T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YAPAY KEMİK OLARAK KULLANILABİLEN BİYOSİLİKALI Sr VE Mo KATKILI 45S5 BİYOAKTİF CAMLARIN ÜRETİMİ

BURCU KARAKUZU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. SEVİL YÜCEL

İSTANBUL, 2015

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YAPAY KEMİK OLARAK KULLANILABİLEN BİYOSİLİKALI Sr VE Mo KATKILI 45S5 BİYOAKTİF CAMLARIN ÜRETİMİ

Burcu KARAKUZU tarafından hazırlanan tez çalışması 10.08.2015 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. Ergün KELEŞOĞLU

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Yrd. Doç. Dr. Yeşim Müge ŞAHİN

İstanbul Arel Üniversitesi _____

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2015-07-04-YL04 numaralı proje ve TÜBİTAK 3001, 213M647 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Önerilen bu tez çalışmasında, farklı silika kaynakları kullanılarak üretilen 45S5 biyoaktif camlara Mo ve Sr katkılarının ilavesi ile gelişen mekanik özellikleri, biyoaktivite ve biyobozunurluk davranışları incelenmiştir.

Biyomalzeme bilimine olan ilgimin ortaya çıkmasını sağlayan, deneysel çalışmalarıma sağladığı olanaklar sayesinde çalışmam esnasında maddi ve manevi desteğini sürekli hissettiğim, ayrıca sadece akademik anlamda değil hayata olan perspektifimi de olumlu yönde geliştiren, engin bilgi ve tecrübelerini zaman ve mekan gözetmeden her koşulda benimle paylaşan değerli danışman hocam Prof. Dr. Sevil YÜCEL'e,

Çalışmamla yakından ilgilenen ve her konuda yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Yeliz BAŞARAN ELALMIŞ'a, desteklerinden dolayı başta Tülay Merve TEMEL olmak üzere tüm diğer laboratuvar arkadaşlarıma,

Numunelerimin üretim aşamasında bizlere her türlü imkanı sunan Hande SESİGÜR ve Hakan SESİGÜR'e, döküm işlemlerini birlikte gerçekleştirdiğimiz teknisyen Ahmet YILMAZ'a ve değerli Şişecam Bilim ve Teknoloji Merkezi çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca sevgilerini ve desteklerini hayatımın her alanında hissettiğim, sevgili aileme teşekkür ederim.

Ağustos, 2015

Burcu KARAKUZU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KISALTMA LİSTESİ viii

ŞEKİL LİSTESİ ix

ÇİZELGE LİSTESİ xii

ÖZET xiii

ABSTRACT xv

BÖLÜM 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 3

BÖLÜM 2

KEMİĞİN YAPISI 4

2.1 Organik ve İnorganik Matris 4
2.2 Hidroksiapatit 5

BÖLÜM 3

BİYOMALZEMELER 6

3.1 Biyoaktif Malzemeler 7
3.2 Bir Biyomalzemenin Sahip Olması Gereken Özellikler 8
3.3 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması 11
3.3.1 Seramik Biyomalzemeler 12

BÖLÜM 4

BİYOAKTİF CAMLAR 16

4.1 Biyoaktif Camların Kemiğe Bağlanma Mekanizmaları 17
4.2 Biyoaktif Camlardaki İyon Katkılarının Önemi 20

4.3 Kemik Metabolizmasında İnorganik İyonların Rolü 21
4.4 Biyoaktif Camın Bozunması ve Hidroksiapatite Dönüşümü 24
4.5 Biyoaktif Cam Üretim Yöntemleri 24
4.5.1 Ergitme Yöntemi 24
4.5.2 Sol-Jel Yöntemi 25
4.6 Biyoaktif Cam Üretiminde Kullanılan Kaynaklar 26
4.6.1 Silika Kaynağı Olarak Pirinç Kabuğu Külü 26

BÖLÜM 5

DENEYSEL YÖNTEM 28

5.1 Pirinç Kabuğu Külünden Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi 28
5.1.1 Pirinç Kabuğu Küllerini Yakma İşlemi 28
5.1.2 Asit ile Kaynatma İşlemi 28
5.1.3 Külün Alkali Ekstraksiyonu 29
5.1.4 Sodyum Silikat Çözeltisinden Silika Eldesi 29
5.2 Biyoaktif Cam Bileşenlerinin Hazırlanması 29
5.3 Ergitme Yöntemi ile 45S5 Biyoaktif Camların Eldesi 31
5.4 Üretilen Biyoaktif Camların Karakterizasyonu 31
5.4.1 Yapay Vücut Sıvısı (YVS) Analizleri 32
5.4.2 YVS Çözeltisinin ICP-OES Analizi 34
5.4.3 Biyobozunma Çalışmaları için TRIS Çözeltisinin Hazırlanması 34
5.4.4 Biyoaktif Camların YVS Öncesi ve Sonrası Vickers Sertlik Değerleri 34
5.4.5 FTIR Analizleri 34
5.4.6 SEM Analizleri 35

BÖLÜM 6

SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME 36

6.1 YVS Çözeltisinde Meydana Gelen Ağırlık Değişimleri 36
6.2 Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi 37
6.3 TRIS Çözeltisi İçerisinde Meydana Gelen Ağırlık ve pH Değişimleri 39
6.4 Vickers Sertlik Ölçümlerinin Değerlendirilmesi 44
6.5 FTIR Analizi Sonuçları 49
6.6 SEM Görüntüleri 55
6.6.1 Ticari Silikalı Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri 56
6.6.2 Biyosilikalı Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri 57
6.6.3 Biyosilikalı Sr Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri 58
6.6.4 Ticari Silikalı Sr Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri 62
6.6.5 Biyosilikalı Mo Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri 66

6.6.6 Ticari Silikalı Mo Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri 70

BÖLÜM 7

SONUÇ VE ÖNERİLER 74

KAYNAKLAR 78

ÖZGEÇMİŞ 86

KISALTMA LİSTESİ

FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
ICP-OES	İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi
SEM	Scanning Electron Microscope
XRD	X-Ray Diffraction
YVS	Yapay Vücut Sıvısı

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1 Hidroksiapatitin moleküler yapısı 5
Şekil 3. 1 Biyoseramiklerin Klinik Kullanımı. 15
Şekil 6. 1 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları 36
Şekil 6. 2 YVS içerisindeki biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen ağırlık azalmaları 37
Şekil 6. 3 TRIS çözeltisi içerisindeki biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları 40
Şekil 6. 4 TRIS çözeltisi içerisindeki biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları 41
Şekil 6. 5 Biyosilikalı ve ticari silikalı, katkısız biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri 41
Şekil 6. 6 45S5 Sr katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri 42
Şekil 6. 7 45S5 Sr katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri 42
Şekil 6. 8 45S5 Mo katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri 43
Şekil 6. 9 45S5 Sr katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri 44
Şekil 6. 10 Ticari silikalı biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinde YVS çözeltisinde 28 gün boyunca meydana gelen değişimler 45
Şekil 6. 11 Biyosilikalı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerindeki değişimler ... 47
Şekil 6. 12 YVS çözeltisi içerisindeki biyoaktif camların Vickers Sertlik değerlerinde 4 hafta boyunca meydana gelen azalmalar 47
Şekil 6. 13 Biyoaktif camların YVS içerisinde 7., 14., 21., ve 28. günlerde Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen % sertlik değişimleri 48
Şekil 6. 14 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) katkısız biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 50
Şekil 6. 15 Biyosilikalı %0,5 Sr (A) ve %0,5 Mo (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 50
Şekil 6. 16 Ticari silikalı %0,5 Mo (A) ve %0,5 Sr (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 51

Şekil 6. 17 Ticari silikalı %1 Sr (A) ve biyosilikalı %1 Sr (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 51
Şekil 6. 18 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %2 Sr katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 52
Şekil 6. 19 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %4 Sr katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 52
Şekil 6. 20 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %1 Mo katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 53
Şekil 6. 21 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %2 Mo katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 53
Şekil 6. 22 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %4 Mo katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası 54
Şekil 6. 23 Biyosilikalı ve ticari silikalı katkısız biyoaktif camlar, 4. Hafta 54
Şekil 6. 24 Biyosilikalı Sr (A) ve Mo (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS içerisinde 4.hafta . 55
Şekil 6. 25 Ticari silikalı Sr (A) ve Mo (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS içerisinde 4.hafta 55
Şekil 6. 26 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen katkısız- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 56
Şekil 6. 27 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen katkısız biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 57
Şekil 6. 28 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 58
Şekil 6. 29 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 59
Şekil 6. 30 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 60
Şekil 6. 31 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 61
Şekil 6. 32 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 62
Şekil 6. 33 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 63
Şekil 6. 34 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 64
Şekil 6. 35 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 65
Şekil 6. 36 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 66
Şekil 6. 37 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 67
Şekil 6. 38 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 68
Şekil 6. 39 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 69
Şekil 6. 40 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) 70

Şekil 6. 41 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)..... 71
Şekil 6. 42 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)..... 72
Şekil 6. 43 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)..... 73

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 5. 1 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan kimyasallar 30
Çizelge 5. 2 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan bileşenlerin yüzde oranları 30
Çizelge 5. 3 İnsan plazması ve YVS çözeltisinin iyon konsantrasyonu 32
Çizelge 5. 4 YVS için kullanılan kimyasal malzemelerin katılım sırası ve miktarı 33
Çizelge 6. 1 Biyoaktif cam numunlerinin inkübe edildiği yapay vücut sıvılarının 7. ve 14. güne ait ICP-OES analiz sonuçları 38
Çizelge 6. 2 YVS öncesi ve sonrası 7, 14, 21, 28. günlere ait ticari silikalı biyoaktif camların Vickers Sertlik değerleri 45
Çizelge 6. 3 YVS öncesi ve sonrası 7, 14, 21, 28. günlere ait biyosilikalı biyoaktif camların Vickers Sertlik değerleri 46

ÖZET

YAPAY KEMİK OLARAK KULLANILABİLEN BİYOSİLİKALI Sr VE Mo KATKILI 45S5 BİYOAKTİF CAMLARIN ÜRETİMİ

Burcu KARAKUZU

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Biyoaktif camlar; kemik kırıklarının veya çatlaklarının tedavisinde kemik dolgu malzemesi olarak kullanılan, yüksek biyoaktivitesi sayesinde yüzeyinde hidroksiapatit benzeri tabaka oluşumuna izin veren ve bu sayede yumuşak ve sert dokuya sıkı bağlanabilen biyomalzemelerdir. Hench tarafından üretilen 45S5 biyoaktif camların en önemli bileşeni silikadır. Silika yüksek maliyet gerektiren prosesler ile üretilebildiği gibi, tarımsal atıkların değerlendirilmesi ile de üretilebilir. Silika içeriği bakımından oldukça zengin olan ve bertarafı konusunda sıkıntılar yaşanan pirinç kabuğu, biyosilika için en iyi alternatiftir. Pirinç kabuğunda yaklaşık %20 oranında SiO_2 bulunurken, yakma işleminden sonra bu oran %87-97'ye kadar çıkar. Pirinç kabuğu külündeki SiO_2 kolay ve ucuz bir yöntem olan alkali ekstraksiyon metodu ile çözeltiye alınabilir. Üretim parametrelerine göre pirinç kabuğu külünden elde edilen biyosilikanın içerisinde %5-10 oranında safsızlık bulunur.

Son yıllarda kemik metabolizmasında çeşitli iyonların rolü araştırılmaktadır. Tez çalışması kapsamında üretilen biyoaktif camlarda ticari silika ve biyosilika olmak üzere 2 farklı silika kaynağı kullanılmıştır. Biyosilikanın içermiş olduğu faydalı safsızlıklara ilave olarak her biyoaktif cama %0,5, %1, %2 ve % 4 oranında stronsiyum ve molibden ayrı ayrı eklenmiştir. Stronsiyum katkılı biyoaktif camlara literatürde rastlanırken, molibden bu tez kapsamında ilk defa biyoaktif camda katkı malzemesi olarak kullanılmıştır. Biyosilikada bulunan safsızlıkların ve farklı oranlarda eklenen 2 çeşit katkının biyoaktif camın mekanik özelliklerine, biyoaktivite ve bizobozunma mekanizmasına olumlu bir

katkı sağlaması beklenmektedir. Üretilen biyoaktif camların mekanik özellikleri Vickers sertlik cihazı ile, yapısal özellikleri FTIR analizi ile, morfolojisi SEM analizi ile, in vitro biyoaktivitesi yapay vücut sıvısında inkübasyonu ile ve biyobozunma davranışları TRIS çözeltisinde inkübasyonu ile belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar Sr katkılı ve Mo katkılı biyosilikalı biyoaktif camların, Sr katkılı ve Mo katkılı ticari silikalı biyoaktif camlara kıyasla mekanik özellikleri, biyoaktivitesi ve biyobozunurluk davranışları açısından üstün olduklarını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: 45S5 biyoaktif cam, pirinç kabuğu külü, biyosilika

ABSTRACT

PRODUCTION OF Sr AND Mo DOPED 45S5 BIOACTIVE GLASSES USING BIOSILICATE FOR ARTIFICIAL BONE

Burcu KARAKUZU

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Bioactive glasses are biomaterials which are used in the treatment of bone fractures or cracks as bone filling material. Because of their high bioactivity, hydroxyapatite-like layer formation occurs on their surface. So they can connect tightly the soft and hard tissue in the body. 45S5 bioactive glass produced by Hench and the most important component of these glasses are silica. Silica is produced by processes which require high costs, but alternatively it can be produced by evaluation of agricultural wastes. Rice husk is the best alternative for biosilicate due to their high silica content. Rice husk has 20% silicate in it and after burning process this rate increases 87-97%. Silica can be produced easily with alkali extraction method from rice husk ash. Based on its production parameters, biosilicate which obtained from rice husk ash has 5-10% impurities in it.

The role of various ions in bone metabolism have been investigated in recent years. In this thesis work, commercial silica and biosilicate were used as silicate source in produced bioactive glasses. In addition to beneficial impurities in biosilicate, molybdenum and strontium was added in each bioactive glasses separately with these ratio 0.5%, 1%, 2% and 4%. Strontium doped bioactive glasses have been studied before in the literature, but the molybdenum was used as an additive in the bioactive glasses at the first time, part of this thesis work. It is expected from the impurities in biosilicate and Sr, Mo additives to contribute positively to the mechanical properties,

bioactivity and biodegradable mechanism of bioactive glasses. The mechanical properties of bioactive glass was analyzed by Vickers hardness tester, structural characteristics was determined by FTIR analysis, morphology by SEM analysis, in vitro bioactivity by incubation in the simulated body fluid and biodegradation behavior was determined by incubation in the TRIS solution.

The results showed that, bioactive glasses with biosilicate is better than bioactive glasses with commercial silicate according to their mechanical behaviours, bioactivity and biodegradability studies.

Keywords: 45S5 bioactive glasses, rice husk ash, biosilicate

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Silika günümüzde çeşitli endüstrilerde (polimer, malzeme, elektronik) ve biyomalzeme üretiminde kullanılmaktadır. Fakat üretimi zor ve maliyeti yüksektir. Kuvartzın 1400-1500°C gibi yüksek sıcaklıklarda ergitilmesi ya da cevher zenginleştirme gibi yüksek enerji gerektiren proseslerden sağlanmaktadır. Silika ayrıca laboratuvar şartlarında tetraetilortosilikat (TEOS) gibi başlatıcılar kullanılarak da elde edilmektedir. Ancak bu başlatıcıların kullanılmaları da ekonomik değildir. Maliyeti yüksek yöntemlere alternatif olarak SiO_2 içeren tarımsal atıkların kullanılması gündeme gelmiştir. Bu atıklar arasında silika içeriği en yüksek olan pirinç kabuğudur. Çeltiğin beyaz pirince işlenmesi sırasında yan ürün olarak elde edilen pirinç kabuğu yaklaşık %20 oranında silika içermektedir. Pirinç kabuğu külü (RHA) ise yanma koşullarına bağlı olarak %87-97 oranında amorf silika içermektedir. Pirinç kabuğu külünden NaOH ekstraksiyonu ve bunu takiben sol-jel yöntemi ile saf silika elde edilebilir. Pirinç kabuğu ülkemiz ve dünyada önemli tarımsal atıklardan biridir ve önemli bir kısmı yakılarak yok edilmekte ya da metalurji sanayinde değerlendirilmektedir. Yakılarak bertaraf edilmesi çevre kirliliği yarattığından atık ham maddenin endüstriyel silis kaynağı olarak değerlendirilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir.

Kemik kırıklarının, çatlaklarının ya da defektlerinin tamirinde kemik dolgu malzemesi olarak kullanılan biyoaktif camlar, doku ile cam yüzeyi arasında hidroksiapatit tabakası oluşturarak vücutta sert ve yumuşak dokulara sıkıca bağlanabilen, biyoaktivitesi yüksek biyoseramik malzemelerdir. Biyoaktif cam ve cam-seramikler ile ilgili Hench ve

arkadaşlarının öncülüğünde başlayan çalışmalar sayesinde klinik araştırmalar büyük önem kazandı. Bu malzemelerin öne çıkmasını sağlayan özellikleri; biyoaktif ve osteokondüktif olmaları, ayrıca biyobozunur karaktere sahip olmalarıdır. Biyoaktif maddeler insan vücuduna implante edildiğinde, yüzeyleri biyolojik olarak aktif bir hidroksiapatit tabakasıyla kaplanır. Bu tabaka sayesinde implant kemiğe daha iyi tutunur. İn vivo çalışmalarda biyoaktif camların yerel ya da sistemik bir toksisite, enflamasyon ya da yabancı-vücut cevabını uyarmadığı görülmüştür. Ayrıca herhangi bir bağlayıcı fibroz tabakaya ihtiyaç duymadan sert ya da yumuşak dokuya da tutunabilmektedir. Tüm bu avantajları biyoaktif camları klinik uygulamalar konusunda çok önemli kılmıştır.

45S5 biyoaktif camların içeriğinde cam yapıcı olarak yüksek oranda silika ve ağ yapı düzenleyicileri olarak sodyum, kalsiyum, fosfat bulunur. Son yıllarda kemik metabolizmasındaki farklı iyonların etkileri araştırılmaya başlandığından bu yana 45S5 biyoaktif camlara çeşitli iyonların eklenmesi ile çeşitli özellikleri modifiye edilerek iyileştirilmektedir.

Daha önce laboratuvarlarımızda biyosilika kullanılarak %10 Sr ve %1 oranında Mg, Al gibi metal iyonları eklenerek çalışmalar yapılmıştır. Üretilen bu biyoaktif camların mekanik özellikleri, yapısal özellikleri, biyoaktivite ve biyobozunurlukları tespit edilmiş ve ayrıca osteosit hücreleri üzerine etkisi incelenmiştir. Alınan sonuçlar laboratuvar ortamında üretilen biyosilikanın biyoaktif camlar üzerinde özellikle biyoaktiviteyi arttırıcı yönde etkili olduğunu ortaya koymuştur.

1.2 Tezin Amacı

Sunulan tez çalışmasında, tarımsal bir atık olan pirinç kabuğunun içerdiği yüksek oranda silika nedeni ile 45S5 biyoaktif cam üretiminde silika kaynağı olarak kullanılması amaçlanmıştır. Üretilecek olan biyoaktif camların bileşimlerine ağırlıkça 4 farklı oranda stronsiyum ve bu tez çalışmasında literatürde ilk defa olarak molibden katkıları da eklenerek ticari silika ile üretilecek camlar ile pirinç kabuğu külü silikası ile üretilen 45S5 biyoaktif camların biyoaktivite ve mekanik özellikleri yönünden incelenmeleri amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Pirinç kabuğu külünden elde edilen biyosilika, yüksek silika içeriği ve kendi içinde bulundurduğu faydalı safsızlıklar sayesinde biyoaktif camların biyoaktivitesine önemli oranda katkı sağlayacaktır. Ayrıca 45S5 biyoaktif camlarda Sr ve ilk defa bu tez kapsamında çalışılacak olan Mo katkı olarak kullanılarak, bu katkılar sayesinde mekanik ve biyoaktivite gibi özelliklerinin arttırılması beklenmektedir.

BÖLÜM 2

KEMİĞİN YAPISI

Vücutta mekanik ve koruyucu fonksiyonlara sahip olan kemik, nano boyutta birçok organik ve inorganik bileşen içeren nano kompozit bir malzemedir. Bu bileşenlerin dağılımı kemikte şu şekildedir: %33,3 oranında organik kısım, geri kalan %66,7 oranında ise inorganik kısımdan oluşmaktadır. Kemiğe elastikiyet ve sağlamlık sağlayan organik matriste sialoprotein, osteokalsin, osteopontin, preoteoglikan gibi proteinlerin yanı sıra kan damarları ve kemik hücreleri bulunur. Kemiğin sertliği ve sağlamlığını sağlayan inorganik matriste ise en yüksek oranda hidroksiapatit (yaklaşık %93), kalsiyum florür, magnezyum fosfat, sodyum klorür ve az miktarda su bulunur [1].

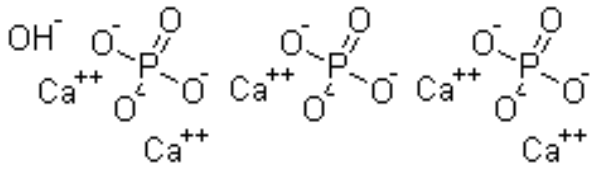
2.1 Organik ve İnorganik Matris

Kemiğin organik yapısının büyük bölümü Tip I kollajen liflerinden, geriye kalan kısmı ise protein ve glikozaminoglikanlardan oluşan amorf maddeden meydana gelir. Kemiğin inorganik yapısında yüksek oranda kalsiyum ve fosfat, kalan kısmında ise bikarbonat, sodyum, potasyum, klor, magnezyum gibi maddeler yer almaktadır. Kalsiyum ve fosfat, hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunur. Gelişmiş bir kemik dokuda lifler porlu bir yapı bırakacak şekilde paralel nizamda dizilmiş, bu porların içerisinde ise dokuya sertlik veren madde olan hidroksiapatit kristalleri yerleşiktir. Hidroksiapatit, kemikteki kollajenler ile birlikte kemik sertliği ve dayanıklılığını sağlar. Ayrıca hidroksiapatitin yüzey iyonları hidrate olduğu için vücut sıvıları ile bu kristaller arasında sürekli bir iyon alışverişi söz konusudur [2], [3].

2.2 Hidroksiapatit

Genel olarak hegzagonal kristal yapıda bulunan hidroksiapatit; apatit mineral sınıfının bir üyesidir ve formülü $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ şeklindedir. Kemik dokusunun inorganik yapısını oluşturur. Kemik yapısında bulunan kollajen ve hidroksiapatitin birlikte optimum bir oranda bulunması ile hem hidroksiapatitin gevrek kırılması hem de kollajenin plastik deformasyon bölgesine girmesini engellenir.

Tıp ve dişçilikte sıklıkla kullanılan HA, kalsiyum fosfat esaslı biyoseramik malzeme grubuna girer. Ayrıca biyouyumluluğu sayesinde yapay kemik olarak çeşitli protezlerin yapımında, çatlak ve kırık kemiklerin onarımında kullanılır. Metalik biyomalzemelerin biyouyumluluğunu arttırmak amacıyla kaplama malzemesi olarak kullanımı yaygındır [4].



Şekil 2. 1 Hidroksiapatitin moleküler yapısı [5]

BÖLÜM 3

BİYOMALZEMELER

Biyomalzemeler hasarlı olan vücut dokusunun işlevlerini iyileştirmek için kullanılan veya bu hasarlı doku ile yer değiştirebilen, sürekli veya belirli aralıklarla vücut akışkanları ile temas eden sentetik malzemeler olarak tanımlanmaktadır [6].

Biyomalzemeler temelde tıbbi uygulamalar için kullanılan ve ihtiyaca göre uyarlanabilen malzemelerdir. Kalp kapakçığı olarak kullanıldıklarında iyileştirici bir işleve sahip olabilirken, hidroksiapatit kaplı kalça eklemlerinde olduğu gibi vücut ile daha iyi etkileşim sağlaması amacı ile biyoaktif bir işleve sahip olabilirler. Biyomalzemeler ayrıca diş uygulamaları, cerrahi ve ilaç salımında her gün kullanılmaktadır [7].

Biyomalzemeler geniş uygulama alanıyla şimdilerde adından çokça söz ettirse de kullanımı tarihte oldukça eskilere dayanır. Mısır mumyalarında bulunan yapay organlar (göz, burun ve dişler), diş hekimliğinde altının kullanımı, bronz ve bakır kemik protezleri kullanımı gibi örnekler mevcuttur. Fakat biyomalzeme bilimindeki asıl ilerleme 19. yüzyıl ortasından itibaren bu yabancı malzemelerin vücut içinde kullanılmaya başlanmasıyla olmuştur [8].

Biyomalzeme biliminde en önemli amaç, katıları kemik tedavisinde kullanılabilecek malzemeler haline getirebilmektir. Kalsiyum fosfat bazlı seramik malzemeler biyoaktif ve biyouyumlu özeliklerinden dolayı bu amaçla kullanımda önem taşımaktadır [9].

Biyomalzemelerin ilk başarılı medikal uygulamaları; iskeletteki kırıkların tedavisinde kullanılan kemik plakalar, kan damarlarının değişimi ve yapay kalp damarlarının geliştirilmesi, kalça protezleridir. Biyomalzemeler, yalnızca protez olarak kullanımla

sınırlı değildirler. Vücut dışına yerleştirilen ama vücutla etkileşim halindeki cihazlarda, çeşitli eczacılık ürünlerinde ve teşhis kitlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır.

Ayrıca biyomalzemelerin temel olarak tıbbi uygulamalarda kullanılmaları olsa da, biyoteknolojik alandaki kullanımları da göz ardı edilmemelidir.

Bunlar arasında;

- Hücre teknolojisinde hücre ve hücresel ürün üretiminde destek malzeme olarak,
- Atık su arıtımında adsorban (yakalayıcı, tutucu) malzeme olarak,
- Biyosensörlerde,
- Biyoayırma işlemlerinde,
- Enzim, doku, hücre gibi biyoaktif maddelerin immobilizasyonunda,
- Biyoçiplerde kullanımları sayılabilir.

Biyomalzemelerde aşılamayan bir takım sorunlar ise doku mühendisliği ve gen tedavisi yaklaşımlarıyla irdelenmektedir. Özellikle nanoteknoloji, bilişim teknolojileri ve üretim yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak mükemmel biyomalzemelerin geliştirilmesi hedeflenmektedir [10].

3.1 Biyoaktif Malzemeler

Genel anlamda biyoaktif malzeme, belirli bir biyolojik aktiviteyi gerçekleştirmek üzere tasarlanan malzeme olarak tanımlanır [11]. Bu tanım daha spesifik bir bağlamda incelenecek olursa; vücut içerisine yerleştirildiğinde belirli yüzey reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlayan, sert ve yumuşak doku ile sıkı bir bağlanmanın gerçekleşebilmesi için HA benzeri bir tabaka oluşturabilen malzemeler olarak tanımlanabilir [12]. Bir malzemenin biyoaktivitesi yapay vücut sıvısı içerisindeki davranışının incelenmesi ile in vitro ortamda çalışabilir ki bu sayede malzemenin in vivo ortamdaki biyoaktivitesi hakkında da bir öngörü sahibi olmak mümkündür. Yapay vücut sıvısı içerisindeki malzemenin yüzeyinde oluşacak olan HA benzeri tabaka biyoaktivitenin en net göstergesidir [13]. Biyoaktivite için yapılan bu dar tanımlama yine de birçok soruya cevap vermemektedir. Örneğin; dikalsiyum fosfat dihidrat in vitro

ortamda incelenirken yapay vücut sıvısında HA benzeri tabaka oluşturabilmesine karşın in vivo ortamda direkt kemik bağlanmasnı gerçekleştiremezler [14], [15]. Farklı bir örnek ile, β-TCP yapay vücut sıvısı içerisinde iken HA benzeri bir tabaka oluşturamasına karşın, in vivo ortamda kemiğe çok iyi bağlanabilirler [16].

3.2 Bir Biyomalzemenin Sahip Olması Gereken Özellikler

Bir malzeme eğer vücut içerisinde kullanılacaksa vücuttaki sisteme zarar vermemesi için çeşitli özelliklere sahip olması istenir. Dokuyla sürekli ya da belirli aralıklarla temas halinde olan bu malzemelerin sahip olması istenen özellikler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Biyolojik yönden uyumlu olmalı,
- Toksik ve karsinojenik olmamalı,
- Kimyasal açıdan inert ve stabil olmalı,
- Yeterli mekanik kuvvete sahip olmalı,
- Yoğun bir yaşama uyum gösterebilmeli,
- Uygun ağırlık ve yoğunluğa sahip olmalı,
- Büyük miktarlarda işlenebilme ve fabrikasyon kolaylığı göstermeli,
- Son olarak ekonomik olmalıdır.

Yani kısacası bir biyomalzemenin fiziksel, kimyasal, mekanik, termal özelliklerinin iyi bilinmesi ve doku ile alerjik, toksik, karsinojenik reaksiyon vermemesi istenir [17].

Ayrıca biyomalzemenin başarısı için kullanıldığı yere göre, kullanım süresine göre, hastanın yaşı ve cinsiyetine göre sahip olması gereken bazı kriterler vardır. Bu kriterler aşağıda başlıklar halinde incelenmiştir.

Konakçı cevabı

İmplante edilen malzemenin konakçıdaki lokal ya da sistematik cevabı olarak tanımlanır [18]. Canlı dokuya yerleştirilen biyomalzemeler, yerleştirildiği dokudan tepki alır. Bu tepki, doku ve implant arasındaki ara yüzeyde oluşur ve dokunun tipi, yaşı, ara yüzey hareketliliği, vücut sıvısının sirkülasyonu, implantın fiziksel ve kimyasal özellikleri,

yüzey morfolojisi gibi özelliklere bağlı olarak değişmektedir. Vücudun malzemelere karşı verdiği tepkiler oldukça faklıdır [8].

Biyouyumluluk

Araştırmacılar 'biyomalzeme' ve 'biyouyumluluk' terimlerini malzemelerin biyolojik performanslarını ayırt edebilmek için kullanmışlardır. Biyouyumlu olan malzemeler biyomalzemeler olarak anılırlar ve biyouyumluluk bir malzemenin spesifik bir uygulamadaki performansının uygun konakçı cevabı olarak tanımlanır [19]. Daha basit terimler ile açıklamak gerekirse, biyouyumluluk bir biyomalzemenin yaşayan dokular ile uyumluluğu ya da uyumudur. Sadece toksisite ile ilişkili değil, biyolojik sistem içindeki malzemenin tüm olumsuz etkilerini kapsayan bir durumdur [20], [21]. Etkileşimin gerçekleşeceği kemik, yumuşak doku, plazma iyonik bileşimi, hücre içi ve hücre dışı matriks gibi ortamlarda kesinlikle olumsuz bir etkiye sebep olmamalıdır [22]. Tüm bu özellikleri taşıyan malzemeler biyolojik sistemler içerisinde güvenle kullanılabilirler. Ayrıca karsinojenik, pirojenik, toksik ve alerjenik olmamalı; iltihaba yol açmamalı ve kan ile uyumlu olmalıdır. Malzeme seçilirken belki de en önemli kriter seçilen malzemenin biyouyumluluğudur. Tasarlanan biyomalzemenin başarısı büyük ölçüde buna bağlıdır.

Biyofonksiyonellik

Malzeme kullanıldığı yerdeki işlevleri yerine getirebilecek nitelikte olmalıdır. Örneğin; tasarlanan biyomalzeme kemik protezlerinde kullanılacaksa yük iletimi ve gerilim dağılımını karşılayacak işlevsellikte olmalı, yapay diz eklemlerinde kullanılacaksa eklem hareketine izin vermeli, implante edilecek lenslerde ışık geçirgenliğine olanak sağlamalı, kulak içi implantlarda ses geçirgenliğine olanak sağlamalıdır. Yani bir biyomalzeme kullanılacağı doku veya organın işlevlerini devam ettirecek nitelikte biyofonksiyonel olarak tasarlanmalıdır [22].

Toksikoloji

Bir biyomalzeme 'kanser hücrelerini hedef alan akıllı bombalar' gibi özel amaçlar için kullanılmaları haricinde kesinlikle toksik olmamalıdır. Biyomalzemelerde toksikoloji malzemeden göç eden ve vücut içerisinde olumsuz cevaplara yol açabilecek iyonlar ile alakalıdır. Bu yüzden biyomalzemeler özellikle dizayn edilmedikleri sürece kendi kütlesinden hiçbir şey kaybetmemelidir [23].

Uygun tasarım ve üretilebilirlik

Biyomalzemeler işlenebilir, kalıp haline getirilebilir, ekstrüde edilebilir olmalıdır. Şu anki modern üretim süreçlerinin, ortopedik cihazlar için kaliteyi garanti etmesi gereklidir [23].

Biyomalzemelerin mekanik özellikleri

Biyomalzemelerin uygulamalarında dikkatli çalışılması ve analiz edilmesi gereken önemli özelliklerinden bazıları; çekme dayanımı, akma dayanımı, elastik modülü, korozyon ve yorulma dayanımı, yüzey kalitesi, sünme ve sertliktir. Malzeme seçiminde ayrıca fiziksel özellikler de hesaba katılır. Diyaliz membran zarı belirli bir geçirgenliğe sahiptir. Kalça ekleminin articular kısmının yüzeyi yüksek oranda yağlayıcıdır. Göz içi lens için netlik ve kırılma gereklilikleri vardır [23].

Yüksek korozyon direnci

Yapılan çalışmalarda korozif vücut sıvısı nedeniyle metalik biyomalzemelerin seçiminde korozyon direncinin çok önemli bir konu olduğu saptanmıştır [24]. İmplantlardan biyouyumlu olmayan ve istenmeyen metal iyonları salınırlar. Dolayısıyla korozyona uğrayan implantların ömürleri azalırken, tekrar cerrahi operasyon gerekliliği ortaya çıkabilir. Ek olarak korozyon olayı olumsuz etkilerinden dolayı insan hayatını kısaltabilir. Konu ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ise korozyon ürünü olan metal iyonlarının çevre dokuda birikebildiği ya da vücudun diğer bölgelerine taşınarak olumsuz etkilere sebep olabileceği bildirilmiştir [25].

Yüksek aşınma direnci

Düşük aşınma direnci ya da yüksek sürtünme katsayısı implantlarda gevşemeye neden olurlar. Aşınma kalıntısı biyolojik olarak aktiftir ve ciddi bir iltihap cevabına neden olabilirler. Bu olumsuz etkiler neticesinde implant tarafından desteklenen sağlıklı kemiğin de tahribatına neden olabilirler. Sürtünme nedenli korozyon biyouyumlu olmayan metal iyonlarının salınmasına yol açtığı için büyük bir sorundur. Ayrıca mekanik yüklemenin de korozyon yorgunluğu ve hızlandırılmış aşınma süreci ile sonuçlanacağı unutulmamalıdır [26].

Uzun yorulma ömrü

Yorulma mukavemeti tekrarlanan döngüsel yüklerin oluşturduğu malzemenin cevabı ile ilgilidir. Yorulmadan kaynaklanan kırıklar implant gevşemesi ve nihai implant yetmezliği ile ilişkili en önemli sorunlardan bazılarına yol açar ve bu durum sıklıkla kalça protezi için bildirilmiştir [27]. Yorulma özellikleri güçlü bir şekilde mikroyapıya bağlıdır [18].

Uygun dayanım

Yetersiz dayanım implantta kırıklara yol açabilir. Kemik implant arayüzü başarısız olmaya başladığında arayüzde yumuşak fibröz doku gelişmesi implant ve kemik arasında daha bağıl bir harekete neden olur ve kemik yükleme altında kalır. Bu durum hastada belirli bir süre ağrıya neden olur, daha sonra bu ağrı dayanılmaz bir hal alır ve implantın değiştirilmesi için yeniden cerrahi operasyonu gerektirir [20].

Kemik modülü eşdeğeri

Total eklem yenilenmesi gibi önemli uygulamalar için yüksek akma mukavemeti insan kemiklerine çok yakın bir alt modülü şartı ile birleştirilmiştir [28], [29]. Kemik modülü büyüklüğü kemik tipi ve ölçüm yöntemine bağlı olarak 4 ile 30 GPa arasında değişir [30]. İmplant malzemesi ve onu çevreleyen kemik arasındaki büyük Young modülü farkı birçok olumsuzluğa neden olur. Yüklenmeden dolayı doğal kemik zayıflayabilir ve implant/kemik arayüzü bozulabilir, gevşeyebilir ve tüm bunlar implantın başarısızlığı ile sonuçlanır [20], [31]. Modülü herhangi bir biyomalzeme seçimi için ana faktör olarak kabul edilir.

3.3 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

Biyomalzemeleri sadece malzeme yönünden incelemek eksik bir yaklaşım olur. Bu yüzden çeşitli yönlerden ele alınarak 5 farklı başlık altında sınıflandırılmıştır. Bunlar; problem türüne göre sınıflandırma, doku etkileşimine göre sınıflandırma, biyomalzemenin kullanıldığı doku ve organ türüne göre sınıflandırma, kullanıldıkları vücut sistemlerine göre sınıflandırma, malzeme cinsine göre yapılan sınıflandırmadır. Hatta tıbbi uygulamalarda kullanılan biyomalzemeleri de kendi aralarında sert doku yerine kullanılacak biyomalzemeler ve yumuşak doku yerine kullanılacak biyomalzemeler 2 grupta incelemek mümkündür.

Biyomalzemeler üretildikleri malzemelerin cinsine göre 4 grupta incelenebilir. Bunlar;

1) Metalik biyomalzemeler,

2) Polimerik biyomalzemeler,

3) Kompozit biyomalzemeler,

4) Seramik biyomalzemelerdir [8].

3.3.1 Seramik Biyomalzemeler

İnsanlar tarafından binlerce yıl önce kil keşfedilerek seramik çömlekler yapıldı. Bu çömleklerin içindeki ürünleri uzun süre bozulmadan saklamaya olanak verdiği fark edildi. Seramiğin su tutma ve ateşe karşı dayanaklı oluşu gibi özellikleri sayesinde yemek pişirme yöntemleri bulundu. Seramik o dönemlerde yaşam kalitesinin gelişmesine ciddi katkılar sağladı.

Son 40 yılda ise seramikler daha farklı amaçlar için incelenmeye başlandı. İnsan hayatının kalitesini arttırmak için kullanılan bu seramikler, vücudun hastalanmış zarar görmüş veya yıpranmış kısımlarının onarılması ve hatta yeniden yapılanmasında kullanılmaya başlandı**.** Bu amaçla kullanılan seramiklere ise 'biyoseramik' adı verilir.

Biyoseramik malzemelerin; biyouyumluluklarının üstün olması, zehirleyici etki göstermemesi, alerjik ve kanserojen olmamaları, kararlı kimyasal yapıları nedeniyle paslanma risklerinin olmaması, aşınmaya karşı dayanıklı ve oldukça da hafif olmalarından dolayı tıp teknolojisinde kullanımları yaygınlaşmış inorganik malzemelerdir [8].

Biyoseramiklerin klinik uygulama alanları; iskelet sistemini oluşturan kemiklerin, eklemlerin, dişlerin onarılması, sert ve yumuşak dokularda kullanımı, kalp damar sisteminde özellikle kalp kapakçığı olarak kullanımı, özel formüllü camların tümörlerin tedavisinde kullanımıdır.

Biyoseramiklerin vücut dışındaki uygulama alanları; gözlüklerde, teşhise ait cihazlarda, kimyasal mamullerde, termometrelerde, doku kültürü şişelerinde, kromatografi kollarında, lazerler ve fiber optik endoskopi aletleri geniş piyasası olan endüstriyel ürünlerdir.

Ayrıca seramikler dişçilikte onarım malzemesi olarak, dişe takılan altın-porselen kuronlar, endodontik tedavilerde, takma dişlerde yüksek basınca dayanıklı ve güzel estetik bir görünüş sağlandığından kullanılıyordu. Seramiklerin vücut içinde kullanımı oldukça yenidir. Alümina kullanarak kalça yenilenmesinin uygulanması 20 yıllık bir geçmişe sahiptir. Biyoseramikler tedavi ihtiyacına göre değişik formlarda uygulanabilir. Bunlar; toz, kaplama ve katı hacim formlarıdır.

Biyoseramikler değişik fazlarda olabilir.

- Tek kristal (safir),
- Polikristal (alümina ve hidroksiapatit),
- Cam (Biyocam),
- Cam-seramikler (AAV cam seramiği)
- Kompozitler (polietilen-hidroksiapatit)

Fazlar istenen özellik ve fonksiyonlara göre belirlenir. Örneklerle açıklamak gerekirse; tek kristal safir yüksek dayanıklılığından dolayı diş implantı olarak kullanılmaktadır. Cam-seramikler mukavemetinin yüksek ve kemiğe bağlanma kabiliyetinden dolayı omurganın değişiminde implant olarak kullanılmaktadır. Biyoaktif camlar ise düşük mukavamete sahip olmasına rağmen kemiğe bağlanma mekanizması hızlı gerçekleştiği için kemik eksikliklerinin tedavisinde kullanılır [32].

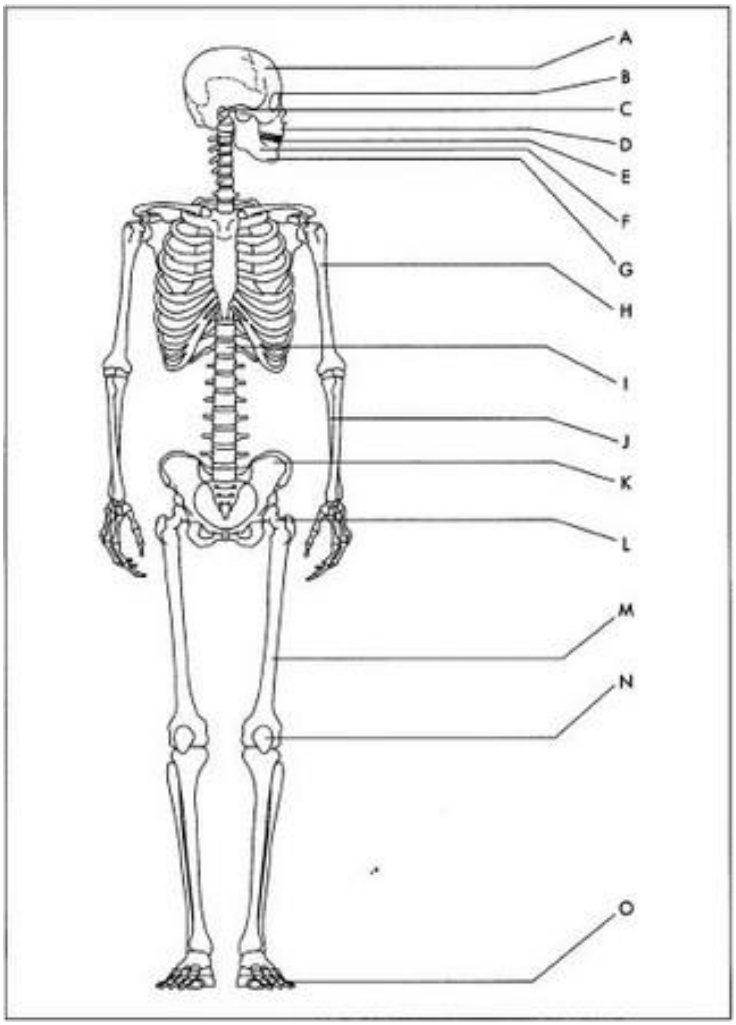
Biyoseramikler doku ile etkileşimlerine göre biyoinert, biyobozunur ve biyoaktif olarak sınıflandırılabilir. Biyoaktif seramikler, doku ve implant arasındaki etkileşim sonucu kimyasal bağ kurabilirler. Biyoinert seramikler, inert yapıda olup doku ile kimyasal bir bağlanma gerçekleştirmezler. Oksijen iyonlarının oluşturduğu düzlemde metal iyonlarının dağılmasıyla oluşan polikristalin seramiklerdir. Doku ile etkileşimi mekanik bağ şeklindedir. Bu bağ sayesinde doku ile implant bir arada bulunabilir fakat aralarında bir etkileşim veya sıkı bağlanma gözlenmez. Biyobozunur seramiklere kalsiyum fosfat seramikleri örnek olarak verilebilir. Bu biyoseramikler zaman içerisinde biyobozunmaya uğrarlar ve yerini implante edildikleri dokuya bırakırlar.

Biyoseramikler yapısal işlevlerine göre ise; oksit seramikleri, kalsiyum fosfat seramikleri, cam ve cam seramikleri olarak sınıflandırmak mümkündür [10].

Oksit seramikleri; yüksek yoğunluk ve yüksek saflığa sahip alümina, korozyon direnci, yüksek dayanımı ve iyi biyouyumluluk özelliğinden dolayı, kalça protezlerinde ve diş implantlarında yaygın kullanıma sahiptir. Zirkonya da, alümina gibi bulunduğu fiziksel ortam üzerinde inert etki gösterir. Çok daha yüksek çatlama ve bükülme direncine sahip olan zirkonya, uyluk kemiği protezlerinde başarıyla kullanılmaktadır. Ancak uygulamalarında fizyolojik sıvılar nedeniyle zamanla gerilme direncinin azalması, kaplama özelliklerinin zayıf oluşu ve potansiyel radyoaktif malzemeler içermesi gibi 3 önemli problem ile kaşılaşılır. Zirkonya içerisinde yarılanma ömrü çok uzun olan radyoaktif elementler bulunur (uranyum, toryum, vb). Bu elementleri yapıdan ayırmak çok zor ve pahalı işlemler gerektirir. Radyoaktivite alfa ve gama etkileşimi olarak ortaya çıkar ve alfa parçacıkları, yüksek iyonlaştırma kapasitesine sahip olduklarından, yumuşak ve sert doku hücrelerini tahrip etme olasılığına sahiptir. Radyoaktivite düzeyi düşük olduğunda da bu etkinin uzun süreli sonuçlarının incelenmesi gerekmektedir [8].

Kalsiyum-fosfat (Ca-P) seramikler; kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılardır. Hidroksiapatit (HA:$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), Trikalsiyum fosfat ($Ca_3(PO_4)_2$) ve Oktakalsiyum fosfat ($CaH(PO_4)_3.2OH$) bu yapılara örnek verilebilir. Kalsiyum fosfat bazlı biyoseramikler, ortopedik kaplamalar ve diş implantlarında, yüz kemiklerinde, kulak kemiklerinde, kalça ve diz protezlerinde "kemik tozu" olarak kullanılmaktadır. Tüm kalsiyum fosfat seramikleri, değişen hızlarda biyolojik olarak bozunurlar. Hidroksiapatit biyoseramiklerin bir diğer kullanım alanı ise oküler implant uygulamasıdır. Biyouygunluk ve toksik olmama gibi özellikler, hidroksiapatiti oküler implant uygulaması için ideal bir biyomalzeme yapmaktadır [33].

Cam ve cam-seramikler; camlar, silika (SiO_2) bazlı malzemelerdir. Cam seramikler, (Li/Al) Lityum/Alüminyum veya (Mg/Al) Magnezyum/Alüminyum kristalleri içeren camlardır. Biyocamda ise, silika gruplarının bazıları kalsiyum, fosfor veya sodyum ile yer değiştirmiştir (SiO_2, Na_2O, CaO, P_2O_5). Böylece doku ve implant arasında kimyasal bağlanma gerçekleşir. Biyoaktif camlar ilk kez Hench ve arkadaşları [34] tarafından geliştirilmiştir. Kemiğe kimyasal olarak bağlanırlar. Bu uygulamada kullanılan biyocam (45S5-Bioglass®) (kimyasal kompozisyonu; 45% SiO_2, 24.5% CaO, 6% P_2O_5 ve 24.5% Na_2O), HA'ya göre kemik oluşumunda daha iyi olmasına rağmen, zayıf mekanik özelliklerinden dolayı ağırlık taşıyan mekanizmalarda kullanılmaz [35].



Şekil 3. 1 Biyoseramiklerin Klinik Kullanımı [32].

A) Kafatasına ait onarımlar, B) Göz çukuru implantları, C) Yan kafa kemik implantları, D) Yüz kemiği onarımı, E) Diş implantları, F) Çene implantları, G) Diş dokusunun yeniden yapılandırılması, H) Deri içi aygıtları, I) Omurga cerrahisi, J) İliak krest onarımı, K) Kemik boşluğu dolguları, L) Ortopedik destek sağlayıcı uygulamalar, M) Ortopedik birleştirme cihazları, N) Yapay tendon ve bağlar, O) Eklemlerde

BÖLÜM 4

BİYOAKTİF CAMLAR

Biyoaktif camların üretimine kadar geçen süre içerisinde protezlerle alakalı oldukça büyük sıkıntılar yaşanmış. Örneğin kemik kırıklarında plaka olarak kullanılan vanadyum çeliğinin korozyona uğradığı ve bu yüzden tehlikeli olduğu keşfedilmiştir. Ardından protezler için farklı arayışlara girilmiş ve alümina ve zirkonya denenmiştir. Bu malzemelerde herhangi bir biyolojik olumsuzluk olmamasına karşın bu sefer de inert yapıda olduğu için doku ile etkileşimlerinin zayıf olduğu görülmüştür. Hench tarafından geliştirilen (45S5-Bioglass®) biyocam ve hidroksiapatit gibi biyoaktif seramikler ile bu problem kısmen de olsa çözülmüştür.

Hench ise çalışmalarına ilk olarak vücudun yabancı maddeleri neden reddettiğini araştırmakla başlamıştır. Kemiğin yapısında Calsiyum (Ca) ve fosfat (P) bulunduğu için; vücudun camları, seramikleri ve cam seramikleri reddetmeyeceğini ve hatta vücut ile uyumlu olabileceğini düşünmüş ve ekibi ile yürüttüğü çalışmaların sonucunda (45S5-Bioglass®) adı ile anılan biyoaktif cam ortaya çıkmıştır. İlk deneme 1972 yılında bir babuna uygulanmış ve dişlerin yapışmasını incelemişlerdir. Bu çalışmaları ile biyoseramikler konusunda bir dönüm noktasına imza atmışlardır [36, 37].

Seramik sınıfına giren biyoaktif camlar, medikal uygulamalarda birçok avantajından dolayı kendine kolayca yer bulmuştur. Biyoaktif camların karakteristik özelliği, yüzeyinin dokular ile bağ oluşumunu sağlayan, biyoaktif 'hidroksikarbonapatit' (HCA) tabakasından oluşmasıdır. Sahip oldukları bu özellik sayesinde, sert dokuya da yumuşak dokuya da rahatlıkla kimyasal olarak bağlanabilmektedirler [38].

Biyoaktif camların en önemli özellikleri;

- Enzimatik faaliyetleri,
- Üç boyutlu vasküler yapı oluşumunu desteklemeleri,
- Kemik dokudaki mezenkimal hücrelerin farklılaşmasına yardımcı olmaları,
- Kemik doku ile organik bağlarla bağlanmalarıdır [39].

Biyoaktif camın standart formülü genelde 45S5 olarak bilinmektedir. Ayrıca 45S5 biyoaktif cam FDA tarafından onaylıdır. Ağırlıkça yüzde bileşenleri; %45 SiO_2, %24,5 Na_2O, %24,5 CaO ve %6 P_2O_5 'tir. Bileşen oranları değiştirelerek yapılan çalışmalarda genelde SiO_2 bileşeninde modifikasyonlar yapılır, P_2O_5 bileşeni sabit tutulur. Silika oranının %60'ın altında olmasının sağlanması ve CaO/P_2O_5 oranın yüksek tutulması üretilen biyoaktif camın yüksek reaktif özellikte bir yüzeye sahip olmasını sağlar [40].

Kemiğe bağlanma özellikleri çok iyi olmasına rağmen, düşük mekanik özellikleri nedeniyle vücutta yük taşıyan uygulamalarda kullanımları sınırlıdır. Kafatası ve orta kulak uygulamalarında kullanılabilmektedirler. Ayrıca yapılan araştırmalar, biyoaktif cam bileşimlerinin çürük yapıcı patojenler üzerinde önemli bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu nedenle dental uygulamalarda da tercih edilen bir malzeme grubudur [41], [42].

4.1 Biyoaktif Camların Kemiğe Bağlanma Mekanizmaları

45S5 biyoaktif camın biyoaktivite ve kemiğe bağlanma mekanizması üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar neticesinde, 45S5 biyoaktif camın kemiğe bağlanma mekanizması hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır. Bunlardan belki de en önemlisi yapay vücut sıvısında biyoaktif cam yüzeyinde oluşan hidroksikarbonapatit (HCA) benzeri tabakanın vücut içerisindeki kemik bağlanma mekanizmasında önemli rol oynamasıdır. HCA tabakası kemikteki mineral bileşenlere olan benzerliği sayesinde canlı kemik ile ve yumuşak doku ile sıkı bir şekilde bağlanma kapasitesine sahiptir. HCA tabakasının oluşumu Hench tarafından vücut sıvısı ile temas eden biyoaktif camın yüzeyinde gerçekleşen bir dizi reaksiyon sonucu oluştuğu şeklinde açıklanmıştır [43].

İlk aşamada cam ağı düzenleyicileri olan Na^+ ve Ca^{+2} iyonları ile çözeltide bulunan H^+ (veya H_3O^+) iyonları arasında hızlı bir şekilde gerçekleşen iyon değişimi reaksiyonu, silika gruplarının hidrolizine öncülük ederek cam yüzeyinde silanol (Si-OH) grubunun oluşumuna yol açar (Eşitlik 4. 1). Çözelti içerisindeki H^+ iyonlarının reaksiyona katılması sonucu miktarında azalma meydana gelir ve bu durum yapay vücut sıvısı içerisinde pH değerinin artması ile takip edilebilir [44].

$$Si—O—Na^+ + H^+ \longrightarrow Si—OH^+ + Na^+ \text{(suda)} \qquad (4.\ 1)$$

2. aşamada çözeltinin pH değerindeki artış SiO_2 cam ağındaki çözünmeyi hızlandırarak silikanın $Si(OH)_4$ (silisik asit) formunda çözeltiye geçmesini sağlar. Bu sırada cam yüzeyinde Si-OH oluşumu da devam eder (Eşitlik 4. 2).

$$Si—O—Si + H_2O \longrightarrow Si—OH + OH—Si \qquad (4.\ 2)$$

Normal şartlarda silikanın çözünürlüğü düşük olmasına rağmen 45S5 biyoaktif cam ve cam seramiklerin sulu çözeltilerde çözünmesi ile Si konsantrasyonunda bir artış gözlenmektedir [45].

3. aşamada Na^+ ve Ca^{+2} iyonlarının tükenmesi ile 1-2 µm kalınlığındaki, SiO_2 bakımından zengin amorf tabakanın cam yüzeyinde kondenzasyonu ve polimerizasyonu gerçekleşir.

4. aşamada camdaki çözünme sonucu salınan ve ayrıca çözeltiden de gelen Ca^{+2} ve $(PO_4)^{-3}$ iyonları birlikte SiO_2 bakımından zengin olan tabakanın üzerine çökerek amorf kalsiyum fosfat (ACP) tabakasını oluştururlar.

5. aşamada cam çözünmeye devam ederken, ACP tabakası çözeltide bulunan $(OH)^-$ ve $(CO_3)^{-2}$ iyonları ile etkileşime geçer ve HCA tabakası olarak kristalize olurlar [44].

HCA tabakasının oluşması ile birlikte kemiğe bağlanmanın biyolojik mekanizmasının in vivo ortamda şu şekilde geliştiği düşünülmektedir. İlk olarak büyüme faktörlerinin adsorpsiyonu, osteoprogenitor hücrelerin eklenmesi, çoğalması ve farklılaşması [46], ardından osteoblastların hücre dışı ortamı (kollajen) oluşturması, daha sonra bunların nanokristal bir mineral haline gelmesi ve kollajenin cam implant üzerinde oluşması, bu sırada da camın zamanla bozulmaya ve değişime uğraması ile bağlanma gerçekleşmektedir [47].

Bu aşamalara biyolojik fonksiyonel grupların (kan proteinleri, büyüme faktörleri, kollajen gibi) absorbsiyonu katılmaktadır. Proteinler ve diğer biyolojik komponentlerin absorbsiyonu, ilk dört aşamayla aynı zamanda meydana gelmektedir ve karbonize hidroksiapatit yapının biyolojik karakterini oluşturmaktadır. İn vitro ortamda yaklaşık 3 ile 6 saat arasında kalsiyum fosfat tabakası, bağlanma tabakası olarak adlandırılan hidroksikarbonat apatit (HCA) tabakasına kristalize olmaktadır. Bu tabaka malzeme ile kemik arasında oluşması planlanan kimyasal bağlantı için zorunludur. Çünkü bu yüzey kimyasal ve yapısal olarak doğal kemikteki mineral faza eşdeğer özellik göstermektedir ve vücut dokuları bu yapıya direkt olarak bağlanabilmektedir [48].

Yukarıda anlatılan aşamalarda da belirtildiği gibi 45S5 biyoaktif cam kimyasal olarak çözünmektedir. Bu çözünme ürünlerinden Ca^{+2} ve Na^{+} vücut sıvısındaki iyonlar ile ve camdan salınan diğer iyonlar ile birlikte camın yüzeyine çözerek HCA tabakasının oluşmasına imkan verir. Bu esnada diğer çözünme ürünü olan silikon da silisik asit formunda vücuda salınır fakat fagositler tarafından parçalanarak dışarı atılır. 45S5 biyoaktif cam tozlarının tavşan kaval kemiğine ve kaslarına implante edilerek yapılan bir çalışmada camın bozunma süresince meydana gelen silikon salımı incelenmiş, tavşanın kan ve idrar örnekleri implantasyondan sonraki 7 ay boyunca izlenmiştir. Bu çalışma neticesinde 45S5 biyoaktif camın çözünme ürünlerinden olan ve HCA tabakasına katılmayan silikonun da camın biyobozunma aşaması süresince vücuda zarar vermeden atıldığı tespit edilmiştir [49].

45S5 biyoaktif camlar in vivo ortamda kemik oluşumu desteklemektedirler [50]. 45S5 biyoaktif cam ve sentetik HA'nın tavşan uyluk kemiğine implantasyonu sonucu kemik oluşumunun 45S5 biyoaktif cam implante edilen tavşanda daha hızlı meydana getirdiği yapılan bir çalışma sonucu ortaya konmuştur [51]. Kemik implant ara yüzeyi boyunca yeni kemik büyümesini sağlayan HA, osteokondüktif olarak sınıflandırılır. Bunun yanı sıra 45S5 biyoaktif camlar kemik implant arayüzeyinde yeni kemik büyümesini sağladıkları için osteokondüktif, implant kemik ara yüzeyi dışında implant içinde de kemik büyümesine imkan sağladıkları için de osteoindüktif olarak sınıflandırılırlar.

Osteoindüksiyonun tetiklenmesi yeni kemik oluşumuna imkan sağladığı için 45S5 biyoaktif camın bu mekanizmayı nasıl tetiklediği yapılan çalışmalar ile incelenmektedir.

Daha önce de belirtildiği üzere 45S5 biyoaktif camların kimyasal olarak çözünmeleri esnasında çözünme ürünleri olarak Na^{+}, Ca^{+2} iyonları ve $Si(OH)_4$ formunda çözünmüş silika açığa çıkar. Salınan iyonların bir kombinasyonunun yeni kemik oluşumunda tetikleyici olduğu düşünülmektedir [46]. Bu bağlamda Ca^{+2} ve $Si(OH)_4$ konsantrasyonlarının kritik oldukları düşünülmektedir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda silikanın bu mekanizmadaki rolü hakkında soru işaretleri oluşmuştur. Örneğin yapılan bir çalışmada içerisinde Si bulunmayan borat biyoaktif camın yeni kemik oluşumunun 45S5 biyoaktif cama kıyasla daha fazla desteklediği görülmüştür [52].

4.2 Biyoaktif Camlardaki İyon Katkılarının Önemi

Biyoaktif camların doku mühendisliğinde tercih edilmesinde öne çıkan bir takım özellikleri bulunmaktadır. Bunlar; osteoindüktif özellik göstermeleri, yumuşak dokulara bağlandığı gibi sert dokulara da bağlanabilmeleri ve biyolojik sıvı ile çevrelendikleri takdirde karbonlanmış hidroksiapatit (HCA) katmanı oluşturabilmeleri olarak sayılabilir. Oluşan bu katman, biyoaktif cam ile sağlıklı kemik arasındaki güçlü bağlanmadan sorumludur [37], [53]. Son zamanlarda, biyoaktif camlardan ve diğer silika bazlı camlardan salınan Si, Ca, P gibi iyonik çözünme ürünlerinin osteoblastik hücrelerdeki çeşitli genlerin ekspresyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir [54]. Bunun yanı sıra, biyoaktif camların in vitro ve in vivo ortamda anjiyogenezi uyardığı gözlenmiştir [55], [56], [57]. Ayrıca bu biyoaktif camların antibakteriyel özellikleri ve iltihaplanma süreçleri de araştırılmaktadır [58], [59]. Doku mühendisliği çalışmalarında inorganik malzemelerden çözünen iyonlar bu malzemelerin in vitro ve in vivo davranışlarının anlaşılmasında çok önemli bir yere sahiptir. İnsan vücunda var olan ve kemik metabolizmasındaki anabolik etkileri olduğu da bilinen Sr, Cu, Zn ve Co gibi iyonların doku iskelesi için biyoaktiviteyi arttırıcı ve tedavici edici katkılar olarak kullanılabilmesi yeni yaklaşımların gelişmesine neden olmuşlardır [60, 61]. İnsan vücuduna yerleştirildikten sonra biyomalzemeden salınmaya başlayan bu iyonların insan hücrelerinin davranışlarını olumlu yönde etkilemesi sonucu hem ostegenez hem de anjiyogenez ile ilişkili olarak biyoaktiviteyi arttırdığı söylenebilir. Bu yüzden araştırmalar bu iyonların farklı kalsiyum fosfatlar, biyoaktif camlar ve fosfat camlar gibi biyomalzemelerin yapısına katılmaları ve

çözünme davranışlarının incelenmesi yönünde ilerlemiş ve bu malzemelere eklenmeleri ile biyolojik performanslarının arttığı gözlenmiştir.

4.3 Kemik Metabolizmasında İnorganik İyonların Rolü

İnsan kemiği osteoblast ve osteoklastların düzenlemesi sonucu hayat boyunca yeniden modellenebilme yeteneğine sahip olan, fazlaca damarlanmış ve dinamik olan bir yapıdır [62]. Kemik oluşumu ve yıkımı büyüme faktörleri, hormonlar ve strese bağlı olarak çeşitli bölgesel ve sistematik düzenleyici ajanların işlevi sonucu meydana gelir [63], [64]. Bunlara ek olarak kalsiyum, fosfor, silikon, stronsiyum, çinko, bor, vanadiyum, kobalt ve magnezyum gibi inorganik iyonlar kemik metabolizmasına etkileriyle bilinirler ve kemik dokusunun mineralizasyonu, büyümesi ve anjiyogenezinde fizyolojik olarak rol oynarlar [65]. Özellikle, metal iyonları enzim kofaktörler gibi davranır ve bu yüzden sinyal yolaklarını etkiler, doku oluşumu sırasında meydana gelen metabolik etkileri uyarır. Bu etkiler metal iyonlarını yumuşak ve sert doku mühendisliği alanlarında iyileştirici ajanlar olarak kullanımında daha çekici hale getirmiştir [60], [66], [67].

Bu metal iyonlarından özellikle Ca ve P iyonları kemiğin inorganik fazındaki biyolojik apatitin ana komponentlerinden ($Ca_{10}(PO_4,CO_3)_6OH_2$) olması sebebi ile kemik oluşumunda ve yeniden modellenmesinde çok önemli bir role sahiptirler. Bu iyonların doku mühendisliğinde kullanımı ECM konsantrasyonlarının ve bu iyonların kemik hücreleri ile etkileşimleri ve kemik oluşumundaki uyarıcı etkilerinin bilinmesi ile mümkün olabilir. Bu bilgiler ışığında üretilecek olan biyomalzemelerin biyolojik yanıtları vücut sıvısı ile temas halinde iken salınan iyonların konsantrasyonları ile tahmin edilebilir [65]. Örneğin, Ca in vitro ortamda insan osteoblast hücrelerinin çoğalmasını etkileyen büyüme hormonlarını uyarmasıyla bilinir. Yapılan bir çalışmada salınan Ca iyon konsantrasyonuna göre oluşan biyolojik cevaplar incelenmiştir. Yüksek Ca konsantrasyonları sitotoksik etki gösterirken, düşük ve orta Ca konsantrasyonları osteoblast çoğalmasına, farklılaşmasına ve ECM mineralizasyonuna imkan tanıdığı saptanmıştır [68]. Aynı şekilde inorganik fosfatın da benzer etkileri olduğu, kemik oluşumunda önemli yolakları etkilediği yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır [69].

Ayrıca kemik apatiti, kalsiyum ve fosfatın yanında düşük konsantrasyonlarda Si, Sr, Zn, Cu, Mg, B gibi birçok farklı elementten meydana gelir. Bu yüzden tüm bu iyonlar implant malzemelerinde veya doku iskelelerinde kemik oluşum yeteneğini arttırıcı ajanlar olarak kullanılabilir [65].

Silisyum kemik dokusunun kalsifikasyonu ve oluşumuyla alakalı metabolik süreçlerde ana element olarak bilinir [70], [71]. Sıvı silisyumun kemiğin inorganik fazı olan hidroksiapatitin çökmesini arttırdığı gözlenirken, kemik matrix kalsifikasyonunun erken evrenlerinde yüksek silisyum içeriğine rastlanmıştır [72]. Ayrıca, diyetsel silisyum alımının erkeklerde ve menopoza girmemiş kadınlarda kemik mineral yoğunluğunu arttırdığı da bilinmektedir [73]. Kalsiyum eksikliği görülen farelerde yapılan diğer bir çalışmada ise silisyumun kemik erimesini azaltarak kemik mineral yoğunluğuna pozitif etki ettiği bulunmuştur, ayrıca silisyumun kemik kollajen dönüşümünü ve osteopontin gibi ECM proteinleri içeren sialik asidi düzenleyerek kemik gelişim sürecinde biyokimyasal bir etkiye sahip olduğu Nielsen ve arkadaşları tarafından bulunmuştur [74], [75]. Bununla beraber, 10 μmol konsantrasyonundaki ortosilikat asidin $Si(OH)_4$ insan osteoblast hücrelerinde kollajen 1 oluşumunu uyarıcı ve osteoblastik farklılaşmasını uyarıcı etkisi olduğu görülmüştür [76].

Stronsiyum, kalsiyum ile aynı grupta yer aldığı ve benzer atomik çapa sahip olduğu için kalsiyumun kimyasal analogudur. Bu yüzden stronsiyum hidroksiapatit kristal yapısındaki kalsiyum ile yer değiştirerek kemikte birikebilir [77]. Stronsiyumun kemik metabolizmasındaki iyileştirici etkisi, in vivo ortamda kemik oluşumunu desteklemesi ve kemik hücreleri üzerindeki yararlı etkileri ile ilgili çalışmalara literatürde rastlanmaktadır. Stronsiyum ayrıca kemik erimesi tedavisinde umut vaat edici bir madde olarak gösterilmektedir. Bunlara ek olarak stronsiyum renalat gibi stronsiyum bazlı ilaçların kemik kırıklarının iyileşmesini hızlandırdığı da yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır [65].

Çinko ise kemik metabolizmasında önemli bir rol oynarken anti enfeksiyonel etkiye de sahiptir. Çinko osteoblast hücrelerindeki protein sentezini aktive ederek in vitro ortamda kemik oluşumunu hızlandırır ve kemikteki ATPaz aktivitesini arttırır. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucu, çinkonun osteoklast hücreleri üzerinde inhibitör etki

yaparak kemik erimesini önlediği saptanmıştır [78]. Çinkonun kemik hücrelerindeki düzenleyici etkisi gen ekspresyonunda etkili olması ile de bağdaştırılır. Çinko kollajen 1, ALP, osteopontin ve osteokalsin gibi osteoblastik farklılaşma genlerinin düzenleyici araçları olarak tanımlanmıştır [79].

Cu, anjiyogenezde önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan bir araştırmada bakırın FGF-2 büyüme faktörü ile birlikte in vitro ortamdaki anjiyogenezi tetikleyici etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur [80]. Ayrıca, bakır insan endotelyal hücrelerinin çoğalmasını arttırırken mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik hatta farklılaşmasını da indükler [81], [82]. 10^{-6} mol/l konsantrasyondaki bakırın osteoklast aktivitesini azalttığı da bulunmuştur [83]. Buna rağmen bakırın kemik metabolizmasındaki pozitif etkisi hala açık bir şekilde kanıtlanamamıştır. Yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca biyokimyasal markerların izlenmesi ile bakır bileşiklerinin kemik oluşumu ve yıkımında herhangi bir etkiye sahip olmadığını bulmuştur. Benzer olarak bir başka çalışmada ise bakırlı bileşiklerin, in vivo ve in vitro ortamda kemik oluşumunda hiçbir anabolik belirti gözlenmeyen farelerde kemik dokusunu azalttığını göstermişlerdir. Ek olarak, bakırın, çinkonun anabolik kabiliyetini azalttığı gözlenmiştir [84].

Magnezyum kemik metabolizmasında oldukça önemli bir yere ve yeni kemik oluşumunu uyarıcı etkiye sahiptir. Magnezyum osteoblast hücrelerindeki hücre adhezyonu ve kararlılığından sorumlu olan integrinlerle işbirliği içerisindedirler [85], [86]. Yapılan bir çalışmada, magnezyum miktarındaki önemli miktarda azalmanın neticesinde kemik büyümesinin bozulduğu, kemik erimesinin arttığı ve trabeküler kemikte azalma olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden magnezyumun kemik metabolizmasındaki varlığı çok önemli olduğu düşünülmektedir [87], [88].

Borun fibroblast hücrelerindeki RNA sentezini etkilediği bilinmektedir [89]. Ayrıca diyet olarak alınan borun kemik oluşumunu uyardığı tavşanlarla yapılan çalışmalar sonucu görülmüştür [90]. Farelerde ise diyet olarak alınan borun farelerde çarpma kuvvetlerine karşı omurgasal direnci arttığı gözlenmiştir [91].

Molibdenin biyolojik fonksiyonları genelde Cu metabolizması ile ilişkili olup bunun dışında xanthine oksidaz, aldehid oksidaz ve sülfid oksidaz enzimlerinin yapısına katılırlar. Ayrıca sitokrom C ile xanthin oksidaz reaksiyonuna ve aldehid okisadaz ile

sitokrom C nin indirgenme reaksiyonuna katıldığı yapılan çalışmalar ile ortaya koyulmuştur. Bunların yanında büyüme, hücresel solunum, pürin ve demir metabolizmasına da katıldığı belirtilmektedir [92]. Kemik metabolizmasındaki mekanizması henüz araştırma aşamasında olması ile birlikte molibdenin kemik metabolizmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir [93].

4.4 Biyoaktif Camın Bozunması ve Hidroksiapatite Dönüşümü

Biyoaktif camlar bozunurken üzerinde hidroksiapatit benzeri bir tabaka biriktirirler. Biyoaktif camların bozunma kinetiklerini ve hidroksiapatite dönüşme mekanizmalarını in vitro ortamda 37°C'de yapay vücut sıvısı içerisinde incelemek mümkündür. Bu amaçla belirli bir periyotta belirli zaman aralıklarında meydana gelen ağırlık azalmaları takip edillir. Ayrıca biyoaktif camların zaman içerisinde çözünmesi ile YVS içerisine salınan iyonlar çözeltinin pH değerinde ve iyonik konsantrasyonunda bir değişime yol açarlar. Ağırlıkta, pH değerinde ve iyonik konsantrasyonda meydana gelen bu değişikliklerden hidroksiapatit oluşumunun gerçekleştiği desteklenebilir. Bunun yanında hidroksiapatit oluşumunu yapısal, kimyasal ve mikrokimyasal yöntemler ile saptamak mümkündür. Reaksiyon süresi iyonların kristalize olabileceği kadar uzun ise XRD ile hidroksiapatit saptanabilir. Bunun yanında FTIR ile de hidroksiapatit oluşumunu destekleyen $(CO_3)^{-2}$ grubunun yaptığı rezonans sayesinde saptama yapılabilir [94], [95], [96], [97].

4.5 Biyoaktif Cam Üretim Yöntemleri

Biyoaktif camlar ergitme yöntemi ve sol-jel yöntemi olarak 2 farklı yöntem ile üretilebilirler. Ergitme yöntemi yüksek sıcaklıklarda biyoaktif cam bileşeni olan kimyasal tozlarının ergitilmesi ile gerçekleşirken, sol-jel yöntemi daha düşük sıcaklıklarda sinterleme işlemi ile gerçekleştirilir.

4.5.1 Ergitme Yöntemi

Biyoaktif camların üretilmesinde ilk kullanılan yöntem ergitme yöntemidir. Toz halinde hazırlanan başlangıç malzemeleri 1300 ila 1500°C arasında belirlenen bir sıcaklıkta ergitilir. Biyoaktif camların daha homojen ve saf olarak elde edilmesi açısından çeşitli

ara işlemlerin uygulanmasının ardından kalıplara dökülerek şekillendirilir. Bu yöntemde kullanılan başlangıç malzemeleri saf olmalıdır. Çok yüksek sıcaklıklarda çalışıldığı için bu yöntemde platin potaların kullanılması uygundur.

4.5.2 Sol-Jel Yöntemi

Sol-jel ismi İngilizce "solution-gelation" sözcüklerinin birinci hecelerinin birleştirilmesinden çıkmıştır; çözeltiye alma-pelteleştirme (jelleştirme) yöntemidir. Çeşitli metal-alkoksitler, metal tuzları, alkol ve karbon içeren (organik) çözücüler ve suyun kullanıldığı sol-jel yöntemi, toz şeklinde kullanılacak yüzey tepkili seramikler için en uygun üretim yöntemlerinden biridir [98]. Tozların içerdikleri kristal fazlarının boyutları nanometre seviyelerinde tutulabilmektedir. Tüm bu özellikler hem üretim, hem daha sonra uygulanan ısıl işlemler sırasında kazandırılabilmektedir.

Sol-jel yöntemi; tane boyutlarının, şeklin ve yüzey alanının kontrol edilebilmesi nedeniyle diğer üretim yöntemlerine göre avantalıdır. Üretim moleküler seviyede yapıldığından üretilmesi zor olan karışımlar kolaylıkla yapılabilir. Malzemenin biyolojik etkilerinin kontrolü için biçimsel özellikler çok önemlidir. Sol-jel yöntemi cam-seramiklerin boyut ve şekilleri istenilen şekilde üretilebilir; bu da malzemenin biyolojik etkilerinin daha kolay incelenebilmesini sağlar. Bunun yanında oda sıcaklığında ve daha basit şartlarda çalışıldığı için oldukça kolay, hızlı ve ekonomik bir yöntemdir [99], [100].

Üretim oda sıcaklığında gerçekleştirilebildiğinden soğuk metot olarak da tanımlanmaktadır. Su, asit ve ya alkol ile karıştırılarak hazırlanan çözeltiler hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları sonucu jel haline dönüşür. Daha sonra jeller ısıl işleme tabi tutularak cam haline dönüştürülür. Sol jel yöntemiyle üretilen cam tozlarından cam-seramik üretiminde; presleme+sinterleme+ısıl işlem, presleme+sinterleme ve ya sıcak presleme yollarından birisi izlenir.

Sol-jel tekniğinin geleneksel klasik cam üretimine karşı en önemli avantajları; başlangıç malzemelerinin çok temiz olmasının yanı sıra molekül bazında karıştırılmasından dolayı çok saf ve temiz camların elde edilebilmesiyle, çok daha düşük sıcaklıklarda camların üretilebilmesidir. Ayrıca sol-jel tekniği kullanarak fiber takviyeli cam-seramiklerin üretilmesi de mümkündür Bu yöntemin; büyük boyutlu camların elde edilmesinde

karşılaşılan zorluklar, hidroliz ürünlerinin ve organik kalıntıların kurutma ile uzaklaştırılması sırasında numunede oluşan çatlaklar gibi bazı dezavantajları da mevcuttur [101].

4.6 Biyoaktif Cam Üretiminde Kullanılan Kaynaklar

Biyoaktif camlar içerisinde bulunan cam yapıcı ajanlara göre 3 sınıfta incelenebilir. Bu 3 biyoaktif cam sınıfı için de ağ yapı düzenleyiciler genel olarak CaO ve Na_2O olup, cam yapıcı olarak kullanılan kaynağa göre isim alırlar. Silikat biyoaktif camlar yapısında cam yapıcı olarak SiO_2, borat biyoaktif camlar yapısında ağ yapıcı olarak B_2O_3 ve fosfat biyoaktif camlar yapısında ağ yapıcı olarak P_2O_5 bulundururlar. Literatürde en fazla çalışılan biyoaktif cam türü silikat biyoaktif camlar olsa da son zamanlarda biyoaktiviteleri, HA oluşturabilme kabiliyetleri ve biyobozunurluklarının kimyasal kompozisyonundaki değişiklikler ile kontrol edilebilmesi borat biyoaktif camlar ile ilgili çalışmalara hız kazandırmıştır [65].

4.6.1 Silika Kaynağı Olarak Pirinç Kabuğu Külü

Pirinç kabuğu aşındırıcı yapısı ve düşük besin öğesi içeriği sebebiyle gıda olarak tüketim için uygun değildir ve genellikle açık havada yakılarak bertaraf edilmekte ya da tarım alanlarında istiflenmektedir. Yakılması ile atmosfere tehlikeli maddeler salınmakta, tarım alanlarında istiflenmesi ile verimli araziler işgal edilmektedir. Özellikle çevrenin korunması açısından tarımsal atıkların farklı endüstrilerde değerlendirilmesi çok önemlidir [102].

Organik bir tarım atığı olan pirinç kabuğu, çeltiğin öğütme prosesi süresince çeltik tanelerinin kapçıklarının alınması sonucu ortaya çıkar. Pirinç üretimi yapan tüm ülkelerde bol miktarda ortaya çıkan pirinç kabuğu; % 40 selüloz, % 30 lignin grubu ve %20 oranında hidrat amorf silis içermektedir. Pirinç kabuğunun yakılması esnasında yarısından çoğu uçucu madde olarak uzaklaşır. Pirinç kabuğu külü ise %95-97 oranında amorf SiO_2 içerir. Geriye kalan kısmı ise karbon ve diğer safsızlıklardan oluşur. Termal uygulamalarla pirinç kabuğunda bulunan silis, silisin kristal hali olan kristabolite dönüşmektedir. Bununla birlikte kontrollü yakma şartları sağlandığı takdirde pirinç kabuklarından yüksek yüzey alanı, çok ince tanelere sahip ve yüksek reaktiflikte amorf

silis elde edilmektedir. Böylelikle zengin bir silika içeriğine sahip olan pirinç kabuğu külü yüksek reaktiflik özelliği kazanmaktadır [103].

Yüksek silika içeriğinden dolayı pirinç kabuğu külü silika jel ve tozlarının üretimi için ekonomik bir hammadde olarak kullanılabilmektedir. Silika bitkisel yağ arıtımında, farmasötik ürünlerde, deterjanlarda, yapıştırıcılarda, kromatografik kolon malzemelerinde ve seramiklerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Literatürde silika malzeme hazırlamak üzere çeşitli yöntemler bildirilmiştir. Plazma sentez, kimyasal buhar çökeltme, sol-jel işleme, mikro-emülsiyon işleme ve hidrotermal teknik bu yöntemlerden bazılarıdır. Ekonomik yönden uygun olması ve laboratuvar şartlarında kolay üretimi nedeni ile genelde alkali ekstraksiyon metodu tercih edilir. Pirinç kabuğu külünün içerisinde yüksek oranda bulunan amorf silika sodyum hidroksit gibi bazik çözeltiler ile muamele edildiğinde kolayca çözünür ve sodyum silikat çözeltisi elde edilir [104], [105].

BÖLÜM 5

DENEYSEL YÖNTEM

5.1 Pirinç Kabuğu Külünden Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi

5.1.1 Pirinç Kabuğu Küllerini Yakma İşlemi

Pirinç kabuğu külleri içerisinde bulunan tüm organik bileşikleri uzaklaştırmak ve silika içeriğini arttırmak amacı ile pirinç kabuğu küllerine yakma işlemi uygulandı. Yakma işlemi porselen kroze içerisinde 5 saat boyunca 600°C'de gerçekleştirildi.

5.1.2 Asit ile Kaynatma İşlemi

Bu basamakta HCl kullanılarak külün içerisindeki safsızlıklardan arındırılmak amacı ile kaynatma işlemi gerçekleştirildi. Aşağıdaki basamaklar sırası ile uygulandı.

1. 40 g kül tartılıp balona alındı.

2. Üzerine 6:1 oranında yani 240 ml distile su eklendi.

3. Karıştırıcıda 750 rpm'de karıştırılarak pH'ı 6 M HCl ile 1'e ayarlandı.

4. Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak 2 saat kaynatıldı.

5. Vakum altında süzüldü ve 400 ml distile su ile yıkandı.

6. Saat camına yayılarak etüvde kurutuldu.

5.1.3 Külün Alkali Ekstraksiyonu

Pirinç kabuğu silikası maliyeti düşük ve kolay bir yöntem olan alkali ekstraksiyon ile çözeltiye alınır. Bu yüzden bu çalışmada da sıkça kullanılan bir yöntem olan alkali ekstraksiyon yöntemi seçildi. İşlem basamakları aşağıdaki gibidir.

1. Behere aktarılan külün üzerine 240 ml NaOH eklendi ve 1 saat kaynatıldı.

2. Kaynatma işlemini takiben 400 ml distile su ile vakum altında süzüldü.

3. Elde edilen Na_2SiO_3 çözeltisi kullanıma kadar plastik bir şişede muhafaza edildi.

5.1.4 Sodyum Silikat Çözeltisinden Silika Eldesi

Sodyum silikat çözeltisinden silika eldesi sol-gel yöntemi ile yapılır. Jelleştirme için 1 M ve 6 M HCl çözeltisi kullanıldı. Sodyum silikat çözeltisi manyetik karıştırıcıda karıştırılırken pH'ı 9 olana kadar 6 M HCl eklendi. pH'ı 8 olduktan sonra pH'ı 7 olana kadar 1M HCl eklendi. Oda sıcaklığında yaklaşık yarım saat içerisinde jelleşme gerçekleşti. Elde edilen jeller 18 saat boyunca silika ağının güçlenmesi için oda sıcaklığında yaşlandırılmaya bırakıldı.

Sodyum silikat çözeltilerinden elde edilen silikalarda bir takım safsızlıklar bulunur. Bu safsızlıklardan en fazla olanı Na'dur. Jelleştirme esnasında kullanılan HCl'den gelen klor iyonlarının Na ile bağ yapması ile NaCl oluşur. Oluşan bu NaCl'nin yapıdan uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla, yaşlandırılan jeller 3 kez distile su ile yıkandı ve her defasında santrifüjlendi. Daha sonra saat camına yayılan jeller 80°C'de 18 saat boyunca etüvde bırakıldı. Etüvden alınan silikalar agat havanda 2 kez öğütülerek ince toz haline getirildi ve silika tozu elde edildi.

5.2 Biyoaktif Cam Bileşenlerinin Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında üretilen 45S5 biyoaktif camlar ticari ve biyosilika olmak üzere 2 farklı silika kaynağı kullanılarak üretildi. Sr ve Mo olmak üzere 2 farklı katkı 4'er farklı oranda eklendi. Biyoaktif cam üretimi için kullanılan kimyasallar markaları ile birlikte Çizelge 5. 1'de verilmiştir.

Çizelge 5. 1 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	**Marka**	**Molekül Ağırlığı**
Silisyum dioksit (SiO_2)	Riedel-deHaën	60,08 (g/mol)
Kalsiyum karbonat ($CaCO_3$)	Merck	100,09 (g/mol)
di-sodyum hidrojen fosfat dihidrit ($Na_2HPO_4.2H_2O$)	Merck	177,99 (g/mol)
Sodyum hidrojen karbonat ($NaHCO_3$)	Merck	84,01 (g/mol)
Stronsiyum oksit (SrO)	Sigma Aldrich	103,62 (g/mol)
Molibden oksit (MoO_3)	Sigma Aldrich	143,94 (g/mol)

Stronsiyum ve kalsiyumun benzer atomik çaplara sahip olması sebebi ile eklenen stronsiyum yüzdesi kalsiyum oranından düşürülmüştür. Stronsiyum ve molibden katkılarının doğru bir şekilde kıyaslanabilmesi adına molibden katkılı camlarda da katkı oranı yine kalsiyumdan düşürülmüştür. Üretilen camların ağırlıkça oranları ve yüzde bileşenleri Çizelge 5. 2'de verilmiştir.

Çizelge 5. 2 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan bileşenlerin yüzde oranları

	Katkı Oranları					
	% SiO_2	% Na_2O	% CaO	% P_2O_5	% SrO	% MoO_3
Katkısız	45	24,5	24,5	6	-	-
%0,5 Sr Katkılı	45	24,5	24	6	0,5	-
%1 Sr Katkılı	45	24,5	23,5	6	1	-
%2 Sr Katkılı	45	24,5	22,5	6	2	-
%4 Sr Katkılı	45	24,5	20,5	6	4	-
%0,5 Mo Katkılı	45	24,5	24	6	-	0,5
%1 Mo Katkılı	45	24,5	23,5	6	-	1
%2 Mo Katkılı	45	24,5	22,5	6	-	2
%4 Mo Katkılı	45	24,5	20,5	6	-	4

5.3 Ergitme Yöntemi ile 45S5 Biyoaktif Camların Eldesi

Tez çalışması kapsamında üretilen biyoaktif camlar ergitme yöntemi ile elde edilmişlerdir. Ergitme işlemleri Şişecam Bilim ve Teknoloji Merkezi Eritiş laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Üretilecek olan her bir biyoaktif cam örneği için ayrı ayrı tartılan bileşenler homojen bir karışım elde edilmesi amacı ile mekanik karıştırıcıda bir süre karıştırılmaya bırakıldı. Karıştırıcıdan alınan biyoaktif cam bileşenleri platin potalara aktarıldı. Platin potalardaki toz karışımı 1400°C sıcaklıktaki kül fırınında 1 saat süre ile ergitildi. Bu aşamada bileşenler içerisinde bulunan karbon, hidrojen ve oksijen CO_2 ve H_2O şeklinde sıcaklığın etkisiyle uzaklaştırıldı. 1 saat sonunda eriyik hale geçen biyoaktif cam karışımı fırından alınarak soğuk su içerisine akıtıldı. Su içerisinde donarak şekil alan biyoaktif camlar 150°C'ye ayarlanmış etüvde kurumaya bırakıldı. İçerisindeki nemden tamamen uzaklaştırılmış olan camlar tekrar öğütüldükten sonra platin potaya yerleştirildi. Fırın sıcaklığı 1450°C'ye çıkarıldı ve öğütülen biyoaktif cam tozları 2 saat daha fırınında bekletildi. Bu basamakta biyoaktif camlar daha saf ve homojen halde elde edildi.

2 saatin sonunda fırından çıkarılan eriyik biyoaktif camlar metal tezgaha damlalar halinde döküldü ve tavlanmaları için 550 °C 'deki tavlama fırınına yerleştirildi. Tavlama işlemi ile cam soğurken meydana gelen gerilmelerin ortadan kalkması sağlandı.

5.4 Üretilen Biyoaktif Camların Karakterizasyonu

Biyoaktif cam numunelerinin mekanik, fiziksel ve yüzey özellikleri, bağ yapıları ve yapay vücut sıvısı (YVS) içerisindeki davranışlarının belirlenmesi ile çeşitli analizler yapılmıştır. Numuneler biyolojik özelliklerinin belirlenmesi için 7, 14, 21 ve 28 günlük süreler ile YVS içerisinde bekletilmiştir. YVS içerisinde 37°C'de kaldıkları süre içerisinde biyoaktif camların yüzeyinde meydana gelen hidroksiapatit miktarı biyoaktif camların biyoaktivitesi ile ilişkili olduğu için hidroksiapatit tabakasının oluşumu ile ilgili analizler FTIR, Vickers ve SEM cihazları kullanılarak tespit edilmiştir. Hazırlanan TRIS çözeltisi içerisinde biyoaktif cam numunelerinin 7 gün boyunca bekletilmesi ile biyoaktif camların biyobozunurlukları tespit edilmiştir.

5.4.1 Yapay Vücut Sıvısı (YVS) Analizleri

Yarı kararlı tampon çözeltisi olarak bilinen ve iyon konsantrasyonu açısından, insan kan plazmasına eşdeğer kimyasal yapıda olan yapay vücut sıvısı çalışılmıştır. Kokubo'nun hazırlamış olduğu YVS' deki; $HCO3^-$ ve Cl^- değerlerinde değişiklik yaparak, kan plazmasındaki iyon konsantrasyonuna daha uygun YVS elde etmiştir. Pasinli ve arkadaşları ise yeni bir yaklaşım ile kan plazmasında bulunan Cl^- iyonunu 103 mM değerinde gerçekleştirmiş ve hazırlanan YVS, tüm inorganik iyonlar yönünden de ilk defa kan plazması ile benzer bileşim göstermiştir. Aşağıda verilen Çizelge 5. 3'te insan kan plazması ve YVS' nin iyon konsantrasyonu görülmektedir.

Çizelge 5. 3 İnsan plazması ve YVS çözeltisinin iyon konsantrasyonu

İyon	Kokubo (mM)	Taş (mM)	Lac-SBFx1 (mM)	İnsan Plazması (mM)
Na	142,0	142,0	142,0	142,0
Cl^-	147,8	125,0	**103,0**	**103,0**
HCO^{-3}	4,2	27,0	27,0	27,0
K^+	5,0	5,0	5,0	5,0
Mg^{+2}	1,5	1,5	1,5	1,5
Ca^{+2}	2,5	2,5	2,5	2,5
HPO_4^{-2}	1,0	1,0	1,0	1,0
SO_4^{-2}	0,5	0,5	0,5	0,5

Çizelge 5. 4'te YVS hazırlamak için kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları tablo halinde verilmiştir. Bu kimyasal maddeler verilen sırası 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 neden olduğundan ve bu artış çözeltide bulanıklık ile sonuçlandığından, çözeltiye yavaş yavaş eklendi. Çözeltinin pH değeri belirli bir sınır değerinin üstüne çıktığında 1 M HCl ile titre

edildi. Aksi halde çözeltide bulanıklık oluştuğu gözlendi. Son olarak pH değeri 7,4'e ulaştığında oda sıcaklığına kadar soğuması sağlanıp, hacmi distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Üretilen biyoaktif camların in vitro ortamda biyoaktivitelerini ve bununla ilişkili olarak yüzeylerinde hidroksiapatit oluşumunu saptamak amacı ile YVS çözeltisi her bir biyoaktif cam için 20 ml/cm^2 olacak şekilde ayrı ayrı hesaplanan miktarlarda konuldu.

Çizelge 5. 4 YVS için kullanılan kimyasal malzemelerin katılım sırası ve miktarı

Katılım Sırası	**Kimyasal Madde**	**g/l**
1	NaCl	6,547
2	$NaHCO_3$	2,268
3	KCl	0,378
4	$Na_2HPO_4.2H_2O$	0,178
5	$MgCl_2.6H_2O$	0,305
6	1 M HCl	40 ml
7	$CaCl_2.2H_2O$	0,368
8	Na_2SO_4	0,071
9	$(CH_2OH)_3CNH_2$	6,057

YVS çözeltisi her 7 gün sonunda tazelendi. YVS içerisinde bulunan biyoaktif camlar 7, 14, 21 ve 28 günlük periyotlarda Vickers sertlik değeri cihazı ile ölçüldü. Üretilen biyoaktif cam numuneleri YVS içerisine konulduktan sonra YVS içerisinde meydana gelen iyon değişimlerin tespiti için Optima 2100 DVModel ICP (Inductively Coupled Plasma) cihazının 13.56 MHz' ta kullanılması ile ölçülmüştür. YVS içerisinde biyoaktif cam numunelerinin yüzeyinde meydana gelen hidroksiapatit oluşumu 7 günlük sürelerde SEM ve FTIR cihazları kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları da 7 günlük periyotlarda saptanmıştır.

5.4.2 YVS Çözeltisinin ICP-OES Analizi

Biyoaktif camların yapay vücut sıvısındaki belirli periyotlarda inkübasyonu sonrası gerçekleşen iyon salımları İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry, ICP-OES, Perkin Elmer, Optima 2100 DV) ile belirlendi.

5.4.3 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.

5.4.4 Biyoaktif Camların YVS Öncesi ve Sonrası Vickers Sertlik Değerleri

Tez çalışması kapsamında 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.

5.4.5 FTIR Analizleri

Üretilen biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS çözeltisine konulduktan sonraki 7, 14, 21 ve 28 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.

5.4.6 SEM Analizleri

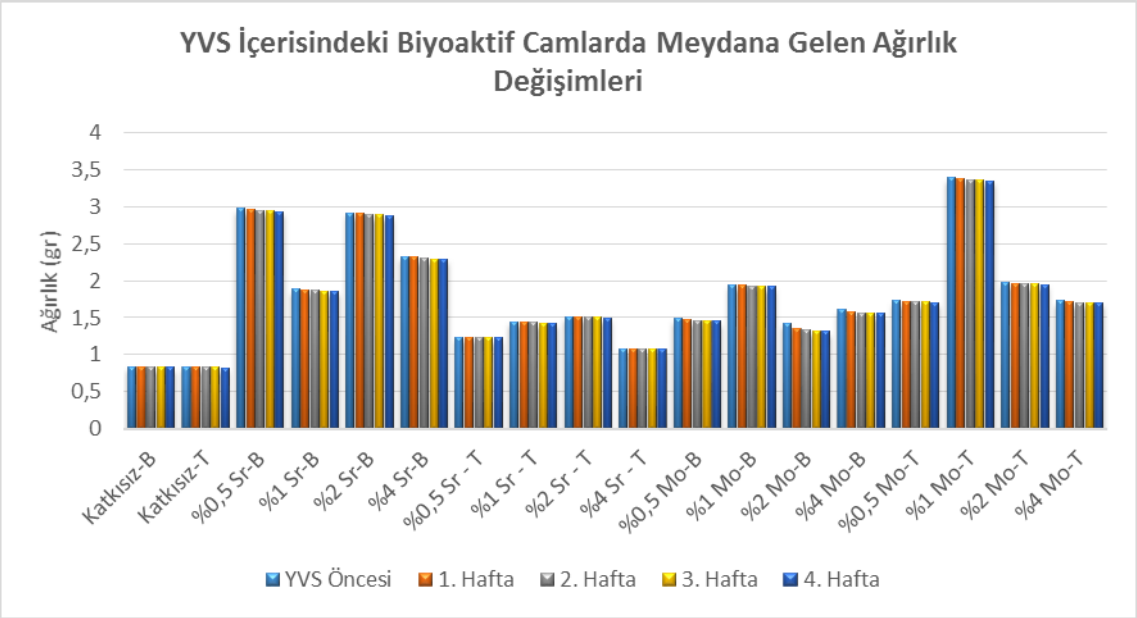
Biyoaktif camların YVS çözeltisi içerisinde 37°C'de inkübe edilmesi sonucu, biyoaktif camlardan salınan iyonlar YVS içerisindeki iyonlar ile etkileşime girerek HCA tabakası oluştururlar. Biyoaktif camların yüzey morfolojilerinde meydana gelen bu değişimler YVS çözeltisinde inkübe edilmeden önce ve sonrasında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

BÖLÜM 6

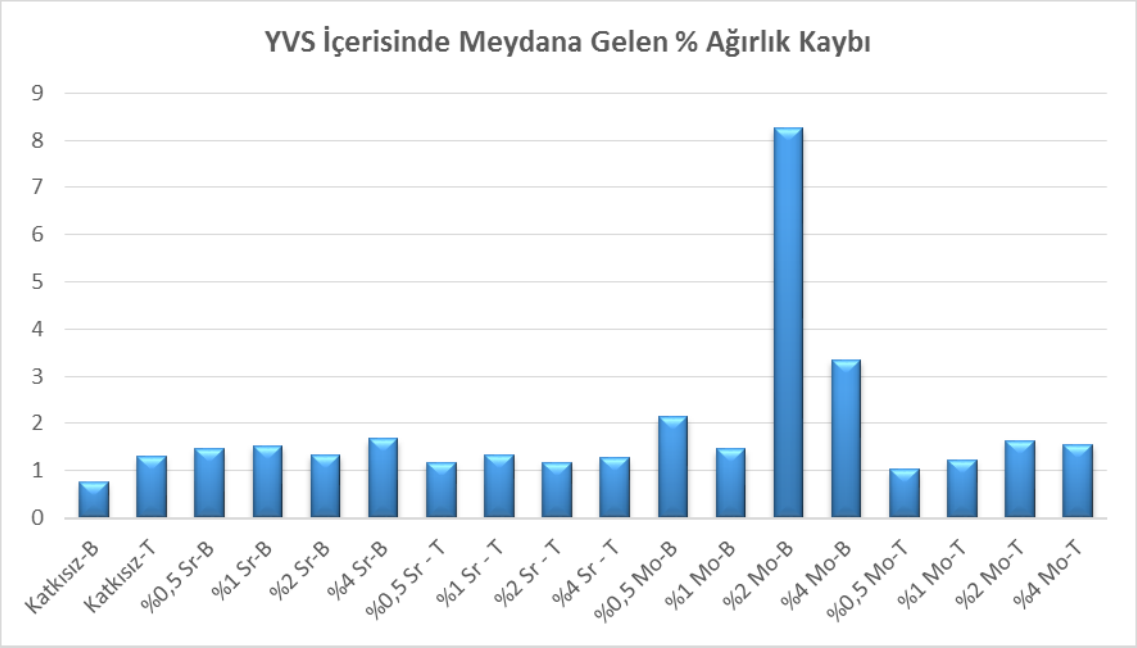
SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

6.1 YVS Çözeltisinde Meydana Gelen Ağırlık Değişimleri

28 gün boyunca YVS çözeltisi içerisinde, 37°C'de inkübe edilen biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık değişimleri ve ağırlık azalmalarının yüzde cinsinden değerlerinin oluşturduğu grafikler Şekil 6. 1 ve Şekil 6. 2'de verilmiştir.



Şekil 6. 1 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları



Şekil 6. 2 YVS içerisindeki biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen ağırlık azalmaları

Şekil 6. 1 incelendiğinde tüm biyoaktif camların haftalık olarak alınan ağırlık değerlerinin zaman ilerledikçe azaldığı anlaşılmaktadır. Biyoaktif camlardan YVS içerisine geçen iyonlardan kaynaklanan ağırlık azalmaları biyoaktivitenin yorumu açısından oldukça önemlidir. Bu bağlamda Şekil 6. 2 incelendiğinde en fazla % ağırlık azalmasının biyosilikalı %2 Mo ve %4 Mo katkılı biyoaktif camlarda, meydana geldiği görülmektedir. İyon salımının hızlı gerçekleşmesinden dolayı bu biyoaktif camın bir kısmı parçalandığı için ağırlık kaybı yüzdesinin çok büyük olduğu görülmektedir. Ayrıca biyosilikalı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmasının ticari silikalı biyoaktif camlara kıyasla daha fazla olduğu da söylenebilir.

6.2 Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi

Çizelge 6.3'te katkısız, %1 Sr ve Mo katkı içeren biyoaktif camların YVS içerisinde 7. ve 14. günlere ait ICP analizi sonuçları verilmiştir. Çizelgede verilen tüm biyoaktif camlar için Ca ve Na iyonları, Sr katkılı olan biyoaktif camlar için ise Sr iyonları da analiz edilmiştir. Biyoaktif camlar YVS içerisinde inkübasyon işlemine başladıkları andan itibaren iyon salımı gerçekleşmeye başlar. Biyoaktif cam yüzeyinden ilk salınmaya başlayan iyonlar Na^{+} ve Ca^{+2} iyonları olduğu için öncelikle bu iyonların analizinin yapılması uygun bulunmuştur. Normal şartlarda YVS içerisinde her iki iyon da

bulunmaktadır ve biyoaktif camdan salınan bu iyonlardan Ca^{+2} iyonu YVS içerisinde $(PO_4)^{-3}$ 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.

Çizelge 6. 1 Biyoaktif cam numunelerinin inkübe edildiği yapay vücut sıvılarının 7. ve 14. güne ait ICP-OES analiz sonuçları

Bekletme Süresi (gün)	**Numune İsmi**	**Ca (ppm)**	**Na (ppm)**	**Sr (ppm)**
-	YVS Kontrol	315,8983	5428,665	-
7	Katkısız - B	310,138	6051,668	-
	Katkısız - T	348,7655	5404,565	-
	%1 Sr – B	306,5456	5918,278	44,3282
	%1 Sr – T	354,8023	5780,518	10,5617
	%1 Mo – B	174,5529	6206,131	-
	%1 Mo – T	483,5878	6151,12	-
14	Katkısız – B	176,3834	5581,369	-
	Katkısız – T	304,124	6064,454	-
	%1 Sr – B	302,7693	5649,513	23,3373
	%1 Sr – T	359,3893	6531,913	22,9212
	%1 Mo – B	281,3882	6262,678	-
	%1 Mo – T	295,9982	5412,665	-

Çizelge 6. 1'de verilen biyosilikalı katkısız biyoaktif camın 7 ve 14 gün sonundaki elemental analiz sonuçları incelendiğinde, 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. Bu bilgiler ışığında elemental analizi yapılmamasına karşın

$(PO_4)^{-3}$ iyonunun da biyoaktif camdan hızlı bir şekilde salındığı yorumunu yapmak mümkündür.

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.

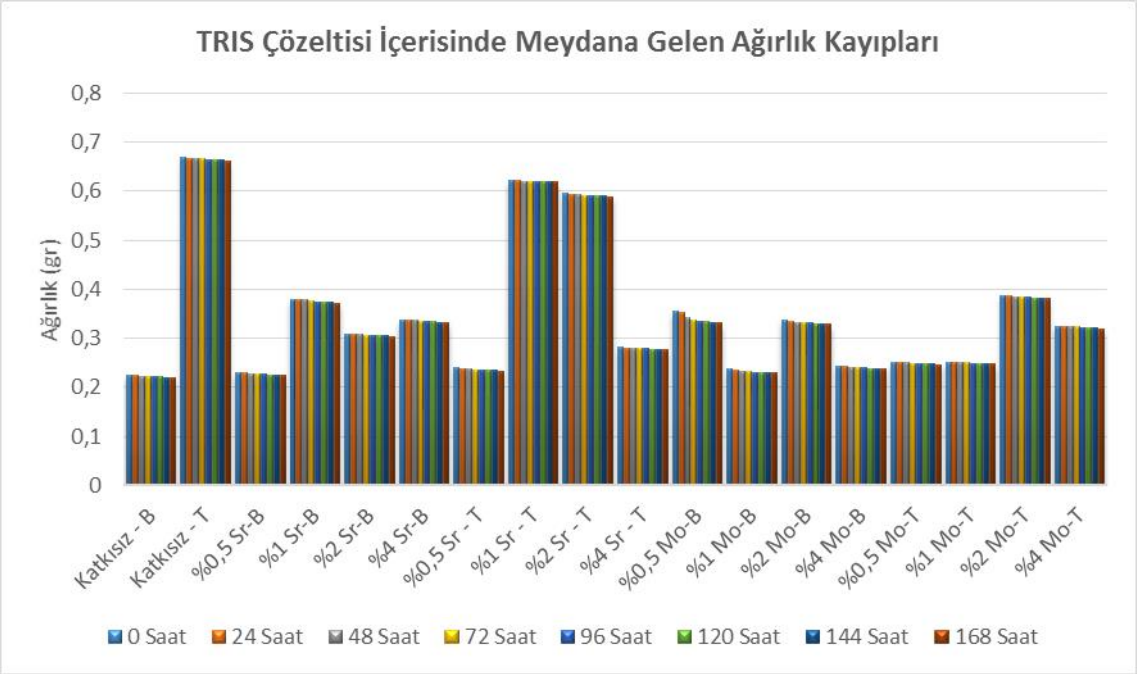
Biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camlarda 7. ve 14. gün içerisinde kontrole kıyasla Ca^{+2} iyonlarının miktarında azalma, ticari silikalı olanlarda ise artış söz konusudur. Biyosilikalı olan biyoaktif camlardan salınan iyonlar HCA tabakası oluşuma katılıp tükenmiş ve YVS içerisindeki iyonlar kullanılmaya başlamıştır. Ticari silikalı Sr katkılı biyoaktif camda Ca^{+2} iyonlarında artış mevcuttur. Bu durum ticari silikalı Sr katkılı biyoaktif camlarda HCA oluşumunun biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camlara kıyasla daha yavaş olduğu ile açıklanabilir. Bu durum SEM görüntüleri ile de desteklenmiştir. Sr iyon salımlarının ise biyosilikalı biyoaktif camlarda daha fazla olduğu görülmektedir.

Mo katkılı camlarda da Sr katkılı biyoaktif camlara benzer sonuçlar vardır. Fakat Sr katkılı camlara kıyasla biyosilikalı biyoaktif camlarındaki Ca^{+2} iyonu miktarları daha düşüktür. Bu bağlamda biyoaktivite ile doğrudan ilişkili olan HCA tabakası oluşumunda Mo katkısının Sr katkısından daha iyi sonuçlar verdiğini söylemek mümkündür. Ticari silikalı Mo katkılı biyoaktif camlarda ise 7. güne kadar sürekli bir iyon salımı gerçekleşmiş, 7 ile 14. günler arasında ise HCA tabakası oluşmaya başlamıştır.

6.3 TRIS Çözeltisi İçerisinde Meydana Gelen Ağırlık ve pH Değişimleri

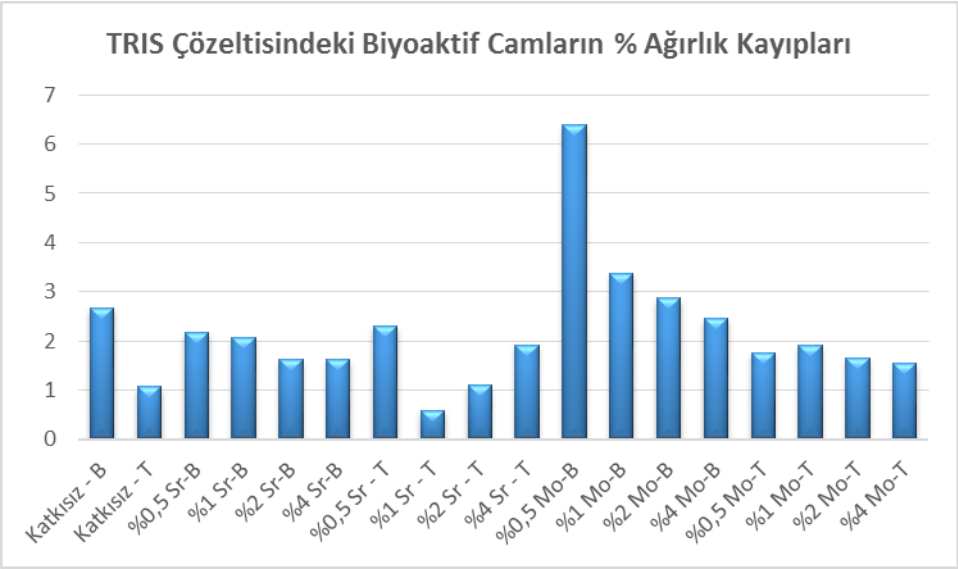
Üretilen biyoaktif cam numunelerinin in vitro bozunmalarının incelenmesi için TRIS çözeltisi içerisinde 37°C sıcaklıkta, 7 gün boyunca inkübe edilerek; bu süre içerisinde biyoaktif cam numunelerinin zamana bağlı ağırlık değişimi ve TRIS çözeltisinin pH değişimi incelenmiştir. Literatürde belirtildiği 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. Tüm biyoaktif cam numuneleri için TRIS çözeltisi ile 7 günlük inkübasyonu süresince ağırlıklarında meydana gelen değişim Şekil 6. 3'te verilmiştir. TRIS çözeltisi içerisinde bulunan biyoaktif camların ağırlıkları bu süre içinde sürekli olarak azalmıştır.



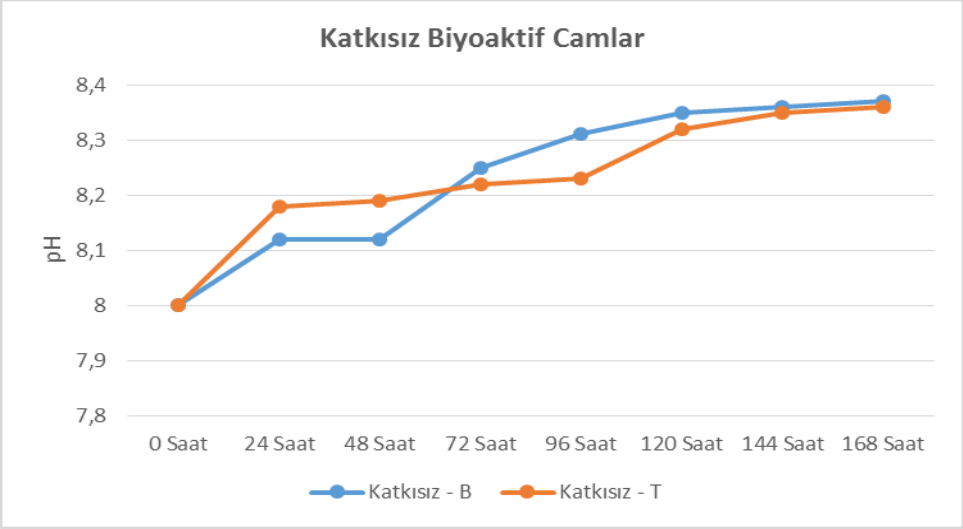
Şekil 6. 3 TRIS çözeltisi içerisindeki biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları

Şekil 6. 4'te biyoaktif camlar arasında 7. günün sonunda % ağırlık kaybı en fazla olan biyosilikalı %0,5 Mo biyoaktif cam olduğu görülmektedir. Fakat bu biyoaktif cam TRIS çözeltisi içerisindeki 2. günü sonunda 2 parçaya ayrılmıştır. Parçalanma esnasında tartımı alınamayacak küçük parçacıklar da oluşmuştur. Yüzde ağırlık kaybının diğerlerine kıyasla büyük bir fark ile yüksek çıkmasında deneysel kayıplar da olmasına karşın, bu kadar kısa sürede parçalanması da aslında yüksek biyoaktivitesi ve hızlı biyobozunmasının bir neticesidir.



Şekil 6. 4 TRIS çözeltisi içerisindeki biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları

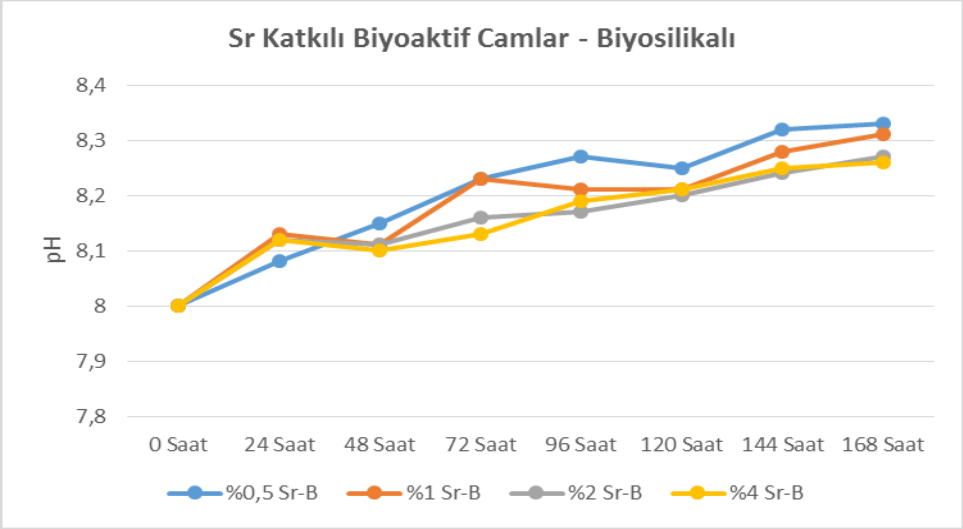
Katkısız camlar içerisinde biyosilikalı olan biyoaktif camda ağırlık azalmaları daha fazladır. Ağırlık azalmaları dikkate alınarak biyobozunurluk ile ilgili bir değerlendirme yapılırsa; biyosilikalı biyoaktif camların ticari silikalı biyoaktif camlara kıyasla, Mo katkılı biyoaktif camların da Sr katkılı biyoaktif camlara kıyasla daha biyobozunur oldukları Şekil 6. 4'teki grafik incelendiğinde görülmektedir.



Şekil 6. 5 Biyosilikalı ve ticari silikalı, katkısız biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

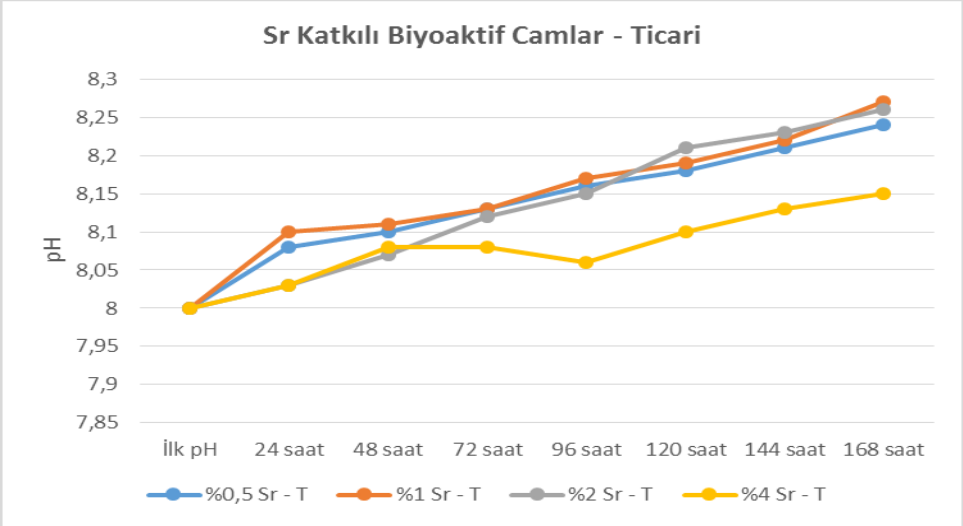
Şekil 6. 5'te yer alan grafik incelendiğinde her 2 biyoaktif cam numunesinin içinde bulundukları TRIS çözeltisinin pH değerinde sürekli bir artışa neden oldukları

görünmektedir. İlk 24 saat içerisinde biyosilikalı biyoaktif cam numunesinde iyon salımının daha fazla olduğu fakat 168 saat sonunda her 2 biyoaktif cam numunesinin de aynı pH değerine ulaştığı gözlenmiştir.



Şekil 6. 6 45S5 Sr katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

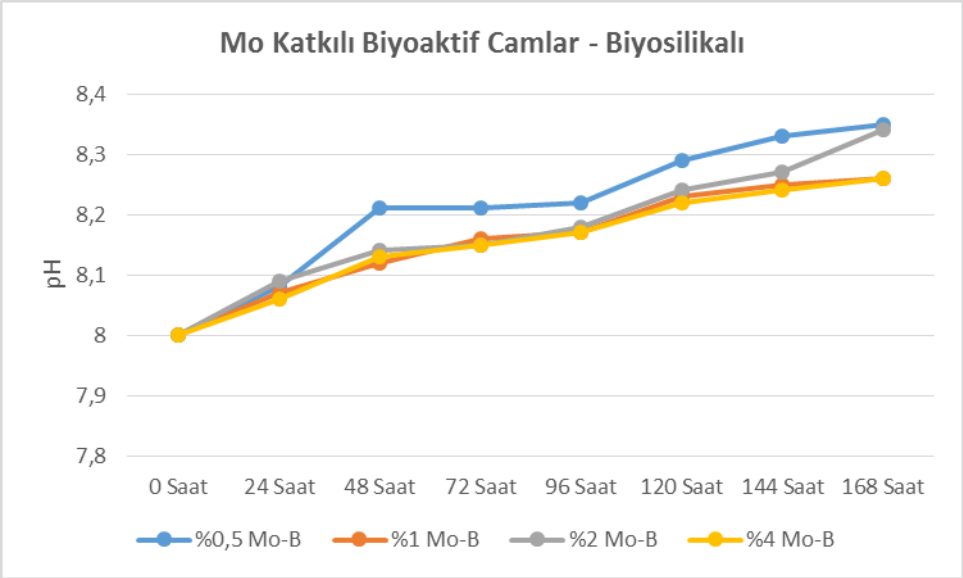
Şekil 6. 6'da biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camların TRIS çözeltisi içerisinde meydana getirdikleri pH değişimleri verilmiştir. pH değerlerindeki artışa en fazla %0,5 Sr katkılı biyoaktif camın neden olduğu görülmektedir.



Şekil 6. 7 45S5 Sr katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 6.7 incelendiğinde %4 Sr katkılı biyoaktif camın bulunduğu TRIS çözeltisindeki pH artışının en az olduğu görülmektedir. %0,5, %1 ve %2 Sr katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki pH değerleri birbirlerine oldukça yakındır.

Şekil 6.6 ve Şekil 6.7'deki pH değerlerindeki artış kıyaslandığında biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camların ticari silikalı biyoaktif camlara kıyasla daha fazla pH artışına neden oldukları gözlenmektedir.

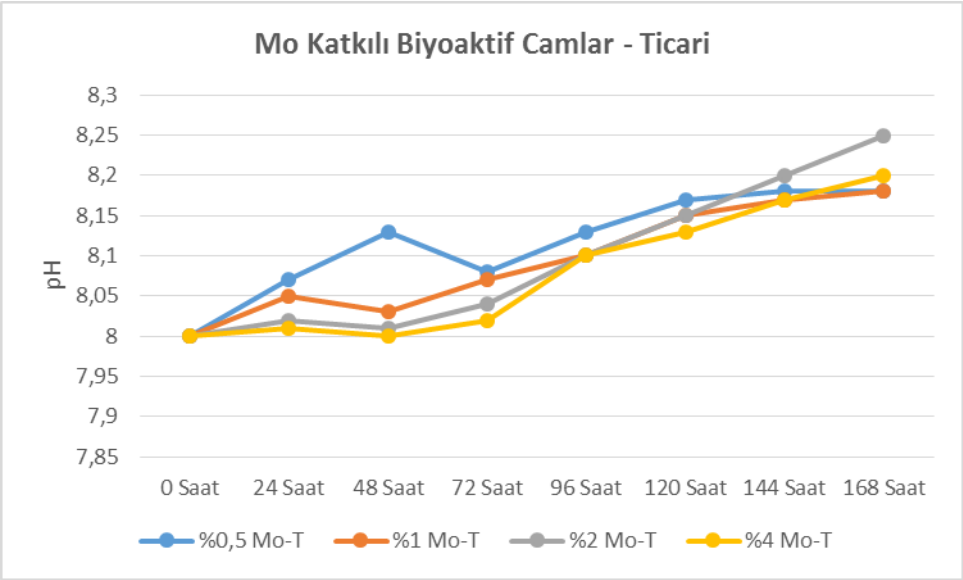


Şekil 6. 8 45S5 Mo katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 6.8 incelendiğinde %0,5 ve % 2 Mo katkılı biyosilikalı biyoaktif camların bulundukları TRIS çözeltilerinde 7 gün sonunda aynı pH değerine ulaştıkları görülmüştür. %1 ve %4 Mo katkılı olan biyoaktif camların bulunduğu çözeltilerde ise pH artışları 7 gün boyunca paralel olarak ilerlemiştir.

Şekil 6.9'da ticari silikalı biyoaktif camların pH değerleri verilmiştir. %0,5 Mo katkılı biyoaktif camın bulunduğu TRIS çözeltisinde 48 saat içinde hızlı bir artış, sonraki 24 saatte bir azalma ve sonrasında ise yavaş bir artış meydana gelmiştir. Bu seri içerisinde de en fazla artışın görüldüğü çözelti %2 Mo katkılı biyoaktif camın bulunduğudur.

Şekil 6.8 ve Şekil 6.9 kıyaslandığında Mo katkılı biyoaktif camlarda da biyoaktivitenin en fazla biyosilikalı camlarda meydana geldiği sonucu ortaya çıkmıştır.



Şekil 6. 9 45S5 Sr katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Tüm biyoaktif camlar için pH değerlerindeki artışın ise en fazla biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camlarda olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda, bu analizde biyoaktivitenin en yüksek görüldüğü biyoaktif cam serisi biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif cam serisidir.

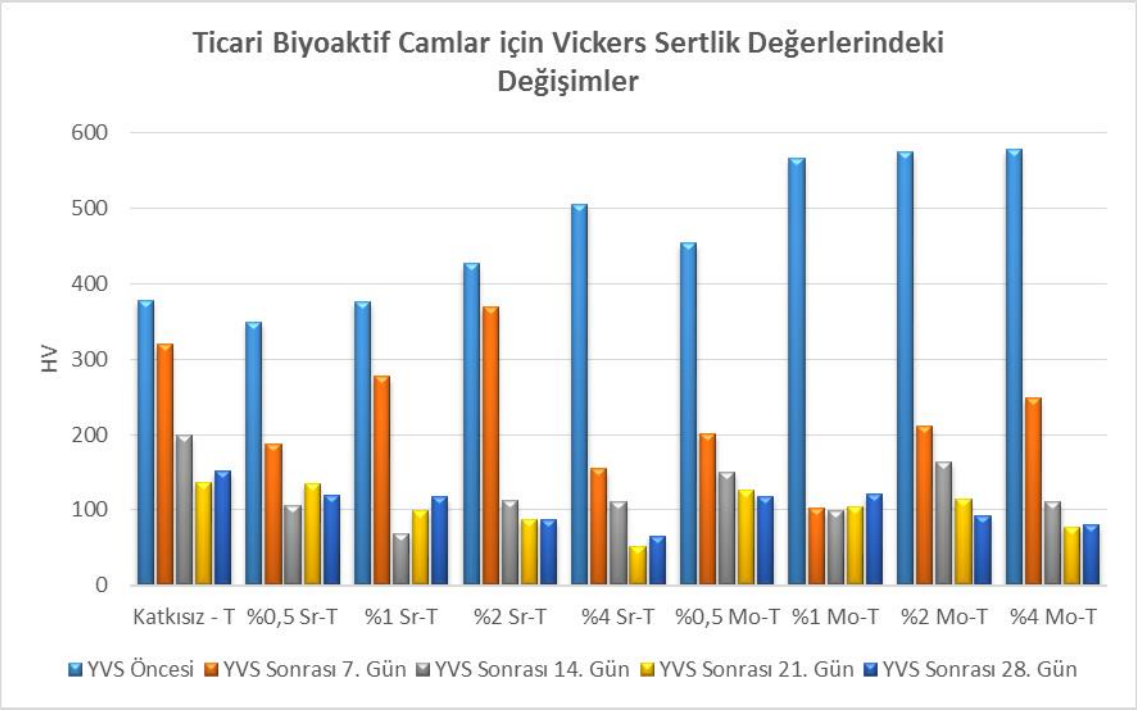
6.4 Vickers Sertlik Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

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 $(PO_4)^{-3}$ 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.

Çizelge 6. 2 YVS öncesi ve sonrası 7, 14, 21, 28. günlere ait ticari silikalı biyoaktif camların Vickers Sertlik değerleri

	Katkısız -T	**%0,5 Sr-T**	**%1 Sr-T**	**%2 Sr-T**	**%4 Sr-T**	**%0,5 Mo-T**	**%1 Mo-T**	**%2 Mo-T**	**%4 Mo-T**
YVS Öncesi	378,26	349,03	376,38	426,84	505,27	453,78	566,12	574,1	577,84
YVS Sonrası 7. gün	319,8	187,3	277,06	369,63	154,36	201,36	102,95	211,14	248,56
YVS Sonrası 14. gün	198,86	106,28	68,82	111,91	111,59	150,48	98,14	164,06	109,962
YVS Sonrası 21. gün	136,47	135,06	99,10	87,135	51,27	125,29	104,14	113,4	77,022
YVS Sonrası 28. gün	151,22	118,57	116,95	**86,58**	65,737	117,95	120,8	91,81	**80,89**



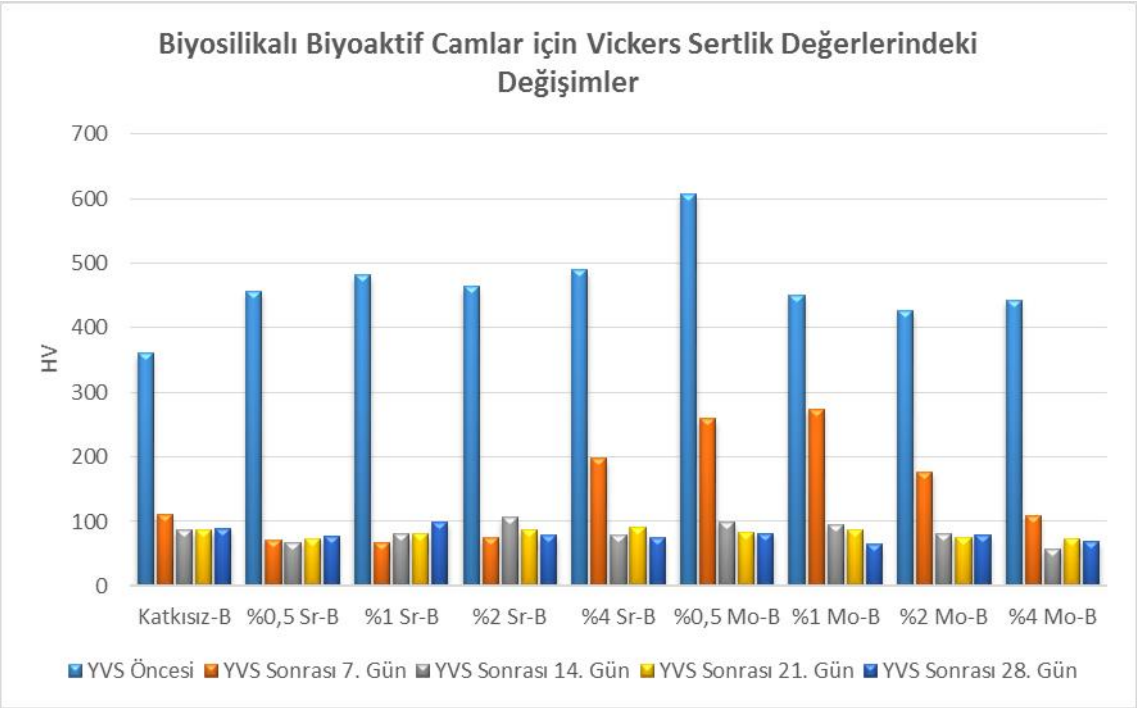
Şekil 6. 10 Ticari silikalı biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinde YVS çözeltisinde 28 gün boyunca meydana gelen değişimler

Çizelge 6.2 ve Şekil 6.10'da ticari silikalı biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası 7, 14, 21 ve 28. günlerde alınan Vickers sertlik değerleri verilmiştir. Ticari silikalı biyoaktif camlarda Sr katkısının %2 ve %4 oranlarında katıldığında ve Mo katkısının %0,5, %1, %2, %4 oranlarında katıldığında biyoaktif camın mekanik özelliğini arttırdığı YVS öncesi ölçümlerde görülmüştür. 28 gün içinde tüm ticari silikalı biyoaktif camların sertlik değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Sertlik değerlerindeki azalmalar hidroksiapatit çökelmesi ile ilişkilendirilerek biyoaktivite ile ilgili bilgi verdiğinden ticari serisi için en biyoaktif olan camların %4 Sr katkılı ve % 4 Mo katkılı biyoaktif cam oldukları sonucuna varılabilir.

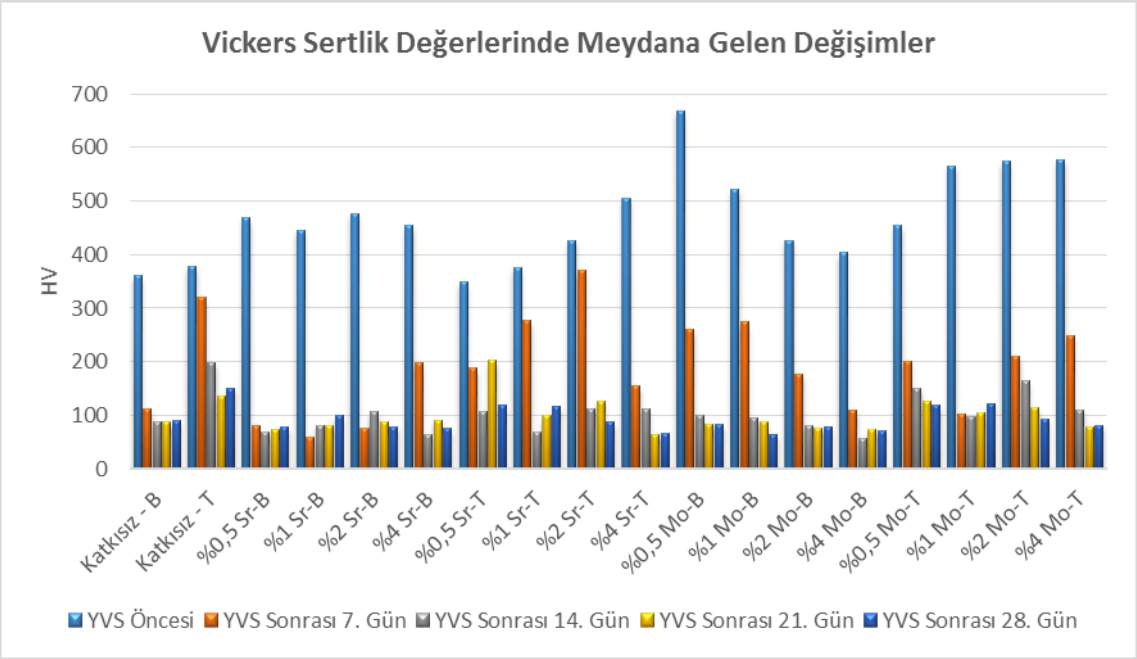
Çizelge 6. 3 YVS öncesi ve sonrası 7, 14, 21, 28. günlere ait biyosilikalı biyoaktif camların Vickers Sertlik değerleri

	Katkısız-B	**%0,5 Sr - B**	**%1 Sr - B**	**%2 Sr - B**	**%4 Sr - B**	**%0,5 Mo - B**	**%1 Mo - B**	**%2 Mo - B**	**%4 Mo - B**
YVS Öncesi	360,06	456,72	481,3	463,63	489,77	606,57	450,4	426,95	443,2
YVS Sonrası 7. Gün	111,69	70,59	67,55	74,61	197,54	259,24	274,32	176,68	109,05
YVS Sonrası 14. Gün	87,71	67,59	80,71	106,81	78,25	99,84	95,82	80,66	57,60
YVS Sonrası 21. Gün	86,66	72,56	80,51	87,04	90,56	83,51	87,00	74,67	73,98
YVS Sonrası 28. Gün	89,1	77,49	99,52	78,18	**74,56**	81,84	**64,96**	78,98	**69,82**

Çizelge 6. 3 ve Şekil 6. 11 incelendiğinde Sr katkısının bütün biyoaktif camlarda beklenildiği gibi mekanik özelliğini arttırdığı görülmüştür. Mo katkısı ise Sr katkısına kıyasla biyoaktif camın mekanik özelliğini daha fazla arttırmıştır. Tüm biyosilikalı biyoaktif camlar incelendiğinde biyoaktivitesi en yüksek olan camların %4 Sr katkılı biyoaktif cam, %1 ve %4 Mo katkılı biyoaktif camlar olduğu 28. gün sonundaki Vickers sertlik ölçümlerine göre söylenebilir.



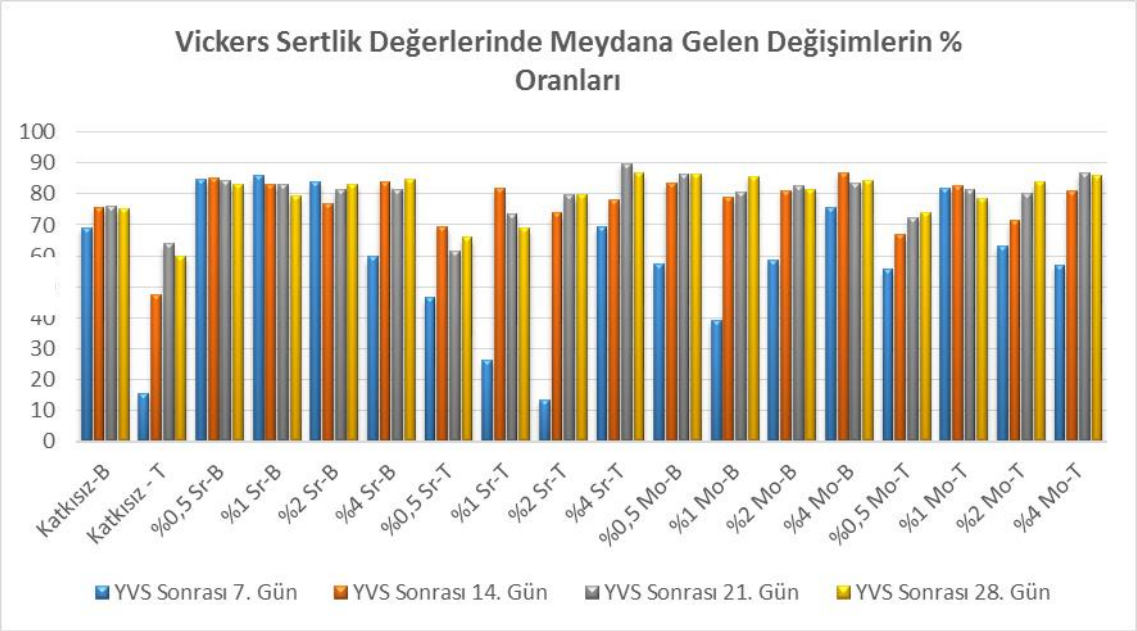
Şekil 6. 11 Biyosilikalı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerindeki değişimler



Şekil 6. 12 YVS çözeltisi içerisindeki biyoaktif camların Vickers Sertlik değerlerinde 4 hafta boyunca meydana gelen azalmalar

Şekil 6.12'de yer alan grafik incelendiğinde YVS çözeltisine konulmadan önce Mo katkılı biyoaktif camların sertlik değerlerinin daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Vickers sertlik değeri en yüksek olan camın biyosilikalı %0,5 Mo katkılı biyoaktif cam olduğu görülmektedir. En fazla sertlik azalması ticari silikalı biyoaktif camlarda %4 Sr katkılı, %2

ve %4 Mo katkılı biyoaktif camlarda gözlenmiştir. Biyosilikalı biyoaktif camlarda Mo serisi için Vickers sertlik ölçümlerinde meydana gelen yüzde azalma oranları birbirine oldukça yakındır. Bu biyoaktif camlar içerisinde sertlik değerindeki azalma en fazla %1 Mo katkılı ve %2 Mo katkılı olan biyoaktif camlarda gerçekleşmiştir.



Şekil 6. 13 Biyoaktif camların YVS içerisinde 7., 14., 21., ve 28. günlerde Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen % sertlik değişimleri

Şekil 6.13'te her biyoaktif cam serisi için 7., 14., 21. Ve 28. güne ait Vickers sertlik değişimleri grafik halinde verilmiştir. Şekil 6.4'te ise biyoaktif camların YVS içerisinde 7., 14., 21., ve 28. günlerde Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen % sertlik değişim oranları verilmiştir. Biyosilikalı ve ticari silikalı katkısız biyoaktif camlar karşılaştırıldığında, katkısız biyosilikalı biyoaktif camın Vickers Sertlik değerinde meydana gelen azalmanın ticari silikalı biyoaktif cama kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir.

Grafik incelendiğinde 7. günün sonunda biyosilikalı biyoaktif camlarda en büyük % değişimi %0,5, %1 ve %2 Sr katkılı biyoaktif camlarda olduğu görülmektedir. Ticari silikalı camlarda ise %1 Mo katkılı biyoaktif camın % Vickers sertlik değişim oranı daha yüksektir. Genel olarak tüm biyoaktif camların ilk 7 gündeki Vickers sertlik değişimleri incelendiğinde biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen % sertlik azalmasının çok yüksek oranda olduğu grafikte görülmektedir.

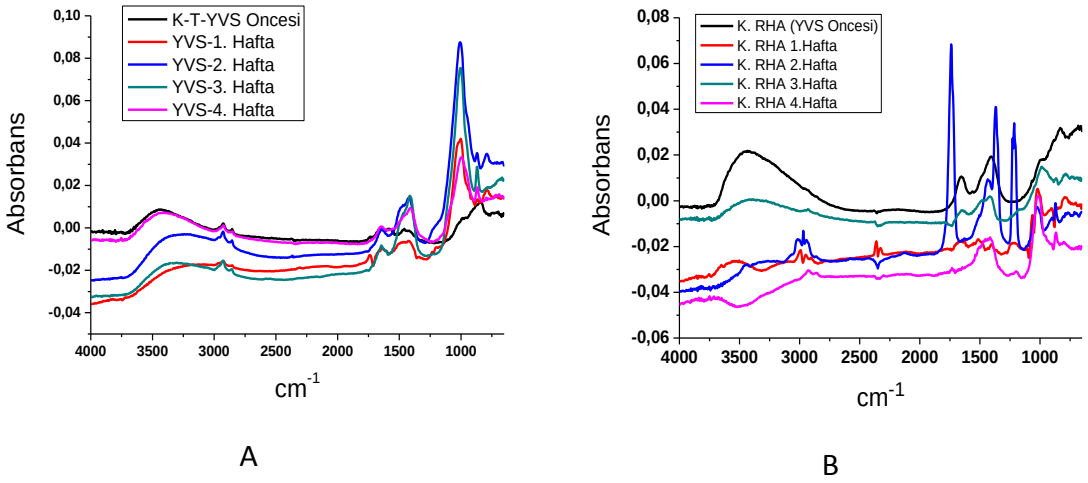
14. gündeki değişimler incelendiğinde biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif cam serisindeki % sertlik azalmalarının en yüksek düzeyde olduğu görülmektedir. Ticari silikalı biyoaktif camlarda ise %1 Mo katkılı biyoaktif camın en yüksek % sertlik azalmasına sahip olduğu söylenebilir.

28. gün sonunda biyosilikalı biyoaktif camların Sr ve Mo katkılı serisinde % sertlik azalmaları en yüksektir. Ticari silikalı biyoaktif camlarda ise Mo katkılı serisi en yüksek % sertlik azalması göstermiştir.

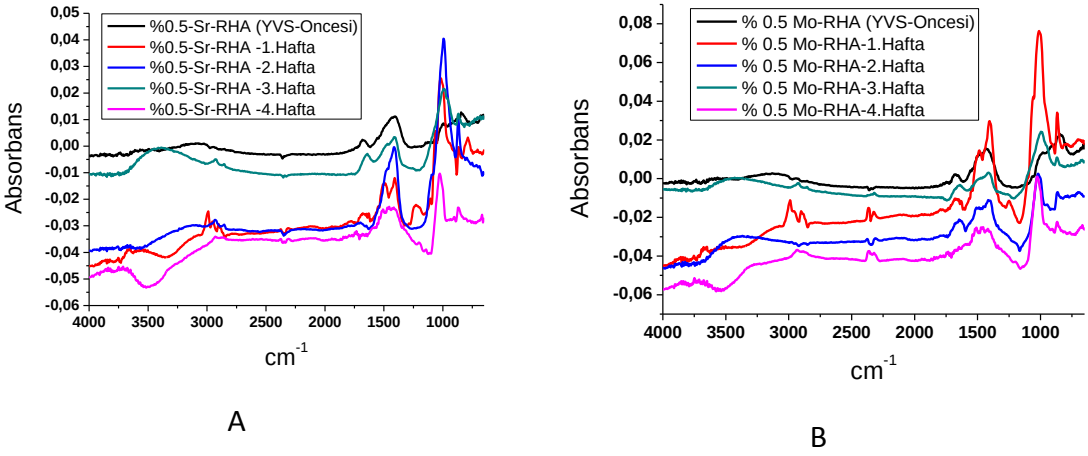
6.5 FTIR Analizi Sonuçları

Şekil 6.14-6.25'te biyosilikalı veya ticari silikalı, Sr veya Mo katkılı ve katkısız biyoaktif camların YVS öncesi ve sonrası 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 SiO_4 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 $(PO_4)^{-3}$ gruplarını göstermektedir. 1648 cm^{-1} de ve 3000 cm^{-1} civarındaki pikler OH^- gruplarını temsil etmektedir.

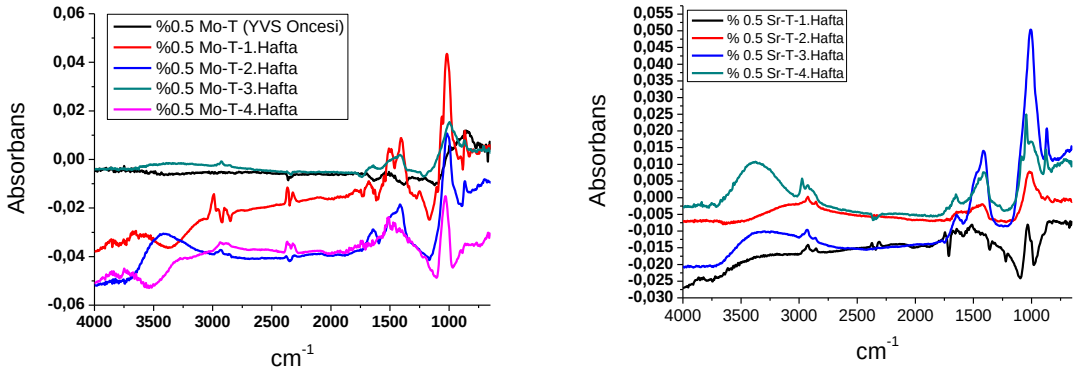
Ticari silikalı 45S5 biyoaktif camların 7, 14, 21 gün ve 28 gün YVS içerisinde bekletildikten sonra FTIR spektrumlarında 950 cm^{-1} ve 1050 cm^{-1} arasında yer alan pikler HCA'e ait P-O bağı titreşimlerinden ileri gelmektedir. YVS sonrası analizde 1008 cm^{-1} 'de bu pikler görülmektedir. 1411 cm^{-1} civarında görülen pikler ise $(CO_3)^{-2}$ grubuna ait piklerdir. Biyoaktif cam yüzeyinde görülen $(CO_3)^{-2}$ 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.



Şekil 6. 14 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) katkısız biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası

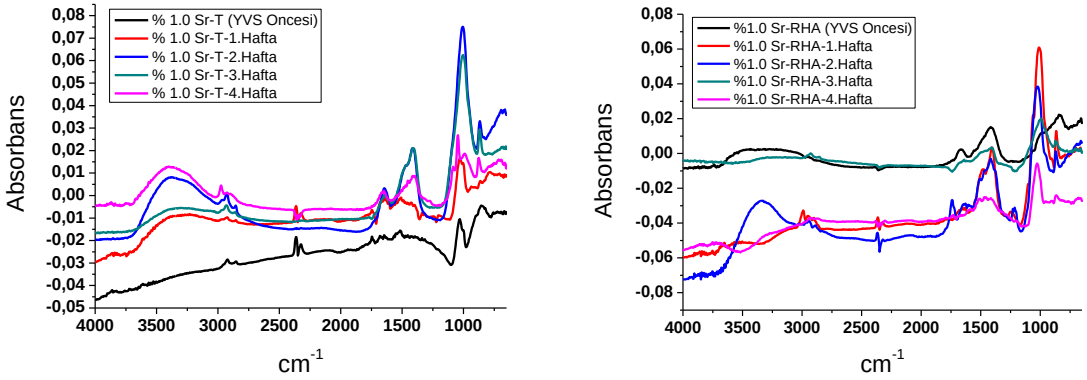


Şekil 6. 15 Biyosilikalı %0,5 Sr (A) ve %0,5 Mo (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası



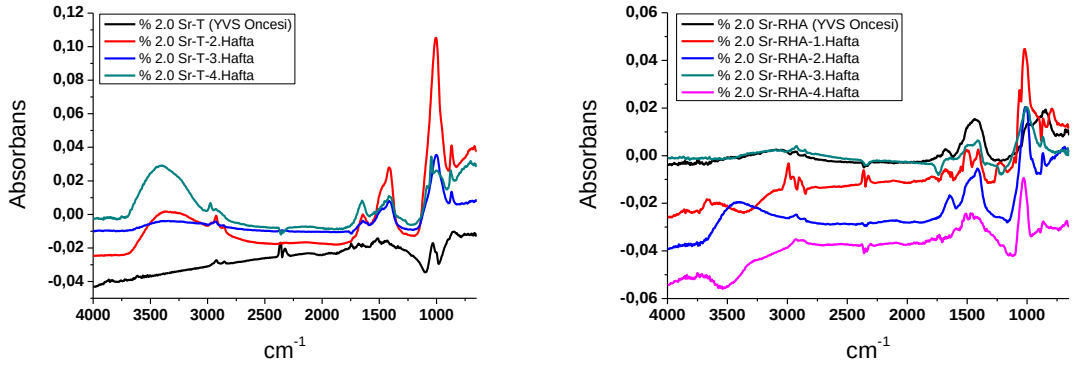
A B

Şekil 6. 16 Ticari silikalı %0,5 Mo (A) ve %0,5 Sr (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası



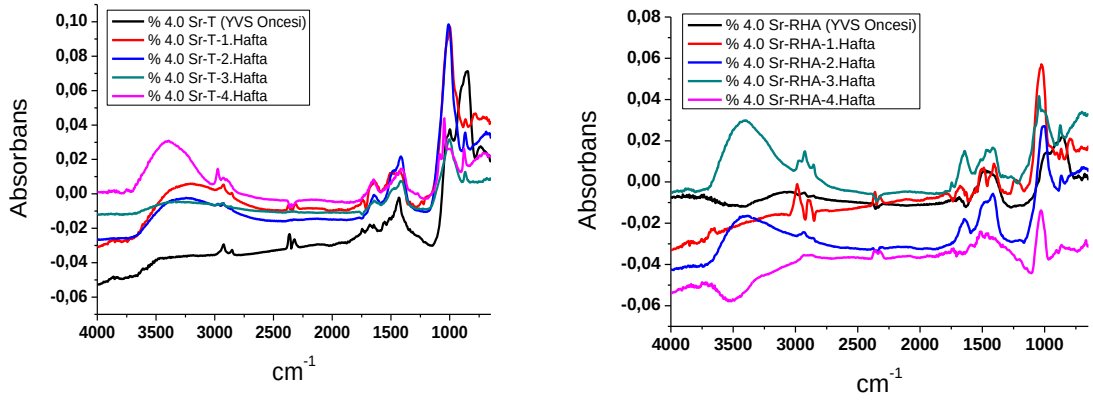
A B

Şekil 6. 17 Ticari silikalı %1 Sr (A) ve biyosilikalı %1 Sr (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası



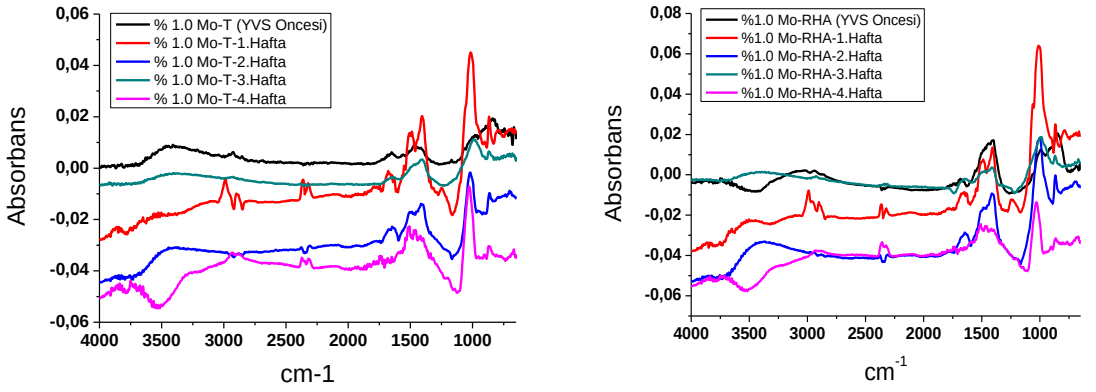
A B

Şekil 6. 18 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %2 Sr katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası



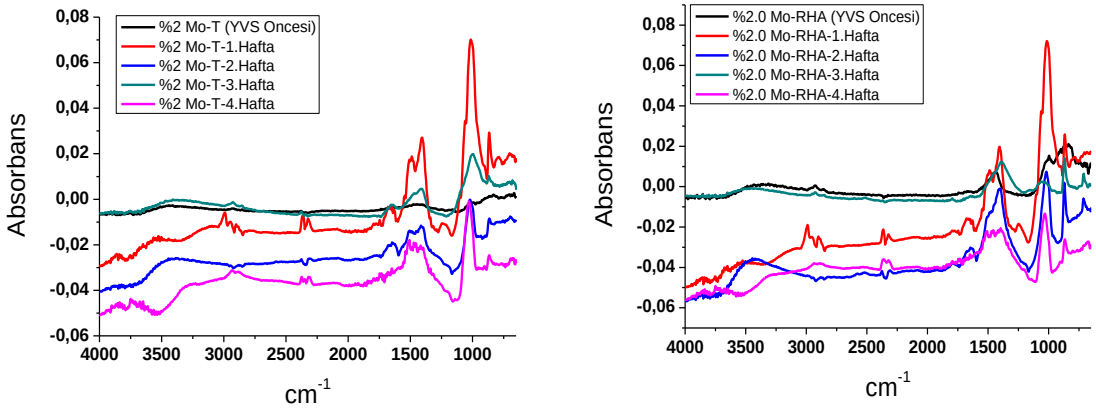
A B

Şekil 6. 19 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %4 Sr katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası



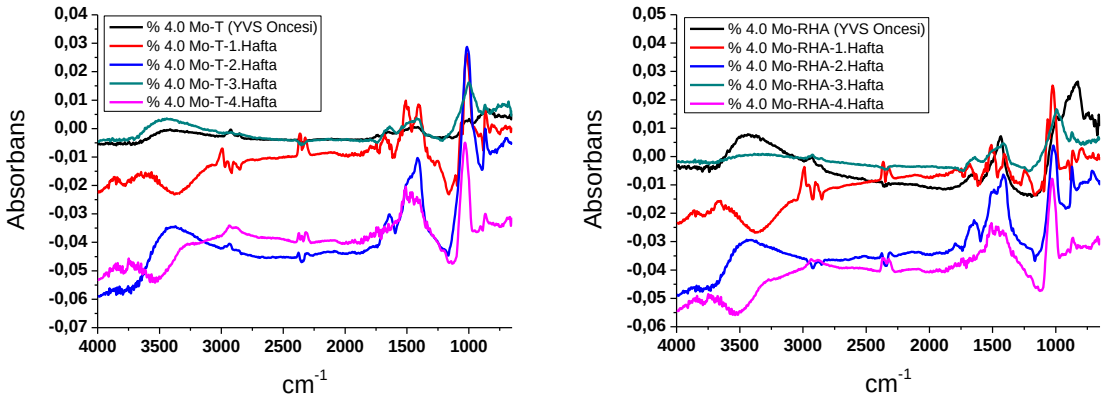
A B

Şekil 6. 20 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %1 Mo katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası



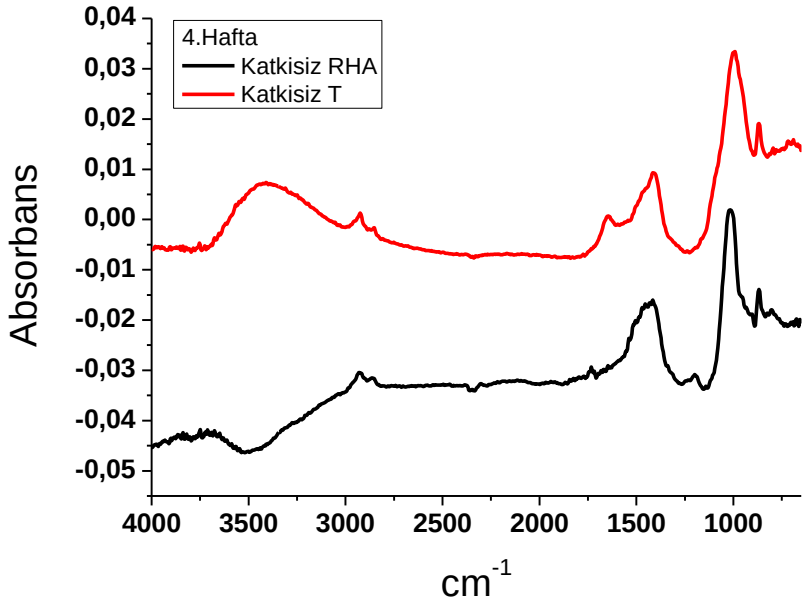
A B

Şekil 6. 21 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %2 Mo katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası

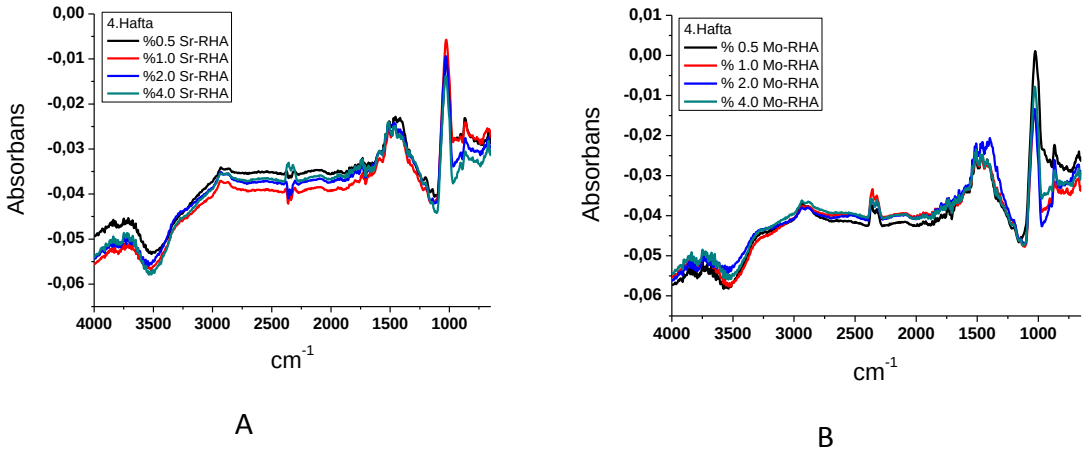


A B

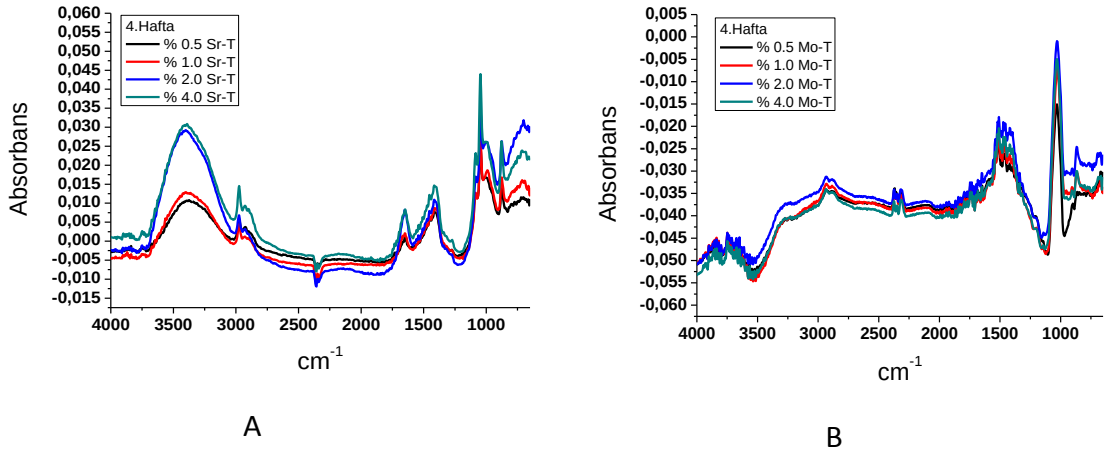
Şekil 6. 22 Ticari silikalı (A) ve biyosilikalı (B) %4 Mo katkılı biyoaktif camlar, YVS öncesi ve sonrası



Şekil 6. 23 Biyosilikalı ve ticari silikalı katkısız biyoaktif camlar, 4. Hafta



Şekil 6. 24 Biyosilikalı Sr (A) ve Mo (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS içerisinde 4.hafta



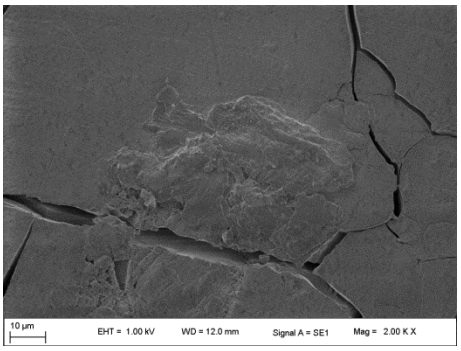
Şekil 6. 25 Ticari silikalı Sr (A) ve Mo (B) katkılı biyoaktif camlar, YVS içerisinde 4.hafta

6.6 SEM Görüntüleri

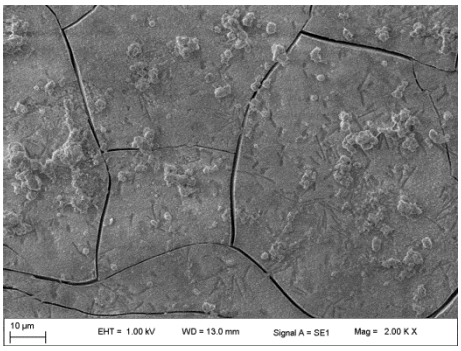
YVS içerisinde 37 °C'de inkübe edilen numunelerin dış yüzey morfolojilerinde meydana gelen değişiklikler SEM cihazı kullanılarak tayin edilmiştir. Katkısız biyoaktif camların YVS'na konulmadan önce ve bütün camların YVS sonrası 7, 14 ve 28. günlerde SEM görüntüleri alınmıştır. YVS öncesine ait olan görüntüler incelendiğinde biyoaktif cam yüzeyinde düz ve homojen bir yapı gözlemlenmektedir. Şekil 6.26-6.43 arasındaki SEM görüntüleri incelendiğinde YVS sonrası 7. güne ait SEM görüntüleri incelendiğinde ise HA tabakasına ait çökelmeler görülmektedir. 14. güne ait görüntülerde HA 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 HA 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.

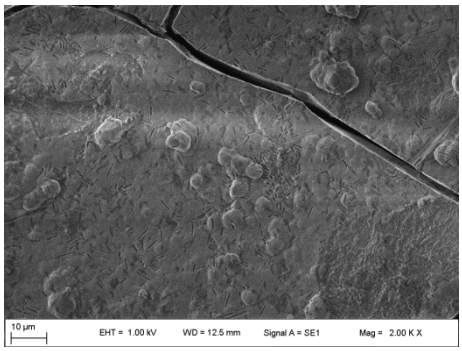
6.6.1 Ticari Silikalı Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri



(A)



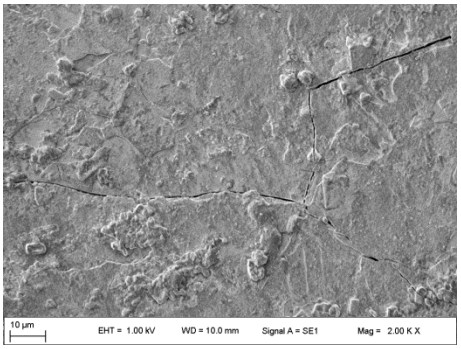
(B)



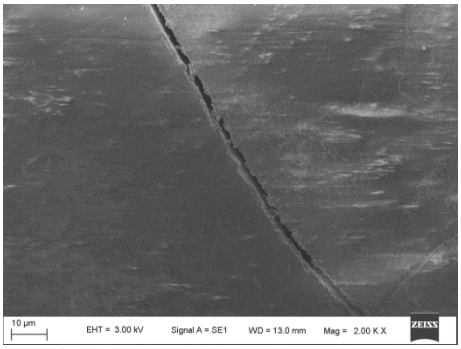
(C)

Şekil 6. 26 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen katkısız- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

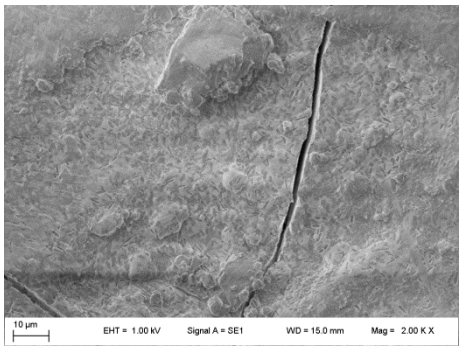
6.6.2 Biyosilikalı Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri



(A)



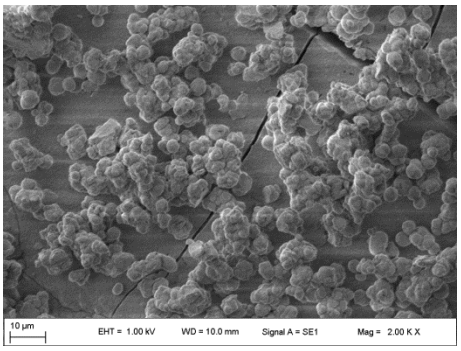
(B)



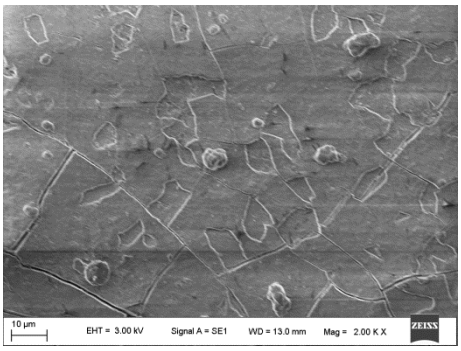
(C)

Şekil 6. 27 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen katkısız biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

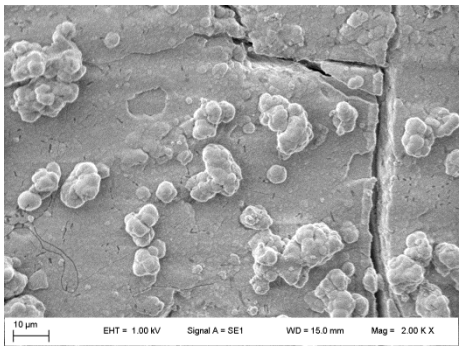
6.6.3 Biyosilikalı Sr Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri



(A)

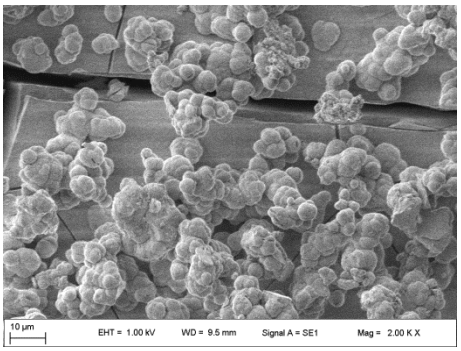


(B)

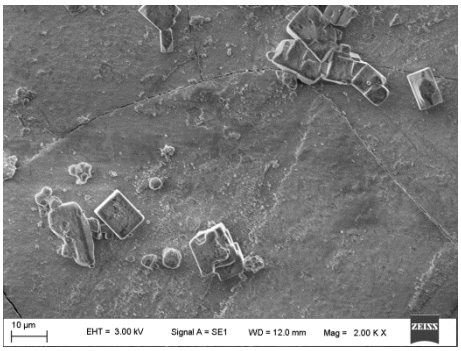


(C)

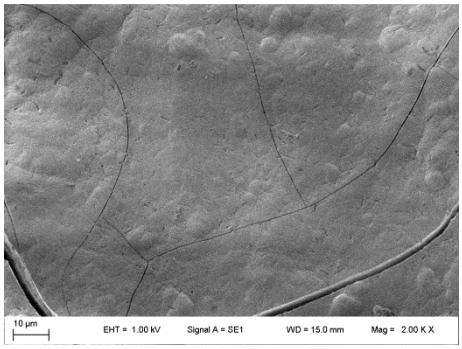
Şekil 6. 28 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

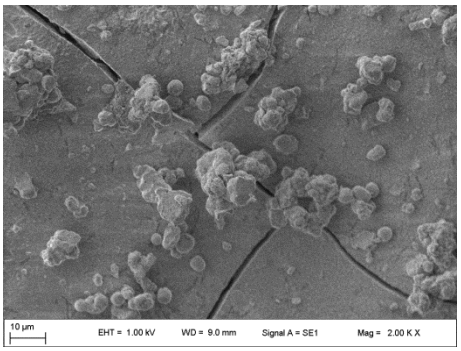


(B)

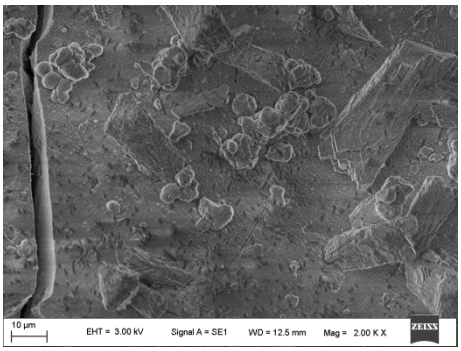


(C)

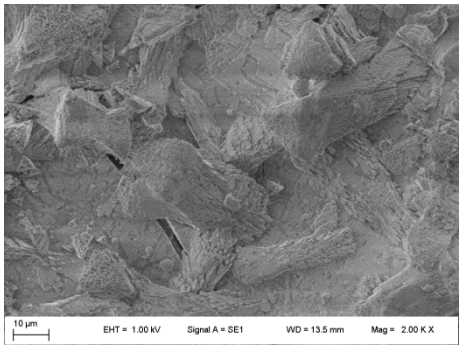
Şekil 6. 29 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

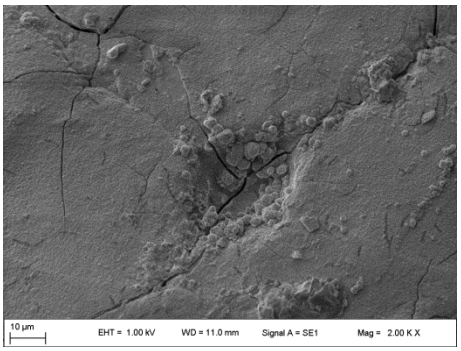


(B)

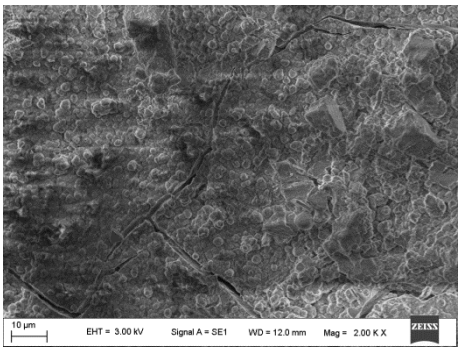


(C)

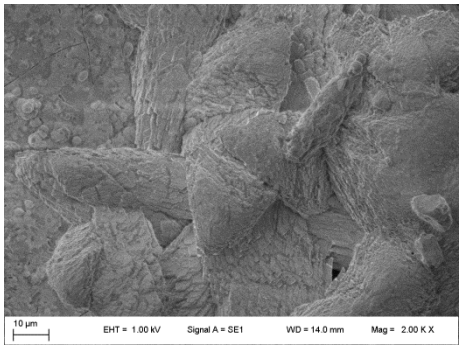
Şekil 6. 30 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)



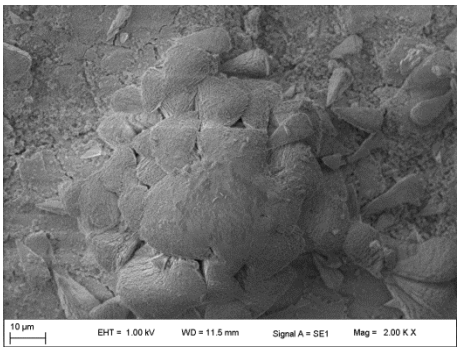
(B)



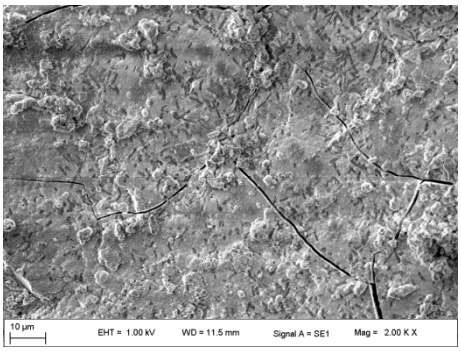
(C)

Şekil 6. 31 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Sr- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

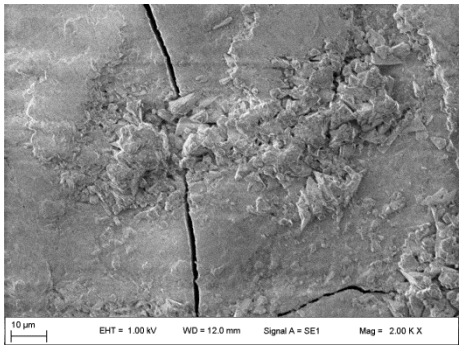
6.6.4 Ticari Silikalı Sr Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri



(A)

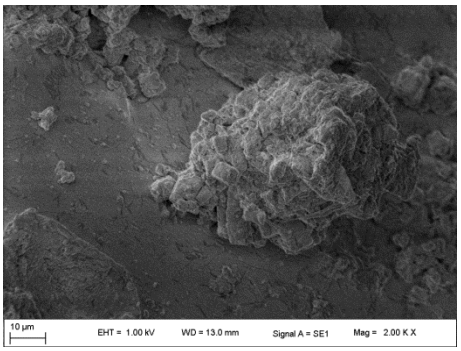


(B)

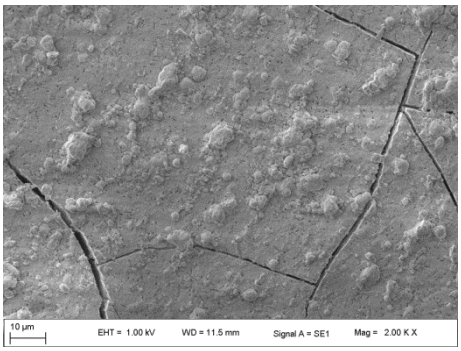


(C)

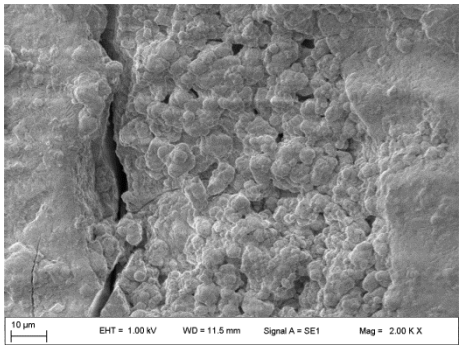
Şekil 6. 32 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

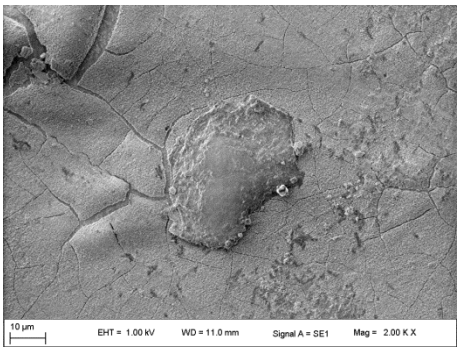


(B)

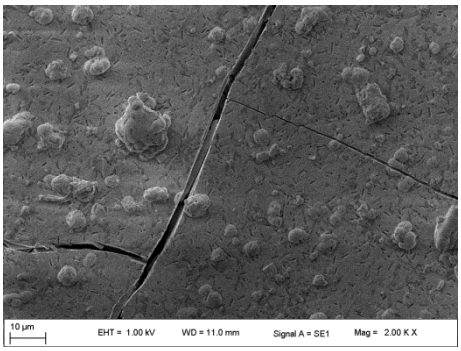


(C)

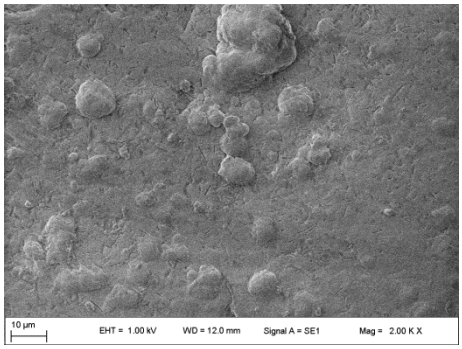
Şekil 6. 33 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

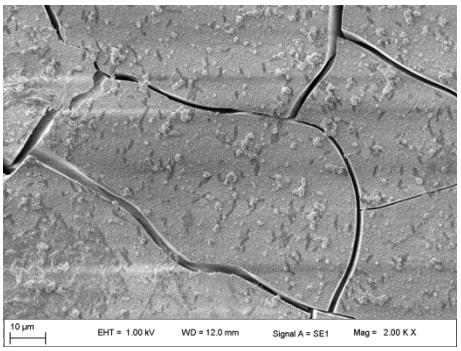


(B)

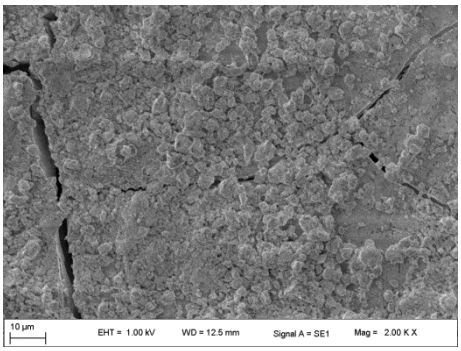


(C)

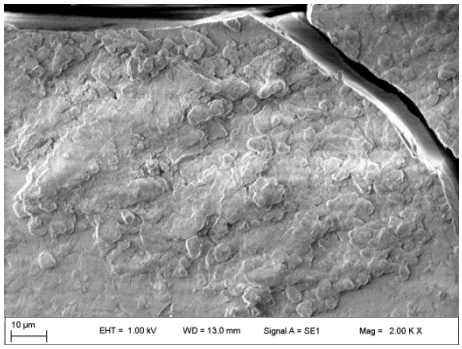
Şekil 6. 34 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)



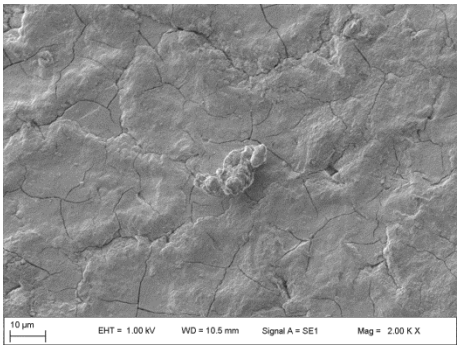
(B)



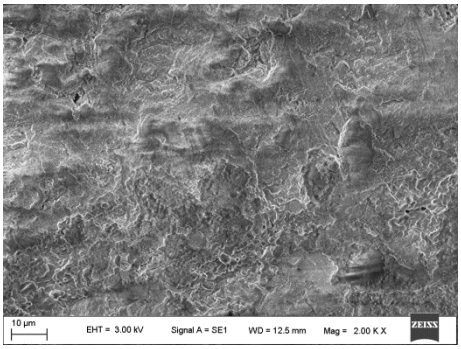
(C)

Şekil 6. 35 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Sr- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

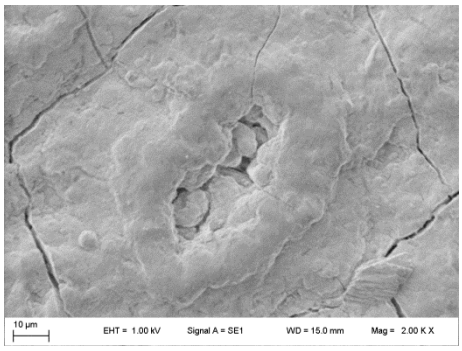
6.6.5 Biyosilikalı Mo Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri



(A)

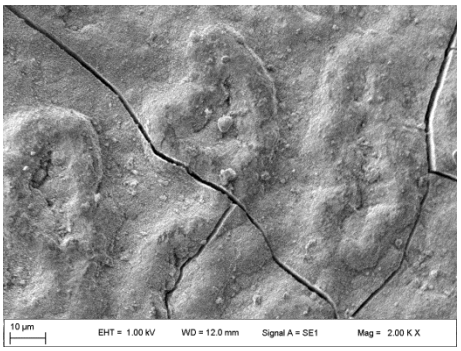


(B)

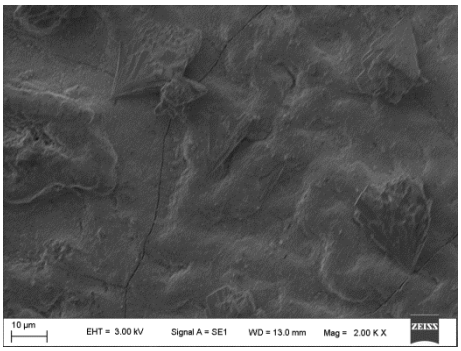


(C)

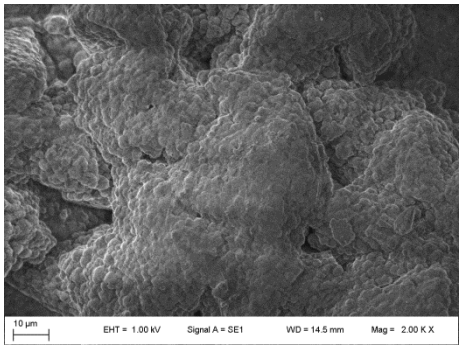
Şekil 6. 36 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

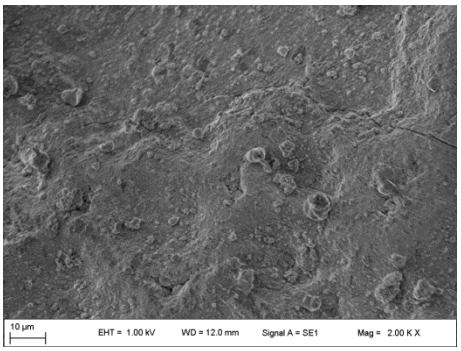


(B)

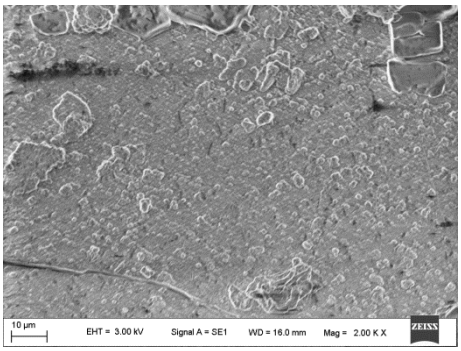


(C)

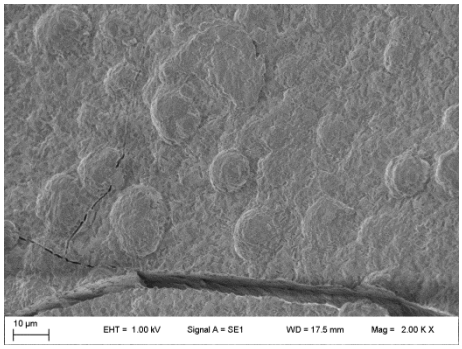
Şekil 6. 37 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

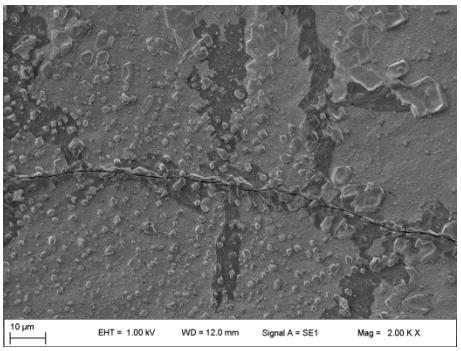


(B)

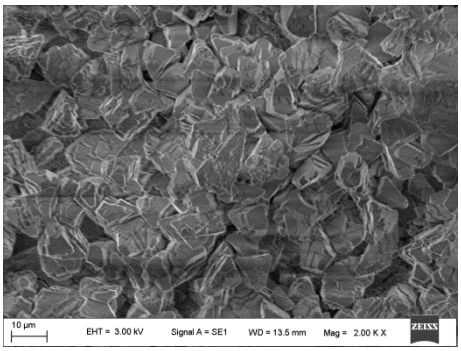


(C)

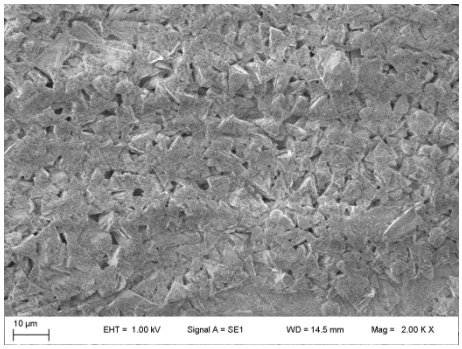
Şekil 6. 38 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)



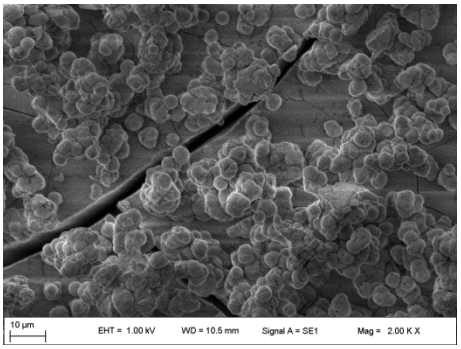
(B)



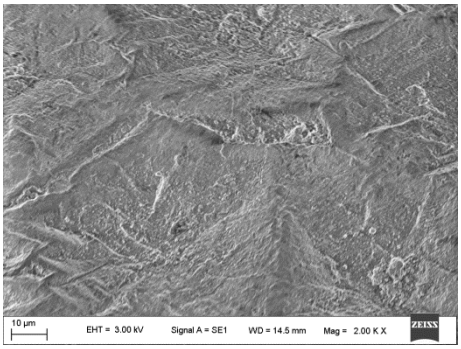
(C)

Şekil 6. 39 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Mo- B biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

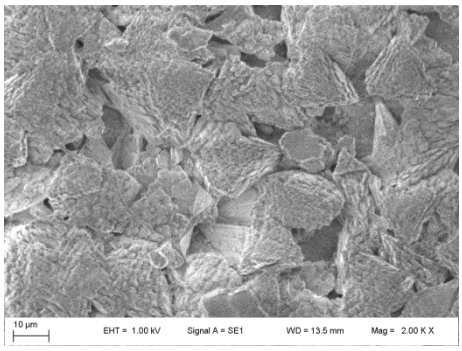
6.6.6 Ticari Silikalı Mo Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı SEM Görüntüleri



(A)

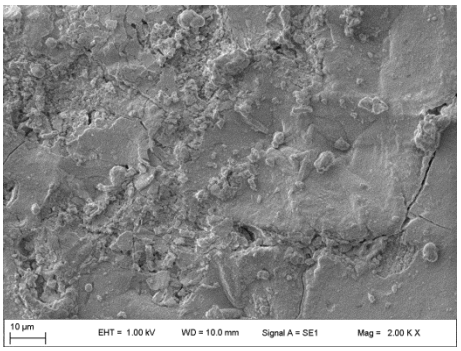


(B)

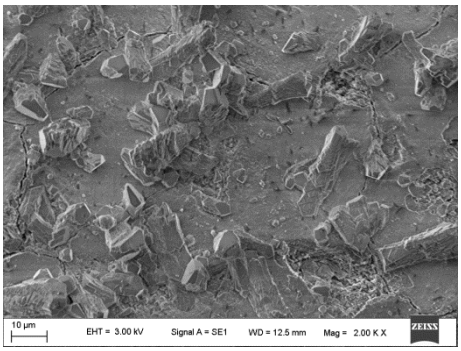


(C)

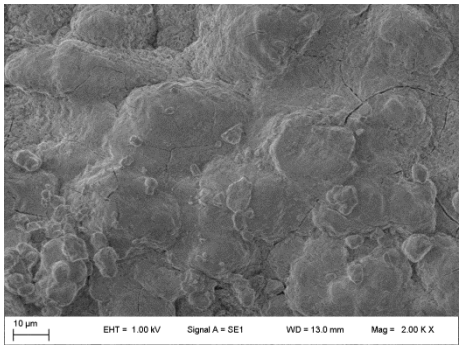
Şekil 6. 40 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 0.5 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

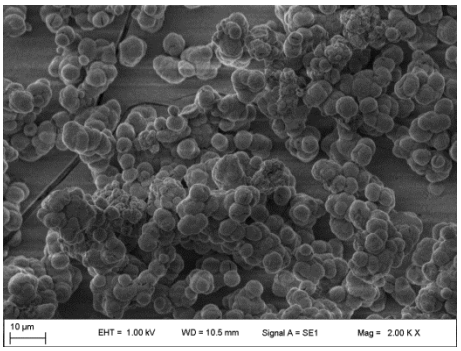


(B)

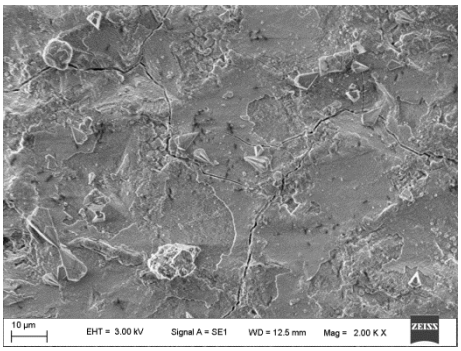


(C)

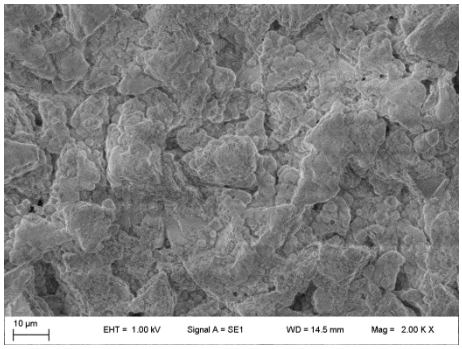
Şekil 6. 41 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 1.0 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)

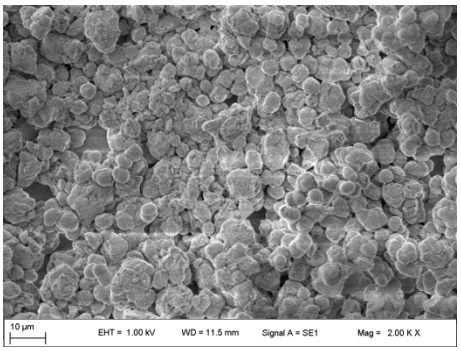


(B)

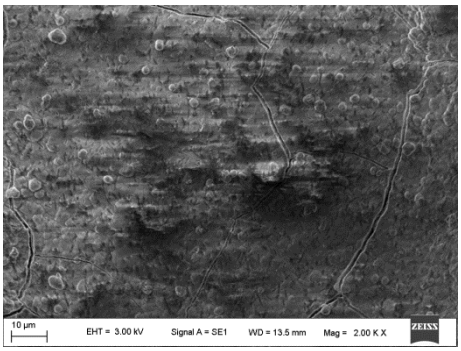


(C)

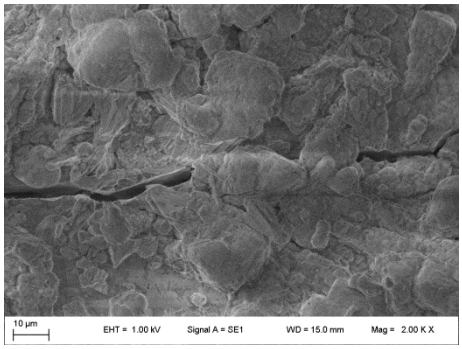
Şekil 6. 42 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 2.0 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)



(A)



(B)



(C)

Şekil 6. 43 YVS içerisinde (A) 1, (B) 2 ve (C) 4 hafta bekletilen % 4.0 Mo- T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)

BÖLÜM 7

SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında üretilen biyoaktif camlar 2 farklı silika kaynağı kullanılarak üretilmiştir. Ticari silikaya alternatif olarak tarımsal bir atık olan silika yönünden zengin pirinç kabuğu külü silikası yani biyosilika kullanılarak biyoaktif camlar üretilmiş ve ticari silika kullanılarak üretilen biyoaktif camların biyoaktiviteleri karşılaştırılmıştır. Pirinç kabuğu külünün yüksek sıcaklık fırınında 600°C sıcaklıkta tekrar yakma işleminin ardından NaOH muamelesi ile alkali ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve sodyum silikat çözeltisi elde edilmiştir. Asit ilavesi ile silika jeller üretilmiş ve 80°C sıcaklıkta kurutularak silika tozları elde edilmiştir. Üretilen bu biyosilika kullanılarak %0,5, %1, %2 ve %4 Sr veya aynı oranlarda Mo katkılı ve katkısız 45S5 biyoaktif camlar 1450°C sıcaklıkta ergitme işlemi ile elde edilmiştir. Biyosilikalı ve ticari silikalı üretilen biyoaktif camlar YVS içerisinde 4 hafta boyunca 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyondan önce ve sonra biyoaktif camların FTIR, SEM ve Vickers sertlik analizleri ile mekanik, yapısal ve yüzey özellikleri; YVS içerisindeki iyon salımları ICP ile in vitro biyoaktiviteleri saptanmıştır. Ayrıca TRIS çözeltisi içerisinde 1 hafta boyunca ağırlık ve pH değişimleri takip edilerek biyobozunurlukları ve biyoaktiviteleri saptanmıştır.

Tüm bu çalışmalar neticesinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Biyosilikalı ve ticari silikalı olarak her iki kaynaktan üretilen Sr veya Mo katkılı biyoaktif camların tümünde, eklenen katkıların her oranında Vickers sertlik değerlerinde artış söz konusudur. Yani eklenen katkılar biyoaktif camların mekanik özelliklerinin artmasına neden olmuşlardır.

2. Biyoaktif camların YVS içerisinde inkübasyonu sonrası oluşan hidroksiapatit tabakası Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen azalma ile doğrulanabilir. Bu azalmalar biyosilikalı Sr katkılı biyoaktif camların %0,5, %2 ve %4 oranlarında %83,5 civarındadır. %1 Sr katkılı olan biyoaktif cam ise %77,6 oranında bir azalma göstermiştir. Bu sonuçlar hidroksiapatit tabakasının %0,5, %2 ve %4 Sr katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda daha fazla olduğunu göstermektedir. Ek olarak Sr katkısı eklendiği tüm oranlarda biyoaktiviteye olumlu yönde bir etkisi olmuştur.

3. Ticari silikalı Sr katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonunda Vickers sertlik değerlerindeki en önemli azalma %4 katkı oranında (%83,6) gerçekleşmiştir. Sr katkısının ticari silikalı biyoaktif camlara %2 veya %4 oranında eklenmesi biyoaktiviteye katkı sağlayacaktır.

4. Biyosilikalı Mo katkılı biyoaktif camlar için, özellikle %0,5 ve %1 gibi düşük oranlarda eklendiğinde Vickers sertlik değerlerinde %87,7 civarında azalmalar meydana gelmiştir. Mo katkısı da eklendiği tüm oranlarda biyoaktiviteyi arttırıcı özellik göstermiştir.

5. Ticari silikalı biyoaktif camlarda ise en fazla azalma %2 ve %4 Mo katkılı biyoaktif camlarda gerçekleşmiştir.

6. Biyosilikalı Sr ve Mo katkılı biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerindeki azalmalar karşılaştırılıdığında, genel olarak Mo katkılı biyoaktif camların Sr katkılı olanlara kıyasla özellikle düşük oranlarda (%0,5 ve %1) daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Bunun paralelinde Mo katkılı camlarda HCA tabakası oluşumunun daha iyi olduğu söylenebilir.

7. Ticari silikalı Sr ve Mo biyoaktif camlar Vickers sertlik değerlerindeki azalmalar karşılaştırılıdığında, yine Mo katkılı biyoaktif camların %1 ve %2 oranında Sr katkılı olanlara kıyasla daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Her 2 katkının da % 4 oranında eklenmesi ise hemem hemen aynı etkiyi vermiştir.

8. Biyoaktif camların 7 gün boyunca TRIS çözeltisi içerisindeki inkübasyonu sonucu ağırlıklarındaki en büyük azalma %0,5 Mo katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda meydana gelmiştir. Genel olarak biyosilikalı Mo katkılı serideki ağırlık azalmaları (%6,58-2,46) daha fazladır ve düşük katkı oranlarında ağırlık azalmaları daha fazladır.

9. Mo katkısının biyosilikalı katkısız biyoaktif cama kıyasla ağırlık azalmalarına etkisi çok fazladır. Yani Mo katkısı biyobozunurluğu arttırıcı bir etki göstermiştir.

10. Ticari silikalı Mo katkılı biyoaktif camlarda ise ağırlık azalmaları %2'nin altında kalmıştır. Fakat yine de eklenen katkının ticari silikalı katkısız biyoaktif cama kıyasla olumlu etkisi vardır.

11. TRIS çözeltisi içerisindeki inkübasyonu sonrası Sr katkısının ağırlık kayıplarında çok önemli bir azalma meydana gelmemiştir. Biyobozunma hızının yüksek olmaması istenilen durumlarda Sr katkısı kullanılabilir.

12. Biyoaktif camların YVS içerisindeki inkübasyonu sonucu salınan iyonların ICP-OES ile tayini yapılmıştır. Özellikle HCA tabakası oluşumunda yapıya katılan Ca^{+2} iyonları açısından incelendiğinde, %1 Mo katkılı biyosilikalı biyoaktif camların %1 Sr katkılı biyoaktif camlara kıyasla daha düşük miktarda Ca^{+2} iyonu içeridği görülmüştür. Ayrıca %1 Mo katkılı biyoaktif camların kendi yapısından saldığı Ca^{+2} iyonlarının hepsini HCA tabakası oluşumu için kullanmış ve YVS içerisinde bulunan Ca^{+2} iyonlarını tüketmeye başlamıştır. Bu açıdan bakıldığında Mo katkısının HCA oluşumunu arttırdığını söylemek mümkündür. Bu sonuçlar ayrıca Vickers sertlik değerlerinden alınan sonuçlar ile paralellik taşımaktadır.

13. FTIR sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde tüm biyoaktif camlar için Si-O-Si pikinin inkübasyon süresince azaldığı ve Si-OH pikinin arttığı görülmüştür. Ayrıca HCA oluşumuna bağlı olarak CO_3 ve $(PO_4)^{-3}$ gruplarına ait pik şiddetlerinin de arttığı görülmüştür.

14. YVS içerisinde inkübe edilen biyoaktif camların 7, 14 ve 28. günlerde alınan SEM görüntüleri incelendiğinde HCA tabakası oluşumu tüm biyoaktif camlar için net bir şekilde görülmektedir.

Bu çalışmada 213M647 numaralı TÜBİTAK 3001 projesi kapsamında Sr ve Mo katkıları incelenmiştir. Projenin devamında Se, Mg, Al ve Ti katkılarının çeşitli oranlarda biyoaktif camlara katılması ile mekanik özellikleri, yapısal özellikleri, morfolojik özellikleri, in vitro biyoaktiviteleri ve osteosit hücreler üzerine etkisi de incelenecektir.

Öneriler

1. Hidroksiapatit tabakasının oluşumunu destekleyen FTIR ve SEM analizleri dışında, daha hassas bir şekilde saptanması için 28 gün boyunca YVS içerisinde inkübe edilen biyoaktif camların XRD analizlerinin yapılması uygun olacaktır.

2. Biyoaktif camların biyolojik etkilerinin incelenmesi için hücre kültür çalışmaları yapılarak osteosit hücreleri üzerine etkilerinin araştırılması, üretilen biyosilikalı biyoaktif camların canlı hücreler üzerine etkisinin araştırılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

[1] Tran, A. ve Webster, J.T., (2009). ‘‘Nanotechnology for Bone Materials’’, Nanomed Nanobiotechnol (1): 336-351.

[2] Çay, H.F. ve Sezer, N., (2002). “Kemik Yapısı ve Dokusu Üzerine Bir Derleme”, Fiziksel Tıp, 5(3): 177-184.

[3] Karadul, A., (2008). Dental Restoratif Malzemelerin Sitotoksisitesine Işık Kaynağının ve Hidroksiapatit İlavesinin Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[4] Pasinli, A. ve Aksoy, R.S., (2010). “Yapay Kemik Uygulamaları İçin Hidroksiapatit”, BiyoTeknoloji Elektronik Dergisi, 1(1):41-51.

[5] LookChem, http://www.lookchem.com/Hydroxyapatite/ , 04 Ağustos 2015.

[6] Agrawal, C.M., (1998). “Reconstructing the Human Body Using Biomaterials”, JOM 50(1):31-35.

[7] Tathe, M., Ghodke, M. ve Nikalje, A.P., (2010). “A Brief Review: Biomaterials and Their Application”, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, ISSN- 0975-1491.

[8] Pasinli, A., (2004). “Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler”, Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi, (4): 25-34.

[9] Parhi, P., Ramanan, A. ve Ray, A.R., (2004). “A convenient route for the synthesis of hydroxyapatite through a novel micowave-mediated metathesis reaction”, Materials Letter. 58: 3610-3612.

[10] Gümüşderelioğlu, M., (2002). “Biyomalzemeler”, Bilim ve Teknik Dergisi, TÜBİTAK, Temmuz özel sayısı.

[11] Williams, D. F. (Ed.)., (1987). “Definitions in biomaterials”, Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, , March 3-5 1986 Chester.

[12] Kokubo, T., ve Takadama, H. (2006). “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?”, Biomaterials, 27(15): 2907-2915.

[13] Kokubo, T., Kushitani, H., Sakka, S., Kitsugi, T., ve Yamamuro, T. (1990). “Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive

glass-ceramic A-W3", Journal of biomedical materials research, 24(6): 721-734.

[14] Ohura, K., Bohner, M., Hardouin, P., Lemaître, J., Pasquier, G., ve Flautre, B. (1996). "Resorption of, and bone formation from, new β-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements: An in vivo study", Journal of Biomedical Materials Research, 30(2): 193-200.

[15] Theiss, F., Apelt, D., Brand, B., Kutter, A., Zlinszky, K., Bohner, M., ve Von Rechenberg, B. (2005). "Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement", Biomaterials, 26(21): 4383-4394.

[16] Kotani, S., Fujita, Y., Kitsugi, T., Nakamura, T., Yamamuro, T., Ohtsuki, C., ve Kokubo, T. (1991). "Bone bonding mechanism of β-tricalcium phosphate", Journal of Biomedical Materials Research, 25(10): 1303-1315.

[17] Özalp, N. ve Özdemir, Y., "Biyomateryaller ve Biyouyumluluk", Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara.

[18] Boretos, J. W., ve Eden, M. (1984). "Contemporary Biomaterials: Material and Host Response", Clinical Applications, New Technology and Legal Aspects. Journal of Membrane Science, 21(2): 209.

[19] Black, J., ve Hastings, G. (Eds.), (2013). "Handbook of biomaterial properties", Springer Science & Business Media.

[20] Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R., ve Gogia, A. K. (2009). "Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants–a review", Progress in Materials Science, 54(3): 397-425.

[21] Navarro, M., Michiardi, A., Castano, O., ve Planell, J. A. (2008). "Biomaterials in orthopaedics", Journal of the Royal Society Interface, 5(27): 1137-1158.

[22] Zenz, C. R., (2008). Conference on Biomaterials WS2008, For Genomics and Bioinformatics, 2008 Graz.

[23] Patel, N.R., ve Gohil, P.P., (2012). "A Review on Biomaterials: Scope, Applications & Human Anatomy Significance", International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering, 2(4): 91-101.

[24] Singh, R., ve Dahotre, N.B., (2007). "Corrosion Degradation and Prevention by Surface Modification of Biometallic Materials", Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 18(5): 725-751.

[25] Okazaki, Y., ve Gotoh, E., (2005). "Comparison of Metal Release from Various Metallic biomaterials in vitro", Biomaterials, 26(1): 11-21.

[26] Ramsden, J.J., Allen, D.M., Stephenson, D.J., Alcock, J.R., Peggs, G.N., Fuller, G., ve Goch, G. (2007). "The Design and Manufacture of Biomedical Surfaces", CIRP Annals-Manufacturing Technology, 56(2): 687-711.

[27] Teoh, S.H., (2000). "Fatigue of Biomaterials: A Review", International Journal of Fatigue, 22(10): 825-837.

[28] Long, M., ve Rack, H. J. (1998). “Titanium Alloys in Total Joint Replacement - A Materials Science Perspective”, Biomaterials, 19(18): 1621-1639.

[29] Wang, K. (1996). “The Use of Titanium for Medical Applications in the USA”, Materials Science and Engineering: A, 213(1): 134-137.

[30] Katz, J. L. (1980). “Anisotropy of Young's modulus of bone”, Nature, 283(5742):106-107.

[31] Au, A. G., Raso, V. J., Liggins, A. B., ve Amirfazli, A. (2007). “Contribution of Loading Conditions and Material Properties to Stress Shielding Near the Tibial Component of Total Knee Replacements”, Journal of Biomechanics, 40(6): 1410-1416.

[32] Hench, L. L., Wilson J., ve Hilbert S. F., (1987). “High Tech Ceramics”, Elsevier Science Pub B V , Amsterdam, 189-213.

[33] Jordan, D.R., Mawn, L.A., Brownstein, S., McEachren, T.M., Gilberg, S.M., Hill, V., Grahovac, S.Z., ve Adenis, J.P., (2000). “The Bioceramic Orbital İmplant: A New Generation of Porous İmplants”, Ophthal. Plast. Reconstr. Surg., 16(5): 347-355.

[34] Hench, L.L., Wilson, J., (1984). “Surface Active Biomaterials”, Science; 226: 630-636.

[35] Hamadouche, M., Sedel, L., (2000). “Ceramics in Orthopaedics, Review Article”. The Journal of Bone & Joint Surgery (Br), 82(B): 1095-1096.

[36] Woodard, K. L. (1999). “Profiles in ceramics: Larry L. Hench-Bioactive glass”, American Ceramic Society Bulletin, 9(78): 50-56.

[37] Hench, L. L. (1991). “Bioceramics: From Concept to Clinic”, Journal of the American Ceramic Society, 74(7): 1487-1510.

[38] Ceyhan, T., Gunay, V., Capoglu, A., Sayrak, H., ve Karaca, C. (2007). “Production and Characterization of A Glass-Ceramic Biomaterial and in vitro and in vivo Evaluation of its Biological Effects”, Acta Orthopaedica Et Traumatologica Turcica, 41(4): 307-313.

[39] Taygun, M. E., Zheng, K. Ve Boccaccini, A. R. (2013). “Nanoscale Bioactive Glasses in Biomedical Applications”, International Journal of Applied Glass Science, 4(2): 136-148.

[40] Alauddin, S. S. (2004). In vitro Remineralization of Human Enamel with Bioactive Glass Containing Dentifrice Using Confocal Microscopy and Nanoindentation Analysis for Early Caries Defense, Doktora Tezi, University of Florida, Florida.

[41] Hench, L. L., ve Wilson, J. (1993). An Introduction to Bioceramics, World Scientific Publishing, 1, Singapur.

[42] Kulan, M., ve Ulukapı, I. (2011). “Dişhekimliğinde Biyoaktif Camlar/Bioactive Glasses In Dentistry”, Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry, 45(1): 65-70.

[43] Hench, L. L. (1998). “Bioactive glasses and glass-ceramics”, In Materials science forum, 293: 37-64.

[44] 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.

[45] Rohanová, D., Boccaccini, A. R., Yunos, D. M., Horkavcová, D., Březovská, I., ve Helebrant, A. (2011). “TRIS Buffer in Simulated Body Fluid Distorts the Assessment of Glass–Ceramic Scaffold Bioactivity”, Acta biomaterialia, 7(6): 2623-2630.

[46] Hench, L. L., ve Polak, J. M. (2002). “Third-Generation Biomedical Materials”, Science, 295(5557): 1014-1017.

[47] Ducheyne, P., ve Qiu, Q. (1999). “Bioactive Ceramics: The Effect of Surface Reactivity on Bone Formation and Bone Cell Function”, Biomaterials, 20(23): 2287-2303.

[48] Nicolodi, L., Sjölander, E., ve Olsson, K. (2004). “Biocompatible Ceramics-An Overview of Applications and Novel Materials”, Course 2B1750-Smart Electronic Materials, KTH.

[49] Lai, W., Garino, J., ve Ducheyne, P. (2002). “Silicon Excretion From Bioactive Glass Implanted in Rabbit Bone”, Biomaterials, 23(1): 213-217.

[50] Wheeler, D. L., Stokes, K. E., Hoellrich, R. G., Chamberland, D. L., ve McLoughlin, S. W. (1998). “Effect of Bioactive Glass Particle Size on Osseous Regeneration of Cancellous Defects”, Journal of Biomedical Materials Research, 41(4): 527-533.

[51] Oonishi, H. L., Hench, L. L., Wilson, J., Sugihara, F., Tsuji, E., Kushitani, S., ve Iwaki, H. (1999). “Comparative Bone Growth Behavior in Granules of Bioceramic Materials of Various Sizes”, Journal of Biomedical Materials Research, 44(1): 31-43.

[52] Bi, L., Jung, S., Day, D., Neidig, K., Dusevich, V., Eick, D., ve Bonewald, L. (2012). “Evaluation of Bone Regeneration, Angiogenesis, and Hydroxyapatite Conversion in Critical-Sized Rat Calvarial Defects İmplanted with Bioactive Glass Scaffolds”, Journal of Biomedical Materials Research Part A, 100(12): 3267-3275.

[53] Kokubo, T. (1998). “Apatite Formation on Surfaces of Ceramics, Metals and Polymers in Body Environment”, Acta Materialia, 46(7): 2519-2527.

[54] Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D., Hench, L. L., ve Polak, J. M. (2001). “Gene-Expression Profiling of Human Osteoblasts Following Treatment with The Ionic Products of Bioglass® 45S5 Dissolution”, Journal of biomedical materials research, 55(2): 151-157.

[55] Day, R. M. (2005). “Bioactive Glass Stimulates the Secretion of Angiogenic Growth Factors and Angiogenesis in vitro”, Tissue engineering, 11(5-6): 768-777.

[56] Gorustovich, A. A., Roether, J. A., ve Boccaccini, A. R. (2009). “Effect of Bioactive Glasses on Angiogenesis: A Review of in vitro and in vivo Evidences”, Tissue Engineering Part B: Reviews, 16(2): 199-207.

[57] Leu, A., ve Leach, J. K. (2008). “Proangiogenic Potential of a Collagen/Bioactive Glass Substrate”, Pharmaceutical research, 25(5): 1222-1229.

[58] Zhang, D., Leppäranta, O., Munukka, E., Ylänen, H., Viljanen, M. K., Eerola, E., ve Hupa, L. (2010). “Antibacterial Effects and Dissolution Behavior of Six Bioactive Glasses”, Journal of Biomedical Materials Research Part A, 93(2): 475-483.

[59] Day, R. M., ve Boccaccini, A. R. (2005). “Effect Of Particulate Bioactive Glasses on Human Macrophages and Monocytes in vitro”, Journal of Biomedical Materials Research Part A, 73(1): 73-79.

[60] Saltman, P. D., ve Strause, L. G. (1993). “The role of trace minerals in osteoporosis”, Journal of the American College of Nutrition, 12(4): 384-389.

[61] Nielsen, F. H. (1990). “New essential trace elements for the life sciences”, Biological trace element research, 26(1): 599-611.

[62] Cortizo, A. M., Molinuevo, M. S., Barrio, D. A., ve Bruzzone, L. (2006). “Osteogenic activity of vanadyl (IV)–ascorbate complex: Evaluation of its mechanism of action”, The international journal of biochemistry & cell biology, 38(7): 1171-1180.

[63] Marie, P. J., Ammann, P., Boivin, G., ve Rey, C. (2001). “Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone”, Calcified tissue international, 69(3): 121-129.

[64] Yamaguchi, M. (1998). “Role of zinc in bone formation and bone resorption”, The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 11(2-3): 119-135.

[65] 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.

[66] Sun, Z. L., Wataha, J. C., ve Hanks, C. T. (1997). “Effects of metal ions on osteoblast-like cell metabolism and differentiation”. J Biomed Mater Res, 34(1): 29-37.

[67] Mouriño, V., ve Boccaccini, A. R. (2010). “Bone tissue engineering therapeutics: controlled drug delivery in three-dimensional scaffolds”, Journal of the Royal Society Interface, 7(43): 209-227.

[68] Maeno, S., Niki, Y., Matsumoto, H., Morioka, H., Yatabe, T., Funayama, A., ve Tanaka, J. (2005). “The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture”, Biomaterials, 26(23): 4847-4855.

[69] Marie, P. J. (2010). “The calcium-sensing receptor in bone cells: a potential therapeutic target in osteoporosis”, Bone, 46(3): 571-576.

[70] Carlisle, E. M. (1981). “Silicon: a requirement in bone formation independent of vitamin D1”, Calcified tissue international, 33(1): 27-34.

[71] Carlisle, E. M. (1970). “Silicon: a possible factor in bone calcification”, Science, 167(3916): 279-280.

[72] Damen, J. J. M., ve Ten Cate, J. M. (1992). “Silica-induced precipitation of calcium phosphate in the presence of inhibitors of hydroxyapatite formation”, Journal of dental Research, 71(3): 453-457.

[73] Jugdaohsingh, R., Tucker, K. L., Qiao, N., Cupples, L. A., Kiel, D. P., ve Powell, J. J. (2004). “Dietary silicon intake is positively associated with bone mineral density in men and premenopausal women of the Framingham Offspring cohort”, Journal of Bone and Mineral Research, 19(2): 297-307.

[74] Kim, M. H., Bae, Y. J., Choi, M. K., ve Chung, Y. S. (2009). “Silicon supplementation improves the bone mineral density of calcium-deficient ovariectomized rats by reducing bone resorption”, Biological trace element research, 128(3): 239-247.

[75] Nielsen, F. H., ve Poellot, R. (2004). “Dietary silicon affects bone turnover differently in ovariectomized and sham-operated growing rats”, The journal of trace elements in experimental medicine, 17(3): 137-149.

[76] Reffitt, D. M., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H. F. J., Evans, B. A. J., Thompson, R. P. H., ve Hampson, G. N. (2003). “Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro”, Bone, 32(2): 127-135.

[77] Boivin, G., Deloffre, P., Perrat, B., Panczer, G., Boudeulle, M., Mauras, Y., ve Meunier, P. J. (1996). “Strontium distribution and interactions with bone mineral in monkey iliac bone after strontium salt (S 12911) administration”, Journal of Bone and Mineral Research, 11(9): 1302-1311.

[78] Yamaguchi, M. (1998). “Role of zinc in bone formation and bone resorption”, The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 11(2-3): 119-135.

[79] Kwun, I. S., Cho, Y. E., Lomeda, R. A. R., Shin, H. I., Choi, J. Y., Kang, Y. H., ve Beattie, J. H. (2010). “Zinc deficiency suppresses matrix mineralization and retards osteogenesis transiently with catch-up possibly through Runx 2 modulation”, Bone, 46(3): 732-741.

[80] Gérard, C., Bordeleau, L. J., Barralet, J., ve Doillon, C. J. (2010). “The stimulation of angiogenesis and collagen deposition by copper”, Biomaterials, 31(5): 824-831.

[81] Hu, G. F. (1998). “Copper stimulates proliferation of human endothelial cells under culture”, Journal of cellular biochemistry”, 69(3): 326-335.

[82] Rodríguez, J. P., Rios, S., ve Gonzalez, M. (2002). “Modulation of the proliferation and differentiation of human mesenchymal stem cells by copper”, Journal of cellular biochemistry, 85(1): 92-100.

[83] Zhang, J., Huang, J., Xu, S., Wang, K., ve Yu, S. (2003). “Effects of Cu2+ and pH on osteoclastic bone resorption in vitro”, Progress in Natural Science, 13(4): 266-270.

[84] Lai, Y. L., ve Yamaguchi, M. (2005). “Effects of copper on bone component in the femoral tissues of rats: anabolic effect of zinc is weakened by copper”, Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28(12): 2296-2301.

[85] Zreiqat, H., Howlett, C. R., Zannettino, A., Evans, P., Schulze-Tanzil, G., Knabe, C., ve Shakibaei, M. (2002). “Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants”, Journal of biomedical materials research, 62(2): 175-184.

[86] Yamasaki, Y., Yoshida, Y., Okazaki, M., Shimazu, A., Uchida, T., Kubo, T., ve Matsuura, N. (2002). “Synthesis of functionally graded MgCO3 apatite accelerating osteoblast adhesion”, Journal of biomedical materials research, 62(1): 99-105.

[87] Rude, R. K., Gruber, H. E., Norton, H. J., Wei, L. Y., Frausto, A., ve Kilburn, J. (2005). “Dietary magnesium reduction to 25% of nutrient requirement disrupts bone and mineral metabolism in the rat”, Bone, 37(2): 211-219.

[88] Rude, R. K., Gruber, H. E., Wei, L. Y., Frausto, A., ve Mills, B. G. (2003). “Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse”, Calcified tissue international, 72(1): 32-41.

[89] Dzondo-Gadet, M., Mayap-Nzietchueng, R., Hess, K., Nabet, P., Belleville, F., ve Dousset, B. (2002). “Action of boron at the molecular level”, Biological trace element research, 85(1): 23-33.

[90] Uysal, T., Ustdal, A., Sonmez, M. F., ve Ozturk, F. (2009). “Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits”, The Angle orthodontist, 79(5): 984-990.

[91] Chapin, R. E., Ku, W. W., Kenney, M. A., McCoy, H., Gladen, B., Wine, R. N., ve Elwell, M. R. (1997). “The effects of dietary boron on bone strength in rats”, Toxicological Sciences, 35(2): 205-215.

[92] İpek, H., (2003). “Molibden”, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 14 (1):73-76

[93] Dermiencea, M., Lognaya, G., Mathieub, F. ve Goyensb, P., (2015). “Effects of thirty elements on bone metabolism”, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 32: 86–106.

[94] Huang, W., Day, D. E., Kittiratanapiboon, K., ve Rahaman, M. N. (2006). “Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions”, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 17(7): 583-596.

[95] Huang, W., Rahaman, M. N., Day, D. E., ve Li, Y. (2006). “Mechanisms for converting bioactive silicate, borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solution”, Physics and Chemistry of

Glasses-European Journal of Glass Science and Technology Part B-European Journal of Glass Science and Technology Part B, 47(6): 647-658.

[96] Yao, A., Wang, D., Huang, W., Fu, Q., Rahaman, M. N., ve Day, D. E. (2007). “In Vitro Bioactive Characteristics of Borate-Based Glasses with Controllable Degradation Behavior”, Journal of the American Ceramic Society, 90(1): 303-306.

[97] Fu, Q., Rahaman, M. N., Fu, H., ve Liu, X. (2010). “Bioactive glass scaffolds with controllable degradation rates for bone tissue engineering applications”, I. Preparation and in vitro degradation. J Biomed Mater Res. A, 95: 164-171.

[98] Oliveira, J. M., Correia, R. N., ve Fernandes, M. H. (1995). “Surface modifications of a glass and a glass-ceramic of the MgO-3CaO· P 2 O 5-SiO 2 system in a simulated body fluid”, Biomaterials, 16(11): 849-854.

[99] Kokubo, T., Kushitani, H., Ohtsuki, C., Sakka, S., ve Yamamuro, T. (1992). “Chemical reaction of bioactive glass and glass-ceramics with a simulated body fluid”, Journal of Materials science: Materials in medicine, 3(2): 79-83.

[100] Pereira, M. M., Clark, A. E., ve Hench, L. L. (1995). “Effect of Texture on the Rate of Hydroxyapatite Formation on Gel-Silica Surface”, Journal of the American Ceramic Society, 78(9): 2463-2468.

[101] Gunay, V., James, P. F., Jones, F. R., ve Bailey, J. E. (1990). “Continuous Fibre Reinforced Glass and Glass Ceramic Matrix Composites by Sol-Gel Processing”, New Materials and Their Applications, Warwick, 217-226.

[102] Chen, X.G., Lv, S.S., Zhang, P.P., Zhang, L. ve Ye, Y., (2011). "Thermal destruction of rice hull in air and nitrogen", Journal of thermal analysis and calorimetry, 104: 1055-1062.

[103] Görhan, G., ve Şimşek, O. (2011). “Betonun Fiziksel ve Mekanik Özelliklerine Pirinç Kabuğu Külünün Etkisi”, Electronic Journal of Construction Technologies/Yapi Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7(1).

[104] Saceda, J.J.F. Leon, R.L.d. Rintramee, K. Prayoonpokarach, S. ve Wittayakun, J., (2011). "Properties of silica from rice husk and rice husk ash and their utilization for zeolite y synthesis", Química Nova, 34: 1394-1397.

[105] Adam, F. Balakrishnan, S. ve Wong, P.L., (2006). "Rice husk ash silica as a support material for ruthenium based heterogenous catalyst", Journal of Physical Science, 17: 1-13.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Burcu KARAKUZU

Doğum Tarihi ve Yeri : 14/04/1990 - Adana

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : burcukarakuzu@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	**Alan**	**Okul/Üniversite**	**Mezuniyet Yılı**
Y. Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2014
Lisans/Erasmus	Medicinal Chemistry	Politechnika Wroclawska	2013
Lise	Fen Bilimleri	ÇEAŞ Anadolu Lisesi	2008

YAYINLARI

Bildiri

1. Terzioğlu, P., Elalmış, Y., Yücel, S., **Karakuzu, B.,** Metin, M., Cereal Waste as an Alternative Low Cost Adsorbents, . Eurasia 2014, Waste Management Symposium, İstanbul (2014)

2. Yücel, S., Özarslan, A.C., Bekleviçuylası, S, **Karakuzu, B.,** Fabrication of Scaffolds from Bioactive Glass for Bone Tissue Engineering, Biomed Conference, Muğla, (2014).

3 Temel, T., M., Yücel, S., Elalmış, Y., **Karakuzu, B.,** Production and

Characterization of Silica Aerogels from Rice Hull Ash Silica, Chemical Technologies and Chemical Engineering Conference, İstanbul (2014).

4 **Karakuzu, B.,** Metin, M., Yücel, S., A Novel Nanoporous Silica Adsorbent for Bleaching of Crude Canola Oil, 12th Euro Fed Lipid Congress, Montpellier, (2014).

5 Metin, M., **Karakuzu, B.,** Yücel, S., Purification of Edible Oils with Biogenic Silica from Rice Husk Ash, 12th Euro Fed Lipid Congress, Montpellier, (2014).

Proje

1. TÜBİTAK 3001 213M647 numaralı projede Bursiyer

2. 2015-07-04-YL04, YTÜ BAP Projesi