



Farklı Gözenek Boyutuna Ve Miktarına Sahip Hidroksiapatit Kemik Greftlerinin Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

Investigation of the Mechanical Properties of
Hydroxyapatite Bone Grafts With Different Amount
and Pore Sizes

Ayşe Gül TOKTAŞ¹, Mert GÜL², Nusret KÖSE³, Aydın DOĞAN⁴

¹Nanotech İleri Teknolojik Malzemeler A.Ş.

• agakyurekli@gmail.com • ORCID > 0000-0002-5052-2574

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi -Nanotech İleri Teknolojik Malzemeler

• mertggg@gmail.com • ORCID > 0000-0001-8618-6261

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi

• nkose@ogu.edu.tr • ORCID > 0000-0002-1517-9635

⁴Nanotech İleri Teknolojik Malzemeler A.Ş., Eskişehir Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

• adogan@eskisehir.edu.tr • ORCID > 0000-0002-8122-2996

Makale Bilgisi / Article Information

Makale Türü / Article Types: Araştırma Makalesi / Research Article

Geliş Tarihi / Received: 17 Eylül / September 2021

Kabul Tarihi / Accepted: 01 Aralık / December 2021

Yıl / Year: 2022 | **Cilt – Volume:** 2 | **Sayı – Issue:** 1 | **Sayfa / Pages:** 15-23

Atıf/Cite as: Toktaş, A. G., Gül, M., Köse, N. ve Doğan, A. "Farklı Gözenek Boyutuna Ve Miktarına Sahip Hidroksiapatit Kemik Greftlerinin Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi - Investigation Of The Mechanical Properties Of Hydroxyapatite Bone Grafts With Different Amount And Pore Sizes". Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Bilimleri ve Teknolojisi Dergisi - Ondokuz Mayıs University Journal of Engineering Sciences And Technology 2(1), March 2022: 15-23

Sorumlu Yazar: Ayşe Gül TOKTAŞ

FARKLI GÖZENEK BOYUTUNA VE MİKTARINA SAHİP HİDROKSİAPATİT KEMİK GREFTLERİNİN MEKANİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada biyomedikal uygulamalar için mikro-gözenek boyutunda hidroksiapatit (HAP) granül boncuklar üretilmiştir. Hidroksiapatit boncukların gözenek boyutları ve miktarları kontrollü bir şekilde yapılmıştır. İki farklı çapta (180-300 µm) organik gözenek yapıcı polimerik boncuklar (Polistiren, PS) gözenek yapıcı olarak kullanılmıştır. Ayrıca farklı miktarlarda (%5, 10 ve 20) porozite olmak üzere 6 farklı fiziksel özellikte HAP boncuklar üretilmiştir. Farklı gözenek boyutunda ve miktarında olan HAP boncukların yoğunlukları Arşimet yöntemiyle, mikro yapı analizleri Taramalı Elektron Mikroskopuyla (SEM), faz analizi XRD ile mekanik özellikleri ise basma test yapılarak incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Hidroksiapatit, Kemik Grefti, Gözenek, Mekanik Özellik

INVESTIGATION OF THE MECHANICAL PROPERTIES OF HYDROXYAPATITE BONE GRAFTS WITH DIFFERENT AMOUNT AND PORE SIZES

ABSTRACT

In this study, microporous hydroxyapatite (HAP) granule beads were produced for biomedical applications. The pore sizes and amounts of hydroxyapatite beads were controlled. Organic polymeric beads (Polystyrene, PS) of two different diameters (180-300 µm) were used as pore forming. In addition, 6 different physical properties of HAP beads were produced, with different amounts (5, 10, and 20%) of porosity. The densities of HAP beads with different pore sizes and amounts were investigated by applying Archimedes method; microstructure analysis was performed by applying Scanning Electron Microscope (SEM), phase analysis was performed by applying XRD and mechanical properties were evaluated by applying compression test.

Keywords: Hydroxyapatite, bone Graft, Porosity, Mechanical Properties

Öne çıkanlar

Biyoaktif seramikler sınıfında olan hidroksiapatit biyomedikal alanda özellikle ortopedi uygulamasında kemik ile benzer kimyasal özelliğinden dolayı vazgeçilmez bir biyomalzemedir. HAP birçok farklı formda kemik uygulamalarında kullanılmaktadır; kaplama, greft, implant. Bu çalışmada kemik grefti uygulamaları için farklı fiziksel özelliklere sahip (farklı gözenek boyutu ve miktarı) gözenekli HAP boncuklar üretilmiştir. Farklı gözenek miktarının ve boyutunun mekanik özelliklere etkisi araştırılmıştır ve sonuçlar sunulmuştur.

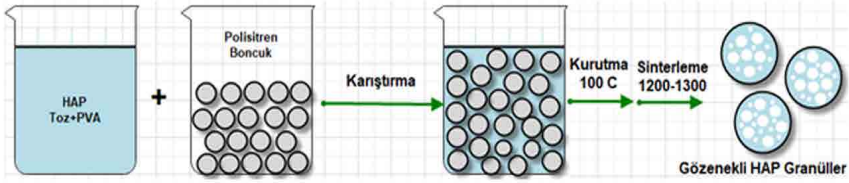
1. GİRİŞ

İnsan nüfusunun artmasıyla kemik dokusuna yönelik talepte giderek artmaktadır [1]. Kemik dokusuna çok fazla benzerliğinden ötürü kalsiyum fosfat özellikle hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat fazı biyomedikal uygulamalarda özellikle ortopedi ve dental uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Hidroksiapatit kemik rejenerasyonu amacıyla kemik grefti olarak kullanılan en iyi sentetik biyomalzemeler arasındadır [2]. Çünkü HAP biyoyumludur ve toksik etki yaratmamaktadır. Ayrıca HAP üstün osteointegrasyon göstermektedir. Kemik iyileşimi için HAP fazı vücutta enjekte edilebilir çimentolar, granüller ya da makro gözenek blok gibi farklı formlarda kullanılmaktadır. Kemik dolgu malzemesi olarak genellikle granül yapılar kullanılmaktadır [3].

Gözenekli HAP biyoseramiklerinin geliştirilmesinde doğal kaynakların uygulanmasının yanı sıra köpük ve bağlayıcı giderme, polimer şablon yöntemleri, jel döküm yöntemi, sünger çoğaltma tekniği gibi yöntemler kullanılmaktadır. Uygulanan teknolojiler ve yöntemler, farklı gözeneklilik, gözenek dağılımı ve mekanik özelliklerin oluşmasına yol açar. Farklı teknolojiler kullanılarak elde edilen gözenekli malzemeler yapısal ve mekanik özelliklerde farklılık gösterir. Biyomedikal uygulamalar için gözenekli HAP seramiklerinin gereksinimleri, büyük gözeneklilik (%60-80) ve belirli bir gözenek boyutu dağılımını içerir [4]. Gözenekli HAP seramiklerin makro gözenekliliğinin oluşumu, temel olarak belirli üretim teknolojilerinin hedeflenen uygulamasıyla elde edilirken, mikro gözenekler sinterleme sırasında oluşur. Gözenekli HAP yapısı, tıbbi cihazların mekanik olarak sabitlenmesini sağlar ancak geniş bir yüzey alanı, implant ve kemik arasındaki kimyasal bağlanma için daha fazla alan sağlamaktadır. Gözenekli HAP granüllerinin hazırlanma metodu ve bileşimi sinterlemeden sonra özelliklerini etkilemektedir [5,6]. Yang ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada gözenekli HAP için nişasta kullandıkları ve gözeneklerin yaklaşık olarak 3-10 µm arasında olduklarını belirtmişlerdir ve aynı zamanda bu gözeneklerin kemik yenilenmesi için uygun olmadıklarını söylemişlerdir. Locs ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise gözenekli HAP üretmek için viskoz kütle köpük gözenek yapıcı seçilmiştir. Bu yöntemle üretilen gözeneklerin boyutunun 3 µm ile 1000 µm arasında olduklarını söylemişlerdir. HAP yapısında geniş gözenek dağılımının olması hücre göçünün ve vücut sıvısının taşınmasını sağlayan önemli faktör olduğu bilinmektedir [5,7]. Yapılan bazı çalışmalarda da birbirine bağlı olan gözeneklerin, hücrelerin büyümesini teşvik ettiği aynı zamanda yeni kemik dokusunun gelişimi ve besin taşınımının gerçekleştirdiğini ve kemik greftlerinin osteogenezisini ve vaskülarizasyonunu arttırdığını söylemişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda kemik rejenerasyonu için minimum gözenek boyutunun 100 µm olması gerektiği bazı çalışmalarda ise gözenek çapının 50 µm'den büyük olmasının yeni kemik ve kan damarı büyümesini destekleyerek kemikleşmeyi sağladığı kanıtlanmıştır [8-10].

Gözenekli HAP granüllerin mekanik özellikleri vücutta implante edileceği bölge ile uyumlu olmalıdır. Bu granüller ameliyat esnasında mekanik etkilere karşı dayanıklı olmalıdırlar. Buna ek olarak yapay kemik matrisi, aşınma sırasında biyomekanik yüke maruz kalır; granül yeni kemik oluşturulurken bu mekanik koşullara dayanacak kadar güçlü olmalıdır [11]. Gözenekli HAP granüllerin istenilen mekanik mukavemette olması için sinterlenmesi gerekmektedir. Dubnikan ve arkadaşları gözenekli HAP granüllerini 800, 1000 ve 1200°C'de sinterlemiştir ve sıcaklığa bağlı gözeneklerin mukavemetleri artış göstermiştir [5].

Bu çalışmada gözenekli HAP granül üretmek için gözenek yapıcı olarak organik polimerik gözenek yapıcı boncuk bağlayıcı olarak ise polivinil alkol (PVA) ve su kullanılmıştır (Şekil 1). Bu yöntemle hem istenilen boyutta granüller üretilmiş (çap: 3-4 mm) hem de gözenek miktarı ve boyutu kontrollü bir şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca bu çalışmada, farklı gözenek boyutuna ve miktarına sahip HAP granüllerin mekanik özellikleri etkisi sunulmuştur.



Şekil 1. Gözenekli HAP granüllerin üretimi

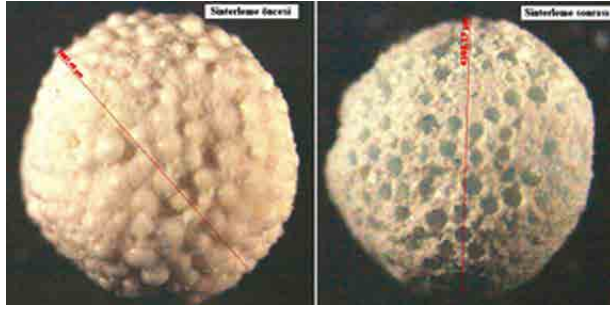
2. MATERYAL VE YÖNTEMLER

Gözenekli HAP Granüllerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Gözenekli HAP granülleri için iki farklı çapa sahip (180-300 µm) polistiren boncuklar kullanılmıştır. Nanotech firmasından temin edilen 0,2-0,3 µm tane boyutuna sahip HAP tozu ile polistiren bilye uygun bir kabın içinde karıştırılmıştır. Polistiren bilyelerin ve HAP tozunun bir arada kalmasını sağlamak amacıyla sisteme polivinil alkol (Merck, 60.000 MA) (%1 oranında) ilave edilmiştir. 1 saat boyunca karışan HAP tozu ve polistiren bilyeler boyutları 3-5 mm olacak şekilde yuvarlanarak şekillendirilmiştir. Hazırlanan granüller 100°C'de 1 saat kurutulduktan sonra 1100, 1150 ve 1200°C'de sinterlenmişlerdir. Şekil 2'de sinterlenme öncesi ve sinterleme sonrası gözenekli HAP boncuklarının görüntüsü verilmiştir. Sinterlenmiş boncuklar başlangıç boyutuna göre yaklaşık olarak %30'luk küçülme göstermişlerdir. Tablo 1'de hazırlanan granüllerin polistiren bilye miktarları ve sinterleme sıcaklıkları verilmiştir.

Tablo 1. Gözenekli HAP granüllerin fiziksel özellikler

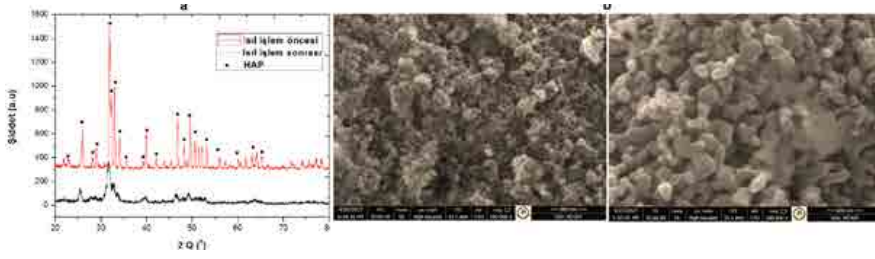
Sinterleme Sıcaklığı (°C)	HAP FAZI					
	180 µm çap polistiren boncuk katkısı			300 µm çap polistiren boncuk katkısı		
	%5	%10	%20	%5	%10	%20
1100						
1150						
1200						

**Şekil 2.** Sinterleme öncesi ve sinterleme sonrası gözenekli HAP boncuklarının görüntüsü

Faz oluşumu ve mikro yapı analizleri X-Ray Difraksiyometre (XRD) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile analiz edilmiştir. Hazırlanan boncukların sinterleme sonrası gözenek miktarı Arşimet yöntemi ile tayin edilmiştir. Ayrıca farklı gözenek boyutuna sahip ve farklı sıcaklıkta sinterlenen boncukların mekanik özellikleri kuvvet ölçerli basma test cihazında test edilerek kritik kuvvet değerleri belirlenmiştir.

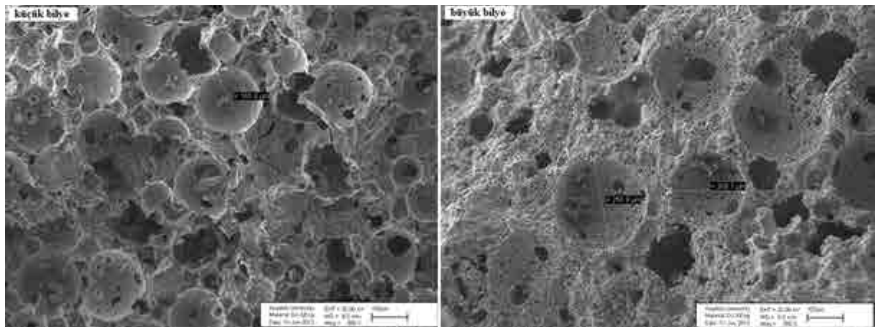
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Şekil 3'de HAP tozunun kalsinasyon öncesi ve kalsinasyon sonrası faz analiz sonucu verilmiştir. Kalsinasyon sıcaklığı 900°C'de 1 saat olarak uygulanmıştır. Kalsinasyondan sonra yapının saf HAP fazına dönüştüğü gözlemlenmiştir. Şekil 3'de ise HAP'nin SEM görüntüleri verilmiştir.



Şekil 3. HAP tozunun a) XRD eğrisi b) SEM görüntüleri

Görüntüler 30 hızlandırma voltajı kullanılarak ve ikincil elektronlar ile alınmıştır. Sentezlenen tozların mikro yapılarına bakıldığında kalsine edilmemiş tozların tane boyutlarının 500 nm'lik skala referans olarak alındığında yaklaşık olarak 40-50 nm olduğu ısıl işlem ile tanelerin birbirine yakınlaştığı ve büyüdüğü görülmüştür. Aynı zamanda tanelerin eş eksenli yuvarlak şekilde oldukları ve tane boyutunun çok küçük olmasından dolayı topaklanma eğiliminde oldukları gözlemlenmiştir. Küçük ve büyük gözenek yapıcı organik polistiren bilye kullanılarak üretilen ve 1200°C'de 3 saat sinterlenen HAP gözenekli boncukların mikro yapı görüntüleri Şekil 4'te verilmiştir. 180 µm çapa sahip polistiren bilye kullanılarak üretilen boncuklarda yaklaşık olarak 180 µm'lik boşluklar oluşturulurken 300 µm çapa sahip polistiren bilyeler ise yaklaşık olarak 200-250 µm'lik gözenekler oluşturulmuştur. Ayrıca gözeneklerin birbirine bağlı olduğu görülmektedir. Bu bağlantılar kemik dokusunun yeniden şekillenmesi için in-vivo olarak kan damarı oluşumu için bir yol sağlamaktadır [12]. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucu kan damarı oluşumu için minimum gözenek boyutunun 50 µm, osteonal için 200 µm olması gerektiği gösterilmiştir [13].



Şekil 4. 1200°C'de sinterlenen a) küçük (180 µm) polistiren kullanılan HAP boncuk b) büyük (300 µm) polistiren kullanılan boncuk

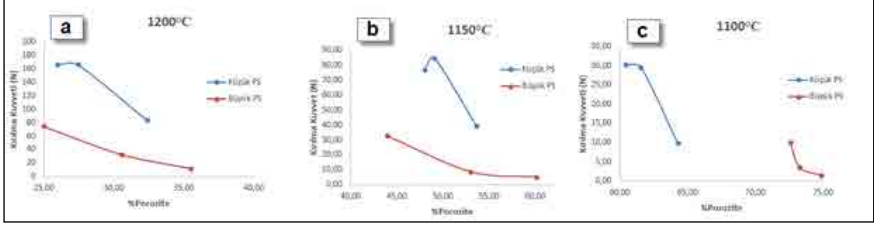
İki farklı gözenek boyutuna ve 3 farklı porozite miktarına sahip boncuklar 3 farklı sıcaklıkta sinterlenmiştir. Farklı fiziksel özelliklere sahip gözenekli HAP boncukların ölçülen porozite değerleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Farklı gözenek boyutunun ve oranlarının farklı sinterleme sıcaklıklarında HAP boncuk yapısında oluşturduğu porozite miktarları

Sinterleme Sıcaklığı, Süresi	180 µm Çapa Sahip Polistiren Bilye			300 µm Çapa Sahip Polistiren Bilye		
	Gözenek Oranı					
	% 5	%10	%20	% 5	%10	%20
1100°C 3s	60.43	61.58	64.30	72.62	73.29	74.92
1150°C 3s	48.03	49.12	53.63	44	53	60.16
1200°C 3s	26	27.45	32.38	25	30.58	35.54

Sinterleme sıcaklığının artmasıyla HAP boncuk yapısında gözenek boyutuna ve oranına bakılmaksızın yapının yoğunlaştığı görülmüştür. Büyük çapa sahip polistiren gözenek yapıcının HAP boncuk yapısında yaklaşık olarak %75 oranında gözeneklilik oluşturduğu görülmüştür. Yapının istenilen seviyede gözenekli olması kemik ile biyoseramik arasında kimyasal bağlanmaya izin vererek iyi bir sabitleme sağlamaktadır. Gözeneklilik doğrudan kemik oluşumu ile ilgilidir ve hücre tutunması ve kemik büyümesi için yüzey ve boşluk sağlamaktadır [14,15].

Farklı gözenek miktarına ve boyutuna sahip HAP boncukların kırılma kuvveti değerleri belirlenmiştir. Porozite miktarının kırılma kuvvetine etkisi Şekil 5’te verilen eğrilerde gösterilmiştir. Sinterleme sıcaklığının artması gözenekli HAP boncukların kırılma kuvveti değerlerini artırmıştır çünkü yüksek sıcaklıklarda porozite miktarı azalmakta ve yoğunlaşma artmaktadır. HAP boncuklardaki gözeneklilik miktarı arttıkça kırılma kuvveti değeri azalmaktadır. Aynı sıcaklıkta sinterlenen fakat farklı polistiren boyutuna sahip boncuklarda küçük polistirenli yapılarda daha az gözeneklilik oluşturulmuştur ve dolayısıyla daha yüksek kırılma kuvvetlerine dayanaklı oldukları gösterilmiştir.



Şekil 5. a) 1200°C b) 1150°C c) 1100°C sıcaklıkta sinterlenen küçük ve büyük polistiren katkıli boncukların porozite miktarının kırılma kuvvetine etkisi

4. Sonuçlar

Bu çalışmada 2 farklı çaptaki gözenek yapıcı, farklı oranlarda HAP tozuya birleştirilmiştir ve gözenekli HAP boncuklar üretilmiştir. Üretilen boncuklar 3 farklı sıcaklıkta sinterlenmiştir.

Üretilen gözenekli boncuklardan elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

- 180 µm çapa sahip polistiren bilye HAP yapısında yaklaşık olarak 180 µm'lik boşluklara sebep olmuştur.
- 300 µm çapa sahip polistiren bilye HAP yapısında yaklaşık olarak 200-250µm'lik boşluklara sebep olmuştur.
- En büyük yoğunluk değerleri 1200°C'de sinterlenen HAP boncuklarda elde edilmiştir.
- Aynı oranda polistiren bilye kullanılan ve aynı sıcaklıkta sinterlenen gözenekli HAP boncuklarda büyük çapa sahip polistiren bilyeler daha fazla gözenekliliğe sebep olmuştur.
- En büyük kırılma kuvveti (165 N) %5 küçük polistiren bilye kullanılarak 1200°C'de sinterleme sonucu elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] A. Hoppe, N.S. Güldağ, A.R. Boccaccini "A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics" *Biomaterials* 32 (2011) 2757e2774
- [2] B.H. Chena, K. Chenb, M. Hoc, H. Chend,W. Chene, C. Wangd, "Synthesis of calcium phosphates and porous hydroxyapatite beads prepared by emulsion method" *Materials Chemistry and Physics* 113 (2009) 365-371
- [3] M. Descamps, J.C. Hornez, A. Leriche "Manufacture of hydroxyapatite beads for medical applications" *Journal of the European Ceramic Society* 29 (2009) 369-375
- [4] D. Loca, J. Locs, A. Dubnika, V. Zalite, L. Berzina-Cimdina "Porous hydroxyapatite for drug delivery" Chapter 9, 2015

- [5] A. Dubnikan, V. Zalite "Preparation and characterization of porous Ag doped hydroxyapatite bioceramic scaffolds" *Ceramics International*40(2014)9923-9930
- [6] S. V. Dorozhkin "Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine" *Materials* 2009, 2, 399-498; doi:10.3390/ma2020399
- [7] J. L.V.Zalite, L.B.-Cimdina, M.Sokolova "Ammonium hydrogen carbonate provided viscous slurry foaming -A novel technology for the preparation of porous ceramics" *J.Eur.Ceram.Soc.*33(2013) 3437-3443.
- [8] T. Nakasa, O. Ishida, T. Sunagawa, "Prefabrication of vascularized bone graft using a combination of fibroblast growth factor-2 and vascular bundle implantation into a novel interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic" *J. Biomed. Mater. Res. A* 75 (2005) 350-355
- [9] S.F. Hulbert, F.A. Young, R.S. Mathews, J.J. Klawitter, C.D. Talbert, F.H. Stelling "Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses" *J. Biomed. Mater. Res.* 4 (1970) 433-456
- [10] B.S. Chang, C.K. Lee, K.S. Hong, H.J. Youn, H.S. Ryu, S.S. Chung, K.W. Park "Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations" *Biomaterials* 21 (2000) 1291-1298
- [11] M. Epple, E. Baeuerlein, *Handbook of Biomineralization. Medical and Clinical Aspects.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Germany, 2007.
- [12] E. Charriere, J. Lemaitre, P. Zysset, "Hydroxyapatite cement scaffolds with controlled macroporosity: Fabrication protocol and mechanical properties" *Biomaterials* 2003, 24, 809-817.
- [13] T.D. Driskell, C.R. Hassler, V.J. Tennery, I.R. McCoy, W.J. Clarke "Calcium phosphate resorbable ceramic: A potential alternative for bone grafting" *J. Dent. Res.* 1973, 52, 123-131.
- [14] A.C. Jones, C.H. Arns, A.P. Sheppard, D.W. Huttmacher, B.K. Milthorpe, M.A. Knackstedt "Assessment of bone ingrowth into porous biomaterials using MICRO-CT" *Biomaterials* 2007, 28, 2491-2504
- [15] R.A. Ayers, S.J. Simske, C.R. Nunes, L.M. Wolford "Long-term bone ingrowth and residual microhardness of porous block hydroxyapatite implants in humans" *J. Oral Maxillof. Surg.* 1998, 56, 1297-1302