

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STRONSIYUM KATKISININ BİYOCAM DOKU
İSKELESİNİN ÖZELLİKLERİNE OLAN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cansu KARAKAYA

**Enstitü Anabilim Dalı : METALURJİ VE MALZEME
MÜHENDİSLİĞİ**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Şenol YILMAZ

Temmuz 2018

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STRONSIYUM KATKISININ BİYOCAM DOKU
İSKELESİNİN ÖZELLİKLERİNE OLAN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cansu KARAKAYA

Enstitü Anabilim Dalı : METALURJİ VE MALZEME
MÜHENDİSLİĞİ

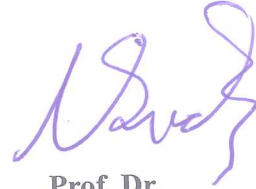
Bu tez/..../.... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr.
Ahmet ÇAPOĞLU
Jüri Başkanı



Prof. Dr.
Şenol YILMAZ
Üye



Prof. Dr.
Uğur ŞEN
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.



Cansu KARAKAYA

26/07/2018

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi deneyimlerinden yararlandığım, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında değerli fikir ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, her türlü teşvik ve fedakârlığı esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Şenol YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında her türlü olanaklarından yararlandığım Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na ve teknisyenlerine teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda gerekli olan yapay vücut sıvısının hazırlanmasında bilgi ve tecrübeleri ile yardımını esirgemeyen, Marmara Üniversitesi Teknoloji Fakültesi bünyesinde görev alan Arş. Gör. Dr. S. Serdar PAZARLIOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen dostluğu ve samimiyeti ile yanımda olan sevgili Esra TAVUKÇUOĞLU'na teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimimi tamamlayabilmemde en büyük paya sahip, maddi, manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sevgili dedem Mustafa Ünal ÖZDEN ve ananem Zekiye ÖZDEN'e ve hayatım boyunca varlığıyla bana güç veren canım annem Serpil ÖZDEN'e tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTIMA LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
BİYOMALZEMELER.....	3
2.1. Biyomalzemelerin Tanımı ve Sınıflandırılması.....	3
2.1.1. Metaller ve alaşımlar.....	5
2.1.2. Polimerler.....	6
2.1.3. Kompozitler	8
2.1.4. Biyoseramikler.....	9
2.2. Biyomalzemelerin Özellikleri.....	12
2.2.1. Kemiğe yakın elastik ve mekanik özellikleri.....	12
2.2.2. Korozyon direnci.....	12
2.2.3. Uygun tasarım.....	13
2.2.4. Biyoyumluluk.....	13

BÖLÜM 3.

BİYOAKTİF CAMLAR.....	15
3.1. Biyoaktif Camlar Ve Özellikleri.....	15
3.2. Biyoaktif Camların Kemiğe Bağlanma Mekanizması.....	18
3.3. Biyoaktif Camların Üretimi.....	20
3.3.1. Ergitme yöntemi.....	20
3.3.2. Sol-jel yöntemi.....	20
3.4. Biyoaktif Camların Kullanım Alanları.....	21
3.5. Biyoaktif Cam Katkılarının Biyolojik Özelliklere Etkisi.....	22
3.5.1. Stronsiyum katkılı biyoaktif camlar.....	23

BÖLÜM 4.

KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ İÇİN DOKU İSKELELERİ.....	25
4.1. Kemik Doku Mühendisliği Yaklaşımı.....	25
4.2. Doku İskelesinin Sahip Olması Gereken Özellikleri.....	26
4.3. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Biyomalzemeler.....	30
4.4. Biyoaktif Cam Doku İskelesi Üretim Yöntemleri.....	31
4.4.1. Polimer sünger kopyalama yöntemi.....	31
4.4.2. Sol-jel yöntemi.....	32
4.4.3. Üç boyutlu baskı yöntemi.....	32

BÖLÜM 5.

DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	34
5.1. Çalışma Programı.....	34
5.2. Numunelerin Hazırlanması.....	35
5.3. Polimer Sünger Kopyalama Yöntemi İle Doku İskelesi Üretimi.....	36
5.4. Biyoaktif Cam Numunelerinin Karakterizasyonu.....	37
5.4.1. X-ışının difraktometresi.....	37
5.4.2. Diferansiyel termal analiz.....	37
5.5. İn Vitro Çalışmalar.....	37
5.5.1. Yapay vücut sıvısı hazırlanması.....	37
5.5.2. Biyoaktivite analizleri.....	38

5.5.3. Biyobozunma davranışları.....	39
5.5.4. Mikroyapı analizleri.....	39
5.6. Gözeneklilik ve Yoğunluk Ölçümleri.....	39
BÖLÜM 6.	
DENEYSEL SONUÇLAR VE İRDELENMESİ.....	41
6.1. Biyoaktif Cam Numuneleri XRD Analizleri.....	41
6.2. Biyoaktif Cam Numuneleri DTA Analizleri.....	42
6.3. Yoğunluk Ölçümleri.....	43
6.4. Biyoaktif Camların İn Vitro Biyoaktivite Karakterizasyonu.....	43
6.4.1. XRD analizi.....	44
6.4.2. Mikroyapı analizi.....	46
6.5. Biyoaktif Doku İskelelerinin Yüzey Karakterizasyonu.....	52
6.5.1. XRD analizi.....	52
6.5.2. Mikroyapı analizi.....	53
6.6. Gözeneklilik Ölçümü.....	57
6.7. Doku İskelelerinin Biyoaktivite Karaterizasyonu.....	58
6.7.1. XRD analizi.....	58
6.7.2. Mikroyapı analizi.....	61
6.8. İn Vitro Biyobozunma Analizleri.....	66
BÖLÜM 7.	
SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	68
7.1. Sonuçlar.....	68
7.2. Öneriler.....	69
KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	81

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BMP	: Kemik yapı proteini
CA	: Selüloz Asetat
CAD	: Bilgisayar Destekli Tasarım
Ç.A.	: Çalışma Arkadaşları
DTA	: Diferansiyel Termal Analiz
ECM	: Extracellular Matrix
EDS	: Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi
FDM	: Kaynaştırılmalı Modelleme Biriktirmesi
HA	: Hidroksiapatit
HCA	: Hidroksicarbonat Apatit
PVA	: Polivinil Alkol
SBF	: Yapay Vücut Sıvısı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SLA	: Stereolitografi
SLS	: Seçici Lazer Sinterleme
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
XRD	: X-Işınları Difraksiyonu
3D	: Üç Boyutlu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Biyoseramik malzemelerin kullanım alanları.....	11
Şekil 3.1.	Hench tarafından çizilen faz diyagramı.....	16
Şekil 3.2.	Biyoaktif cam yüzeyinde gerçekleşen tepkime aşamaları.....	19
Şekil 4.1.	Kemik doku mühendisliği yaklaşımı.....	26
Şekil 4.2.	İnsan trabeküler kemiğin birbirine bağlı gözenekli yapısını gösteren SEM görüntüsü.....	29
Şekil 4.3.	Biyoaktif cam esaslı doku iskeleleri üretmek için kullanılan polimer sünger kopyalama yönteminin şematik gösterimi.....	31
Şekil 5.1.	% 1 SrO katkılı biyoaktif cam numunelerinin döküm işlemi.....	35
Şekil 5.2.	(a) Kalıp olarak kullanılan poliüretan sünger, (b) polimer kopyalama yöntemi ile üretilen doku iskelesi.....	36
Şekil 5.3.	(a) Ergitme yöntemi ile üretilen biyoaktif cam, (b) SBF’de 28 gün süre ile bekletme sonrası biyoaktif cam.....	38
Şekil 6.1.	Ergitme yöntemi ile üretilen biyoaktif cam numunelerinin XRD grafikleri.....	41
Şekil 6.2.	Biyoaktif cam numunelerinin DTA grafikleri.....	42
Şekil 6.3.	Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 0 SrO katkılı biyoaktif camların XRD grafiği.....	44
Şekil 6.4.	Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 0.5 SrO katkılı biyoaktif camların XRD grafiği.....	45
Şekil 6.5.	Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 1 SrO katkılı biyoaktif camların XRD grafiği.....	45
Şekil 6.6.	Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 2 SrO katkılı biyoaktif camların XRD grafiği.....	46

Şekil 6.7.	(a) ve (b) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça % 0 SrO içeren biyocam, (c) ve (d) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça % 0.5 SrO içeren biyocam, (e) ve (f) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça %1 SrO içeren biyocam, (g) ve (h) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça %2 SrO içeren biyocam SEM görüntüleri.....	47
Şekil 6.8.	SBF’de 28 gün bekletilen % 0 SrO katkılı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği.....	48
Şekil 6.9.	SBF’de 28 gün bekletilen % 0,5 SrO katkılı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği.....	49
Şekil 6.10.	SBF’de 28 gün bekletilen % 1 SrO katkılı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği.....	50
Şekil 6.11.	SBF’de 28 gün bekletilen % 2 SrO katkılı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği.....	51
Şekil 6.12.	Doku iskelesi numunelerinin XRD grafiği.....	52
Şekil 6.13.	% 0 SrO içeren doku iskelesinin görüntüleri; (a); X25, (b); X50 ve (c); X100.....	53
Şekil 6.14.	% 0.5 SrO içeren doku iskelesinin görüntüleri; (a); X25, (b); X50 ve (c); X100.....	54
Şekil 6.15.	% 1 SrO içeren doku iskelesinin görüntüleri; (a); X25, (b); X50 ve (c); X100.....	55
Şekil 6.16.	% 2 SrO içeren doku iskelesinin görüntüleri; (a); X25, (b); X50 ve (c); X100.....	56
Şekil 6.17.	SBF’de çeşitli sürelerle bekletilen % 0 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği.....	57
Şekil 6.18.	SBF’de çeşitli sürelerle bekletilen % 0.5 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği.....	58
Şekil 6.19.	SBF’de çeşitli sürelerle bekletilen % 1 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği.....	58

Şekil 6.20.	SBF’de çeşitli sürelerle bekletilen %2 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği.....	59
Şekil 6.21.	SBF’de 28 gün bekletilen doku iskelelerinin SEM görüntüleri; (a) %0 SrO içeren doku iskelesi, (b) %0.5 SrO içeren doku iskelesi, (c) %1 SrO içeren doku iskelesi ve (d) %2 SrO içeren doku iskelesi.....	60
Şekil 6.22.	SBF’de 28 gün bekletilen % 0 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği.....	61
Şekil 6.23.	SBF’de 28 gün bekletilen % 0.5 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği.....	62
Şekil 6.24.	SBF’de 28 gün bekletilen % 1 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği.....	63
Şekil 6.25.	SBF’de 28 gün bekletilen % 2 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği.....	64
Şekil 6.26	SBF’de 28 gün bekletilen doku iskelelerinin % su absorpsiyonu.....	65

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	İmplant-doku yanıt türleri.....	4
Tablo 2.2.	En yaygın kullanılan biyopolimerlerin özellikleri ve kullanım alanları.....	7
Tablo 2.3.	Biyoseramik malzemelerin doku ile etkileşimlerine göre sınıflandırılması.....	10
Tablo 2.4.	Kemiğin biyomekanik özellikleri.....	12
Tablo 3.1.	Biyoaktif cam ve cam seramiklerin bileşimleri (%ağ).....	15
Tablo 3.2.	Bazı biyoaktif cam ve cam seramiklerin mekanik özellikleri.....	18
Tablo 3.3.	Bazı inorganik iyonların kemik oluşumu üzerindeki etkileri.....	23
Tablo 4.1.	İstenilen doku iskele özelliklerinin özeti.....	28
Tablo 4.2.	Doku iskelesi malzemelerinin karşılaştırılması.....	30
Tablo 4.3.	Üç boyutlu baskı tekniklerinde kullanılan malzemeler.....	33
Tablo 5.1.	Yapay vücut sıvısının hazırlanmasında kullanılan kimyasal bileşikler.....	38
Tablo 6.1.	Biyoaktif cam numunelerinin DTA sonuçları.....	43
Tablo 6.2.	Biyoaktif cam numunelerinin yoğunluk değerleri.....	43
Tablo 6.3.	Doku iskelesi numunelerinin gözeneklilik değerleri.....	51
Tablo 6.4.	SBF’de 28 gün boyunca bekletilen biyocam numunelerinin Ca/P oranları.....	57
Tablo 6.5.	SBF’de 28 gün boyunca bekletilen doku iskelelerinin Ca/P oranları.....	65

ÖZET

Anahtar kelimeler: Biyoaktif cam, stronsiyum, doku iskelesi

Bu çalışmada $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO}$ sistemine sahip biyoaktif cam bileşimi temel alınmış ve stronsiyum katkısının biyoaktivite özelliklerine olan etkisi incelenmiştir. Dört farklı oranda (ağırlıkça % 0 , % 0.5, % 1, % 2) stronsiyum içeren biyoaktif cam bileşimleri ergitme yöntemi ile üretilmiştir. Camların fiziksel ve biyolojik özellikleri incelenmiş ve camlar daha sonra doku iskelesi üretimi için -45 μm tane boyutuna sahip olacak şekilde öğütülerek toz haline getirilmiştir. Elde edilen biyoaktif cam tozlarından polimer sünger kopyalama tekniği kullanılarak doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Doku iskeleleri biyoaktivite analizleri için belirli sürelerle (1, 7, 14 ve 28 gün) yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilmeleri sonrası yüzey karakterizasyonları ve biyoaktivite analizleri XRD, SEM ve EDS analizi kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar stronsiyum ilavesinin biyoaktivite özelliklerini olumlu yönde arttırdığını doğrularken, ilave edilen stronsiyum oranları ile biyoaktivite arasında net bir ilişki bulunamamıştır.

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF STRONTIUM ADDITIVE ON THE PROPERTIES OF BIOACTIVE GLASS SCAFFOLDS

SUMMARY

Keywords: Bioactive glass, strontium, scaffolds

In the current study, the effect of strontium addition on bioactivity properties was investigated by using $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO}$ glass composition. Four different glass compositions having 0-0.5-1-2 wt.% strontium were produced with melting process. Physical and biological properties of glass were studied and then these glasses were grinded size of $-45\ \mu\text{m}$ to produce tissue scaffold. These were produced from the obtained bioactive glass powders by polymer sponge copying technique. Tissue scaffolds were incubated in artificial body fluid for a period of time (1, 7, 14 and 28 days) for bioactivity analysis and surface characterizations and bioactivity analyzes were performed using XRD, SEM and EDS analysis. The results approved the positive effect of strontium addition on bioactivity properties; there was no clear relationship between added strontium ratios and bioactivity.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

İskelet sistemi; vücudumuzu ayakta tutan, hareket etmemizi sağlayan, iç organlarımızı dış darbelerle karşı koruyan ve vücudumuza şeklini veren sistemdir. İskelet sistemimizde çeşitli sebeplerle oluşan yaralanmalar vücudumuz için büyük sorunlar teşkil edebilir. Kemik yapısında meydana gelen ciddi olmayan yaralanmalar kemik sisteminin mekanizması tarafından kısa zamanda iyileşebilir. Ancak ciddi yaralanmalarda biyomalzeme kullanımı gibi özel müdahalelere ihtiyaç duyulabilir [1]. Biyomalzeme; insan vücudunda hasar görmüş doku veya organların yerine kullanılarak, işlevlerini karşılayabilen ve vücut tarafından sorunsuzca kabul edilebilen malzeme olarak tanımlanabilir [1,2]. Biyomalzemelerin kullanımı çok eski çağlarda başlamıştır. Mısır mumyalarında bulunan yapay göz, burun ve dişler bunun en iyi örnekleridir. Altının diş hekimliğinde kullanımı 2000 yıl öncesine kadar uzanırken, bronz ve bakır kemik implantlarının kullanımı milattan önceye kadar uzanmaktadır [2,3].

Biyomalzemelerin insan vücudundaki davranışlarını açıklayan biyouyumluluk kavramı ilk defa RJ Hegyeli ve CA Homsy ve arkadaşları tarafından 1970 yılında gündeme getirilmiştir [4].

Biyomalzemeler vücut içerisinde değişken ortam koşullarında kullanılmaktadırlar. Bu nedenle biyomalzemelerin vücut içerisinde kullanılabilmesi için belirli özelliklere sahip olmaları gerekmektedir. Biyomalzemelerin sahip olması gereken en önemli özelliklerden birisi biyolojik sistemlerle etkileştiğinde yan etki oluşturmamaları ve uyum sağlayabilmeleridir. Ortopedik malzemeler hareket esnasında milyonlarca yükleme çevrimine maruz kalırlar. Bu nedenle ortopedik uygulamalarda kullanılan biyomalzemenin mekanik ve yorulma dayanım özellikleri büyük önem taşır. Ayrıca insan vücudu protein oksijenli tuzlu çözeltiler içerdiği için bu malzemelerden yüksek korozyon dayanımı, deforme olmamaları, kanserojen ve

toksit etki göstermemeleri gibi birçok özellikte olmaları istenmektedir [2,5]. Ancak günümüzde bu gibi malzemelerden beklentiler artmış ve kemik dokusu zedelendiğinde veya kayba uğradığında, hasarlı bölgenin onarılmasında ya da tamamen yenilenmesinde kullanılmak amacıyla yapay kemik dokusu üretebilmek günümüzün önemli tıbbi ve sosyal ihtiyaçlarından biri haline gelmiştir. Yapay kemik üretimi için günümüzün en önemli seçeneklerinden biri kemik doku mühendisliği olarak görülmektedir. Kalıcı implant ihtiyacını ortadan kaldıran kemik doku mühendisliğinde amaç; kemik yapısına benzeyen, kemiğe bağlanabilen ve kemik gelişimini sağlayan doku iskelesi kullanılarak kemik yenilenmesini sağlamaktır [6,7].

Doku iskelesi üretiminde kullanılan malzemelerde biyoaktif camlar biyouyumluluğu, biyoaktivitesi, kemik üretkenliğine elverişli olması gibi özelliklere sahip olmalarından dolayı dikkat çekmiştir. Bu malzemeler, canlı vücuda yerleştirildiğinde çevredeki kemik dokuya bağlanarak yüzeyleri üzerinde kemik doku oluşumunu teşvik etmektedirler [8]. Ayrıca biyoaktif camlar gibi malzemelerin kimyasal bileşimlerinin içerisine kemik hücrelerini uyarıcı iyonlar katarak kemik oluşum ve gelişiminin arttırılabileceği düşünülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda 45S5Biyocam®'ın yapısına katılan stronsyumun, kalsiyuma benzer iyonik çap ve yük yapısıyla kemiğin iyileşme süresini hızlandırdığı ve anti bakteriyel özelliklere sahip olduğu bilinmektedir [9,10]. Bu özellikleri sayesinde stronsyum, biyoaktif camların kimyasal bileşiminde kalsiyumun yerine katılıp, kemik yapısı içinde kalsiyuma benzer bir rol oynamaktadır [11].

Bu çalışmada; daha önce stronsyum etkisinin incelenmediği $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO}$ biyoaktif cam sistemi temel alınmış ve dört farklı oranda (%0, %0.5, %1, %2) stronsyum ilavesinin biyoaktivite özelliklerine etkisi incelenmiştir. Biyoaktif camlar ergitme yöntemi kullanılarak üretilmiş ve doku iskelesi üretimi için kullanılmıştır. Doku iskeleleri üretimi polimer sünger kopyalama yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen doku iskelelerine çeşitli karakterizasyon yöntemleri uygulanarak yapısal ve fiziksel özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca doku iskeleleri, laboratuvar koşullarında üretilen yapay vücut sıvısı içerisinde çeşitli sürelerde bekletilerek biyoaktivite ve biyobozunma analizleri gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 2. BİYOMALZEMELER

2.1. Biyomalzemelerin Tanımı ve Sınıflandırılması

İnsanların doğal veya sentetik malzemeleri, çeşitli sebepler sonucu (hastalıklar, kazalar, yaşlılık vb.) işlevini yitiren doku veya organların yerine kullanımları tarihte çok eskiye dayanmaktadır. Romalılar, Çinliler ve Aztekler diş hekimliğinde altını 2000 yıl boyunca kullanmışlardır. Bronz ve bakır malzemelerin kemik implantı olarak kullanımı ise milattan önceye kadar uzanmaktadır. Günümüze daha yakın tarihlerde, 19.yy sonlarından itibaren farklı malzemelerin insan vücudunda kullanımı artmıştır. 1880'de fildişinden üretilen protezler insan vücuduna yerleştirilmiştir. 1938'e gelindiğinde ise ilk metal protez vitallyum üretilmiştir. 1960'ların başlarında Charnley, total kalça protezi için PMMA, ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen ve paslanmaz çelik kullanmıştır. Ancak malzemelerin insan vücudunda kullanımları arttıkça bazı sorunlar ortaya çıkmıştır. Örneğin yapılan ilk metal protez insan vücudunda ciddi bir metal korozyonuna uğramış ve hasta için tehdit oluşturmuştur. Bu biyolojik olumsuzluğun tekrar yaşanmaması için 1972'de alümina ve zirkonya esaslı iki seramik yapı kullanılmaya başlanmıştır, ancak bu seramikler inert yapıda olduklarından dokuya bağlanamamışlar ve çok çabuk zayıflamışlardır. Tıpta sentetik materyaller için bu uygulamalar, yazılı tarihin çoğunu kapsamasına rağmen, "biyomalzeme" terimi kullanılmamıştır [3,12].

"Biyomalzeme" teriminin kesin kökenini tespit etmek zordur. Ancak, bugün tanıdığımız alanın, 1960'ların sonlarında ve 1970'lerin başlarındaki Clemson Üniversitesi Biyomalzeme Sempozyumları aracılığıyla ortaya çıkması muhtemeldir. Sık sık yaşamı tehdit eden tıbbi sorunlara çözüm bulmak için yapılan bu sempozyumların bilimsel başarısı 1975 yılında Biyomalzemeler Derneği'nin oluşumuna yol açmıştır. Biyomalzeme terimi için birçok tanım önerilmiştir.

Onaylanan tanımlardan biri; biyomalzeme, biyolojik sistemlerle etkileşime girmesi amaçlanan, tıbbi bir cihazda kullanılan, cansız bir malzemedir. Daha detaylı tanımlanacak olursa biyomalzeme; insan vücudundaki canlı doku veya organların işlevini yerine getirecek olan, vücut sıvılarıyla sürekli ya da belirli aralıklarla temas eden, doğal ya da yapay temelli malzemelerdir [12]. Ancak her malzeme biyomalzeme olarak kullanıma uygun değildir. Çünkü vücuda yerleştirilen malzeme canlı dokuda bir yanıt ortaya çıkarır. Dört tip doku yanıtı vardır ve bunlar Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. İmplant-doku yanıt türleri [12].

Malzeme toksit ise, çevre doku ölür.
Malzeme toksit ve biyolojik olarak aktif değilse (inert), değişken kalınlıkta lifli bir doku oluşur.
Malzeme toksit değil ve biyolojik olarak aktif ise ara yüzeyde bağ oluşur.
Malzeme toksit değil ve emilebilirse, malzeme ile çevre doku yer değiştirir.

Çoğu implant malzemesinin başarısızlığı biyomalzeme-doku ara yüzeyinden kaynaklanan başarısızlık ile ilgilidir. Biyomalzemeler inert olduğunda (Tablo 2.1.) ve ara yüzey kimyasal veya biyolojik olarak bağlanmadığında, malzeme yüzeyinde değişik kalınlıkta fibroz doku oluşmaktadır. Biyomalzeme-doku ara yüzeyinde oluşan bu lifli doku birkaç yüz mikrometre kalınlaşabilir ve implant hızlı bir şekilde gevşeyerek işlevini yitirebilir. Biyomalzemenin aktif olması durumunda ise malzeme-doku ara yüzeyinde güçlü kimyasal bir bağ oluşur. Biyomalzeme emilebilir olduğunda ise bir zaman periyodu içinde kademeli olarak bozunur ve çevre doku ile yer değiştirir [13].

Biyomalzemeler; metaller, polimerler, kompozitler ve seramik malzemeler olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. İmplantın uygulanacağı dokuya göre kullanılacak biyomalzeme de değişiklik gösterir. Geçmişten bugüne biyomalzemeler incelendiğinde; metal ve polimer malzemelerin tıbbi uygulamalarda seramiklere göre daha geniş kullanım alanı buldukları görülmüştür. Modern kompozitler ise, günümüze kadar daha sınırlı bir kullanım alanı bulmuşlardır [14].

2.2.1. Metaller ve alaşımlar

Metalik biyomalzemeler, sahip olduğu kristal yapıları ve güçlü metalik bağları sayesinde üstün mekanik özellikler (yüksek mukavemet, kırılma tokluğu, sertlik vb.) sergilemelerinden dolayı en yaygın kullanılan biyomalzeme gruplardan biridir [15]. Genel olarak metalik biyomalzemeler, yük mukavemetlerinin yüksekliğinden dolayı; kalça protezi ve diz implantları gibi yük dayanımı gerektiren uygulamalar için kullanılmaktadır [16]. Bunun sanı sıra kalp damar cerrahisinde yapay kalp parçaları ve kalp kapakçıkları gibi uygulamalarda kullanılırken çene cerrahisinde diş implantı olarak da kullanılabilirler [17]. Günümüzde biyomalzeme olarak en çok kullanılan metal ve alaşımları olarak, paslanmaz çelikler (316L), titanyum ve titanyum alaşımları, kobalt-krom alaşımları, kobalt-nikel-krom-molibden alaşımı, tantal alaşımları, nikel-titanyum alaşımları, amalgam ve altın sayılabilir [4].

Ancak metallerin yüksek yoğunlukları, kemiğe göre yüksek sertlik göstermeleri ve vücut sıvıları ile temas halinde korozyona uğramaları gibi önemli dezavantajları vardır. Vücuda yerleştirilen metalik bir implantta korozyon oluşursa metaldeki elektron akışı ve oluşan iyonlar, implantın temasta olduğu dokularda hasara neden olur. Bu durum insan sağlığı açısından büyük risk taşımaktadır [15,4].

İlk nesil biyomalzemeler toksit etkiyi en aza indirmek amacıyla tasarlanmıştır. İkinci nesil, malzemenin biyolojik çevreye uyumunu arttırmak ve implantın ömrünü uzatmak için hem mekanik hem de moleküler düzeyde işlevsellik için tasarlanmıştır. Üçüncü nesil ise sadece işlevselliğe değil, aynı zamanda biyoaktif malzeme ile birlikte çevredeki dokuların rejenerasyonuna da odaklanmıştır [18]. Bu nedenle yeni nesil metalik biyomalzemeler sadece biyoyumlu değil aynı zamanda biyoaktif de olmalıdır. Biyoaktif bir malzeme hem mevcut çevre doku ile bütünleşmiş olacak hem de doku büyümesini teşvik edecektir. Ancak metalik biyomalzemeler; çevre dokuya, protein azaltma uyumuna ve potansiyel işlevselliğe karşı inerttir [19]. Bu nedenle, metalik bir implantın, hidroksiapatit ve kemik gibi biyoaktif seramikler arasında gözlenen, doku ile kimyasal bağlanması sınırlı ve olanaksız görünmektedir.

2.2.2. Polimerler

Polimerler, monomerlerin birbirlerine eklenmesiyle oluşan uzun zincirli büyük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Polimerlerin yapısal özellikleri isteğe göre ayarlanabilir ve ekonomik olarak elde edilebildikleri için biyomalzeme olarak geniş bir kullanım alanına sahiptirler [15]. Doğal polimerlerin yanında, bugün için sentetikleri de mevcuttur.

Polimerler, çok değişik bileşimlerde ve şekillerde (jel, boncuk, lif, nanopartikül, film) hazırlanabilmektedir. Sıvıları yapısına alarak şişebilir ya da istenmeyen zehirli ürünler (monomerler, antioksidanlar gibi) salgılayabilirler. Ayrıca, sterilizasyon işlemleri polimer özelliklerini etkileyebilir [20,21]. Tıbbi uygulamalarda kullanılan en yaygın biyopolimerler Tablo 2.2.'de gösterilmektedir.

Tablo 2.2. En yaygın kullanılan biyopolimerlerin özellikleri ve kullanım alanları [22, 23].

Malzeme	Özellikler	Kullanım Alanları
Poli(metil metakrilat) (PMMA)	Sert, rijit ve biostabil olan hidrofobik polimerdir. Ayrıca ışık geçirgenliği sağlayan amorf malzemedir.	Kemik çimentosu Göz içi lensler Sert kontakt lensler
Polyamid (PA)	Çapraz bağlama, moleküler boyutlu gözeneklere sahip bir hidrojel üretir ve jelin bir ayırma ortamı olarak kullanılmasına izin verir.	Elektroforezde kullanılan ayırma jeli
Poli(akrilik asit) (PAA)	Sıvı monomer, bir foto başlatıcı ile iyileştirilebilir. İnorganik tuzlar eklenirse, iyonik çapraz bağlanma meydana gelebilir. Malzeme camsı ve serttir ve mine ile bağlanma potansiyeline sahiptir.	Dental restorasyonda kullanılan cam iyonomer çimentosu
Poliyeten (PE)	Düşük yoğunluklu PE sterilizasyon sıcaklıklarına dayanamaz; Ancak, yüksek yoğunluklu PE, iyi tokluk ve aşınma direncine sahiptir	Kanal ve kateterler için boru Prostetik eklemler
Polivinilklorür (PVC)	PVC plastikleştirici ilavesi ile esnek hale getirilebilir. Ancak bu malzeme kısa süreli uygulamalar için kullanılır, çünkü plastikleştiriciler malzemenin gevrekleşmesine neden olacak şekilde süzdürülebilir	Sonda, kanüller Kan saklama torbaları Cerrahi paketleme
Polipropilen (PP)	İzostatik PP, yarı kristalin, yüksek sertlik ve çekme dayanımına ve iyi bir biyo-kararlılığa sahiptir.	Dikiş ipi Fıtık onarımı Yapay damar dokuları
Polimetilsiloksan (PMMA)	Ana zincirde bulunan silikon sayesinde, bu malzeme çok düşük bir T _g 'ye sahiptir ve bu da onu son derece esnek kılar ve fizyolojik koşullarda iyi yorulma direnci sağlar.	Parmak eklemleri Kalp kapakçıkları Göğüs implantları Kulak, çene ve burun implantları
Poliyeten tereftalat (PET)	Ana zincirdeki aromatik halkalar, yüksek bir erime noktasına sahip bir polimer üretir (T _m = 267 ° C). Yarı kristaldir ve mükemmel gerilme mukavemetine sahiptir.	Vasküler greftler İmplantların fiksasyonu Fıtık onarımı
Selüloz asetat (CA)	Eşsiz taşıma özellikleri, karmaşık biyolojik karışımların ayrılmasında kullanımı mükemmel hale getirir.	Diyaliz membranları Ozmotik ilaç verme cihazları

2.2.3. Kompozitler

Metaller ve seramiklerin “elastik modül” ile tanımlanan sertlik dereceleri, insan vücudundaki sert dokulara oranla 10-20 kat daha fazla olur. Dolayısıyla ortopedik cerrahide karşılaşılan en önemli problemlerden biri, kemikle metal ya da seramik implantın sertlik derecesinin birbirini tutmamasıdır.

Kemik ve implanta binen yükün paylaşılması doğrudan bu malzemelerin sertliğiyle ilgilidir. İmplantın sertlik derecesi, temasta olduğu dokularla aynı olacak şekilde ayarlandığında, kemikte oluşacak deformasyonlar engellenmiş olur. Kullanımdaki tüm bu olumsuzlukları ortadan kaldırmak amacıyla kompozit malzemeler oluşturulur.

Kompozit, farklı kimyasal yapıdaki iki ya da daha fazla sayıda malzemenin, sınırlarını ve özelliklerini koruyarak oluşturduğu çok fazlı malzeme olarak tanımlanabilir. Dolayısıyla kompozit malzeme, kendisini oluşturan bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere sahip olur. Kompozit malzeme, “matris” olarak adlandırılan bir malzeme içerisine çeşitli güçlendirici malzemelerin katılmasıyla hazırlanır. Matris olarak çeşitli polimerler, güçlendirici olaraksa çoğunlukla cam, karbon ya da polimer lifler, bazen de mika ve çeşitli toz seramikler vücut içi uygulamalarda güvenle kullanılabilir [24].

Kompozitler yüksek dayanıma ve düşük elastik modülüne sahip olduklarından ortopedik uygulamalarda kullanılır. Kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek implantın vücuttaki kullanım alanına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması kolaylaştırılabilir. Kompozit malzemeler homojen malzemelere oranla yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlıdır [25].

2.2.4. Biyoseramikler

Biyoseramikler, vücudun hastalıklı veya hasarlı kısımlarının onarımı ve yeniden yapılandırılması için özel olarak tasarlanmış tamamen, kısmen kristal veya kristal olmayan seramik malzemelerin özel bir alt kümesidir [26].

Tarihte bilinen ilk biyoseramik malzeme kalsiyum sülfattır [27]. Milattan sonra yaklaşık 1000'e dayanan eski bir literatür, kalsiyum sülfatın kırık kemiklerin onarılmasında yararlı olduğunu not edilmiş ve 19.yy sonlarında ortopedi cerrahları tarafından kemik dolgu maddesi olarak in vivo uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır [26]. 1970'li yılların başlarında, 45S5 Biyocam®'ı Hench ve iş arkadaşlarının buluşuna kadar, kalsiyum ortofosfatlar, memeli kemiklerinin mineral fazına kimyasal ve kristalografik benzerlikleri nedeniyle, kemik ikamesi için ideal malzemeler olarak kabul edilmiştir [28,29]. Biyoseramiklerin tıp alanındaki uygulamaları temel olarak kemik, dişler gibi sert dokuların onarımı ile ilişkilidir ve yıllar içinde onlarca kompozisyon araştırılmış bu amaçla klinik olarak test edilmiştir.

Biyoseramikleri, doku ile etkileşimlerine bağlı olarak biyoinert, biyoaktif ya da biyoemilebilir özellik göstermelerine göre sınıflandırmak mümkündür. Alümina, zirkonya gibi hemen hemen inert sayılacak seramikler vücut içerisine yerleştirildiklerinde ara yüzeyde ipliksi bir doku (fibroz) oluşumu gerçekleştirirler. Biyoinert seramiklerin klinik açıdan başarılı olması, çok iyi mekanik uygunluk sağlayacak şekilde dokuya yerleştirilmelerine bağlıdır. Bu sayede implant ile doku ara yüzeyinde hareketlilik engellenir (morfolojik sabitleme) ve fibroz doku çok ince bir şekilde oluşur. Aksi durumda, ara yüzeyde hareketlilik olacak şekilde yerleştirildiklerinde oluşan fibroz doku kalınlaşarak implantın gevşemesine neden olur [13].

Biyoaktif seramikler, canlı doku veya kemik ile ara yüzeyde bağlanmanın gerçekleştiği seramiklerdir. Ara yüzeyde gerçekleşen bu bağlanma, implantla doku arasındaki hareketliliği engeller ve ayrıca implantın vücut tarafından dışlanması da engellenmiş olur. Biyoemilebilir başka bir deyişle biyobozunur seramikler ise vücut

sıvılarınca kimyasal açıdan parçalanabilir yapıda olduklarından, vücut içerisine yerleştirildiğinde, onarım işlemi tamamlandığında çözünür ve kendisini çevreleyen doku tarafından emilerek yok edilir [30,13].

Tablo 2.3. Biyoseramik malzemelerin doku ile etkileşimlerine göre sınıflandırılması [31].

İmplant türü	Doku cevabı	Örnek
Gözeneksiz, yoğun ve inert seramikler	Çok ince fibroz doku oluşumu (morfolojik sabitlenme)	Alümina (Al), Zirkonya(Zr)
Gözenekli inert seramikler	Gözenek içerisinde doku büyümesi (biyolojik sabitlenme)	Hidroksiapatit, (HA)
Gözeneksiz, biyoaktif seramikler	Doku-implant arayüzey bağlanması (biyoaktif sabitlenme)	Biyoaktif camlar, Cam-seramikler, HA
Biyobozunur olan seramikler	Emilme	Biyoaktif camlar, Trikalsiyum fosfat

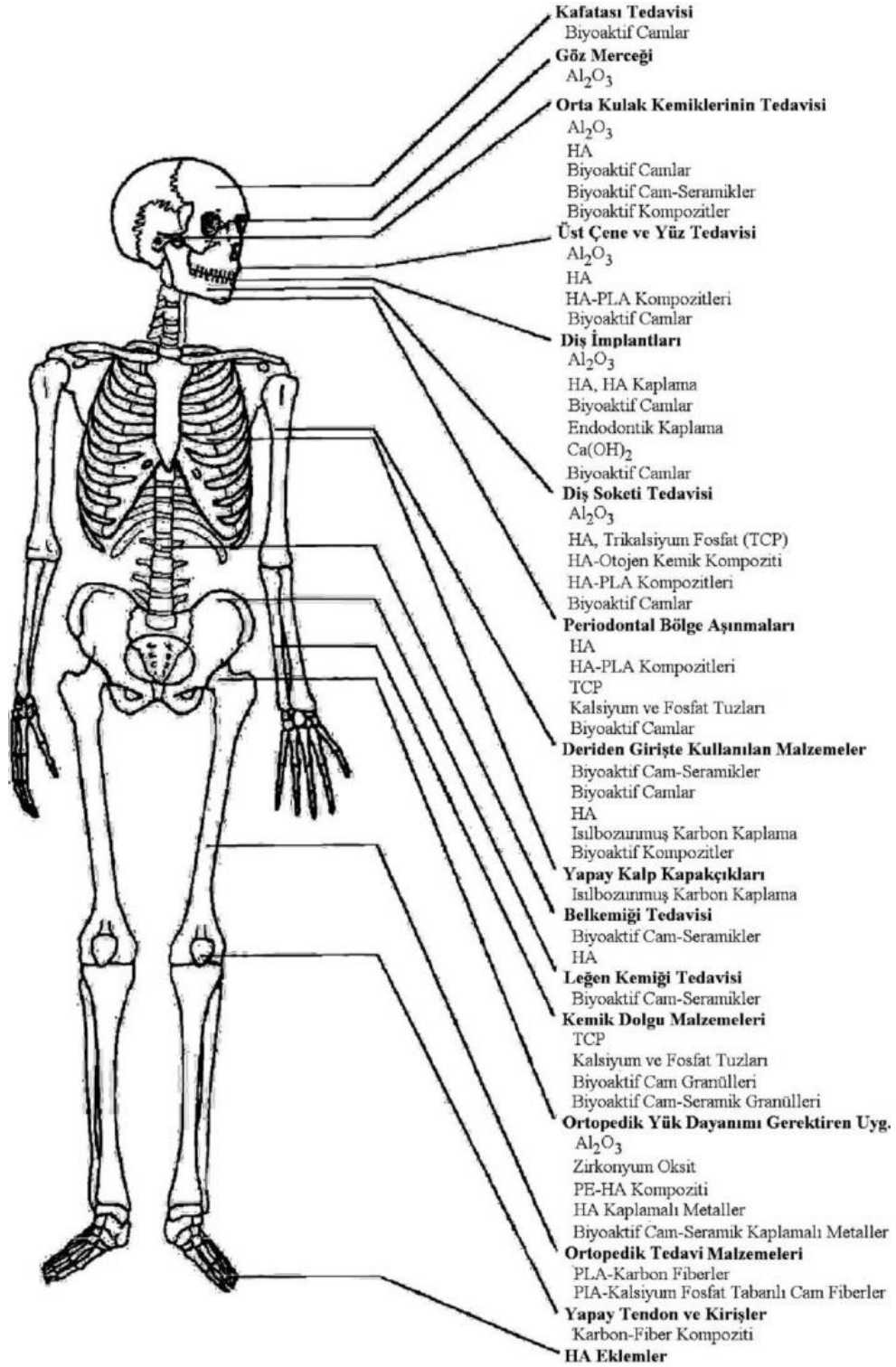
Biyoseramikler, mekanik özelliklerine ve bileşimlerine göre çok farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Alümina, zirkonya ve bunların kompozitleri gibi biyoinert seramikler, mükemmel aşınma ve sürtünme önleyici özelliklerinden dolayı eklem protezleri için çok uygun malzemelerdir [32].

Ortopedik, yük dayanımı gerektiren uygulamalarda kullanılacak kadar dayanıklı olmayan biyoaktif camlar ve özellikle biyoaktif hidroksiapatit seramikler kemikle doğrudan temas halindeki metalik biyomalzemelerin kaplamasında kullanılarak kemik oluşum ve yenilenmesine yardımcı olurlar [33]. Bunun haricinde genel olarak diş tedavisi amacıyla ve orta kulak kemiklerinin tedavisinde kullanılırlar.

Biyoaktif camlar ise kemik doku mühendisliğinde kullanılan doku iskelesi üretiminde uygun malzeme olarak görülmektedirler [34,35].

Biyoaktif cam-seramikler ise daha çok leğen kemiği, bel kemiği gibi daha fazla yük binen bölgelerin tedavisi için tercih edilmektedirler. Bu uygulamalar dışında, kulak

kemiklerinin tedavisinde (çekiç-örs-üzengi) ve toz halinde kemik dolgu malzemesi olarak kullanılmaktadırlar [36].



Şekil 2.1. Biyoseramik Malzemelerin Kullanım Alanları [37]

2.2. Biyomalzemelerin Özellikleri

2.2.1. Kemiğe yakın elastik ve mekanik özellikler

Kemik dokusu hücreler, lifler ve temel maddelerden oluşmuş ve yapısında bulundurduğu kalsiyum sebebiyle sertleşmiş bir destek dokusudur. Kemik mineralinin büyük bölümü kalsiyum karbonat, kalsiyum fosfat, az miktarda sodyum, florit ve magnezyumdan oluşmaktadır [38]. Vücut ağırlığı göz önüne alındığında biyomalzemelerin, fiziksel olarak basma ve çekme mukavemetleri gibi mekanik özelliklerinin, vücut tarafından iletilen yükleri karşılayacak düzeyde bulunması gerekmektedir [39]. Bu nedenle biyomalzemelerin tıbbi uygulamalarında aranan en önemli özelliklerden biri, malzemenin kemik ile benzer yapı ve özelliklere sahip olması gerekliliğidir. Aşağıdaki tabloda kemiğin biyomekanik özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.4. Kemiğin biyomekanik özellikleri [31].

Özellikler	Ölçümler	
	Kortikal Kemik	Süngerimsi Kemik
Elastik Modül (GPa)	14 - 20	0,05 - 0,5
Gerilme Mukavemeti (MPa)	50 -150	10 - 20
Basma Mukavemeti	170 -193	7 - 10
Kırılma Tokluğu (MPa.m ^{1/2})	2 - 12	0,1
Yoğunluk (gr.cm ⁻³)	1,8 - 2,2	0,1 - 1,0
Görünür Yoğunluk(gr.cm ⁻³)	1,8 - 2,0	0,1-1,0
Yüzey Alanı/Kemik Hacmi (mm ² .mm ⁻³)	2.5	20
Toplam Kemik Hacmi (mm ³)	1,4x10 ⁶	0,35x10 ⁶
Toplam Dahili Yüzey	3,5x10 ⁶	7x10 ⁶
Gerilme Bozukluğu	1 - 3	5 - 7

2.2.2. Korozyon direnci

Biyomalzeme seçiminde önemli olan diğer bir konu da korozyondur. Korozyon; metallerin çevreleri ile istenmeyen bir kimyasal reaksiyona girerek oksijen, hidroksit ve diğer başka bileşikler oluşturarak hasara uğraması olarak tanımlanabilir. İnsan vücudundaki akışkanların yapısında bulunan su, protein, klorür, hidroksit ve çözülmüş oksijen gibi iyonlar oldukça korozif bir ortam oluşturmaktadır. Korozyon, biyomalzemelerin dayanımını azaltırken, oluşan korozyon ürünleri de çevre doku içerisine girerek hücrelere zarar verir ve hasta sağlığı için büyük tehlike oluşturur [2,5]. Bu nedenle; insan vücudunda kullanılacak biyomalzemelerin korozyona karşı dirençli olmaları beklenmektedir.

2.2.3. Uygun Tasarım

Biyolojik ve fiziksel uyumluluk özellikleri açısından ideal olan bir malzeme, uygun tasarım yapılamadığı takdirde beklenmedik hasarlara yol açabilir ve malzemenin sahip olduğu bu ideal özelliklerin pratikteki uygulamalarda bir anlamı kalmaz. Bu nedenle malzemenin yapısal özelliklerini korunarak, vücutta kullanım alanlarına uygun şekilde tasarlanabilmesi çok önemlidir [40].

2.2.4. Biyouyumluluk

Bir biyomalzeme canlı doku ile yakın bağlantılı olarak uygulanması amaçlanmıştır; Bu nedenle, implant edilen malzemede hiçbir tehlikeli etki olmadığından emin olmak önemlidir. Williams'a göre, biyomalzemenin tüm özelliklerinin yanı sıra, biyomalzeme implant ile doku ve hücrelerin ilişkileri biyouyumlulukla karşılanmaktadır [41,42].

Biyoyumluluk gereksinimleri sıkı ve karmaşıktır; toksik bir malzeme vücuda yerleştirildiğinde enfeksiyon, alerjik reaksiyon, implantın reddi gibi önemli sorunlar ortaya çıkacaktır. Bir malzemenin biyoyumlu olabilmesi için; kanser gelişimine (kanserojenliği), doku veya hücre ölümüne (toksikite), belirli reaksiyonlara

(alerjenite), kan pıhtılaşmasına veya genetik hasara (mutajenite) sebep vermeyecek özellikte olması gerekmektedir [43,44].

Son 30 yıl içinde biyomalzeme doku etkileşimlerinin anlaşılması konusunda önemli bilgiler elde edilmiş ve biyouyumluluk için çeşitli tanımlamalar yapılmıştır. Biyouyumlu malzemeler, vücuda yerleştirilme sonrasında kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (enfeksiyon, pıhtılaşma vb.) oluşturmeyen malzemeler olarak tanımlanabilirler [24]. Bununla birlikte malzemenin vücudun neresinde ve ne amaçla kullanılacağı da biyouyumluluğu kapsar. Örneğin; trombojenik özellikleri nedeniyle, ortopedik cerrahide güvenle kullanılan bir malzeme, kardiyovasküler uygulamalar (kalp, damar) için uygun olmayabilir [45]. Bu nedenle araştırmacılar yapılan biyouyumluluk tanımına yeni bir yaklaşım getirerek biyouyumluluğu yapısal ve yüzey uyumluluğu olarak iki şekilde ifade etmişlerdir. Malzemenin, vücut dokularındaki mekanik davranışlarına sağladığı optimum uyum, yapısal uyumluluk olarak tanımlanırken, malzemenin vücut dokularına biyolojik, kimyasal ve fiziksel olarak uygun olması yüzey uyumluluğu şeklinde tanımlanmıştır [46].

Tüm bu yaklaşımlara rağmen günümüzde biyouyumluluğun çok kesin bir tanımı yapılamamıştır. Çünkü bu tanım malzemenin vücudun hangi bölgesinde ve ne amaçla kullanılacağına göre değişiklik gösterir. Bu nedenle hem biyomalzeme hem de biyomalzemenin yerleştirileceği vücut ortamı incelenmeli ve vücut içerisinde istenmeyen herhangi bir etkiye neden olmamaları amacıyla malzemeler detaylı biyolojik testlere tabi tutulmalıdır [5,47].

BÖLÜM 3. BİYOAKTİF CAMLAR

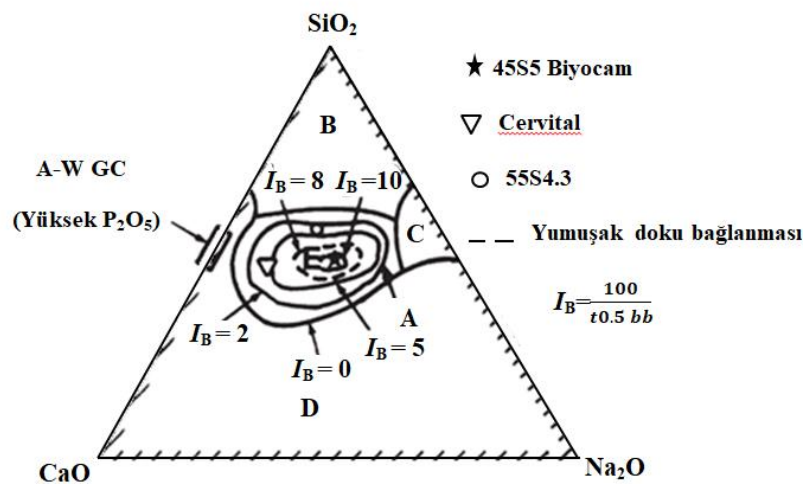
3.1. Biyoaktif Camlar Ve Özellikleri

İlk kez 1969 yılında Hench ve arkadaşları tarafından geliştirilen, sentetik silikat bazlı seramiklerin bir grubunu ifade eden biyoaktif camlar, belirli oranlarda silikon dioksit (SiO_2), sodyum oksit (Na_2O), kalsiyum oksit (CaO) ve fosfor pentoksit (P_2O_5) bileşiklerinden oluşturulmuştur [48]. İlk kez üretilen amorf yapılı bu biyoaktif camın kompozisyonu; ağırlıkça % 45 SiO_2 , %24.5 CaO , % 24.5 Na_2O , ve % 6 P_2O_5 olup, % 45 SiO_2 içeriği ve molce $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ oranının 5 olmasından dolayı 45S5 Biyocam[®] olarak adlandırılmıştır [31]. Daha sonra bu kompozisyonun yapısına, potasyum oksit (K_2O), magnezyum oksit (MgO) ve borik oksit (B_2O_3) gibi bileşenler eklenerek farklı biyoaktif cam ve cam-seramikler elde edilmiştir. 45S5 biyoaktif camından geliştirilen çeşitli biyoaktif camların ve cam seramiklerin bileşimleri Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Biyoaktif cam ve cam-seramiklerin bileşimleri (% ağı.) [51-53].

	45S5	45S5F	45S5.4F	40S5B5	52S4.6	55S4.3	KGC	A-W
	Biyocam	Biyocam	Biyocam	Biyocam	Biyocam	Biyocam	Ceravital	GC
SiO_2	45	45	45	40	52	55	46,2	34,2
P_2O_5	6	6	6	6	6	6		16,3
CaO	24,5	12,25	14,7	24,5	21	19,5	20,2	44,9
$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$							25,5	
CaF_2		12,25	9,8					0,5
MgO							2,9	4,6
Na_2O	24,5	24,5	24,5	24,5	21	19,5	4,8	
K_2O							0,4	
B_2O_3								
Yapı	Cam	Cam	Cam	Cam	Cam	Cam-Seramik	Cam-Seramik	Cam-Seramik

Biyoaktif camların yapısındaki anahtar bileşen silikat, ağırlığının % 45-52'sini oluşturur. İçerdiği bu silikat oranı biyoaktif camları geleneksel soda kireç-silisli camlardan ayıran en önemli özelliktir. Bir diğer özellik ise biyoaktif camların yüksek Na_2O , CaO içeriği ve yüksek bir $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ oranına sahip olmalarıdır. Bu özellikler sayesinde biyocamlar vücut sıvılarına maruz bırakıldıklarında konakçı doku veya kemik ile arasında güçlü bir bağlanma gerçekleşir. Bu bağlanmanın silikon iyonlarının birikmesinden ve biyocamın yüzeyinde hidroksiapatit kaplamanın oluşmasından kaynaklandığına inanılmaktadır [49]. Hidroksiapatit tabaka proteinleri emip, osteoprogenitör hücreleri (kemik bağ dokusunu salgılayan hücreler) çekerek kemik oluşumunu sağlar [50]. Dolayısıyla biyoaktif camların bileşimi, canlı dokulara bağlanma özelliği için oldukça önemlidir. Bu yüzden Hench tarafından Na_2O - CaO - P_2O_5 - SiO_2 camları üzerinde kemik ve yumuşak doku bağının bileşim ile bağımlılığını açıklayan faz diyagramı çizilmiştir.



Şekil 3.1. Hench tarafından çizilen faz diyagramı; Biyoaktif camların ve cam-seramiklerin kemik ve yumuşak doku bağının bileşimsel olarak ilgisi (% ağırlık). A bölgesindeki tüm bileşimler sabit bir % 6 oranında P_2O_5 'e sahiptir. A-W cam seramik daha yüksek P_2O_5 içeriğine sahiptir (bkz: Tablo 3.1.). I_B : Biyoaktivite indeksi [51].

Biyoaktif cam ve cam seramiklerin kemik gibi canlı dokulara bağlanabildikleri bölge A bölgesi ile gösterilmiş ve bu bölge kemik biyoaktif kemik bağlanma sınırı olarak adlandırılmıştır. B bölgesi içindeki camlar pencere, şişe veya mikroskop camları gibi % 60'dan fazla silikat içeren camlardır. Bu camlar neredeyse inert malzemeler olarak davranır ve kemikte bir fibröz doku ortaya çıkarır [51].

C bölgesi içindeki camlar emilebilir ve implantasyondan 10 ila 30 gün içinde kaybolur. D bölgesi içindeki camlar ise teknik olarak pratik değildir ve bu nedenle implant olarak test edilmemiştir. En yüksek biyoaktivite özelliğini ve en hızlı şekilde kemik dokuya bağlanma özelliğine sahip camlar, diyagramının ortasında yer alan E bölgesinde bulunmaktadır [31,51].

Yapılan çalışmalar sonucunda molce % 5'den küçük $\text{CaO/P}_2\text{O}_5$ oranına sahip olan camların kemiğe yapışma özelliği göstermedikleri görülmüştür. Bununla birlikte, ağırlıkça % 5-15 oranında silika yerine B_2O_5 ve ağırlıkça % 12,5 oranında CaO yerine CaF_2 ilave edildiğinde biyoaktiflik özelliğinin devam ettiği tespit edilmiştir [51,52]. Ayrıca biyoaktif camlara ağırlıkça % 0-5 alkali ilave edildiğinde kemiğe bağlanmanın engellenmediği ancak biyoaktifliğin azaldığı görülmüştür [13].

Biyoaktif camlar sadece temas ettikleri bölgede değil tüm yüzeylerinde hidroksiapatit tabaka oluştururlar. Oluşan bu tabaka proteinleri emip, osteoprogenitör hücreleri (kemik bağ dokusunu salgılayan hücreler) çekerek kemik oluşumunu sağlar [50]. Ayrıca biyoaktif camların uygulaması sırasında kırılma olduğu durumlarda, parçalar birbirinden ayrılmamışsa yüzey hidroksiapatit tabakasının kendi kendini tamir yeteneği sayesinde tekrar birleşebilmektedir [28].

Biyoaktif camların bir diğer özelliği ise bakteriostatik özellik göstermeleridir. Bu durum biyoaktif camların yüzeyinde oluşan yüksek pH'ın (10^7 'a kadar çıkabilir) bakteri üremesini azaltması ve enfeksiyon sonucu meydana gelen asitleri nötralize etmesi ile açıklanır [53,54].

Biyoaktif camların en büyük dezavantajı ise; amorf yapıya ve iki yönlü cam ağına sahip olmalarından dolayı düşük mekanik özellikler sergilemeleridir. Tablo 3.2.'de çeşitli biyoaktif cam ve cam-seramiklere ait mekanik özellik değerleri verilmiştir.

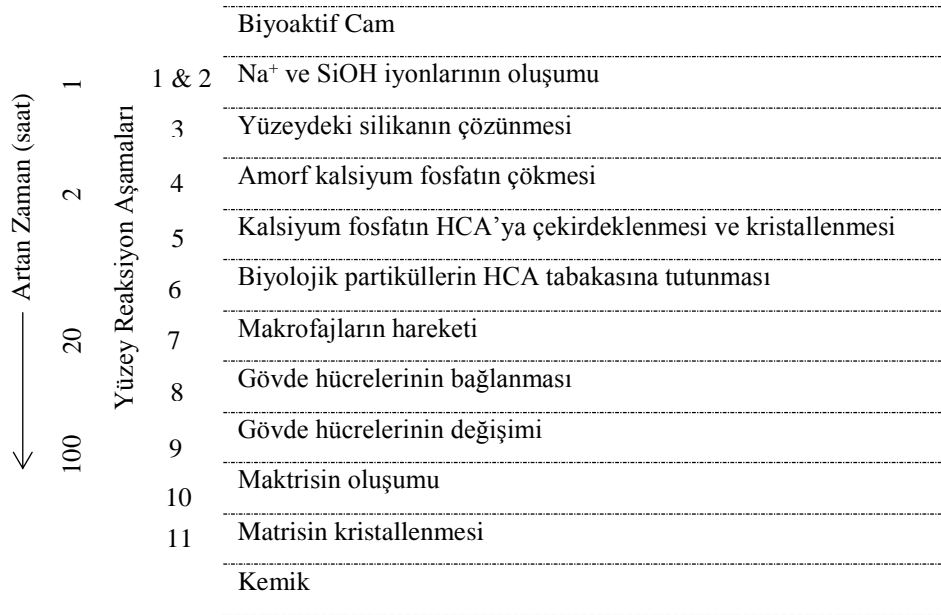
Tablo 3.2. Bazı biyoaktif cam ve cam-seramiklerin mekanik özellikleri [11,31].

Biyoseramik	Yoğunluk (g/cm ⁻³)	Basma mukavemeti (MPa)	Gerilme mukavemeti (MPa)	Elastisite Modülü (GPa)	Kırılma Tokluğu (MPa.m ^{-1/2})
45S5	2,66	~500	40 - 60	35	0,5 - 1
Biyoaktif Cam					
Cam-Seramik A/W	3,07	1080	215	118	2,0
HA Seramik	3,16	500-10 ³	115 - 200	80 - 110	1,0
Cam-Seramik Bioverit	2,8	500	100 - 160	70 - 88	0,5 - 1
Cam-Seramik Ceravital	-	500	-	100 - 150	-

Tablo 3.2.'de görüldüğü gibi biyoaktif seramikler arasında en yüksek basma mukavemetini HA biyoaktif seramik ve A/W biyoaktif cam-seramik malzemeler göstermektedir. 45S5 biyoaktif camın ise esneklik katsayısı değerleri kortikal kemiğe yakın olmasına rağmen (bkz: Tablo 2.3.) gerilme mukavemeti 40-60 MPa arasındadır ve bu değer yük taşıma özelliği gösterebilmesi açısından yetersiz görülmektedir. Bu yüzden, biyocamlar daha çok kaplama malzemesi olarak kullanılırlar [31].

3.2. Biyoaktif Camların Kemiğe Bağlanma Mekanizması

Hench ve arkadaşları biyoaktif camların, kemik ile ara yüzeyde Ca-P açısından zengin bir tabaka oluşturarak kemiğe güçlü bir şekilde bağlandıklarını bildirmişlerdir [55]. Bu bağlanma biyocamların vücut sıvısına maruz bırakıldığında yüzeyleri üzerinde, yüzey çözünmesi ile başlayan ve birbiri ardına gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar sonucu sağlanmaktadır [28,56,57]. Biyoaktif camların yüzeyinde meydana gelen 11 reaksiyon aşaması dizisi vardır ve bu aşamalar Şekil 3.2.'de gösterilmektedir.



Şekil 3.2. Biyocam yüzeyinde gerçekleşen tepkime aşamaları [13].

Aşama 1 ve 2, camın yapısındaki alkali iyonların ve çözeltideki hidrojen iyonlarının çözünerek Si-OH gruplarını oluşturmasını kapsar [13].

Aşama 3, Oluşan Si-OH gruplarının polimerizasyon reaksiyonları ile yüzeyde 1-2 µm kalınlığında bir silika jel tabakası meydana gelir [13].

Aşama 4, Polimerizasyon sonrasında oluşan silika jel tabakasının üzerinde çözeltide bulunan OH⁻/ PO₄³⁻ iyonları, kalsiyum iyonları (Ca⁺) ile birleşerek amorf kalsiyum fosfat (CaO-P₂O₅) tabakası meydana gelir. Kalsiyum fosfat tabakasının oluşmasında çözeltide bulunan Ca²⁺ ve PO₄³⁻ miktarı etkilidir. Hidroksiapatit oluşumunda ise, Ca²⁺ ve Si(OH)₄ oranı büyük önem taşır [58].

Aşama 5, Amorf kalsiyum fosfat tabakası çözeltiden gelen OH⁻, (CO₃)⁻² iyonları ile birleşerek kristalizasyona uğrar ve hidroksiapatit tabakasına dönüşür. Hidroksiapatit tabakasının oluşabilmesi için Ca/P oranının 1,65 ve üzerinde olması gerekmektedir [58].

Yüzey reaksiyonlarının bu ilk beş aşaması çok hızlı bir şekilde meydana gelir ve en yüksek biyoaktiviteye sahip E bölgesindeki biyoaktif camlar, örneğin 45S5 Biyocam® için 24 saat içinde tamamlanır [13]. Yüzeyde bir kez apatit çekirdeği oluştuğunda çözeltiden kalsiyum ve fosfat iyonları alınarak, büyüme kendiliğinden devam etmektedir [58]. Aşama 6'da hücreler tarafından üretilen büyüme faktörleri adsorpsiyon ve desorpsiyonu artırır. Makrofajların implant bölgesini doku onarımına hazırlamak için ihtiyaç duydukları süreyi ve bağlanma süresini sırasıyla 7. ve 8. aşamada sağlanmaktadır. Osteoblast hücrelerinin eşzamanlı çoğalma ile farklılaşma sürelerini ise 9. aşama etkilemektedir. Son olarak 11. aşamada matrisin mineralizasyonu gerçekleşir ve osteosit hücreleri kollejen-HCA matriks içine gömülür. Bütün bu süreç 6- 12 gün içerisinde gerçekleşir [31,59].

3.3. Biyoaktif Camların Üretimi

Biyoaktif camların üretimi iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilebilir. Geleneksel bir yöntem olan ergitme yöntemi, camların yüksek sıcaklıklarda ergitilmesi ile gerçekleştirilirken sol-jel yöntemi camların daha düşük sıcaklıklarda üretilmesine olanak sağlar [60].

3.3.1. Ergitme yöntemi

Ergitme yöntemi ile biyoaktif cam üretmek için öncelikle toz halinde hazırlanan başlangıç malzemeleri karıştırılarak 1300-1500 °C'de ergitilir. Daha sonra kalıplara dökülerek şekillendirilir. Bu yöntemde kullanılan malzemelerin saf olmasına dikkat edilmeli ve üretim sırasında eriyikte meydana gelecek kirliliği engellemek için platin potalar tercih edilmelidir [61].

3.3.2. Sol-jel yöntemi

Sol-jel tekniğinde, tetraetil ortosilikat (TEOS) gibi alkoksitlerin oda sıcaklığında hidrolizi gerçekleştirilerek kollodial bir çözelti (sol) elde edilir. Burada alkoksit ile su molekülü birbirini etkileyerek alkol molekülü oluşur. Daha sonra Si-OH gruplarının

polikondenzasyonu ile oligomerler oluşur. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra üç boyutlu, çapraz bağlı yapı meydana gelir [61]. Ağın bağlanabilirliği arttıkça viskozite de artar ve bunun sonucunda bir jel biçimlenir. Oluşan jeilin dayanımını arttırmak için 60 °C’de yaşlandırma işlemi uygulanır. Polikondenzasyon tepkimesi sonucu meydana gelen sıvı yan ürünleri uzaklaştırmak için 130 °C’de kurutma yapılırken, malzemenin yüzeyinden organik türlerin uzaklaştırılması için 500-800 °C’de sinterleme yapılır [62].

Ergitme yöntemi ile üretilen biyoaktif camların SiO₂ içeriği en fazla % 60 olabilirken sol-jel yönteminde bu oran % 90’a kadar çıkabilmektedir. Sol-jel yöntemi ile üretilen camlar ergitme yöntemi ile üretilen camlara göre daha yüksek homojeniteye sahiptir [28]. Ergitme yönteminin avantajı ise daha kısa zamanda biyoaktif cam üretimini sağlamasıdır.

3.4. Biyoaktif Camların Kullanım Alanları

İlk defa Hench ve çalışma arkadaşları tarafından 1971’de üretilen biyoaktif cam üretimlerinden itibaren pek çok biyomedikal uygulamada kullanılmışlardır. Biyoaktif cam içeren ilk cihaz A.B.D’de orta kulakta bulunan kemiklerin değiştirilmesi sonucu oluşan işitme kaybının tedavisinde kullanılan cihazdır. ‘Bioglass® Ossicular Reconstruction Prosthesis’ olarak adlandırılan cihazın ticari adı ise ‘MEP®’ir. Biyoaktif cam içeren bu cihazın kemik dokuya bağlanabilmesi haricinde zar gibi yumuşak dokuya da bağlanabilme özelliğinden dolayı aynı dönem kullanılan diğer cihazlardan daha üstün olduğu kabul edilmiştir [63].

1988 yılında piyasaya sürülen ve biyomedikal alanda kullanılan ikinci biyoaktif cam olan “Endosseous Ridge Maintaince Implant” (ERMI), dudak ve dil katmanlarını desteklemek amacıyla diş köklerinde kullanılmıştır.

Avrupa’da 1995 yılında periodontal hastalığın sebep olduğu kemik kaybının onarımını sağlayan “PerioGlass” isimli ürün, 1999 yılında ise “NoveBone” ticari adıyla toz biyoaktif camlar satılmaya başlamıştır. 2000 yılına gelindiğinde bu ürünün

yük dayanımı gerektirmeyen bölgelerde, ortopedik kemik doku naklinde kullanılabilmesi açıklanmıştır. NoveBone günümüzde hâlâ Amerika, Çin, Avrupa ve birçok ülkede satılmaktadır [64].

Biyoaktif camlar canlı dokuya güçlü bir şekilde bağlanabilme özelliklerinden dolayı birçok kafatası, çene yüz cerrahisi ve diş eti tedavisinde kullanılmaktadırlar. Ağır yük uygulamalarında kullanılmayacak kadar düşük mekanik özellik değerlerine sahip olan biyoaktif camlar metal katmanlar üzerinde kaplama şeklinde kullanılmaktadır [40].

Günümüzde ise biyoaktif camlar, doku mühendisliği uygulamalarında canlı dokuların yenilenmesini teşvik eden genleri etkinleştirmek ve yeni doku üretimi için kullanılmaktadır [64].

3.5. Biyoaktif Cam Katkılarının Biyolojik Özelliklere Etkisi

45S5 Bioglass'ın icat edilmesinden bu yana, silikat bazlı biyoaktif camlar, kemiğe bağlanma yetenekleri nedeniyle biyomedikal alanda birçok uygulamada kullanılmışlardır [28]. Spesifik olarak biyoaktif camlar, biyolojik sıvıya maruz kaldığında yüzeyinde HCA tabakası oluşturarak kemiğe güçlü bir şekilde bağlanma sağlar [64]. Son zamanlarda, biyoaktif camlardan çözünen iyonik ürünlerin osteojenik (kemik oluşumu) ve anjiyojenik (yeni damar oluşumu) süreçler üzerindeki etkileri araştırılmaktadır [65]. Yapılan araştırmalar, biyoaktif camlardan salınan iyonların; kemik oluşumunu sağlayan hücrelerin çoğalmasını, insülin benzeri büyüme faktörü II üretimini arttırdığı, hücre döngüsü düzenleyicileri ve sayısız genlerin protein üretim seviyelerini düzenlediğini ortaya koymuştur [66].

Kendini yenileme özelliğine sahip olan kemik doku aynı zamanda kan damarları da içerir [67]. Kemik oluşumu ve yenilenmesini desteklemek için hormonlar, büyüme faktörleri gibi çeşitli yaklaşımlar önerilmiştir [68,69]. Ancak büyüme faktörlerinin dikkatsiz ve yanlış kullanımları bazı yan etkilere neden olmuş, güvenlik konusu bir sorun haline gelmiştir [70,71]. Alternatif olarak, doğal ama daha güvenli bir

yaklaşım olan biyoinorganik iyonların dahil edilmesi veya lokal olarak verilmesi vurgulanmıştır [72]. Büyüme faktörleri ile karşılaştırıldığında biyoinorganik maddeler, daha düşük maliyet etkinliği ve uygulama sonrası daha sürdürülebilir bir aktivite nedeniyle artan bir ilgi görmektedir [73]. Kemik oluşumu ve yenilenmesi üzerinde etkili bazı iyonlar Tablo 3.3.'de gösterilmektedir.

Tablo 3.3. Bazı biyoinorganik iyonların kemik oluşumu üzerindeki etkileri

İyon	Etki
Mg ²⁺	Yeni kemik oluşumuna katkıda bulunur [74]. Kemik hücrelerinin adhezyonunu ve stabilitesini artırır [75].
Sr ²⁺	Kemik oluşumu ve gelişimi destekler [76] Kemik erimesinde tedavi edici ajan olarak görev alır [76].
Si ⁴⁺	Biyolojik sıvılı ortamlarda HCA oluşumunu tetikler [77]. Kemik oluşumunu sağlar [77]. Kemik yoğunluğunu artırır [78].
Zn ²⁺	Kemik oluşumu sağlayan hücrelerin farklılaşmasını sağlayan geni düzenler ve bu hücrelerin protein sentezini artırarak kemik oluşumuna katkıda bulunur [79].
Cu ⁺	Kemik oluşumunu hızlandırır [80]. Kan damarı oluşumunu destekler [80].
Li ⁺	Kemik doku oluşturan hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve olgunlaşmasını sağlayarak kemik oluşumunu destekler [80].
Co ²⁺	Kan damarı oluşumuna ve gelişimine katkı sağlar [80].

3.5.1. Stronsyum katkılı biyoaktif camlar ve özellikleri

İnsan kemiğinin büyük bir kısmı kalsiyum, fosfor, sodyum gibi inorganik maddelerden oluşmaktadır. Stronsyum, iskelet sisteminde % 0,035 oranında mineral içeriğine sahip önemli bir elementtir [81]. Kalsiyum ile aynı periyodik grupta yer alan stronsyum hem kimyasal özellikleri hem de biyolojik davranışları açısından kalsiyum ile benzerlik gösterir. Bu nedenle stronsyum, kemik yapısında kalsiyumun yerine görev alabilir.

Stronsiyumun sahip olduğu tüm bu olumlu özellikler göz önüne alındığında, biyoaktif camların yapısına katılarak kemik hücrelerinin çoğalması üzerine olumlu etkilerinin artırabileceği düşünülmektedir. Bu amaçla biyoaktif cam üretiminde bir miktar stronsiyum bir miktar kalsiyumun yerine kullanılmaktadır [80]. Stronsiyumun, kullanılan doza bağı olarak kemik metabolizması üzerinde çeşitli etkileri vardır. Düşük doz seviyelerinde, stabil stronsiyum yukarıda belirtildiği gibi kemik oluşumunda büyük yarar sağlar. Bunun aksine, yüksek bir stronsiyum dozu kusurlu kemik mineralizasyonunu azaltarak hidroksiapatit oluşumunu engeller [82].

Gentleman ve çalışma arkadaşları ürettikleri biyoaktif camda Ca^{+2} yerine Sr^{+2} kullanmış ve biyolojik performansları üzerindeki etkilerini in vitro olarak rapor etmişlerdir. Sonuç olarak kalsiyum yerine bir miktar stronsiyum kullanılarak üretilen biyoaktif camların kemik oluşumu sağlayan hücreler üzerinde bir anabolik etki (protein üretiminin uyarılması) geliştirdiğini öne sürmüşlerdir [11]. Zhang ve Ç.A. ise biyoaktif camların optimum bir Sr dozu ile üretildiklerinde kemik oluşum hücrelerinin çoğalmasını ve proteinlerin parçalanmasını sağlayan bir enzim olan alkalın fosfataz (ALP) aktivitesini uyardığını bulmuşlardır [83]. Son zamanlarda Wu ve arkadaşları stronsiyum içeren biyoaktif cam doku iskeleleri üretmiş ve stronsiyumun ilave edilmesinin biyolojik özellikleri arttırdığını ve doku mühendisliğinde potansiyel bir uygulama gösterdiğini bildirmişlerdir [84,85].

BÖLÜM 4. KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ İÇİN DOKU İSKELELERİ

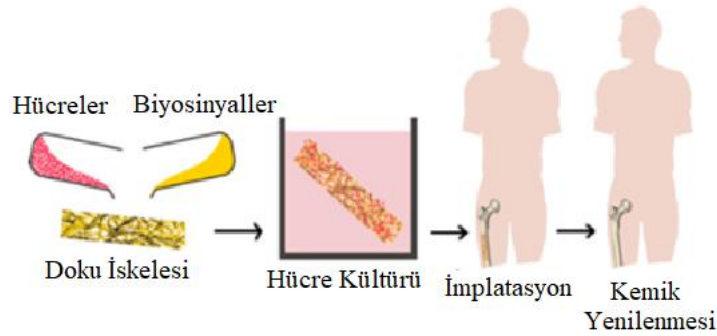
4.1. Kemik Doku Mühendisliği Yaklaşımı

Geçmişte yapılan tıbbi uygulamalar incelendiğinde, hasara uğramış kemiği onarmak için genellikle biyoinert malzemelerin kullanıldığı görülmektedir. Fakat bu malzemeler, canlı dokuların sahip olduğu; kendini onarabilme, kan akışını sürdürebilme ve çevre faktörlerine (mekanik yüklemeler vb.) uygun olarak, yapı ve özelliklerini değiştirebilme kabiliyetlerinden yoksun oldukları için zamanla kemik yoğunluğunu daha büyük bir kayba uğratabilir. Ayrıca implant edilen her malzeme belirli bir kullanım süresine sahip olduğundan bir zaman sonra malzemenin yenilenmesi gerekebilir. Oluşabilecek bu sorunları ortadan kaldırmak için implantların dokular ile yer değiştirmesi düşüncesinden, dokuların yenilenmesine doğru değişen yeni bir yaklaşım olan doku mühendisliği üzerinde durulmaktadır [86].

Kalıcı bir implant kullanımını ortadan kaldıran doku mühendisliği; hastanın kendisinden elde edilen sağlıklı hücrelerin kontrollü kültür koşullarında, doku iskelesi adı verilen bir yapıya ekilmesi ve elde edilen hücre-biyomalzeme birleşimlerinin hasarlı bölgeye yerleştirilmesiyle, doku yenilenmesinin amaçlandığı bir yaklaşımdır [87].

Doku mühendisliği yaklaşımında kemik yenilenmesinin gerçekleşebilmesi için dört bileşene ihtiyaç vardır. Bunlar; çeşitli hücresel işlevleri (yapışma, yayılma, üreme, farklılaşma vb.) desteklemek amacıyla kullanılan bir biyosinyal, bu sinyal ile etkileşecek olan hücreler, hücrelere tutunmaları için destek sağlarken hücrelerin salımını gerçekleştirecek bir doku iskelesi ve damarlı bir hasar bölgesi'dir [87,88].

Kemik doku mühendisliği ile doku yenilenmesinin amaçlandığı yaklaşımın şematik hali Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Kemik doku mühendisliği yaklaşımının şematik gösterimi [87].

Kemik yenilenmesinin hedeflendiği doku mühendisliği yaklaşımı günümüzün en çok ilgi çeken konusu haline gelmiştir. Bu durum ideal doku iskelesi üretimi için yeni malzemeler ve üretim yöntemleri geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Ayrıca üretilen doku iskelelerine in vitro ve in vivo deneyleri yapılarak, iskelenin insan vücudunda istenilen sonucu verip vermeyeceği araştırılmaktadır.

Doku mühendisliğindeki en önemli sorunlardan biri, yapılan in vitro ve in vivo deneylerinin sonucunda elde edilen modellerin insan vücudunda her zaman beklenen sonucu vermemesidir. Bir diğer önemli sorun ise doku iskeleleriyle üretilen yapay kemik yamalarında damarlanmanın sağlanamamasıdır. Ancak tüm bu sorunların, kemiğin doğal yapısına uygun biyomalzemelerin tasarımı ve biyosinyallerin doğru zamanda, doğru miktarlarda kullanımı ile çözülebileceği düşünülmektedir [87].

4.2. Doku İskelelerinin Sahip Olması Gereken Özellikleri

Doku iskelesi; hasara ve hasarın bulunduğu dokuya özgü tasarlanmış, doku oluşumunu destekleme yeteneğine sahip üç-boyutlu yapay bir destek olarak tanımlanabilir [89]. Genel anlamda, ideal üç boyutlu bir iskele, içine yerleştirilecek olan dokuya benzer mekanik özelliklere sahip olan, biyoyumlu ve biyobozunabilir bir malzemeden oluşur. Doku iskeleleri, kalıcı implantlar değildir ve konakçı hücrelerin, hücre dışı matris (extracellular matrix, ECM) biriktirmesini ve iskelenin yapısını zamanla değiştirmesini kolaylaştırır. İskelenin üç boyutlu mimarisi, hücre ve

besin göçüne izin vermek için birbirine bağlı oldukça gözenekli bir yapıda olmalıdır. İskele yüzeyi ayrıca hücre eki, çoğalma ve farklılaşmayı kolaylaştırmak için optimize edilmelidir (bkz. Tablo 4.1.). İskele malzemesinin, bireysel hasta kemik kusurlarının yerinde tedavisine olanak sağlayabilmesi için farklı şekil ve boyutlarda kolayca üretilebilir olması da istenir [90-92].

İskele ve bozunma ürünleri her şeyden önce biyouyumlu olmalıdır. Bu özellik, iskele malzemelerinin hücrelere toksik olmamasını, kolayca vücuttan atılmasını ve vücutta buldukları süre boyunca ihmal edilebilir bağışıklık yanıtını ortaya çıkarmasını sağlar [93, 94]. Aynı zamanda kontrollü biyobozunurluk bir iskelenin sahip olması gereken en önemli özelliklerden biridir. Bir iskele çok hızlı bozulursa, yeni kemik oluşurken mekanik destek sağlayamadığı için taşıyıcı bir yüke maruz kaldığında kırılabilir ve hasara yol açabilir. Benzer şekilde, eğer bir iskele yeterince hızlı bir şekilde bozulmazsa, iskelenin yabancı maddesine doğru bir inflamatuvar yanıt (iltihap, yaralanma veya yabancı maddeye karşı vücudun vermiş olduğu tepki) tetiklenebilir ve doku yenilenmesine zarar verebilir [95].

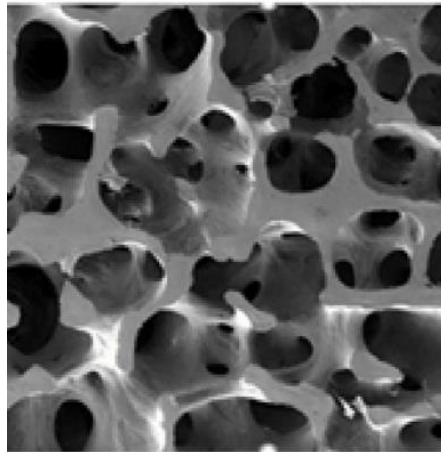
Büyüme faktörleri de başarılı kemik doku mühendisliği iskelelerinde önemli rol oynamaktadır. Yeni kemik oluşumu ve hücre dışı matriks (ECM) birikimi süreçleri bir dizi büyüme faktörü ve biyomoleküller tarafından düzenlenir. Büyüme faktörlerine örnek olarak kemik morfogenik proteinleri (BMP) kemik ve kıkırdak gelişiminde kritik bir rol oynar. BMP, kemik oluşumu sağlayan hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını tetikleme yeteneğine sahiptir [96]. Bununla birlikte BMP kullanımı, yumuşak dokularda veya kemik dışı dokularda kemik oluşumuna neden olabilir. Doku iskelelerine dahil edilen bir başka büyüme faktörü olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), kan damarlarının oluşumunu ve in vivo kemik oluşumunu artırma becerisi gibi özelliklere sahiptir [97].

Tablo 4.1. İstenilen doku iskele özelliklerinin özeti [97].

İskele Özellikleri	
Biyouyumluluk	<ul style="list-style-type: none"> - İnflamatuar etki göstermeyen iskele bileşenleri - Toksik olmayan bozunma ürünleri - Bağışıklık reddinden kaçınma
Biyobozunurluk	<ul style="list-style-type: none"> - Gerekli desteği korurken doku iç büyümesini tamamlayabilen kontrollü iskele bozunması - Çevre doku enzimatik veya biyolojik süreçlerle parçalanabilir - Ana hücrelere kendi hücre dışı matrisini oluşturmaya davet etme
Biyoaktivite	<ul style="list-style-type: none"> - Çevre doku ile etkileşime girebilen ve bağlanabilen iskele malzemeleri - Kemik yapıcı ve geliştirici özellikler - Hücre içe büyümesini, bağlanma ve farklılaşmayı uyarmak için biyolojik işaretlerin ve büyüme faktörlerini dahil edebilme
İskele Mimarisi	<ul style="list-style-type: none"> - Difüzyon ve hücre göçüne izin veren birbirine bağlı gözenekler - Hücre iskelesi etkileşimleri için geniş bir yüzey alanı sunmak için mikroporozite - Hücre göçüne ve damar sisteminin gelişimine izin veren makroporozite - Hedef doku ve hücrelere uygun gözenek büyüklüğü - Mekanik özellikleri zayıflatmadan hücre büyümesini kolaylaştırmak için yeterli gözeneklilik - In vivo damar oluşumunu geliştirmek için dahili kanallar
Mekanik Özellikleri	<ul style="list-style-type: none"> - Hücre oluşumunun meydana gelmesine ve yapısal bütünlüğün kalmasına izin veren doku ile karşılaştırılabilir basınç, elastik ve yorulma dayanımı - Bireysel hasta kemik kusurlarını tedavi etmek için klinik ortamda kolayca üretilebilen iskele malzemesi

İskele mikro mimarisi, hücre canlılığını teşvik etmek ve doku iç büyümesini teşvik etmek için büyük önem taşır. Bir araya getirilmiş gözenek yapısı, tasarlanmış bir kan kaynağının yokluğunda, içeriye oksijen ve besinlerin difüzyonunu ve atık ürünlerin iskeleden çıkarılmasını sağlar. Gözeneklilik ayrıca hücre ile iskelenin bağlanmasını sağlarken çevre dokularla etkileşim için mevcut yüzey alanını geliştirir [98,99]. İskele içinde bireysel gözenek boyutu da önemli bir husustur. Daha önce iskele gözenek yoğunluğu ve boyutunun hücresel büyüme ve eklenme üzerinde önemli bir şekilde etkili olduğu gösterilmiştir [100,101]. Gözenek boyutu azaldıkça, iskele yüzey alanı artar. Bu, hücrelerin bağlanması ve etkileşmesi için iskelenin kullanılabilirliğini artırır. Bununla birlikte, eğer gözenek boyutları çok küçük olursa, hücreler iskele yapısına geçmeye çalışabilirler. Bu nedenle iskeleler, maruz kalacakları hücre ve dokuya elverişli parametrelerle hassas bir şekilde tasarlanmalıdır. Örneğin, 300 µm'ye yakın gözenek boyutlarına sahip in vivo

implante edilen iskelelerin, daha yüksek geçirgenlik ve damarlaşma potansiyeli nedeniyle kemik oluşumunu teşvik ettiği, oysa daha küçük gözenek boyutlarının 100 μm 'ye daha yakın olmasının, kıkırdak doku oluşumu için daha elverişli olduğu gösterilmiştir [97]. Artan iskele makro porozitesinin, damar oluşumunu in vivo olarak iyileştirdiği de gösterilmiştir [102]. Bir dereceye kadar mikro gözeneklilik (çapları 10 μm 'den küçük olan gözenekler), hücre-iskelet etkileşimlerini artırarak kemik yapıcı etkilere neden olabilir [97]. Bu nedenle kemik doku mühendisliği için üretilen iskeleler, hücre ve kemik içe büyümesini in vivo olarak sağlayan bir makro gözenekler ve hücre iskele etkileşimlerini teşvik eden mikro gözenekler karışımı içermelidir [103].



Şekil 4.2. İnsan trabeküler kemiğin birbirine bağlı gözenekli yapısını gösteren SEM görüntüsü [104].

İskelelerin gözenek büyüklüğüne ve genel gözenekliliğine ek olarak, mekanik etkilerinin de in vivo olarak kemik dokusu büyümesini ve hücresel farklılaşmayı etkilemede anahtar olduğu düşünülmektedir. İskelenin sahip olması istenen mekanik sertlik ve gözeneklilik birbirleriyle çatışan özellikleridir. İskele gözenekliliğinin artmasıyla mekanik özelliklerde düşüş görülür. İdeal iskele, kortikal kemikle karşılaştırılabilir bir basınç direncine sahip olmalıdır [97]. Bu basınç dayanımının % 60 ile % 90 arasında bir gözeneklilik ve 150 μm 'den büyük gözenek boyutu ile karşılanabileceği düşünülmektedir [105].

4.3. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Biyomalzemeler

Kemik onarımı ve yenilenmesi dahilinde kullanılan malzemeler arasında metaller, seramikler, polimerler, hidrojeller ve ilgili kompozitler bulunur. İskele üretiminde kullanılan malzemeler ve bunların karşılaştırılması Tablo 4.2.'de gösterilmektedir.

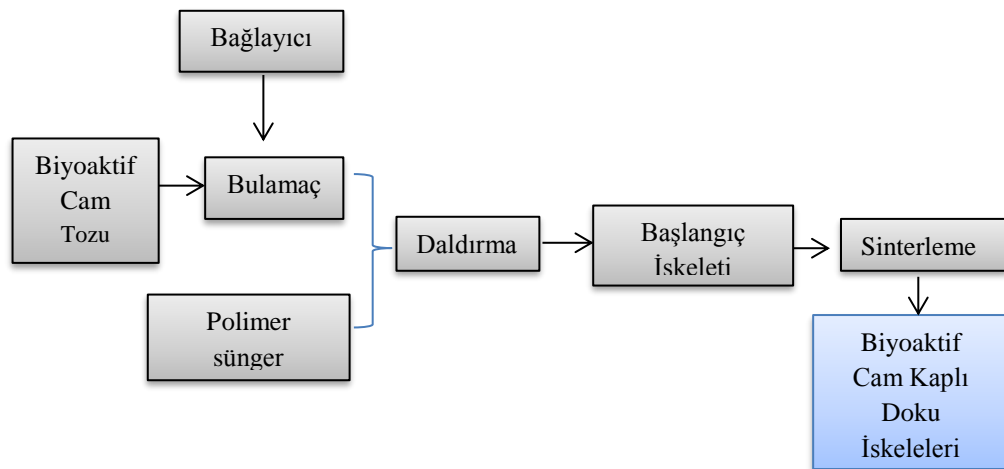
Tablo 4.2. Doku iskelesi malzemelerinin karşılaştırması [97].

Üretim malzemesi	Avantajları	Potansiyel Kısıtlamalar
Hidrojeller	<ul style="list-style-type: none"> - Yüksek su içeriği / büyüme ortamı eklenmesi hücre büyümesine izin verir - Mekanik özellikler çapraz bağlama yoluyla değiştirilebilir - Kontrollü ilaç / büyüme faktörü serbest bırakma mümkün - Doku mikro mimarilerini taklit etmek için 3D baskı yoluyla üretim kolaylığı 	<ul style="list-style-type: none"> - Yük taşıyıcı yapılarıdaki mekanik özellikler sınırlıdır. - Tek tek hidrojellerin baskı koşullarını optimize etmek zaman alıcı olabilir.
Polimerler	<ul style="list-style-type: none"> - Doğal polimerler, yüksek biyoyumluluk ve düşük toksisite sağlar. - Biyobozunur - Genellikle yüzeylerinde biyofonksiyonel moleküller içerir - Sentetik polimerler fiziksel özellikler üzerinde gelişmiş kontrol sağlar 	<ul style="list-style-type: none"> - Doğal ve sentetik polimerler genellikle yük taşıma için mekanik özelliklerden yoksundur. - Doğal polimerler hücresel yanıt oluşturabilir. - Sentetik polimerler çoğunlukla hidrofobiktir ve hücre tanıma özelliğine sahip değildirler.
Biyoseramikler	<ul style="list-style-type: none"> - Kemik oluşumu ve gelişimini destekleyen özelliktedir ve konak doku ile güçlü bir bağlanma sağlar - Kemik mineral içeriğine benzer bileşim - Granül, macun veya enjekte edilebilir formatta üretilebilir 	<ul style="list-style-type: none"> - Tek başına kullanıldığında sert ve kırılındır. Bu nedenle mekanik özelliklerde düşüş ile uygun olmayan bozulma oranları gösterebilir.
Biyoaktif Camlar	<ul style="list-style-type: none"> - Kemik oluşumu ve gelişimini destekleyen özelliktedir - Klinik protezlere zaten uyarlanmış 	<ul style="list-style-type: none"> - İçsel kırılabilirlik - Bozunma oranını ayarlamak zor
Metaller	<ul style="list-style-type: none"> - Biyoyumlu - Üstün dayanıklılık - Üstün mekanik özellikler, yavaş kemik büyümesinin muhtemel olduğu durumlarda avantajlı olabilir 	<ul style="list-style-type: none"> - Kötü biyobozunma, doku iç büyümesini engelleyebilir. - Toksik metal iyonlarının salınımı potansiyeli.

4.4. Biyoaktif Cam Doku İskelesi Üretim Yöntemleri

4.4.1. Polimer Sünger Kopyalama Yöntemi

Geleneksel bir teknik olan polimer sünger kopyalama yöntemi; açık, gözenekli yapıya sahip polimerik bir süngerin kalıp olarak kullanılarak kemiğe benzer mikroyapıya sahip doku iskeleleri elde edilmesi esasına dayanır. Bu yöntemde; biyocam tozları ve bağlayıcı ile hazırlanan bulamaç, polimer bir sünger içerisine emdirilerek süngerde homojen bir biyocam tanecik kaplaması sağlanmaktadır. Bulamaç ile kaplanan sünger kurutulduktan sonra yüksek sıcaklıkta ($>450^{\circ}\text{C}$) yavaşça eritilip yok edilmektedir. Polimer yapıdan uzaklaştırıldıktan sonra cam istenilen yoğunluğa sinterlenmektedir. Bu sayede polimer süngerin makro gözenekli yapısını kopyalanarak kendine özgü mikro yapılara sahip doku iskelesi meydana getirilir [107].



Şekil 4.3. Biyoaktif cam esaslı doku iskeleleri üretmek için kullanılan polimer sünger kopyalama yönteminin şematik gösterimi

Polimer sünger kopyalama yöntemi ile ayarlanabilir gözenek boyutuna sahip oldukça gözenekli süngerler üretebilmek mümkündür. Ayrıca, kemik kusurunun boyut ve şekline uygun düzensiz şekiller üretilmektedir. Bu yöntem diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha hızlıdır ve zehirli kimyasal kullanımı içermemekle birlikte daha ekonomiktir [107].

4.4.2. Sol-jel yöntemi

Sol-jel prosesi; çözeltinin hazırlanması, çözeltinin jelleşmesi ve çözücünün uzaklaştırılması ile inorganik malzemelerin kimyasal sentezi olarak tanımlanmaktadır.

Sol-jel yönteminde kullanılan çift bıçaklı karıştırıcı, yüzey aktif bir madde ve asidik bir katalizör sayesinde çözeltinin doğrudan süngerleştirilmesi sağlanarak oldukça gözenekli camlar ya da cam süngerler geliştirilebilmektedir. Çözelti, yüzey aktif madde varlığında kuvvetli çalkalanmaya maruz bırakılmaktadır. Kuvvetli çalkalanma sıvının yüzey gerilimini azaltıp, sol (kolloid) içerisindeki hava kabarcıklarını stabilize eder. Bu yüzden yüzey aktif maddenin tipi ve derişimi çok önemlidir [107].

4.4.3. Üç boyutlu baskı yöntemi

Genel olarak, üç boyutlu baskı yöntemi; toz, sıvı veya katı malzemelerin katman katman işlemleri ile nesnelere imal eder. Alttan başlayıp, her yeni oluşturulan tabaka, bir önceki tabakaya yapışarak, giderek artan boyutta bir yapı oluşturulmasına yol açar. Üç boyutlu baskılı nesnenin yapısı, 3D yazıcıya yüklenen bilgisayar destekli tasarım (CAD) modeliyle belirlenir. CAD modelleri, 3D nesnelere bir dizi enine kesit katmanını tanımlayarak, 3D yazıcıların ek bir işlemle fiziksel olarak yeniden üretim yapmasına izin verir.

Klinik kusurların bilgisayarlı tomografisini (BT) veya manyetik rezonans görüntülemeyi (MRI), (CAD) modellere dönüştürerek hastaya özgü iskele modelleri oluşturulabilir. Daha sonra, CAD modellerini 3 boyutlu yazıcıları kontrol edebilen bir biçimde 3D CAD modellerini kodlayan G-koduna bölmek için başka yazılımlar kullanılır. Baskı hızı, katman yüksekliği, baskı kafası sıcaklığı ve basıncı gibi parametreler G kodu ile değiştirilebilir ve optimize edilebilir [97].

Bir kaç 3B baskı metodu bulunmaktadır. Bunlar; Stereolitografi (SLA), Kaynaştırılmalı biriktirme modellemesi (FDM) ve Seçici lazer sinterleme (SLS)

teknikleridir. Ancak SLA ve FDM teknikleri için sınırlı sayıda malzeme uygulanabilirken SLS yöntemi birçok malzemeye uygulama olanağı sağlamaktadır.

Tablo 4.3. Üç boyutlu baskı tekniklerinde kullanılan malzemeler [108].

Teknoloji	Malzeme
Stereolitografi (SLA)	Fotopolimerler
Kaynaştırmalı biriktirme Modellemesi (FDM)	Polilaktikasit (PLA), Akrilonitril bütadien stiren (ABS)
Seçici Lazer Sinterleme (SLS)	Termoplastikler, Metal tozları, Seramik tozları

Biyoseramik ve metallerin 3D baskı ile üretilmesini sağlayan seçici lazer sinterleme (SLS) yöntemi, tozun üzerine katman yapıştırmak için bilgisayar kontrollü bir lazer ışınının kullanılmasını içerir. Lazer ışını toz malzemeyi bir araya toplayarak katı bir üç boyutlu yapı oluşturur. Bu teknikle elde edilen bazı başarılar, trabeküler kemiğe benzer mekanik özelliklere sahip biyoaktif kompozit iskelelerin üretimi ile kanıtlanmıştır [109,110]. Bununla birlikte, işlemden yer alan yüksek sıcaklıklar, hücrelerin ve biyomalzemelerin doğrudan SLS iskelelerine dahil edilmesini sınırlandırmaktadır [97].

BÖLÜM 5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

6.1. Çalışma Programı

Biyoaktif camların, kimyasal bileşimlerine çeşitli iyonların katılarak kemik uyarıcı özelliklerinin geliştirilebildiği bilinmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmada kalsiyuma benzer yük ve iyonik çapa sahip olan ayrıca kemik hücrelerinin oluşumunu artırıcı özellikleri bulunduran stronsiyum biyoaktif camların kimyasal bileşimlerine katılarak biyoaktif cam üretimi gerçekleştirilmiş ve üretilen camların biyoaktiflik özellikleri incelenmiştir.

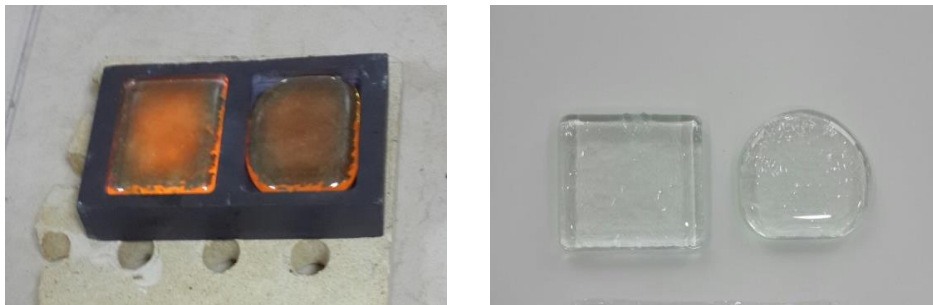
Deneysel çalışmalarda; bileşimleri ağırlıkça % 47 SiO₂, % 7 Na₂O, % 13 P₂O₅, % 2 B₂O₃, % x SrO ve % (31-x) CaO (x=0, 0.5,1, 2) olacak şekilde dört farklı oranda SrO içeren biyoaktif cam numuneleri klasik ergitme yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Bileşimdeki yüksek stronsiyum oksit oranı biyoaktiviteyi ve biyouyumluluğu olumsuz etkilediği düşünülerek SrO oranı en fazla % 2 olacak şekilde sınırlandırılmıştır [82]. Üretilen cam numunelerine XRD (X-Işınları Difraksiyonu) uygulanarak yapıları, Diferansiyel Termal Analiz (DTA) uygulanarak camsı geçiş (T_g) ve kristalizasyon (T_c) sıcaklıkları tespit edilmiştir. Ayrıca üretilen camların biyoaktifliklerini gözlemek için yapay vücut sıvısı içerisindeki davranışları incelenmiş ve polimer sünger kopyalama yöntemi yardımıyla, kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere doku iskeleleri üretilmiştir.

Biyoaktif camların ve üretilen doku iskelelerinin karakterizasyon işlemleri sırasıyla aşağıda belirtilmiştir.

- Biyoaktivite özelliğinin göstergesi olan hidroksiapatit oluşumunun incelenmesi için numuneler laboratuvar koşullarında üretilen yapay vücut sıvısı içerisinde 1 gün, 7 gün, 14 gün ve 28 gün sürelerle bekletilmiştir.
- Biyobozunma davranışlarının incelenmesi amacıyla doku iskeleleri, yapay vücut sıvısı içerisinde 28 gün bekletilmiştir.
- X-ışınları difraksiyonu (XRD) kullanılarak, mineralojik analizler gerçekleştirilmiştir.
- Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak, mikroyapı analizleri yapılmıştır.
- Archimedes prensibinden yararlanılarak camların ve doku iskelelerinin yoğunluk ölçümleri gerçekleştirilmiş ve doku iskelelerinin gözeneklilikleri hesaplanmıştır.

6.2. Numunelerin Hazırlanması

$\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO-SrO}$ sistemine sahip ağırlıkça % 0, % 0.5, % 1 ve % 2 olmak üzere dört farklı oranda SrO içeren biyoaktif cam numunelerinin üretimi klasik ergitme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

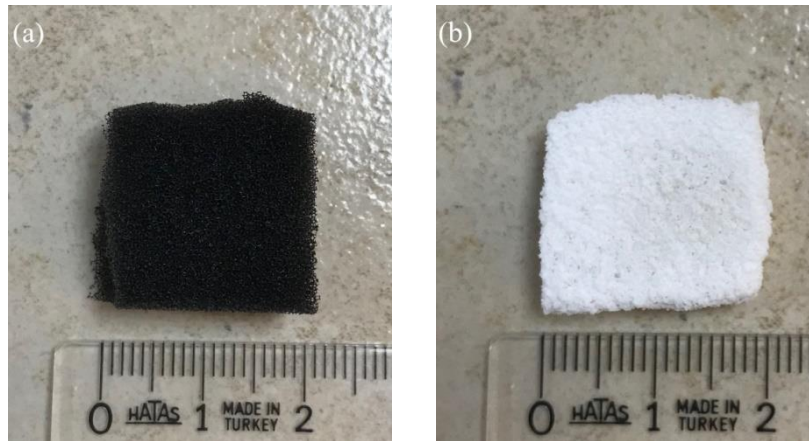


Şekil 5.1. %1 SrO katkılı biyoaktif cam numunelerin döküm işlemi

Biyocam üretimi için SiO_2 , P_2O_5 , B_2O_3 , CaCO_3 (CaO kaynağı olarak), Na_2O , SrO hammaddeleri ile hazırlanan başlangıç karışımı daha iyi bir homojen karışım elde etmek için bilyeli değirmende 250 devir/dk ile 1 saat süreyle öğütülmüştür. Öğütülen biyocam tozları alümina potalara alınarak MSE-Furnance markalı fırında $1500\text{ }^\circ\text{C}$ 'de ergitilmiştir. Sıcaklık artış hızı $6\text{ }^\circ\text{C}/\text{dk}$ olup, bu sıcaklıkta bekleme süresi 90 dakikadır. Eriyik grafit kalıba dökülmüş ve termal gerilmeleri gidermek amacıyla döküm sonrası $600\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1 saat süre boyunca tavlama ısıl işlemi uygulanmıştır.

6.3. Polimer Sünger Kopyalama Yöntemi ile Doku İskelesi Üretimi

Doku iskelesi üretimi için öncelikle biyoaktif camlar agat havanda tane boyutu - $45\mu\text{m}$ altında olacak şekilde öğütülerek toz haline getirilmiştir. Oda sıcaklığında karışmakta olan saf su içerisine, çözelti viskozitesini ve cam taneciklerinin süngerini kaplama kabiliyetini kontrol edecek bağlayıcı ajan olarak polivinil alkol (PVA) ilave edilmiştir. Ağırlıkça ortalama % 60 saf su, % 5 PVA ve % 35 toz cam bileşimlerine sahip çözeltiler hazırlanmıştır. PVA'nın çözünmesi için karıştırıcılı ısıtıcının sıcaklığı $70\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış ve bu sıcaklıkta 1 saat boyunca karıştırılmıştır. PVA çözüldükten sonra sıcaklık oda sıcaklığına düşürülerek, toz cam yavaşça çözelti içerisine ilave edilmiştir. Trabeküler kemiğe yakın bir yapıya sahip olan ve daha önceden FKM Filtre isimli firmadan temin edilip $2\times 2\times 1\text{m}^3$ boyutlarında hazırlanan 60 PPI (pore per inch-152 gözenek/cm) poliüretan süngerler, hazırlanan polimer çözeltilisine daldırılmış ve karışımı emmesi için 1-2 dakika süreyle bekletilmiştir. Bekletilen süngerler sıkılarak çözeltilinin fazlası alınmış ve daha sonra süngerler $37\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işleminden sonra süngerler, polimeri uzaklaştırmak ve inorganik cam fazı sinterlemek için elektrikli fırında sırasıyla $550\text{ }^\circ\text{C}$ 'de ve $950\text{ }^\circ\text{C}$ 'de ısıl işleme tabii tutulmuştur. Sıcaklık artış hızı $2\text{ }^\circ\text{C}/\text{dk}$ olup bu sıcaklıklarda bekleme süreleri 2 saattir. Isıl işlem sonucunda yapıdaki polimer tamamen uzaklaşmış olup, poliüretan süngerlerin yapısını taklit eden doku iskeleleri elde edilmiştir.



Şekil 5.2. (a) Kalıp olarak kullanılan poliüretan sünger, (b) Polimer kopyalama yöntemi ile üretilen doku iskelesi

6.4. Biyoaktif Cam ve Doku İskeleleri Numunelerinin Karakterizasyonu

5.4.1. X-ışını difraksiyon analizi (XRD)

Dört farklı oranda SrO içeren biyoaktif cam numunelerin döküm sonrası yapılarını belirlemek ve biyoaktivite testleri sonucunda hem camların hem de doku iskelelerinin yüzeyinde oluşan kristal fazları tespit etmek amacıyla RIGAKU XRD D/MAX/2200/PC marka cihaz kullanılarak X-ışınları difraksiyon analizi (XRD) gerçekleştirilmiştir. Dalga boyu $\lambda=1.54056$ olan $\text{CuK}\alpha$ ışın demeti kullanılmış, tarama açısı (2θ) $0-90^\circ$ arasında olup tarama hızı $2^\circ/\text{dk}$ 'dır. Elde edilen difraksiyon diyagramları incelenerek, hem döküm sonrası hem de yapay vücut sıvısında bekletme sonrası biyoaktif camlarda ve doku iskelelerinde hangi fazların oluştuğu belirlenmiştir.

5.4.2. Diferansiyel termal analiz (DTA)

Üretilen biyoaktif cam numunelerinin camsı geçiş sıcaklıklarını (T_g) ve kristallenme sıcaklıklarını (T_c) belirlemek için TA Marka, SDT Q600 Model DTA cihazı kullanılmıştır. Deneylerde referans madde $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ olup, cam numuneleri, $10^\circ\text{C}/\text{dk}$ 'lık ısıtma hızı ile 1200°C 'ye kadar ısıtılmıştır.

6.5. İn Vitro Çalışmalar

5.5.1. Yapay vücut sıvısı (SBF) hazırlanması

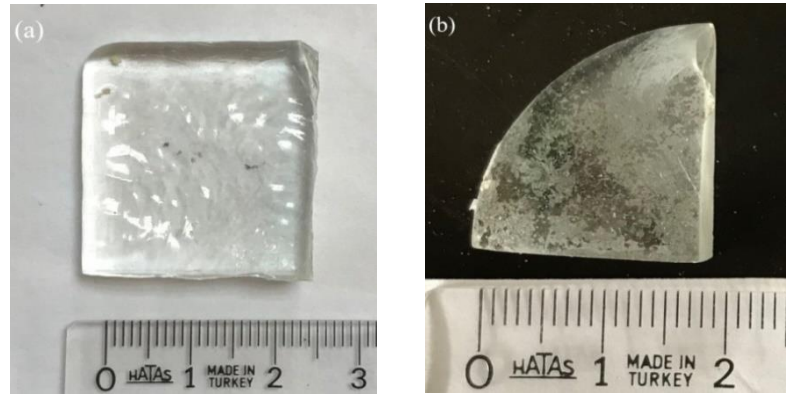
İyon derişimini arttırmak, apatit çekirdek oluşumunu kolaylaştırmak ve daha kolay kaplama yapabilmek için SBF'nin 1,5 katı olacak şekilde Tablo 5.1.'de yer alan kimyasallar kullanılarak 1,5xSBF çözeltisi hazırlanmıştır.

Tablo 5.1. Yapay vücut sıvısının hazırlanmasında kullanılan kimyasal bileşikler [111].

Sıra	Kimyasal	Miktar			
		SBF		1,5 SBF	
		1000 mL	2000 mL	1000 mL	2000 mL
#0	Saf Su	750 mL	1500 mL	750 mL	1500 mL
#1	NaCl	7,996 g	15,992 g	11,994 g	23,988 g
#2	NaHCO ₃	0,350 g	0,700 g	0,525 g	1,050 g
#3	KCl	0,224 g	0,448 g	0,336 g	0,672 g
#4	K ₂ HPO ₄ -3H ₂ O	0,228 g	0,456 g	0,342 g	0,684 g
#5	MgCl ₂ -6H ₂ O	0,305 g	0,610 g	0,458 g	0,916 g
#6	1 kmol/m ³ HCl	40 cm ³	80 cm ³	60 cm ³	120 cm ³
#7	CaCl ₂	0,278 g	0,556 g	0,417 g	0,834 g
#8	Na ₂ SO ₄	0,071 g	0,142 g	0,107 g	0,214 g
#9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6,057 g	12,114 g	9,086 g	18,172 g
#10	1kmol/m ³ HCl	pH'ı ayarlamak için uygun miktar			

5.5.2. Biyoaktivite analizleri

Üretilen numunelerin yüzeylerinde hidroksiapatit tabakasının oluşmasının gözlenmesi amacıyla, numuneler 1 gün, 7 gün, 14 gün ve 28 gün süreyle 20 ml hacmindeki yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilmiştir (Şekil 5.2.). Bekleme süreleri boyunca, numunelerin içinde bulunduğu SBF çözeltileri etüv içerisine yerleştirilerek sıcaklık 37°C'de sabit tutulmuştur. Ayrıca tüm biyoaktif cam ve doku iskelesi numunelerinin içinde bulunduğu SBF çözeltileri üç günde bir değiştirilerek tazelenmiştir.



Şekil 5.3. (a) Ergitme yöntemi ile üretilen biyoaktif cam, (b) SBF’de 28 gün süre ile bekletme sonrası biyocam

SBF’de bekletilen numunelerde oluşan kristal fazları belirlemek amacıyla numunelere XRD analizi uygulanmıştır. Numunelerin mikroyapıları ise SEM kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan tüm bu analizler, karşılaştırma yapabilmek ve değişimleri inceleyebilmek amacıyla, SBF’de bekletilmeyen numunelere de uygulanmıştır.

5.5.3. Biyobozunma Davranışları

Biyobozunma analizleri, dört farklı oranda SrO içeriğine sahip biyoaktif camlardan üretilen doku iskelelerinin, 28 gün süre boyunca 37°C sıcaklıkta 40ml SBF içerisinde bekletilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Doku iskelesinin başlangıç ağırlığı (W_i), SBF içerisinde bekletildikten sonraki ıslak ağırlığı (W_w), bir gün süreyle 37°C’deki etüvde kurutulduktan sonraki kuru ağırlığı (W_d) belirlenmiştir. Aşağıda gösterilen eşitlikler kullanılarak su absorpsiyonları (W_A) ve ağırlık kaybı değerleri (W_L) hesaplanmıştır [59].

$$\% W_A = [(W_w - W_d) / W_d] \times 100 \quad (5.1)$$

$$\% W_L = [(W_i - W_d) / W_i] \times 100 \quad (5.2)$$

6.6. Mikroyapı Analizleri

Biyoaktif cam numuneleri üzerinde oluşan hidroksiapatit tabakasını ve yapı iskelelerinin biyoaktivitesi ile yapısal morfolojilerini gözlemlemek amacıyla taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. SBF öncesi biyoaktif cam numunelerinin yüzeyleri 400, 600, 800 ve 1000 numaralı zımparalar kullanılarak pürüzsüzleştirilmiştir. SBF sonrası ise numune yüzeyleri ince bir altın tabakası ile kaplanmıştır. Görüntüler 10 kV'da EDS (Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi) bağlantılı Jeol Marka, JSM-5410 Model cihaz yardımıyla elde edilmiştir.

6.7. Gözeneklilik ve Yoğunluk Ölçümleri

Dört farklı oranda SrO katkısı ile üretilen camların yoğunluk ölçümü, Archimedes yöntemi ile belirlenmiştir. Numuneler 100°C'de kurutulup tartılır. Bu değerler W_a olarak kaydedilir. Daha sonra numuneler bir kap içerisine alınarak numuneleri yarı ölçüsüne gelecek şekilde su ilave edilerek 5dk bekletilir. Bekleme işlemi sonrasında kap ısıtıcının üstüne alınır ve kap içerisine numuneleri tamamen kaplayacak şekilde su ilave edilerek 5 dk kaynatılır ve oda sıcaklığına soğutulur. Numuneye ince bir ip bağlanarak teraziye asılır ve su içerisinde tartılır. Elde edilen bu değer W_b olarak kaydedilir. Son olarak numuneler su içerisinden çıkarılarak sadece yüzeylerindeki ıslaklık giderilecek şekilde kâğıt parçasıyla silinir ve normal hava koşullarında tartılır. Bu değer ise W_c olarak kaydedilir. Elde edilen ölçümlerden aşağıdaki formüller yardımıyla gözenek miktarı ve bulk yoğunlukları hesaplanmıştır [112, 113].

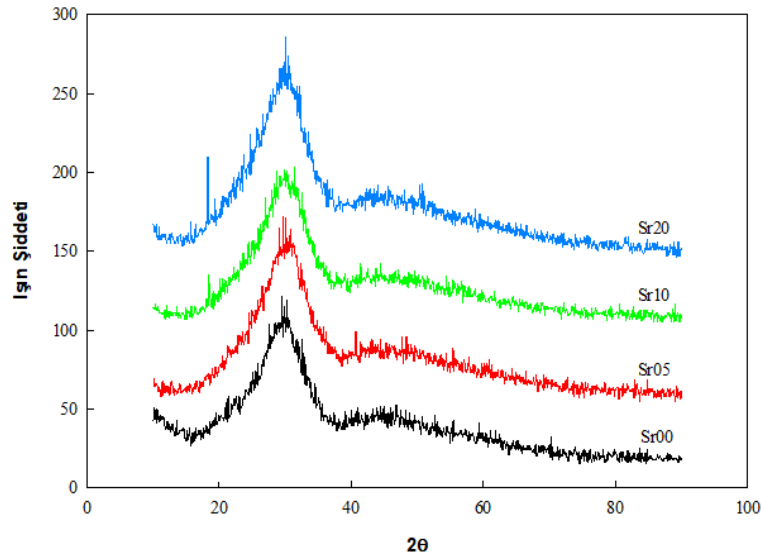
$$\% \text{Gözenek Miktarı} = [(W_c - W_a) / (W_c - W_b)] \times 100 \quad (5.3)$$

$$\text{Bulk yoğunluk} = [W_a / (W_c - W_b)] \times d_s \quad (5.4)$$

BÖLÜM 6. DENEYSEL SONUÇLAR VE İRDELENMESİ

7.1. Biyoaktif Cam Numuneleri XRD Analizleri

Dört farklı oranda (%0, %0.5, %1, %2) SrO içeren ve klasik ergitme yöntemi kullanılarak üretilen $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO-SrO}$ sistemine sahip biyoaktif camların yapılarını tespit etmek amacıyla uygulanan XRD analizlerinin grafikleri Şekil 6.1.'de verilmiştir. Grafikte karışıklığı önlemek amacıyla bazı kısaltmalar yapılmıştır. Ağırlıkça % 0 SrO içeren biyoaktif cam Sr00, ağırlıkça % 0,5 SrO içeren biyoaktif cam Sr05, ağırlıkça % 1 SrO içeren biyoaktif cam Sr10 ve ağırlıkça % 2 SrO içeren biyoaktif cam Sr20 olarak kısaltılmıştır. Analizler sonucunda, tüm numunelerin amorf yapıya özgü geniş bantlara sahip olduğu [63] ve herhangi bir kristalin faz içermediği görülmüştür. $2\theta=25^\circ\text{-}40^\circ$ aralığındaki geniş yansıma dışında difraksiyon piki görülmemesi [6,8,60], numunelerdeki amorf yapı varlığını doğrulamıştır. Bu sonuç stronsiyum katkısının, eriyiğin soğuma esnasında kristalizasyon eğilimi oluşturmadığını ve cam yapısını etkilemediğini göstermiştir.

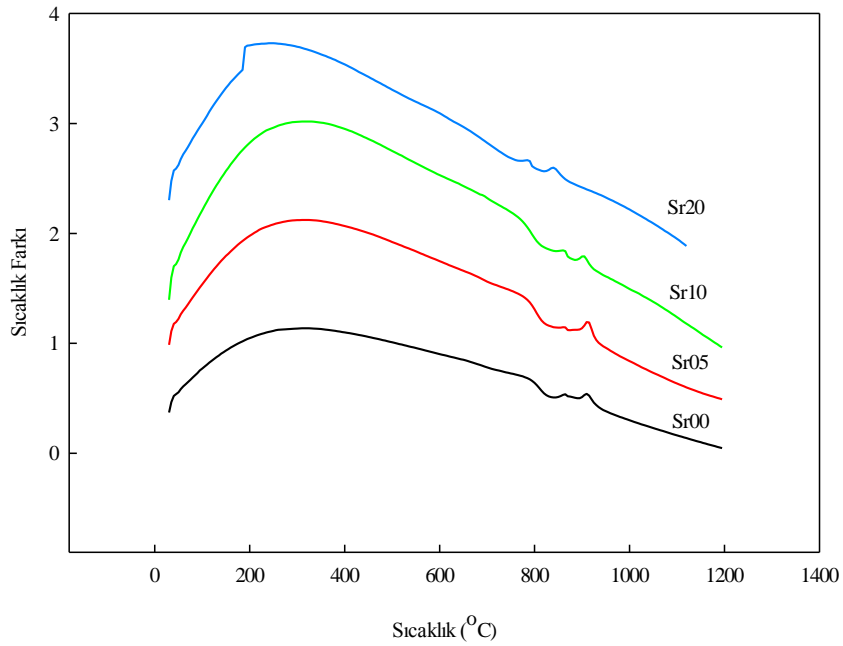


Şekil 6.1. Ergitme yöntemiyle üretilen, $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO-SrO}$ sistemine sahip biyoaktif cam numunelerinin XRD grafikleri

7.2. Biyoaktif Cam Numunelerin Diferansiyel Termal Analizleri

Dört farklı kimyasal bileşime sahip biyoaktif cam numunelerinin camsı geçiş sıcaklığı ile kristalizasyon sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla uygulanan DTA analiz sonuçları Şekil 6.2.'de gösterilmiştir. DTA eğrileri, cam numunelerinin 10 °C/dk'lık bir ısıtma hızı ile 1200°C'ye kadar ısıtılmasıyla elde edilmiştir.

Biyoaktif cam numunelerine ait DTA eğrileri incelendiğinde, numunelerin camsı geçiş sıcaklığını belirten endotermik pikin 780-825 °C aralığında ve kristallenme sıcaklığını belirten ekzotermik piklerin ise 805-920 °C aralığında değiştiği belirlenmiştir. Cam geçiş ve kristallenme sıcaklıkları incelendiğinde, stronsyum katkıları ile T_g ve T_c sıcaklıklarının azaldığı gözlemlenmektedir.



Şekil 6.2. Biyoaktif cam numunelerinin DTA grafikleri

Tablo 6.1. Biyoaktif cam numunelerinin DTA sonuçları

Numune	Camsı Geçiş Sıcaklığı (°C)	Kristallenme Sıcaklığı (°C)
% 0 SrO içeren bileşim	825	855-910
% 0,5 SrO katkılı bileşim	815	870-920
% 1 SrO katkılı Bileşim	810	870-910
% 2 SrO katkılı bileşim	780	805-860

7.3. Biyoaktif Cam Numunelerinin Yoğunluk Ölçümleri

Archimedes yöntemi ile yoğunlukları ölçülen biyoaktif camların yoğunluk değerleri Tablo 6.2.'de belirtilmiştir.

Tablo 6.2. Biyoaktif cam numunelerinin yoğunluk değerleri

Numune	Yoğunluk (g/cm ³)
% 0 SrO içeren biyoaktif cam	2,78
% 0,5 SrO içeren biyoaktif cam	2,80
% 1 SrO içeren biyoaktif cam	2,78
% 2 SrO içeren biyoaktif cam	2,80

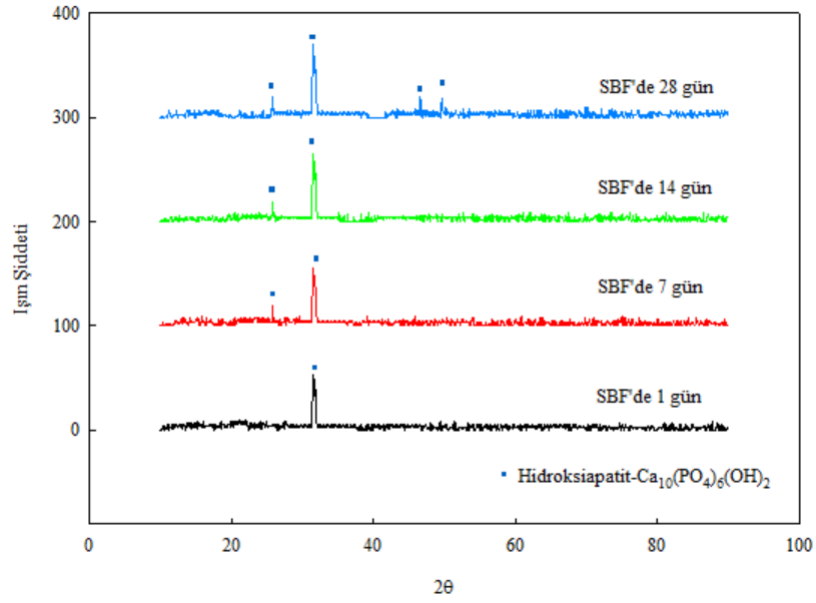
Tablo 6.2. incelendiğinde, üretilen biyoaktif camların yoğunluk değerleri 2,78-2,80 g/cm³ değerleri arasında değiştiği görülmektedir. Elde edilen bu değerlerin oldukça dar bir aralıkta yer aldığı görülmüş ve stronsiyum katkısı ile yoğunluk arasında tam bir ilişki gözlenememiştir.

7.4. Biyoaktif Camların İn Vitro Biyoaktivite Karakterizasyonu

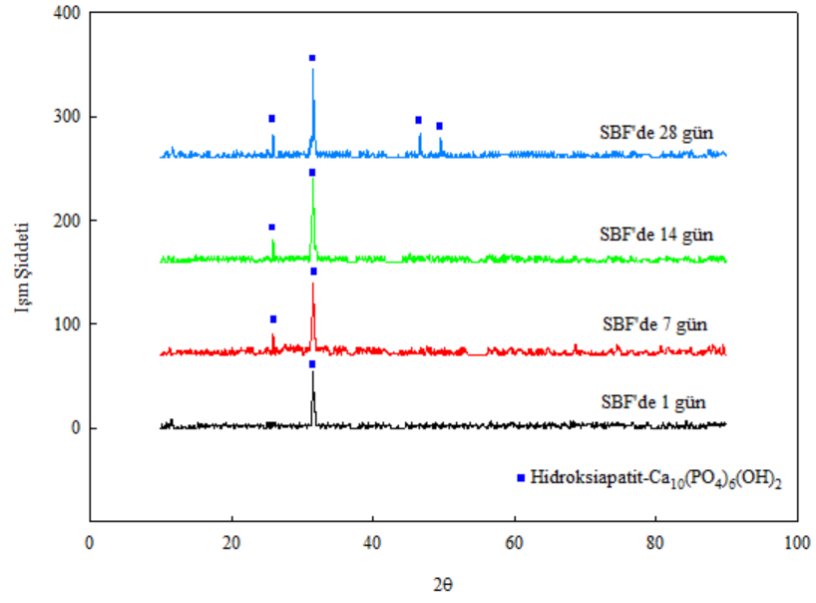
Üretilen biyoaktif cam numunelerinin vücut içerisindeki davranışlarını belirlemek amacıyla üretilen numuneler yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra XRD ve SEM analizleri uygulanarak numunelerin yüzey karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

6.4.1. XRD analizi

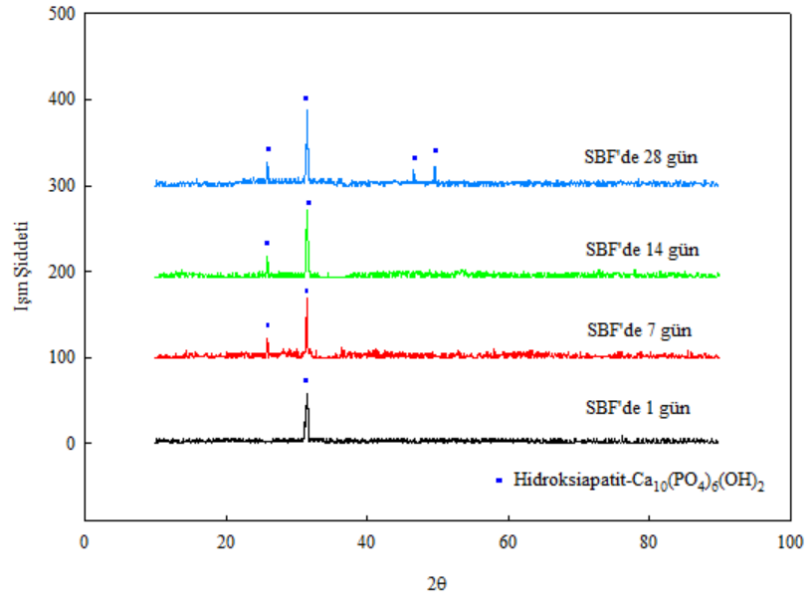
Üretilen biyoaktif cam numunelerine, yapay vücut sıvısı içerisinde beklemeleri sonucunda numune yüzeylerinde oluşan hidroksiapatit tabakasını belirlemek amacıyla XRD analizi uygulanmıştır. Şekil 6.3.-6.6.'da gösterilen grafikler; SBF içerisinde 1, 7, 14, ve 28 gün süreyle bekletilen, dört farklı oranda SrO katkısı içeren biyoaktif cam numunelerinin XRD grafiklerini göstermektedir.



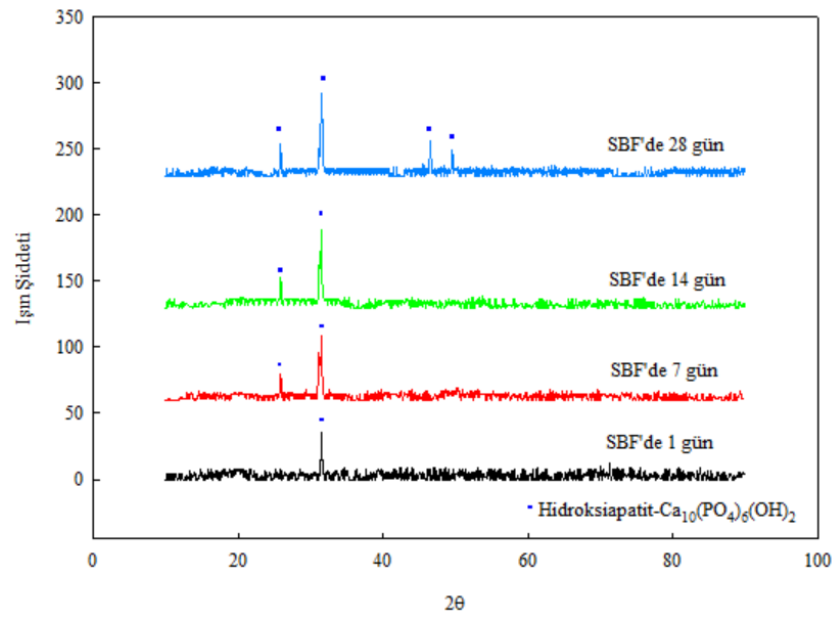
Şekil 6.3. Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 0 SrO katkılı biyoaktif cam XRD grafiği



Şekil 6.4. Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 0,5 SrO katkılı biyoaktif cam XRD grafiği



Şekil 6.5. Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 1 SrO katkılı biyoaktif cam XRD grafiği

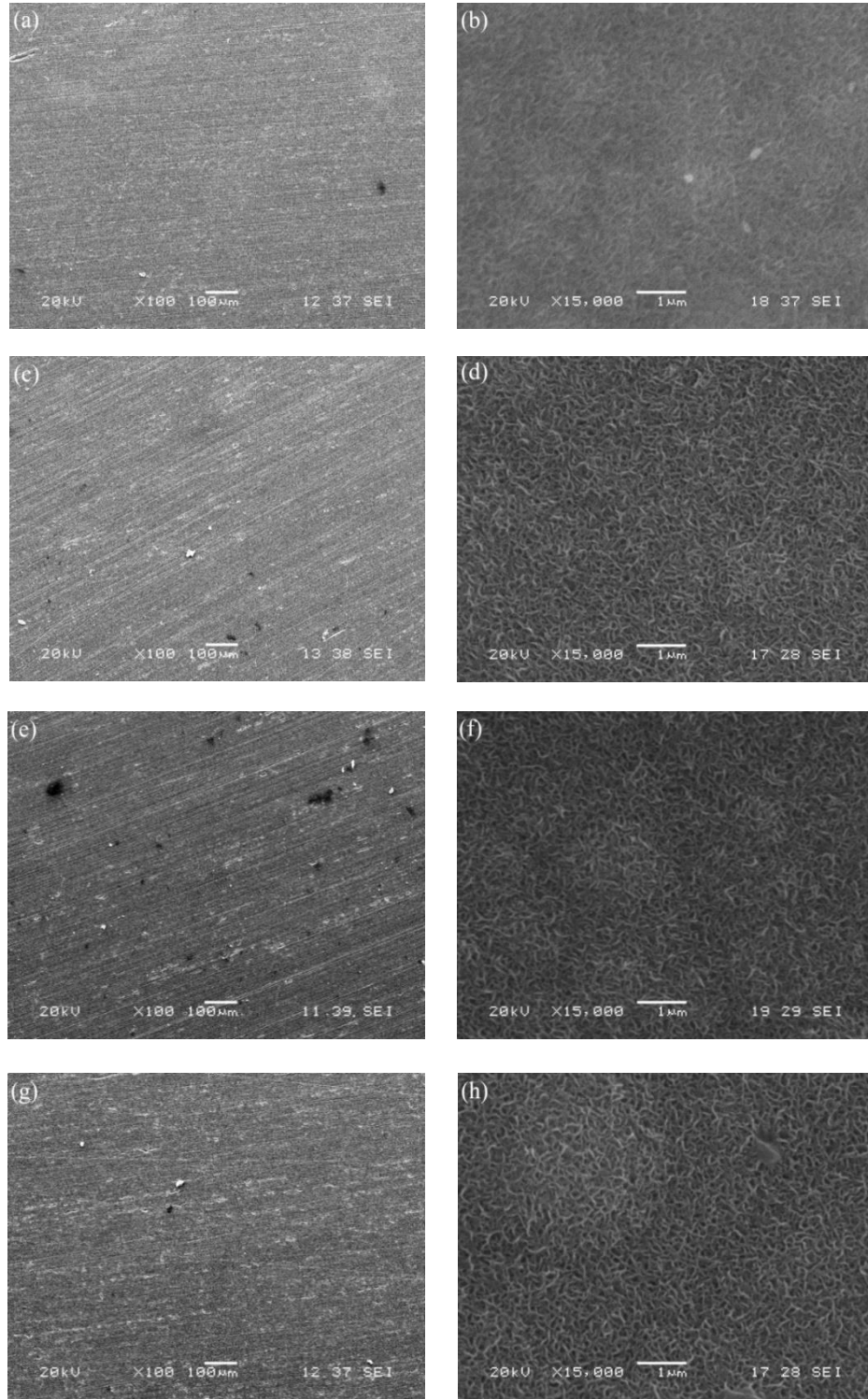


Şekil 6.6. Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerle bekletilen % 2 SrO katkılı biyoaktif cam XRD grafiği

Biyoaktif camlara ait yapay vücut sıvısı çalışmalarının XRD grafikleri incelendiğinde Şekil 6.1'de belirlenen orijinal biyoaktif cam numunelerine ait amorf yapıların kaybolduğu, $2\theta=33^{\circ}$ 'de kristalin bir pikin oluştuğu belirlenmiştir. Oluşan bu pikin hidroksiapatit- $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ fazına ait olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte hidroksiapatit pikinin ilk günden itibaren tüm numunelerde oluştuğu ve yapay vücut sıvısında bekleme süreleri ile orantılı şekilde arttığı görülmüştür.

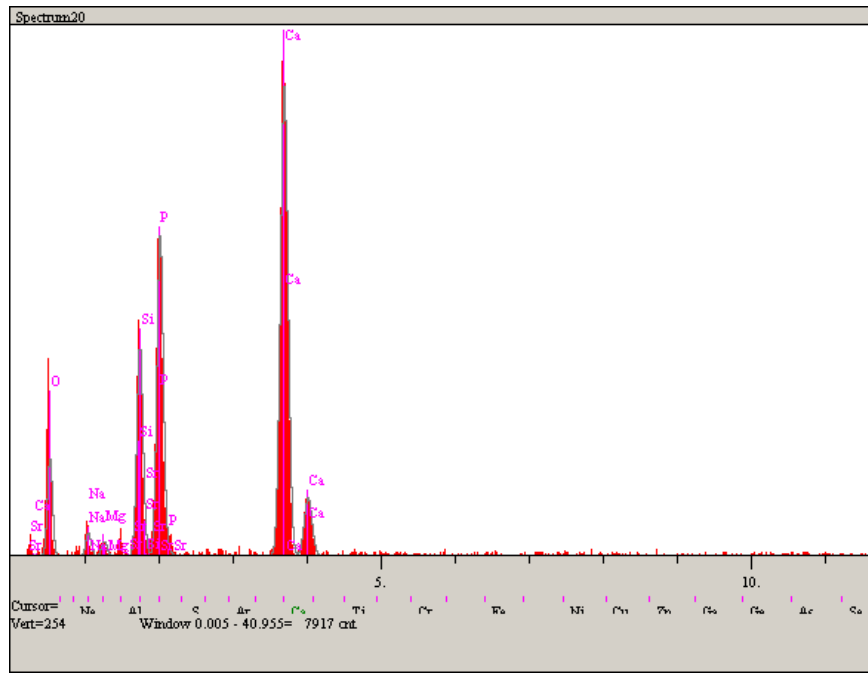
6.4.2. Mikroyapı Analizi

Dört farklı SrO oranında üretilen biyoaktif camların yüzeyinde oluşan hidroksiapatit tabakasını belirlemek ve camların SBF'de bekletilmeden önce ve 28 gün süre ile bekletildikten sonra, yüzeylerinde meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla numuneler taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir.



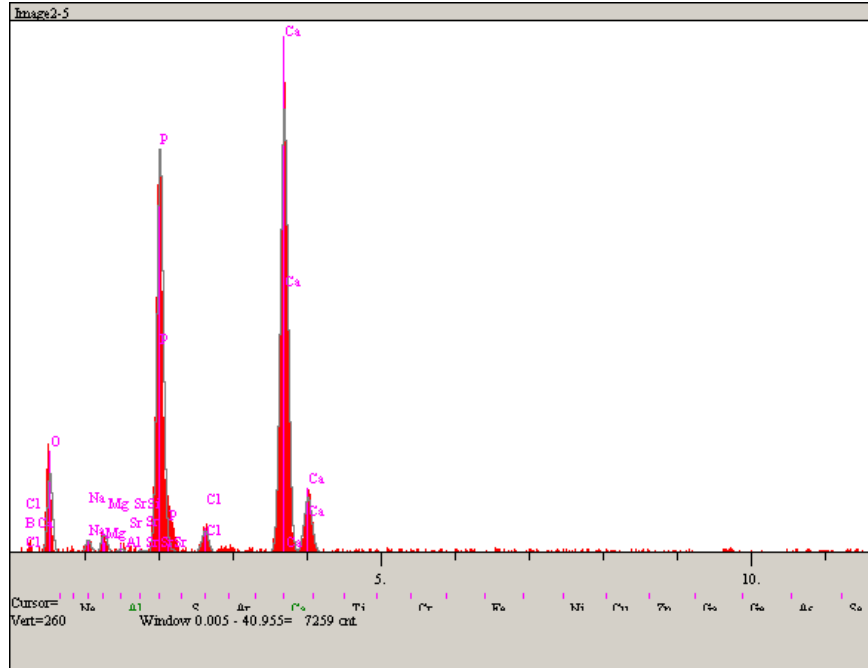
Şekil 6.7. (a) ve (b) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça % 0 SrO içeren biyocam, (c) ve (d) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça % 0.5 SrO içeren biyocam, (e) ve (f) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça %1 SrO içeren biyocam, (g) ve (h) sırasıyla SBF’de bekleme öncesi ve 28 gün bekleme sonrası ağırlıkça % 2 SrO içeren biyocam SEM görüntüleri

Şekil 6.7. incelendiğinde, SBF’de bekletilmeden önce tüm numunelerin amorf yapıya sahip oldukları ve herhangi bir kristalin faz içermedikleri görülmektedir. Ancak numunelerin 28 gün süreyle SBF içerisinde bekletilmesiyle, yüzeylerinin beyaz halde görülen homojen bir hidroksiapatit tabakası ile kaplandığı görülmüştür. İpliksi yapıdaki HA kristallerinin, özellikle SrO içeren cam numunelerinde daha yoğun oluştuğu görülmektedir. SEM analizlerine paralel olarak, tüm biyoaktif cam numunelerinin EDS ölçümü de gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.8.-6.11.). Numunenin, SEM fotoğrafında görülen yüzeylerinde EDS ile yapılan nokta analiz ölçümleri sonucunda belirlenen kalsiyum ve fosforun ağırlıkça yüzdeleri de Tablo 6.4.’de verilmiştir.



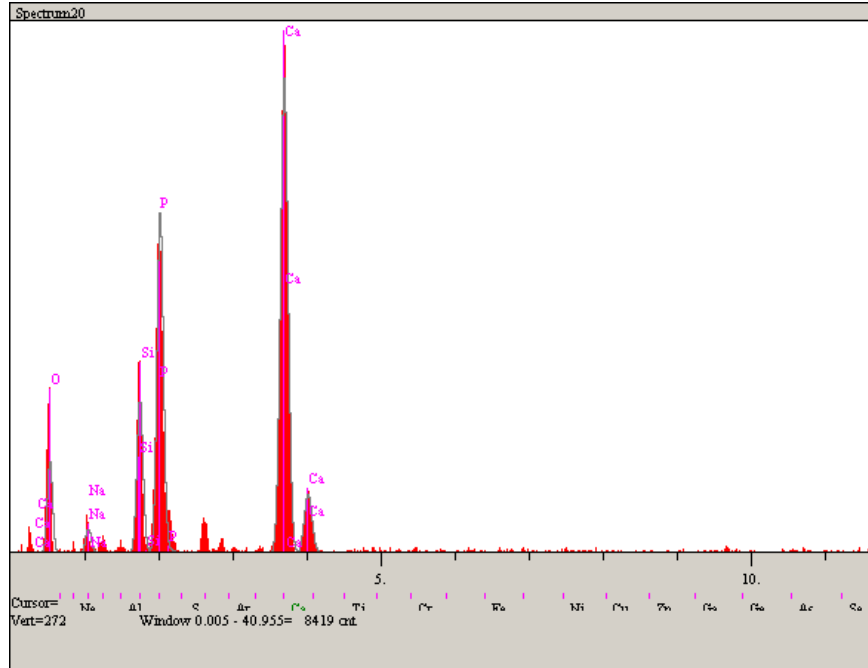
Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
O	K α	39,98	3,998	36,180	wt. %	
Na	K α	10,08	2,008	2,036	wt. %	
Mg	K α	6,99	1,671	0,929	wt. %	
Si	K α	104,99	6,479	10,049	wt. %	
P	K α	164,31	8,106	19,048	wt. %	
Ca	K α	286,87	10,710	31,797	wt. %	
Sr	L α	0,00	0,000	0,000	wt. %	
				100,000	wt. %	Total

Şekil 6.8. SBF’de 28 gün bekletilen % 0 SrO katkılı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği



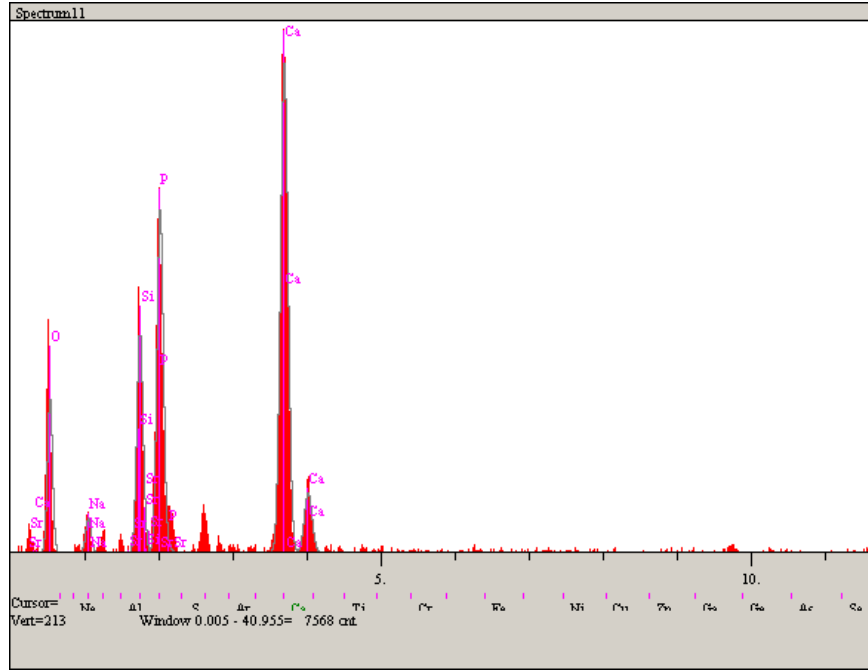
Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
B	K α	0,00	0,000	0,000	wt.%	
O	K α	33,12	3,640	36,041	wt.%	
Na	K α	5,94	1,541	1,310	wt.%	
Mg	K α	9,20	1,918	1,393	wt.%	
Al	K α	2,04	0,904	0,262	wt.%	
Si	K α	0,59	0,484	0,063	wt.%	
P	K α	212,06	9,209	21,90	wt.%	
Cl	K α	12,42	2,228	1,556	wt.%	
Ca	K α	277,60	10,537	38,01	wt.%	
Sr	L α	0,90	0,602	0,160	wt.%	
				100,000	wt.%	Total

Şekil 6.9. SBF'de 28 gün bekletilen % 0,5 SrO katkılı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği



Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
O	K α	40,57	4,027	36,566	wt.%	
Na	K α	11,76	2,168	2,211	wt.%	
Si	K α	81,65	5,713	7,556	wt.%	
P	K α	186,47	8,634	18,931	wt.%	
Ca	K α	310,28	11,137	34,736	wt.%	
				100,000	wt.%	Total

Şekil 6.10. SBF'de 28 gün bekletilen % 1 SrO katkılı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği



Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
O	K α	52,94	4,602	43,063	wt.%	
Na	K α	13,17	2,,295	2,617	wt.%	
Si	K α	92,31	6,076	9,031	wt.%	
P	K α	147,61	7,684	16,055	wt.%	
Ca	K α	250,49	10,010	29,233	wt.%	
				100,000	wt.%	Total

Şekil 6.11. SBF’de 28 gün bekletilen % 2 SrO katlı biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği

Elde edilen EDS grafiklerinden her bir numunenin Ca/P oranları tespit edilmiş ve Tablo 6.4.’de gösterilmiştir. Tablodaki değerler incelendiğinde tüm numunelerin sahip olduğu Ca/P değerlerinin HA oluşumu için gerekli olan Ca/P=1,65 değerinden yüksek olduğu görülmektedir. Bu da SEM görüntülerinde gözlenen HA yapısının varlığını doğrulamaktadır. Ayrıca stronsiyum katkısının Ca/P değerini arttırdığı tespit edilmiştir.

Tablo 6.3. SBF’de 28 gün boyunca bekletilen biyocam numunelerinin Ca/P oranları

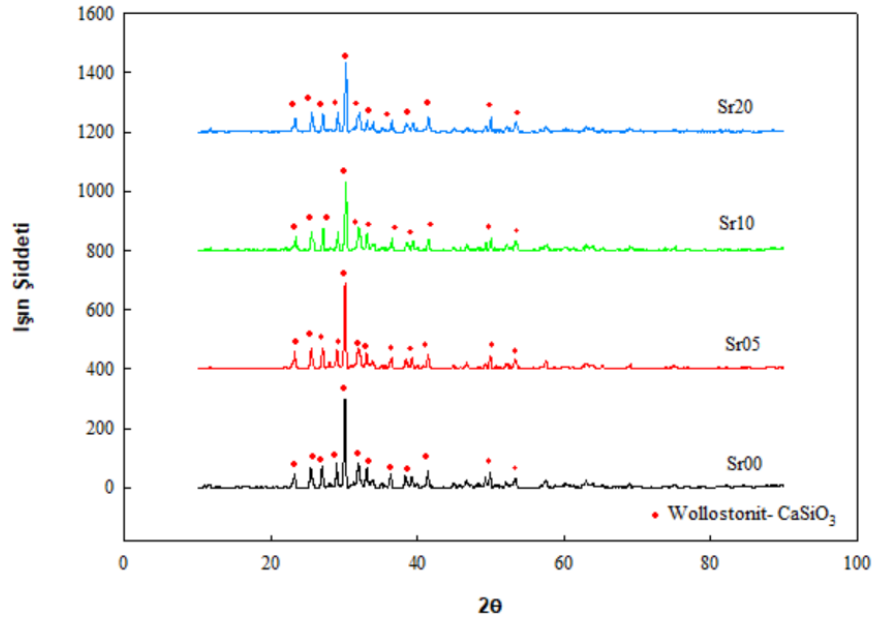
Numune	Ca/P oranı
% 0 SrO katkılı biyocam	1,67
% 0,5 SrO katkılı biyocam	1,73
% 1 SrO katkılı biyocam	1,83
% 2 SrO katkılı biyocam	1,82

7.5. Biyoaktif Doku İskelesi Numunelerinin Yüzey Karakterizasyonları

Dört farklı SrO bileşimine sahip biyoaktif camlardan üretilen doku iskelelerinin yüzey karakterizasyonları; XRD, SEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

6.5.1. Doku iskelelerinin XRD analizi

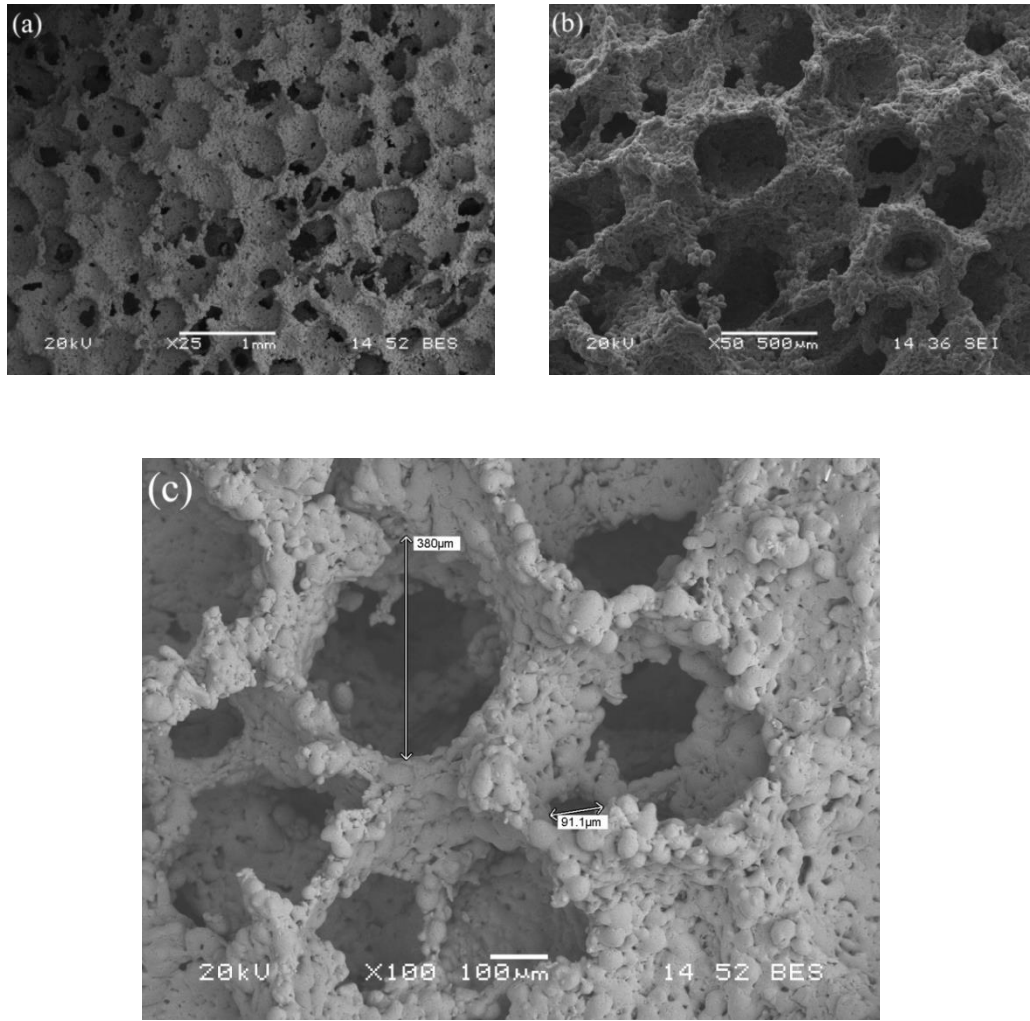
Doku iskelesi numunelerinde sinterleme işlemi sonrasında oluşan kristal fazları belirlemek amacıyla XRD analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen XRD grafikleri Şekil 6.11.’de görülmektedir. Doku iskelelerine uygulanan sinterleme sıcaklığı (950°C), cam numunelerine uygulanan DTA sonucunda elde edilen kristalizasyon sıcaklıklarının (780-920°C) üzerinde olduğundan kristalin faz oluşumu beklenmektedir. Beklenildiği gibi XRD grafiğinde 2θ -30°’de wollostonit, CaSiO_3 fazına ait pik tespit edilmiştir. Wollastonitin, yüksek biyoaktifliğe sahip olduğu ve kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanım için uygun olduğu bilinmektedir [114].



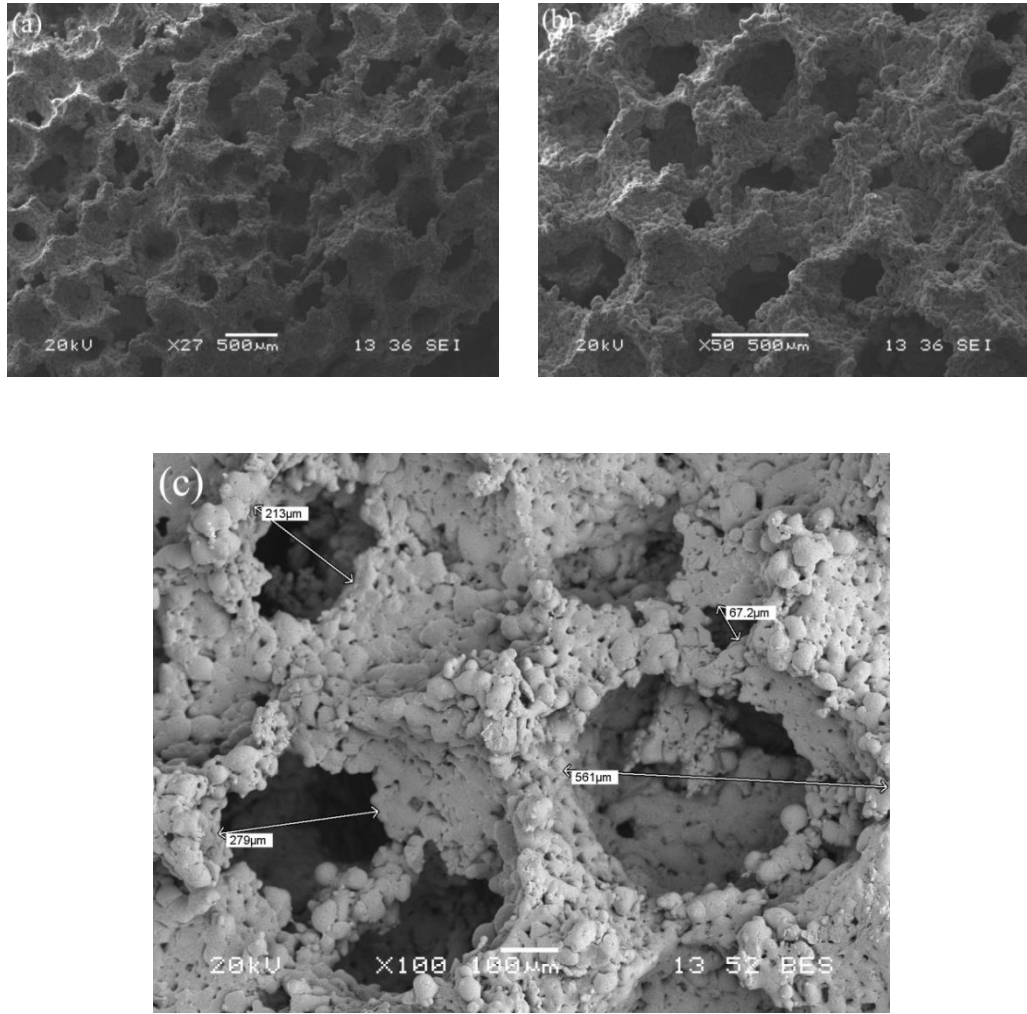
Şekil 6.12. Doku iskelesi numunelerinin XRD grafikleri

6.5.2. Doku iskelesi numunelerinin mikroyapı analizleri

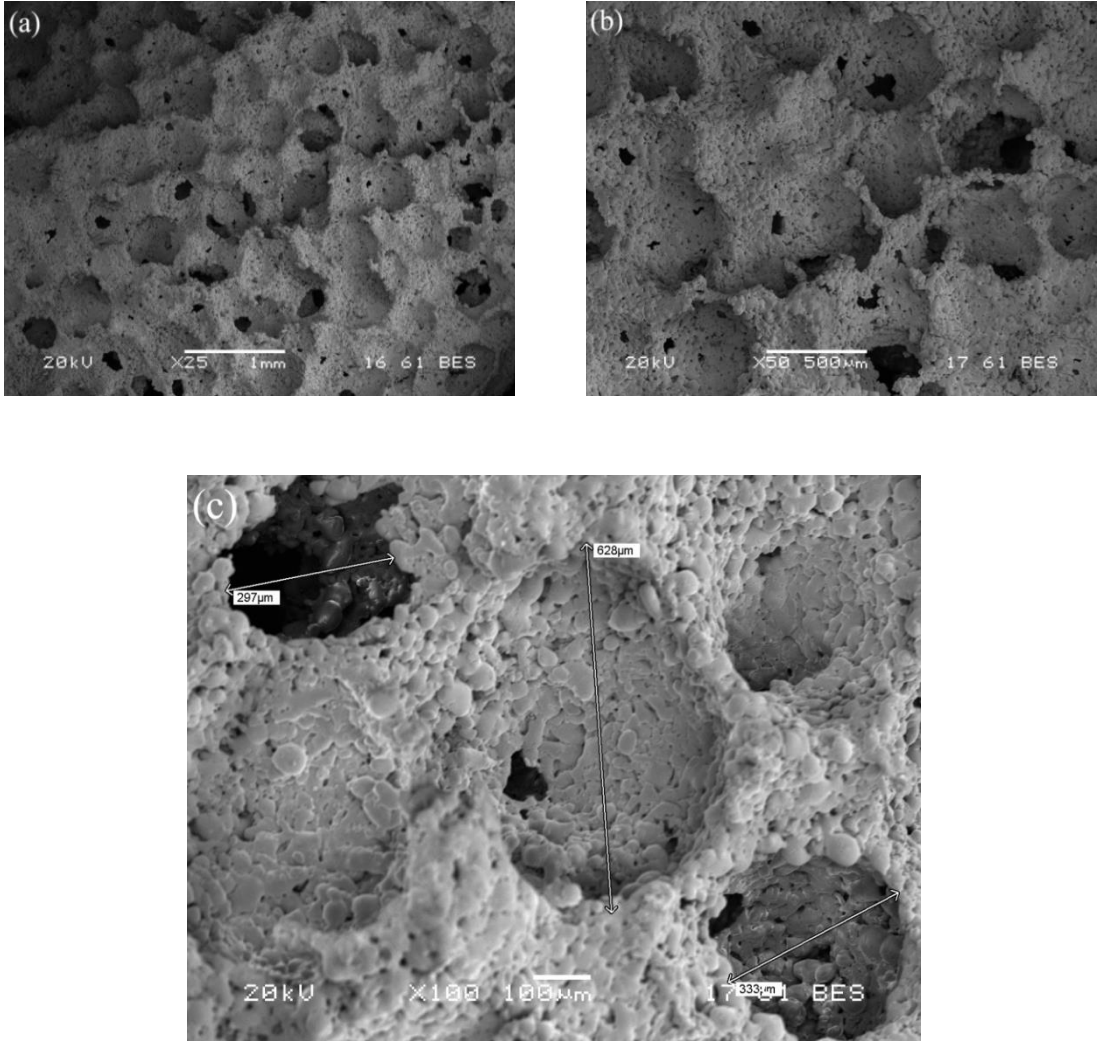
Doku iskelesi numunelerine ait SEM görüntüleri Şekil 6.10.-6.13.'te verilmiştir. Elde edilen görüntüler incelendiğinde, polimer sünger kopyalama yöntemi ile üretilen doku iskelelerinin, kalıp olarak kullanılan poliüretan süngerin yapısına benzer üç boyutlu, açık ve birbirine bağlı makro yapılara sahip oldukları görülmektedir. Doku iskelesinin sahip olduğu makro gözenek boyutları, hücre ve kemik içe büyümesini sağlarken mikro gözenekler hücre iskele etkileşimlerini teşvik eder [103]. Dört farklı oranda SrO içeren doku iskelelerinde oluşan gözeneklerin boyutu $61\mu\text{m}$ ile $628\mu\text{m}$ arasında değişmektedir. Üretilen bu doku iskelelerinin sahip olduğu makro ve mikro gözenek boyutları kemik oluşumunu destekleyici yapıda olduklarının göstermektedir.



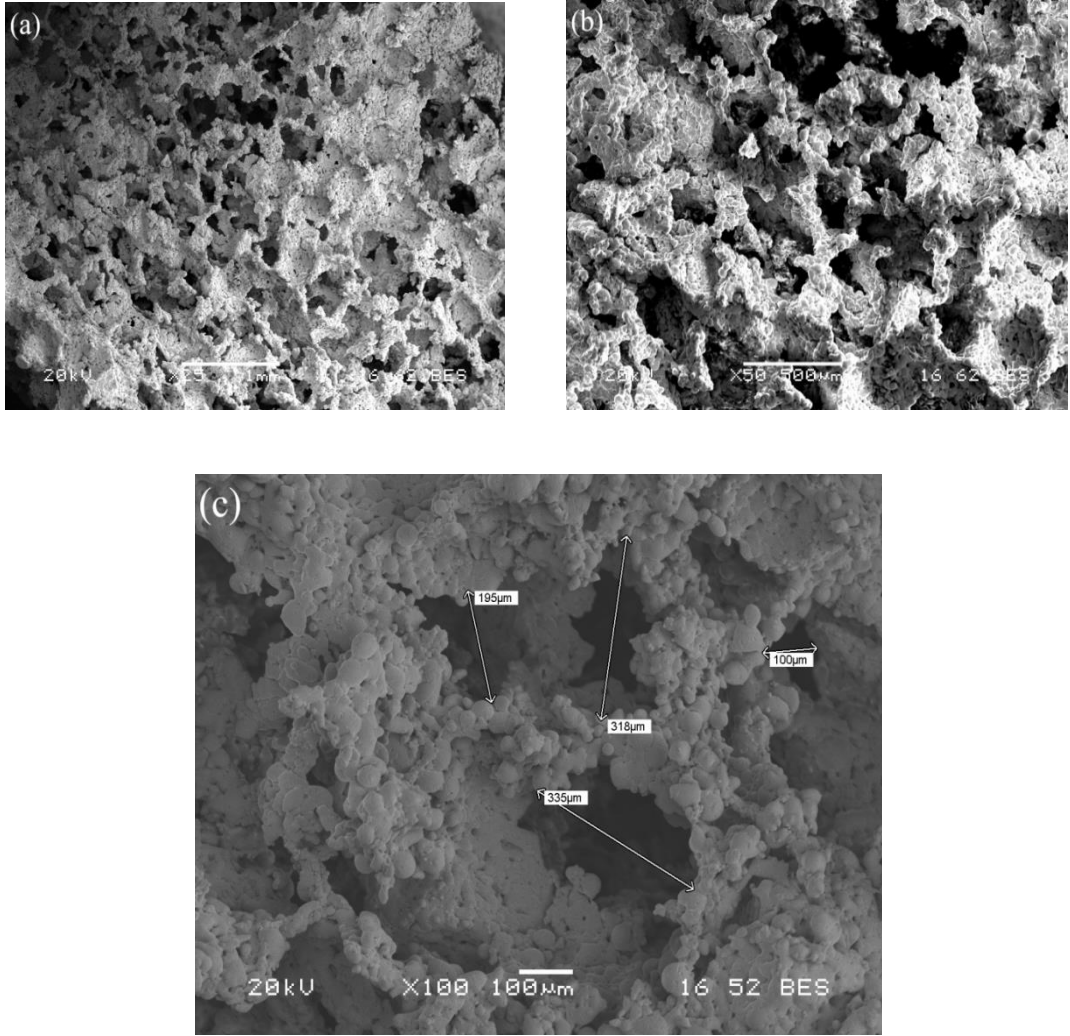
Şekil 6.13. % 0 SrO içeren doku iskelesinin görüntüleri; (a); X25, (b); X50 ve (c); X100



Şekil 6.14. % 0.5 SrO katkılı doku iskelesinin SEM görüntüleri (a); X25, (b); X50, (c); X100



Şekil 6.15. % 1 SrO katkılı doku iskelesinin SEM görüntüleri (a); X25, (b); X50, (c); X100



Şekil 6.16. % 2 SrO katkılı doku iskelesinin SEM görüntüsü (a); X25, (b); X50, (c); X100

7.6. Gözeneklilik Ölçümü

Dört farklı oranda Sr bileşimine sahip biyoaktif camlardan üretilen doku iskelelerinin ortalama gözeneklilik değerleri (5.3) ve (5.4) eşitlikleri kullanılarak hesaplanmış ve elde edilen değerler Tablo 6.5.'de verilmiştir. Üretilen doku iskelelerinin gözeneklilik değerlerinin, litaretürde yer alan, kemik dokusunun içeriye doğru büyüebilmesi için en az %50 gözeneklilik [105] gereksiniminden daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Ancak SrO katkı oranları ile gözeneklilik değerleri arasında net bir ilişki kurulamamıştır.

Tablo 6.4. Doku iskelesi numunelerinin gözeneklilik değerleri

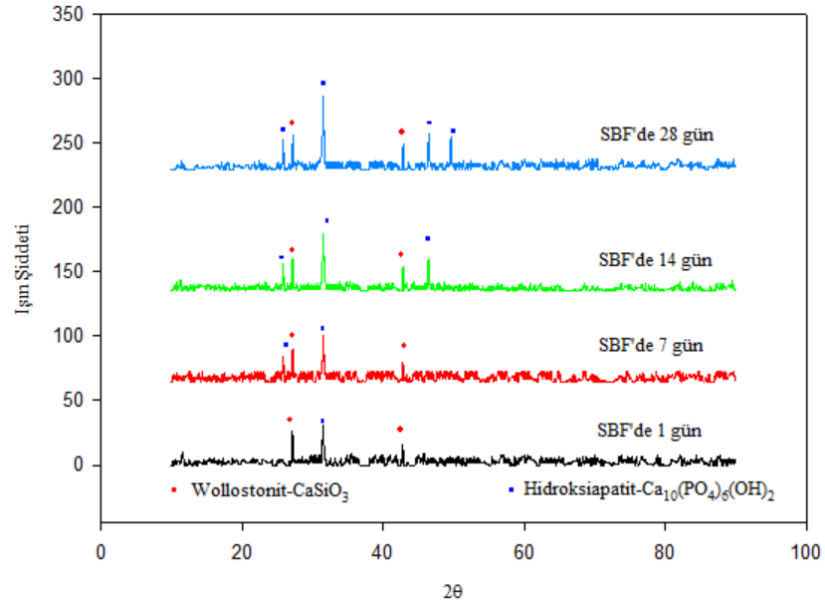
Numuneler	Gözeneklilik (%)
% 0 SrO içeren doku iskelesi	74,97
% 0,5 SrO içeren doku iskelesi	72,26
% 1 SrO içeren doku iskelesi	74,12
% 2 SrO içeren doku iskelesi	71,03

7.7. Doku iskelesi Numunelerinin Biyoaktivite Karakterizasyonları

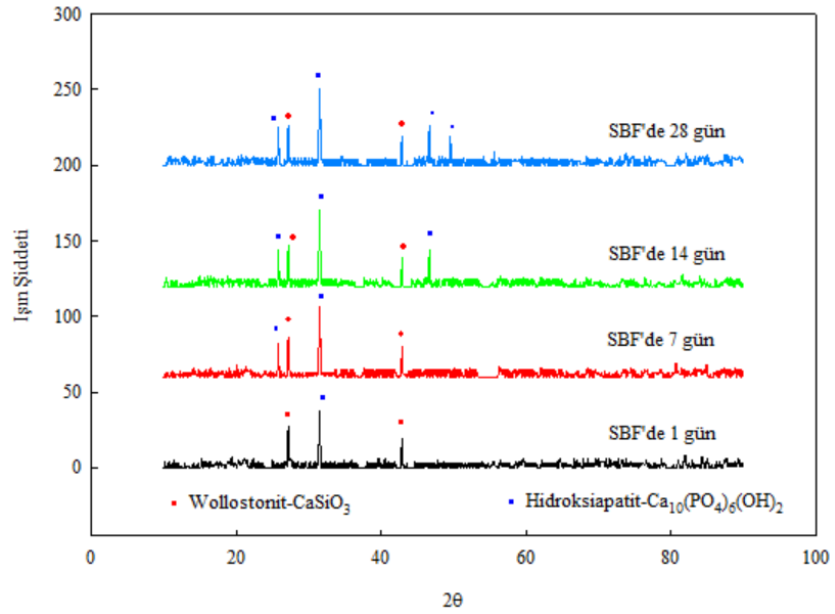
SBF içinde bekletilen doku iskelesi numunelerinin yüzeylerinde meydana gelen değişimler, SEM ve XRD analizi kullanılarak incelenmiştir.

6.7.1. XRD analizi

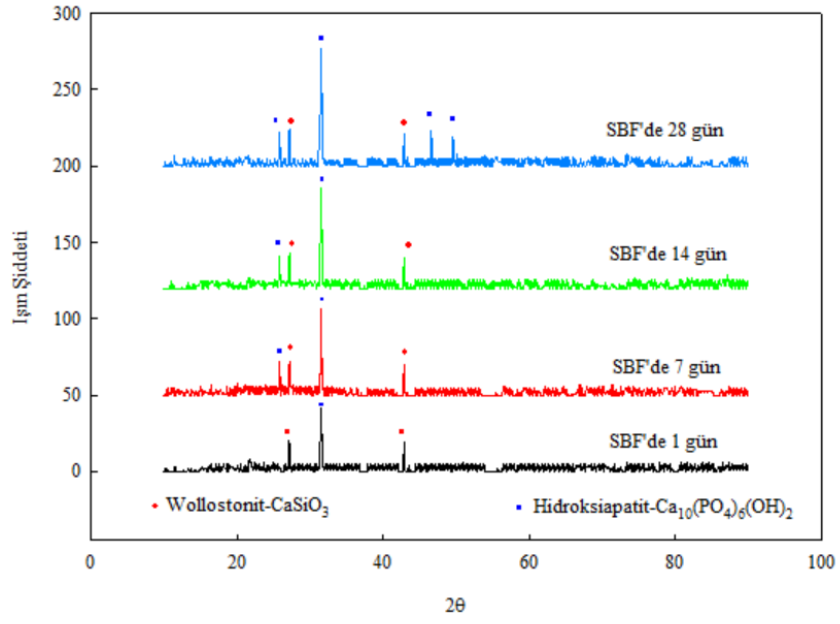
SBF içerisinde 1, 7, 14 ve 28 gün süreyle bekletilen doku iskelelerinin XRD grafikleri Şekil 6.17.-6.20.'de verilmiştir. Doku iskelelerinin yapay vücut sıvısında bekleme sonrası XRD grafiklerinde, biyoaktif camlarda görülene benzer şekilde, ilk günden itibaren oluşmaya başlayan 2θ - 32° 'de hidroksiapatit fazına ait kristalin pikler tespit edilmiş ve pik şiddetlerinin uzayan bekleme süreleri ile arttığı görülmüştür.



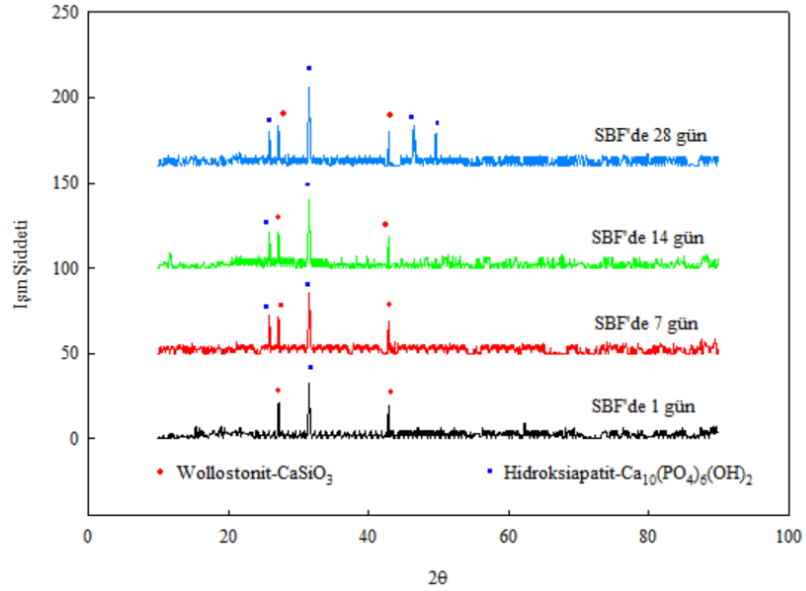
Şekil 6.17. SBF'de çeşitli sürelerle bekletilen % 0 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği



Şekil 6.18. SBF'de çeşitli sürelerle bekletilen % 0,5 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği



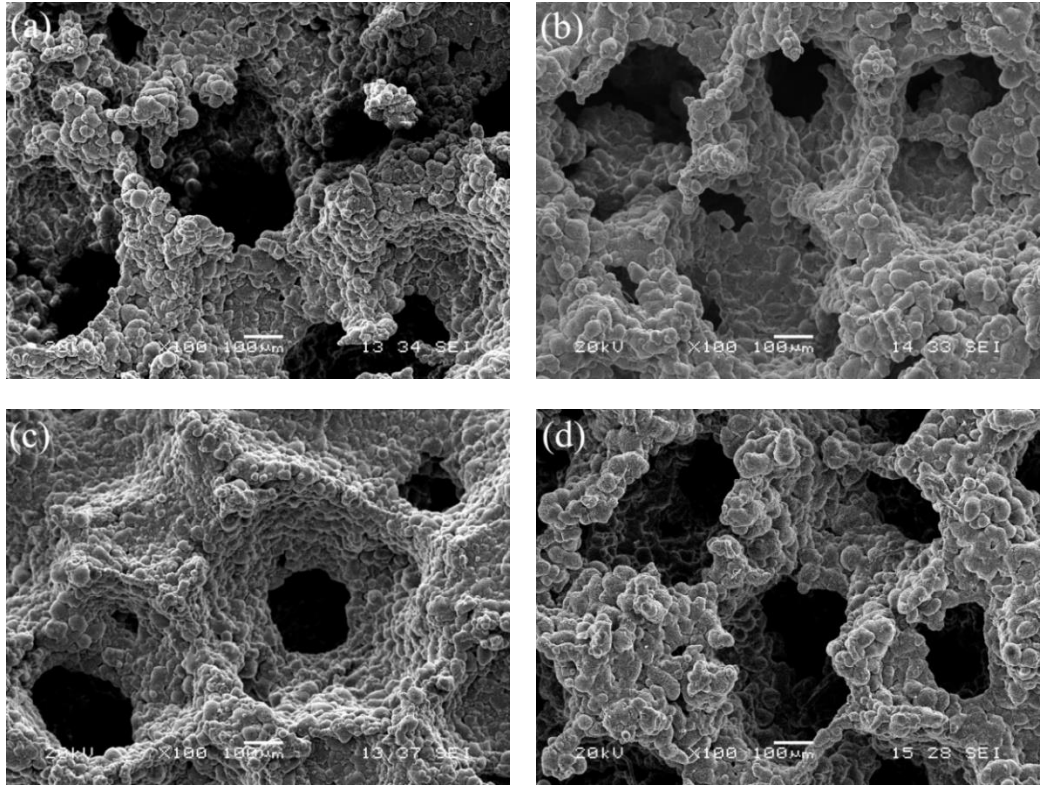
Şekil 6.19. SBF'de çeşitli sürelerle bekletilen % 1 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği



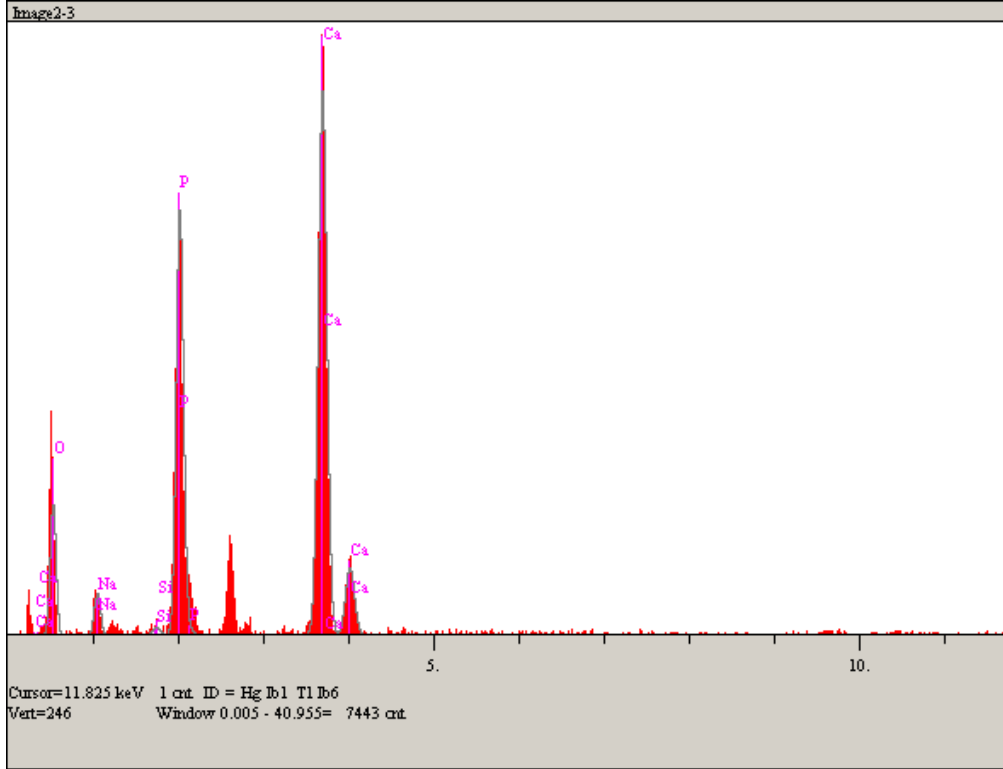
Şekil 6.20. SBF'de çeşitli sürelerle bekletilen % 2 SrO katkılı doku iskelesi XRD grafiği

6.7.2. Mikroyapı analizleri

Yapay vücut sıvısında 28 gün bekletilen dört farklı SrO bileşimine sahip doku iskelesi numunelerine yapılan taramalı elektron mikroskobu analizleri sonucunda, tüm numunelerin yüzeyinde HA tabakasının olduğu gözlenmiştir. Orijinal doku iskelelerinin pürüzsüz yüzeylerine kıyasla, SBF’de bekletilen doku iskelelerinin yüzeyi üzerinde karnabahar benzeri [57] hidroksiapatit tabakası oluşumu açık bir şekilde görülmektedir. Şekil 6.21.’de gösterilen SEM fotoğrafının görülen yüzeylerinde EDS analizi yapılmış ve sonuçları Şekil 6.22. - 6.25.’de gösterilmiştir.

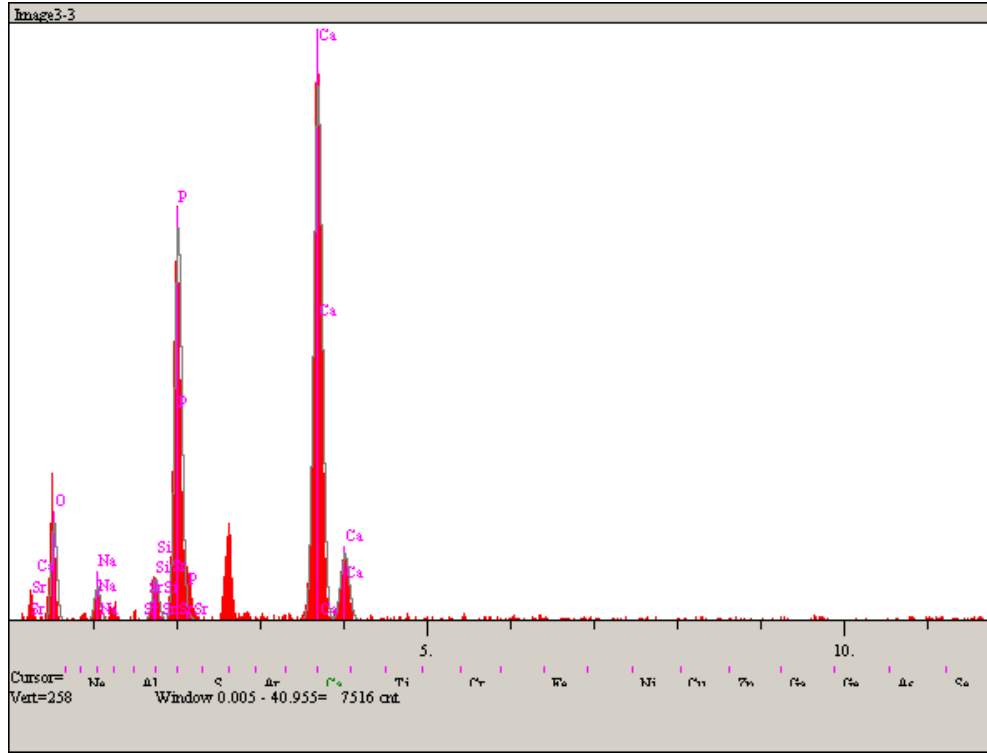


Şekil 6.21. SBF’de 28 gün bekletilen doku iskelelerinin SEM görüntüleri; (a) %0 SrO içeren doku iskelesi, (b) %0.5 SrO içeren doku iskelesi, (c) %1 SrO içeren doku iskelesi ve (d) %2 SrO içeren doku iskelesi



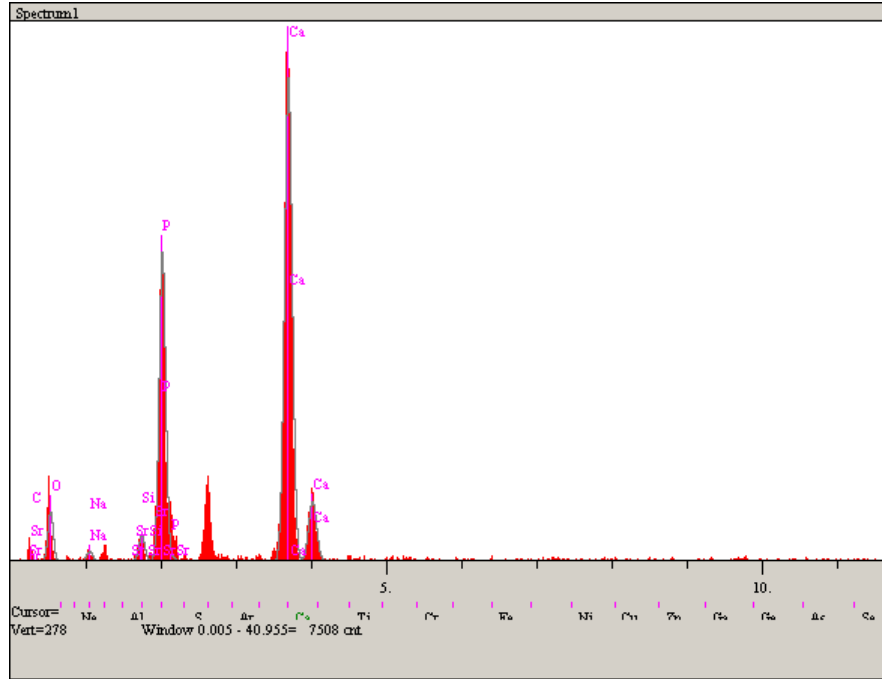
Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
O	K α	45,24	4,253	42,699	wt. %	
Na	K α	15,72	2,507	3,417	wt. %	
Si	K α	3,39	1,164	0,357	wt. %	
P	K α	183,29	8,560	19,303	wt. %	
Ca	K α	279,43	10,570	34,224	wt. %	
				100,000	wt. %	Total

Şekil 6.22. SBF'de 28 gün bekletilen % 0 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği



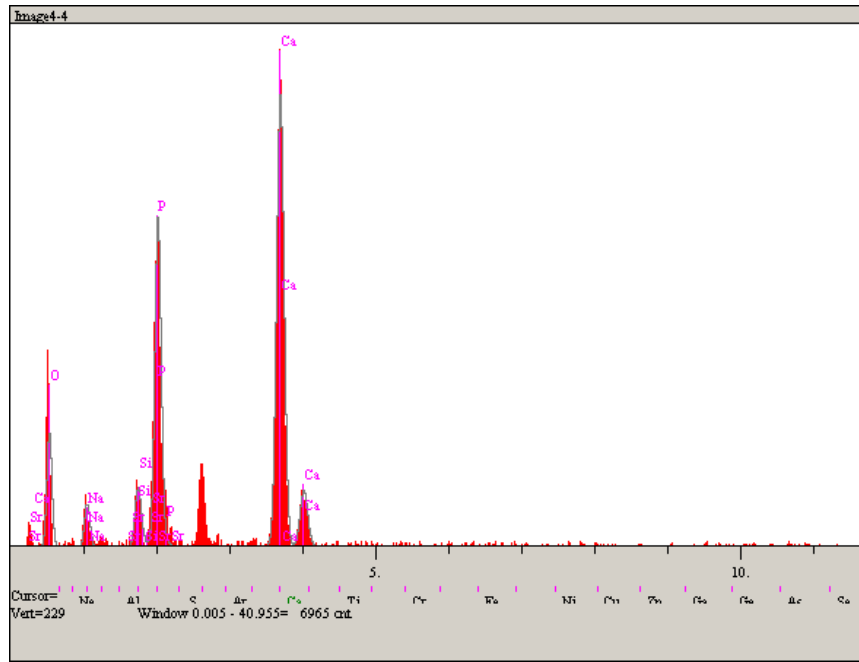
Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
O	K α	35,76	3,782	37,834	wt. %	
Na	K α	13,45	2,319	2,958	wt. %	
Si	K α	18,11	2,691	1,936	wt. %	
P	K α	182,09	8,534	19,914	wt. %	
Ca	K α	295,83	10,877	37,358	wt. %	
Sr	L α	0,00	0,000	0,000	wt. %	
				100,000	wt. %	Total

Şekil 6.23. SBF'de 28 gün bekletilen % 0.5 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği



Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
C	K α	0,00	0,000	0,000	wt. %	
O	K α	22,08	2,971	31,170	wt. %	
Na	K α	4,57	1,352	1,142	wt. %	
Si	K α	13,13	2,291	1,560	wt. %	
P	K α	170,80	8,265	20,763	wt. %	
Ca	K α	318,35	11,284	45,366	wt. %	
Sr	L α	0,00	0,000	0,000	wt. %	
				100,000	wt. %	Total

Şekil 6.24. SBF'de 28 gün bekletilen % 1 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği



Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units	
O	K α	42,80	4,136	41,845	wt. %	
Na	K α	17,75	2,664	4,016	wt. %	
Si	K α	26,74	3,269	2,980	wt. %	
P	K α	154,36	7,856	17,839	wt. %	
Ca	K α	253,28	10,063	32,928	wt. %	
Sr	L α	2,01	0,896	0,392	wt. %	
				100,000	wt. %	Total

Şekil 6.25. SBF’de 28 gün bekletilen % 2 SrO içeren doku iskelesinin EDS grafiği

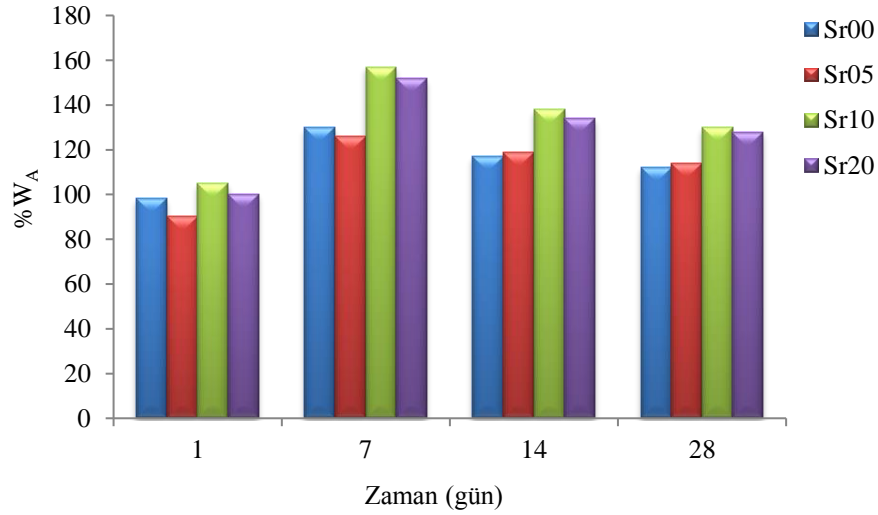
EDS analizlerinin sonucunda, doku iskelelerinin yüzeyinde tespit edilen Ca/P oranları hesaplanmış ve Tablo 6.5.’te verilmiştir. Hesaplanan Ca/P değerleri, SEM fotoğraflarında tespit edilen HA tabakasının varlığını tescil etmiştir. Ayrıca SrO katkısının Ca/P değerini artırdığı görülmüş ancak SrO katkı oranları ile Ca/P değeri arasında net bir ilişki bulunamamıştır. Bununla birlikte en yüksek Ca/P değerine sahip iskelenin %1 SrO katkılı biyoaktif camdan üretilen doku iskelesi olduğu görülmüştür.

Tablo 6.5. SBF’de 28 gün boyunca bekletilen doku iskelelerinin Ca/P oranları

Numune	Ca/P oranı
% 0 SrO içeren doku iskelesi	1,77
% 0,5 SrO içeren doku iskelesi	1,87
% 1 SrO içeren doku iskelesi	2,18
% 2 SrO içeren doku iskelesi	1,84

7.8. İn Vitro Biyobozunma Analizleri

Doku iskelelerinin biyobozunma davranışlarının incelenmesi amacıyla SBF’de 28 gün süre boyunca bekletilerek su absorpsiyonu ve ağırlık kaybı çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar yeni kemik dokusunun oluşması ile birlikte biyomalzemenin vücuttan atılma hızı arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için oldukça önemlidir. Su absorpsiyonu sonuçları Şekil 6.26.’de özetlenmiştir.



Şekil 6.26. SBF’de 28 gün bekletilen doku iskelelerinin % su absorpsiyonu

Su absorpsiyon kabiliyeti, doku iskelelerinde hücrelerin üç boyutlu yapı içerisine nüfuzunu kolaylaştırmaktadır. Daha yüksek oranda su absorpsiyonu sergileyen numuneler, daha geniş yüzey alanı ve/veya gözenek hacim oranına sahiptirler [60].

Yapılan su absorpsiyon analiz sonuçları incelendiğinde, ağırlıkça % 1 Sr içeriğine sahip doku iskelesinin su absorpsiyon kabiliyetinin diğer doku iskelelerine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca su absorpsiyon kabiliyetinin tüm numunelerde 7. günden itibaren azaldığı görülmektedir. Bu durum kütle kaybına bağlı yüzey alanı ve gözenek hacmindeki düşüşle açıklanabilir.

Doku iskelesi vücuda yerleştirildikten sonra kemik dokusunun gelişebilmesi amacıyla en az 3 ay süreyle üç boyutlu yapısını korumak zorundadır. Doku iskeleleri, SBF'de 28 gün boyunca bekletildikten sonra %2 ile %3 civarında ağırlık kayıplarına uğrayarak orta derecede çözünürlük sergilemişlerdir [116]. Elde edilen bu sonuç ile tüm numunelerde, biyolojik sıvılar ile uzun süreli temas halinde malzeme bütünlüğü / mekanik özelliklerinin korunabileceği ve kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere uygun potansiyele sahip oldukları düşünülmektedir.

BÖLÜM 7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

7.1. Sonuçlar

Dört farklı oranda Sr katkısı içeren $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-B}_2\text{O}_3\text{-CaO-SrO}$ sistemine sahip bileşimlerden üretilen biyoaktif cam numunelerinden doku iskelesi üretimi gerçekleştirilen bu çalışmada aşağıda özetlenen sonuçlar elde edilmiştir:

- Dört farklı oranda (% 0, % 0.5, % 1 ve % 2) stronsiyum oksit katkısı (% ağı.) içeren bileşimlerden ergitme yöntemi ile numuneler üretilmiş ve yapılan XRD analizleri sonucunda amorf camsı yapıların oluştuğu tespit edilmiştir.
- Üretilen biyoaktif cam numunelerine uygulanan DTA sonucunda, numunelerin camsı geçiş sıcaklıkları (780-825°C) ve kristallenme sıcaklıkları (805-920°C) belirlenmiştir.
- Üretilen biyoaktif cam numunelerinin yapay vücut sıvılarında çeşitli sürelerde (1, 7, 14, 28 gün) bekletilmeleri sonrasında yapılan XRD ve SEM uygulamalarında numunelerin yüzeylerinde ilk günden itibaren hidroksiapatit tabakasının oluştuğu gözlemlenmiştir.
- Doku iskelelerine uygulanan sinterleme işlemi sonucunda yapıda kristalin wollostonit- CaSiO_3 fazı tespit edilmiş ve biyoaktiflik özellikleri olumlu yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.
- Yapay vücut sıvısında çeşitli süreler ile bekletilen doku iskelelerine uygulanan XRD, SEM ve EDS analizleri sonucunda, tüm numunelerde ilk günden itibaren hidroksiapatit tabakası oluştuğu belirlenmiş ve numunelerin biyoaktiflik özelliğe sahip oldukları belirlenmiştir.

- Doku iskeleleri ile gerçekleştirilen biyobozunma çalışmaları sonucunda tüm numunelerin yüksek gözeneklilik ve biyoaktivite ile uygun biyobozunma hızına sahip olmaları sebebiyle kemik doku mühendisliğinde kullanılmak için potansiyel doku iskelesi olabilecekleri düşünülmektedir.

7.2. Öneriler

- Biyoaktif cam bileşimine, stronsiyum dışında Mg, Zn, Cu gibi katkıları ilave edilerek biyoaktivite özellikleri üzerine etkileri incelenebilir.
- Yapay vücut sıvısında daha uzun süreli biyoaktivite ve biyobozunma analizleri gerçekleştirilerek, biyoaktif camların ve doku iskelelerinin in vitro ortamdaki davranışları araştırılabilir.
- Üç boyutlu, birbirine bağlı gözenek yapısına sahip doku iskelelerinin mekanik özellikleri incelenerek kemik doku mühendisliği için uygun olup olmadıkları değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] Yazıcı, T., Plazma Sprey Yöntemiyle Üretilmiş Biyocam Kaplamaların Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2003.
- [2] Gümüşderelioğlu, M. Biyomalzemeler, Bilim ve Teknik Dergisi, 7, 211, 2001.
- [3] Gür, A.K., Taşkın, M. Metalik Biyomalzemeler ve Biyoyum, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları :4, 2004.
- [4] Güven Ş., Biyoyumluluk Ve Biyomalzemelerin Seçimi, Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi, ISSN: 1308-6693, 2014.
- [5] Pasinli A., Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler, Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi, 25-34, 2004.
- [6] Zhu, Y. and Kaskel, S., Comparison of the in vitro bioactivity and drug release property of mesoporous bioactive glasses (MBGs) and bioactive glasses (BGs) scaffolds, Microporous and Mesoporous Materials, 118, 176-182, 2009.
- [7] Hench, L.L. and Polak, J.M., Third-generation biomedical materials, Science, 295, 1014-1017, 2002.
- [8] Mansur, H.S. and Costa, H.S., Nanostructured poly(vinyl alcohol)/bioactive glass and poly(vinyl alcohol)/chitosan/bioactive glass hybrid scaffolds for biomedical applications, Chemical Engineering Journal, 137, 72-83, 2008.
- [9] Guida, A., Towler, M.R., Wall, J.G., Hill, R.G. and Eramo, S., Preliminary work on the antibacterial effect of strontium in glass ionomer cements, Journal of Material Science Letters, 22, 1401-1403, 2003.

- [10] Hesarakı, S., Alızadeh, M., Nazarian, H. and Sharıfı, D., Physicochemical and in vitro biological evaluation of strontium/calcium silicophosphate glass, *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 21, 695-705, 2010.
- [11] Gentleman, E., Fredholm, Y.C., Jell, G., Lotfibakhshaiesh, N., O'Donnell, M.D., Hill, R.G. and Stevens, M.M., The effects of strontiumsubstituted bioactive glasses on osteoblasts and osteoclasts in vitro, *Biomaterials*, 31, 3949-3956, 2010.
- [12] Buddy D. Ratner, *Biomaterials Science: An Interdisciplinary Endeavor*, 2013.
- [13] Larry L. Hench, Serena M. Best, *Classes of Materials Used in Medicine, Chapter I.2.4 Ceramics, Glasses, And Glass-Ceramics: Basic Principles*, 128-150, 2009.
- [14] Hulbert, S.F., Bokros, J.C., Hench, L.L., Wilson, J. and Heimke, G., *Ceramics in Clinical Applications – Past, Present and Future, Ceramics in Clinical Applications*, Vincenzini, P., Elsevier, New York, 3-27, 1987.
- [15] <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bdergi/yeniufuk/icerik/biyomalzemeler.pdf>
Erişim Tarihi: 03.12.2008.
- [16] Davis, J.R., *Overview of Biomaterials and Their Use in Medical Devices*, ASM International, Dec., 2013.
- [17] Jonn B.P ve Young K.K., *Biomedical Engineering Handbook Unit:37 Metalic Biomaterials*, 2000.
- [18] M antripragada VP, Lecka-Czernik B, Ebraheim NA, Jayasuriya AC An overview of recent advances in designing orthopedic and craniofacial implants. *J Biomed Mater Res A* 101A(11):3349–3364, 2013.
- [19] Pound BG Passive fi lms on metallic biomaterials under stimulated physiological conditions. *J Biomed Mater Res A* 102A:1595–1604, 2014.
- [20] Evcin A., *Polimerik Biyomalzemeler*, Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2016.
- [21] http://www.teknolojikarastirmalar.com/pdf/tr/04_010207_1_yaman-tr.pdf
Erişim Tarihi: 11.03.2008.
- [22] <http://www.scribd.com/doc/25023282/BiyoseramikMalzemelerAra%C5%9Ft%C4%B1rma>, Erişim Tarihi: 02.14.2018.

- [23] Daniel E. Heath, Stuart L. Cooper, Chapter I.2.2 – Polymers: Basic Principles, *An Introduction to Materials in Medicine*, Pages 64–79, 2013.
- [24] Ayhan H., *Biyomalzemeler*, *Bilim ve Teknik Tem.* s.2-11, 2002.
- [25] <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bdergi/yeniufuk/icerik/biyomalzemeler.pdf>, Erişim Tarihi: 02.06.2013.
- [26] Baino F. , Brovarone C., *Bioceramics in ophthalmology*, 2014.
- [27] Dorozhkin SV. A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till Mater Sci Eng C 2013;33:3085–110, 1950.
- [28] Hench L.L., The story of bioglass. *J Mater Sci Mater Med* 17: 967–978, 2006.
- [29] LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop Relat Res* 395:81–98, 2002.
- [30] Dubok, V. A., *Bioceramics-Yesterday, Today, Tomorrow, Powder Metallurgy and Metal Ceramics*, 39; 381-394, 2000.
- [31] Konukoğlu Z., *Pirinç Kabuğu Kökenli Silika İçerikli MgO, SrO Ve Al₂O₃ İlaveli 45S5 Biyoaktif Cam Üretimi Ve Karakterizasyonu*, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, *Biyomühendislik Anabilim Dalı Biyomühendislik Programı Yüksek Lisans Tezi*, 2017.
- [32] Chevalier J, Gremillar L. Ceramics for medical applications: a picture for the next 20 years. *J Eur Ceram Soc* 29:1245–5, 2009.
- [33] Jaffe WL, Scott DF. Current concepts review – total hip arthroplasty with hydroxyapatite-coated prostheses. *J Bone Joint Surg Am* 78:1918–34, 1996.
- [34] Gerhardt LC, Boccaccini AR. Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Materials* 3:3867–910, 2010.
- [35] Baino F, Vitale-Brovarone C. Three-dimensional glass-derived scaffolds for bone tissue engineering: current trends and forecasts for the future. *J Biomed Mater Res A* 97:514–35, 2011.

- [36] Hench, L.L., Bioactive Glasses and Glass-Ceramics, Materials Science Forum, 293, 37-64. 1999.
- [37] Nicolodi, L., Sjölander, E. and Olsson, K., Biocompatible Ceramics-An Overview of Applications and Novel Materials, 2004.
- [38] Murugan, R. and Ramakrishna, S., Development of nanocomposites for bone grafting. Composites Science and Technology 65, 2385-2406, 2005.
- [39] Sarsılmaz F., Sarsılmaz C., Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları-3, 2003.
- [40] Hocaoğlu V., Bakır Ve Stronsiyum Katkılı Biyoaktif Cam Numunelerinin Kristalizasyon Kinetiğinin İncelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2015.
- [41] D. Williams, Definitions in Biomaterials, Elsevier, Amsterdam, 1987
- [42] D. Williams, General concepts of biocompatibility, in: Handbook of Biomaterial Properties, Springer pp. 481e489, 1998.
- [43] R. Yoda, Elastomers for biomedical applications, J. Biomater. Sci. Polym. 561-626, 1998.
- [44] P. Vermette, et al., Biomedical Applications of Polyurethanes, (Landes Bioscience Georgetown, TX). vol. 6, 2001.
- [45] N.S. Manam , W.S.W. Harun, D.N.A. Shri , S.A.C. Ghani , T. Kurniawan , M.H. Ismail , M.H.I. Ibrahim, Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review, 2017.
- [46] Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E. and Leong, K.W., Biomedical Applications of Polymer-Composite Materials, Comp. Sci.&Tech., 61-9, 1189-1224, 2001.
- [47] Mantovani, D., Shape Memory Alloys: Properties and Biomedical Applications. Metals&Materials Society,pp:36-44 JOM 2000.
- [48] L.L. Hench, R.J. Splinter, W.C. Allen, T.K. Greenlee, Bonding mechanism at interface of ceramic prosthetic materials, J. Biomed. Mater. Res. 5 117-141, 1971.

- [49] V.V. Ve alim€ aki, H. Aro, Molecular basis for action of bioactive glasses as bone graft substitute, Scand. J. Surg. 95-102, 2006.
- [50] M. Neo, T. Nakamura, C. Ohtsuki, R. Kasai, T. Kokubo, T. Yamamuro, Ultrastructural study of the A-W GC-bone interface after long-term implantation in rat and human bone, J. Biomed. Mater. Res. 28 365-372, 1994.
- [51] Park, B.J. ve Bronzino, J.D., Biomaterials: principles and applications, CRC Press, New York, 2003.
- [52] Silver F. ve Doillon C. "Biocompatibility: interactions of biological and implantable materials" New York: 10(2):122-128, 1989.
- [53] Özsoy S. Bioseramikler: Hydroxyapatit, Biocam. Veteriner Cerrahi Dergisi, 2(1): 10-13, 1996.
- [54] Sakallıoğlu U, Yavuz Ü. İnterproksimal Kemikiçi Defektlerin Rekonstrüksiyonunda Biyoaktif Cam İçerikli Alloplastların Etkinliđinin İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliđi Fakóltesi Dergisi. 30(1): 17-24, 2006.
- [55] Hench, L., L., and Paschall, H.A. Histochemical responses at a biomaterial's interface, Journal of Biomedical Materials Research, 8, 49-64, 1974.
- [56] Nandi, S., K., Kundu, B., Datta, S., De, D.K. and Basu, D., The repair of segmental bone defects with porous bioglass: An experimental study in goat, Research in Veterinary Science, 86, 162-173, 2009.
- [57] Murphy, S., Boyd, D., Moane, S., and Bennett, M., The effect of composition on ion release from Ca-Sr-Na-Zn-Si glass bone grafts, Journal of Material Science: Materials in Medicine, 20, 2207-2214, 2009.
- [58] Neuman, W., Neuman, M., The Chemical Dynamics of Bone Mineral, University of Chicago Press, Chicago, 1958.
- [59] Kükürtçü B., Biyoaktif Cam ve Cam-Seramik Malzemelerin Üretimi ve Yapay Vücut Isısı İçerisindeki Davranımlarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2008.

- [60] Peter ,M., Binulal, N.S., Nair, S.V., Selvamurugan, N., Tamura H. ve Jayakumar, R., “Novel Biodegradable Chitosan-Gelatin / Nanobioactive Glass Ceramic Composite Scaffolds for Alveolar Bone Tissue Engineering” *Chemical Engineering Journal*, 158, 353-361, 2010.
- [61] Timuçin , M., Öztürk, A., Korkusuz, F., Korkusuz, P., Durucan, C., Koç, N. Park, J., Vakıfahmetoğlu, Ç. Ve Tan, C., Apatit-Wollastonit biyoaktif seramiklerin üretimi ve karakterizasyonu, TÜBİTAK Mühendislik Araştırma Destek Grubu, Proje No: 104M400, 2008.
- [62] Saravanapavan, P. and Hench, L.L., Mesoporous calcium silicate glasses. I. Synthesis, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 318, 1-13, 2003.
- [63] Fu, H., Fu, Q., Zhou, N., Huang, W., Rahaman, M.N., Wang, D. and Liu, X., In vitro evaluation of borate-based bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication method, *Materials Science and Engineering*, MSC-02663, 2009.
- [64] Hench, LL., Bioceramics: from concept to clinic, *J Am Ceram Soc*; 74:1487–1510, 1991.
- [65] Hench LL., Genetic design of bioactive glass, *J Eur Ceram Soc*, 29:1257–65, 2009.
- [66] Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LDK, Hench LL, Polak JM. Ionic products of bioactive glass dissolution increase proliferation of human osteoblasts and induce insulin-like growth factor II mRNA expression and protein synthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 276:461–5, 2000.
- [67] Cortizo, A.M., Molinuevo, M.S., Barrio, D.A, Bruzzone, L., Osteogenic activity of vanadyl(IV)-ascorbate complex: evaluation of its mechanism of action, *Int J Biochem Cell Biol*;38(7):1171-80, 2006.
- [68] Jain RK, Au P, Tam J, Duda DG, Fukumura D. Engineering vascularized tissue. *Nat Biotechnol* 23:821–3, 2005.
- [69] Hopkins SP, Bulgrin JP, Sims RL, Bowman B, Donovan DL, Schmidt SP. Controlled delivery of vascular endothelial growth factor promotes neovascularization and maintains limb function in a rabbit model of ischemia. *J Vasc Surg*, 27:886–95, 1998.

- [70] GlobalData, MediPoint: Bone Grafts and Substitutes - Global Analysis and Market Forecasts, 2014.
- [71] K. Beitzel, D. Allen, J. Apostolakos, R.P. Russell, M.B. McCarthy, G.J. Gallo, M.P. Cote, A.D. Mazzocca, US definitions, current use, and FDA stance on use of platelet-rich plasma in sports medicine, *J. Knee Surg.* 28, 29-34, 2015.
- [72] K.H. Thompson, O. Chris, Boon and bane of metal ions in medicine, *Science* 300 936-939, 2003.
- [73] T.W. Bauer, G.F. Muschler, Bone graft materials: an overview of the basic science, *Clin. Orthop. Relat. Res.* 371 10-27, 2000.
- [74] Cortizo, A.M., Molinuevo, M.S., Barrio, D.A, Bruzzone, L.,Osteogenic activity of vanadyl(IV)-ascorbate complex: evaluation of its mechanism of action”, *Int J Biochem Cell Biol*;38(7):1171-80, 2000.
- [75] Zreiqat, H., Howlett, C.R., Zannettino, A., Evans, P., Schulze-Tanzil, G., Knabe, C., Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants., *J Biomed Mater Res*;62(2):175-84, 2002.
- [76] Meunier, P.J, Slosman, D.O., Delmas, P.D. ,Sebert, J.L., Brandi, M.L. ,Albanese, C. “Strontium ranelate: dose-dependent effects in established postmenopausal” *Biomaterials*; 32(23):49-57, 2004.
- [77] Damen, J.M., Ten, J, Cate, J.M., Silica-induced precipitation of calcium phosphate in the presence of inhibitors of hydroxyapatite formation., *J Dent Res*;71 (3):453-7, 1992.
- [78] Kim, M.H, Bae, Y.J, Choi, M.K, Chung, Y.S, Silicon supplementation improves the bone mineral density of calcium-deficient ovariectomized rats by reducing bone resorption”. *Biol Trace Elem Res*;128(3):239-47, 2009.
- [79] Yamaguchi, M.,Role of zinc in bone formation and bone resorption”, *J Trace Elem Exp Med*;11(23):11-35, 1998.
- [80] Wang W., Yeung W.K., Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review, 2017.

- [81] Marie PJ, Ammann P, Boivin G, Rey C. Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone. *Calcif Tissue Int* 69:121–9, 2011.
- [82] S.C. Verberckmoes, M.E. Broe, De P.C. D'Haese, Dose-dependent effects of strontium on osteoblast function and mineralization, *Kidney Int.* 64 534-543, 2003.
- [83] Zhang W, Shen Y, Pan H, Lin K, Liu X, Darvell BW, et al. Effects of strontium in modified biomaterials. *Acta Biomater* 7:800–8, 2011.
- [84] Wu C, Zhou Y, Lin C, Chang J, Xiao Y. Strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with improved osteogenic/cementogenic differentiation of periodontal ligament cells for periodontal tissue engineering. *Acta Biomater* 8:3805–15, 2012.
- [85] Wu CT, Fan W, Gelinsky M, Xiao Y, Simon P, Schulze R, et al. Bioactive SrO–SiO₂ glass with well-ordered mesopores: characterization, physiochemistry and biological properties. *Acta Biomater* 7:1797–805, 2011.
- [86] Jones, J.R. and Hench, L.L., Regeneration of trabecular bone using porous ceramics, *Current Opinion Solid State and Materials Science*, 7, 301-307, 2003.
- [87] Beşkardeş I., *Biyoseramik Ve Biyosinyal Moleküllerle Desteklenmiş Poli(Kaprolakton) Doku İskeleleri: Sentez, Karakterizasyon Ve Kemik Doku Mühendisliği Uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 2008.
- [88] Gümüşderelioğlu M., *Doku Mühendisliği ve Ürünleri, Bilim ve Teknik Dergisi, Kasım sayısı*, 2010.
- [89] Armentano I., Dottori M., Fortunati E., Mattioli S., Kenny J.M., Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review, *Polymer Degradation and Stability*, 95, 11, 2126-2146, 2010.
- [90] M.J. Webber, et al., A perspective on the clinical translation of scaffolds for tissue engineering, *Ann. Biomed. Eng.* 43 (3) (2015) 641-656, 2012.
- [91] D.W. Hutmacher, Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials* 21 (24) 2529-2543, 2000.

- [92] Q.L. Loh, C. Choong, Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size, *Tissue Eng. Part B Rev.* 19 (6) 485-502, 2013.
- [93] S. Bose, M. Roy, A. Bandyopadhyay, Recent advances in bone tissue engineering scaffolds, *Trends Biotechnol.* 30 (10) 546-554, 2012.
- [94] Z. Dong, Y. Li, Q. Zou, Degradation and biocompatibility of porous nanohydroxyapatite/polyurethane composite scaffold for bone tissue engineering, *Appl. Surf. Sci.* 255 (12) 6087-6091, 2009.
- [95] P.M. Mountziaris, A.G. Mikos, Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration, *Tissue Eng. Part B Rev.* 14 (2) 179-186, 2008.
- [96] X. Cao, D. Chen, The BMP signaling and in vivo bone formation, *Gene* 357, 2008.
- [97] Turnbull G., Clarke J., Picard F.E, Riches P., Jia L., Han F., Li B., Shu W., 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering, *Bioactive Materials* 3 278-314, 2018.
- [98] K.A. Hing, et al., Mediation of bone ingrowth in porous hydroxyapatite bone graft substitutes, *J. Biomed. Mater. Res. A* 68 (1) 187-200, 2004.
- [99] F. Barrere, et al., Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: instructive and smart functions, *Mater. Sci. Eng. R Rep.* 59 (1) 38-71, 2008.
- [100] J. Zeltinger, et al., Effect of pore size and void fraction on cellular adhesion, proliferation, and matrix deposition, *Tissue Eng.* 7 557-572, 2001.
- [101] F.J. O'Brien, et al., The effect of pore size on cell adhesion in collagen-GAG scaffolds, *Biomaterials* 26 (4) 433-441, 2005.
- [102] C.M. Walthers, et al., The effect of scaffold macroporosity on angiogenesis and cell survival in tissue-engineered smooth muscle, *Biomaterials* 35 (19) 5129-5137, 2014.
- [103] K. Whang, et al., Engineering bone regeneration with bioabsorbable scaffolds with novel microarchitecture, *Tissue Eng.* 5 (1) 35-51, 1999.

- [104] K. Doi, et al., Development of implant/interconnected porous hydroxyapatite complex as new concept graft material, PLoS One 7 (11) 49051, 2012.
- [105] A. Manke, L. Wang, Y. Rojanasakul, Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity, BioMed Res. Int. 15, 2013.
- [106] Ersoy M.S., Can N., Nanolif Yapılı Polimerik Doku İskeleleri, Journal of Textiles and Engineer, Cilt (Vol): 21 No: 95, 2014.
- [107] Özarpat Ö., Stronsiyum Katkılı Biyoaktif Cam Malzeme Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.
- [108] Aydın L., Küçük S., Kenar H., Doku Ve Organ Biyo Yazdırma Amaçlı 3b Biyo Yazıcı Tasarımı Ve Geliştirilmesi, Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi 2.gün, 2015.
- [109] J.M. Williams, et al., Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering, Biomaterials 26 (23) 4817-4827, 2005.
- [110] Y. Xia, et al., Selective laser sintering fabrication of nano-hydroxyapatite/poly-ε-caprolactone scaffolds for bone tissue engineering applications, Int. J. Nanomed. 8 4197-4213, 2013.
- [111] <http://mswebs.naist.jp/LABs/tanihara/ohtsuki/SBF/index.html>, Erişim Tarihi: 18.04.2018.
- [112] Erdem A., Sözer Z., Seramik Testleri ve Hesaplamaları, Ser. Tekn. Tas. Lisans Tezi, A.U. Uyg. Güz. San. Yüksekokulu, Eskişehir, 1990.
- [113] Özkan O. T., Kınıkoğlu S., Taşar., M.S., Seramik Hammaddelerine Uygulanan Kimyasal Analiz ve Test Metotları, TÜBİTAK Marmara Bil. ve End. Arş. Un. Proje No. 03-1601-7801, 1979.
- [114] T. Kokubo, S. Ito, S. Sakka, T. Yamamuro, Formation of a high strength bioactive glass-ceramic in the system MgO–CaO–SiO₂–P₂O₅, J. Mater. Sci. 21 536–540, 1986.
- [115] Hench, L.L., Genetic design of bioactive glass, Journal of the European Ceramic Society, 29, 1257-1265, 2009.

- [116] Bainoa F., Marshall M. , Kirk B., Vitale-Brovaronea C., Design, selection and characterization of novel glasses and glass-ceramics for use in prosthetic applications, 2015.

ÖZGEÇMİŞ

Cansu KARAKAYA, 27.06.1993'de Sakarya'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Sakarya'da tamamladı. 2011 yılında Hacı Zehra Akkoç Lisesi'nden mezun oldu. 2012 yılında başladığı Bartın Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nü 2016 yılında bitirdi. 2016 yılında Sakarya Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği'nde yüksek lisans eğitimine başladı.