrastructural characteristics of bone. Orthopaedics, 3rd edition, Part I, 42-48, J.B.Lippincott Company, 1977
- 34- Uchida, A., Araki, N., Shinto, Y., Yoshikawa, H., Kurusaki, E., Ono, K.: The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumour surgery. J.Bone Joint Surg (Br); 72-B:298-302, 1990.
- 35- Wheeler, P.R., Burkitt, H.G., Daniels, V.G., Deakin, P.J.: The Skeletal Tissues. Functional Histology, Chap 9, 128-145, Churchill Livingstone, Edinburgh-London-New York, 1979
- 36- Williams, D.F., Roaf, R.: The selection of implant materials. Implants in Surgery, Chap 6, 299-303, W.B.Saunders Company Ltd, London-Philadelphia-Toronto, 1973

- 37- Yorucu, H., Özkan, O. T., Özen, S., Mısırlı, S., Onurlu, S.: Malzeme Biliminde Tarama Elektron Mikroskobu Uygulamasına Giriş, Tübitak, Gebze, Tugam Matbaası, 1986.

