**T.C.**
**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# KEMİK KIRIKLARININ TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE BİYOSİLİKALI $TiO_2$ KATKILI 45S5 BİYOAKTİF CAMLARIN ÜRETİMİ

**ELİF METE**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**
**BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**
**BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN**
**PROF. DR. SEVİL YÜCEL**

**İSTANBUL, 2016**

**T.C.**

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# KEMİK KIRIKLARININ TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE BİYOSİLİKALI $TiO_2$ KATKILI 45S5 BİYOAKTİF CAMLARIN ÜRETİMİ

Bio. Elif METE tarafından hazırlanan tez çalışması 27.04.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç.Dr. Birgül BENLİ

İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Doç.Dr. Mehmet PİŞKİN

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2016-07-04-YL02, TÜBİTAK 3001 213M647 numaralı projeleri ile desteklenmiştir.

# ÖNSÖZ

Tez çalışmamda, sentetik ve biyolojik kökenli silika kaynakları kullanarak ergitme yöntemiyle elde ettiğim farklı oranlarda titanyum ilaveli 45S5 biyoaktif camların gelişen mekanik özellikleri, biyobozunurluk ve biyoaktivite davranışları incelenmiştir.

Çalışmamı gerçekleştirebilmek adına bana kapılarını açan, başta bilmediğim ancak yürüdükçe öğrendiğim, gitmem gereken yolu sabır ve inançla aydınlatan, koşullar nasıl olursa olsun profesyonel ve kişisel desteğini hep hissettiğim, en önemlisi bilginin emek, sabır ve sevgiyle yüceldiğini öğreten çok değerli hocam Prof.Dr.Sevil Yücel'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda büyük katkısı olan, benimle dostluğunu ve desteğini cömertçe paylaşan sevgili arkadaşım Burcu Karakuzu'ya ve tüm diğer laboratuvar arkadaşlarıma,

Üretim aşamasındaki desteklerinden dolayı değerli Şişecam Bilim ve Teknoloji Merkezi çalışanları Necla Bakmaz ve Ahmet Yılmaz'a teşekkürü borç bilirim.

Hayatım boyunca çok kıymetli paylaşımlarla yanımda olan biricik arkadaşım Manolya Hatipoğlu'na,

Sınırsız fedakarlıklarla beni bugünlere getiren, bana dair inancını hiç kaybetmeden yanımda olan, varlıklarıyla hayatımı anlamlandıran canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nisan, 2016

Elif METE

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

KISALTMA LİSTESİ ..... viii

ŞEKİL LİSTESİ ..... ix

ÇİZELGE LİSTESİ ..... xiii

ÖZET ..... xiv

ABSTRACT ..... xv

BÖLÜM 1

GİRİŞ ..... 1

1.1 Literatür Özeti ..... 1
1.2 Tezin Amacı ..... 2
1.3 Hipotez ..... 2

BÖLÜM 2

KEMİK DOKU VE DOĞAL FRAKTÜR ONARIM SÜRECİ ..... 3

2.1 Organik Matriks ..... 4
2.2 İnorganik Matriks ..... 4
2.3 Kemik Doku Hücreleri ve Alkalen Fosfataz ..... 5
2.4 Fraktür İyileşme Süreci ..... 7

BÖLÜM 3

BİYOSERAMİKLER ..... 10

BÖLÜM 4

BİYOAKTİF CAMLAR VE BİYOMEDİKAL UYGULAMA ALANLARI ..... 12

4.1 Hidroksiapatit Oluşum Aşamaları ve Biyoseramikler ..... 17
4.2 Farklı İyon Katkılarının Rolü ve Titanyum ..... 19
4.3 Biyomedikal Uygulama/Kullanım Alanları. ..... 22

BÖLÜM 5

PİRİNÇ KABUĞU KÜLÜ ..... 23

5.1 Pirinç kabuğu külü ..... 23

BÖLÜM 6

DENEYSEL YÖNTEM ..... 27

6.1 Pirinç Kabuğu Külünden Alkali Ekstraksiyon Yöntemiyle Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi ..... 27
6.2 Sol-gel Yöntemi ile Sodyum Silikat Çözeltisinden Silika Eldesi ..... 28
6.3 Ergitme yöntemi ile 45S5 Biyoaktif Camların Hazırlanması ..... 29
6.4 Üretilen Biyoaktif Camların Karakterizasyonu ..... 31
6.4.1 YVS ve TRIS Çözeltilerinin Hazırlanması ..... 31
6.4.1.1 Biyobozunma Çalışmaları için TRIS Çözeltisinin Hazırlanması ..... 32
6.4.2 Vickers, FTIR, SEM, Sitolojik Ölçümler ..... 33
6.4.2.1 Biyoaktif Camların YVS Öncesi ve Sonrası Vickers Sertlik Değerleri……. ..... 33
6.4.2.2 FTIR Analizleri ..... 33
6.4.2.3 SEM Analizleri ..... 33
6.4.2.4 Sitolojik Çalışmalar ..... 33
6.4.2.4.1 İnkübasyon mediumu hazırlanması ..... 33
6.4.2.4.2 Hücre kültürü, vitalite ve sitotoksisite ..... 34
6.4.2.4.3 Osteoindüktivite belirteci olarak ALP aktivitesi ve Mineralizasyon analizi……34
6.4.2.4.3.1 Alkalin fosfataz (ALP) aktivitesi analizi ..... 34
6.4.2.4.3.2 Mineralizasyon Analizi ..... 34
6.5 Deneysel Veriler ..... 35
6.5.1 Biyoaktif Camların YVS İçerisindeki Ağırlık Değişimleri ..... 35
6.5.2 Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi……37
6.5.3 Biyoaktif Camların TRIS Çözeltisi İçerisinde İnkübasyonu Sonucu Meydana Gelen Ağırlık ve pH Değişimleri ..... 44
6.5.4 Vickers Sertlik Ölçümlerinin Değerlendirilmesi ..... 48
6.5.4.1 Ti Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri ..... 50
6.5.5 FTIR Analizi Sonuçları ..... 53
6.5.5.1 Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri ..... 54
6.5.5.2 Ti Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri ..... 55
6.5.6 SEM Görüntüleri ..... 58
6.5.6.1 Katkısız Biyoaktif Camların SEM Görüntüleri ..... 59
6.5.6.2 Ti Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri ..... 62
6.5.7 Hücre Çalışmaları ..... 69

6.5.7.1 Hücre Kültürü, Hücre Canlılığı ve Sitotoksisite Sonuçları ..... 69
6.5.7.2 Mineralizasyon ve Alkalin Fosfataz Aktivitesi Sonuçları ..... 71

BÖLÜM 6

GENEL SONUÇLAR ..... 74

KAYNAKLAR ..... 77

ÖZGEÇMİŞ ..... 82

## KISALTMA LİSTESİ

| | |
|---|---|
| BSA | Bovine Serum Albumin |
| FBS | Fetal Bovine Serum |
| FTIR | Fourier Transform Infrared Spectroscopy |
| ICP-OES | Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy |
| PBS | Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Salin) |
| RHA | Rice Husk Ash (Pirinç Kabuğu Külü) |
| SEM | Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu) |
| YVS | Yapay Vücut Sıvısı |

# ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Kortikal (Kompakt) ve Trabeküler (Spongiyöz) kemiğin şematik diyagramı.....5

Şekil 2.2 Ana hatlarıyla fraktür onarımı.....7

Şekil 2.3 Zamana bağlı fraktür iyileşme aşamaları.....8

Şekil 4.1 Biyoaktif camların klasifikasyonu.....13

Şekil 4.2 Biyoaktif cam yüzeyinde ECM oluşum tepkimeleri.....18

Şekil 5.1 Pirinç kabuğu külünün SEM görüntüsü.....23

Şekil 6.1 Pirinç kabuğu külü 600$^{o}$C'de 5 saat yakılır. Önce HCl sonra NaOH ile kaynatılıp vakumla süzülerek $Na_2SiO_3$ (sodyum silikat) elde edilir.....27

Şekil 6.2 Yaşlandırılan jeller, santrifüj yardımıyla distile suyla yıkandıktan sonra etüvde nemden uzaklaştırılır ve 2 kez agat havanda toz haline getirilir.....28

Şekil 6.3 Ergitme yöntemiyle biyoaktif cam üretimi.....29

Şekil 6.4 YVS içerisinde 28 gün süreyle inkübe edilen 45S5 Ti katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları.....34

Şekil 6.5 YVS içerisindeki Ti katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonundaki % ağırlık azalmaları.....35

Şekil 6.6 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Si iyon miktarı (ppm).....37

Şekil 6.7 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ca iyon miktarı (ppm).....37

Şekil 6.8 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Na iyon miktarı (ppm).....38

Şekil 6.9 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki P iyon miktarı (ppm)……39

Şekil 6.10 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ti iyon miktarı (ppm)……39

Şekil 6.11 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Si iyon miktarı (ppm)……40

Şekil 6.12 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ca iyon miktarı (ppm)……41

Şekil 6.13 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Na iyon miktarı (ppm)……41

Şekil 6.14 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki P iyon miktarı (ppm)……42

Şekil 6.15 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ti iyon miktarı (ppm)……43

Şekil 6.16 TRIS çözeltisi içerisindeki Ti katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları……44

Şekil 6.17 TRIS çözeltisi içerisindeki Ti katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları……44

Şekil 6.18 Biyosilikalı ve ticari silikalı, katkısız biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri……45

Şekil 6.19 45S5 Ti katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri……46

Şekil 6.20 45S5 Ti katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri……46

Şekil 6.21 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği……48

Şekil 6.22 Biyosilikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……53

Şekil 6.23 Ticari silikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……53

Şekil 6.24 Biyosilikalı %0.5 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……54

Şekil 6.25 Ticari silikalı %0.5 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……54

Şekil 6.26 Biyosilikalı %1 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……55

Şekil 6.27 Ticari silikalı %1 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……55

Şekil 6.28 Biyosilikalı %2 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……56

Şekil 6.29 Ticari silikalı %2 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2.Hafta……56

Şekil 6.30 Biyosilikalı %4 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta……57

Şekil 6.31 YVS öncesi katkısız biyoaktif cam SEM görüntüleri……58

Şekil 6.32 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen katkısız-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……59

Şekil 6.33 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen katkısız-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……60

Şekil 6.34 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……61

Şekil 6.35 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……62

Şekil 6.36 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 1 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……63

Şekil Şekil 6.37 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 1 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……64

Şekil Şekil 6.38 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 2 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……65

Şekil Şekil 6.39 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 2 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……66

Şekil 6.40 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 4 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……67

Şekil 6.41 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 4 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)……68

Şekil 6.42 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi……69

Şekil 6.43 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi……69

Şekil 6.44 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için, 7. 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi……71

Şekil 6.45 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camların mineralizasyon analizi.....71

Şekil 6.46 Tüm biyoaktif camlar için mineralizasyon analizi mikroskobik görüntüleri ……72

# ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 Yapay kemik olarak kullanılan malzemelere örnekler……10

Çizelge 4.1 Çeşitli Biyocam ve cam-seramiklerin kompozisyonu……14

Çizelge 4.2 Biyoaktif seramikler ve insan kemiğinin mekanik özellikleri……15

Çizelge 5.1 Pirinç kabuğu külünün kimyasal bileşimi……23

Çizelge 5.2 Farklı sürelerde yakılan pirinç kabuğu külünün kimyasal bileşimi……24

Çizelge 6.1. Biyoaktif cam üretiminde kullanılan kimyasalların marka ve moleküler ağırlıkları……28

Çizelge 6.2 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan bileşenlerin % ağırlık oranları……29

Çizelge 6.3. Biyosilika ve ticari silika içeren katkısız biyoaktif camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri……48

Çizelge 6.4. Ti katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri……49

Çizelge 6.5 Ti katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri……50

Çizelge 6.6 Ti katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri……51

# ÖZET

## KEMİK KIRIKLARININ TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE BİYOSİLİKALI $TiO_2$ KATKILI 45S5 BİYOAKTİF CAMLARIN ÜRETİMİ

Elif METE

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Kemik kırıklarının onarımında kullanılmak üzere pirinç kabuğu külünden elde edilen silika ve ticari silika kullanılarak farklı oranlarda Ti içeren 45S5 biyoaktif camlar elde edildi. Farklı silika kaynakları ve Ti katkı oranlarının biyoaktif camların mekanik özellikleri üzerindeki etkisi yapay vücut sıvısı içerisinde bekletildikten sonra belirli aralıklarla Vickers sertlik değerleri alınarak incelendi. Mekanik özelliklerinin takibine paralel olarak hidroksiapatit oluşumu, ICP analizleri ve SEM görüntüleri alınarak incelendi, ağırlık ve pH değişimleri izlenerek biyobozunurlukları değerlendirildi. Titanyum katkılı 45S5 biyoaktif camların osteoindüktivitesi ve kemik-benzeri hücrelerin canlılığı; MTT tayini, alkalin fosfataz aktivitesi ve mineralizasyon oranlarıyla tespit edildi. Yapılan çalışmalar ışığında %1 ve %4 Ti içerikli pirinç kabuğu silikalı biyoaktif camların biyobozunurluk ve mekanik dayanım açısından ticari katkılı bioaktif camlara kıyasla daha üstün özellikte olduğu, in vitro koşullarda ALPaz aktivitesi, mineralizasyon çalışmaları ve MTT sonuçlarına göre SAOS-2 osteoblast benzeri hücrelerde %1 Ti katkılı biyoaktif cam kullanımının daha anlamlı olduğu kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Titanyum, biyosilika, 45S5 biyoaktif camlar

## ABSTRACT

# FABRICATION OF BIOSILICATE $TiO_2$-DOPED 45S5 BIOACTIVE GLASSES FOR PURPOSE OF FRACTURE HEALING THERAPY

Elif METE

Department of Bioengineering
MSc. Thesis

Advisor: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Using rice husk ash (RHA) derived silica and commercial silica, two different groups of 45S5 bioactive glasses are obtained with various rate of Ti additives. Effects of various rates of Ti addition and usage of different silica sources on mechanical properties of the bioactive glasses are considered by Vickers hardness assesments, periodically after incubating the glasses in SBF. Parallelly to mechanical property follow-ups, hydroxyapatite formation is observed with ICP analysis and SEM photomicrographs, while assesing biodegradability via changings in pH and weights. Osteoinductivity of Ti-doped 45S5 bioactive glasses and vitality of osteoblast-like cells are studied with MTT method, ALPase activity and mineralization rates. According to the examinations, 1% and 4% Ti-doped RHA-derived silicate 45S5 bioactive glasses are thought to have better mechanical and biogradability properties in comparison with commercial silicate bioactive glasses and under in vitro circumtances in accordance with MTT analysis, ALPase activity and mineralization studies, it can be better to use 1% Ti-doped bioactive glasses on SAOS-2 osteoblast-like cells.

**Keywords:** Titanium, biosilicate, 45S5 bioactive glasses

# BÖLÜM 1

# GİRİŞ

## 1.1 Literatür Özeti

45S5 Biyoaktif camlar ilk olarak LL.Hench tarafından 1960'lı yılların sonuna doğru Vietnam savaşındaki askerlerin uzuv kaybını önlemeye yardımcı olabilmek için geliştirdiği biyomalzemelerdir. Günümüze kadar farklı iyonlar katarak veya içeriğindeki bileşenlerin oranları değiştirilerek farklı amaçlara hizmet eden çeşitli kompozisyonlar elde edilmiştir. Ancak kemik kırıklarının tedavisinde yada kaplama veya dolgu malzemesi olarak kemik defektlerinin onarımı amacıyla üretilen kompozisyonlarında hem yumuşak dokuya hem kemik dokuya bağlanabilir özellikte olması, yüzey reaksiyonları sayesinde kemik yapısına benzer bir yapı elde edilebilmesi için HCA (hidroksikarbonaapatid) oluşumuna izin veren bir yapıda olması hedeflenmiştir.

Bu nedenle çeşitli iyon katkılarıyla mekanik dayanımlarının ve biyoaktivitesinin artırılması üzerinde çalışılmıştır. Tüm bu özellikler sağlanırken, aynı zamanda hücre ve diğer dokular için toksik etki yaratmaması ve basınca, korozyona dayanıklı olmasına özen gösterilmiştir. Önceleri yalnızca protez malzemelerin üzerinde film tabakası halinde kullanılarak protez malzemesinin vücut tarafından kabülünü artırması ve osteoindüktif etkileri için kullanıylıyor iken, bugün diş macunlarında, çene, yüz ve sakroiliak kemikler gibi kemiklerin defektlerinde dolgu malzemesi olarak da yüksek verimle kullanılmaktadır.

## 1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında Diş hekimliği, çene cerrahisi ve ortopedik cerrahide dolgu ve kaplama malzemesi olarak kullanılan 45S5 biyoaktif camların, tarımsal bir atık olan pirinç kabuğu külü silikası kullanarak elde etmek ve böylece günümüz koşullarında büyük önem taşıyan geri dönüşüme katkıda bulunarak ekonomik bir şekilde elde edilmesi amaçlanmıştır. Titanyum ise yüksek biyouyumluluğu ve mekanik özellikleri artırıcı etkisinden dolayı farklı oranlarda eklenerek biyoaktif camlarda oluşturacağı bu pozitif katkının saptanması ve optimum katkı miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 1.3 Hipotez

Tarımsal bir atık olması sebebiyle biyouyumluluğu yüksek, geri dönüşüme katkı ve ekonomik anlamda katkı sağlayan bir malzeme olan pirinç kabuğu külü kullanılarak elde edilen silika ile ticari silika kullanarak biyoaktif camlar elde edilmiştir. İçerisinde kendi safsızlıkları ile biyoaktiviteyi arttırması beklenen biyosilikalı camların ayrıca Ti ilavesi ile mekanik özellikleri de arttırması beklenmektedir. Katkısız ve 4 farklı oranda Ti katkısı ile 45S5 biyoaktif camların mekanik, biyobozunurluk, biyoaktivite ve sitolojik karşılaştırmaları yapılarak Ti katkısının bu özelliklere etkisinin artması beklenmektedir.

# BÖLÜM 2

## KEMİK DOKU VE DOĞAL FRAKTÜR ONARIM SÜRECİ

Kemik dokusu hücreler, organik ve inorganik matriksten oluşmuş ancak yapısındaki kalsiyumdan ötürü sertleşmiş bir destek dokusudur. İskeleti oluşturan kemiklerin çeşitli görevleri vardır. Vücudun geri kalan kısmı için destek sağlamak, kasların farklı duruşlarına izin vererek hareket etmeye yardımcı olmak, iç organları korumak gibi fiziksel görevleri olduğu gibi mineral homeostasisini, asit-baz dengesini sağlamak, sitokinler ile büyüme faktörleri rezervi sağlamak ve ilik boşluklarıyla hematopoez için uygun ortam oluşturmak gibi fizyolojik görevleri de vardır.

Kemiğin kompakt (kortikal) ve spongiyöz (trabeküler) olmak üzere iki ayrı formu vardır. İskelet sisteminin farklı bölgeleri farklı oranlarda kortikal ve trabeküler kemik içeriğine sahiptir. Kompakt kemik sıkı formda, boşluk içermeyen bir dokudur. Spongiyöz kemik dokusu ise gevşek, sünger benzeri veya bol boşluklu tarzda bir görünüme sahiptir. Kan hücrelerinin üretildiği kırmızı ilik ve yağ hücrelerinden meydana gelen sarı kemik iliği bu boşluklarda yer alır.

Kompakt ve spongiyöz kemiğin her ikisi de osteonlardan oluşur. Kompakt kemikteki osteonlara havers kanalları adı verilir. Kemiğin dış tabakası periosteum adı verilen ve osteojenik (kemik oluşturabilme) aktivitesi olan bir bağ dokusuyla çevrilidir. Periosteal yüzey aktivitesi apozisyonel büyümede ve fraktür onarımında büyük önem taşımaktadır.

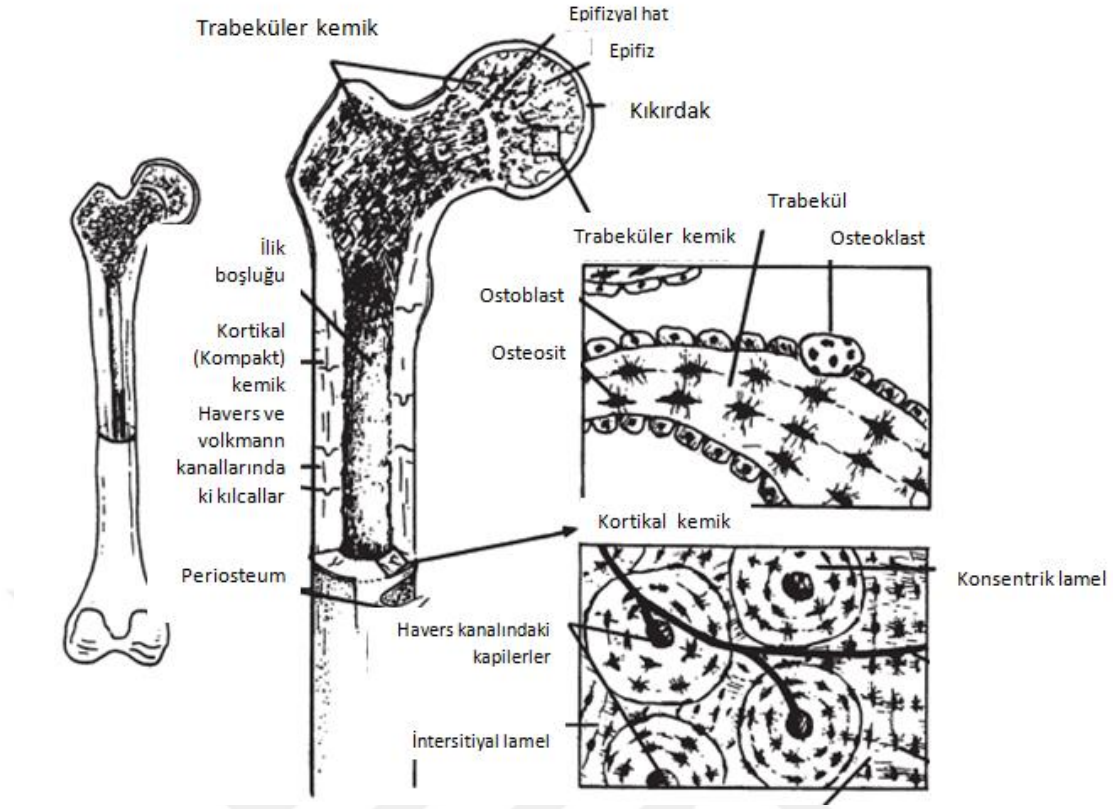
Artmış kortikal yenilenme süreci ise kortikal porozitede artışa kemik yoğunluğunda azalmaya sebep olur. Kemiğin iç kısmı, endosteum adı verilen membran yapı ile kaplıdır. Endosteum, kortikal ve trabeküler kemiğin iç kısmını, ve burada bulunan kan damar kanallarının (Volkman Kanallarının) iç kısmını kaplar. Endosteum kemik iliği boşluğu, kan damarları kanalları, osteoblastlar ve osteoklastlar ile etkileşim halindedir.

## 2.1 Organik Matriks

Organik matriks büyük ölçüde Tip I kollajen liflerden, protein ve glikozaminoglikanlardan oluşmaktadır. Gelişmiş bir kemik dokuda lifler paraleldir ve aralarındaki porlarda bırakacak hidroksiapatit kristalleri yerleşiktir. Kemik doku dekalsifikasyona uğradığında inorganik tuzlar ortadan kalkar ve kemik demineralize olarak yumuşak bir hale gelir. Kemikten organik elemanlarını uzaklaştıracak olursak kemik esnekliğini kaybederek kırılganlaşır.

## 2.2 İnorganik Matriks

İnorganiklerin başında kalsiyum, fosfat, sitrat, magnezyum gibi maddeler gelir. Kalsiyum ve fosfat hidroksiapatit kristalleri şeklinde kemik kollajenleriyle organize olmuşlardır. Hidroksiapatit kristallerinin kemikteki önemi, kollajenlerle beraber kemik sertliğini ve dayanıklılığını sağlamasıdır.




Şekil 2.1 Kortikal (Kompakt) ve Trabeküler (Spongiyöz) kemiğin şematik diyagramı [1]

Spongiyöz kemik, kompakt kemiğe benzer yapıdadır ancak bol boşluklu veya trabeküller oluşan adeta petek gibi bir dokusu vardır.

## 2.3 Kemik Doku Hücreleri ve Alkalen Fosfataz

Kemik dokuyu oluşturan organik ve inorganik bileşenlere ilaveten 4 çeşit hücre bulunur:

i. Osteoprogenitör hücreler
ii. Osteoblast
iii. Osteosit
iv. Osteoklast

Osteoprogenitor hücreleri mitozla olgun kemik hücrelerine farklılaşmaktadırlar. Bu hücreler kemik büyümesinde, zedelenmesi veya kırık tamirinde aktif hale gelerek bölünürler ve osteoblast hücrelerine dönüşürler.

Kemik dokusunda matriksin yapımından sorumlu olan osteoblastlar kuvvetli alkalen fosfataz reaksiyonu verirler. Alkalen fosfataz aynı zamanda kalsifiskasyonda da rol alır. Enzim, fosfatın hidroliziyle lokal inorganik fosfat konsantrasyonunu arttırmakta ve bunun kalsiyum iyonlarıyla birleşmesi sonucu kalsiyum tuzları halinde dokuya çökmesi sağlanmaktadır. Organizmada kemik yapım hızının ölçülmesi istendiğinde de kandaki alkalen fosfataz enzimi seviyesine bakılmaktadır. Kemiğin esas hücreleri osteositlerdir (olgun kemik hücresi), bu hücreler gelişimlerini tamamlamış olduklarından sentez yapamazlar.

Kalsiyumun kemiklerden kana verilmesi ve hameostatik mekanizmayı düzenleme gibi önemli metabolik rolleri vardır. Kemikte yıkımı veya kemik rezorbsiyonunu gerçekleştiren hücreler osteoklastlardır. Fonksiyonlarından dolayı makrofaj türü hücre olarak da kabul edilirler. Osteoklastlar içerdikleri kollagenaz ve diğer proteolitik enzimlerle kemiği rezorbe etmektedirler. Eritici enzimlerle eritilen kemik dokusu uzantılarla hücre içine alınmaktadır.

Kemik, %70-50 mineral, %20-40 organik matriks, %5-10 su, ve <%3 lipidden oluşmaktadir. Kemiğin mineral içeriği ise az miktarda karbonat, magnezyum ve asit fosfat beraberinde çoğunlukla hidroksiapatitten [Ca10(PO4)6(OH)2] oluşmaktadir.

Matriks matürasyonu, alkalin fosfataz ve osteokalsin, osteopontin, ve kemik sialoprotein gibi kollajen olmayan proteinlerin ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu kalsiyum ve fosfat-bağlanma proteinlerinin, oluşan hidroksiapatit kristallerinin miktar ve boyutunu regüle ederek, minerallerin koşullu çökelimindeki regülasyona yardımcı oldukları düşünülmektedir.

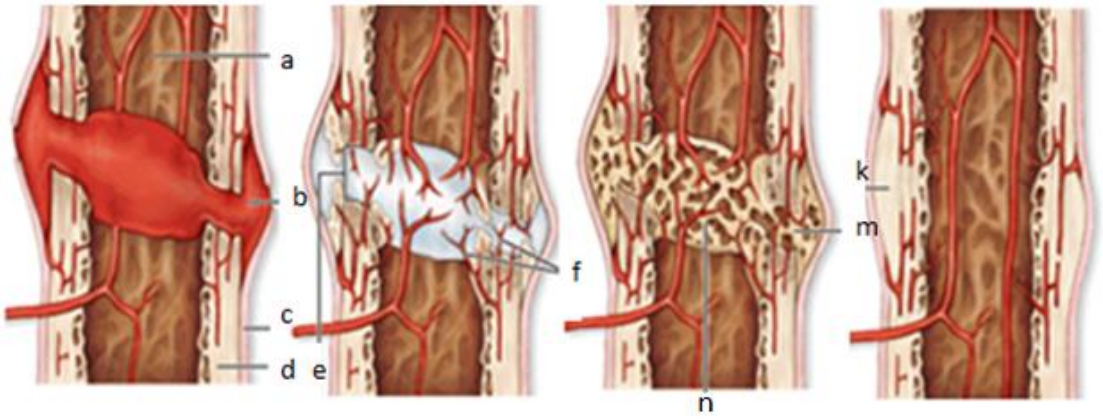
Kemiğin mineral içeriği mekanik stabiliteyi ve yük taşıma dayanımını sağlarken, organik matriks ise elastikiyet ve esneklik sağlar. Kondriyositler ve osteoblastlar tarafından sentezlenen matriks ekstraselüler vezikülleri, kristal oluşumunun presipitasyonunu etkili bir biçimde artırabilen kalsiyum ve fosfat konsantrasyonlarının korunduğu bir mikroçevre olarak iş görürler.

Ekstraselüler sıvı, normal koşullar altında hidroksiapatit açısından aşırı doymuş olmadığından, presipitasyon spontan bir şekilde gelişmeyecektir. Matriks ekstraselüler vezikülleri, hidroksiapatit kristallerinin presipitasyonu için gerekli olan, proteinler, asidik fosfolipid kompleksi, kalsiyum ve inorganik fosfatlardan oluşan kompozisyona sahip çekirdeklenme odakları içerirler.

Fosfprotein kinazlar ve alkalin fofataz, mineralizasyon sürecini regüle eder. Kemik alkalin fosfataz, lokal olarak fosfor konsantrasyonunu artırabilir, hidroksiapatit kristal büyümesinin fosfat-içerikli inhibitörlerini ortadan kaldırabilir, veya fosfoproteinleri modifiye ederek nükleatör gibi davranabilme yetilerini kontrol edebilir.

## 2.4 Fraktür İyileşme Süreci

Kemiğin yeniden modellenme süreci, kemiğin dayanımının arttığı ve mineral homeostasisinin yenilendiği bir süreçtir. Bu süreçte eski kemik osteoklastların yardımıyla yıkıma giderken, yerini sentezlenen matriksin mineralizasyonu ve osteoblastların osteositlere farklılaşmasıyla yeni kemiğe bırakır. Kemiğin yeniden yapılanması insanda doğumdan önce başlayıp ölüme kadar devam eden bir süreçtir ve sağlıklı bir insanda her on yılda bir vücuttaki tüm kemikler tamamen yenilenmiş olur. Bu durum iskelet sisteminin değişen fizyolojik, fiziksel ve ortam koşullarına uyum sağlaması açısından önemlidir. Hasar görmüş kemik dokusu vücutta rejenerasyon yeteneği en gelişmiş dokulardan birisidir. Kemiğin kırılması durumunda, kırık bölgesinde yeni bir kemik dokusu oluşarak bölge tamamen normal hale gelmektedir.



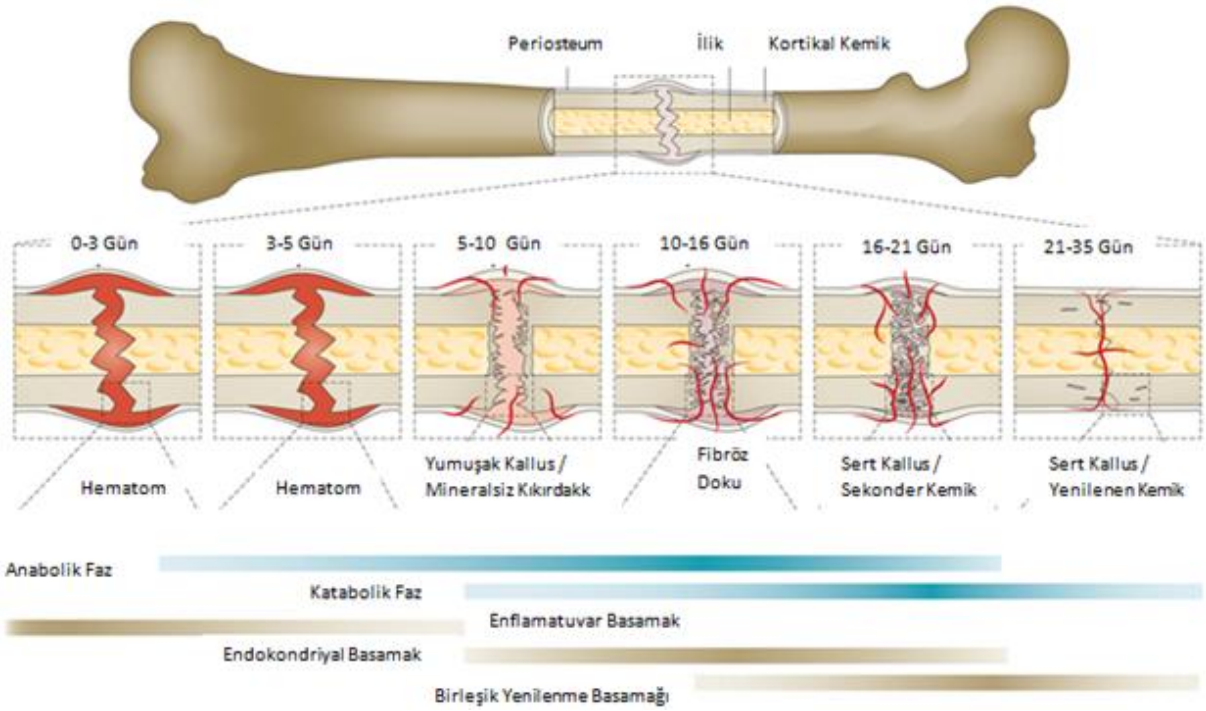

Şekil 2.2 Ana hatlarıyla fraktür onarımı [2]

a.Medular kavite b.Hematom c.Periosteum d.Kompakt kemik e.Fibröz (yumuşak) kallus f.Rejenere kan damarları n.Primer kemik m.Kartilajinöz (sert) Kallus k.Kırılma bölgesindeki kompakt kemik

Ortama gelen nötrofiller ve makrofajlar hasarlı dokuyu ortadan kaldırırlar. Bölgede fibroblastların ve damarların çoğaldığı gözlenir. Bu bölge daha sonra fibröz bir doku yapısı haline gelir ve kırık yeri kıkırdak dokuya dönüşür.

Bu yeni dokuya kemik kallusu denir. Bu arada kırık bölgesindeki periyosteum ve endosteumun osteoblastları çoğalarak kırık bölgesine gelirler ve burada bir hücre katı oluştururlar. Daha sonra enkondral kemikleşmede olduğu gibi primer kemik oluşmaktadır. Bölgede ayrıca intra-membranöz kemikleşme de olur. Onarım sırasında önce primer kemik dokusu gelişmektedir.

Bu doku henüz olgunlaşmamış kemik dokusudur. Doku daha sonra yavaş yavaş ortadan kalkarken yerini sekonder yani esas kemik dokuya bırakır. Böylece onarılmış kemik o bölgede tamamen normal şekline kavuşur ve fonksiyonlarını yerine getirir bir duruma gelir.




Şekil 2.3 Zamana bağlı fraktür iyileşme aşamaları [3]

# BÖLÜM 3

## BİYOSERAMİKLER

Doğal evrim ile hastalıkların yol açtığı kemik bozulmalarının giderilmesi ve çeşitli sebeplerle oluşabilen çatlakların, kırıkların ve kopmaların onarılması amacıyla kullanılmak üzere değişik fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip olan yapay kemik malzemeleri geliştirilmiştir. Genellikle seramik, cam veya cam-seramik olarak üretilen bu tür malzemelerin medikal uygulamadaki yaygın örnekleri Çizelge 3.1'de görülmektedir.

Çizelge 3.1 Yapay kemik olarak kullanılan malzemelere örnekler [4]

| Malzemenin İsmi | Kimyasal Formülü | Biyolojik Aktivite |
|---|---|---|
| Alümina Seramik | $Al_2O_3$ | Pasif |
| TZP-Zirkonya Seramik | $ZrO_2$ | Pasif |
| Hidroksiapatit (HAP) | $Ca_{10}(PO_4)_5(OH)_2$ | Aktif |
| Trikalsiyum Fosfat (TCP) | $Ca_3(PO_4)_2$ | Aktif |

| Biyo-aktif Cam Kemik Örnekleri | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Camın İsmi-Kodu | Kimyasal Bileşimi (% Ağırlık) | | | | |
| | $SiO_2$ | $Na_2O$ | CaO | $P_2O_5$ | $CaF_2$ |
| Bioglass ® 45S5 | 45,0 | 24,5 | 24,5 | 6,0 | - |
| Bioglass ® S53P4 | 51,5 | 22,2 | 19,5 | 6,8 | - |
| Bioglass ® 45S5.4F | 43,2 | 23,7 | 14,2 | 5,8 | 13,2 |

| Biyoaktif Cam-Seramikler | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Malzemenin Ticari İsmi | Kimyasal Bileşimi (% Ağırlık) | | | | |
| 'Cerabone' | $SiO_2$ | MgO | CaO | $P_2O_5$ | $CaF_2$ |
| | 34,0 | 4,6 | 44,7 | 6,2 | 0,5 |
| Kristal Bileşenler | Wollastonit : $CaO.SiO_2$<br>Apatit : $Ca_{10}(PO_4)_6(OF)_2$ | | | | |

| İşlenebilen Cam Seramikler | |
|---|---|
| Oksit Bileşenler | $SiO_2$, $Na_2O$, MgO, CaO, $Al_2O_3$, $P_2O_5$, F, $K_2O$ |
| Diş Seramiği | *Bioverit I*<br>Kristal Yapı: Floro-flogopit Mika<br>$(Na/K)\,Mg_3AlSi_3O_{10}F_2$ |
| Diş Seramiği | *Bioverit II*<br>Kristal Yapı: Tetrasilisik Mika<br>$K_2Mg_5Si_8O_{20}F_4$ |

# BÖLÜM 4

## BİYOAKTİF CAMLAR VE BİYOMEDİKAL UYGULAMA ALANLARI

Geçtiğimiz 30 yıllık bir dönemde çeşitli biyoaktif materyaller geliştirilmiştir. Osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklerinden dolayı cam-seramikler ve biyoaktif camlar medikal uygulamaların ilgi odağı olmuştur [5] [6]. Biyoseramiklerin en önemli alt sınıflarından biri olan biyoaktif camlar diş hekimliğinde dental uygulamalarda dolgu materyali olarak, biyoaktif kaplamalar, BG/polimer kompozitlerinde dolgu malzemesi olarak veya 3 boyutlu porlu yapı iskeleleri olarak rejeneratif tıp alanında uygulamaları vardır.

Biyoaktif materyaller; özel $Na_2O–CaO–MgO–P_2O_5–SiO_2$ kompozisyonundan hazırlanan biyoaktif camlar ve cam-seramikleri içermektedir. Tüm formları kemiğe mekanik olarak güçlü bir şekilde bağlanmaktadır. Detayları Hench ve çalışma arkadaşları belirtmiştir. Kemiğe bağlanma hızı, materyalin kompozisyonuna bağlıdır. Cam kompozisyonların bağlanma hızları, materyalin kompozisyonuna bağlıdır. Cam kompozisyonların bağlanma hızları yüksektir ayrıca yumuşak dokulara da bağlanmaktadırlar. Biyoaktif camların kök hücrelerdeki osteojenik farklılaşmayı indüklediği ve in vitro olarak osteoblast proliferasyonunu ve mineralizasyonunu desteklediği gösterilmiştir [7].

Biyoaktif camların kemik doku mühendisliğinde çalışılmasına imkan veren önemli özelliklerinden biri neovaskülarizasyonu, osteoblast adezyonunu, enzim aktivitesini desteklemekle beraber, osteoprogenitör hücrelerin ve mezenkimal kök hücrelerin de farklılaşmasına yardımcı olmasıdır [8]. Biyoaktif camlar, kemiğe mükemmel bir şekilde

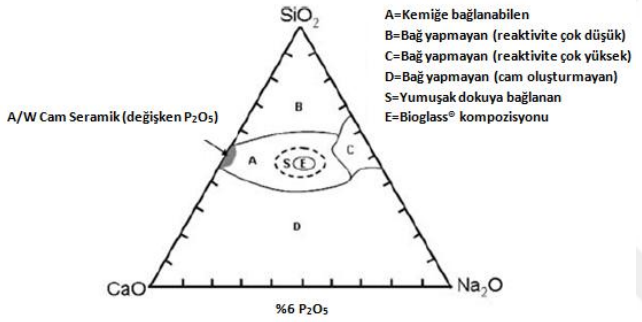
bağlanmasından dolayı günümüzde popüler bir malzeme olan hidroksi-apatite alternatif bir kaplama malzemesi olarak tercih edilmektedir. Biyoaktif camlar ilk defa '45S5 Bioglass patentli' olarak Hench tarafından elde edilmiştir. Profesör Hench, US ordusundan bir albay ile bir otobüs yolculuğundaki konuşmasından sonra, kemiğe bağlanabilen bir materyal bulmak için çalışmalara başladı. Vietnam savaşından henüz dönmüş olan albay, çevreden bir saldırı halinde insan vücudunu kurtarabilecek materyaller geliştirilebilir mi şeklinde profesöre bir soru sormuştur. O zamanlarda mevcut tüm materyallerdeki problem; biyoinert olarak dizayn edilen metaller ve polimerler, doku ile ara yüzey oluşumu ya da başamasından ziyade, implantasyondan sonra fibröz enkapsülasyonu tetiklemekteydi. Profesör Hench; kalsiyum içerikli, $Na_2O$-CaO-$SiO_2$ diyagramında ötektik üçlü kompozisyonu ile $Na_2O$-CaO-$SiO_2$-$P_2O_5$ sistemi ile bozunabilir cam üretmeye karar vermiştir. 45S5 biyoaktif camlar günümüze kadar bir milyondan fazla hastada, çene ve ortopedik uygulamalarda hasarlı kemik tamirinde kullanılmıştır.

Biyoaktif materyaller; ortopedik ya da dental sistemlerde kaplamada, kemik ve diş değişimi için implant olarak, kemik bozukluklarını çeşitli yollar ile gidermekte kemik greftleri olarak kullanılmaktadır. Biyoaktif cam partikülü, kemik bozukluğunu gidermede kullanıldığı zaman kemik rejenerasyonu hızı ve miktarı, materyalin kompozisyonuna bağlıdır. 45S5 gibi biyocam kompozisyonu, yerleştiği alanda doku ile eşleşerek trabeküler kemiğin miktarı, yapısı, biyomekanik kalitesi ile oluşum hızında yüksek biyoaktivite göstermektedir.

Genel olarak bioaktif camların yapısında temel olarak $SiO_2$ bulunur diğer metal iyonları da farklı oranlarda cama ilave edilerek biyoaktivite, biyobozunurluk özelliklerinde bazı iyileştirmeler yapılabilir. P2O5 bileşeni sabit tutularak bu değişiklikler oluşturulur.45S5 biyoaktif camların içerisinde %45 $SiO_2$ (S=ağ oluşturucu), %24,5 CaO, %24,5 $P_2O_5$ ve 5:1 oranında CaO - $P_2O_5$ bulunmaktadır[9].

45S5'in bileşiminde camların biyoaktivitesinden sorumlu en önemli anahtar düşük $SiO_2$ içeriği (kimyasal olarak daha stabil silikalı camlarla kıyaslandığında), yüksek $Na_2O$ ve CaO içeriği (cam ağ modifiye ediciler) ve yüksek $CaO/P_2O_5$ oranıdır. Şekilde

görüldüğü gibi $CaO/P_2O_5$ 5:1 oranından daha düşük orana sahip olanlar kemikle bağ kuramamaktadırlar [10]. Silika oranının %60'ın altında olmasının ayrıca üretilen biyoaktif camın yüksek daha reaktif bir yüzeye sahip olmasını sağlar. Kemiğe bağlanma eş zamanlı olarak yüzeyde kalsiyum fosfat ve $SiO_2$-zengin film tabakası oluşumuyla ilintilidir. Eğer $SiO_2$-zengin tabaka önce, kalsiyum fosfat tabakası (46 ila 55 mol %SiO2 içeren örnekler) sonra gelişir veya fosfat film tabaka hiç gelişmezse (60 mol % SiO2) kemik ile direkt bağ kurulamaz [11]. Ağırlıkça %45 silisyumdioksit içeren 45S5 biyoaktif camların in vitro koşullar altında insan osteoblastlarının proliferasyonunu ve osteojenik farklılaşmasını indükleyerek osteojenezi stimüle ettiği yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur [12].




Şekil 4.1 Biyoaktif camların klasifikasyonu

S bölgesi biyoaktif camların yumuşak ve sert dokunun her ikisine de bağlanabildiği ve gen aktivasyonu yapabildiği A Sınıfı Biyoaktif camların bölgesidir [13]. Bazı biyocamlara ait formülasyonlar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Çeşitli Biyocam ve cam-seramiklerin kompozisyonu [14]

| **Cam** | **$SiO_2$** | **$P_2O_5$** | **CaO** | **$CaF_2$** | **$Na_2O$** | **Diğerleri** | **Özellikler** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Biyocam 42S5.6 | 42.1 | 2,6 | 29,00 | | 26,30 | | Mol% |
| Biyocam 46S5.2 | 46.1 | 2,6 | 29,60 | | 24,40 | | Mol% Dokuya en iyi bağlanan biyocam formülleri |
| Biyocam 46S4.9 | 49,1 | 2,6 | 25,30 | | 23,80 | | Mol% |
| Biyocam 52S4.6 | 52.1 | 2,6 | 23,80 | | 21,50 | | Mol% |
| Biyocam 55S4.3 | 55.1 | 2, 6 | 22,20 | | 20,10 | | Mol% |
| Biyocam 60S3.8 | 60.1 | 2,6 | 19,60 | | 17,70 | | Mol%, fosfat film oluşturmaz |
| Biyocam 45S5 | 45 | 6 | 24,50 | | 24,50 | | Orijinal Biyocam formülasyonu; kemik ve yumuşak dokuya bağlanır. |
| Biyocam 45S5F | 45 | 6 | 12,25 | 12,25 | 24,50 | | |
| Biyocam 45S5.4F | 45 | 6 | 14,70 | 9,80 | 24,50 | | |
| Biyocam 40S5.B5 | 40 | 6 | 24,50 | | 24,50 | 5 $B_2O_3$ | |
| Biyocam 52S4.6 | 56 | 2 | 21,00 | | 21,00 | | |
| Biyocam 52S4.3 | 55 | 6 | 19,50 | | 19,50 | | |
| Biyocam 8625 | ? | ? | ? | | ? | $Fe_2O_3$ | Oldukça biyouyumlu, dokularla bağ yapmaz, fibröz enkapsülasyon, infrared radyasyonu abzorbe eder, lazerle mühürlenebilir, RFID etiketleme, enkapsülasyonu için kullanılır. |

Kompozisyonundan ve uygulamasından bağımsız olarak, vücut tamirinde kullanılan malzemeler hem biyofonksiyonellik hem biyouyumluluk ihtiyacını karşılamalıdır. Biyofonksiyonellik, implantın dizayn amacına uygun performansı gösterebilmesini ifade eder. Bu noktada gereklilikler; (i)çekme dayanımı, kırılma tokluğu, fraktür uzaması, yorulma dayanımı, Young's modülü gibi mekanik özellikler; (ii)ortopedik implantlarda yoğunluk veya kemik dolgusunda termal genleşme gibi fiziksel özellikler; (iii) bozunma direnci, oksidasyon, korozyon veya kemiğe bağlanabilme gibi yüzey kimyası özellikleridir. Biyouyumluluk ise spesifik bir uygulamada malzemenin uygun bir konakçı cevabı oluşturabilme özelliği olarak tanımlanır [15].

Biyoaktif seramikler klinik uygulamalarda kullanıldıkça, mekanik özelliklerinin limitasyonlarının tespiti artıyor. Tabloda gösterildiği gibi diğer biyoaktif seramiklerden, insan sıkı ve süngerimsi kemiğinden daha yüksek mekanik özelliklere sahip olan A-W cam-seramikler dahi femoral veya tibial kemikler gibi yüksek-basınca maruz kalan kemik kırıklarının tedavisinde kullanılamazlar, zira kırılma dayanımı düşük ve elastik modülü sıkı kemikten yüksektir. Dolayısıyla, kemik-benzeri mekanik özelliklere sahip ve geliştirilmiş biyoaktif malzemelerin üzerinde çalışılmasına ihtiyaç vardır [16].

Çizelge 4.2 Biyoaktif seramikler ve insan kemiğinin mekanik özellikleri [16]

| | Bası Dayanımı (MPa) | Bükülme Dayanımı (MPa) | Young's Modülü (GPa) | Çekme Dayanımı Kıc ($Mpam^{1/2}$) |
|---|---|---|---|---|
| Biyocam® (45S5) | - | 42 | 35 | - |
| Hidroksiapatit | 500-100 | 115-200 | 80-110 | 1.0 |
| Cam-seramik A-W | 1080 | 220 | 118 | 2.0 |
| Trabeküler Kemik | 2-12 | - | 0.05-0.5 | - |
| Kortikal Kemik | 100-230 | 50-150 | 7-30 | 2-12 |

Biyoaktif camlar mekanik özellikleri zayıf olduğundan yüklenme bölgelerinde kullanılamazlar ancak iliak kanatta boşluk doldurucu (spacer) olarak, vertebra protezi, omuzla ilgili ameliyatlarda shelf (raf) olarak klinik kullanıma sunulmuştur [17].

### 4.1 Hidroksiapatit Oluşum Aşamaları ve Biyoseramikler

Biyoaktivite ve kemiğe bağlanma mekanizmaları açısından 45S5 camlar oldukça iyi performans göstermiştir. Bu çalışmalarda, 45S5 camın kemiğe bağlanması camın yüzeyinde Hidroksi karbona apatit-benzeri (HCA) tabakası oluşturmasıyla ilişkilendirilmektedir. Biyoaktif malzeme, vücuda implante edildiğinde spesifik birtakım yüzey reaksiyonlarına giderek yumuşak ve sert dokularla sıkı bir bağ kurmak üzere Hidroksiapatit benzeri bir tabakanın oluşumuna yol açan bir malzeme olarak tanımlanmaktadır. Bir materyalin yapay vücut sıvısı içine bırakıldığında HA-benzeri bir yüzey tabakası oluşturabilmesi o materyalin in vitro koşullarda biyoaktivitesinin göstergesi olarak kabul edilir. HCA tabakası kemiğin mineral bileşimiyle büyük benzerlik gösterdiğinden, HCA oluşumu biyoaktif camın canlı kemik dokuyla sıkı bir bağ yapmasını sağlar. Bazı kimyasal ve biçimsel değişiklikler henüz netlik kazanmamış olsa da Hench'in tarifine göre biyoaktif cam yüzeyinde HCA tabakasının aşağıda verilen bir dizi reaksiyon sonucu oluştuğu sonucuna varılmıştır [18] ;

1. Aşama

Cam ağ düzenleyiciler (Na+ ve Ca+) ile solusyondaki H+ veya H3O+ iyonlarının hızlı alışverişi silika gruplarının hidrolizine ve cam yüzeyinde silanol (Si-OH) gruplarının oluşumuna neden olur.

Ör:

$Si - O - Na^+ + H^+ \longrightarrow Si - OH+ + Na^+ (aq)$

$H^+$ iyonlarının tüketimiyle solüsyonun pH'ı yükselir.

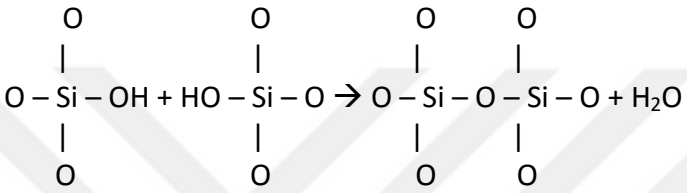
2. Aşama

pH'ın (veya OH- konsantrasyonunun) artmasıyla silika, silisik asit (Si(OH)4) formunda solüsyon içinde çözünmeye başlar ve camın yüzeyinde Si-OH grupları oluşur.

Si-O-Si + H2O -> Si-OH + OH-Si

3. Aşama

Komşu Si-OH gruplarının kondensasyonu ve polimerizasyonu ile yüzeyde 1-2 µm kalınlığında bir silika jel tabakası meydana gelir ;



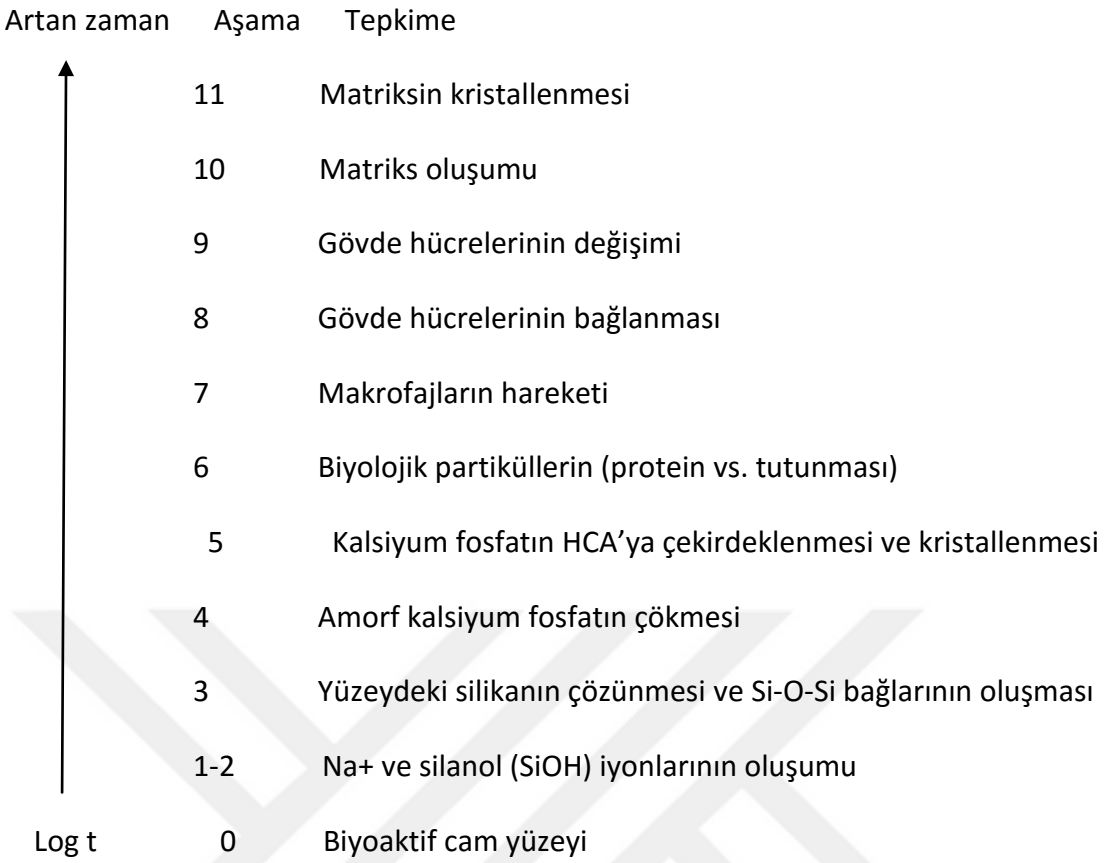
4. Aşama

Camın daha fazla çözülmesiyle camdaki silikaca zengin tabaka ve solüsyondaki Ca2+ (PO4)3- iyonlarının eşleşmesiyle, yüzeyde amorf kalsiyum fosfat (ACP) tabakası oluşur.

5. Aşama

Cam çözünmeye devam ederken solüsyondaki (OH)- ve (CO3)2- ile ACP tabakası birleşerek HCA tabakası olarak kristalize olur.

HCA tabakası oluşurken, büyüme faktörlerinin tutunmasıyla osteoprogenitör hücreler çoğalıp osteoblastlara farklılaşarak ekstraselüler matriksi oluştururlar. Tepkime aşamalarının zamana bağlı gösterimi şekildeki gibidir;




Şekil 4.2 Biyoaktif cam yüzeyinde ECM oluşum tepkimeleri [19]

## 4.2 Farklı İyon Katkılarının Rolü ve Titanyum

Biyoaktif camlara geçiş elementlerinin katkısı camların belirli özelliklerini geliştirmek amacıyla günümüzde sıklıkla çalışılan bir konudur. Örneğin: gümüş, biyoaktif cama antibakteriyel özellik kazandırmak amacıyla, lityum ilavesi hücre proliferasyonunu ve metabolik aktiviteyi artırmak için, bakır katkısı kemik rejenerasyonunda anjiyogenezi tetiklemek için çalışılırken kobalt, anjiyogenezi artırmak için ve kontrollü iyon salınımı amacıyla çalışılmıştır. Çinko katkısının, osteoblast proliferasyonunu artırdığı düşünüldüğü için, stronsiyum ise osteoporoz ile mücadelede faydalı olacağı inancıyla çalışılmıştır [20].

Titanyum, yapısında oksit tabakası içerdiğinden sulu ortamda implante edildiğinde kendi yüzeyinde hidroksil grupları (Ti–OH) oluşturur [21]. Ti–OH yapısı negatif yükü indükleyerek, yapay vücut sıvısı içerisindeki P ve Ca iyonlarının yüzey presipitasyonuna neden olur ve böylece kemik benzeri bir apatit yüzey tabakası oluşur [22],[23],[24].

Hench'in geliştirdiği Bioglass ($SiO_2$–$CaO$–$Na_2O$–$P_2O_5$), kemiğe direkt olarak bağlanabilen bir cam olarak bilinir [25].

Titanyumun oluşturduğu oksitlerden $TiO_2$, en sık oluşan ve termodinamik olarak en stabil olanıdır. $TiO_2$ dört farklı kristal yapısına sahiptir; amorf, rutil, anataz ve brukit. Rutil tip kristalin yapı bu oksitlerden en stabil olanıdır. $TiO_2$ kimyasal ataklara çok dayanaklıdır ve bu titanyumu korozyona dirençli metallerden biri yapmaktadır. Titanyumun yüzeyinde oluşan bu pasifize edici oksit tabakanın korozyona karşı direnci sağlamanın yanında fizyolojik sıvılar ve proteinler gibi implantasyon sırasında yüzeyle temasa geçen maddelerle de kimyasal reaksiyona girdiği düşünülmektedir [26].

$TiO_2$ kemik-implant aralığında biyolojik mekanizmaları etkileyen birtakım organik ve inorganik kimyasal reaksiyonda katalitik olarak aktif olduğu savunulmaktadır. Maurer vd., vanadyum ve titanyum tuzlarının hücre tarafından alınmasını inceledikleri çalışmada, titanyumun hücrelerde toksik etki oluşturmadığını, buna karşın vanadyumun 10 µg/ml "den fazla olduğu değerlerde toksit etki gösterdiğini bildirmişlerdir [27].

Biyoaktif camlara titanyum ilavesinin biyoaktiviteyi artırabileceğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır [28],[29],[30],[31],[32]. Miyata vd., sol-gel yöntemiyle elde edilen CaO-SiO2 hibritlerine titanyumdioksit ilavesinin HA oluşumunda artışa sebep olduğunu göstermiştir [29]. Wren vd. ise sinterlenmiş ergitilip tavlanarak elde edilmiş gözenekli yapıya sahip CaO–NaO–SiO2 biyoaktif cama özellikle yüksek oranda titanyum konsantrasyonuna sahip yapı iskelelerine titanyumdioksit ilavesinin hücre proliferasyonunu artırdığını bildirmiştir [30]. Aynı zamanda Ti, biyouyumluluğu artırmak ve çözünürlüğü kontrol etmek amacıyla fosfat camlara da rutin olarak ilave edilmektedir [33],[34]. Hücre kültürü çalışmaları titanyum fosfat mikroküre lerinin hücre adezyonu, büyümesi ve proliferasyonu için stabil bir yüzey sağladığını göstermiştir [35]. Ayrıca, Wakamura vd., hidroksiapatit yapısında titanyumun antibakteriyel özellik gösterdiğini ifade etmektedir [36].

Başka bir çalışmada, sıçanlara serum fizyolojik içerisinde $TiO_2$ intraperitonal olarak enjekte edilmiş ve karaciğer, dalak, akciğer gibi organlar histolojik olarak

değerlendirilmiştir. Organların parenkiminde titanyuma bağlı bir doku hasarı tespit edilmemiştir [37].

Ayrıca, titanyumun allerjik reaksiyon meydana getirme potansiyelinin düşük olması diğer metallere göre üstünlüğünü ortaya koymaktadır. Literatürde titanyum allerjisi bildirilmesine rağmen, bu oranın nikel ve krom gibi metal allerjilerine göre görülme sıklığı daha azdır [38].

Titanyum, oluşan Ti-OH grupları sebebiyle cam yüzeyindeki suyu adsorplamaya meyilli olmakta ve bu Ti-OH grupları YVS‟de hidroksiapatit çekirdeklenmesini ve kristalizasyonunu tetiklemektedir. Bu sayede matriks yapısının oluşumu da desteklenmektedir. Seramik matriksli biyokompozitler $Al_2O_3$, $ZrO_2$ vb. maddeler ile güçlendirilmektedir. Spesifik uygulamalarda olabilecek en iyi materyallerin seçimi ve tasarımı, yüksek performanslı bileşenlerin fizibilitesinde önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple şimdiye kadar bilinen materyaller ve uygulamaları bu alanda özelleşme adına geliştirilmektedir.

Yüksek titanyum içeriğine sahip olan biyoaktif camın insan kortikal kemiği ile karşılaştırılabilir uygun mukavemet değerleri görülmektedir. Böylece biyoaktif cam titanyum eklenmesiyle güçlendirilmiştir. YVS'deki kalsiyum iyon ölçümü yapılmış ve en az titanyuma sahip camın doku sıvısında durdukça camın yüzeyinin daha çok kalsiyumu adsorbe etmeye başladığı görülmüş, titanyum içeriği en fazla olan camın yüzeyinde de fosfat birikimi daha fazla görülmüştür. Bu da apatit tabakasının çekirdeklenmesine yol açmıştır. Titanyum içeriği fazla olan biyoaktif camda Ti-OH sayısı Si-OH bağ sayısından fazla iken, az olanda SiOH sayısı fazladır.

Yüksek oranda Ti-OH veya Si-OH gruplarının bulunması, cam yüzeyindeki fosfat iyonlarının etkileşimini sağlamaktadır. Sonuçlara göre cam yüzeyinde biriken kalsiyum iyonlarının düşük oranda olması ise fosfat iyonlarının yüksek oranda olmasına sebep olmaktadır. Yani cam yüzeyinden kalsiyum iyon salınımı, yine aynı yüzeyde fosfat iyonlarının birikimini sağlar. Si-OH ve Ti-OH gruplarının cam yüzeyinde bulunması sebebi, apatit tabakasının oluşumundan dolayıdır.

YVS'de cam yüzeyinden Ca ve Na iyonları salınır vücut sıvısındaki H3O+ iyonlarıyla yer değiştirirler. Bunun sonucu olarak Si-OH ve Ti-OH grupları oluşur. Si-O ve Ti-O-Ti grupları ile suyun etkileşimi sonucu Si-OH ve Ti-OH grupları oluşur. Bunlar apatit çekirdeklenmesini indükler (Ca ve Na iyonları salınımıyla apatit oluşumu hızlanır) .

YVS'de HA oluŞumundan sonra kalsiyum fosfat tüketimi ile tabaka büyümektedir. SEM sonuçlarında bu yapıya kıyasla daha fazla titanyum bulunduran camda kemik benzeri hidroksiapatit yapısının başka bir formu -küresel şekilli bir araya toplanmış formu- görülmüştür. Daha fazla titanyum içeren camda titanyum Si-OH gruplarının yokluğunda Ti-OH gruplarının artışına izin verdiği için; apatit yüksek çekirdeklenmeye sebep olmaktadır.

Sonuç olarak $TiO_2$ (anataz) kristalinin YVS'de HA oluşumunda rol oynadığı rapor edilmiştir. Bu çalıŞmada özellikle fazla yük kaldıran (load-bearing) bölgelerdeki kemikler için biyoaktif cam üretimi esas alınmıştır [39]

### 4.3 Biyomedikal Uygulama/Kullanım Alanları

45S5 bazlı ürünlerin başlıca kullanım alanlarından birisi de ortopedik tedavilerdir. Travmalarla ortaya çıkan kemik defektlerinde, uzun kemik fraktürlerinin (akut ve/veya komünitif) tek başına ve internal fiksasyonunda, tek parça olmayan femoral veya tibial plateau fraktürlerinin onarımında faydalanılır. Artroplastik anlamda implant kaplamaları (asetabular rekonstrüksiyonda) ve vuru yaralanmalarında örtü olarak kullanılırken, omurilik yaralanmalarında posterolateral füzyona destek amaçlı veya genel olarak kist/tümör eksizyonunun akabinde kemik dolgusu olarak da kullanılabilirler. Ayrıca diş, çene ve yüzdeki kemiklerin kırıklarında farklı formlarda kullanılabilmektedirler. Bu kullanıma bazı örnekler şöyledir:

- ✓ Diş kaplama ve dolgu malzemeleri
- ✓ Sinüsler için destek dolgu malzemeleri
- ✓ Orta kulak kemiklerinin yerine
- ✓ Hassas dişeti tedavilerinde ve diş macunlarında 45S5 bazlı ürünler kullanılmaktadır [40].

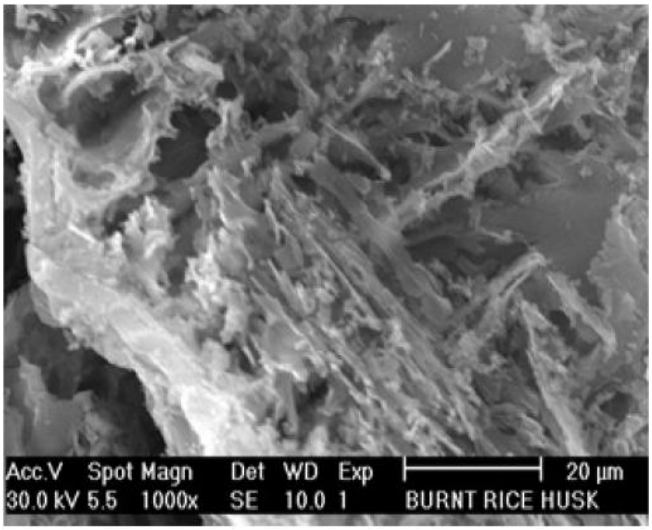
# BÖLÜM 5

# PİRİNÇ KABUĞU KÜLÜ

## 5.1 Pirinç kabuğu külü

Ham pirincin beyaz pirince işlenmesi sonucunda elde edilen pirinç kabuğu ; % 40 selüloz, % 30 lignin grubu ve % 20 oranında hidrat amorf silis içermektedir. Pirinç kabuğu külü kabuğun yakılması sonucu elde edilir. Pirinç kabuğu külünde, %80-95 oranında silis bulunmaktadır [41]. Pirinç kabuğu külünün içerdiği silis ve diğer safsızlıklar çeşitliliğe, iklime ve coğrafi konuma göre değişmektedir [42]. ELALMIŞ' ın kullandığı fabrikadan ön yakma işlemi sonucu elde edilen pirinç kabuğu külünün kimyasal özellikleri Çizelge 5.1'de görülmektedir [41]. Pirinç kabuğu külünde çok küçük oranda bulunan diğer safsızlıkların oranı asit giderme ile azaltılabilir [43]. Pirinç kabuğu külünün yapısında bulunan silis amorf halde olduğu için düşük sıcaklıklarda ve düşük enerji metoduyla ekstrakte edilebilir ([44], [45], [46],[47], [48].

Pirinç kabuğu külünün gözenekli bir yapısı vardır. Pirinç kabuğu külünün, mikrogözenekli ve çok katmanlı yapısı Şekil 2.5' de görülmektedir.




Şekil 5.1 Pirinç kabuğu külünün SEM görüntüsü [49]

Çizelge 5.1 Pirinç kabuğu külünün kimyasal bileşimi [41]

| **Pirinç kabuğu külünün kimyasal bileşimi (%)** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **$SiO_2$** | **$Al_2O_3$** | **$Fe_2O_3$** | **CaO** | **MgO** | **ZnO** | **$K_2O_3$** | **$TiO_2$** | **MnO** | **$P_2O_5$** |
| 93,4 | 1,40 | 0,17 | 0,58 | 0,53 | 0,01 | 3,47 | 0,02 | 0,16 | 0,26 |

Pirinç kabuğu külünün farklı sıcaklıklarda ve sürelerde yanma proseslerine bağlı olarak külün içeriği değişmektedir. Çizelge 5.2 ’de farklı sürelerde yakılan pirinç kabuğu külü içerikleri verilmiştir.

Çizelge 5.2 Farklı sürelerde yakılan pirinç kabuğu külünün kimyasal bileşimi [44]

| **% Bileşim** | **700°C-3 saat** | **700°C-6 saat** |
|---|---|---|
| $SiO_2$ | 97,86 | 98,14 |
| $Al_2O_3$ | - | - |
| $Fe_2O_3$ | 0,07 | 0,07 |
| CaO | 0,52 | 0,46 |
| ZrO | 0,01 | 0,03 |
| MgO | 0,29 | - |
| $P_2O_3$ | - | - |
| $Mn_2O_3$ | 0,16 | 0,16 |
| $SO_3$ | 0,07 | 0,07 |
| KK | 0,01 | 0,02 |

Pirinç kabuğu külündeki silikanın yapısı yanma sıcaklığı, yanma süresi gibi parametrelere önemli ölçüde bağlıdır [50]. Pirinç kabuğunun yapısında bulunan amorf silika, yüksek sıcaklıklarda kristobaliteolan kristal forma geçer [51].

Sıcaklığın ayrıca partikül dağılımında, yüzey alanın ve silis yapısının değişmesinde de önemli bir faktör olduğu bildirilmiştir [50].

Pirinç kabuğu külü, çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Örneğin puzolan madde olarak çimento ve kireçle karıştırılarak beton üretiminde kullanılabilmektedir [52],[53]. Son yıllarda nanosilika katkılı çimentolar üretilmekte ve bunların mikro boyutlu katkılara göre daha iyi mekanik özellik sergilediği sonucuna varılmıştır [44]. Filtrasyon malzemesi olarak atık arıtmada ve adsorban, polipropilen kompozitlerde dolgu, poliamid için dolgu, pestisid taşıyıcı, insektisid ve biyogübre olarak ve özel boyalarda kullanılmaktadır [54]. Bu kullanımlarının haricinde yüksek silis içeriğinden dolayı pirinç kabuğu külü silika bazlı maddelerin üretiminde kullanılır [44], [55],[56],[57].

Oksijenden sonra yeryüzündeki en çok bulunan element olan silisyum en çok bulunan biçimi kum ve kuartzdır. Kumun saflık derecesi çok düşük olduğundan, kullanılmaya uygun değildir. Bu yüzden günümüzde endüstride silika kaynağı olarak kuartz kumu (silis kumu) kullanılmaktadır. Silikanın kuartz formu oldukça kararlı yapıda olduğundan silika üretilirken, sodyum karbonat kullanılarak kuartzın 1300–1400°C' de üretilmesi gerekmektedir [55]. Dolayısıyla mineral, kum ve inorganik kaynaklardan ergitme prosesi ile silika üretimi yüksek enerji gerektiren bir proseslerdir. Pirinç kabuğu külünden silakanın üretilmesi, yüksek enerji gerektiren proseslere göre daha ekonomik bir alternatif olacaktır.

# BÖLÜM 6

# DENEYSEL YÖNTEM

## 6.1 Pirinç Kabuğu Külünden Alkali Ekstraksiyon Yöntemiyle Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi

Fabrikadan temin edilen (Yetiş Gıda Ltd.) pirinç kabuğu küllerine tekrar bir yakma işlemi uygulanmıştır. Bu yakma işleminin amacı külün içerisinde bulunan çeşitli organik safsızlıkları uzaklaştırmak ve silika içeriğini artırmaktır .Bu amaçla porselen kroze içerisine alınan küller kroze içerisinde bir saat boyunca 600$^{o}$C'de yüksek sıcaklık fırınında yakılmıştır. Yakma işleminden sonra HCl kullanılarak ikinci bir saflaştırma işlemi küle uygulanmıştır. Bu amaçla sırasıyla aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır;

1. Porselen kroze içinde 5 saat süreyle 600$^{o}$C'de yakılan pirinç kabuğu külünden 40 g tartılarak balon jojeye alınır.
2. Üzerine 240 ml distile su ilave edilir.
3. 750 rpm'de karıştırılırken 6M HCl ile pH değeri 1 olacak şekilde ayarlanır ve geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıyla 2 saat kaynatılır.
4. Filtre kağıdı yardımıyla pH değeri nötr olana kadar distile su ile yıkanarak vakum altında süzülür.
5. Süzüntü atılır ve yıkanmış olan kül ortam şartlarında kurumaya bırakılır .

Bu işlemlerden sonra elde edilen pirinç kabuğu külüne alkali ekstraksiyon yöntemi uygulanarak külden silika ekstraksiyonu gerçekleştirilir. Bu amaçla kurumuş küle 240 ml 1M NaOH eklenerek 1 saat süreyle 750 rpm'de karıştırılarak kaynatılır. Kaynatma sonrası karışım filtre kağıdı yardımıyla 400 ml distile su ile yıkanarak süzülür. Na2SiO3 (Sodyum silikat) çözeltisi elde edilir (bknz.Şekil6.1). Kullanıma kadar plastik bir şişede ortam koşullarında muhafaza edilir.



Şekil 6.1 Pirinç kabuğu külü 600$^{o}$C'de 5 saat yakılır. Önce HCl sonra NaOH ile kaynatılıp vakumla süzülerek $Na_2SiO_3$ (sodyum silikat) elde edilir.

## 6.2 Sol-gel Yöntemi ile Sodyum Silikat Çözeltisinden Silika Eldesi

Sodyum silikat çözeltisinden sol-gel yöntemiyle silika eldesi için aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır:

1. Elde edilen Na2SiO3 çözeltisi manyetik karıştırıcıda karıştırılırken pH değeri 7 olana kadar 6 M ve 1 M HCl ilavesi ile jelleşme sağlanır. Jellerdeki silika ağının güçlenmesi için 18 saat süreyle oda sıcaklığında yaşlandırılmaya bırakılır.

3. Sodyum silikat çözeltisinden gelen sodyum ile jelleşme gerçekleştirilirken kullanılan HCl'den gelen klor birleşerek sodyum klorür oluşturur, oluşan bu tuzu jelden uzaklaştırmak için jeller 3 kez 5'er dakika 4800 rpm'de santrifüjlenerek distile suyla yıkanır.

4. Yıkanan jeller 80$^{o}$C'de 18 saat kurumaya bırakılır. Daha sonra 2 kez agat havanda toz haline getirilir.Böylelikle pirinç kabuğu külünden silika elde edilir (bknz.Şekil6.2).



Şekil 6.2 Yaşlandırılan jeller, santrifüj yardımıyla distile suyla yıkandıktan sonra etüvde nemden uzaklaştırılır ve 2 kez agat havanda toz haline getirilir.

### 6.3 Ergitme yöntemi ile 45S5 Biyoaktif Camların Hazırlanması

Bu çalışmada pirinç kabuğu külü silikası ve ticari silika kullanılarak 45S5 biyoaktif camlar aynı üretim prosedürü ile üretilmiştir.Gerekli hesaplamalar yapılarak, elde her iki silikaya uygun oranlarda diğer kimyasallar ilave edilir. Kullanılan kimyasalların markaları ve moleküler ağırlıkları Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 6.2. Biyoaktif cam üretiminde kullanılan kimyasalların marka ve moleküler ağırlıkları

| **Kimyasal** | **Marka** | **Moleküler Ağırlık** |
|---|---|---|
| $SiO_2$ [Silisyum dioksit] | Riedel-de Haën | 60,08 (g/mol) |
| $CaCO_3$ [Kalsiyum karbonat] | Merck | 100,09 (g/mol) |
| $Na_2HPO_4.2H_2O$ [Di-Sodyum hidrojen fosfat dihidrit] | Merck | 177,99 (g/mol) |
| $NaHCO_3$ [Sodyum hidrojen karbonat] | Merck | 84,01 (g/mol) |
| $TiO_2$ [Titanyum dioksit] | Sigma-Aldrich | 79.87 (g/mol) |

Çizelge 6.2'de 45S5 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan bileşenlerin % ağırlık değerleri verilmiştir. 45S5 biyoaktif cam üretiminde çeşitli ağırlık oranlarında (%0.5, %1, %2, %4) $TiO_2$ ilave edilmiştir. Ti katkılı camlarda katkı oranı sodyumdan düşürülmüştür.

Çizelge 6.2 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan bileşenlerin % ağırlık oranları

| Katkı oranları (%) | **$SiO_2$** | **CaO** | **$Na_2O$** | **$P_2O_5$** | **$TiO_2$** |
|---|---|---|---|---|---|
| Katkısız | 45 | 24,5 | 24,5 | 6 | - |
| % 0,5 $TiO_2$ Katkılı | 45 | 24,5 | 24 | 6 | 0,5 |
| % 1 $TiO_2$ Katkılı | 45 | 24,5 | 23,5 | 6 | 1 |
| % 2 $TiO_2$ Katkılı | 45 | 24,5 | 22,5 | 6 | 2 |
| % 4 $TiO_2$ Katkılı | 45 | 24,5 | 20,5 | 6 | 4 |



Şekil 6.3 Ergitme yöntemiyle biyoaktif cam üretimi

45S5 biyoaktif camların eldesinde aşağıdaki aşamalar uygulanmıştır (bknz.Şekil 6.3).

1. 45S5 biyoaktif cam elde etmek üzere tartımları alınmış kimyasallar homojen olarak karıştırılır ve asitle yıkanmış platin potalara konarak 1 saat süreyle 1400$^{o}$C'deki kül fırınında bekletilir. Bu esnada etüv 150$^{o}$C'ye ayarlanır.

2. 1 saat sonunda fırından çıkarılan eriyik haldeki karışım soğuk suyun içine akıtılıp süzülerek 150$^{o}$C'deki etüvde 15dk süreyle kurumaya bırakılır.

3. Nemi iyice uzaklaştırılan karışımın homojen olmasını sağlamak için tekrar toz haline getirilir. Daha sonra platin potalara alınarak bu kez 1450$^{o}$C'deki kül fırınında 2 saat süreyle bekletilir.

4. 2 saatin sonunda eriyik haldeki karışım damlalar halinde metal tezgaha dökülerek cam formunu alması sağlanır. Ani soğuma neticesinde oluşabilecek mikro çatlakları önlemek amacı ile 550$^{o}$C'deki tavlama fırınına alınır.

## 6.4 Üretilen Biyoaktif Camların Karakterizasyonu

Ergitme yöntemiyle ürettiğimiz biyoakti camların mekanik, yüzey özellikleri, bağ yapıları, hücrelerle etkileşimi ve bu hücrelerin canlılıklarını ölçmek için çeşitli analizler yapılmıştır. Numuneler biyolojik özelliklerinin belirlenmesi için 7, 14, 21 ve 28 günlük süreler ile 37°C'de YVS içerisinde bekletilerek yüzeylerinde oluşan hidroksiapatit tabakası incelenmiştir. Bu tabakanın oluşum aşamasında kurulan bağlar ve fonksiyonel gruplar FTIR analizleri ile, biyoaktivite göstergesi olarak biyoaktif camların yapay vücut sıvısıyla yaptığı iyon alışverişini ICP analizleri ile, mekanik özelliklerini Vickers sertlik anlaizleri, yüzey aktivitesi SEM analizleri ve biyobozunurluk ise TRIS içerisinde 7 günlük süre boyunca 37°C'de bekletilerek yapılan ağırlık ve pH ölçümleriyle incelenmiştir.

### 6.4.1 YVS ve TRIS Çözeltilerinin Hazırlanması

Biyoaktif camların in vitro özelliklerini ölçebilmek için kullandığımız yapay vücut sıvısının tercih sebebi iyon konsantrasyonu açısından, insan kan plazmasına eşdeğer kimyasal yapıda olmasıdır.

YVS hazırlamak için kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları aşağıda verilmiştir. Bu kimyasal maddeler verilen sıra ile 750 ml distile su içerisine eklendi. İlk 5 kimyasal eklendikten sonra 40 ml 1 M HCl çözeltisi eklendi ve çözeltinin sıcaklığı 37°C'ye ayarlandı. 7 ve 8 numaralı kimyasal da eklendikten sonra son kimyasal olan $(CH_2OH)_3CNH_2$ (hidroksimetilaminametan) pH değerinde hızlı bir artışa ve çözeltide bulanıklığa neden olduğu için, yavaş yavaş eklendi. Çözeltinin pH değeri belirli bir sınır değerinin üstüne çıktığında 1 M HCl ile titre edildi. pH değeri 7,4'e ulaştığında oda sıcaklığına gelen çözeltinin hacmi distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Üretilen biyoaktif camların içinde bekletildiği YVS çözeltisi her bir biyoaktif cam için ayrı ayrı hesaplanarak mililitre olarak farklı miktarlarda konuldu.

6,547 g/l NaCl

2,268g/l NaHCO3

0,378g/l KCl

0,178g/l $Na_2HPO_4.2H2O$

0,305g/l $MgCl_2.6H_2O$

40 ml 1 M HCl

0,368g/l $CaCl_2.2H_2O$

0,071g/l $Na_2SO_4$

6,057g/l $(CH_2OH)3CNH_2$

YVS çözeltisi 7 günlük periyotlarla tazelenerek içerisinde bulunan biyoaktif camların sertlik değişimleri 7., 14., 21. ve 28. günün sonunda Vickers sertlik değeri cihazı ile ölçüldü. Üretilen biyoaktif cam örneklerinin YVS içerisindeki iyon alışverişi sonunda meydana gelen iyon salımları tespiti Optical Emission Spectrometry, ICP-OES, Perkin Elmer Optima 2100 DVModel ICP (Inductively Coupled Plasma) cihazının 13.56 MHz' ta kullanılması ile, oluşan hidroksiapatit tabakaları ise 7 günlük sürelerle SEM ve FTIR cihazlarının yardımıyla değerlendirilmiştir. Biyobozunurluk takibi TRİS içinde bekletilen camların 7 günlük periyotlarda ağırlık azalmaları ve pH değişimleri ile yapılmıştır.

#### 6.4.1.1 Biyobozunma Çalışmaları için TRIS Çözeltisinin Hazırlanması

Numunelerin in vitro bozunmalarının saptanması için TRIS çözeltisi kullanılmıştır. TRIS tamponlanabilen bir çözelti olduğundan ve serbest iyon içermediğinden biyoaktif camlar için maksimum çözünmenin gerçekleşeceği bir ortam sağlanmış olur. TRIS çözeltisini hazırlamak için 6.1 gram TRIS (hidroksimetil) aminometan 1 litre distile su içinde çözünmesi sağlandı. Hazırlanan çözeltinin sıcaklığı 37°C'ye ayarlanarak, pH değeri 1 M HCl ile titre edilerek 8'e ayarlandı. Biyoaktif cam numuneleri 30 ml TRIS çözeltisi içerisinde 7 gün boyunca inkübe edilerek ağırlık ve pH değerindeki değişimler kaydedildi.

### 6.4.2 Vickers, FTIR, SEM, Sitolojik Ölçümler

#### 6.4.2.1 Biyoaktif Camların YVS Öncesi ve Sonrası Vickers Sertlik Değerleri

Üretilen katkılı ve katkısız biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri "Micro Vickers Hardness Tester, Microbul – 1000D" cihazı (Bulut Makine, Türkiye) ile 500 g yük ve 10 sn koşullarında ölçüldü.

#### 6.4.2.2 FTIR Analizleri

Üretilen biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS çözeltisine konulduktan sonraki 7 ve 14 günlük sürelerde, yapılarında bulunan bağlar Perkin Elmer marka Spectrum One Model Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskopisi (FTIR) ile analiz edilmiştir. Cihazın çalışması kimyasal bağların spesifik frekans veya dalga boylarında kızıl ötesi enerjiyi absorblaması prensibine dayanmaktadır. 650-4000 cm-1 aralığında belirlenen absorbans değeri ve literatürde bunlara karşılık gelen gruplar temsil edilerek YVS öncesi ve sonrası numunelerin fonksiyonel grupları tespit edilerek belirlenmiştir.

#### 6.4.2.3 SEM Analizleri

Biyoaktif camların YVS çözeltisi içerisinde 37°C'de inkübe edilmesi sonucu, biyoaktif camlardan salınan iyonlar YVS içerisindeki iyonlar ile etkileşime girerek HCA tabakası oluştururlar. Biyoaktif camların yüzey morfolojilerinde meydana gelen bu değişimler YVS çözeltisinde inkübe edilmeden önce ve sonrasında 7, 14 ve 28. günlerde SEM cihazı ile tayin edilmiştir.

#### 6.4.2.4 Sitolojik Çalışmalar

##### 6.4.2.4.1 İnkübasyon mediumu hazırlanması

FBS içermeyen 5 ml DMEM-F12 medium içine 0.1 g toz malzeme ilave edilerek konsantrasyon 20 mg/ml olacak şekilde ayarlanarak 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilir. 24 saat sonunda karışım santrifüjlenir, süpernatant alınır ve sterilizasyon için 0,2 µm filtreden geçirilir.

#### 6.4.2.4.2 Hücre kültürü, vitalite ve sitotoksisite

SAOS-2 osteoblast benzeri hücreler DMEM-F12 içerisinde %10 FBS(fetal bovin serum) ile 37 °C 'de %5 CO2 ortamında kültüre edildi. Hücre kültürü iki günde bir pasajlandı., MTT testi ile vitalite ölçülmek üzere, hücreler 96 kuyucuklu bir plaka içinde her kuyucuk içinde 103 hücre olacak şekilde ekildi. 24 saat inkübasyondan sonra biyoaktif camlar farklı konsantrasyonlarda ilave edildi. 7 günlük inkübasyondan sonra 20 µl MTT çözeltisi (5 mg/ml), kuyucuklara ilave edildi. 4 saat daha inkübe edildikten sonra, 100 µl DMSO ilave edildi ve absorbans mikroplaka okuyucu ile 495 nm dalga boyunda okundu.

#### 6.4.2.4.3 Osteoindüktivite belirteci olarak ALP aktivitesi ve Mineralizasyon analizi

Osteoblast farklılaşması ve mineralizasyon analizi için SAOS-2 hücreleri 7 ve 14 gün boyunca osteo-indüktif şartlandırılmış ortam içinde kültüre edilerek ayrı ayrı toplandı. Farklılaşma ve mineralizasyon için osteoindüktif koşulları sağlayan 50 µg/mL L-askorbik asit (AA; Sigma, ABD) ve 10 mM β-gliserofosfat (β-GP, Sigma) eklendi %10 FBS içeren DMEM mediumu ile uyarılmıştır. Normal %10 FBS DMEM ortamı ile muamele edilmiş hücreler, tüm deneyler için kontrol grubu olarak kullanıldı.

##### 6.4.2.4.3.1 Alkalin fosfataz (ALP) aktivitesi analizi

Alkalin fosfataz (ALP) substrat olarak p-nitrofenil fosfat (Sigma, ABD) ile değerlendirildi. Hücre konsantrasyonu her kuyucukta 2x105 SAOS-2 olacak şekilde 6 well platelere ekildi ve belirli bir süre boyunca muamele edildi. Daha sonra elde edilen hücreler 10 dakika süreyle sonikasyona tabi tutuldu ve 10 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatant ALP aktivitesi analizi için kullanıldı. Numunenin aktivitesi, bisinkoninik (BCA) protein analizi ayracı ile protein konsantrasyonlarına (U / mg) ve aktivite oranına bağlı olarak değerlendirildi.

##### 6.4.2.4.3.2 Mineralizasyon Analizi

Hücreler üzerindeki kalsifiye nodüller alizarin kırmızısı ile boyanarak belirlendi. SAOS-2 hücreleri 2x105/kuyucuk olacak şekilde 3,5 cm'lik petri dishlere ekildi ve belirlenen

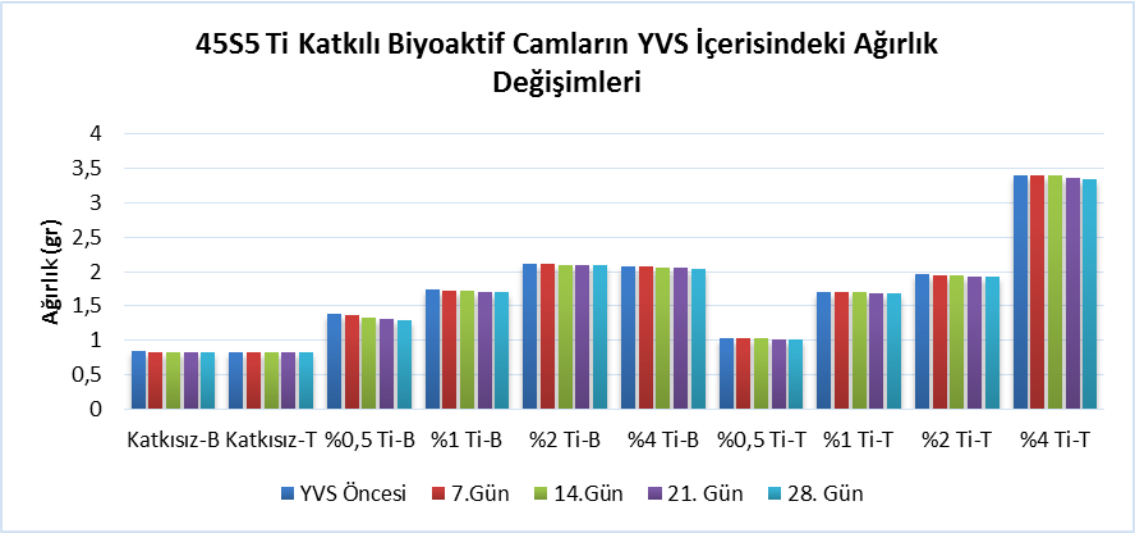
süre boyunca muamele edildi. İnkübasyondan sonra, hücreler PBS ile (Mg2+ ve Ca2+ olmadan) yıkandı ve 30 dk %95 etanol içinde -20°C'de bekletildi. Daha sonra hücreler ve matriks, 40 mM alizarin red-S ile (pH 4.2) oda sıcaklığında 1 saat bekletilerek boyandı. Parlak kırmızı renge boyanan nodüller mineralizasyon karşılaştırması için ışık mikroskobu ile görüntülendi.

Kalsifikasyon spektrofotometre ile de değerlendirildi. Kültürler 24 saat süre ile 300 ml 0.6 NHCl ile dekalsifiye edildi. Süpernatanttaki kalsiyum içeriği 2,2'-[1,8-Dihidroksi-3,6-disülfo naftalen-2,7-bis azo]-bis-benzen arsenik asit (Arsenazo III) içeren ve kalsiyum ile spesifik olarak mor renkli kompleks oluşturan Sigma Diagnostics kalsiyum reaktif ile kolorimetrik tespit edildi. Optik yoğunluklar, kalibrasyon eğrisine göre 600 nm'de okundu. Toplam protein içeriği, bisinkoninik asit proteini (BCA) ile elde edilen bakır katyon kolorimetrik saptaması ile, ticari bir protein miktar kiti (Pierce, Rockford, İL) kullanılarak ölçülmüştür. Hücre tabakasının kalsiyum içeriği, protein içeriğine normalize olmuştur.

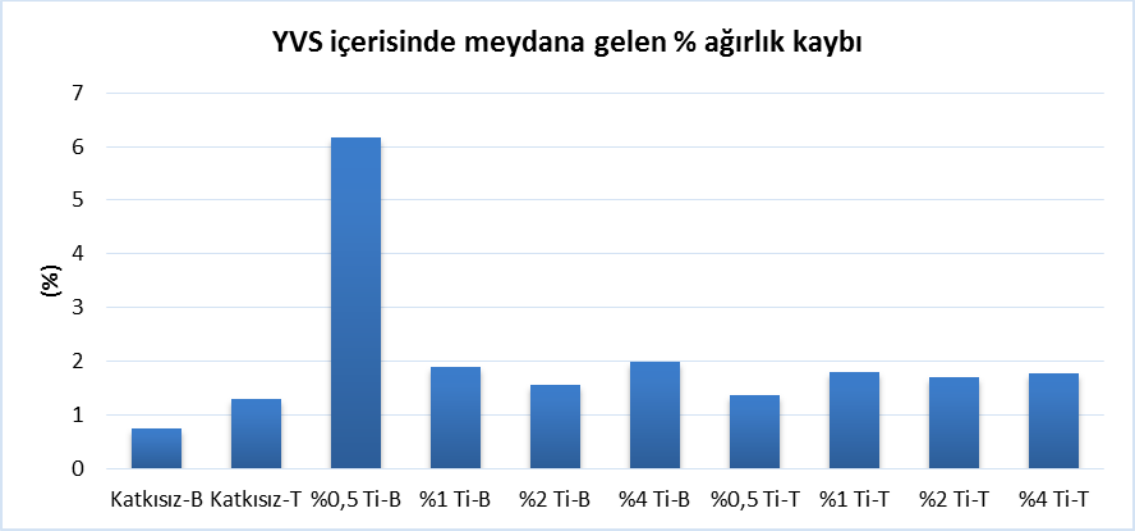
## 6.5 Deneysel Veriler

### 6.5.1 Biyoaktif Camların YVS İçerisindeki Ağırlık Değişimleri

28 gün 37°C'de YVS çözeltisi içerisinde inkübe edilen Ti katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık değişimleri ve ağırlık azalmalarının yüzde cinsinden değerleri kullanılarak oluşturulan grafikler Şekil 6.4 ve Şekil 6.5'de verilmiştir.




Şekil 6.4 YVS içerisinde 28 gün süreyle inkübe edilen 45S5 Ti katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları




Şekil 6.5 YVS içerisindeki Ti katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonundaki % ağırlık azalmaları

Şekil 6.4 incelendiğinde farklı oranlarda Ti katkısına sahip bütün biyoaktif camların haftalık olarak alınan ağırlık değerlerinin zaman ilerledikçe azaldığı anlaşılmaktadır ve Ti katkısının biyosilikalı ve ticari silikalı biyoaktif camlarda ağırlık değişimini katkısızlara oranla artırdığı gözlemlenmiştir. Şekil 6.5 incelendiği zaman biyosilikalı %0.5 Ti katkılı biyoaktif camda meydana gelen % ağırlık azalmasının en fazla olduğu görülmektedir. Bu durum YVS içerisinde fazla iyon salımından dolayı gerçekleşen parçalanmadan kaynaklanmaktadır. Literatürde Ti katkısı genellikle fosfat camlarda çalışılmıştır. Bu camlar içerisine eklenen Ti katkısının genellikle camın kimyasal stabilitesini arttırdığı ve

çözünürlüğü yavaşlattığı rapor edilmiştir [58]. Tez kapsamında ise silikat biyoaktif camlar üretilmiş ve Ti katkısı eklenen biyoktif camların çözünürlükleri katkısız olanlara kıyasla özellikle biyosilikalı olanlarda daha fazla artış göstermiştir.

### 6.5.2 Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi

Biyoaktif camların YVS içerisinde inkübasyonları esnasında gerçekleşen iyon salımları ICP analizi ile tespit edilmiştir. ICP analizleri 3 kez tekrarlanarak, elde edilen sonuçlar bar grafiklerinde her iyon için ayrı ayrı verilmiştir.

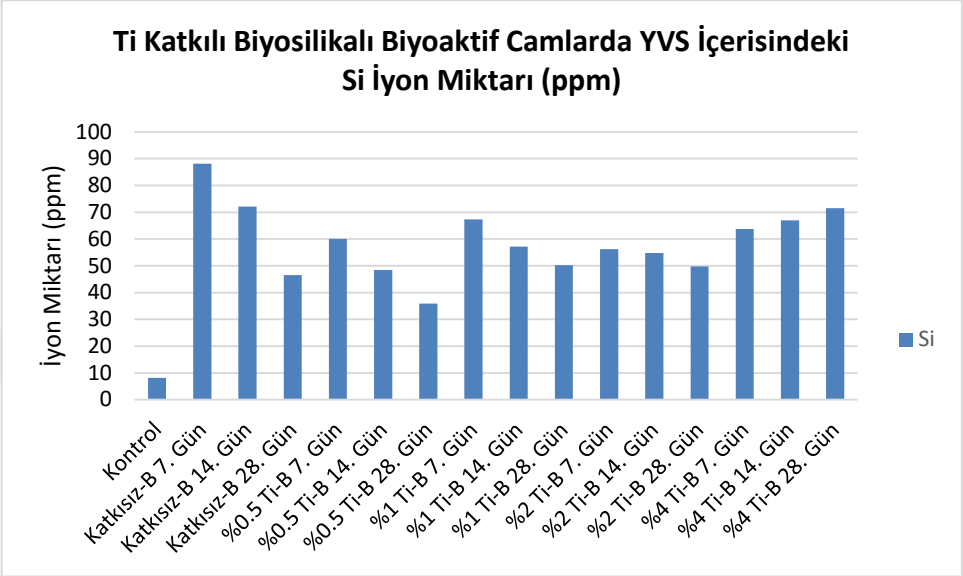
Biyoaktif camlar YVS içerisinde alındıktan itibaren iyon salımı gerçekleşmeye başlar. YVS içerisinde ve biyoaktif cam içerisinde Ca+2 Na+ ve (PO4)-3 iyonları bulunmaktadır. Biyoaktif camdan salınan bu iyonlardan Ca+2 iyonu YVS içerisinde (PO4)-3 iyonu ile etkileşime geçerek HCA tabakasını oluşturma eğilimindedirler. Dolayısı ile Ca+2 iyonunda HCA tabakası oluşması hızına bağlı olarak sürekli olarak artış ve azalmalar meydana gelebilir. Tüm biyoaktif camlar için incelenen Na+ iyonu için ise beklendiği üzere artış söz konusudur. (PO4)-3 iyonu biyoaktif camdan salınarak hem biyoaktif camdan salınan hem de YVS içerisinde serbest iyon halinde bulunan Ca+2 ile birleşerek hidroksiapatit tabakası oluşumunu desteklerler. Bu yüzden Ca+2 iyonunda olduğu gibi (PO4)-3 iyonu miktarında da haftalık değişimlere bağlı olarak artış ve azalmalar meydana gelmiştir.

Ticari silikalı katkısız biyoaktif camlar incelendiğinde 7. gün sonunda Ca+2 iyonundaki artış devam etmiştir. 14. gün sonunda meydana gelen azalma HCA tabakasının oluşmaya başladığına işaret eder.

Biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camlarda 7. ve 14. gün içerisinde kontrole kıyasla Ca+2 iyonlarının miktarında azalma, ticari silikalı olanlarda ise artış söz konusudur. Biyosilikalı olan biyoaktif camlardan salınan iyonlar HCA tabakası oluşuma katılıp tükenmiş ve YVS içerisindeki iyonlar kullanılmaya başlamıştır. Ticari silikalı Ti katkılı biyoaktif camda Ca+2 iyonlarında artış mevcuttur. Bu durum ticari silikalı Ti katkılı biyoaktif camlarda HCA oluşumunun biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camlara kıyasla daha

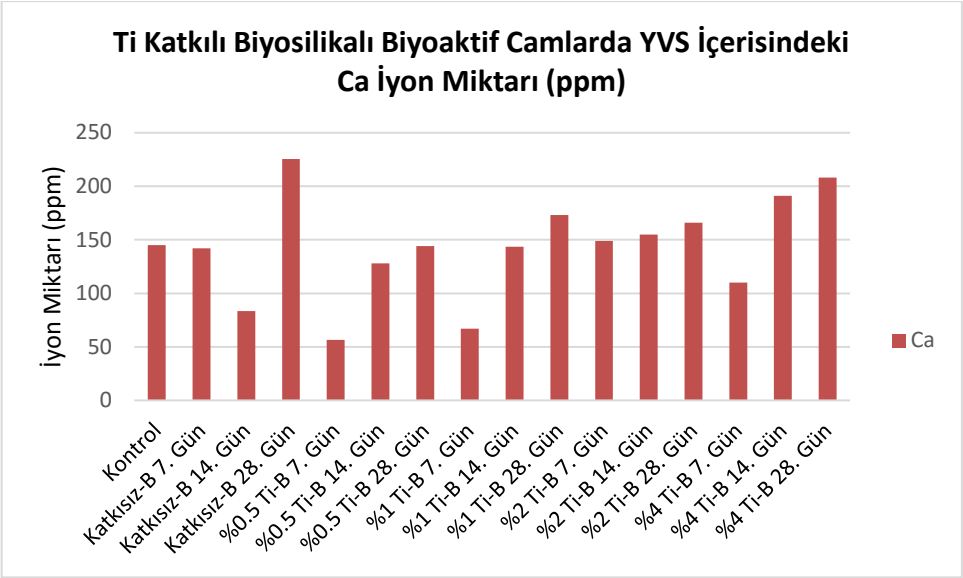
yavaş olduğu ile açıklanabilir. Bu durum SEM görüntüleri ile de desteklenmiştir. Ti iyon salımlarının ise biyosilikalı biyoaktif camlarda daha fazla olduğu görülmektedir.

28. günün sonunda da tüm camlarda Ca+2 ve Na+2 salınımlarının devam ettiği görülmektedir.



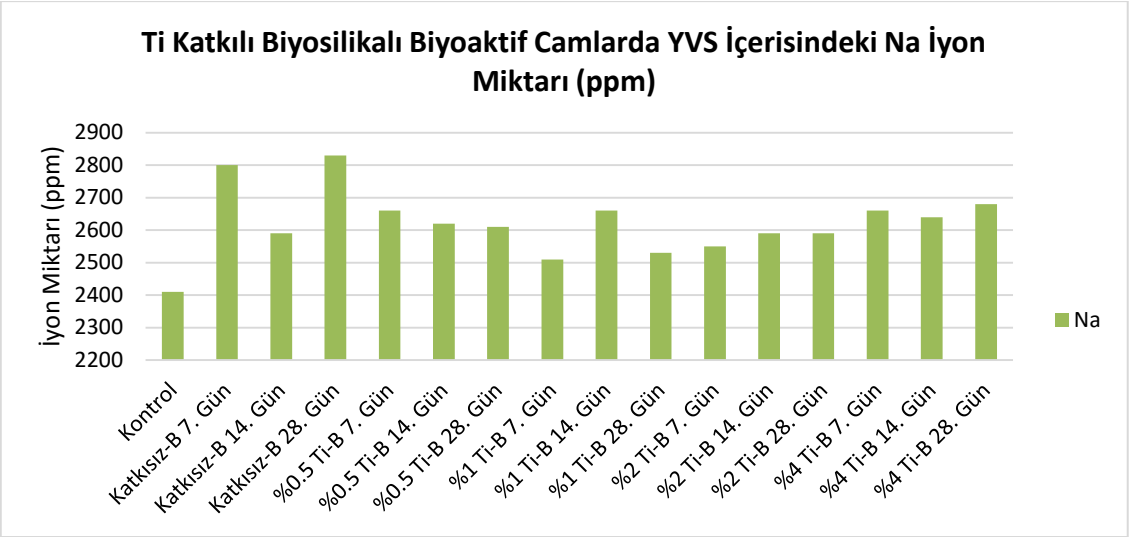

Şekil 6.6 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Si iyon miktarı (ppm)

Biyosilikalı katkısız biyoaktif camın 7, 14 ve 28 gün sonundaki elementel analiz sonuçları incelendiğinde, Si iyon miktarının ilk hafta büyük bir artışta olduğu görülmekte, ilerleyen haftalarda ise azalmalar meydana gelmektedir. Bu sonuçlar Si iyonunun büyük bir kısmının biyoaktif camın YVS içerisine konulduğu an salındığının göstergesidir. 28. Gün sonunda ise Si iyon salımı hala kontrole göre yüksek düzeydedir. Yalnızca %4 Ti katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda haftalık olarak Si iyon artış miktarlarının haftalık değişimlerinin diğerlerinden farklı oldukları görülmektedir.



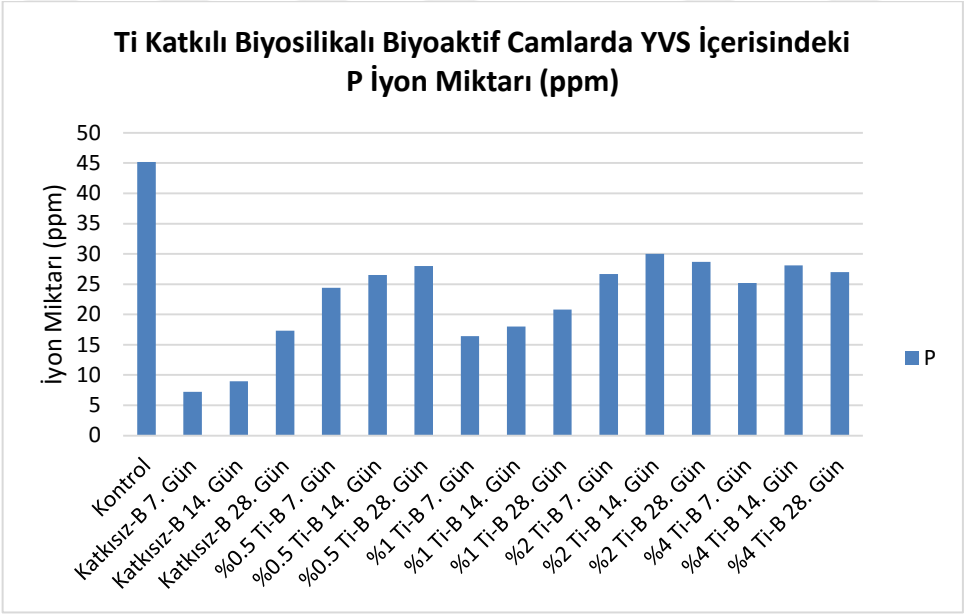

Şekil 6.7 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ca iyon miktarı (ppm)

YVS içerisindeki biyoaktif camlardan salınan Ca+2 iyon miktarının değişimi Şekil 6.7'de verilmiştir. Katkısız biyosilikalı biyoaktif camlardan salınan Ca+2 iyonunda kontrol numunesine kıyasla 7. gün az miktarda bir azalma meydana geldiği görülmektedir. Alınan bu sonuç HCA tabakasının oluşmaya başladığı ve hatta biyoaktif camdan salınan Ca+2 iyonlarının kullanılıp YVS içerisindeki Ca+2 iyonlarının kullanılmaya başladığı şeklinde açıklanabilir. 14. gün sonunda ise neredeyse yarı yarıya bir azalma söz konusudur, yani HCA tabakası oluşumu devam etmektedir. 28. Gün sonunda ise Ca+2 iyonunda büyük bir artış meydana gelmiştir. Bu artış biyoaktif cam numunesinin yüzeyinde meydana gelen çatlaklardan salımın daha fazla olması şeklinde yorumlanabilir. %0,5 ve %1 katkılı biyoaktif camların 7. Gün Ca+2 iyon salımları incelendiğinde kontrole kıyasla çok fazla azalma meydana geldiği görülmektedir. Bu sonuçlar bu iki numunenin de hidroksiapatit oluşumunun ilk hafta en yüksek düzeyde olduğunu göstermektedir.



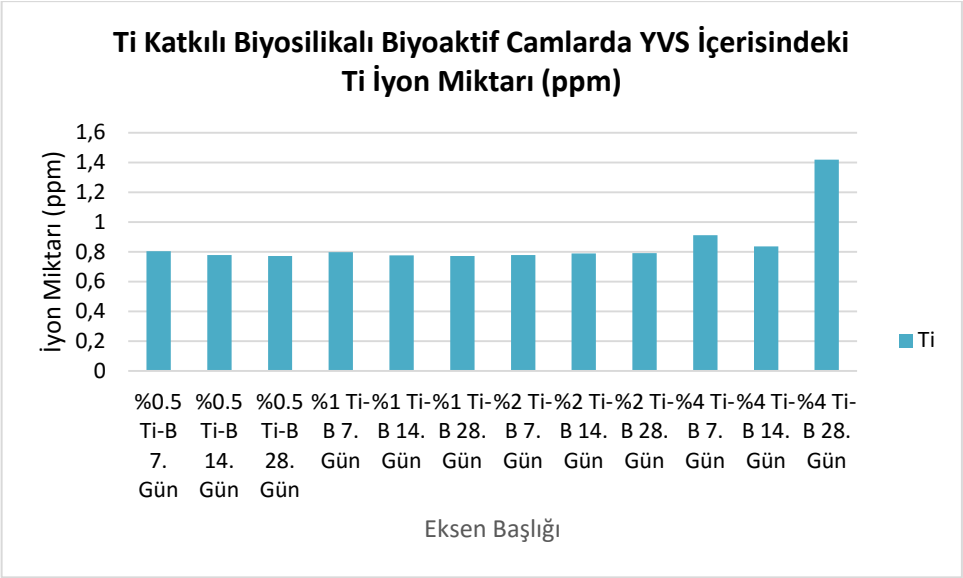

Şekil 6.8 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Na iyon miktarı (ppm)

Na iyonu biyoaktif cam içerisinde ağ yapıcı olarak görev almaktadır ve hidroksiapatit yapısına katılmazlar. Salımlarının haftalık olarak alınan sonuçlarda kontrole kıyasla artmış olmaları beklenmektedir ve alınan sonuçlar da bu yöndedir. Na iyon miktarında meyda gelen düşük miktardaki azalmalar hidroksiapatit çökmesi oluşurken arada kalan Na iyonlarının YVS içerisinden alınan ICP numunesi içerisinde okunanamasındandır.



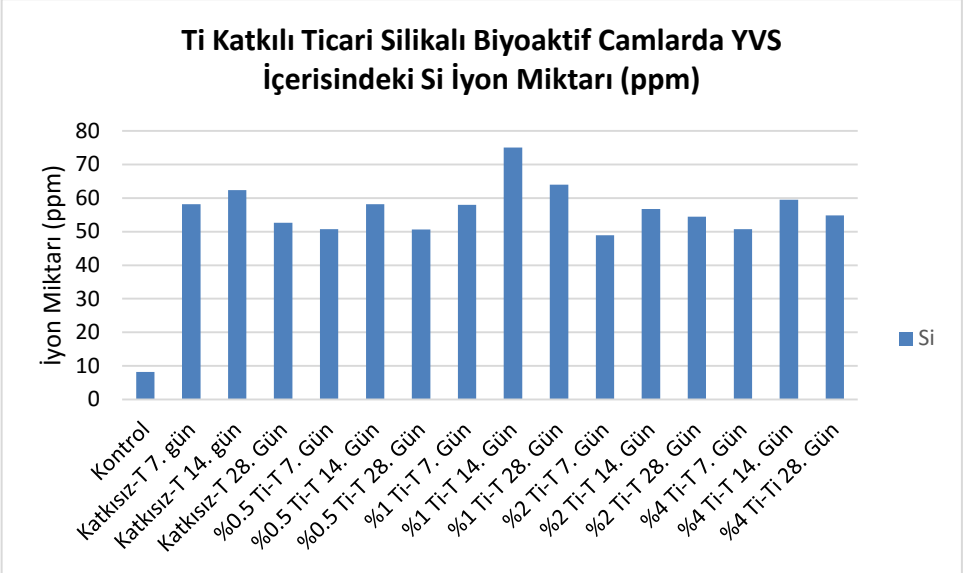

Şekil 6.9 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki P iyon miktarı (ppm)

P iyon miktarında özellikle 7. Gün sonunda önemli azalmalar meydana gelmiştir. Bu sonuçlar Ca+2 iyonundaki artma ve azalmalar ile birlikte incelendiğinde hidroksiapatit oluşumunun özellikle ilk haftanın sonunda meydana geldiği yorumu yapılmaktadır.



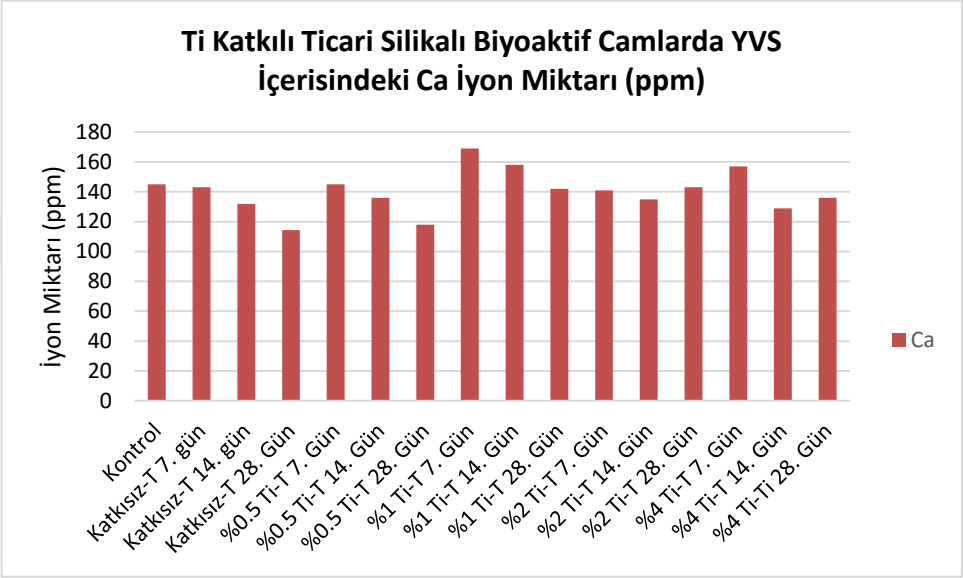

Şekil 6.10 Ti Katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ti iyon miktarı (ppm)

YVS içerisinde Ti iyonu bulunmamaktadır. Biyoaktif camdan iyon salımına bağlı olarak tüm camlar için de haftalık salımlar Ti iyonu hidroksiapatit tabakası oluşumuna katımadığı için hemen hemen aynı düzeyde ilerlemektedir. %4 Ti katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda ise Ti salımı 28. Gün sonunda diğer camlara kıyasla daha fazla gerçekleşmiştir. Bu sonuç biyoaktif cam yüzeyinde meydana gelen çatlaklar sebebi ile salımın daha fazla olması ile ilişkilendirilebilir.



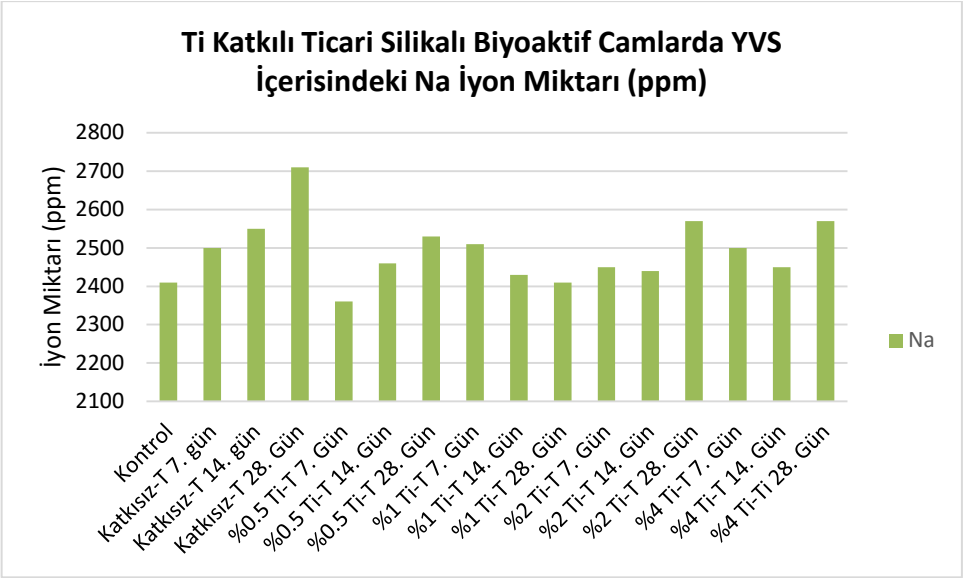

Şekil 6.11 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Si iyon miktarı (ppm)

Ticari katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen Si iyon salım miktarları incelendiğinde tüm biyoaktif camlar için de her hafta yüksek değerlerde salım olduğu görülmektedir. Özellikle 14. Gün alınan değerlerinde diğer haftalara kıyasla daha fazla bir artış olduğu görülmüştür. Biyosilikalı biyoaktif camlar da ise Si salımları en fazla 7. Gün sonunda görülmüştü. Bu fark biyosilikalı biyoaktif camlarda yüzeyde oluşan mikroçatlakların ilk haftanın sonunda, ticari silikalı biyoaktif camlarda ise 14. Gün sonunda gerçekleştiği ile açıklanabilir.



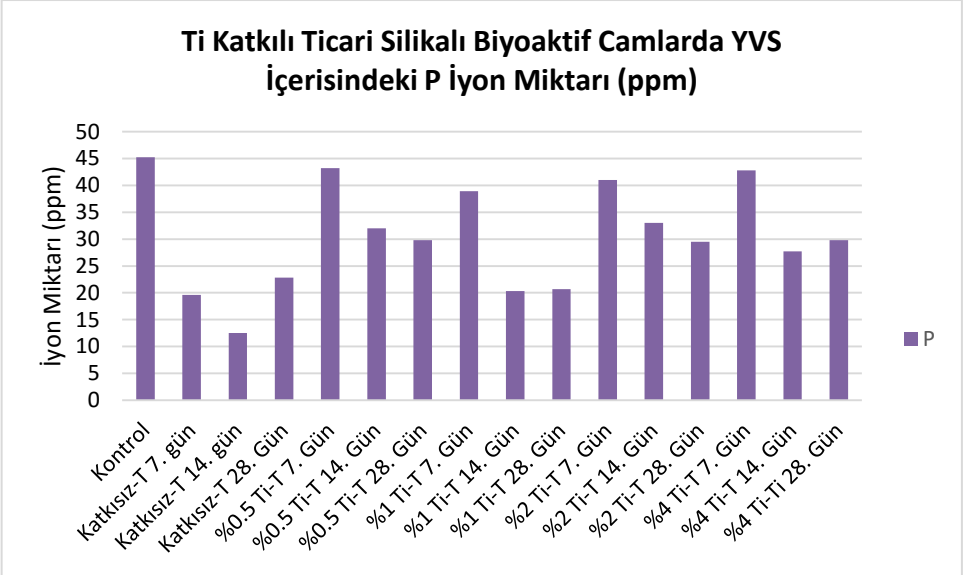

Şekil 6.12 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ca iyon miktarı (ppm)

Ticari silikalı biyoaktif camlarda meydana gelen $Ca^{+2}$ iyon miktarlarının haftalık değişimlerine ait grafik Şekil 6.12'de verilmiştir. Biyosilikalı biyoaktif camlarda gözlenen kontrole göre ciddi miktardaki azalmalar ticari silikalı biyoaktif camlarda gözlenmemiştir. Bu sonuç biyosilikalı biyoaktif camlarda hidroksiapatit oluşum hızının daha fazla olduğunu göstermektedir.



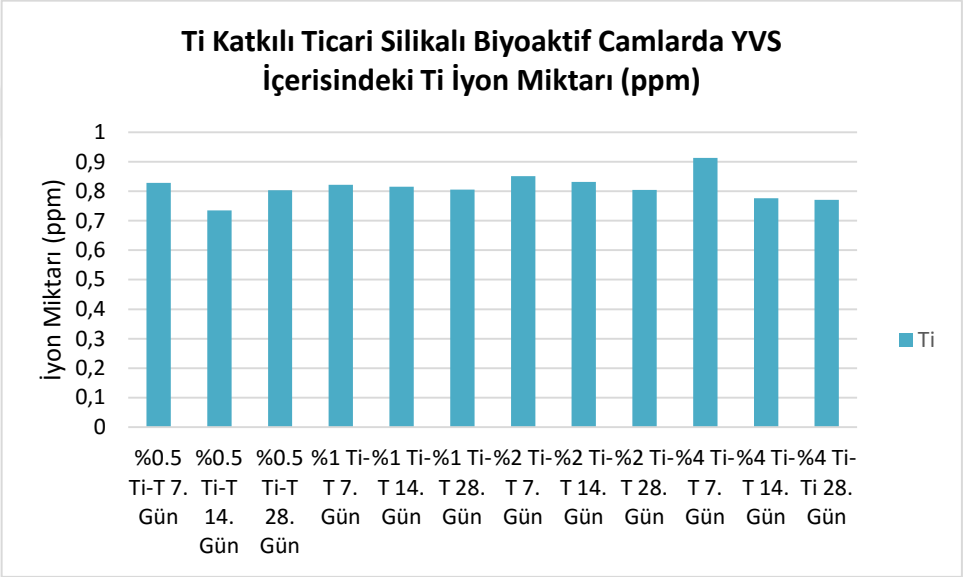

Şekil 6.13 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Na iyon miktarı (ppm)

Ticari silikalı biyoaktif camlarda meydana gelen Na iyon salım miktarları Şekil 6.13'te verilmiştir. Na iyon miktarları en fazla katkısız ticari silikalı biyoaktif camlarda meydana gelmiştir. Bu sonuç biyoaktif cam yüzeyinde oluşan mikro çatlakların daha fazla olduğunu göstermektedir. Na iyon miktarında kontrole göre meydana gelen düşük düzeydeki azalmalar ise hidroksiapatit çekirdeklenmesi meydana gelirken $Ca^{+2}$ ve PO iyonları ile bitlikte çöken $Na^{+}$ iyonlarının YVS içerisinden alınan ICP numunesinde okunamamasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 6.14 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki P iyon miktarı (ppm)

Ticari silikalı biyoaktif camlardan salınan P iyonları hidroksiapatit oluşumuna bağlı olarak artmalar ve azalmalar meydana getirmiştir. Biyosilikalı biyoaktif camlardan salınan iyon salımları ile karşılaştırıldıklarında iyon miktarlarının daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca ilk 7 gün değerleri incelendiğinde P iyon miktarının kontroldeki değerlere çok yakın olduğu görülmektedir. Sonuç olarak hidroksiapatit oluşumunun 7. Günden sonra başladığı ve biyosilikalı biyoaktif camlara kıyasla daha yavaş gerçekleştiği söylenebilir.



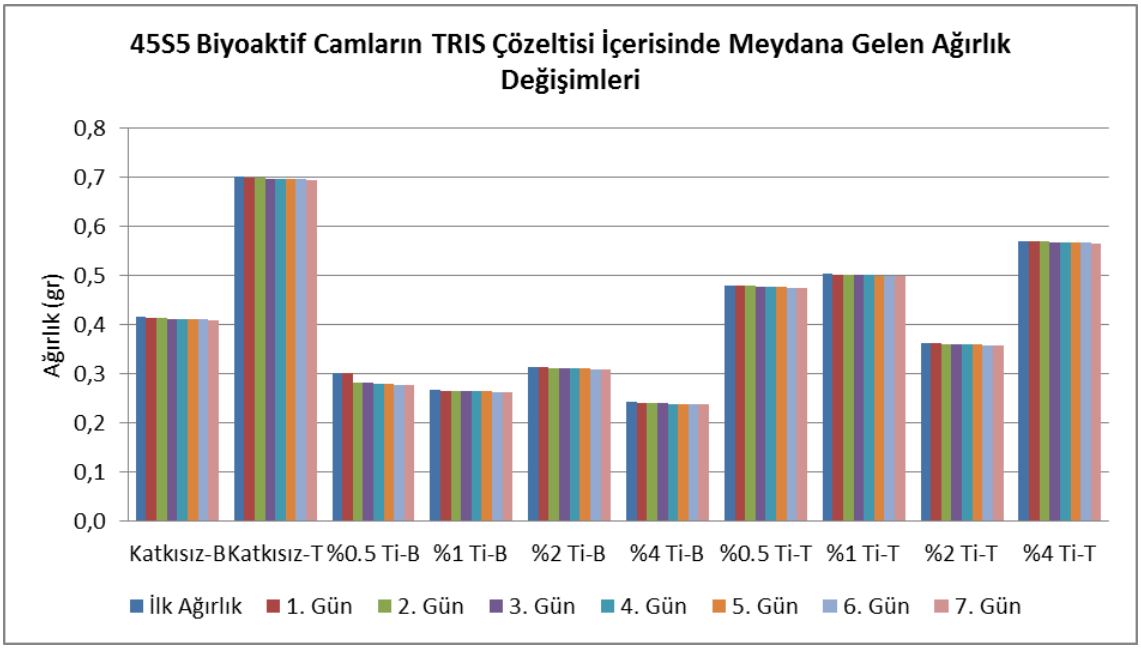

Şekil 6.15 Ti Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Ti iyon miktarı (ppm)

Ticari silikalı biyoaktif camlardan salınan Ti iyon miktarlarının haftalık olarak hemen hemen yakın değerlerde salındıkları Şekil 6.15 'te verilen grafikte görülmektedir.

### 6.5.3 Biyoaktif Camların TRIS Çözeltisi İçerisinde İnkübasyonu Sonucu Meydana Gelen Ağırlık ve pH Değişimleri

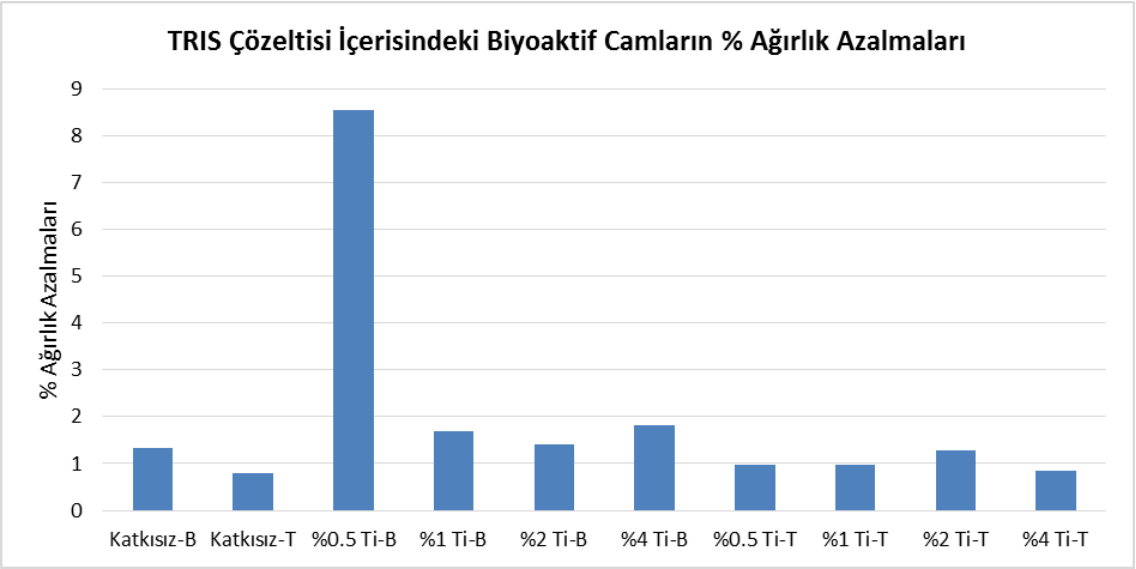
Üretilen biyoaktif cam numunelerinin in vitro bozunmalarının incelenmesi için TRIS çözeltisi içerisinde 37°C sıcaklıkta, 7 gün boyunca inkübe edilerek; bu süre içerisinde biyoaktif cam numunelerinin zamana bağlı ağırlık değişimi ve TRIS çözeltisinin pH değişimi incelenmiştir. Literatürde belirtildiği gibi biyoaktif camların sulu çözeltiler

içerisinde inkübasyonu sonucu iyonlarının salımı gerçekleşir. Bu iyonların çözeltiye geçmesi ile biyoaktif camın ağırlığında bir miktar azalma meydana gelir. Biyoaktif camların biyoaktivite oranları yüzeylerinden salınan sodyum, kalsiyum ve fosfor iyonlarının miktarı ile yakından ilişkili olduğundan TRIS çözeltisi içerisine konan biyoaktif cam numunelerinin ağırlık kaybı ve çözeltinin pH değerindeki artış numunelerin biyoaktivitesi hakkında bilgi vermektedir.



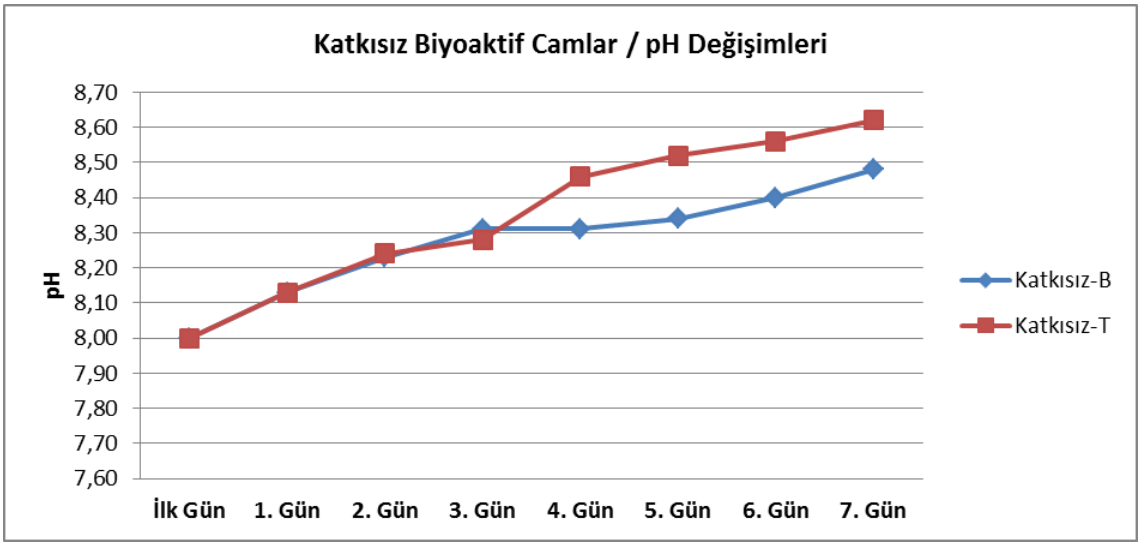

Şekil 6.16 TRIS çözeltisi içerisindeki Ti katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları

Biyosilikalı ve ticari silikalı Ti katkılı biyoaktif cam numuneleri için TRIS çözeltisi ile 7 günlük inkübasyonu süresince ağırlıklarında meydana gelen değişim Şekil 5.8'de verilmiştir. TRIS çözeltisi içerisinde bulunan Ti katkılı biyoaktif camların ağırlıkları bu süre içinde sürekli olarak azalmıştır.



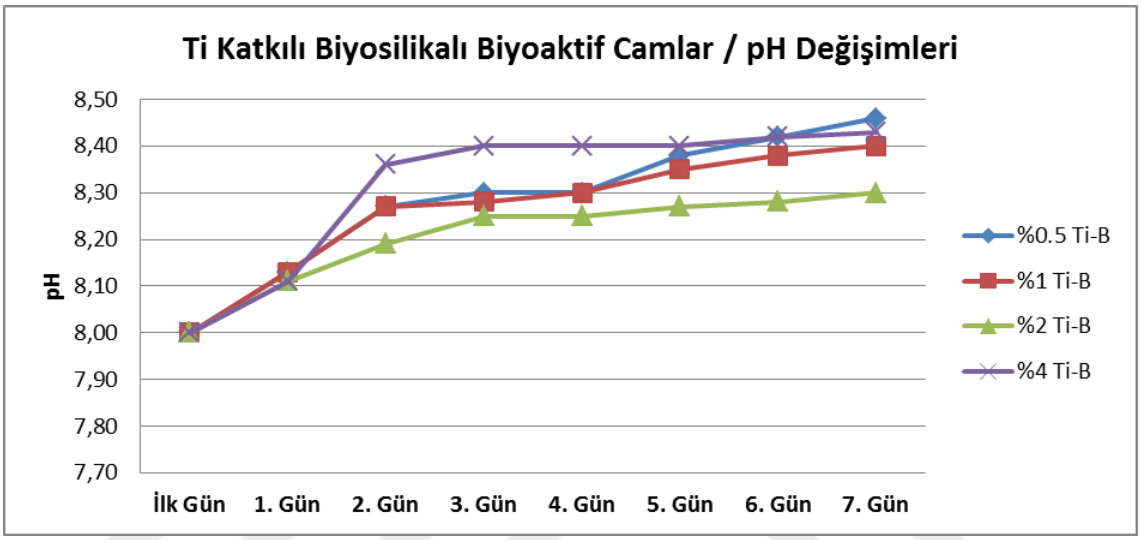

Şekil 6.17 TRIS çözeltisi içerisindeki Ti katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları

Şekil 6.17'de katkısız ve Ti katkılı biyoaktif camları karşılaştırdığımızda 7. günün sonunda Ti katkılı camlarda % ağırlık kaybının daha fazla olduğu görülmektedir. Biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar içerisinde %1 Ti ve %4 katkılı biyoaktif camda meydana gelen % ağırlık kaybının ve buna paralel olarak da biyobozunurluğunun diğer camlara kıyasla en fazla olduğu belirlenmiştir. %0.5 katkılı camda hızlı bir parçalanma olduğu için ağırlıkta önemli bir kayıp görülmektedir. Ticari biyoaktif camlarda yine 7. Günün sonunda ağırlık kaybının en fazla %2 Ti katkılı camda olduğu görülmektedir.

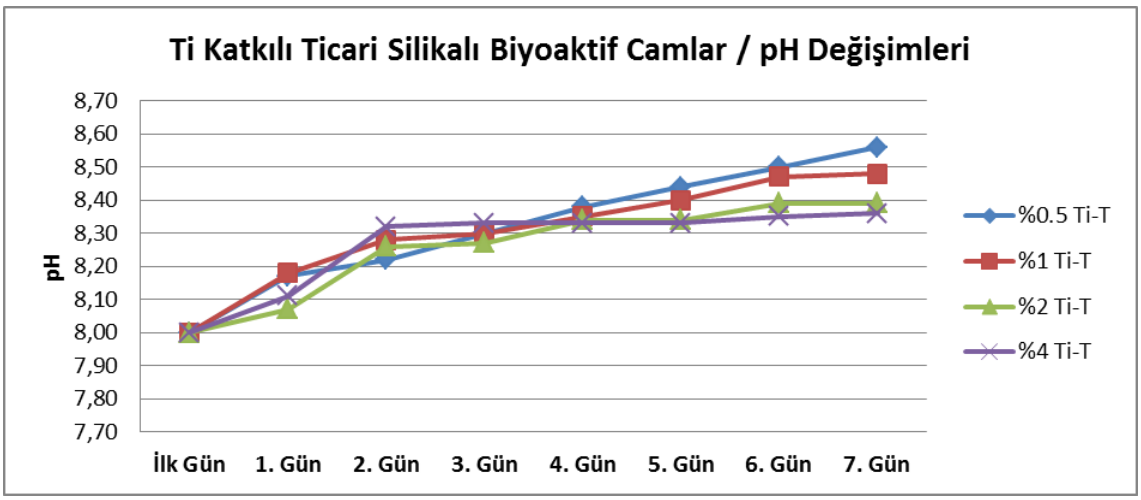



Şekil 6.18 Biyosilikalı ve ticari silikalı, katkısız biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 6.18'de yer alan grafik incelendiğinde katkısız her 2 biyoaktif cam numunesinin içinde bulundukları TRIS çözeltisinin pH değerinde sürekli bir artışa neden oldukları görünmektedir. İlk 3 gün içerisinde biyosilikalı biyoaktif cam numunesinde iyon salımının daha fazla olduğu ve her iki silika kaynağı için de paralel bir artış olduğu görülmektedir. Fakat 7 gün sonunda ticari silikalı biyoaktif camlardaki pH değerinin daha fazla arttığı görümüştür. Bu da ticari silikalı biyoaktif camın biraz daha fazla iyon salımına neden olduğunu göstermektedir.




Şekil 6.19 45S5 Ti katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri




Şekil 6.20 45S5 Ti katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 6.19 ve Şekil 6.20 kıyaslandığında her iki silika kaynağı için de Ti içeriği arttıkça pH değerlerinde azalma olduğu görülmektedir. Ticari silikalı Ti katkılı biyoaktif camların pH

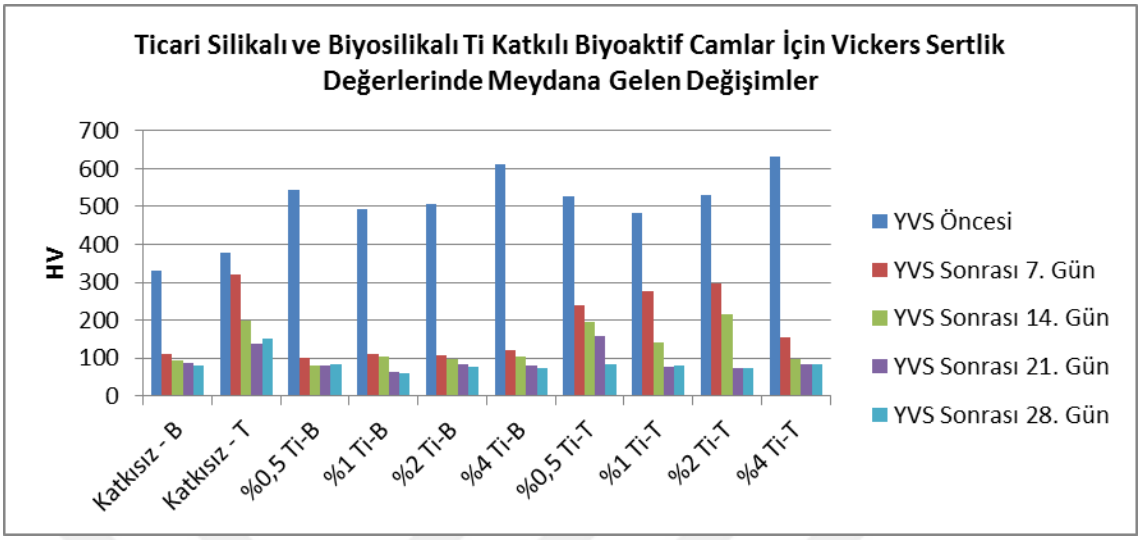
değerlerinin daha fazla olması iyon salımının bu biyoaktif camlarda daha fazla olduğunu göstermektedir. Katkısız biyoaktif camlar ile katkılı olanlar kıyaslandığında Ti iyonu ilavesinin iyon salımını azalttığını TRIS içerisinde inkübasyon neticesinde görülmüştür.

Literatürde Ti katkılı biyoaktif camlar ile yapılan çalışmalarda da pH değerinin zaman bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. Örneğin, Zhang ve arkadaşları, artan pH değerinin HA oluşumunu teşvik ettiğini belirlemişlerdir [59]. Zia ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada, Ti katkılı camların YVS içerisindeki ilk 7 günlük süre boyunca pH değerini hızlı bir şekilde artırdığını ve 7. günden sonra pH değerinin artmaya devam ettiği ancak artışta biraz yavaşlama olduğu gözlemlemiş, 28 günün sonunda molce %3,5 Ti katkılı ve %10,5 Ti katkılı numuneler için pH değerinin yaklaşık olarak sırasıyla 8,1 ve 9,1 (ilk değer 7,25) olduğunu belirlemişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda, iyon salımının pH değerindeki artıştan sorumlu olduğunu bu salımına bağlı olarak çözelti içerisindeki H iyonları ile yer değiştirdiğini söylemişlerdir. Ayrıca, molce %10,5' in altındaki Ti katkısı biyoaktiviteyi artırmaktadır [60].

### 6.5.4 Vickers Sertlik Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Yapılan ölçümlerde biyoaktif camların YVS içerisinde kalma süreleri arttıkça Vickers sertlik değerlerinin düştüğü belirlenmiştir. Bu düşüşün sebebi YVS içerisinde mevcut bulunan iyonların biyoaktif cam numunelerinden salınan $Ca^{+2}$ ve $Na^{+}$ iyonları ile YVS içerisindeki $(PO4)^{-3}$ iyonlarının etkileşime geçmesi ve bunun sonucunda biyoaktif cam numunelerinin yüzeyine çöken hidroksiapatit tabakasıdır. Biyoaktif cam numunelerinin yüzeyinde oluşan hidroksiapatit tabakası artıkça biyoaktif camın Vickers sertlik değeri bu duruma bağlı olarak azalmaktadır. Biyoaktif cam numunelerinin yüzeyinde oluşan hidroksiapatit tabakası biyoaktif camın biyoaktivitesi ile ilişkilendirilir. Bu sebeple Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim aynı zamanda biyoaktif camların biyoaktivitesi hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca literatürde belirtildiği üzere, YVS içerisinde biyoaktif camların inkübasyonu sırasında meydana gelen iyon salımı pH değerinde bir artışa neden olur. pH değerinde meydana gelen bu artış biyoaktif cam ağında $SiO_2$'nin $Si(OH)_4$ formunda çözeltiye geçmesini sağlar. $SiO_2$'nin çözünmesi cam ağının zayıflamasına bunun sonucu olarak da Vickers sertlik değerinde azalmaya sebep

olur. Şekil 5.12 tüm biyoaktif camların YVS içerisindeki zamana bağlı olarak Vickers Sertlik değerlerindeki değişimler verilmiştir.




Şekil 6.21 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği.

Çizelge 6.3. Biyosilika ve ticari silika içeren katkısız biyoaktif camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri

| **HV* (kg/mm$^2$)** | **Katkısız B** | **Katkısız T** |
|---|---|---|
| | *329 (51,5)$^a$* | *378 (46,4)$^a$* |

*Standart sapma değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Farklı harfler istatistiksel olarak farklı değerleri temsil etmektedir.

Şekil 6.21'de biyosilika ve ticari silika içeren katkısız biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrasında elde edilen Vickers sertlik değerleri verilmiştir. Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre Tablo 8'de verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir farklılaşma vardır. Yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde farklı gruplar belirlenmiştir. Buna göre, biyosilika içeren katkısız biyoaktif cam numune YVS öncesi Vickers sertlik değeri ile YVS içerisinde 7. gün Vickers sertlik değeri arasında anlamlı bir fark olduğu, ticari silika içeren katkısız biyoaktif cam numune YVS öncesi Vickers sertlik değeri ile YVS içerisinde 7. gün Vickers sertlik değeri arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Biyoaktif cam numunelerin YVS

içerisinde bekletilmesi ile Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen azalmanın yüzeylerinde oluşan hidroksiapatit (HA) tabakası kaynaklı olduğu bilinmektedir [36].

#### 6.5.4.1 Ti Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri

Ti katkılı biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinde haftalık olarak meydana gelen değişiklikler Çizelge 5.4'te verilmiştir.

Ti katkısının biyosilika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Ti içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.4.'te verilmiştir.

Çizelge 6.4. Ti katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri.

| | **Katkısız - T** | **%0,5 Ti-T** | **%1 Ti-T** | **%2 Ti-T** | **%4 Ti-T** |
|---|---|---|---|---|---|
| **HV* (kg/mm$^2$)** | *378 (46,4)$^{a}$* | *528 (44,2)$^{b,c}$* | *482 (40,3)$^{a,b}$* | *531 (43,8)$^{b}$* | *631 (44,0)$^{c}$* |

*Standart sapma değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Farklı harfler istatistiksel olarak farklı değerleri temsil etmektedir.

Ti katkısının ticari silika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Ti içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri Tablo 18'de verilmiştir. Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre Tablo 18'de verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir farklılaşma vardır. Yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde farklılığın "Katkısız T" ve "%4 Ti-T" olarak adlandırılan biyoaktif cam numunelerden kaynaklandığı belirlendi. Buna göre, ticari silika içeren biyoaktif camlara Ti ilavesi biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerini arttırmıştır. % 2 Ti katkılı biyoaktif cam numune Vickers sertlik değeri ile % 4 Ti katkılı biyoaktif cam numune Vickers sertik değerleri % 95 güven düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklıdır. Buna göre biyoaktif cam yapısına ilave edilen Ti miktarındaki artış ile ticari silika içeren biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerlerinin arttığı söylenebilir.

Çizelge 6.5 Ti katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

| | **HV* (kg/mm$^2$)** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Katkısız-B** | **%0,5 Ti-B** | **%1 Ti-B** | **%2 Ti-B** | **%4 Ti-B** |
| **YVS Öncesi** | *329 (51,5)$^{a}$* | *544 (76,8)$^{b,c}$* | *493 (56,4)$^{b}$* | *505 (48,9)$^{b,c}$* | *610 (59,5)$^{c}$* |
| **YVS Sonrası 7. Gün** | *111 (36,8)$^{d}$* | *101 (22,1)$^{d}$* | *109 (22,9)$^{d}$* | *107 (15,5)$^{d}$* | *120 (36,7)$^{d}$* |
| **YVS Sonrası 14. Gün** | *93 (29,3)$^{d}$* | *78 (19,5)$^{d}$* | *104(36,1)$^{d}$* | *95 (12,8)$^{d}$* | *105 (30,3)$^{d}$* |
| **YVS Sonrası 21. Gün** | *86 (11,9)$^{d}$* | *79 (19,9)$^{d}$* | *64 (10,1)$^{d}$* | *85 (19,3)$^{d}$* | *81 (11,1)$^{d}$* |
| **YVS Sonrası 28. Gün** | *81 (17,1)$^{d}$* | *83 (11,3)$^{d}$* | *61 (5,1)$^{d}$* | *77 (24,3)$^{d}$* | *74 (8,3)$^{d}$* |
| **28. gün sonrası % değişim** | *75.4* | *84.7* | *87.6* | *84.8* | *87.9* |

*Standart sapma değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Farklı harfler istatistiksel olarak farklı değerleri temsil etmektedir.

Biyosilika ile hazırlanan Ti katkılı biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri Çizelge 6.5'te verilmiştir. Ti katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers Sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda, YVS içerisinde 7, 14, 21 ve 28 gün bekletilen biyosilika içeren Ti katkılı ve katkısız biyoaktif

camların Vickers sertlik değerlerinin YVS öncesi Vickers sertlik değerlerinden % 95 güven düzeyinde istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 7, 14, 21 ve 28. günlerde ölçülen Vickers sertlik değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı Çizelge 6.5'te görülmektedir.

Çizelge 6.6 Ti katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

| | **HV* (kg/mm$^2$)** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Katkısız-T** | **%0,5 Ti-T** | **%1 Ti-T** | **%2 Ti-T** | **%4 Ti-T** |
| **YVS Öncesi** | *378 (46,4)$^{a,d}$* | *544 (76,8)$^{b,c}$* | *493 (56,4)$^{a,b}$* | *505 (48,9)$^{b,c}$* | *610 (59,5)$^{c}$* |
| **YVS Sonrası 7. Gün** | *319 (63,7)$^{d,e}$* | *101 (22,1)$^{e,f,g}$* | *109 (22,9)$^{d,e,f,g}$* | *107 (15,5)$^{d,e,f}$* | *120 (36,7)$^{f,g,h}$* |
| **YVS Sonrası 14. Gün** | *198 (45,6)$^{e,f,g,h}$* | *78 (19,5)$^{e,f,g,h}$* | *104 (36,1)$^{g,h}$* | *95 (12,8)$^{e,f,g}$* | *105 (30,3)$^{h}$* |
| **YVS Sonrası 21. Gün** | *136 (92,6) $^{g,h}$* | *79 (19,9)$^{g,h}$* | *64 (10,1)$^{h}$* | *85 (19,3)$^{h}$* | *81 (11,1)$^{h}$* |
| **YVS Sonrası 28. Gün** | *151(75,5) $^{g,h}$* | *83 (11,8)$^{h}$* | *61 (5,1)$^{h}$* | *77 (24,3)$^{h}$* | *74 (8,3)$^{h}$* |
| **28. gün sonrası % değişim** | 47 | 84.7 | 87.6 | 84.8 | 87.9 |

*Standart sapma değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Farklı harfler istatistiksel olarak farklı değerleri temsil etmektedir.

Ticari silika ile hazırlanan Ti katkılı biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri Çizelge 6.6'te verilmiştir. Ti katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers Sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir.

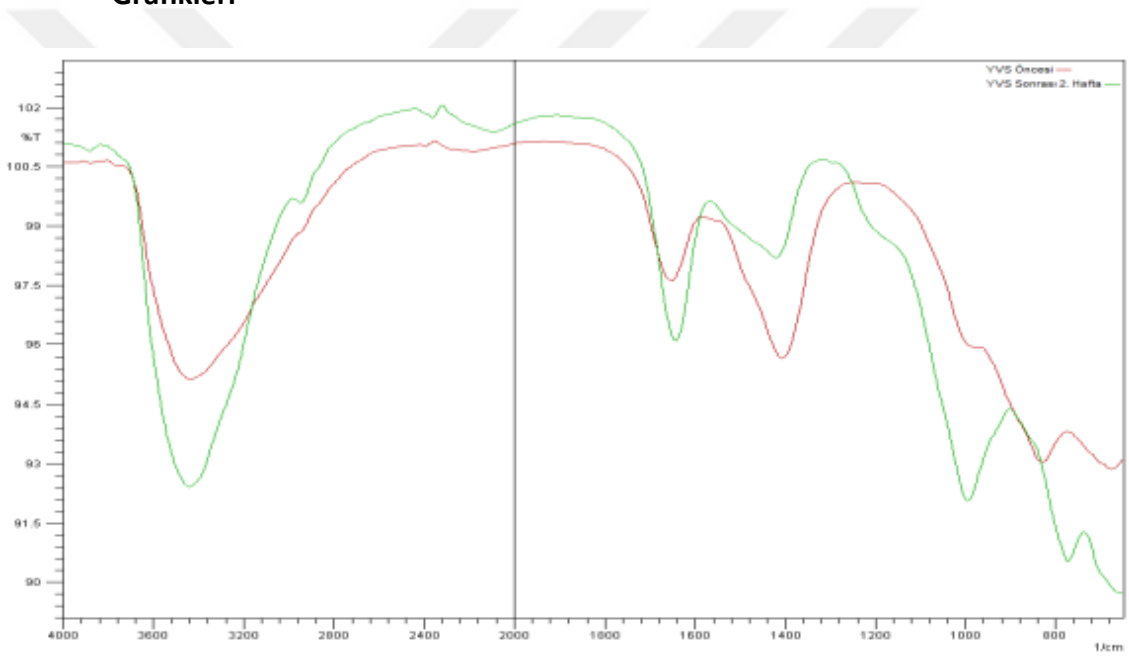
Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda, YVS içerisinde bekletilen ticari silika içeren Ti katkılı ve katkısız biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinin YVS öncesi Vickers sertlik değerlerinden % 95 güven düzeyinde istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür. Ti katkılı biyoaktif cam numunelerin YVS içerisindeki 7. günlerinde elde edilen Vickers sertlik değerlerinin YVS öncesi Vickers sertlik değerinden % 95 güven düzeyinde farklı olduğu, "Katkısız-T" biyoaktif cam numunenin ise YVS içerisindeki 7. gün Vickers sertlik değerinin YVS öncesi Vickers değerinden % 95 güven düzeyinde farklı olmadığı görülmektedir (Çizelge 6.6). "Katkısız-T" biyoaktif cam numunenin YVS içerisindeki 14. gününde elde edilen Vickers sertlik değerinin YVS öncesi Vickers sertlik değerinden % 95 güven düzeyinde farklı olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında ticari silika içerikli biyoaktif camlara Ti ilavesinin yüzey HA tabakası oluşumunu hızlandırdığı söylenebilir. Biyosilikalı ve ticari silikalı camları karşılaştırdığımızda Ti katkısının ticari camlarda biyoaktiviteyi katkıssız olanlara göre daha önemli bir etki yaptığı sonucuna varılabilir.

### 6.5.5 FTIR Analizi Sonuçları

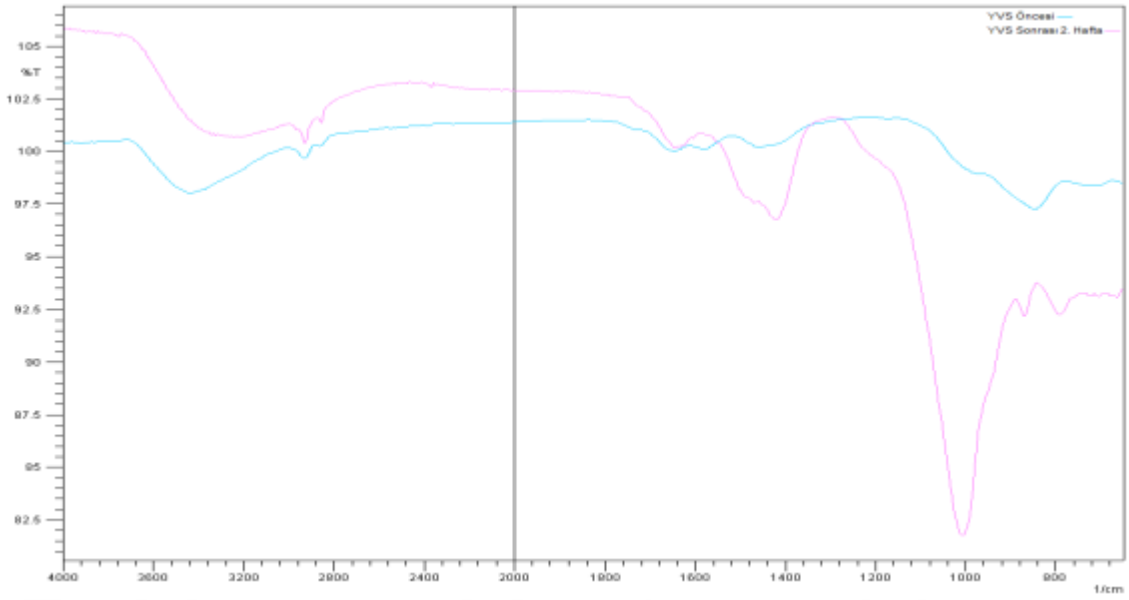
Şekil 6.22 - 6.30'da biyosilikalı veya ticari silikalı tüm biyoaktif camların YVS öncesi ve sonrası 14. gün FTIR analizleri verilmiştir. FTIR spektrumları incelendiğinde biyoaktif camların yapısında olması muhtemel Si-O-Si grupları 1020 cm-1 dalga boylarında görülmektedir. 850 cm-1 dalga boyunda görülen pik SiO4 tetrahedron yapısında iki adet köprü yapmamış oksijen içeren Si-OH gruplarını göstermektedir. 1020 cm-1 civarında ayrılmamış olan pik genel olarak 980 cm-1'de görülen pik (PO4)-3 gruplarını göstermektedir. 1648 cm-1'de ve 3000 cm-1 civarındaki pikler OH- gruplarını temsil etmektedir.

45S5 biyoaktif camların 7 ve 14 gün YVS içerisinde bekletildikten sonra FTIR spektrumlarında 950 cm-1 ve 1050 cm-1 arasında yer alan pikler HCA'e ait P-O bağı titreşimlerinden ileri gelmektedir. YVS sonrası analizde 1000 cm-1 civarında bu pikler görülmektedir. 1411 cm-1 civarında görülen pikler ise (CO3)-2 grubuna ait piklerdir. Biyoaktif cam yüzeyinde görülen (CO3)-2 ait pik yüzeyde HCA oluştuğunu göstermektedir. YVS sonrası analizde görülen 1639 cm-1 de yer alan pik OH gruplarına aittir. Ayrıca 3800 cm-1 ile 3000 cm-1 arasında yer alan bantlar ise OH gruplarını göstermektedir.

#### 6.5.5.1 Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri

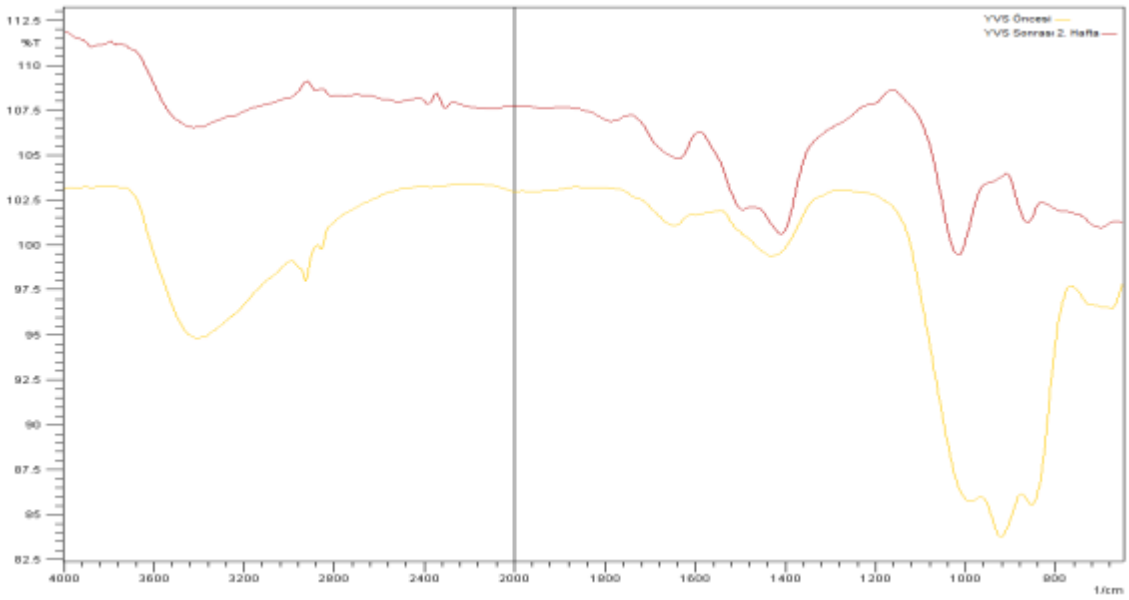



Şekil 6.22 Biyosilikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

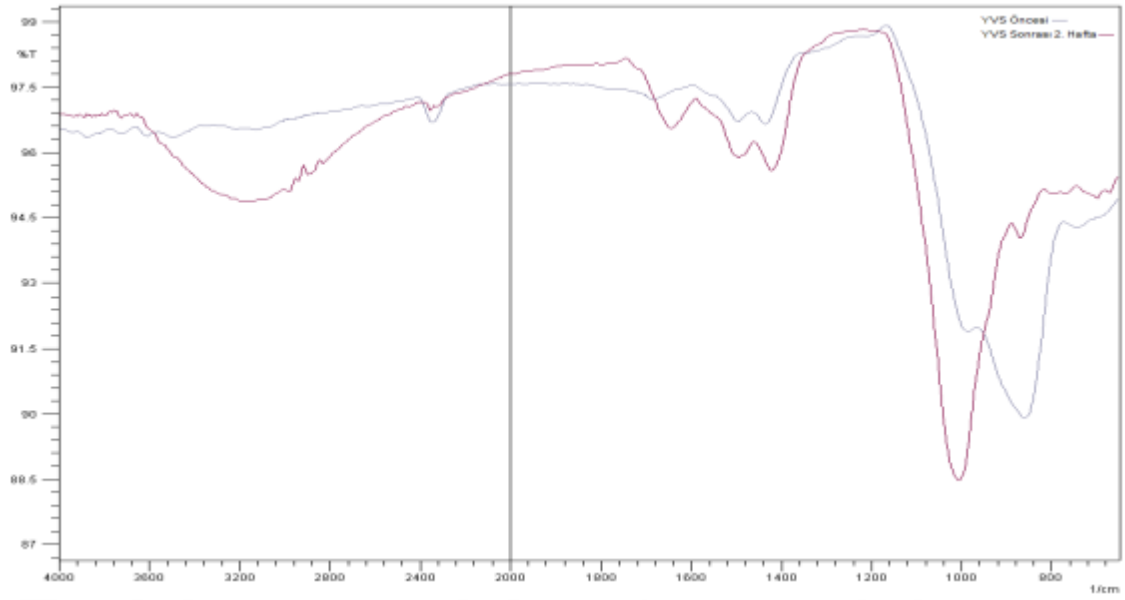



Şekil 6.23 Ticari silikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

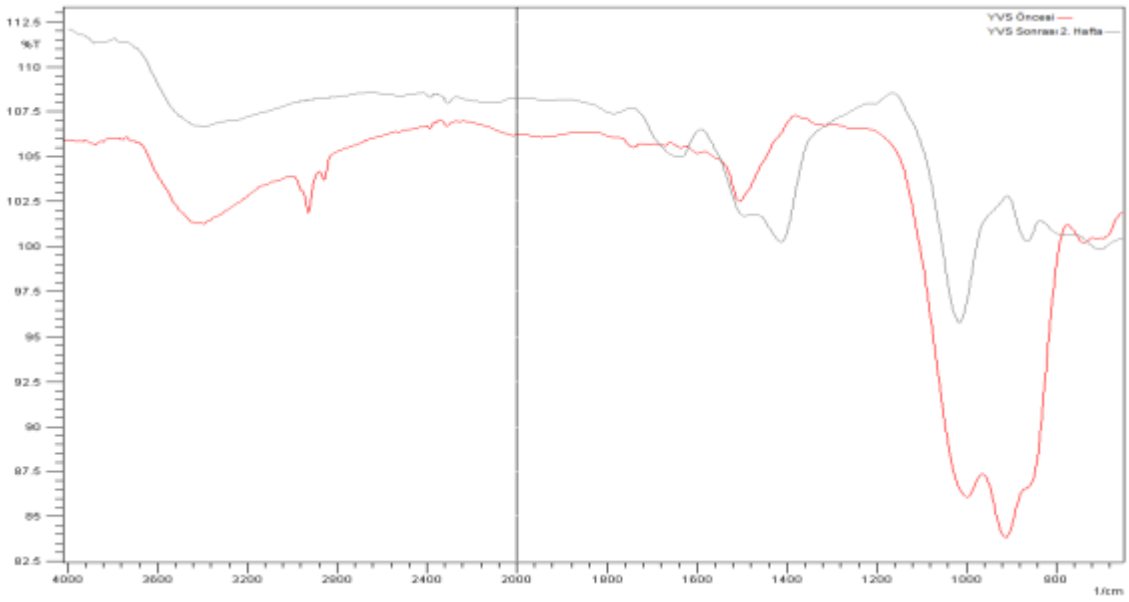
### 6.5.5.2 Ti Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri



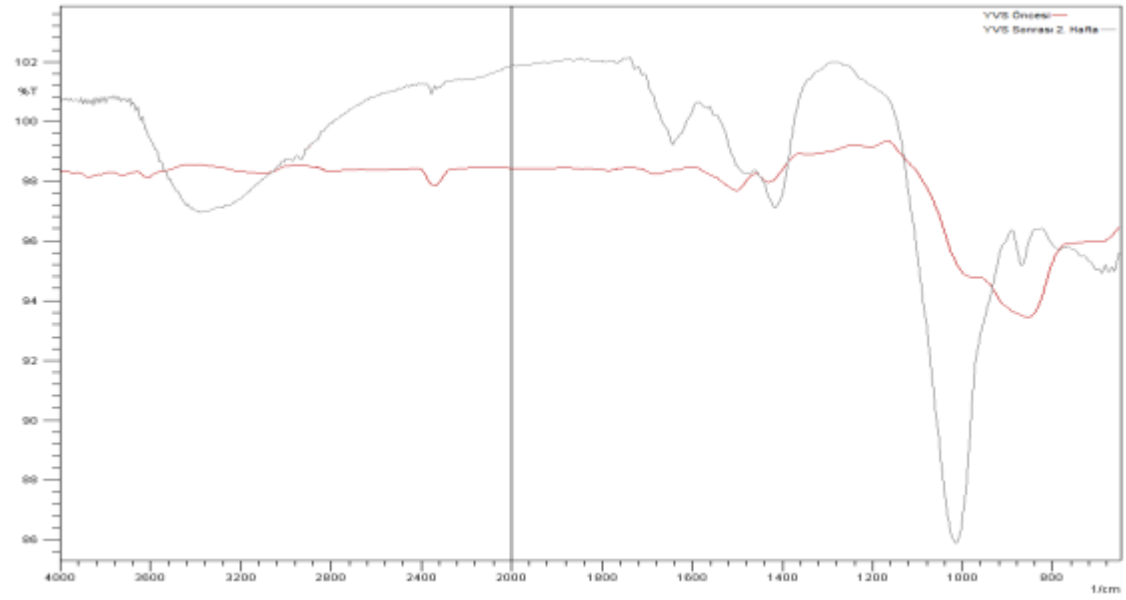

Şekil 6.24 Biyosilikalı %0.5 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



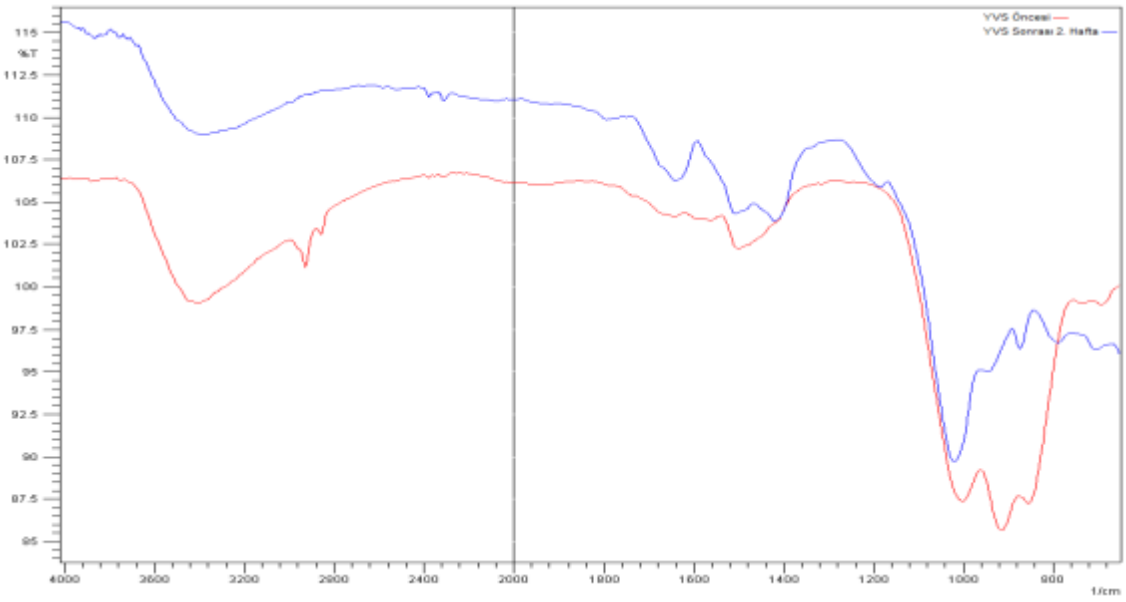

Şekil 6.25 Ticari silikalı %0.5 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



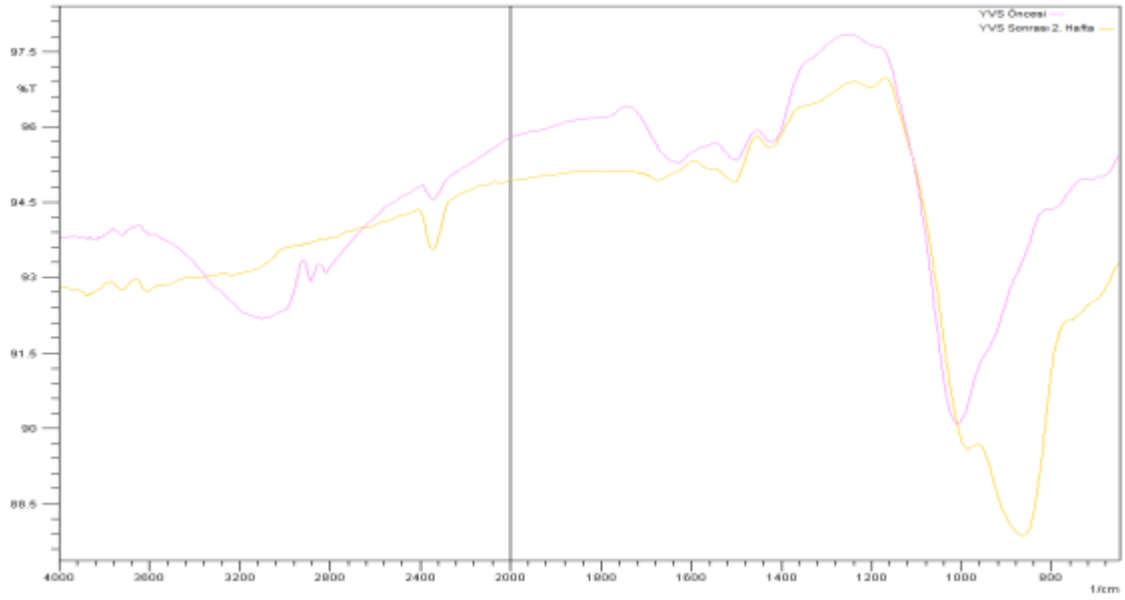

Şekil 6.26 Biyosilikalı %1 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



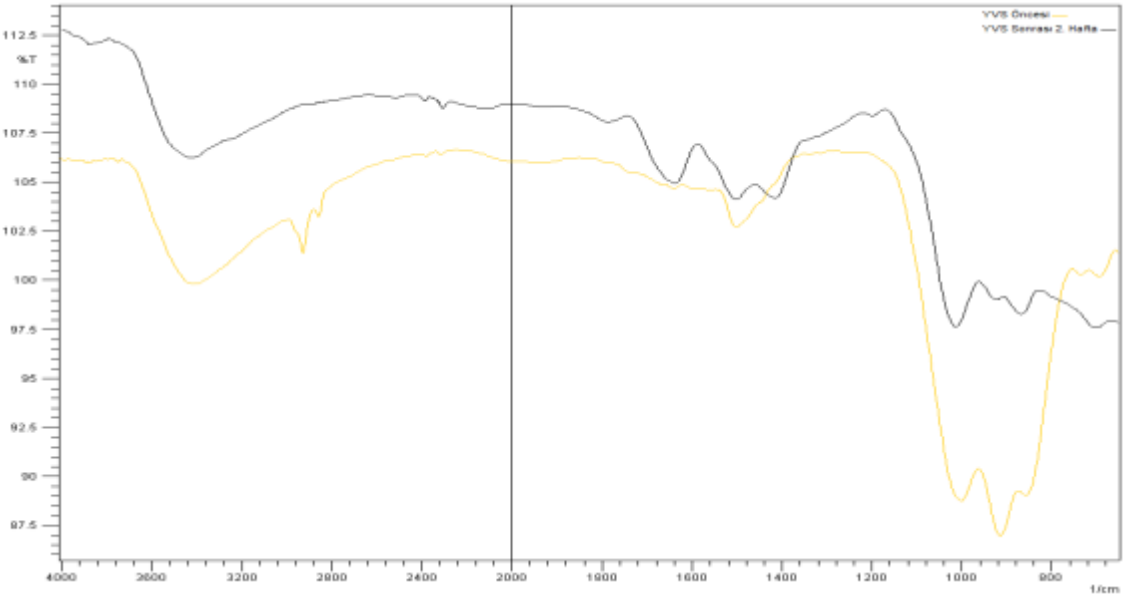

Şekil 6.27 Ticari silikalı %1 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta




Şekil 6.28 Biyosilikalı %2 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta




Şekil 6.29 Ticari silikalı %2 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2.Hafta



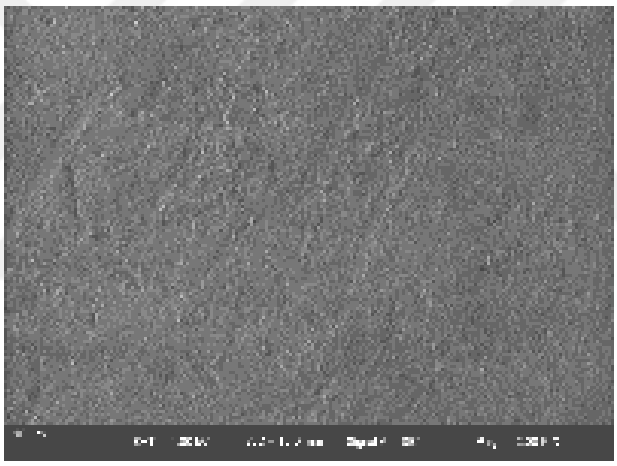

Şekil 6.30 Biyosilikalı %4 Ti Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

### 6.5.6 SEM Görüntüleri

YVS içerisinde 37°C'de inkübe edilen numunelerin dış yüzey morfolojilerinde meydana gelen değişiklikler SEM cihazı kullanılarak tayin edilmiştir. Katkısız biyoaktif camların YVS'na konulmadan önce ve bütün camların YVS sonrası 7, 14 ve 28. günlerde SEM görüntüleri alınmıştır. Çoklu ortam dosyası olarak yüklenen, Şekil 1-51 arasında

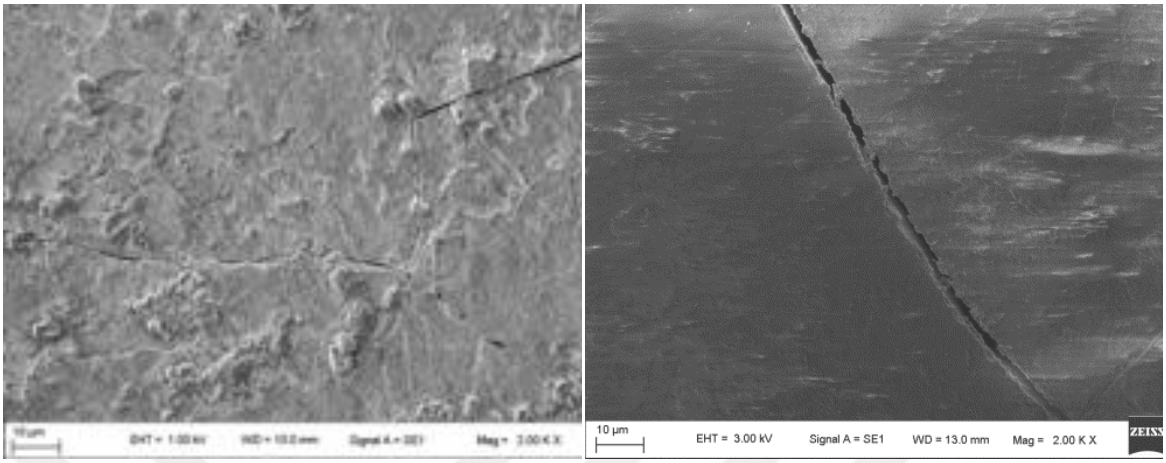
sıralanan SEM görüntüleri incelendiğinde YVS öncesine ait olan görüntülerde biyoaktif cam yüzeyinde düz ve homojen bir yapı gözlemlenmektedir. YVS sonrası 7. güne ait görüntülerde tüm biyoaktif camlarda HCA tabakasına ait çökelmeler görülmektedir. 14. güne ait görüntülerde HCA tabakasının tüm yüzeyde kaplandığı ve yüzeyde iyon salımından meydana gelen çatlaklar oluşmaya başladığı görülmektedir. Verilen görüntülerde tüm biyoaktif camlar için 28. günde apatit tabakasının yoğunlaştığı görülmektedir. Biyoaktif camların 28 gün içerisinde yüzeyinde oluşan çatlaklar biyobozunurluğuna ve yüzeyinde oluşan HCA tabakası biyoaktivitesine işaret eder. İn vitro ortamda YVS içerisinde HA oluşumu in vivo ortamda kemiğe sıkı bağlanma ile doğrudan ilişkilidir ve bu mekanizma hakkında önemli bilgiler vermektedir.

#### 6.5.6.1 Katkısız Biyoaktif Camların SEM Görüntüleri

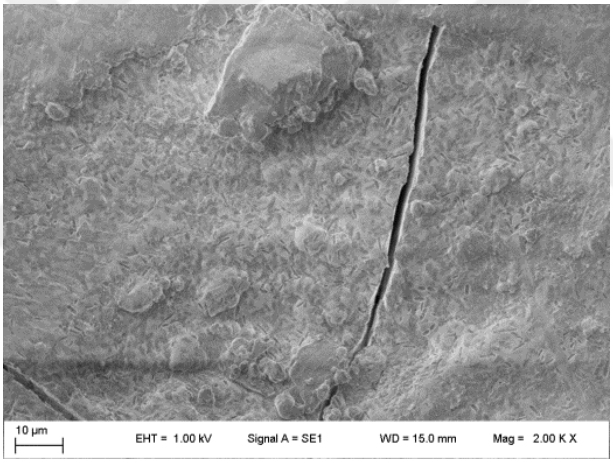


(A) (B)

Şekil 6.31 YVS öncesi katkısız biyoaktif cam SEM görüntüleri

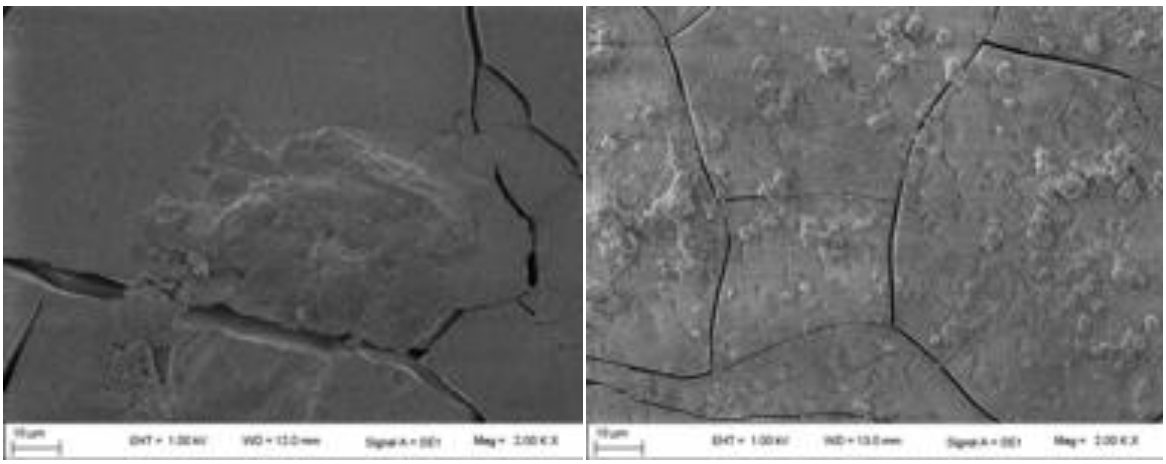



(A) (B)

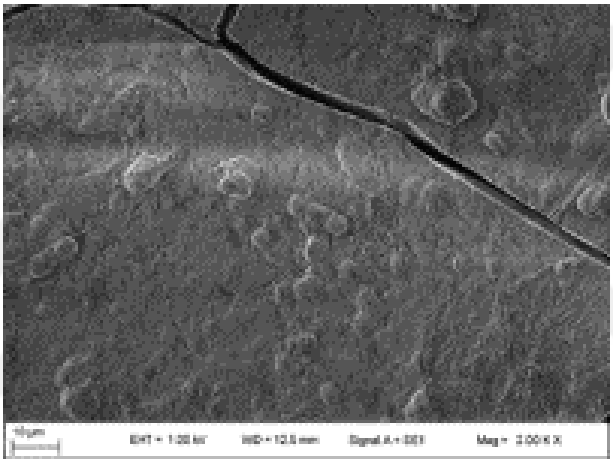



(C)

Şekil 6.32 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen katkısız-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



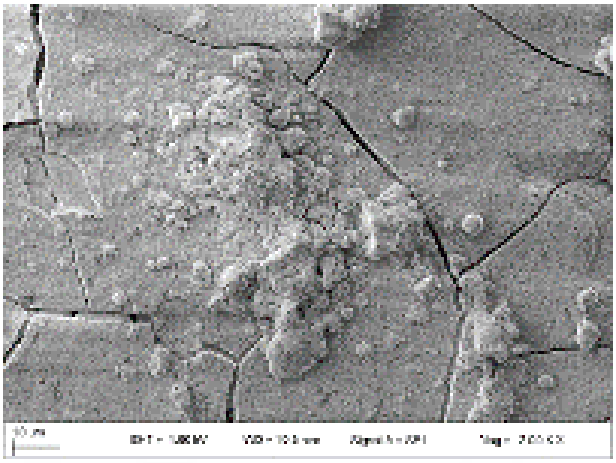
(A) (B)



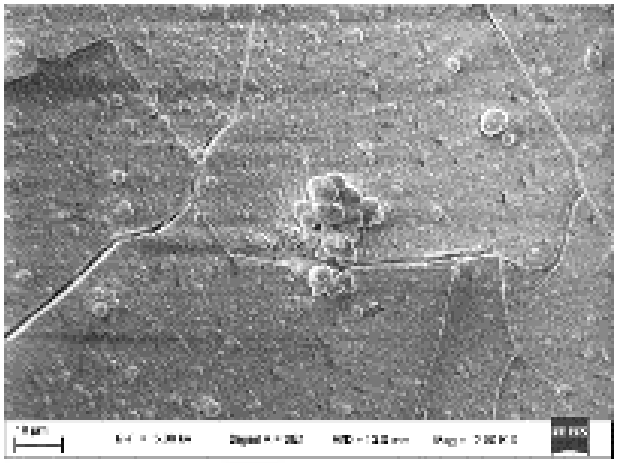
(C)

Şekil 6.33 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen katkısız-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

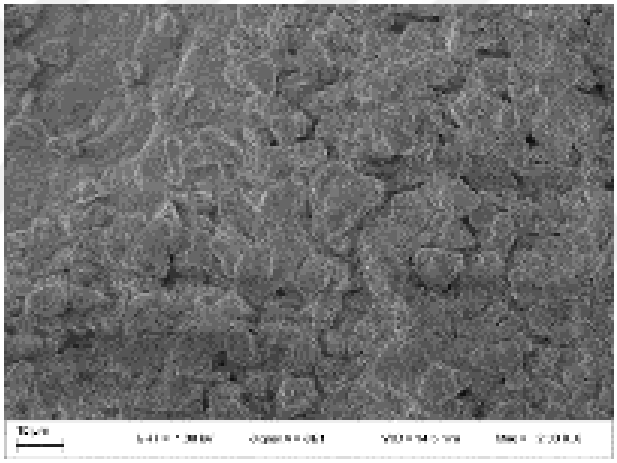
### 6.5.6.2 Ti Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri



(A)

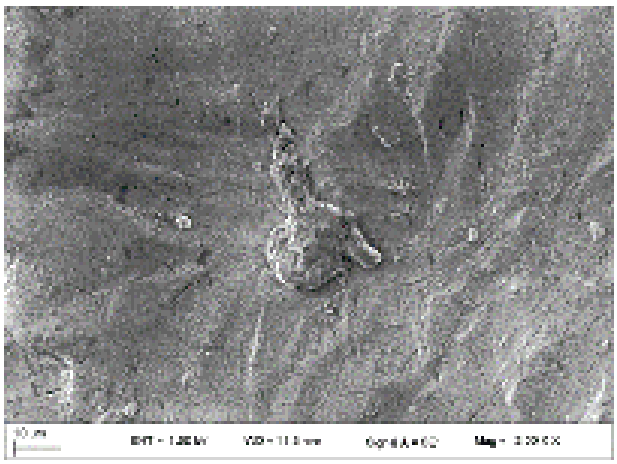


(B)

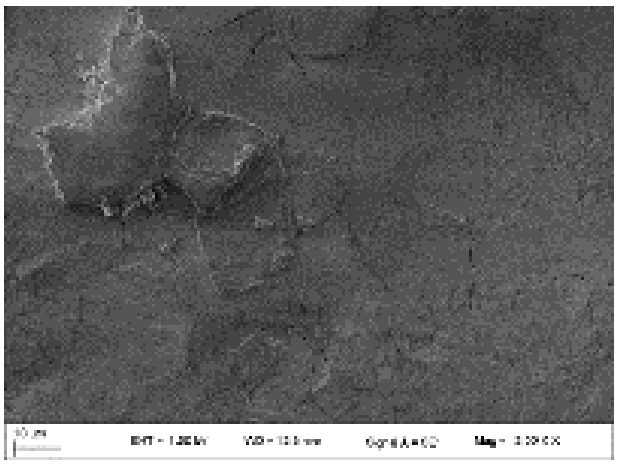


(C)

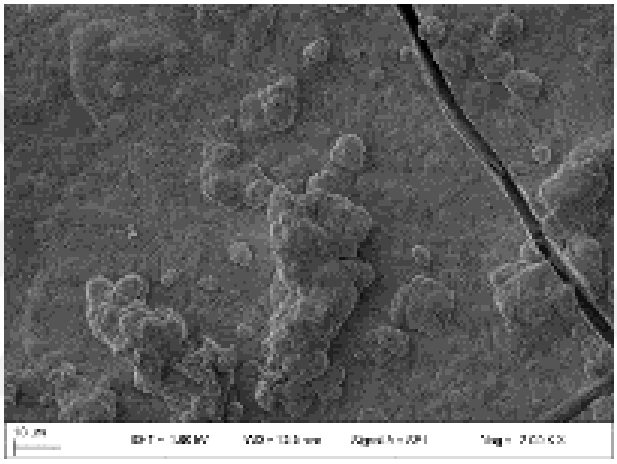
Şekil 6.34 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

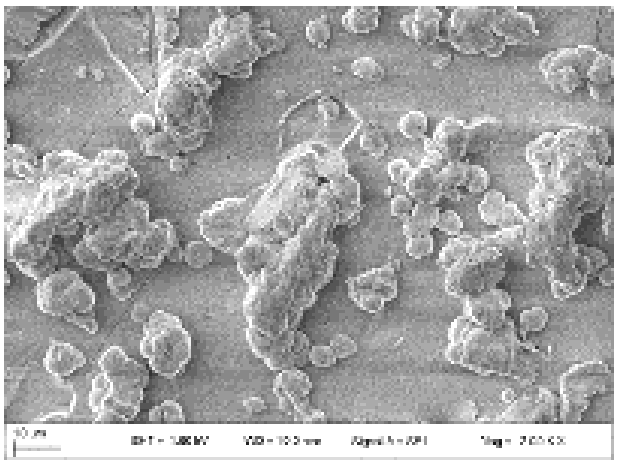


(B)

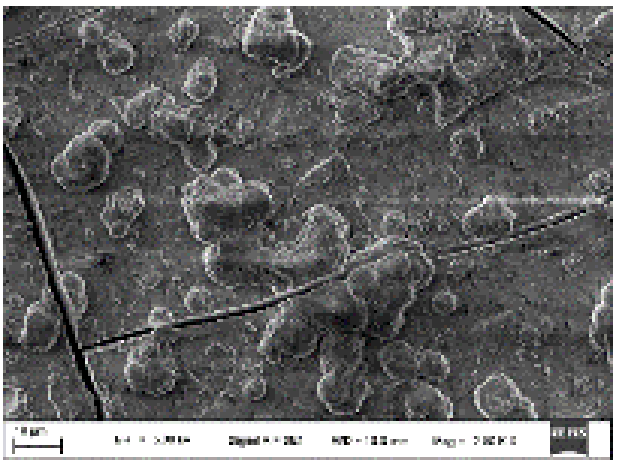


(C)

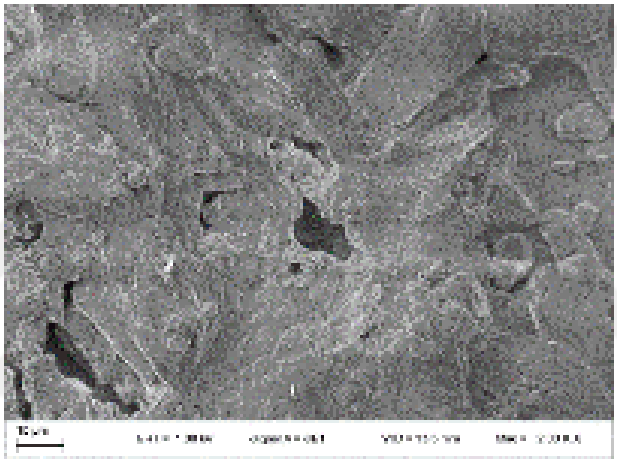
Şekil 6.35 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

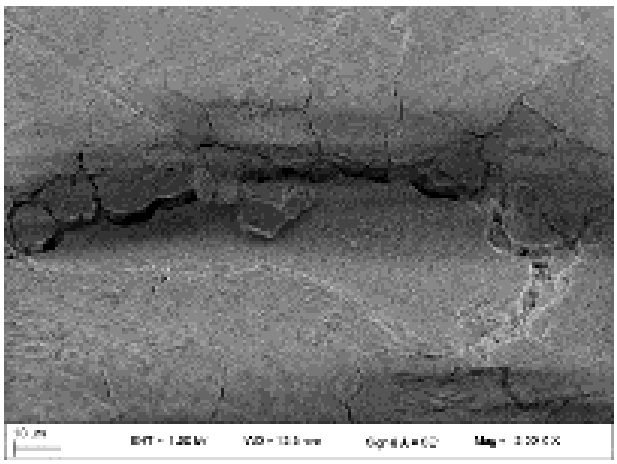


(B)

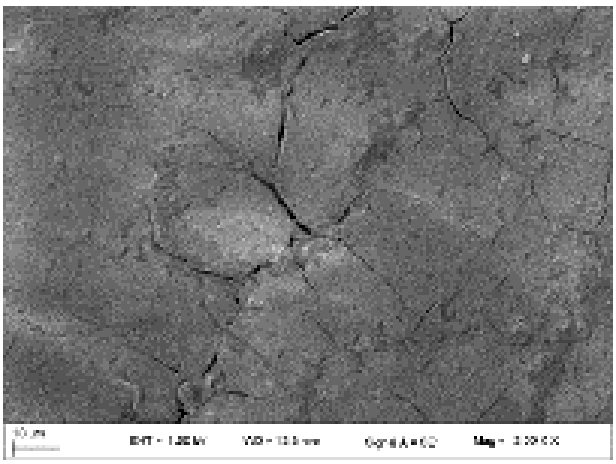


(C)

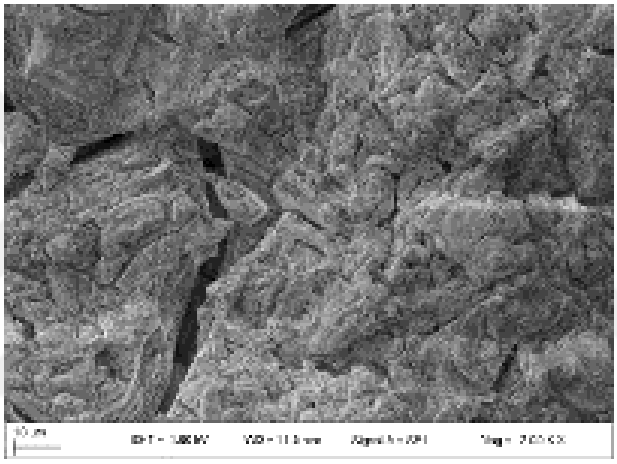
Şekil 6.36 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 1 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

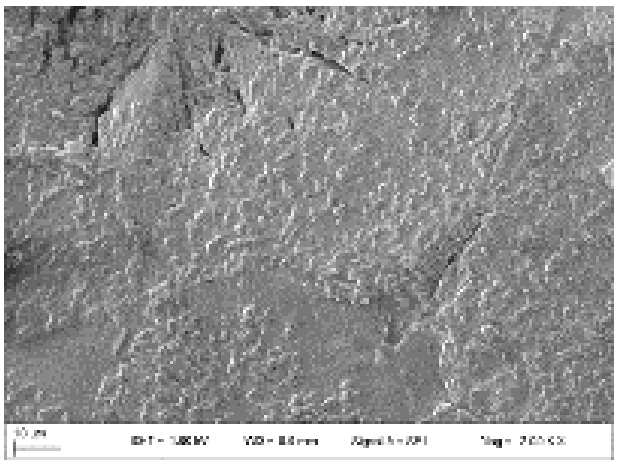


(B)

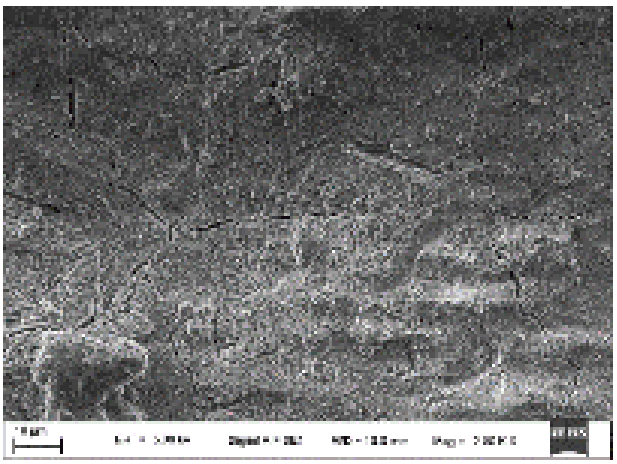


(C)

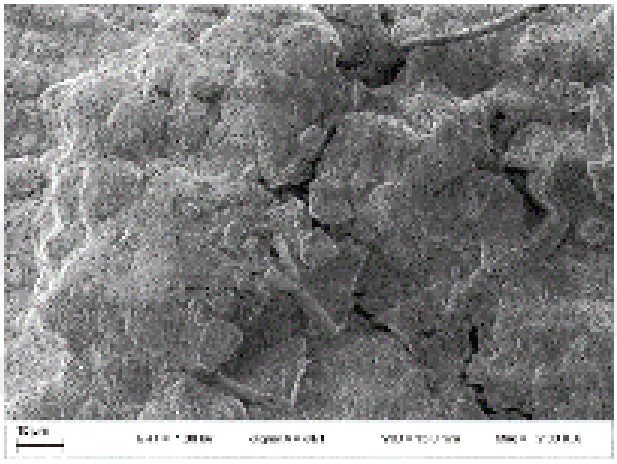
Şekil Şekil 6.37 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 1 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

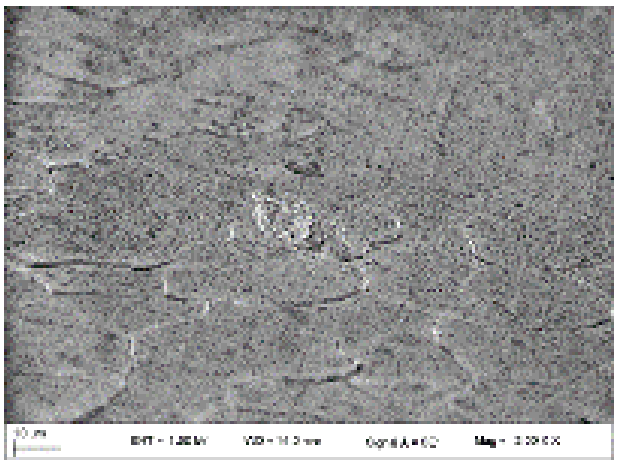


(B)

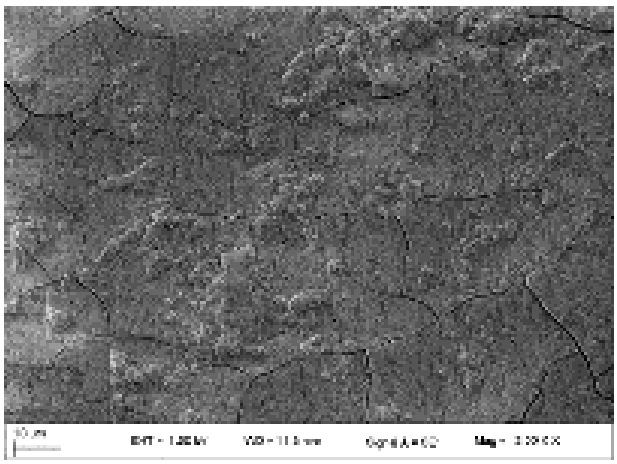


(C)

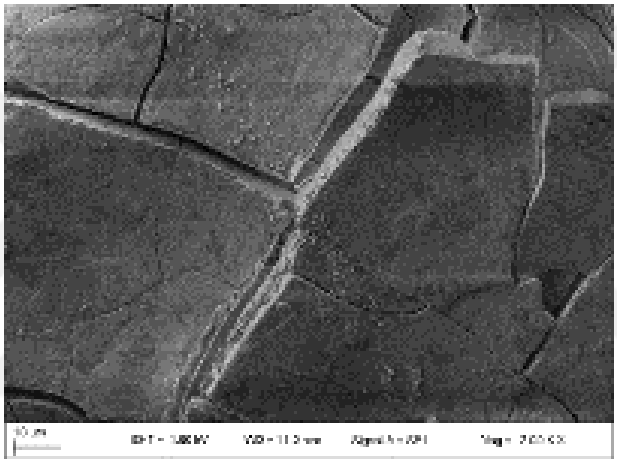
Şekil Şekil 6.38 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 2 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

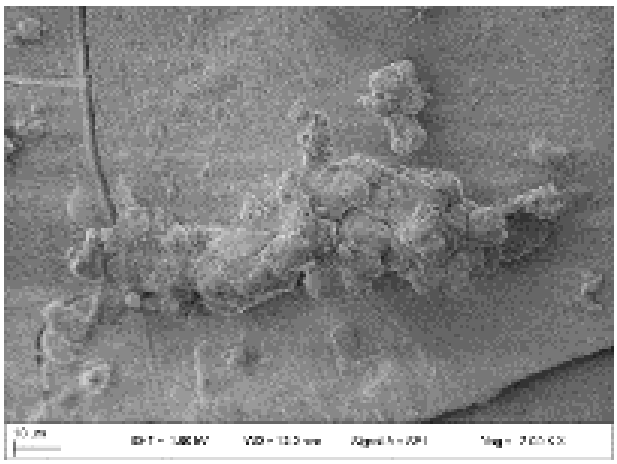


(B)



(C)

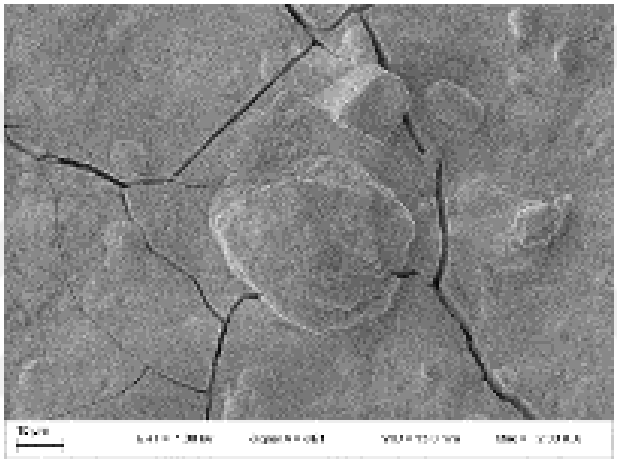
Şekil Şekil 6.39 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 2 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

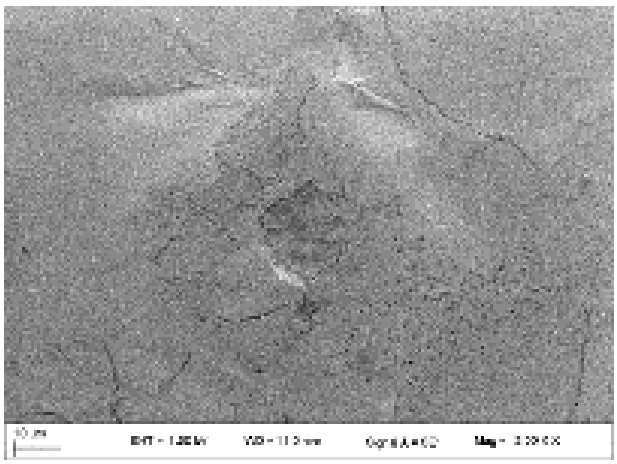


(B)

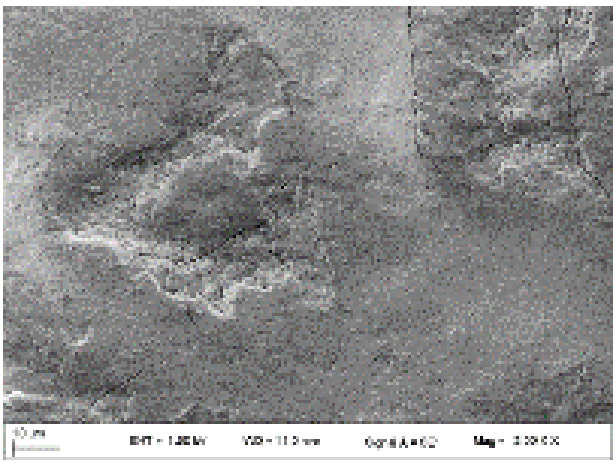


(C)

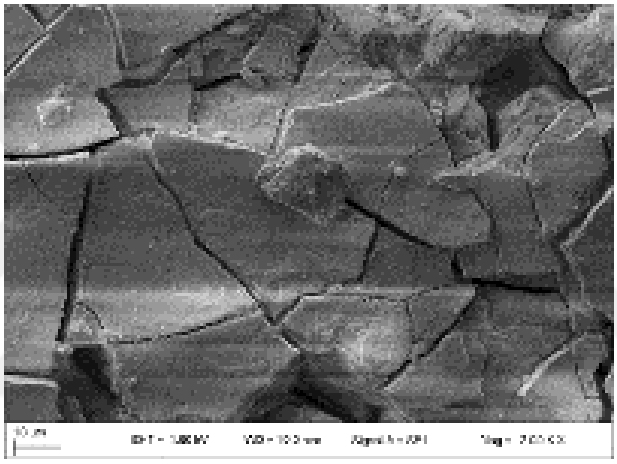
Şekil 6.40 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 4 Ti-B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)



(B)



(C)

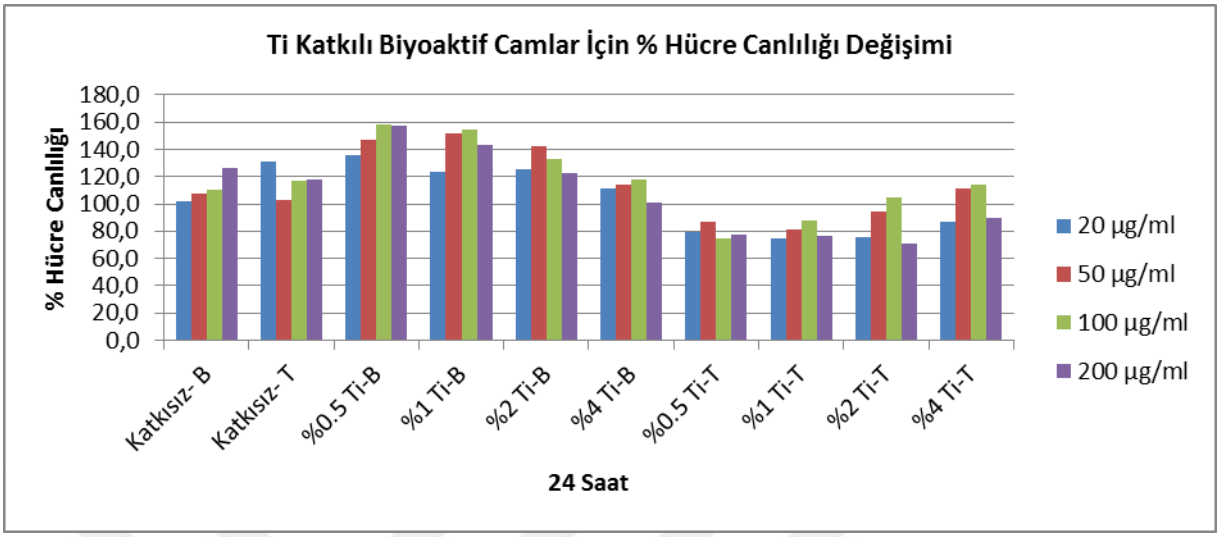
Şekil 6.41 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2, (C) 4 hafta bekletilen % 4 Ti-T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

### 6.5.7 Hücre Çalışmaları

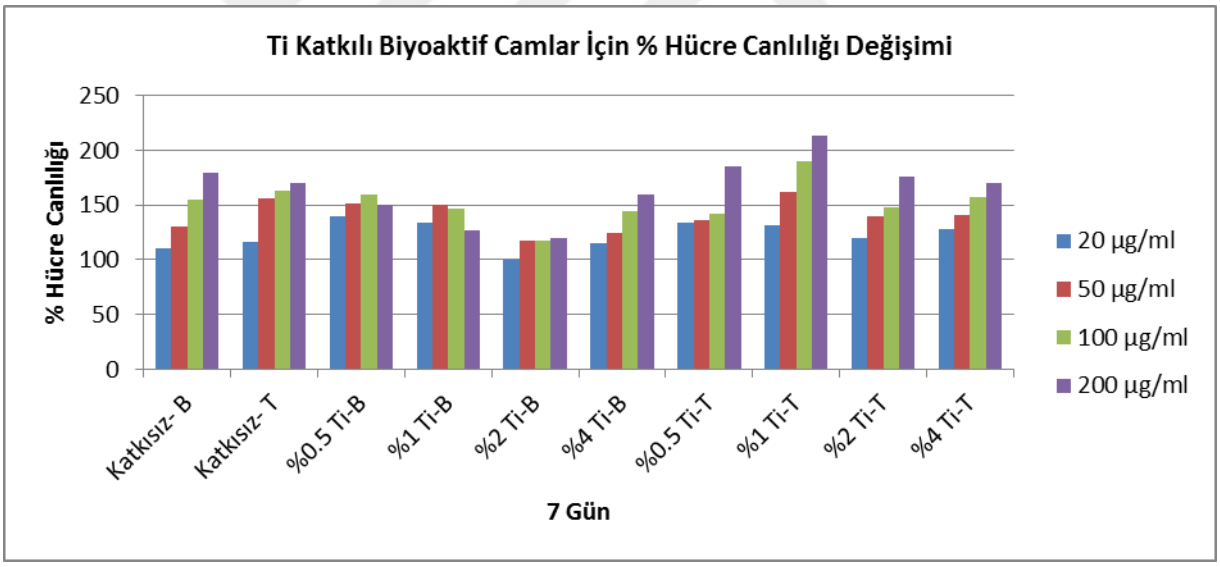
#### 6.5.7.1 Hücre Kültürü, Hücre Canlılığı ve Sitotoksisite Sonuçları

SAOS-2 osteoblast benzeri hücreler, 24 saat ve 7 gün boyunca 20 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında biyoaktif camlara maruz bırakıldı. Çalışılan konsantrasyonlar içerisinde en iyi büyümenin 100 µg/ml'lik konsantrasyonda olduğu tespit edildi ve farklılaştırma deneylerinde 100 µg/ml'lik konsantrasyon kullanıldı. Çalışmalar sonucunda hem ticari hem biyosilikalı katkılı ve katkısız tüm biyoaktif camların hücreler üzerinde toksik bir etkisi olmadığı saptandı. Şekil 6.42 ve 6.43'te

farklı konsantrasyonlarda biyoaktif camlara maruz bırakılan hücrelerin hücre canlılığına etkisi verilmiştir.




Şekil 6.42 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi




Şekil 6.43 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi

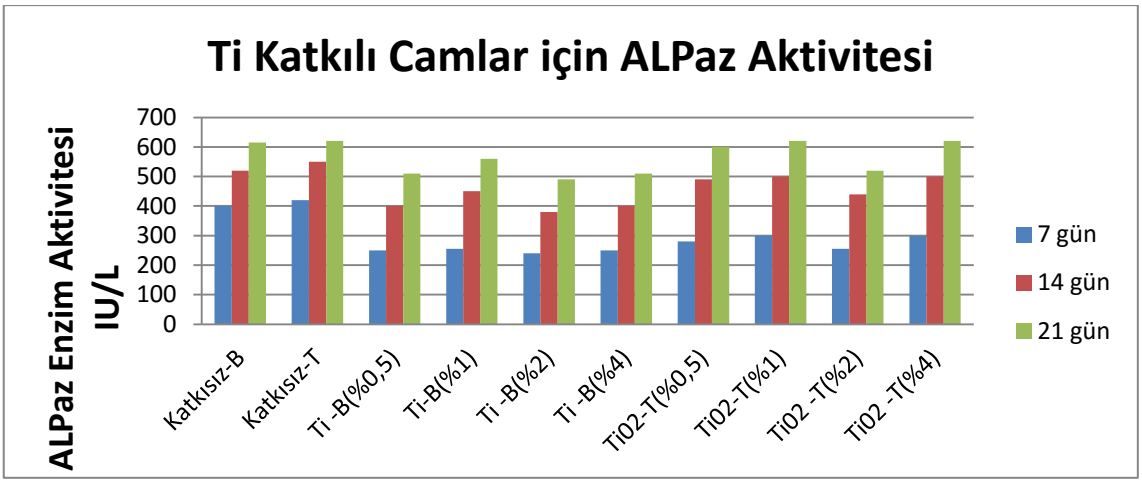
Şekil 6.42 ve 6.43 incelendiğinde 24 saatlik inkübasyon sonunda biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlarda %0.5, %1 ve %2 katkı oranlarının hücre canlılığını ticari silikalı ve katkısız biyoaktif camlara kıyasla oldukça arttırdığı görülmektedir. Ticari silikalı Ti katkılı biyoaktif camların ise ilk 24 saatte hücre canlılığına çok etkisi olmadığı fakat 7 gün sonunda hücre büyümesini arttırdığı Şekil 6.43'te görülmektedir. Hücre canlılığına en

fazla katkı sağlayan ise %1 Ti katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda olduğu görülmektedir.

Ti genellikle diş implantlarında kullanılan biyouyumlu bir iyondur. Yüksek toksisitesi görülmemesinden dolayı kemik gelişimini tetiklemekte ve hızlandırmaktadır. Yapılan biyomalzeme çalışmalarında diş implant malzemesi olarak özellikle Ti kullanmaktadırlar. Ti yüksek ALP aktivitesi göstermiş ve hücrede ekstracellular matriks gelişiminin sağlayarak hücre büyümesine katkı sağlamıştır. Aynı zamanda kemik oluşu ile ilgili genlerin de ifadesini arttırmaktadır (Postiglio vd., 2003). Bu sonuçlar bizim elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içerisindedir.

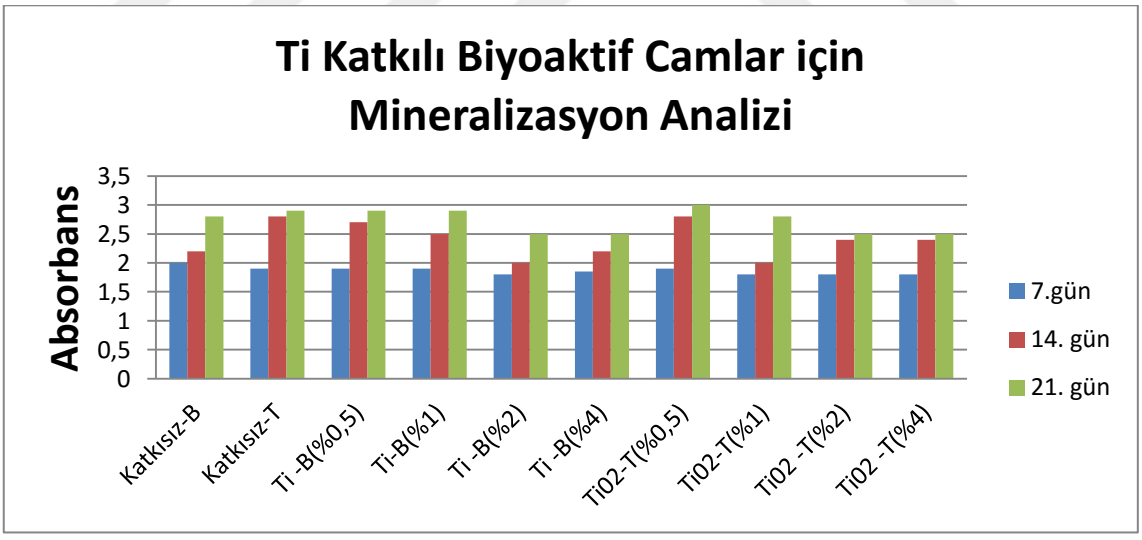
#### 6.5.7.2 Mineralizasyon ve Alkalin Fosfataz Aktivitesi Sonuçları

Alkalin fosfataz enzimi kemik oluşumu sırasında aktivitesi artan ve kemik oluşumu tamamlandığında aktivitesini kaybeden bir enzimdir. Alkalin fosfataz, osteoblastik hücrelerin proliferasyon, göç ve farklılaşmasını regüle eden bir yüzey proteinidir. Biyoaktif camın SAOS-2 osteoblast benzeri hücreler ile inkübe edilerek yedniden kemik oluşum mekanizmasını bu enzim aktivitesinin takibi ile açıklamak mümkündür. 21 günlük inkübasyon sonunda alınan ALPaz enzim aktivitelerine bakıldığında enzimin aktivitesinin artışta olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar ışığında tüm biyoaktif camlar için 21 günlük inkübasyon sonrası hala kemik oluşumunun devam ettiğini söylemek mümkündür. Kemik oluşumunun tamamlandığı zaman ise enzim aktivitesinin düştüğü andan itibaren olacaktır. Literatürde doğal kemik onarım mekanizmasının 21.gün ila 35. Günler arasında ALPaz Aktivitesi oranı düşmektedir. Hücre büyümesi ve ALP sonuçlarına bakıldığında genel olarak hemen hemen her konsantrasyonda hücre büyümesinin arttırdığı görülmektedir. İçlerinde en çok arttıranların %1 ve 4 Ti katkılı ticari biyoaktif cam olduğu söylenebilir. Biyosilikalı camlarda ise %1 katkı en iyi sonucu vermiştir. Katkısız biyosilikalı ve ticari camların ALPaz aktivitesi hemen hemen aynı olduğu görülmektedir.




Şekil 6.44 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camlar için, 7. 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi

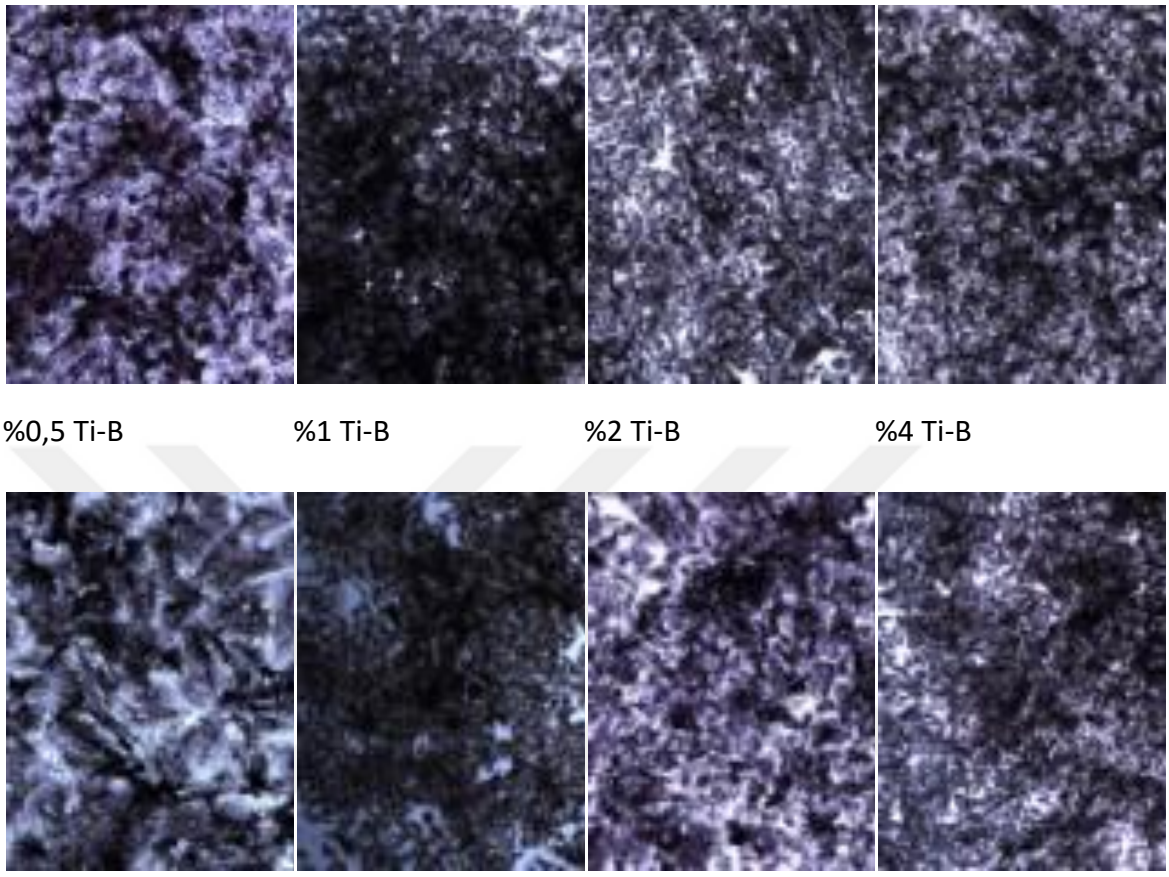
Mineralizasyon analizinde kalsiyum kristalleri oluşumunu görebilmek için hücre kültürleri Arsenoza-III ile boyanmış ve sonucu spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Tüm biyoaktif camlar için 7, 14 ve 21. günde yapılan analizler sonucu absorbans değerlerinin arttığı görülmüştür. Absorbans değerlerinde meydana gelen bu artış kalsiyum kristalleri oluşumunun 21. gün sonunda hala artışta olduğunu göstermektedir.




Şekil 6.45 Ticari silikalı ve biyosilikalı Ti katkılı biyoaktif camların mineralizasyon analizi

Hücre kültürlerinde kalsiyum kristallerinin oluşumunun mikroskobik analizi Alizarin Red S boyaması ile yapılmıştır. Aşağıdaki mikroskop görüntülerinde tüm biyoaktif camların her katkı oranları için yapılan mineralizasyon analizinde meydana gelen kalsiyum kristallerinin oluşumları verilmiştir. Boyama sonucu oluşan siyah noktalar kalsiyum

kristallerini göstermektedir. Bu durumda tüm biyoaktif camlarda kalsiyum oluşumu söz konusudur.



%0,5 Ti-B %1 Ti-B %2 Ti-B %4 Ti-B

%0,5 Ti-T %1 Ti-T %2 Ti-T %4 Ti-T

Şekil 6.46 Tüm biyoaktif camlar için mineralizasyon analizi mikroskobik görüntüleri

ALPaz aktivitesi ve Ca kristallerinin oluştuğu mineralizasyon verileri birlikte değerlendirildiğinde sonuçların paralellik gösterdiği gözlenmiştir. Ticari Ti içerikli camlardan %1 ve %4 katkılı camlar ve %1 Ti katkılı biyosilikalı biyocamlarda 21.güne kadar Ca kristallerinin oluşumlarının diğer katkı oranlarına sahip camlara oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Bu da kemiğin mekanik dayanımının bir göstergesidir.

# BÖLÜM 6

## GENEL SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında 45S5 biyoaktif camların üretiminde biyojenik silika kaynağı olarak kullanılan pirinç kabuğu külü ve sonuçların karşılaştırılması için de ticari silika kullanılmıştır. %0.5-4 oranında Ti biyoaktif camlara eklenerek, camların özelliklerine olan etkileri incelenmiştir. Pirinç kabuğu silika yönünden oldukça zengin bir tarımsal atıktır. İçerisindeki silis haricinde bazı faydalı safsızlık iyonları içermektedir. İçerdiği bu safsızlıkların ve Ti ilavesinin üretilen biyoaktif camların mekanik özelliklerine, biyoaktivite ve biyobozunurluk davranışlarına olan katkıları ayrı ayrı incelenmiştir. Ayrıca hücre çalışmaları yapılarak (MTT, Alkalen fosfataz aktivitesi ve mineralizasyon analizleri) üretilen biyoaktif camların kemik oluşumuna etkisi ve hücre toksisitesi incelenmiştir. Tüm bu çalışmaların ışığında aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

1. YVS çözeltisi içerisinde inkübe edilen Ti katkılı biyoaktif camlarda zamana bağlı olarak ağırlık değişimlerinin azaldığı bu azalmanın hem ticari hem de biyosilikalı camlarda %1 ve %4 katkılı camlarda olduğu görülmüştür. %0.5 Ti katkılı biyosilikalı camda parçalanma olduğu ve bu katkının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır.
2. TRIS çözeltisi içersinde inkübe edilen biyoaktif camlarda Ti katkısının biyobozunurluğu artırdığı saptanmıştır. Biyobozunurluk biyoaktif camlarda %1 ve 4 katkılı camlarda maksimum değerde iken, ticari katkılı camlarda %2 katkılı camda görülmüştür.

3. Ti katkısı arttıkça TRIS içerisnde bekletilen tüm biyoaktif camlarda pH değerlerinde azalma artmaktadır. Ticari silikalı Ti katkılı biyoaktif camlarda pH değerlerinin daha fazla bulunması iyon salımının bu camlarda daha fazla olduğunu göstermektedir.
4. Biyoaktif cam yapısına ilave edilen Ti biyoaktif cam numunelerinin Vickers sertlik değerlerini önemli ölçüde arttırmıştır. Bu da titanyumun biyoaktif camların mekanik özelliklerini arttırdığını göstermektedir. YVS içersinde 28 gün bekletilen biyosilikalı ve ticari silikalı camlarda hidroksiapatit oluşumundan dolayı vickers sertlik değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Ti katkısı ticari silikalı camlarda katkısız cama göre biyoaktiviteyi önemli ölçüde arttırmıştır. Ti katkısının biyoaktiviteyi arttırma oranı biyosilikalı camda ticari camlara nazaran daha azdır.
5. Yapılan FTIR analizlerine göre biyosilikalı ve ticari silikalı tüm biyoaktif camların HCA oluşumuna bağlı olarak Si-O-Si pikinin 14 günlük inkübasyon sonunda azaldığı, Si-OH, (CO3)-2 ve (PO4)-3 gruplarına ait pik değerlerinin arttığı gözlenmiştir.
6. Tüm biyoaktif camların YVS sonrası SEM görüntülerinde yüzeyde oluşan çatlaklar ve HCA tabakası görülmektedir. Çatlaklar camların biyobozunurluğunun bir göstergesidir.
7. Üretilen biyoaktif camların YVS içerisindeki inkübasyonu sırasında salınan iyonların analizleri yapıldığında, HCA tabakası oluşumunda yapıya katılan Ca+2 iyonlarının 28 gün boyunca haftalık olarak azaldığı görülmüştür. Na+ iyonları ise devamlı olarak salınmıştır. Bu durum HCA tabakasının oluştuğuna işaret etmektedir. Yapılan vickers sertlik ölçümleri ve SEM görüntüleri de bu sonuçla paralellik taşımaktadır.
8. Yapılan in vitro analizlere göre kemik-benzeri hücreler için Ti katkılı tüm biyoaktif camlarda herhangi bir sitotoksisiteye rastlanmamıştır.
9. Hücre proliferasyonu ve ALP sonuçlarına bakıldığında genel olarak hemen hemen her ekilen biyoaktif cam konsantrasyonunda hücre proliferasyon artmıştır. Hücre çoğalması %1 ve 4 Ti katkılı ticari biyoaktif camlarda ve % 1 Ti katkılı biyosilikalı camlarda diğerlerine göre yüksek bulunmuştur. Katkısız biyosilikalı ve ticari camlarn ALPaz aktivitesi birbirine çok yakındır.
10. Ti katkılı biyoaktif camların mineralizasyon çalışmalarında %1 ve % 4 katkılı ticari Ti içerikli camlarda ve %1 Ti katkılı biyosilikalı biyocamlarda Ca kristallerinin

oluşumları ve bunun paralelinde mekanik dayanımları diğer katkı oranlarına sahip camlara göre daha fazla bulunmuştur.

## KAYNAKLAR


[1] Hayes, W.C. (1991). Biomechanics of Cortical and Trabecular Bone.In basic orthopaedic biomechanics, Editör: Mow, V.C. ve Hayes, W.C., New York:Raven Press. 93-142.

[2] Junqueira's Basic Histology, The McGraw-Hill Education, 13th Edition, Fig.8.18

[3] Einhorn, T. A., ve Gerstenfeld, L. C. (2015). 'Fracture healing: mechanisms and interventions.', Nature Reviews Rheumatology, 11(1): 45-54.

[4] Hench, L. L., Day, D. E., Höland, W., ve Rheinberger, V. M. (2010). 'Glass and medicine.', International Journal of Applied Glass Science, 1(1): 104-117.

[5] Hench, L. L. (1998). 'Bioceramics, a clinical success.', American Ceramic Society Bulletin, 77(7): 67-74.

[6] Kokubo, T. (1990). 'Surface chemistry of bioactive glass-ceramics.', Journal of Non-Crystalline Solids, 120(1): 138-151.

[7] Hoppe, A., Güldal, N. S., ve Boccaccini, A. R. (2011). 'A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics.', Biomaterials, 32(11): 2757-2774.

[8] Kaur, G., Pandey, O. P., Singh, K., Homa, D., Scott, B., ve Pickrell, G. (2014). 'A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite formation.', Journal of Biomedical Materials Research Part A, 102(1): 254-274.

[9] Öner, K. S., Adıyaman, T., Erkmen, Z. E. (2007). 'Kalça Protezleri için Biyocam Hazırlanması ve Plazma Püskürtme Yöntemiyle Kaplanması.', Bilim – Teknoloji, 19(1): 124-135.

[10] Hench, L. L. Et. Al. (1996). Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5.

[11] Wong, J. Y., Bronzino, J. D., ve Peterson, D. R. (Eds.). (2012). Biomaterials: Principles and Practices. CRC Press.

[12] Xynos, I. D., Hukkanen, M. V. J., Batten, J. J., Buttery, L. D., Hench, L. L., ve Polak, J. M. (2000). 'Bioglass® 45S5 stimulates osteoblast turnover and

enhances bone formation in vitro: implications and applications for bone tissue engineering.', Calcified Tissue International, 67(4): 321-329.

[13] Hench, L. L. (2006). 'The story of Bioglass®.', Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 17(11): 967-978.

[14] Krishnan, V., ve Lakshmi, T. (2013). 'Bioglass: A novel biocompatible innovation.', Journal of advanced pharmaceutical technology & research, 4(2): 78.

[15] Barrere, F., Mahmood, T. A., De Groot, K., ve Van Blitterswijk, C. A. (2008). 'Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions.', Materials Science and Engineering: R: Reports, 59(1): 38-71.

[16] Kokubo, T., Kim, H. M., ve Kawashita, M. (2003). 'Novel bioactive materials with different mechanical properties.', Biomaterials, 24(13): 2161-2175.

[17] Goodman, S. B., Bauer, T. W., Carter, D., Casteleyn, P. P., Goldstein, S. A., Kyle, R. F., ... ve Yetkinler, D. N. (1998). 'Norian SRS Cement Augmentation in Hip Fracture Treatment: Laboratory and Initial Clinical Results.', Clinical orthopaedics and related research, 348: 42-50.

[18] Rahaman, M. N., Day, D. E., Bal, B. S., Fu, Q., Jung, S. B., Bonewald, L. F., ve Tomsia, A. P. (2011). 'Bioactive glass in tissue engineering.', Acta biomaterialia, 7(6): 2355-2373.

[19] Levitt, S. R., Crayton, P. H., Monroe, E. A., ve Condrate, R. A. (1969). 'Forming method for apatite prostheses.', Journal of biomedical materials research, 3(4): 683-684.

[20] Miguez-Pacheco, V., Hench, L. L., ve Boccaccini, A. R. (2015). 'Bioactive glasses beyond bone and teeth: emerging applications in contact with soft tissues.', Acta biomaterialia, 13: 1-15.

[21] Wren, A. W., Laffir, F. R., Kidari, A., ve Towler, M. R. (2011). 'The structural role of titanium in Ca–Sr–Zn–Si/Ti glasses for medical applications.', Journal of Non-Crystalline Solids, 357(3): 1021-1026..

[22] Barrere, F., Snel, M. M., van Blitterswijk, C. A., de Groot, K., ve Layrolle, P. (2004). 'Nano-scale study of the nucleation and growth of calcium phosphate coating on titanium implants.', Biomaterials, 25(14): 2901-2910.

[23] Kokubo, T., Kim, H. M., ve Kawashita, M. (2003). 'Novel bioactive materials with different mechanical properties.' , Biomaterials, 24(13): 2161-2175.

[24] Kokubo, T., ve Takadama, H. (2006). 'How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?.', Biomaterials, 27(15): 2907-2915.

[25] Hench, L. L. (2006). 'The story of Bioglass®.' , Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 17(11): 967-978.

[26] Maurer, A. M., Merritt, K., ve Brown, S. A. (1994). 'Cellular uptake of titanium and vanadium from addition of salts or fretting corrosion in vitro.', Journal of biomedical materials research, 28(2): 241-246.

[27] Olmedo, D. G., Tasat, D. R., Guglielmotti, M. B., ve Cabrini, R. L. (2005). 'Effect of titanium dioxide on the oxidative metabolism of alveolar macrophages: an experimental study in rats.', Journal of Biomedical Materials Research Part A,73(2): 142-149.

[28] Asif, I. M., Shelton, R. M., Cooper, P. R., Addison, O., ve Martin, R. A. (2014). 'In vitro bioactivity of titanium-doped bioglass.', Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 25(8): 1865-1873.

[29] Azevedo, M. M., Jell, G., O'Donnell, M. D., Law, R. V., Hill, R. G., & Stevens, M. M. (2010). 'Synthesis and characterization of hypoxia-mimicking bioactive glasses for skeletal regeneration.', Journal of Materials Chemistry, 20(40): 8854-8864.

[30] Smith, J. M., Martin, R. A., Cuello, G. J., ve Newport, R. J. (2013). 'Structural characterisation of hypoxia-mimicking bioactive glasses.', Journal of Materials Chemistry B, 1(9): 1296-1303.

[31] Miyata, N., Fuke, K. I., Chen, Q., Kawashita, M., Kokubo, T., ve Nakamura, T. (2004). 'Apatite-forming ability and mechanical properties of PTMO-modified $CaO–SiO_2–TiO_2$ hybrids derived from sol–gel processing.', Biomaterials, 25(1): 1-7.

[32] Wren, A. W., Coughlan, A., Smale, K. E., Misture, S. T., Mahon, B. P., Clarkin, O. M., ve Towler, M. R. (2012). 'Fabrication of CaO–NaO–SiO2/TiO2 scaffolds for surgical applications.', Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 23(12): 2881-2891.

[33] Neel, E. A. A., Chrzanowski, W., ve Knowles, J. C. (2008). 'Effect of increasing titanium dioxide content on bulk and surface properties of phosphate-based glasses.', Acta biomaterialia, 4(3): 523-534.

[34] Neel, E. A. A., Mizoguchi, T., Ito, M., Bitar, M., Salih, V., ve Knowles, J. C. (2007). 'In vitro bioactivity and gene expression by cells cultured on titanium dioxide doped phosphate-based glasses.', Biomaterials, 28(19): 2967-2977.

[35] Lakhkar, N. J., Park, J. H., Mordan, N. J., Salih, V., Wall, I. B., Kim, H. W., ... ve Mosselmans, J. F. W. (2012). 'Titanium phosphate glass microspheres for bone tissue engineering.', Acta biomaterialia, 8(11): 4181-4190.

[36] Wakamura, M., Hashimoto, K., ve Watanabe, T. (2003). 'Photocatalysis by calcium hydroxyapatite modified with Ti (IV): albumin decomposition and bactericidal effect.', Langmuir, 19(8): 3428-3431.

[37] Ramazanoğlu, M., (2008) 'Titanyum Dioksit Nanotüp Kaplı Mikropürüzlü Yüzeylerde Mezenkimal Kök Hücre Aktivitesinin Değerlendirilmesi', Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2008.

[38] Beherei, H. H., Mohamed, K. R., & El-Bassyouni, G. T. (2009). 'Fabrication and characterization of bioactive glass (45S5)/titania biocomposites.', Ceramics International, 35(5): 1991-1997.

[39] Pasinli, A., Yuksel, M., Celik, E., Sener, S., ve Tas, A. C. (2010). 'A new approach in biomimetic synthesis of calcium phosphate coatings using lactic acid–Na lactate buffered body fluid solution.', Acta Biomaterialia, 6(6): 2282-2288.

[40] Hench, L. L. (2013). 'Chronology of bioactive glass development and clinical applications.'

[41] Elalmış, Y., (2015). 'Dental Kompozitlerde Pirinç Kabuğu Külünden Üretilen Silika Tozlarının Kullanılması', Doktora Tezi, YTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[42] Sun, L.,ve Gong, K. (2001). 'Silicon-based materials from rice husks and their applications.', Industrial & engineering chemistry research, 40(25):5861-5877.

[43] Faizul, C. P., Abdullah, C., ve Fazlul, B. (2012, December). 'Review of extraction of silica from agricultural wastes using acid leaching treatment.', InAdvanced Materials Research (Vol. 626: s. 997-1000). Trans Tech Publications.

[44] Thuadaij, N., ve Nuntiya, A. (2008). 'Preparation of nanosilica powder from rice husk ash by precipitation method.'

[45] Kamath, S. R., ve Proctor, A. (1998). 'Silica gel from rice hull ash: preparation and characterization.', Cereal Chemistry, 75(4): 484-487.

[46] Ozgul-Yucel, S., Tolay, M., Erdag, S.,ve Turkay, S. (2004). 'Magnesiium silicate synthesis from rice hull ash.', Journal of the American Oil Chemists' Society.

[47] Turkay, S., Yucel, S. O., Tolay, M., ve Erdaq, S. (2007). U.S. Patent No. 7,279,147. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

[48] Taspinar, O. O., & Ozgul-Yucel, S. (2008). 'Lipid adsorption capacities of magnesium silicate and activated carbon prepared from the same rice hull.' , European journal of lipid science and technology, 110(8): 742-746.

[49] Habeeb, G. A., ve Fayyadh, M. M. (2009). 'Rice husk ash concrete: the effect of RHA average particle size on mechanical properties and drying shrinkage.' , Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(3): 1616-1622.

[50] Varol, D. (2006). 'Production of Magnesium Silicate from Rice Hull Ash' , (Doctoral dissertation, M. Sc. Thesis, Istanbul Technical University, Turkey).

[51] Chandrasekhar, S. A. T. H. Y., Satyanarayana, K. G., Pramada, P. N., Raghavan, P., ve Gupta, T. N. (2003). 'Review processing, properties and applications of reactive silica from rice husk—an overview.', Journal of materials science, 38(15): 3159-3168.

[52] Yıldız, S., Balaydın, İ., Ulucan-Çınar, Z. (2007). 'Pirinç Kabuğu Külünün Beton Dayanımına Etkisi.', Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi 19 (1): 85-91, 2007

[53] Basha, E. A., Hashim, R., Mahmud, H. B., ve Muntohar, A. S. (2005). 'Stabilization of residual soil with rice husk ash and cement.', Construction and Building Materials, 19(6): 448-453.

[54] Kalapathy, U., Proctor, A., ve Shultz, J. (2000). 'Production and properties of flexible sodium silicate films from rice hull ash silica.', Bioresource Technology,72(2): 99-106.

[55] Basaran-Elalmis, Y., Yucel, S., Aydin, I., ve Tekerek, B. S. (2013). 'Amorphous Silica from Rice Hull Ash as a Filler Material for Dental Composites.', Advanced Science Letters, 19(12): 3647-3651.

[56] Yücel, S., Sinirlioğlu, Z. A., Karakuzu, B., Temel, T. M., Elalmış, Y., Özarslan, A. C., "Production, Characterization and Bioactivity of 46S6 Bioactive Glass from Rice Hull Ash Silica", Advanced Materials Research, Vols. 1120-1121, pp. 857-861, 2015.

[57] Tekerek, B. S., Yücel, S., Aydın, İ., Ünal, A., "Investigating The Effect Of Photoinitiator Ratio On The Polymerization Shrinkage In Dental Composites By Two Comparative Methods", Sigma, Journal of Engineering and Natural Sciences-Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, vol.33, pp. 33-40, 2015.

[58] Navarro, M., Ginebra, M. P., Clément, J., Salvador, M., Gloria, A., ve Planell, J. A. (2003).'Physicochemical Degradation of Titania-Stabilized Soluble Phosphate Glasses for Medical Applications. ', Journal of the American Ceramic Society, 86(8): 1345-1352.

[59] Santos, C. L. Z. B., Luklinska, Z. B., Clarke, R. L., ve Davy, K. W. M. (2001). 'Hydroxyapatite as a filler for dental composite materials: mechanical properties and in vitro bioactivity of composites.', Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 12(7): 565-573.

[60] Riaz, M., Zia, R., Saleemi, F., Ahmad, R., ve Hussain, T. (2015). 'Influence of Titanium on Structural, Biological and Antibacterial Properties of SiO 2-CaO-$Na_2$ O-$P_2$ $O_5$ Glass-ceramics.' , Materials Today: Proceedings, 2(10): 5313-5317.

# ÖZGEÇMİŞ

**KİŞİSEL BİLGİLER**

**Adı Soyadı** :Elif METE

**Doğum Tarihi ve Yeri** :1983 İstanbul

**Yabancı Dili** :İngilizce, Almanca

**E-posta** :ivf.pgdns.em@gmail.com

**ÖĞRENİM DURUMU**

| **Derece** | **Alan** | **Okul/Üniversite** | **Mezuniyet Yılı** |
|---|---|---|---|
| Y. Lisans | Biyomühendislik | Yıldız Teknik Üniversitesi | 2016 |
| Lisans | Biyoloji | Ankara Üniversitesi | 2007 |
| Lise | Fen Bilimleri | Özel Ata Lisesi | 2001 |

**Proje**

1. TÜBİTAK 3001 213M647 numaralı proje.
2. 2016-07-04-YL02, YTÜ BAP Projesi.
3. 'Nano yapılı Anti-viral/Bakteriyal Kaplamaların Üç Boyutlu Metalik Filtreler Üzerine Elektrokinetik Biriktirme Yöntemi Kullanılarak Eldesi ve Karakterizasyonu' , TUBİTAK-COST Projesinde bursiyer.