T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ İÇİN POLİMER-BİYOAKTİF CAM İÇEREN ENJEKTE EDİLEBİLİR KOMPOZİT KEMİK DOKU DESTEK MALZEMESİ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

ALİ CAN ÖZARSLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. SEVİL YÜCEL

EŞ DANIŞMAN
DOÇ. DR. OĞUZHAN GÜNDÜZ

İSTANBUL, 2017

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ İÇİN POLİMER-BİYOAKTİF CAM İÇEREN ENJEKTE EDİLEBİLİR KOMPOZİT KEMİK DOKU DESTEK MALZEMESİ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Ali Can ÖZARSLAN tarafından hazırlanan tez çalışması 26.05.2017 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

Eş Danışman

Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ

Marmara Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Yrd. Doç. Dr. Yeşim Müge ŞAHİN

İstanbul Arel Üniversitesi _____

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitim hayatım boyunca engin bilgi ve tecrübelerini zaman ve mekan gözetmeden benimle paylaşan, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, deneysel çalışmalarım için her türlü olanağı önüme sunan akademik ve kişisel gelişimimde büyük rol oynayan değerli hocam Prof. Dr. Sevil YÜCEL' e,

Çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ' e ve Araş. Gör. Dr. Yeliz BAŞARAN ELALMIŞ'a, numunelerimin analizleri aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve olanaklarını kullanmama izin veren başta Doç. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ' a ve ekibine, Doç. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN' e ve ekibine, Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı ekibine,

Tez çalışmalarım sürecinde ve eğitim hayatım boyunca her türlü desteği gördüğüm manevi kardeşlerim olarak hissettiğim bütün laboratuvar arkadaşlarıma,

Tüm hayatım boyunca her ne olursa olsun yanımda olan canım annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs, 2017

Ali Can ÖZARSLAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ vii

KISALTMA LİSTESİ viii

ŞEKİL LİSTESİ ix

ÇİZELGE LİSTESİ xv

ÖZET xvi

ABSTRACT xviii

BÖLÜM 1 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 3
1.3 Hipotez 3

BÖLÜM 2 4

KEMİK VE KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ YAKLAŞIMI 4

2.1 Doku Mühendisliği 4
2.2 Kemik ve Kemiği Yapısı 5
2.3 Kemik Doku Mühendisliği Yaklaşımı 7

BÖLÜM 3 9

DOKU DESTEK MALZEMESİ VE BİYOMALZEMELER 9

3.1 Doku Destek Malzemesi 9
3.2 Biyomalzemeler 11
3.2.1 Biyoseramikler 12
3.2.2 Biyopolimerler 13
3.2.3 Biyokompozitler 13
3.3 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemeleri 13

3.3.1 Enjekte Edilebilir Kompozit Doku Destek Malzemeleri 14
3.3.1.1 Enjekte Edilebilir Doğal Kaynaklı Polimer Kompozitler 14
3.3.1.2 Enjekte Edilebilir Sentetik Kompozitler 15

BÖLÜM 4 18

BİYOAKTİF CAMLAR 18

4.1 Biyoaktif Cam Bileşimi 18
4.2 Biyoaktif Camların Özellikleri 21
4.3 Biyoaktif Cam Kemik Bağlanması 22
4.4 Biyoaktif Cam Üretimi 23
4.4.1 Sol-Jel Yöntemi 23
4.4.2 Ergitme Yöntemi (Melt-quenching Method) 24

BÖLÜM 5 25

DENEYSEL KISIM 25

5.1 Kullanılan Hammaddeler ve Kimyasallar 25
5.1.1 Pirinç Kabuğu Külü 25
5.1.2 Kimyasallar 25
5.2 Deneysel Yöntem 26
5.2.1 Genel Çalışma Yöntemi 26
5.2.2 Pirinç Kabuğu Külünden Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi 27
5.2.2.1 Pirinç Kabuğu Küllerini Yakma İşlemi 27
5.2.2.2 Asit ile Kaynatma İşlemi 28
5.2.2.3 Külün Alkali Ekstraksiyonu 28
5.2.3 Sodyum Silikat Çözeltisinden Biyosilika (BS) Eldesi 29
5.2.4 Biyoaktif Cam Bileşenlerinin Hazırlanması ve Biyoaktif Cam Üretimi 30
5.2.5 Biyoaktif Camların Öğütülmesi 30
5.2.6 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemesi Üretimi 31
5.2.7 Yapay Vücut Sıvısının (YVS) Hazırlanması 32
5.2.8 Numune Karakterizasyonları 33

BÖLÜM 6 37

DENEYSEL SONUÇLAR ve DEĞERLENDİRİLMESİ 37

6.1 Sodyum Silikat Çözeltisinin ICP Analizi 37
6.2 Biyoaktif Camların Yoğunluk Analizleri 38
6.3 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların Partikül Boyut Dağılım Analizleri 39
6.4 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların XRD Analizleri 41
6.5 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların Brunauer–Emmett–Teller (BET) Nitrojen (N_2) Adsorpsiyon Analizleri 42
6.6 Ticari Silikaların ve Biyosilikaların TG Analizleri ve Biyoaktif Camların DSC Analizleri 45
6.7 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların SEM-EDS Analizleri 48
6.8 FT-IR Analizleri 53

6.9 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin Reoloji Analizleri 56
6.10 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin SEM-EDS Analizleri 66
6.11 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin *in vitro* Biyoaktivite Analizleri 76
6.11.1 YVS İçerisinde Bekletilen Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin FT-IR Analizleri 76
6.11.2 YVS İçerisinde Bekletilen Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin SEM-EDS Analizleri 79
6.11.3 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin İnkübasyon Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizleri 88

BÖLÜM 7 97

GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER 97

KAYNAKLAR 102

EK-A 109

EK GÖRÜNTÜLER ve GRAFİKLER 109

A-1 Ticari Silika ve Biyosilika Numunelerinin Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri 110
A-2 Ticari Silikalı Biyoaktif Cam ve Biyosilikalı Biyoaktif Cam Numunelerinin Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri 112
A-3 Doku Destek Malzemesi Numunelerinin YVS Öncesi Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri 114
A-4 Doku Destek Malzemesi Numunelerinin YVS Sonrası Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri 118

ÖZGEÇMİŞ 126

SİMGE LİSTESİ

V_s	Numuneler için gereken yapay vücut sıvısı miktarı (ml)
S_a	Numune yüzey alanı (mm^2)
τ	Kesme-kayma gerilmesi (Pa)
γ	Kesme-kayma hızı (s^{-1})
η	Viskozite (Pa.s)
k	Tutarlılık katsayısı-tutarlılık göstergesi ($Pa.s^n$)
n	Power law katsayısı-akış göstergesi (boyutsuz-birimsiz)
R^2	Korelasyon (boyutsuz-birimsiz)

KISALTMA LİSTESİ

ACP	Amorf Kalsiyum Fosfat
β-TCP	Beta Trikalsiyum Fosfat
CPC	Kalsiyum Fosfat Çimento
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
ECM	Ekstraselüler Matriks
EDS	Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi
ESB	Biyomalzeme Avrupa Derneği
FT-IR	Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskopisi
HA	Hidroksiapatit
HCA	Hidroksikarbonatapatit
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plaza Optik Emisyon Spektrometresi
Na_2SiO_3	Sodyum Silikat Çözeltisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TG	Termogravimetrik
YVS	Yapay Vücut Sıvısı
XRD	X-Işınları Difraksiyonu

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1 Kemiğin hiyerarşik yapısı 6
Şekil 4. 1 Biyoaktif cam-kemik bağlanması için kompozisyonel diyagram 19
Şekil 6. 1 Partikül boyutu dağılım grafikleri; (A): Ticari silika (TS), (B): Öğütülmüş biyosilika (BS), (C): Öğütülmüş ticari silikalı biyoaktif cam (TSC), (D): Öğütülmüş biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) 40
Şekil 6. 2 Ticari silika (TS) ve biyosilika (BS) XRD grafiklerinin karşılaştırılması 41
Şekil 6. 3 Biyosilika (BS) ve biyosilikalı biyoaktif camların (BSC) XRD grafiklerinin karşılaştırılması 41
Şekil 6. 4 Ticari silika (TS) ve ticari silikalı biyoaktif camların (TSC) XRD grafiklerinin karşılaştırılması 42
Şekil 6. 5 Biyosilikalı biyoaktif camların (BSC) ve ticari silikalı biyoaktif camların (TSC) XRD grafiklerinin karşılaştırılması 42
Şekil 6. 6 Ticari silika (TS) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi 43
Şekil 6. 7 Biyosilika (BS) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi 44
Şekil 6. 8 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi 44
Şekil 6. 9 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi 45
Şekil 6. 10 Ticari silika (TS) toz numunesinin TG analizi sonucu elde edilen termogram eğrisi 46
Şekil 6. 11 Biyosilika (BS) toz numunesinin TG analizi sonucu elde edilen termogram eğrisi 46
Şekil 6. 12 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) toz numunesinin DSC analizi sonucu elde edilen DSC eğrisi 47
Şekil 6. 13 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) toz numunesinin DSC analizi sonucu elde edilen DSC eğrisi 47
Şekil 6. 14 Ticari silika (TS) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, TS numunesinin EDS grafiği (E) 49
Şekil 6. 15 Biyosilika (BS) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, BS numunesinin EDS grafiği (E) 50

Şekil 6. 16 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, TSC numunesinin EDS grafiği (E) 51
Şekil 6. 17 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, BSC numunesinin EDS grafiği (E) 52
Şekil 6. 18 Ticari silika ve biyosilika FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), ticari silikalı ve biyosilikalı biyoaktif camların FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B) 53
Şekil 6. 19 Biyosilika ve biyosilikalı biyoaktif cam FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), ticari silika ve ticari silikalı biyoaktif cam FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B) 54
Şekil 6. 20 Aljinat, 1TSCP7.5-2TSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), Aljinat, 1TSCP10-2TSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarıında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B) 55
Şekil 6. 21 TSC, 1TSCP7.5-2TSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), TSC, 1TSCP10-2TSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarıında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B) 55
Şekil 6. 22 Aljinat, 1BSCP7.5-2BSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), Aljinat, 1BSCP10-2BSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B) 56
Şekil 6. 23 BSC, 1BSCP7.5-2BSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), BSC, 1BSCP10-2BSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B) 56
Şekil 6. 24 (A):%7.5 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-2TSCP7.5 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-2TSCP7.5 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 58
Şekil 6. 25 (A): %10 aljinat çözeltisi-1TSCP10-2TSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %10 aljinat çözeltisi-1TSCP10-2TSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 58
Şekil6.26 (A):%7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-1TSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-1TSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 59

Şekil 6. 27 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2TSCP7.5-2TSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2TSCP7.5-2TSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 59
Şekil 6. 28 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-2BSCP7.5 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-2BSCP7.5 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 60
Şekil 6. 29 (A): %10 aljinat çözeltisi-1BSCP10-2BSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %10 aljinat çözeltisi-1BSCP10-2BSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 60
Şekil 6. 30 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-1BSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-1BSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 61
Şekil 6. 31 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2BSCP7.5-2BSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2BSCP7.5-2BSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri 61
Şekil 6. 32 Sabit aljinat konsantrasyonunda (%7.5 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit aljinat konsantrasyonunda (%7.5 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B) 63
Şekil 6. 33 Sabit aljinat konsantrasyonunda (%10 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit aljinat konsantrasyonunda (%10 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B) 63
Şekil 6. 34 Sabit biyoaktif cam içeriğinde (1 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit biyoaktif cam içeriğinde (1 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B) 64
Şekil 6. 35 Sabit biyoaktif cam içeriğinde (2 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit biyoaktif cam içeriğinde (2 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B) 64
Şekil 6. 36 1TSCP7.5 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E) 68
Şekil 6. 37 2TSCP7.5 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi)

numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E) 69
Şekil 6. 38 1TSCP10 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP10 numunesinin EDS grafiği (E) 70
Şekil 6. 39 2TSCP10 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP10 numunesinin EDS grafiği (E) 71
Şekil 6. 40 1BSCP7.5 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E) 72
Şekil 6. 41 2BSCP7.5 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E) 73
Şekil 6. 42 1BSCP10 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP10 numunesinin EDS grafiği (E) 74
Şekil 6. 43 2BSCP10 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP10 numunesinin EDS grafiği (E) 75
Şekil 6. 44 (A): 1TSCP7.5, (B): 1TSCP10, (C): 2TSCP7.5, (D): 2TSCP10 numunelerinin YVS öncesi ve 7, 14, 21 gün ve 28 gün YVS inkübasyonu sonrası elde edilen karşılaştırmalı FT-IR grafikleri 77
Şekil 6. 45 (A): 1BSCP7.5, (B): 1BSCP10, (C): 2BSCP7.5, (D): 2BSCP10 numunelerinin YVS öncesi ve 7, 14, 21 gün ve 28 gün YVS inkübasyonu sonrası elde edilen karşılaştırmalı FT-IR grafikleri 78
Şekil 6. 46 1TSCP7.5 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 80
Şekil 6. 47 2TSCP7.5 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 81
Şekil 6. 48 1TSCP10 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri;

(A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 82
Şekil 6. 49 2TSCP10 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 83
Şekil 6. 50 1BSCP7.5 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 84
Şekil 6. 51 2BSCP7.5 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 85
Şekil 6. 52 1BSCP10 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 86
Şekil 6. 53 2BSCP10 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E) 87
Şekil 6. 54 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1TSCP7.5 numunesi için) 89
Şekil 6. 55 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2TSCP7.5 numunesi için) 90
Şekil 6. 56 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1TSCP10 numunesi için) 91
Şekil 6. 57 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2TSCP10 numunesi için) 92
Şekil 6. 58 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1BSCP7.5 numunesi için) 93
Şekil 6. 59 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2BSCP7.5 numunesi için) 94

Şekil 6. 60 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1BSCP10 numunesi için)..... 95
Şekil 6. 61 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2BSCP10 numunesi için)..... 96
Ek-A-1. 1 Ticari silika (TS) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX..... 110
Ek-A-1. 2 Biyosilika (BS) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX..... 111
Ek-A-2. 1 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX 112
Ek-A-2. 2 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX 113
Ek-A-3. 1 (A); 1TSCP7.5, (B); 2TSCP7.5 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri 114
Ek-A-3. 2 (A); 1TSCP10, (B); 2TSCP10 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri 115
Ek-A-3. 3 (A); 1BSCP7.5, (B); 2BSCP7.5 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri 116
Ek-A-3. 4 (A); 1BSCP10, (B); 2BSCP10 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri 117
Ek-A-4. 1 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 118
Ek-A-4. 2 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 119
Ek-A-4. 3 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 120
Ek-A-4. 4 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 121
Ek-A-4. 5 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 122
Ek-A-4. 6 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 123
Ek-A-4. 7 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 124
Ek-A-4. 8 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri..... 125

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2. 1 Tipik bir kemiğin kimyasal yapısı..... 7
Çizelge 2. 2 Kemik hücresi tipleri ve fonksiyonları.....7
Çizelge 3. 1 Ticari doku destek malzemeleri: üretici firma ismi-ürün ismi-ürün içeriği..... 17
Çizelge 4. 1 Biyoaktif cam ve cam-seramiklerin farklı kompozisyonları..... 21
Çizelge 4. 2 Biyoaktif cam yüzey reaksiyonu basamakları.....22
Çizelge 5. 1 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan kimyasallar.....30
Çizelge 5. 2 Enjekte edilebilir doku destek malzemesi içerikleri..... 31
Çizelge 5. 3 İnsan plazması ve YVS çözeltisinin iyon konsantrasyonu..... 32
Çizelge 5. 4 YVS kimyasallarının katılım sırası ve miktarları.....33
Çizelge 6. 1 Sodyum silikat çözeltisi element içeriği..... 37
Çizelge 6. 2 Biyoaktif camların yoğunluk ölçüm değerleri.....38
Çizelge 6. 3 Ticari silika (TS), Biyosilika (BS), Ticari silikalı Biyoaktif cam (TSC), Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) toz numunelerinin spesifik yüzey alanı, toplam gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı sayısal verileri.....43
Çizelge 6. 4 Farklı konsantrasyonlardaki aljinat çözeltilerinin ve enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin k, n ve R^2 değerleri.....65

ÖZET

KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ İÇİN POLİMER-BİYOAKTİF CAM İÇEREN ENJEKTE EDİLEBİLİR KOMPOZİT KEMİK DOKU DESTEK MALZEMESİ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

ALİ CAN ÖZARSLAN

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Eş Danışman: Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ

Organik-inorganik enjekte edilebilir kompozit biyomalzemeler, özellikle minimal invaziv cerrahide avantajlı olmaları nediyle kemik dokusu onarımı için yaygın olarak çalışılmaktadır. Bu tür akışkan malzemeler, düşük erişilebilirlikteki hasarlı kemik bölgelerindeki tedavi için avantajlı konumda oldukları gibi kemik hasarları sonucu oluşan düzensiz boşlukları da mükemmel bir şekilde doldurabilmektedirler. Enjekte edilebilir kompozit biyomalzemerin organik faz kısmı doğal kaynaklardan elde edilen biyobozunur doğal polimer malzemelerden (aljinat, jelatin, kitosan vb.) veya yapay olarak üretilen (poli-laktik asit, poli-etilen glikol, polikaprolakton vb.) biyobozunur sentetik polimer malzemelerden, inorganik faz kısmı ise biyolojik olarak aktif seramik (hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat vb.) malzemelerden oluşturulabilmektedir. Bu seramik malzemerinden biri olan biyoaktif camlar, yeterli biyouyumluluk ve yüksek biyoaktivite özellikleri sayesinde kemik ikame malzemesi veya kemik doku destek malzemesi olarak birçok uygulamada kullanılmaktadır. Biyoaktif cam yapısının majör bileşeni olan silika, biyoaktif cam yapısının *in vitro* ortamda bozunması sırasında yapı yüzeyinde hidroksiapatit oluşumunu destekleyerek kemik mineralizasyonuna yardımcı olmaktadır. Biyoaktif cam üretimi için çeşitli kaynaklardan elde edilen silikalar kullanılabilmektedir. Doğadaki bazı taşlar ve kuvarsta bulunabilen silika, çeşitli tarımsal kaynaklarda da bulunabilmektedir. Pirinç kabuğu, silika içeriği bakımından zengin

tarımsal bir kaynaktır ve yaklaşık olarak %60 silika içeriğine sahiptir. Pirinç kabuğunun yakılması ve yakma işlemini takiben pirinç kabuğu külünün alkali ekstraksiyonu sonucu silika elde edilmesi yöntemi ile diğer silika eldesi yöntemlerine nazaran daha düşük maliyetlerde, daha kolay birşekilde biyosilika üretimi gerçekleştirilebilmekte ve üretilen biyosilikalar, biyoaktif cam üretiminde rahatlıkla kullanılabilmektedir.

Literatürde yer alan enjekte edilebilir polimer-biyoaktif cam kompozit biyomalzemeler, kuvarstan elde edilen ve ticari olarak tedarik edilen kristal yapıdaki silika içeriğine sahip biyoaktif camlar kullanılarak üretilmektedir. Bu tez çalışması kapsamında ticari silika içeren ve biyosilika içeren biyoaktif camlar ve iki farklı silika kaynağına sahip biyoaktif camlar ile aljinat polimerinden oluşan enjekte edilebilir kompozit doku destek malzemeri üretilerek, doku destek malzemelerinin biyoaktivitesine farklı silika içeriğine sahip biyoaktif camların etkisi incelenmiştir.

Tez kapsamında tedarik edilen ticari silika ve üretilen biyosilikaların, farklı silika içeriğine sahip biyoaktif camların yapısal karakterizasyonları FT-IR, SEM-EDS, XRD, TG-DSC, N_2-adsorpsiyon-desorpsiyon analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Farklı silika içeriğine sahip biyoaktif camlar ve aljinat polimeri ile oluşturulan enjekte edilebilir kompozit doku destek malzemerinin akışkanlık davranışları, biyoaktif cam içeriğinin ve aljinat konsantrasyonunun akışkanlık davranışlarına etkisi, reoloji analizleri ile belirlenmiştir. Doku destek malzemelerinin *in vitro* biyoaktivite davranışları yapay vücut sıvısındaki inkübasyon çalışmaları ile belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoaktif cam, Biyosilika, Doku destek malzemesi, Enjekte edilebilirlik, Kemik doku mühendisliği, Kompozit

ABSTRACT

INJECTABLE POLYMER-BIOACTIVE GLASS COMPOSITE BONE TISSUE SUPPORT MATERIAL PRODUCTION AND CHARACTERIZATION FOR BONE TISSUE ENGINEERING

Ali Can ÖZARSLAN

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Sevil YÜCEL

Co-Adviser: Assoc. Prof. Oğuzhan GÜNDÜZ

Organic-inorganic injectable composite biomaterials have been extensively studied for bone tissue repair due to their advantageous in minimally invasive surgery. Such fluid materials may fill perfectly the poorly accessible areas of damaged bone, as well as irregular voids resulting from bone damage. The organic phase of the injectable composite biomaterial is composed of biodegradable natural polymers (alginate, gelatin, chitosan, etc.) that are obtained from natural sources or biodegradable synthetic polymers (poly-lactic acid, poly-ethylene glycol, polycaprolactone, etc.) that are artificially produced and the inorganic phase of the injectable composite biomaterial is formed from biologically active ceramics materials (hydroxyapatite, tricalcium phosphate, etc.). Bioactive glasses, one of these ceramic materials, are used in many applications as bone substitute material or bone tissue support material due to their sufficient biocompatibility and high bioactivity properties. Silica which is the major component of the bioactive glass structure promotes the formation of hydroxyapatite on the bioactive glass surface and helps bone mineralization during degradation of the bioactive glass structure *in vitro*. Silicates obtained from various sources (some of stones and quartz or agricultural resources) can be used for the production of bioactive glass. Rice hull, an agricultural resource, has approximately

60% silica content. Biosilica can be produced by burning process of rice hull and alkali extraction of the rica hull ash. This method is easier and has lower cost than other silica productions methods. Additionally, biosilica can be easily used in the production of bioactive glass.

The injectable polymer-bioactive glass composite biomaterials have been widely studied using commercial quartz silica as bioactive glass content in the literature. In this thesis study, bioactive glasses were produced using two different silica (commercial silica and biosilica) and injectable composite tissue support materials, composed of alginate polymer and bioactive glass, were produced using these different bioactive glasses. In addition, the effect of bioactive glasses with different silica contents on the bioactivity of tissue support materials was investigated.

The structural and chemical characterizations of commercial silica, biosilica and bioactive glasses with different silica contents were carried out by FT-IR, SEM-EDS, XRD, TG-DSC, N_2-adsorption-desorption analyzes. The flow behavior depends on different alginate concentrations and bioactive contents of the injectable composite tissue support materials formed by alginate polymer and bioactive glasses with different silica contents was determined by the rheology analysis. Also *in vitro* bioactivity behaviors of tissue support materials were determined by simulated body fluid incubation studies.

Keywords: Bioactive glass, Biosilica, Bone tissue engineering, Composite, Injectability, Tissue support material

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Omurgalı canlıların çatısını oluşturan iskelet sistemi, bileşiminin çoğunluğu inorganik maddelerden oluşan genellikle sert yapıdaki kemik dokudan meydana gelmektedir. İnsanlık tarihi boyunca kemik dokuda çeşitli nedenler ile oluşan defektlerin tamiri için çeşitli uygulamalar kullanılmıştır. Son 20-30 yılda teknolojinin gelişmesine bağlı olarak akademik çalışmaların hızlanması ve sağlık alanında gerçekleşen yenilikler ve gelişmeler ışığında kemik defektlerinin tedavisi için alternatif yöntemler ortaya çıkmıştır. Bu yöntemlerin keşfedilmesi, geliştirilmesi ve uygulanması hususunda yapılan çalışmalar, multi disipliner bir alan olan kemik doku mühendisliği kavramını akademiye kazandırmıştır.

Kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan biyomalzeme kaynaklı doku destek malzemeleri, farklı fabrikasyon yöntemlerine bağlı olarak çeşitli formlarda üretilebilmektedir. Bu formlar, tedavi edilmesi gereken doku için belirli ve istenilen özelliklerde üretilen blok, granül, macun-çimento veya enjekte edilebilir macun şeklinde sıralanabilir. Kemik doku mühendisliği uygulamaları için üretilen her bir yapının birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. 3 boyutlu olarak dokuya özgü özelliklere sahip blok formdaki doku destek malzemelerinin yalnızca defekt oluşan dokuda kullanılabilmesi bu tür yapıların en önemli dezavantajıdır. Ancak enjekte edilebilen doku destek malzemelerinin akışkan bir forma sahip olması ve defektin şekline bağlı olmaması ayrıca düzenli ve düzensiz her türlü kemik defekti

boşluklarını rahatlıkla doldurabilmesi ile bu tür dezavantajların önüne geçilebilmektedir.

Enjekte edilebilir doku destek malzemeleri, doğal kaynaklardan elde edilen veya yapay olarak üretilen, canlılar ile biyolojik açıdan uyumlu polimer taşıyıcılar ve vücut ile etkileşime girebilen biyoseramikler olarak bilinen biyobozunur-resorbe edilebilir seramikler (trikalsiyum fosfatlar, biyoaktif camlar) veya kemik dokuya kimyasal reaksiyonlar sonucu bağlanma gerçekleştirebilen seramiklerin (hidroksitapatit, kalsiyum fosfatlar, biyoaktif camlar veya cam seramikler) belirli oranlarda karıştırılması sonucu elde edilen kompozit yapılardır. Bu tür yapılar, büyük cerrahi operasyonlar sırasında kullanılabildikleri gibi minimal invaziv (küçük kesiklerle yapılan cerrahi işlem) operasyonlarda da kullanılabilmektedir.

Enjekte edilebilir doku destek malzemesi sisteminde yer alan biyoaktif camlar diğer biyoseramiklere göre üstün özelliklere sahip olması nedeniyle *in vitro, in vivo* ve klinik çalışmalarda özellikle tercih edilmektedirler. Biyoaktif camlar, yapısında bulunan SiO_2 nedeniyle vücut sıvısı ile teması halinde yüzeyinde silika jel tabakası oluşmasını takiben biyolojik hidroksiapatit oluşumunu desteklemektedir. Ayrıca kemik hücrelerinin uyarılmasını sağlamakta ve hücre göçünü ve doku oluşumunu desteklemektedir. Bu özellikleri sayesinde biyoaktif camlar, trikalsiyum fosfarlar ve hidroksiapatite göre avantajlı konuma gelmektedir.

Biyoaktif camların majör bileşeni olan SiO_2, kuvartz malzemesinden endüstriyel olarak maliyeti yüksek, yüksek ısıl işlem gerektiren prosesler yardımı ile elde edilebildiği gibi yüksek maliyetli tetraetilortosilikat (TEOS) gibi başlatıcılar kullanılarak da elde edilebilmektedir. Ekonomik olarak dezavantaja sahip bu kriterlere alternatif olarak SiO_2 içeren buğday kabuğu, pirinç kabuğu vb. tarımsal atıkların kullanılması son zamanlarda gündeme gelmektedir. Pirinç kabuğunun yakılması sonucunda oluşan pirinç kabuğu külü yapısında %60 oranlarında SiO_2 içermektedir. Pirinç kabuğu külünün alkali ekstraksiyonu ve jelleştirilmesine bağlı olarak saf SiO_2 elde edilebilmektedir. Ülkemizde önemli bir hacme sahip olan piriç kabuğu tarımsal atığının yakılarak bertaraf edilmesi yerine akademik çalışmalarda ve endüstriyel alanda silis kaynağı olarak değerlendirilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında, kemik defekti tedavilerinde kullanılmak üzere enjekte edilebilir polimer-biyoaktif cam kompozit doku destek malzemelerinin üretimi amaçlanmaktadır. Doku destek malzemelerinin yapısında bulunan biyoaktif camların üretiminde silika kaynağı olarak tarımsal bir atık olan pirinç kabuğu külünden elde edilen biyosilika kullanılması amaçlanmıştır. Ayrıca, kuvartz kaynağı kullanılarak elde edilen ticari silika ile üretilen biyoaktif camların oluşturduğu doku destek malzemeleri ile biyosilika içeren biyoaktif camların oluşturduğu doku destek malzemelerinin akışkanlık özelliklerinin ve biyoaktivite davranışlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin yapısındaki taşıyıcı polimerin konsantrasyonu, polimer-biyoaktif cam miktarsal oranı ve farklı silika kaynaklı biyoaktif cam içeriği elde edilen doku destek malzemelerinin akışkanlık özelliklerini etkilemektedir. Üretilen enjekte edilebilir doku destek malzemeleri, kemik defekt tedavilerinde kullanılabilecek akışkanlık özelliklerine sahiptir, yapısındaki biyoaktif cam içeriğine ve cinsine bağlı olarak yüksek biyoaktif özellikler sergileyebilmektedir.

BÖLÜM 2

KEMİK VE KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ YAKLAŞIMI

2.1 Doku Mühendisliği

Çeşitli hastalıklar sonucu oluşan doku ve organ hasarlarının tedavisine ışık tutacak alternatif yaklaşımlar, son yıllarda araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmektedir. Araştırmacılar, yapılan çalışmalarda fizik, kimya, biyoloji, destek malzeme bilimi, mühendislik ve tıp bilimlerini birleştirerek başarılı bir tedaviye ulaşmayı amaçlamaktadırlar. Bu bilimlerin bütünleşmesi sonucu doku mühendisliği kavramı ortaya çıkmaktadır. Doku mühendisliği Langer ve Vacanti tarafından [1] aşağıdaki gibi tanımlanmıştır;

Doku fonksiyonlarının iyileştirilmesi, devamlılığı veya restorasyonu için gereken biyolojik ikamelerin geliştirilmesinde yaşam bilimleri ve mühendisliğin prensiplerini uygulayan disiplinler arası bir araştırma alanı.

Doku mühendisliği yardımı ile tedavi uygulamaları söz konusu olduğunda bazı terimlerin ve bu terimleri içeren mekanizmaların iyi algılanması gerekmektedir. Böylece doğru uygulamaya ulaşılabilir ve başarılı sonuçlar elde edilebilir. Yeni doku oluşumuna biyolojik açıdan bakıldığında, hücrelere, ekstraselüler matrikse (ECM), hücreler arası iletişime, hücre-matriks etkileşimlerine ve büyüme faktörlerine ihtiyaç söz konusudur. Herhangi bir doku, bir matriks ve birçok hücre tipinden oluşmaktadır. Matriks, hücreler için in vivo bir doku destek malzemesidir ve spesifik bir çevre ile mimari bir yapı oluşturmaktadır. Ayrıca su, besin maddeleri, sitokinleri ve büyüme faktörlerini de

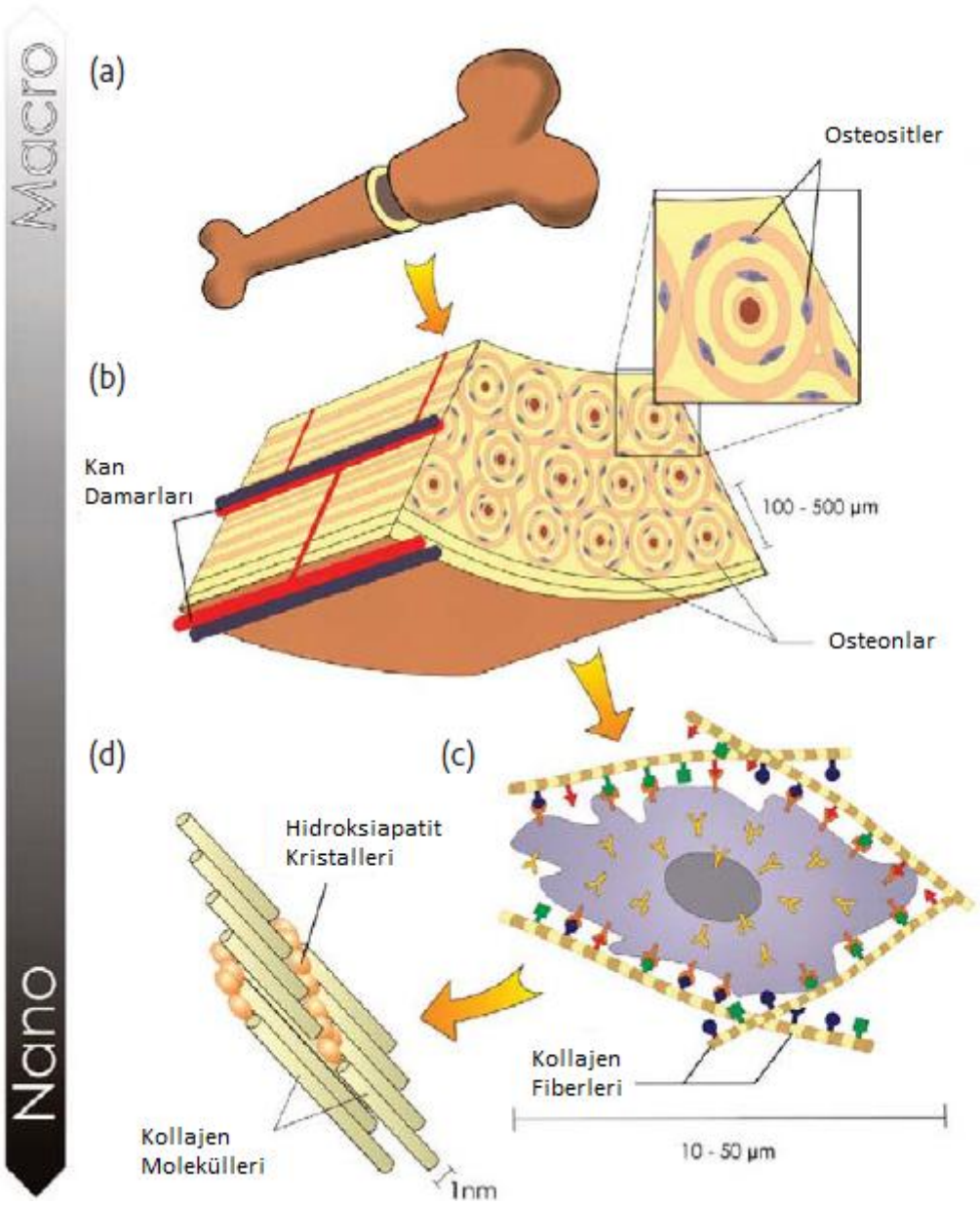
bünyesinden muhafaza ederek hücrelerin çoğalmasına, büyülmesine, yayılmasına, farklılaşmasına ve birbirleri arasındaki iletişimlerine yardımcı olmaktadır [2], [3], [4].

Hemen hemen her dokunun onarımı için doku mühendisliği yaklaşımı kullanılarak farklı çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir. Hatta son yıllarda doku mühendisliği yaklaşımı ile gerçekleştirilen spesifik dokuya bağlı onarım çalışmaları, doku mühendisliği teriminin çeşitlenmesine öncülük etmektedir. Bu çalışmaların içerisinde özellikle kemik dokusu için umut vaat edici gelişmeler söz konusudur ve kemik dokusu onarımı çalışmaları kemik doku mühendisliği başlığı altında incelenmektedir. Kemik dokusu ve kemik dokusu onarımı için gerçekleştirilmekte olan kemik doku mühendisliği yaklaşımı aşağıda detaylandırılmıştır.

2.2 Kemik ve Kemiği Yapısı

Omurgalı canlıların iskelet-kas sistemini oluşturan kemik, ağırlıkça %10-20 arası kollajen, %60-70 arası inorganik mineral ve %9-20 arası su bileşenlerinden oluşmaktadır. Bunlara ek olarak, proteinler, polisakkaritler ve lipidler gibi diğer organik materyalleri küçük miktarda içermektedir [5].

Vücuttaki tüm organlarda olduğu gibi kemik dokusu da makro ve nano büyüklüklerindeki farklı ölçek düzeylerinde hiyerarşik bir düzene sahiptir. Şekil 2.1’ de güçlü kalsifiye dış yoğun tabakaya, hidroksiapatit (HA) kristallerine, osteosit hücrelere, osteon bölgelere, kollajen molekülleri ve kollajen fiberlerine sahip bu hiyerarşik düzen gösterilmektedir. Kemik ECM’ si mineralize olmayan organik bileşen (Tip-1 kollajen) ve mineralize inorganik bileşen (karbonatlanmış apatit) içermektedir. Ek olarak, 200’ ün üzerinde ECM içerisinde sinyal iletimine ve dağıtımına katkıda bulunan matrik proteinlerine (glikoproteinler, proteoglikanlar, sialoproteinler) sahiptir [6].



Şekil 2. 1 Kemiğin hiyerarşik yapısı [6]

Kemik mineral bileşeninin temel bileşimi olan HA' nın kimyasal formülü $(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ olarak gösterilmektedir. HA bileşeninin Ca/P oranı 1.67' dir. Ancak kemik stronsiyum, karbonat gibi çeşitli iyonları içerdiği için Ca/P oranı 1.37 ile 1.87 arasında değişmektedir. Tipik bir kemik mineralinin kimyasal yapısı yapısı Çizelge 2.1' de verilmiştir [5].

Çizelge 2. 1 Tipik bir kemiğin kimyasal yapısı [5]

Element	Ca^{+2}	P	Na^{+}	Mg^{+2}	K^{+}	F^{-}	Cl^{-}	$(CO_3)^{-2}$	$(P_2O_7)^{-4}$	H_2O	Sr^{+2} vb.
% Ağırlık	34.8	15.2	0.9	0.72	0.03	0.03	0.13	7.4	0.07	10	Eser miktar

Kemik dokusu oluşumu, devamlılığı ve tüm yapım-yıkım işlevi üç tip hücrenin etkileşimi sayesinde gerçekleşmektedir. Osteosit, osteoblast ve osteoklast olarak adlandırılan bu hücrelerin görevi, sağlıklı bir kemik dokusunun sürekliliğini sağlamaktır [7]. Çizelge 2.2' de hücrelerin özellikleri ve fonksiyonları yer almaktadır.

Çizelge 2. 2 Kemik hücresi tipleri ve fonksiyonları [7]

Hücre Tipi	Morfolojik Özellikler	Fonksiyon
Osteoblast	Kemik yüzeyinde sıkı bir tabaka halinde, polarize, kübik şekilde	Kemik ECM birikiminin ve mineralizasyonun sentezi ve düzenlenmesi
Osteosit	Yıldız şeklinde, osteoblastlara oranla daha az organallere sahip	Osteoid matris kalsifikasyonu, kan-kalsiyum dengesi
Osteoklast	Polarize, çok çekirdekli	Kemik erimesi

2.3 Kemik Doku Mühendisliği Yaklaşımı

Kemik rejenerasyonu için kullanılan doku mühendisliği kavramının mantıksal derlemesi hastanın klinik durumuna göre yönlendirilmektedir. Kemik için uygulanan doku mühendisliğinin temel elemanları; sinyal molekülleri, hücreler ve hücre büyümesini-farklılaşmasını sağlayan matrisler olarak sıralanabilir. Bu üç elemanın kombinasyonu, hastanın yaşı, cinsiyeti, sistemik hastalıklarına bağlı olarak modifiye edilmektedir [8].

Travma, kanser, enfeksiyonlar, tümörler veya konjenital hastalıklar sonucu oluşan kemik defektlerinin tedavisi önemli bir sorundur. Bu nedenle, kemik doku mühendisliği, kemik defektlerinin onarımı ve bu onarım sırasında hücrelerin kendi hücre dışı matriksini sentezlemesi için geçici bir çevre oluşturan ve biyolojik olarak bozunabilen doku destek malzemesi üretimini gerçekleştirmek niyetiyle ortaya çıkmıştır [9].

Kemik doku mühendisliği kısaca, biyomalzeme ve hücrelerin bir kombinasyonu ile kemik oluşturmak için kullanılan alternatif bir stratejidir. Bu stratejide kullanılan ve kemik doku mühendisliği uygulamalarının geliştirilmesinde önemli bir yer tutan, kemik doku yapısını ve kompozisyonunu taklit edebilen destek malzemeleri vardır. Geniş bir morfolojik çeşitlilikte tasarlanabilen, tasarımı sırasında şartlara uygun bu materyallerin kullanımını destekleyen doku destek malzemeleri, kemik doku mühendisliği yaklaşımında önemli bir yere sahiptir. Ayrıca dizaynı ve üretimi için kullanılan metotların geniş bir yelpazeye sahip olması, kemik doku mühendisliği yaklaşımındaki çalışmalara ışık tutmaktadır [10].

BÖLÜM 3

DOKU DESTEK MALZEMESİ VE BİYOMALZEMELER

Doku destek malzemeleri, doku oluşumunun matrisi olarak kemik doku mühendisliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Belirli özelliklerde tasarlanmış, hücre yapışması, çoğalması ve farklılaşmasına uygun bir doku destek malzemesi, yüksek gözeneklilik, uygun gözenek boyutu ve yüzey özellikleri gibi gereksinimleri yerine getirebilmedir. Ayrıca istenilen mekanik özelliklere sahip olmalı, toksik olmamalı ve osteokondaktif olmalıdır. Bahsedilen özelliklere sahip bir doku destek malzemesinin üretiminde seçilecek destek malzeme, kemik doku mühendisliği uygulamalarında kritik bir öneme sahiptir. Ayrıca destek malzemenin seçimi, son ürün olan doku destek malzemesinin özelliklerini belirlemektedir [11]. Bu bölümde yukarıda belirtilen özellikler doğrultusunda doku destek malzemesi ve doku destek malzemesi olarak kullanılabilen biyomalzemeler hakkındaki literatür bilgilerine yer verilmiştir.

3.1 Doku Destek Malzemesi

Bir dokunun ekstraselüler matriksini taklit ederek doku özelliklerini taklit eden ve doku oluşumunu destekleyen geçici yapay yapılara doku destek malzemesi adı verilmektedir [12]. Doku destek malzemeleri çeşitli biyomalzemelerden çeşitli yöntemlerle üretilmektedir ve insan vücudundaki organ ve doku rejenerasyonu için kullanılabilmektedir. Doku mühendisliğinde kullanılmak üzere belirlenen ve tasarlanan doku destek malzemeleri, birbirlerinden bağımsız doku tiplerine göre değişebilen aşağıda açıklanan kriterler göz önünde bulundurularak belirlenmektedir.

Biyouyumluluk

Doku mühendisliğinde kullanılacak olan herhangi bir doku destek malzemesinin belirlenmesindeki ilk kriter biyouyumluluktur; hücreler doku destek malzemesi üzerine yapışabilmeli, destek malzeme yüzeyine ve destek malzeme içerisine göç edebilmelidir. Bu doğrultuda ek olarak, doku destek malzemesi yerini yeni matrise bırakmadan önce hücreler çoğalabilmelidir. Ayrıca, implante edilmiş doku destek malzemesi ihmal edilebilir seviyede immün reaksiyon oluşturmalı ve iyileşme sürecinde vücut tarafından reddedilmemelidir [13].

Biyobozunurluk

Doku mühendisliği amacı sonucu implante edilen doku destek malzemesi, vücudun kendi hücrelerine izin vererek zamanla yerini hücrelere bırakmalıdır. Doku destek malzemeleri kalıcı bir yapı olarak amaçlanmamalıdır. Hücrelerin kendi hücre dışı matriksini (ekstraselüler matriks, ECM) üretmesi için geçici bir kalıp görevi görmeli, bu nedenle biyolojik olarak bozunabilir olması gerekmektedir. Bozunma sonrası oluşacak son ürünler toksik olmamalı ve vücuttan kolayca uzaklaştırılabilir olması gerekmektedir [14], [15], [16].

Mekanik Özellikler

İdeal bir doku destek malzemesi, implante edilecek anatomik bölge ile tutarlı mekanik özelliklere sahip olmalı ve implantasyon sırasında cerrahi işleme izin verecek kadar güçlü olmalıdır. Bu durum özellikle ortopedik uygulamalarda büyük önem arz etmektedir. Özellikle kemik dokusu için, implantasyon öncesindeki uygulama sürecinde ve implantasyon sonrasındaki yer değiştirme sürecinde mekanik bütünlüğün korunması gerekmektedir [4]. Mekanik bütünlüğün korunması durumu hasta yaşına göre de değişiklik göstermektedir. Örneğin, genç bireylerde onarım süreci 6 hafta iken, yaşlı bireylerde ise yavaşlayan onarım mekanizmasına bağlı olarak bu durum bir yıl süreye ulaşabilmektedir. Düşük gözenekliliğe sahip birçok destek malzeme iyi bir mekanik özelliğe sahipken, damarlaşma gibi in vitro ortamda gerçekleşen mekanizmaların oluşmaması nedeniyle doku mühendisliği uygulamalarında başarısız olmaktadır. Hücre infiltrasyonu ve damarlaşmaya izin veren gözeneklilik ile yeterli dayanıma sahip mekanik özellik arasında mükemmel bir denge söz konusudur [13].

Doku İskelesi Mimarisi

Doku mühendisliği için kullanılacak doku destek malzemesinin mimarisi kritik bir önem taşımaktadır. Doku destek malzemeleri, ekstraselüler matriksi oluşturacak hücrelerin birbirleri arasındaki iletişimi ve besin alışverişi için, hücrelerin destek malzeme içerisine kolayca nüfuz edebilmesi için yüksek gözenekliliğe ve birbirleri arasında iç bağlantıları olan gözeneklere sahip olmalıdır. Ayrıca gözenekleri arasında iç bağlantılara sahip doku destek malzemeleri, doku destek malzemelerinden bozunma sonrası açığa çıkan ve hücresel aktiviteler sonrası açığa çıkan son ürünlerin difüzyonunu kolaylaştırmaktadır [17], [18]. Doku destek malzemesinin mimarisindeki bir diğer önemli hususta ortalama gözenek boyutudur. Doku destek malzemesi, ekstraselüler matriksi oluşturacak hücrelerin boyutuna uygun gözenek boyutuna sahip olmalıdır. Ayrıca gözenek boyutları hücre tipine göre de farklılık göstermelidir. Hücreler, yeterli büyüklükteki gözenekler üzerindeki kimyasal gruplar ile etkileşime girerek yapışmaktadırlar. Kimyasal grupların yoğunluğu spesifik yüzey alanı ile ilişkilidir. Bu ilişki de doku destek malzemesinin ortalama gözenek büyüklüğüne bağlıdır [13], [19], [20], [21].

3.2 Biyomalzemeler

Biyomalzemeler ilk olarak 1976 yılında Biyomalzeme Avrupa Derneği (ESB) tarafından, “Tıbbi cihazlarda kullanılmak üzere tasarlanmış, biyolojik sistemler ile etkileşime girebilen cansız destek malzeme” olarak tanımlanmıştır. Ancak günümüzde bu tanım “ Vücudun bir fonksiyonu, organı veya dokusunun tedavisi için biyolojik sistem ile etkileşime girebilen destek malzeme” olarak revize edilmiştir. Bu değişiklik, biyomalzeme alanındaki ilerleyişin bir göstergesidir [13].

Doku destek malzemesi olarak kullanılan biyomalzemelerin temel gereksinimleri, biyouyumluluk ve uygun yüzey özelliğidir. Bu gereksinimler sayesinde hücresel bağlamalar, çoğalmalar ve farklılaşmalar gerçekleşmektedir [22].

Doku destek malzemesi üretiminde kullanılan üç farklı grup biyomalzeme bulunmaktadır. Bunlar, seramikler, doğal polimerler ve yapay polimerler olarak sıralanmaktadır. Bu gruptaki biyomalzemelerin belirli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle bu grup üyelerinin birbirleri arasındaki kombinasyonuna

bağlı farklı aşamalarda üretilen kompozit destek malzemeler giderek yaygın hale gelmektedir.

3.2.1 Biyoseramikler

İnsanlık tarihinde ateşin bulunmasının ardından birçok alanda kullanılmaya başlanan seramikler, son 50 yılda sağlık alanında da büyük ilgi görmüştür. Yaşam kalitesini arttırmak için kullanılan bu malzemeler, zarar görmüş veya yıpranmış vücut kısımlarının onarılması ve hatta yeniden yapılanmasında kullanılmaya başlanmıştır**.** Böylece biyoseramik adı ortaya çıkmıştır.

Klinik uygulamada biyoseramik implantasyona; 18. yüzyılın sonlarında dişlerde kaplama için porselen kullanılmasında ve 19. yüzyılın sonlarında ortopedide kemik boşluklarının doldurulmasında Paris alçısı ya da alçıtaşı kullanılmasında rastlanmaktadır. Seramik teknolojisinin gelişmesi ile 20. yüzyılda daha yüksek teknoloji ürünü seramikler medikal amaçla kullanılmıştır.

Biyoseramikler doku ile etkileşimlerine bağlı olarak, karbon, alüminyum, zirkonya gibi biyoinert seramikler ve kalsiyum fosfat, cam, cam-seramik gibi biyoaktif seramikler ve biyobozunur seramikler olarak 3 gruba ayrılır. Biyoinert malzemelerin doku ile etkileşimleri mekanik bağ şeklindedir. Mekanik bağ, biyoinert malzemenin dokuyu değiştirmeden doku ile bir arada bulunması anlamına gelmektedir.

Sentetik biyomalzemelerden biri olan biyoseramikler, çeşitli doku mühendisliği uygulamalarında doku destek malzemesi imalatı için kullanılmaktadırlar [22]. Biyoseramikler, yumuşak doku rejenerasyonlarında kullanılmak yerine genellikle kemik rejenerasyonlarında kullanılmaktadırlar [13]. Seramik doku destek malzemeleri yüksek mekanik sertlik, düşük elastiklik ve sabit kırılgan yüzey ile karakterize edilmektedirler. Bir kemik açısından bakıldığı zaman, doğal kemiğin mineral fazı ile kimyasal ve yapısal benzerliklerinden dolayı mükemmel bir biyouyumluluk sergilerler. Ayrıca, osteojenik hücrelerle etkileşimlerinden (osteoblast hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını artırması) dolayı kemik rejenerasyonu için önemli bir yere sahiptirler [23], [24]. Dental ve ortopedik uygulamalarda kemik defektlerini doldurmak için çeşitli seramikler kullanılmaktadır. Ancak bu seramiklerin kırılganlığı nedeniyle implantasyonundaki ve

şekillendirilmesindeki zorluklar, klinik uygulamalarında kısıtlamalara neden olmaktadır [25].

3.2.2 Biyopolimerler

Biyopolimerler, sentetik ve doğal olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Her iki polimer türününde doku mühendisliğinde uygulamaları bulunmasına karşın sentetik biyopolimerler, istenilen özellikteki doku destek malzemesi olarak daha kolay üretilebilmeleri, bozunma karakteristiklerinin tahmin edilebilir ve kontrol edilebilir olması nedeniyle doğal biyopolimerlere göre daha çok tercih edilmektedir [26]. Sentetik biyopolimer bazlı doku destek malzemelerinin aksine doğal biyopolimerler, biyolojik olarak daha aktiftirler ve mükemmel bir şekilde hücre yapışması ve büyümesini desteklerler. Ayrıca doğal biyopolimerin, zamana bağlı biyobozunurluk gösterlemesi, konakçı hücrelerin ekstraselüler matriks oluşturmasına olanak sağlamaktadır. Ancak bu polimerlerle üretilen doku destek malzemelerinin zayıf mekanik özellikleri ortopedik uygulamalar için zorluklara neden olmaktadır [13].

3.2.3 Biyokompozitler

Doku destek malzemesi üretiminde kullanılan biyomalzemelerin tek bir faz olarak kullanılması daha önceden de bahsedilmiş olan dezavantajlara neden olmaktadır. Bu dezavantajların giderilmesi için araştırmacılar, çeşitli biyomalzemelerin kompozisyonlarını elde ederek alternatif doku destek malzemeleri üretimine yönelmişlerdir. Böylece, uygulama sırasındaki ve sonrasındaki dezavantajları (zayıf mekanik özellik, biyolojik uyumsuzluk vb.) aza indirgeyen biyokompozitler ortaya çıkmıştır [27].

3.3 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemeleri

Doku mühendisliğinde kullanılacak doku destek malzemelerinin canlı doku rejenerasyonunu karşılaması için birkaç gerekliliğe sahip olmalıdır. Porlu yapıya sahip 3 boyutlu doku iskeleleri, hücrelerin fizyolojik işlevlerini sürdürebilmelerine izin verirken, hücre yapışması, farklılaşması, çoğalması, büyümesi ve göç etmesi için 3 boyutlu bir ortam sağlamaktadır. Bunlara ek olarak istenmeyen hücrelerin etkilenen bölgeyi istila

etmesini önlemek için alan dolgu maddeleri olarak da görev yapmaktadırlar. Gözenekli doku iskeleleri aynı zamanda besin maddelerinin ve büyüme faktörlerinin verimli bir şekilde taşınmasını ve atıkların giderilmesini kolaylaştırırlar. Dahası, damarlaşmaya, ilk doku oluşumu ve dokuların yeniden biçimlenmesine yardımcı olurlar [28].

Doku mühendisliğinde kullanılacak doku iskelelerinin yukarıda belirtilen kritik işlevleri sağlamasının yanı sıra, enjekte edilebilir doku destek malzemeleri de *in situ* ortamda iskele oluşturabilmektedirler ve önceden oluşturulan doku iskeleleri ile karşılaştırıldığında birkaç avantaj sunarlar. Doku destek malzemeleri, minimal invaziv (küçük kesiklerle yapılan cerrahi işlem) operasyonlarda kullanılabilmelerinin yanı sıra, düzensiz şekilli kusurları kolayca doldurabilmektedirler. Ayrıca enjekte edilebilir doku destek malzemeleri, hücre ekim zorluklarını; hücre adezyonu ve tedavi edici maddelerin verilmesindeki zorlukları, bu işlemler için gereken faktörlerin destek malzeme çözeltisi içerisine karıştırılabilmesinden dolayı kolayca yenebilmektedir [29].

3.3.1 Enjekte Edilebilir Kompozit Doku Destek Malzemeleri

Doku mühendisliği uygulamalarının parabolik olarak artmasına bağlı olarak, son zamanlarda, doku mühendisliği uygulamaları için enjekte edilebilir doku destek malzemelerini oluşturan biyomalzemelerin kombinasyonu araştırılmaya başlanmıştır. Bu kombinasyonlar, bir enjekte edilebilir sistemde iki veya daha fazla malzeme türüne sahip kompozit enjekte edilebilir malzemeler olarak kategorize edilebilir. Bu kompozit materyallerin kullanımı, doku mühendisliği uygulamalarında çok yönlülüğün avantajını sağlamaktadır. Kullanılan malzemelerin türüne bağlı olarak, doğal polimer veya doğal kökenli polimer kompozitler veya sentetik kompozit malzemeler olarak katergorize edilmektedirler [30].

3.3.1.1 Enjekte Edilebilir Doğal Kaynaklı Polimer Kompozitler

Doku mühendisliği uygulamaları için polisakkaritler ve proteinlerden yapılmış birkaç doğal kompozit malzeme enjekte edilebilir doku destek malzemesi olarak geliştirilmiştir. Bu doğal malzemelerin biyolojik makro moleküllere benzer olmasından dolayı ev sahibi çevre doğal malzemeleri kolaylıkla tanır ve ev sahibi bu malzemeleri metabolik olarak kullanabilir ayrıca parçalayabilir [31]. Ek olarak, sentetik polimerlerin

kullanımı sırasında sıklıkla görülen kronik inflamasyon veya immünlojik reaksiyonları önlemek için ECM ile benzerlik sergilerler. Bu tür malzemeler; bitkilerden, hayvansal kaynaklardan, yosunlardan, mikroorganizmaların fermantasyonu ile çıkarılabilir veya enzimatik işlemler ile in vitro ortamda üretilebilir [32], [33]. Ancak bu malzemeler bir takım kısıtlamalara sahiptir. Bu kısıtlamalar arasında zayıf mekanik mukavemet ve hızlı bozunma hızı bulunmaktadır. Doğal polimerik malzemelerin kullanımı üzerine düşünülmesi gereken bir diğer önemli husus ise, maddenin kaynağına bağlı olarak, yabancı maddelerin ve endotoksinlerin varlığına bağlı olarak istenmeyen bir bağışıklık tepkisi oluşturabilmesidir. Bununla birlikte, bu doğal malzemeler hakkında bilgi arttıkça, malzeme özelliklerinin kontrolünde (mekanik ve bozunma hızı) yeni yaklaşımlar ve malzemenin biyouyumluluk özellikleri geliştirilebilmektedir. Bu durum dahilinde doğal polimerik malzemeler, fonksiyonel doku rejenerasyonunu desteklemek için daha iyi bir doku destek malzemesinin geliştirilmesini mümkün kılmaktadır [30].

3.3.1.2 Enjekte Edilebilir Sentetik Kompozitler

Orijini doğal kaynaklara dayanan malzemelere benzer şekilde, bazı insan yapımı kompozit malzemeler de enjekte edilebilir doku destek malzemeleri olarak kullanılabilmektedir. Bu kompozit malzemelerin çoğu inorganik bileşiklerden (örneğin kalsiyum içeren biyoaktif kalsiyum-fosfat türevleri) ve taşıyıcı polimerik jel karışımından oluşmaktadır. Bu tür malzemelerin enjekte edilebilirliklerini ve in situ gözenek oluşumunu ayarlamak mümkündür. Böylece sentetik kompozit greftin yeni kemik oluşumu için gerekli olan mekanik ve morfolojik desteği sağlaması, aynı zamanda kıkırdak ve kemik dokusunun onarımı için bir iskele olarak işlev görmesi, bu malzemelerin çoğunlukla kemik ve kıkırdak rejenerasyonu için kullanılmasını sağlamaktadır.

İnorganik bileşiklerden oluşan seramik malzemeler, insan plazması ile temasa girdiklerinde doku rejenerasyonunu destekleme eğilimindedir. Ancak bazı seramik malzemeler, polimerler ile oluşturdukları komplekslerde polimer sertleşmesine bağlı ısı miktarındaki artış sebebi ile oluşan yapıda hücre ve büyüme faktörlerinin bulunmasına izin vermezler.

Doku mühendisliğinde kullanılmak üzere seramik esaslı enjekte edilebilir malzemeler önerilmiş olsa da, polimerin sertleşmesi sırasında tipik olarak önemli miktarda ısı üretir, bu nedenle hücreler ve büyüme faktörleri bu malzemeler içine dahil edilemez. Hücre ve doku etkileşimlerinde kullanılacak bu tür sentetik malzemelerin kısıtlamalarının giderilmesi için biyoaktif olan seramik yapılı malzemelerin (örneğin, kalsiyum fosfatlar, hidroksiapatitler, biyoaktif camlar) kullanıldığı kompozit sistemlere başvurulmaktadır [30].

Her yıl birkaç milyon hasta, yaralanmalardan oluşan veya bir hastalıktan kaynaklanan kemik defektlerinin onarılması için kemik doku destek malzemelerine ihtiyaç duymaktadır. Kemik destek malzemesi olarak çok sayıda greft malzemeler kullanılmaktadır. Bunlar; işlenmemiş veya işlenmiş allojenik kemik dokusu, hayvan kaynaklı kemik dokusu ve sentetik kemik doku destek malzemesi olarak sıralanabilir [34].

Biyoaktif seramik yapılı kemik doku destek malzemelerinin ilk çalışmaları 1910 yıllarına dayansa da çalışmalar 1970 yıllarında araştırmacılar tarafından ilgi odağı olmuş ve böylece çalışmalar hızlanmıştır [35-40]. Araştırmacılar çalışmalarında ilk olarak granül ve gözenekli blok yapılar üzerinde yoğunlaşmışlardır [41-44]. Bununla birlikte 1982-1983 yıllarında kalsiyum fosfat çimentolarının (CPC) bulunmasıyla enjekte edilebilir kemik doku destek malzemeleri ortaya çıkmıştır. Böylece kemik doku destek malzemelerinde yeni bir çağ açılmıştır [45], [46] ve kemik doku destek malzemelerinin geliştirilmesi için yeni yaklaşımlar önerilmiştir. Örneğin, 1986 yılında Paris alçısı, enjekte edilebilir ve iki fazlı bir macun elde edilebilmesi için kalsiyum fosfat granülleri ile birleştirmiştir [47]. 1987 yılında ise, sodyum aljinat solüsyonu ile β-trikalsiyum fosfat (β-TCP) granülleri (0.5-1 mm çaplarına sahip) karıştırılması ile enjekte edilebilir ve sertleşebilen (aljinat moleküllerinin Ca+2 iyonları varlığında çapraz bağlanmalar oluşturması) macunlar elde edilmiştir [48]. 1990’ ların ortalarında 2 adet ticari CPC formülasyonu tanıtılmıştır [49-53]. Ardından bir düzineden fazla ticari CPC üretilmiştir. Çizelge 3.1’ de bu ürünlerden bazıları gösterilmektedir.

Çizelge 3. 1 Ticari doku destek malzemeleri: üretici firma ismi-ürün ismi-ürün içeriği

Üretici Firma	**Ürün İsmi**	**Ürün İçeriği**
Berkeley Advanced Biomaterials	Cem-Ostetic™ Tri-Ostetic™	Toz: Kalsiyum fosfat; Solüsyon: steril su Toz: Kalsiyum fosfat; Solüsyon: steril su
Biomet	Calcibon®	Toz: β-TCP (%61), DCP (%26), $CaCO_3$ (%10), PHA (%3); Solüsyon: H_2O, Na_2HPO_4 [54]
ETEX	α-BSM; Biobone, OssiPro	Toz: ACP (%50), DCPD (%50); Solüsyon: tamponlanmamış tuz çözeltisi [55], [56]
Kasios	Jectos Eurobone®	Toz: β-TCP (%98), $Na_4P_2O_7$ (%2); Solution: H_2O, H_3PO_4 (3.0M), H_2SO_4 (0.1M) [57]
Kyphon	KyphOs™	Toz: α-TCP (%77), $Mg_3(PO_4)_2$ (%14),$MgHPO_4$ (%4.8), $SrCO_3$ (%3.6); Solüsyon: H_2O, $(NH_4)_2HPO_4$ (3.5M) [58]
Synthes	Norian® SRS Norian® CRS	Toz: α -TCP (%85), $CaCO_3$ (%12), MCPM(%3); Solüsyon: H_2O, Na_2HPO_4 [59]
Synthes	chronOS™	Toz: β-TCP (%73), MCPM(%21), $MgHPO_4.3H_2O$ (%5), $MgSO_4$ (%<1), $Na_2H_2P_2O_7$ (%<1); Solüsyon: H_2O, sodyum hiyalüronat (%0.5) [60]

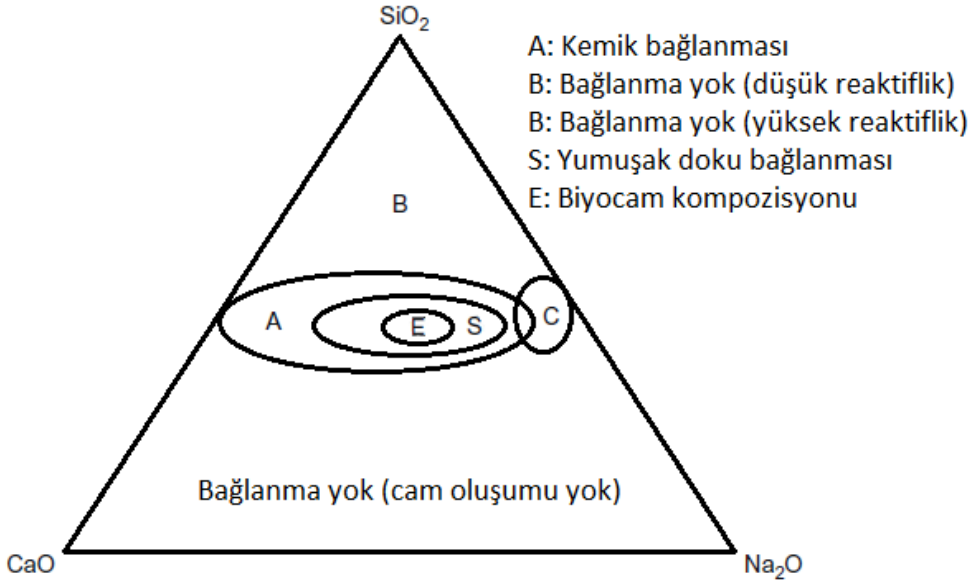
BÖLÜM 4

BİYOAKTİF CAMLAR

Biyoaktif camlar, vücut içerisinde bulunan silikon, kalsiyum, sodyum ve fosfor gibi minerallerden oluşan çok bileşenli inorganik bileşiklerdir [61], [62]. Belirli kompozisyona sahip bu bileşiklerin kemik ile etkileşime girerek kimyasal bağ oluşturduğunu ilk olarak 1969 yılında Hench ve arkadaşları keşfetmiştir. Ayrıca biyoaktif camların kimyasal özelliklerine bağlı olarak doku ile bağlanma hızının kontrollü bir şekilde gerçekleştirilebileceği vurgulanmıştır. Kontrollü bir ısıl işlem yapılması sonucunda önemli ölçüde geliştirilmiş mekanik özellikler gösterebilmektedir. Ek olarak, biyoaktif camlar, doku ile bir bağlanma ara birimi olan hidroksikarbonatapatit (HCA) mineralinin oluşumunu destekleyen biyoaktif bir yüzeye sahip olmalarından dolayı, sert doku tamirinde kullanılmaktadır [63].

4.1 Biyoaktif Cam Bileşimi

Biyoaktif camların biyoaktivitesi, cam kompozisyonundaki SiO_2 içeriğine bağlıdır [64]**.** Birçok araştırmacı tarafından araştırılan ve biyomedikal alanlarda geniş bir uygulama alanına sahip olan 45S5 olarak biyoaktif camların bileşimi ağırlıkça (%); 45 SiO_2, 24.5 Na_2O ve CaO, 6 P_2O_5 şeklindedir. Yüksek reaktif yüzeye sahip bir biyoaktif camın üç temel bileşime sahip olması gerekmektedir. Bu üç temel bileşim; en az %60 mol SiO_2; yüksek Na_2O ve CaO içeriği; ve yüksek CaO / P_2O_5 oranı olarak sıralanabilir. Deneysel sonuçlar doğrultusunda oluşturulan diyagram Şekil 4.1’ de gösterilmiştir.



Şekil 4. 1 Biyoaktif cam-kemik bağlanması için kompozisyonel diyagram

Kemiğin biyoaktif cama bağlanması için gereken kompozisyonel oran 6 alana bölünmüştür (A-E ve S bölgeleri). Yüksek bağlanma kapasitesine ve yüksek biyoaktiviteye sahip biyoaktif camlar, diyagram üzerindeki E bölgesinde bulunmaktadır. A bölgesinde, ağırlıkça %45-52 SiO_2 ve sabit %6 P_2O_5 içeren biyoaktif camlar yer almaktadır. A bölgesinde bulunan tüm camlar, kemik ile kuvvetli bağlanmalar sergileyecek kadar yüksek biyoaktiviteye sahiptir. B bölgesinde ise kemik ile bağlanma göstermeyen biyoinert camların bölgesi olarak tanımlanmaktadır [61], [62], [63].

Biyoaktif camların özelliklerini geliştirmek için çeşitli katkılar kullanılmaktadır. Bu katkılar sayesinde biyoaktif camların mekanik ve biyolojik özellikleri değiştirilebilmektedir. Çalışılmış ve çalışılmakta olan bazı katkılar; flor [65], magnezyum [66], stronsiyum [67], bor [68], potasyum [69] ve çinko [70] olarak sıralanabilir. Çizelge 4.1' de farklı kompozisyona sahip biyoaktif cam ve cam-seramikler gösterilmiştir. Gösterilen camların hepsi önceden bahsedilen diyagramda yer alan ve kompozisyon olarak küçük değişiklik yapılmış olan cam malzemelerdir [63].

Biyoaktif camlarda iyon katkısının önemi Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü bünyesinde yüksek lisans ve doktora çalışmalarında da araştırılmıştır;

Yüksek lisans öğrencisi Burcu Karakuzu tarafından gerçekleştirilen tez çalışmasında, yapay kemik olarak kullanabilecek biyosilikalı Sr ve molibten (Mo) katkılı 45S5 biyoaktif

cam üretimi gerçekleştirilmiş, farklı kaynaklardan elde edilen silikanın (Si) ve Sr, Mo katkılarının biyoaktif camların biyoaktivitesine ve mekanik özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda Sr ve Mo katkısının biyoaktif camların mekanik özelliklerini artırdığı ve biyoaktivitenin bir göstergesi olan HCA tabakasının katkı içeriğine ve türüne göre gözle görülür bir artışa sebep olduğu ve böylece Sr, Mo iyon katkılarının biyoaktif camların biyoaktivite özelliklerini artırdığı sonucuna varılmıştır [71].

Yüksek lisans öğrencisi Elif Mete tarafından gerçekleştirilen başka bir tez çalışmasında, kemik kırıklarının tedavisinde kullanılmak üzere biyosilikalı titanyum (Ti) katkılı 45S5 biyoaktif cam üretimi gerçekleştirilmiş, Ti katkısının biyoaktif camların biyoaktivitesine ve biyouyumluluk özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda Ti katkısının biyoaktif camalrın mekanik özelliklerinde önemli bir artışa sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, yapılan YVS çalışmaları sonucunda Ti katkısının biyoaktif camların biyoaktivite özelliklerini iyileştirildiği ve yapılan *in vitro* çalışmalar sonucunda kemik benzeri hücreler için Ti katkısının herhangi bir sitotoksisiteye sebep olmadığı, hücre proliferasyonunu artırdığı sonucuna varılmıştır [72].

Doktora öğrencisi İsa Rahmanlar tarafından gerçekleştirilen başka bir tez çalışmasında, magnezyum (Mg), alüminyum (Al) ve selenyum (Se) katkılı biyosilikalı biyoaktif camlar ergitme yöntemi ile üretilmiş, elde edilen biyoaktif camların biyoaktivite-biyobozunurluk ve *in vitro* hücre çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Biyoaktivite incelemeleri YVS içerisindeki inkübasyon ile gerçekleştirilen biyoaktif camlarda, Mg ve Se katkısının biyoaktiviteyi artırdığı, Al katkısının ise düşük oranlarda kullanıldığı zaman biyoaktiviteyi artırabildiği gözlemlenmiştir. TRİS içerisinde gerçekleştirilen biyobozunurluk incelemelerinde, Mg katkısının biyoaktif camların çözünme hızını belirgin bir şekilde artırdığı Al ve Se katkısının ise çözünme hızını azalttığı belirlenmiş ayrıca yüksek orandaki Al katkısının da biyoaktif camların biyobozunurluğunu azalttığı gözlemlenmiştir. Yapılan in vitro hücre çalışmaları doğrultusunda, her üç katkının da toksik etki oluşturmadığı, hücre canlılığını ve proliferasyonunu desteklediği sonucuna varılmıştır [73].

Çizelge 4. 1 Biyoaktif cam ve cam-seramiklerin farklı kompozisyonları

	% Ağırlıkça Bileşim								
Kompozisyon İsmi	**SiO_2**	**P_2O_5**	**CaO**	**$Ca(PO_3)_2$**	**CaF_2**	**MgO**	**Na_2O**	**K_2O**	**Al_2O_3**
45S5 Biyocam®[74]	45	6	24.5	-	-	-	24.5	-	-
45S5.4F Biyocam® [75]	45	6	14.7	-	9.8	-	24.5	-	-
KGC Ceravital®[76]	46.2	-	20.2	25.5	-	2.9	4.8	0.4	-
AW Cam Seramik [77]	34.2	16.3	44.9	-	0.5	4.6	-	-	-
MB Cam-seramik [78]	19-52	4-24	9-3	-	-	5-15	3-5	3-5	12-33
S45P7 [79]	45	7	22	-	-	-	24	-	-
S53P4 [80]	53	4	20	-	-	-	23	-	-

4.2 Biyoaktif Camların Özellikleri

Biyomalzemelerin sınıflandırılması içerisinde yer alan biyoaktif camlar, kayda değer özellikler sergilemeleri nedeniyle kemik doku mühendisliği ve uygulamaları alanlarında kolayca yer bulmuştur. Bu destek malzemelerin karakteristik özelliği, doku ile kolayca etkileşime girebilecek yüzey özelliklerine sahip olması olarak bilinmektedir. Yüzeyi üzerinde kemik inorganik minerali olan Ca ve P bileşenlerinden oluşan hidroksiapatit (HA) tabakasını veya hidroksiapatit benzeri (hidroksikarbonat apatit, HCA) oluşturması ve bu tabakanın oluşumuna bağlı sert veya yumuşak kemik dokusuna rahatça bağlanabilmesi, osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklere sahip olması, biyoaktif camların kemik dokusu tedavilerinde kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır [81]. Ayrıca bu destek malzemelerin en önemli özellikleri; enzimatik faaliyetleri, vasküler yapı oluşumunu, kemik dokusu oluşumu için mezenkimal hücrelerin farklılaşmasını

desteklemesidir [82]. Mekanik olarak zayıf olan biyoaktif camların mukavemet değerleri 40-60 MPa, Young's modülü 30-35 GPa arasında değişmektedir. Ek olarak, in vivo implantasyonu sonrası zamana bağlı yüzey kinetiği modifikasyonu karakteristiğine sahiptir. Bu karakteristik, kontrollü degredasyona ve dokuya direk bağlanma özelliğine izin vermektedir [63].

4.3 Biyoaktif Cam Kemik Bağlanması

Kemik ile 45S5 biyoaktif camların bağlanma mekanizması literatürdeki birçok çalışmada belirtilmektedir [83], [84], [85]. Biyoaktif camlar, sıvı ortam koşullarında üç aşamalı yüzey reaksiyonu vermektedir. Bu aşamalar; katyonların süzülmesi ve yer değiştirmesi, SiO_2 ağ yapısının çözünmesi, HCA tabakasının oluşması için Ca ve P birikimi şeklinde özetlenmektedir [63], [86]. Bu aşamalardan sonuncusu olan HCA tabakasının oluşumu, biyoaktif camları kemiğe bağlanma mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu tabaka, kemiğin inorganik yapısının % 70' ini oluşturan HA mineralini benzerliğinden dolayı canlı kemik ile sıkı bir bağlanma gerçekleşmesini sağlamaktadır. Biyoaktif camların vücut sıvısı ile etkileşimi ve yukarıda bahsedilen aşamaları içeren, biyoaktif cam yüzeyinde gerçekleşen bir dizi reaksiyon, Hench [83] tarafından aşağıdaki Çizelge 4.2' deki gibi detaylandırılmıştır.

Çizelge 4. 2 Biyoaktif cam yüzey reaksiyonu basamakları [83]

Aşama	Açıklama
1. Aşama	Cam ağ yapısını oluşturan Na^+ ve Ca^{+2} çözünmesi ve sıvı içerisindeki H^+ veya H_3O^+ iyonları ile yer değiştirmesi ardından silika gruplarının hidrolizi ve Si-OH (silanol) gruplarının cam yüzeyi üzerinde oluşumu, H^+ tüketimine bağlı sıvı pH değerinin yükselmesi.
2. Aşama	pH değerindeki yükselmenin cam yapısındaki SiO_2 çözünmesini hızlandırması ve çözünen silikanın sıvı içerisine $Si(OH)_4$ (silisik asit) formunda geçmesi, Si-OH (silanol) gruplarının cam yüzeyi üzerinde oluşumunun devam etmesi.
3. Aşama	Na^+ ve Ca^{+2} iyonlarının tükenmesi, 1-2 µm kalınlığındaki, SiO_2 bakımından zengin amorf tabakanın cam yüzeyinde kondenzasyonu ve polimerizasyonu.

Çizelge 4. 2 Biyoaktif cam yüzey reaksiyonu basamakları (devamı)

4. Aşama	Camdaki yapısının çözünmesi sonucu salınan Ca^{+2}, ayrıca çözeltiden de gelen Ca^{+2} ve $(PO_4)^{-3}$ iyonlarının SiO_2 bakımından zengin olan tabakanın üzerine çökmesi ve amorf kalsiyum fosfat (ACP) tabakasını oluşturması.
5. Aşama	Çözünmenin devamı, ACP tabakasının sıvı içerisinde bulunan $(OH)^-$ ve $(CO_3)^{-2}$ iyonları ile etkileşime geçmesi ve HCA tabakası olarak kristalize olması.

Biyoaktif camların in vivo implantasyonu sonrası yukarıda belirtilen yüzey reaksiyonu basamaklarının ardından aşamalar aşağıdaki şekilde devam etmektedir [63]**;**

6. aşama: Reaksiyon katmanının (SiO_2-HCA tabakası) büyüme faktörü gibi etmenlerin absorpsiyonunu artırması,

7. aşama: Reaksiyon katmanının (SiO_2-HCA tabakası) kemik onarımı için gereken implant bölgesindeki makrofaj aktivetisine etkisi,

8. aşama: Cam ile kemik arasında bağlanmanın gerçekleşmesi

9. aşama: Kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşması

10. aşama ve 11. aşama: Matrix oluşumu, matriksin mineralizasyonu ve buna bağlı olgun osteositlerin oluşumu.

4.4 Biyoaktif Cam Üretimi

Biyoaktif cam malzemeleri, sol-jel ve ergitme olmak üzere iki farklı yöntem ile üretilmektedirler. Bu yöntemler, gerçekleştirilen ısıl basamaklarının farklılığı ve cam yapısını oluşturan temel bileşenlere uygulanan farklı basamaklardan dolayı birbirlerinden ayrılmaktadırlar.

4.4.1 Sol-Jel Yöntemi

Sol-jel yöntemi, cam bileşenlerini içeren başlangıç maddelerini içeren çözeltinin hazırlanması, hazırlanan çözeltinin kuvvetli asit yardımı ile jelleştirilmesi ve jelleşen çözeltiden çözücünün uzaklaştırılması ile inorganik destek malzemelerin kimyasal sentezi olarak tanımlanmaktadır [86]. Bu yöntemle elde edilen inorganik destek

malzemenin kasifikasyonu ve sinterlenmesi gibi ısıl işlemlere tabi tutulması sonu biyoaktif cam destek malzemeleri üretilmektedir.

4.4.2 Ergitme Yöntemi (Melt-quenching Method)

Ergitme yöntemini, sol-jel yönteminden ayıran en belirgin özelliği ısıl prosesin yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilmesidir. Biyoaktif cam üretimi için cam bileşenlerini içeren toz halindeki başlangıç destek malzemeleri karıştırılarak, 1300 ila 1500°C arasında belirlenen bir sıcaklıkta ergitilir. Biyoaktif camların daha homojen ve saf olarak elde edilmesi için uygulanan yüksek sıcaklık prosesi ara basamaklara bölünebilmektedir [87]. Ergitme sonrası kalıplara dökülerek şekillendirilen biyoaktif cam destek malzemeleri daha düşük sıcaklıklarda (örn: 500-600°C) tavlanarak, soğuma sırasında oluşabilecek mikro çatlaklarının önüne geçilebilmektedir.

BÖLÜM 5

DENEYSEL KISIM

5.1 Kullanılan Hammaddeler ve Kimyasallar

5.1.1 Pirinç Kabuğu Külü

Bu tez çalışması kapsamında üretilen biyoaktif camların ana bileşenlerinden biri olan silisyum elementinin kaynağı olarak pirinç kabuğu külü kullanılmaktadır. Bitkisel bir atık olan pirinç kabuğunun yakılması sonucu elde edilen pirinç kabuğu külü Yetiş Gıda San. Ve Tic. A.Ş (İpsala/EDİRNE) tarafından tedarik edilmiştir.

5.1.2 Kimyasallar

Merck marka %99 saflıkta hidroklorik asit (HCl), biyosilika ve yapay vücut sıvısı (YVS) üretiminde kullanılmak üzere temin edilmiştir.

Merck marka kalsiyum karbonat ($CaCO_3$), di-sodyum hidrojen fosfat dihidrit ($Na_2HPO_4.2H_2O$), sodyum hidrojen karbonat ($NaHCO_3$) ve Riedel-deHaën marka Silisyum dioksit (SiO_2), biyoaktif cam üretiminde kullanılmak üzere temin edilmiştir. Ayrıca biyoaktif cam üretimi sırasında kullanılan platin pota temizliği için kullanılacak Merck marka %38-40 saflıkta hidroflorik asit (HF) ve %95-97 saflıkta sülfirikasit (H_2SO_4) asit çözeltileri tedarik edilmiştir.

Merck marka aljinat polimeri, enjekte edilebilir kemik doku destek malzemesi üretiminde kullanılmak üzere temin edilmiştir.

Merck marka sodyum klorür (NaCl), sodyum hidrojen karbonat ($NaHCO_3$), potasyum klorür (KCl), di-potasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), magnezyum klorür hekzahidrat ($MgCl_2.6H_2O$), kalsiyum klorür dihidrat ($CaCl_2.2H_2O$), sodyum sülfat (Na_2SO_4), hidroksimetilaminometan-TRİS ($(CH_2OH)_3CNH_2$) yapay vücut sıvısı (YVS) üretiminde kullanılmak üzere temin edilmiştir.

5.2 Deneysel Yöntem

5.2.1 Genel Çalışma Yöntemi

Tarımsal bir atık olan pirinç kabuğu külünden SiO_2 kaynağı olan sodyum silikat çözeltisi (Na_2SiO_3), külün alkali ekstraksiyonu yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Biyoaktif camın temel bileşenlerinden biri olan SiO_2 tozları ise Na_2SiO_3 çözeltisinin jelleştirilmesi (sol-jel yöntemi) ile gerçekleştirilmiştir. Bileşenleri ağırlıkça %45 SiO_2 , %24.5 CaO, %24.5 Na_2O, %6 P_2O_5 olacak şekilde ticari silika kaynaklı biyoaktif cam ve biyosilika kaynaklı biyoaktif cam numuneleri yüksek sıcaklıkta ergitme yöntemi uygulanarak üretilmiştir. Kemik doku destek malzemesi olarak kullanılacak enjekte edilebilir doku destek malzemesi üretimi, ortalama partikül boyutu 50µm altında olan biyoaktif cam tozları ile taşıyıcı olarak yer alan aljinat biyopolimeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen Na_2SiO_3 çözeltisinin içerisindeki elementlerin, element miktarlarının ve bulunan elementlerin oksit miktarlarının belirlenmesi için İndüktif Eşleşmiş Plaza Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) analizi gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca ticari silika ve biyosilika tozlarının;

- Kristal yapılarının belirlenmesi için X-Işınları Difraksiyonu (XRD) analizleri,
- Nem miktarının belirlenmesi amacıyla Termogravimetrik (TG) analizleri,
- Spesifik yüzey alanı, toplam gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı değerlerinin belirlenmesi için N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon analizleri,
- Yapısındaki kimyasal bağların belirlenmesi amacıyla Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskopisi (FT-IR) analizleri,
- Morfolojik özelliklerinin anlaşılması ve yarı kantitatif elementel içeriklerinin belirlenmesi amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (SEM-EDS) analizleri gerçekleştirilmiş,

Üretilen cam numunelerinin,

- Yoğunluk analizleri,
- Kristal yapılarının belirlenmesi için XRD analizleri,
- Camsı geçiş (Tg) ve kristalizasyon (Tc) sıcaklıklarının tespiti için Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) analizleri,
- Ortalama partikül boyutlarının belirlenmesi için partikül boyut dağılım analizi,
- Spesifik yüzey alanı, toplam gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı değerlerinin belirlenmesi için N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon analizleri,
- Yapısındaki kimyasal bağların belirlenmesi amacıyla FT-IR analizleri,
- Morfolojik özelliklerinin anlaşılması ve yarı kantitatif elementel içeriklerinin belirlenmesi amacıyla SEM-EDS analizleri gerçekleştirilmiş,

Üretilen enjekte edilebilir kemik doku destek malzemesi numunelerinin;

- Yapısındaki kimyasal bağların belirlenmesi amacıyla FT-IR analizi,
- Akışkanlık davranışlarının ve viskozitelerinin belirlenmesi için Reoloji analizleri gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca, enjekte edilebilir kemik doku destek malzemelerinin biyoaktivite davranışlarının belirlenmesi amacı ile numuneler YVS içerisinde belirli süre bekletilmiştir. Bu işlem sonrası numunelere uygulanan karakterizasyon işlemleri aşağıdaki gibidir;

- Biyoaktivite özelliğinin önemli bir işareti olan hidroksiapatit (HA) oluşumunun belirlenmesi amacıyla doku destek malzemelerinin FT-IR, SEM-EDS ve inkübasyon sonrası YVS çözeltilerinin ICP-OES analizleri gerçekleştirilmiştir.

5.2.2 Pirinç Kabuğu Külünden Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi

Pirinç kabuğu külünden sodyum silikat çözeltisi elde edebilmek için bir dizi işlem gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler aşağıdaki alt bölümlerde sırasıyla açıklanmıştır.

5.2.2.1 Pirinç Kabuğu Küllerini Yakma İşlemi

Organik atık olan pirinç kabuğunun bir takım ısıl işlemlere tabi tutulması ile elde edilmiş olan pirinç kabuğu külleri, içerisindeki bütün organik safsızlıkları uzaklaştırmak amacıyla tekrar ısıl işleme tabi tutulmuştur. Bu ısıl işlem porselen krozeler içerisinde kül

fırını kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Belirli miktardaki pirinç kabuğu külleri, porselen krozeler içerisine yayılarak 5 saat boyunca 600°C' de kül fırını içerisinde yakılmıştır. Ardından ileriki prosesler için plastik kaplar içerisinde depolanarak saklanmıştır.

5.2.2.2 Asit ile Kaynatma İşlemi

Isıl işlem ile bir takım organik safsızlıkları uzaklaştırılmış küller, uzaklaştırılamayan safsızlıkların giderilmesi için kuvvetli bir asit olan HCl ile kaynatılmıştır. Bu işlem aşağıda sıralanmış olan basamakların uygulanması ile gerçekleştirilmiştir;

1. 40 g kül tartılarak balon içerisine alınır,
2. Kül bulunan balon içerisine kül miktarına bağlı olarak 1:6 oranında distile su eklenir (kül miktarı:distile su miktarı; gr:ml),
3. Kül-distile su karışımını içeren balon manyetik karıştırıcı üzerine alınır ve 750 rpm'de karıştırılır, bu esnada yeterli miktardaki 6M HCl ile karışımın pH değeri 1 olarak ayarlanır,
4. pH değeri 1 olan kül-distile su karışımı geri soğutucu altında 2 saat boyunca kaynatılır ardından soğumaya bırakılır,
5. Soğumuş karışım vakum altında distile su kullanılarak yıkanır ve süzülür (bu işlem için yaklaşık 400 ml distile su kullanılmaktadır),
6. Yıkanmış küller saat camına yayılarak etüvde kurutulur.

5.2.2.3 Külün Alkali Ekstraksiyonu

Organik ve inorganik istenmeyen tüm safsızlıklarından arındırılmış olan pirinç kabuğu külünden silika içeren sodyum silikat çözeltisinin elde edilmesi için alkali ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem basamakları aşağıdaki gibi sıralanmıştır;

1. Kurutulmuş küller balon içerisine eklenir ardından kül miktarına bağlı olarak 1:6 oranında NaOH ilave edilir (kül miktarı:NaOH miktarı; gr:ml),
2. Kül-NaOH karışımını içeren balon manyetik karıştırıcı üzerine alınarak geri soğutucu altında 1 saat boyunca kaynatılır ardından soğumaya bırakılır,

3. Soğuma işlemini takiben, kül-NaOH karışımı 400 ml distile su kullanılarak vakum altında süzülür,
4. Elde edilen süzüntü (Na_2SiO_3 çözeltisi) bir sonraki proses için plastik bir şişede muhafaza edilir.

5.2.3 Sodyum Silikat Çözeltisinden Biyosilika (BS) Eldesi

Biyosilika eldesi için gerçekleştirilen işlemler; sodyum silikat çözeltisinin belirli pH değerinde jelleştirilmesi, oluşan jellerin yaşlandırılması, yıkama, kurutma ve öğütme işlemleri şeklinde özetlenebilir.

Jelleştirme işlemi genellikle kuvvetli bir asit olan hidrojenklorür (HCl) ile gerçekleştirilmektedir. Öncelikle molaritesi 1 olarak ayarlanmış HCl ile oda sıcaklığındaki koşullarda manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırılan ilk pH değeri yaklaşık 11 olan sodyum silikat çözeltisinin pH değeri 7' ye ayarlanır. pH değeri 7 olan sodyum silikat çözeltisi kısa süre içerisinde jel halini alır. Ardından elde edilen jeller, silika ağ yapısının güçlenmesi için 24 saat süre ile oda sıcaklığında yaşlandırılır. Sodyum silikat çözeltisi içerisinde bulunan ve jelleşme sonrası da ağ yapıya katılmadan jel içerisinde bulunan yüksek sodyum (Na) safsızlıklarının ve jelleşme esnasında kullanılan HCl' den gelen klor (Cl) safsızlıklarının birleşmesi ile oluşan NaCl tuzunun uzaklaştırılması için yaşlanma sonrası jeller 3 kez distile su ile yıkanır ve yıkama işlemi santrifüj yardımı ile gerçekleştirilir. Yıkama işlemi sonrası jeller saat camına yayılarak 80 °C'de 24 saat boyunca etüv içerisinde kurutulur. Kurutma işlemi sonrası elde edilen biyosilikalar agat havan kullanılarak toz haline gelinceye kadar öğütülür. Ardından biyosilika tozları, biyoaktif cam üretimindeki ergime basamağında homojenliğin artırılması amacıyla Retsch marka PM 400 model öğütücü kullanılarak 200 rpm' de 30 dakika ve 250 rpm' de 1 saat boyunca boyutları 50µm' den küçük olacak şekilde öğütülür.

5.2.4 Biyoaktif Cam Bileşenlerinin Hazırlanması ve Biyoaktif Cam Üretimi

Bu tez çalışması kapsamında major bileşeni silika olan biyoaktif camların üretimi için silika kaynağı olarak ticari silika (TS) ve biyosilika (BS) kullanılmıştır. Biyoaktif camların kimyasal bileşenleri Çizelge 5.1' de verilmiştir.

Çizelge 5. 1 Biyoaktif cam üretiminde kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	**Marka**	**Molekül Ağırlığı**
SiO_2	Riedel-deHaën	60.08 (g/mol)
$CaCO_3$	Merck	100.09 (g/mol)
$Na_2HPO_4.2H_2O$	Merck	177.99 (g/mol)
$NaHCO_3$	Merck	84.01 (g/mol)

Biyoaktif cam üretimi ergitme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Ergitme işlemi ile elde edilen biyoaktif cam yapısı içeriği yüzde ağırlıkça; %45 SiO_2, %24.5 CaO, %24.5 Na_2O, %6 P_2O_5 şeklindedir. Bu oranlardaki içeriğin oluşabilmesi için Çizelge 5.1' de bulunan kimyasallardan belirli miktarlarda tartılarak cam kavanoz içerisinde bir karışım elde edilir.

Ergitme işlemi iki basamak (iki farklı sıcaklık değerinde) olarak gerçekleştirilir. Öncelikle cam kavanoz içerisinden alınan biyoaktif cam bileşenleri platin potalara aktarılır. 1. ısıl işlem için platin potalardaki toz karışımı 1400°C sıcaklıktaki PROTERM marka fırın içerisinde 1 saat süre ile ergitilir. 2. ısıl işlemde platin pota 1450°C deki fırın içerisinde 2 saat süreyle bekletilir. 2 saatin sonunda fırından çıkarılan eriyik biyoaktif camlar dökme demir tezgah üzerine damlalar halinde dökülür ardından ısıl şokun önlenmesi ve soğuma sırasındaki gerilmelerin azaltılması için 550 °C 'deki tavlama fırınına yerleştirilir, tavlama işlemi 24 saat süreyle gerçekleştirilir. Böylece mekanik olarak güçlü boncuk halinde biyoaktif camlar elde edilir.

5.2.5 Biyoaktif Camların Öğütülmesi

Ergitme yöntemi ile üretilen biyoaktif camlar, iki basamaklı öğütme işlemi ile istenilen boyutlardaki tozlar haline getirilmiştir. İlk olarak, boncuk şeklindeki biyoaktif camlar agat havan yardımı ile toz haline getirilir. Ardından Retsch marka PM 400 model

öğütücü kullanılarak 200 rpm' de 30 dakika ve 250 rpm' de 1 saat öğütülen biyoaktif cam tozları ortalama partikül boyutu 50µm altı olacak şekilde elde edilir.

5.2.6 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemesi Üretimi

Ortalama partikül boyutu <50µm olan biyoaktif cam tozları ile taşıyıcı polimer olarak kullanılan aljinat polimeri belirli oranlarda karıştırılmıştır. Öncelikle %7.5 ve %10' luk iki farklı yüzde konsantrasyon içeriğine sahip aljinat çözeltileri oda sıcaklığında mekanik karıştırıcı yardımı ile hazırlanır. Numuneler taşıyıcı polimer miktarı sabit olacak şekilde, 1:1, 2:1 (Biyoaktif cam:aljinat çözeltsi; g:ml) oranlarında cam petri kabı içerisinde homojen oluncaya kadar cam baget yardımı ile karıştırılır (Çizelge 5.2). Karışımlar 1ml 'lik enjektörler içerisine alınarak gerekli analizler için oda sıcaklığında bekletilir.

Çizelge 5. 2 Enjekte edilebilir doku destek malzemesi içerikleri

	%7.5 Aljinat miktarı (ml)	%10 Aljinat miktarı (ml)	Cam Tozu miktarı (g)
1BSCP7.5*[a]	1	-	1
2BSCP7.5*[a]	1	-	2
1TSCP7.5**[a]	1	-	1
2TSCP7.5**[a]	1	-	2
1BSCP10*[b]	-	1	1
2BSCP10*[b]	-	1	2
1TSCP10**[b]	-	1	1
2TSCP10**[b]	-	1	2

*Biyosilikalı cam içeren enjekte edilebilir doku destek malzemesi
**Ticari silikalı cam içeren enjekte edilebilir doku destek malzemesi
[a]%7.5' luk aljinat biyopolimeri ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi
[b]%10' luk aljinat biyopolimeri ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi

5.2.7 Yapay Vücut Sıvısının (YVS) Hazırlanması

Kukubo ve çalışma arkadaşları, biyoaktif materyaller üzerinde apatit oluşumunun gerçekleştiği insan hücre dışı sıvısının konsantrasyonuna benzer inorganik iyon konsantrasyonuna sahip aselüler olarak simüle edilmiş bir vücut sıvısı geliştirmişlerdir. Bu sıvı genellikle yapay vücut sıvısı (YVS) veya Kukubo çözeltisi olarak kısaltılır. YVS ve insan kan plazmasının iyon konsantrasyonları Çizelge 5.3' te verilmiştir.

Çizelge 5. 3 İnsan plazması ve YVS çözeltisinin iyon konsantrasyonu

İyon	YVS (mM)	İnsan Plazması (mM)
Na	142.0	142.0
Cl^-	147.8	103.0
HCO^{-3}	4.2	27.0
K^+	5.0	5.0
Mg^{+2}	1.5	1.5
Ca^{+2}	2.5	2.5
HPO_4^{-2}	1.0	1.0
SO_4^{-2}	0.5	0.5

Yapay vücut sıvısının hazırlanması için Çizelge 5.4' te bulunan kimyasallar kullanılmıştır. İlk olarak 750 ml saf su bir beher içerisine alınır. Sıcaklık derecesi 36.5 °C olarak ayarlanan manyetik karıştırıcı üzerine alınan beher içerisine Çizelge 5.5' te yer alan kimyasallar sırasıyla eklenir. Son olarak, 1 M HCl yardımı ile çözelti pH değeri 7.4 olacak şekilde ayarlanır. Ardından 36.5 °C sıcaklığa sahip saf su ile çözelti hacmi 1000 ml' ye tamamlanır. İşlemler sırasında dikkat edilmesi gereken bir durum söz konusudur. 9. kimyasal olan $(CH_2OH)_3CNH_2$ kimyasalının çözelti içerisine yavaş yavaş eklenmesi gerekmektedir. Aksi halde çözelti pH değerinin hızlı değişimi çökmelere ve çözeltide bulanıklığa sebep olmaktadır.

Çizelge 5. 4 YVS kimyasallarının katılım sırası ve miktarları

Katılım Sırası	Kimyasal Madde	g veya ml
0	750 ml Saf Su	-
1	NaCl	7.996
2	$NaHCO_3$	0.350
3	KCl	0.224
4	$K_2HPO_4.3H_2O$	0.228
5	$MgCl_2.6H_2O$	0,305
6	1 M HCl	40 ml
7	$CaCl_2$	0.278
8	Na_2SO_4	0.071
9	$(CH_2OH)_3CNH_2$	6.057
10	1 M HCl	pH ayarlaması için gerekli miktar

5.2.8 Numune Karakterizasyonları

Biyosilika ve ticari silika tozlarının, biyosilika ve ticari silika içeren biyoaktif camların ve cam tozlarının, biyosilika ve ticari silika bazlı biyoaktif camlar ile elde edilen enjekte edilebilir doku destek malzemesi numunelerinin çeşitli karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca bazı karakterizasyon işlemleri enjekte edilebilir doku destek malzemesi numunelerinin YVS içerisindeki davranışlarının incelenmesi için YVS öncesi ve YVS sonrası şeklinde gerçekleştirilmiştir. Numuneler biyolojik özelliklerinin belirlenmesi için 7, 14, 21 ve 28 günlük süreler ile 37°C ortam koşullarında her bir numune için hesaplanmış belirli miktarlardaki YVS çözeltileri içerisinde bekletilmiştir. YVS çalışmaları için 1ml' lik enjektörler içerisinde 37°C' de 5 gün süreyle kurutulan silindirik yapıdaki blok yapılar kullanılmıştır. Numuneler için gereken YVS miktarının belirlenmesi amacıyla aşağıda verilmiş Denklem 5.1 kullanılmıştır. V_s değeri; gereken YVS miktarının

ml olarak değerini, S_a değeri; kullanılan numunenin yüzey alanın mm^2 olarak değerini temsil etmektedir [88].

$$V_s = S_a/10 \quad (5.1)$$

YVS içerisinde kaldıkları süre içerisinde enjekte edilebilir doku destek malzemesi numunelerinin yüzeyinde meydana gelen hidroksiapatit miktarı enjekte edilebilir doku destek malzemesi numunelerinin biyoaktivitesi ile ilişkilidir. Bu durumun gözlemlenebilmesi için doku destek malzemesi numunelerinin FT-IR, ICP, SEM-EDS analizleri gerçekleştirilmiştir.

Aşağıda karakterizasyon işlemleri ve kullanılan analiz cihazları verilmiştir:

•Yoğunluk analizleri; tez kapsamında elde edilen biyoaktif cam numunelerinin yoğunlukları yoğunluk kiti içeren Precisa marka 321 LS 220A SCS model yoğunluk tayin cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca yoğunluk analizleri sonucu elde edilen verilerin anlamlılık düzeyleri statistica programı kullanılarak tek örneklem t-testi (one sample t-test) yardımı ile belirlenmiştir.

•Partikül boyut dağılım analizleri; tez kapsamında tedarik edilen ticari silika, elde edilen biyosilika ve ticari silikalı-biyosilikalı biyoaktif camların partikül boyut dağılımlarının belirlenmesi ve ortalama partikül boyut değerlerinin hesaplanması, 0.2-2000 µm boyut aralığında ve dağıtıcı solüsyonun su olarak belirlendiği şartlarda Malvern marka Hydro 2000MU model Mastersizer cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

•N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon analizleri; tez kapsamında kullanılan ticari silika, elde edilen biyosilika ve biyoaktif cam toz numunelerinin spesifik yüzey alanı, toplam gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı değerlerinin belirlenmesi için Micromeritics marka TriStar II 3020 model N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon cihazı kullanılmıştır. Brunauer–Emmett–Teller (BET) metoduna göre gerçekleştirilen analiz için katı materyal yüzeyinde adsorbe edilen gaz olarak nitrojen gazı seçilmiş, degaz koşulları ise 90°C' de 1 saat, 250°C' de 2 saat olarak belirlenmiştir.

•TG-DSC analizleri; tez kapsamında kullanılan ticari silika, elde edilen biyosilika ve biyoaktif cam toz numunelerin yapılarındaki sıcaklık artışına bağlı değişimlerin gözlemlenmesi için TA Instruments marka SDT Q600 model TGA cihazı kullanılmıştır. 4 mg olarak tartılan ve platin pota içerisine alınan toz numuneler için TG-DSC analizleri, 20°C-850°C sıcaklık aralığında azot atmosferinde 20°C/dakika ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir.

•Reoloji analizleri; tez kapsamında elde edilen enjekte edilebilir doku destek malzemesi numunelerinin akışkanlık davranışlarının incelenmesi ve viskozite değerlerinin belirlenmesi amacıyla Anton Paar marka MCR 302 model Reometre cihazı kullanılmıştır. 25°C ortam sıcaklığında yapılan analizler için 2.5 cm çaplı paralel plakalı prob kullanılmış, plakalar arası boşluk 1 mm olarak ayarlanmış ve analiz modeli olarak rotasyon (döndürme) modeli seçilmiştir. Ayrıca kesme-kayma hızının (γ) bir fonksiyonu olan viskozite (η) değerlerinin ve kesme-kayma gerilmesi (τ) değerlerinin belirlenmesi için analizler kesme hızı kontrol modu altında gerçekleştirilmiştir. Bu mod, kesme-kayma hızı (γ) lineer bir artış gösterecek şekilde 0-1000 s^{-1} aralığında her 1.8 saniyede bir ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir.

Tez kapsamında gerçekleştirilen reoloji testleri, zamandan bağımsız (viskozitenin kayma gerilmesi ve kayma hızına bağlı olarak belirlenmesi) olarak gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle, enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin hangi akışkan tipine uygun olduğunu belirlemek için Ostwald de Waele (Power Law) eşitliği (Denklem 5.2) kullanılmıştır [89]. Statistica programı kullanılarak k (tutarlılık katsayısı-tutarlılık göstergesi) ve n (power law katsayısı-akış göstergesi) değerleri hesaplanmıştır.

$$\tau = k \times \gamma^n \tag{5.2}$$

Ostwald de Waele eşitliğinde yer alan n değeri newton akışkanlardaki sapmanın bir derecesi olarak değerlendirilmektedir. Eğer;

n=1 olur ise Newton akışkan,

n<1 olur ise kesmeyle incelen (shear-thinning) akışkan

n>1 olur ise kesmeyle kalınlaşan (shear-thickening) akışkan

olarak tanımlanır.

•SEM-EDS analizleri; tez kapsamında kullanılan ve elde edilen numunelerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi ve yarı kantitatif olarak elementel içeriklerinin yorumlanması için Zeiss marka EVO LS 10 model SEM görüntüleme cihazı (EDAX marka EDS ünitesi bulunan) kullanılmıştır. Numuneler, görüntüleme öncesinde Emitech marka altın kaplama cihazı kullanılarak altın ile kaplanmıştır. Ayrıca, doku destek malzemelerinin YVS içerisinde inkübasyonu sonucu yüzey morfolojisindeki değişimlerin incelenmesi için SEM-EDS analizinden yararlanılmıştır.

•ICP-OES analizleri; tez kapsamında elde edilen enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin YVS incelemeleri sonrası biyoaktivite davranışlarının incelenmesi amacıyla Shimadzu marka Icpe-9000 model ICP cihazı kullanılmıştır.

•FT-IR analizleri; tez kapsamında kullanılan ticari silika, elde edilen biyosilika ve biyoaktif cam toz numunelerin kimyasal yapıları Shimadzu marka FT-IR cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 650-2000 cm^{-1} dalga boyu aralığında belirlenen yüzde transmittans (%T) değerlerine bağlı olarak, numunelerin yapılarında bulunan bağlar belirlenmiştir. Ayrıca YVS incelemeleri sonrası değişimlerin belirlenmesi için FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir.

•XRD analizleri; tez kapsamında kullanılan ticari silika, elde edilen biyosilika ve biyoaktif cam toz numunelerin amorf-kristal yapılarının, YVS öncesi kristal yapılarının belirlenmesi amacıyla X-Pert Pro Philips PANalytical marka XRD cihazı kullanılarak, ortam şartları 25°C olarak belirlenen CuKα anot tüpünden 40 mA ve 45 kV değerlerinde X-ışınlarının üretilmesiyle 2θ°=5-90 aralığında yapılan tarama ile gerçekleştirilmiştir.

•İstatistiksel analizler; %95 güven aralığındaki standart sapmaların belirlenmesi ve tek örneklem t-testleri, statistica programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 6

DENEYSEL SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRİLMESİ

6.1 Sodyum Silikat Çözeltisinin ICP Analizi

Biyoaktif cam majör bileşeni olan silikanın üretiminde kullanılan ve tez kapsamında pirinç kabuğu külünden elde edilen sodyum silikat çözeltisinin içerisinde bulunan elementlerin ICP-OES analizi sonucu elde edilen değerleri aşağıdaki Çizelge 6.1' de gösterilmektedir. Yıldız Teknik Üniversitesi bünyesinde gerçekleştirilen doktora tezi kapsamında yapılan pirinç kabuğu külü XRF analizleri sonucunda pirinç kabuğu külü yüzde SiO_2 içeriği % 82.71 olarak belirtilmiştir [90]. Elde edilen ICP-OES sonuçları incelendiği zaman, 1 litre sodyum silikat çözeltisinde 32.4 gram silisyum ve 69.4 gram SiO_2 olduğu görülmektedir. Ayrıca 1 litre sodyum silikat çözeltisinde 12.9 gram sodyum ve 34.8 gram Na_2O olduğu görülmektedir. Tez kapsamında üretilen sodyum silikat çözeltisinin modülünün (SiO_2:Na_2O) elde edilen değerler doğrultusunda 2 olduğu belirlenmiştir. Böylece elde edilen sodyum silikat çözeltisinin 2 (SiO_2:Na_2O; 2.85:1 altında ise alkali) modül alkali sodyum silikat çözeltisi olduğu söylenebilir [91].

Çizelge 6. 1 Sodyum silikat çözeltisi element içeriği

	Element içeriği (mg/l)							
	Si	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Al
Na_2SiO_3	32430	12990	51.46	9.504	8.457	4.13	<0.37	168.4

6.2 Biyoaktif Camların Yoğunluk Analizleri

Elde edilen farklı hacimlere sahip boncuk şeklinde olan (öğütme işlemi öncesi) TSC ve BSC numunelerinin yoğunlukları 12 şer kez yoğunluk kiti yardımı ile ölçülmüştür (Çizelge 6.2). TSC ve BSC numunelerinin yoğunluk değeri ortalamaları ile literatürde verilen biyoaktif cam yoğunluk değeri tek örneklem t-testi (one sample t-test) kullanılarak karşılaştırılmış ve numunelerin anlamlılık düzeyleri belirlenmiştir. TSC numunesi için, statistica programı kullanılarak yapılan tek örneklem t-testi sonucu p değeri 0.033, BSC numunesi için ise p değeri 0.000022 olarak bulunmuştur. Her iki p değerinin de 0.05 hata düzeyinden küçük olduğu görülmektedir. Bu durumda elde edilen ortalama yoğunluk değerlerinin (TSC ve BSC için sırasıyla, 2,66 g/cm^3 ve 2.71 g/cm^3) literatürde yer alan biyoaktif cam yoğunluk değeri (2.78 g/cm^3) [92] ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu söylenebilir. Böylece literatür yoğunluk değerlerinden küçük değere sahip numune yoğunluk değerleri kabul edilebilir değerlerdir.

Çizelge 6. 2 Biyoaktif camların yoğunluk ölçüm değerleri

	Yoğunluk değerleri (g/cm^3)	
	BSC	**TSC**
1.Ölçüm	2.747	2.753
2.Ölçüm	2.747	2.756
3.Ölçüm	2.714	2.762
4.Ölçüm	2.700	2.700
5.Ölçüm	2.728	2.249
6.Ölçüm	2.672	2.676
7.Ölçüm	2.703	2.650
8.Ölçüm	2.713	2.731
9.Ölçüm	2.693	2.700
10.Ölçüm	2.661	2.625

Çizelge 6. 2 Biyoaktif camların yoğunluk ölçüm değerleri (devamı)

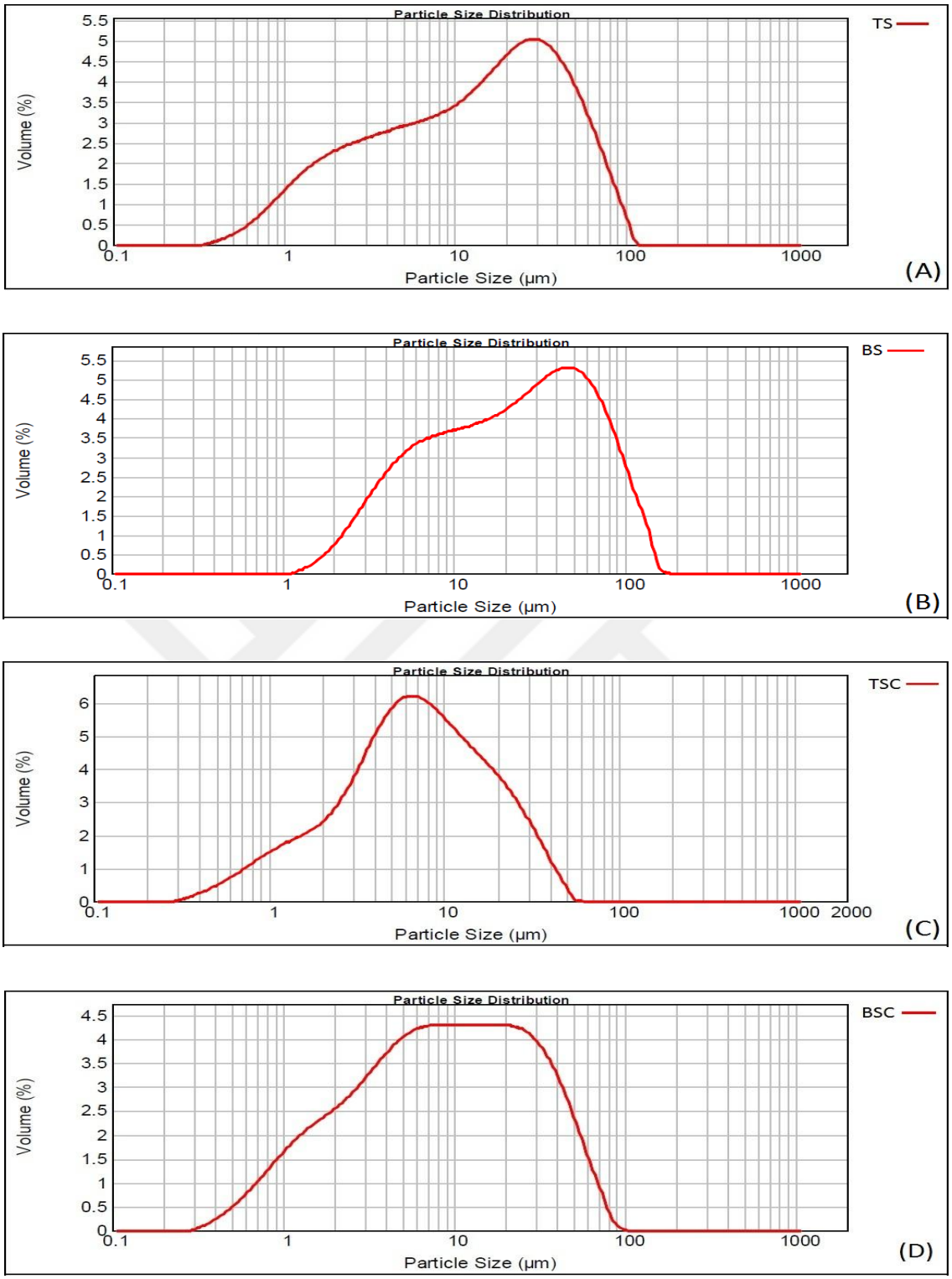
11.Ölçüm	2.722	2.750
12.Ölçüm	2.738	2.735
Ortalama	**2.7078* ± 0.029**	**2.6602* ± 0.152**

* İstatistiksel hata düzeyi p<0.05 olarak belirlenmiştir.

6.3 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların Partikül Boyut Dağılım Analizleri

Ticari olarak tedarik edilen ticari silika ile elde edilen ve öğütülen biyosilika ve ticari silikalı biyoaktif cam-biyosilikalı biyoaktif cam numunelerinin partikül boyut dağılım analizi grafikleri Şekil 6.1' de verilmiştir. Şekil 6.1 (A)' da görüldüğü üzere TS numunelerinin parçacık boyutları 100 µm altındadır ve partikül boyut dağılım analizi sonucunda ortalama parçacık boyutu 21 µm olarak belirlenmiştir. BS numunelerinin öğütülmesi sonucu ortalama parçacık boyutu değerinin 33 µm olduğu, BS toz numunelerinin parçacık boyut dağılımının 1-120 µm arasında olduğu belirlenmiştir (Şekil 6.1 (B)). Analiz sonuç raporları incelendiğinde bu dağılımın %78' inin 50 µm altındaki parçacıklardan oluştuğu görülmüştür. Öğütülmüş TSC numunelerinin ortalama parçacık boyut değeri 10 µm olarak, numunelerin parçacık boyutlarının ise 0.3-52 µm arasında bir dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 6.1 (C)). Ayrıca BSC numunelerinin ortalama parçacık boyut değeri 15 µm olarak, numunelerin parçacık boyutlarının ise 0.3-70 µm arasında bir dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 6.1 (D)).

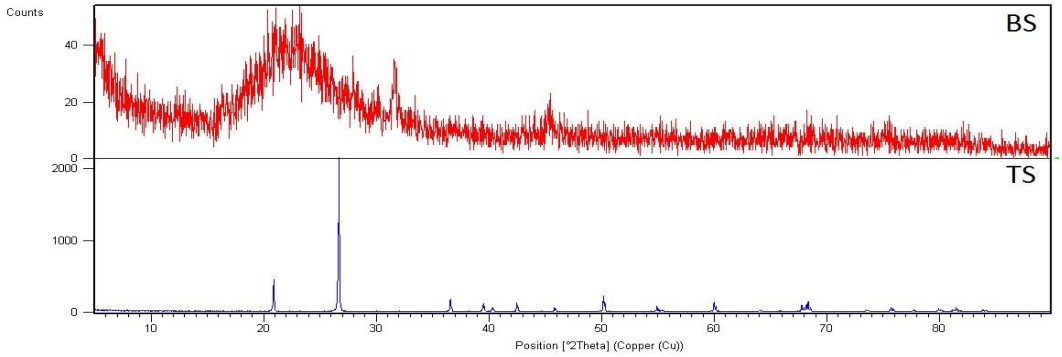
Bu sonuçlar ışığında, öğütme işleminin istenilen şekilde başarıyla gerçekleştirildiği ve numunelerin istenilen boyutlarda (ortalama parikül boyutu <50 µm) öğütülebildiği söylenebilir.



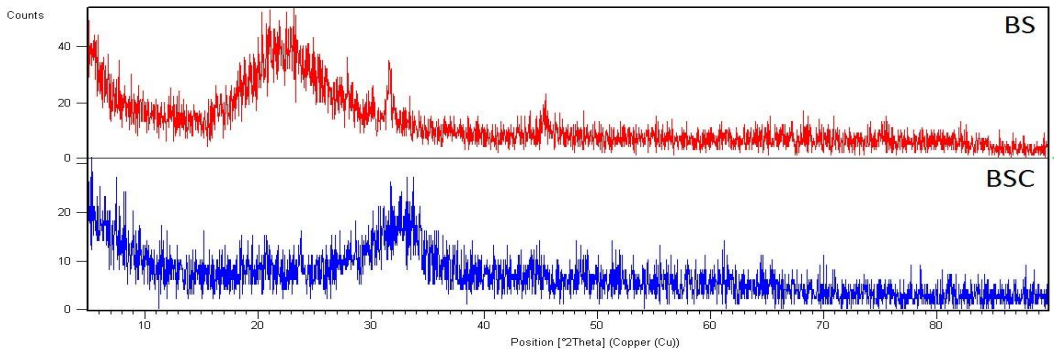
Şekil 6. 1 Partikül boyutu dağılım grafikleri; (A): Ticari silika (TS), (B): Öğütülmüş biyosilika (BS), (C): Öğütülmüş ticari silikalı biyoaktif cam (TSC), (D): Öğütülmüş biyosilikalı biyoaktif cam (BSC)

6.4 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların XRD Analizleri

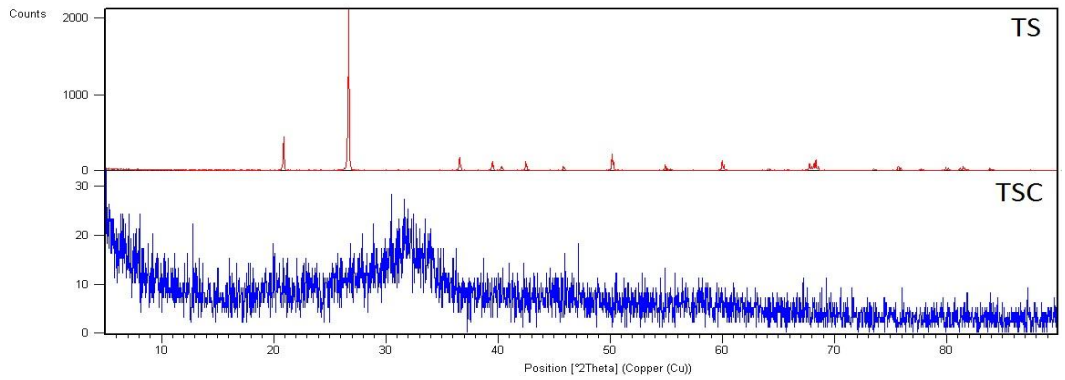
TS, BS, TSC ve BSC numunelerinin amorf-kristal yapılarının belirlenmesi için yapılan XRD analiz sonuçları ve karşılaştırmalı XRD grafikleri Şekil 6.2-Şekil 6.5 arasında verilmiştir. Şekil 6.2 ve Şekil 6.4' te yer alan TS numunelerinin XRD grafiklerinde görüldüğü üzere, ticari olarak TS numuneleri 2θ°=26-27 aralığında yüksek bir kristal SiO_2 pikine sahiptir, beklenildiği üzere bu pik International Centre for Diffraction Data (ICDD) veribankasındaki 01-085-0796 referans numaralı quartz SiO_2 pikini temsil etmektedir. Şekil 6.2 ve Şekil 6.3' te yer alan BS numunelerinin XRD grafiklerinde ise tez kapsamında üretilen BS numunelerinin kristal bir yapıya sahip olmadığı, tam tersine amorf yapılı olduğu görülmektedir. Ayrıca tez kapsamında yüksek sıcaklıkta ergitme yöntemi ile üretilen TSC ve BSC numunelerinin de yapısal olarak amorf özellikte olduğu XRD grafiklerinde açık bir şekilde görülmektedir.



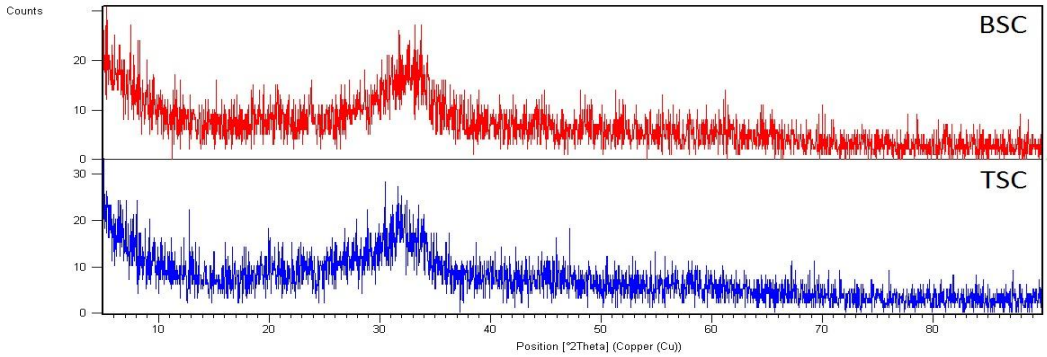
Şekil 6. 2 Ticari silika (TS) ve biyosilika (BS) XRD grafiklerinin karşılaştırılması



Şekil 6. 3 Biyosilika (BS) ve biyosilikalı biyoaktif camların (BSC) XRD grafiklerinin karşılaştırılması



Şekil 6. 4 Ticari silika (TS) ve ticari silikalı biyoaktif camların (TSC) XRD grafiklerinin karşılaştırılması



Şekil 6. 5 Biyosilikalı biyoaktif camların (BSC) ve ticari silikalı biyoaktif camların (TSC) XRD grafiklerinin karşılaştırılması

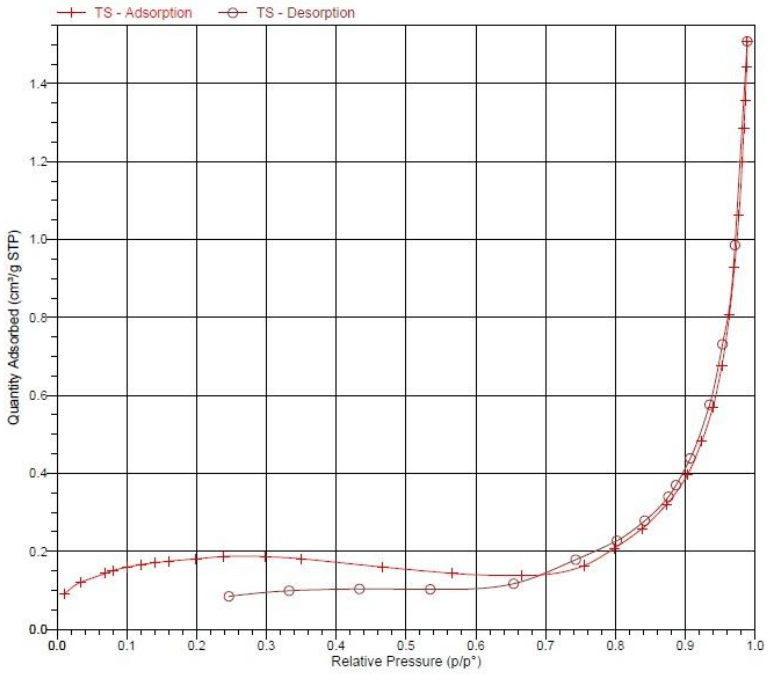
6.5 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların Brunauer–Emmett–Teller (BET) Nitrojen (N_2) Adsorpsiyon Analizleri

Şekil 6.6 -Şekil 6.9 arasında yer alan grafikler, TS-BS-TSC-BSC toz numunelerin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermlerini göstermektedir. Görüldüğü üzere, tüm numunelerin adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri birbirleri ile çakışmaktadır. IUPAC komitesi sınıflandırmalarına göre; TS, TSC ve BSC numuneleri düşük enerjili adsorpsiyon davranışında Tip II izotermine uygun bir eğriye sahip iken BS numunesi Tip IV izotermine uygun bir eğriye sahiptir. Toz numunelerinin BET teorisi ile gerçekleştirilen N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon analizleri sonucundaki spesifik yüzey alanı, toplam gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı sayısal verileri Çizelge 6.3' te verilmiştir. Elde edilen veriler ışığında, tez kapsamında üretilen BS numunelerinin diğer numunelere göre oldukça yüksek yüzey alanına ve gözenek hacmine sahip olduğu

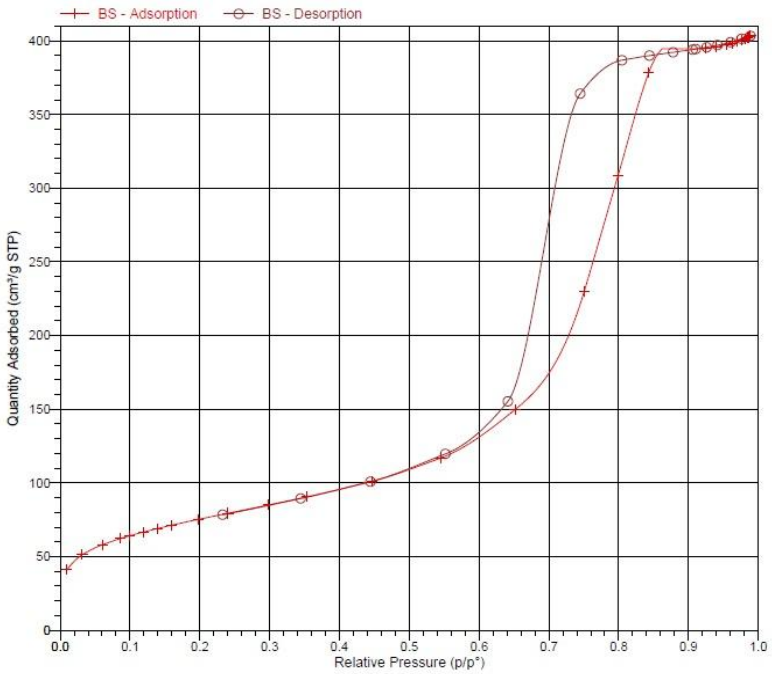
anlaşılmaktadır. Ayrıca bütün toz numunelerinin gözenek çaplarının 2-50 nm arasında olduğu görülmektedir. Böylece numunelerin mezogözenekli yapıya sahip olduğu söylenebilir (IUPAC komitesinin belirlemiş olduğu tanım gereğince; gözenek çapı 2-50 nm arasında ise gözenekler mezogözenek olarak adlandırılır).

Çizelge 6. 3 Ticari silika (TS), Biyosilika (BS), Ticari silikalı Biyoaktif cam (TSC), Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) toz numunelerinin spesifik yüzey alanı, toplam gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı sayısal verileri

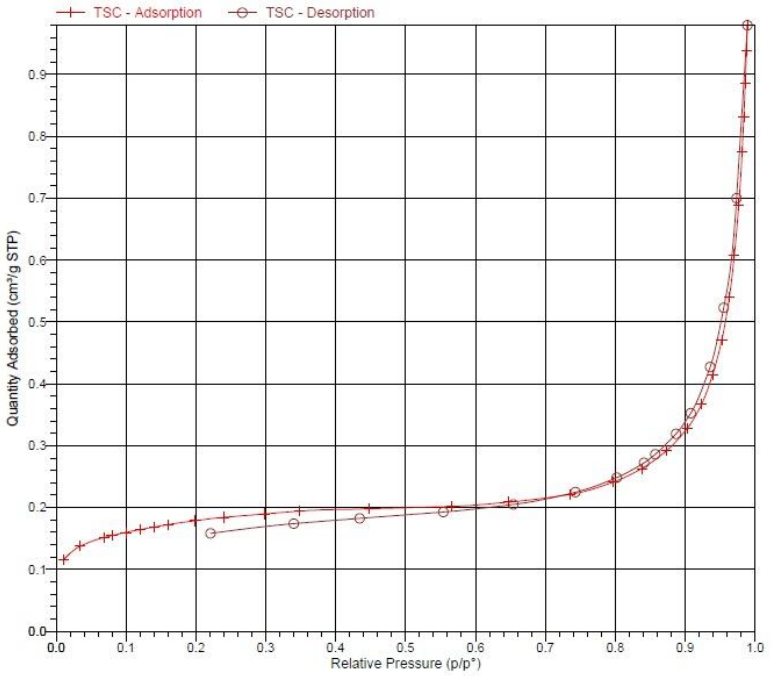
	Spesifik yüzey alanı (m^2/g)	**Toplam gözenek hacmi (cm^3/g)**	**Ortalama gözenek çapı (nm)**
TS	0.6	0.0006	4.1
BS	265.88	0.610	9.2
TSC	0.5833	0.0005	3.4
BSC	0.7347	0.0008	4.5



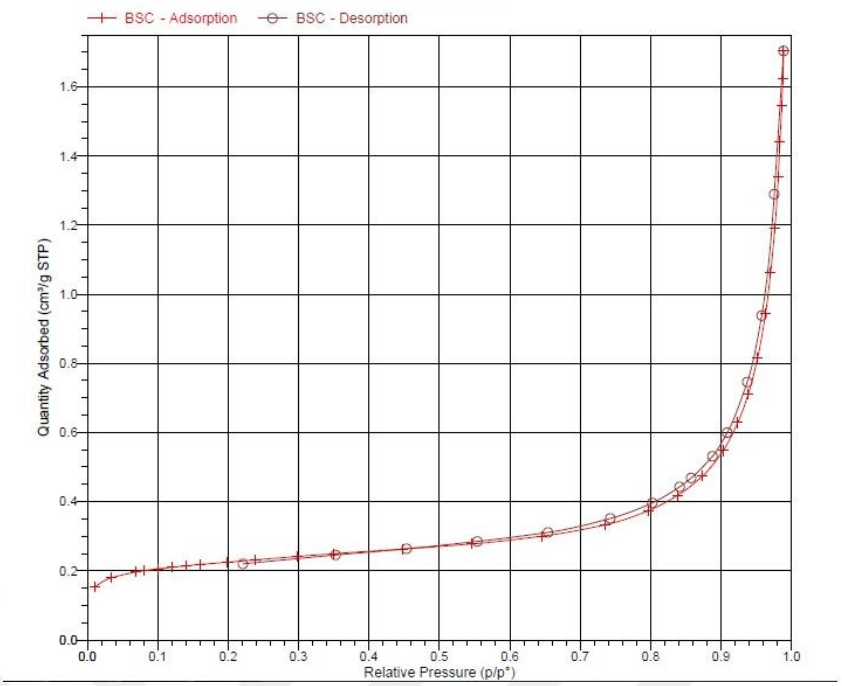
Şekil 6. 6 Ticari silika (TS) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi



Şekil 6. 7 Biyosilika (BS) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi



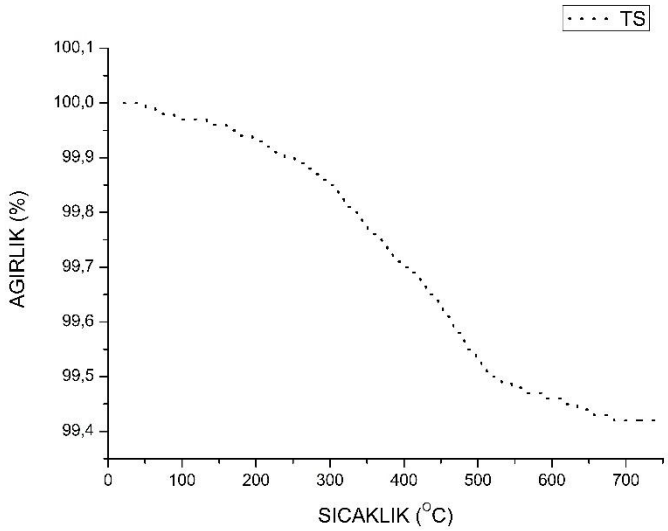
Şekil 6. 8 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi



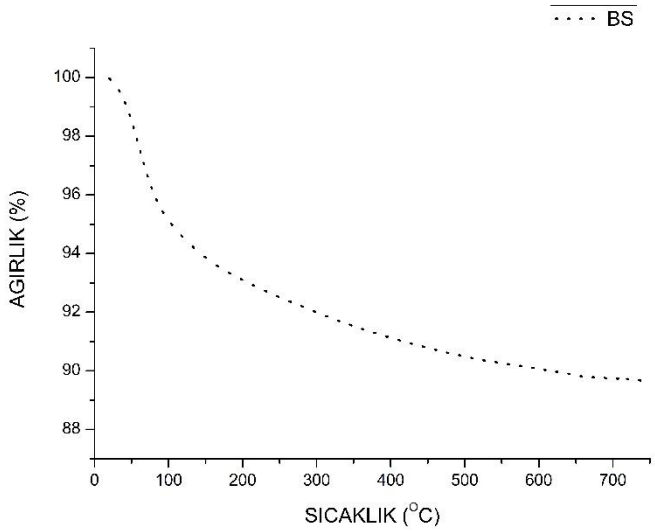
Şekil 6. 9 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) toz numunesinin N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi

6.6 Ticari Silikaların ve Biyosilikaların TG Analizleri ve Biyoaktif Camların DSC Analizleri

Şekil 6.10 ve Şekil 6.11' de TS ve BS toz numunelerinin termogravimetrik analiz sonucu termogramları yer almaktadır. TS toz numunesi için sıcaklık artışına bağlı olarak % ağırlık kaybı dört ayrı basamakta (46-257°C arasında, 340-462°C arasında, 470-625°C arasında, 630-800°C arasında) gerçekleşirken BS toz numunesi için sıcaklık artışına bağlı % ağırlık kaybı iki basamakta (20-90°C arasında ve 100-800°C arasında) gerçekleşmektedir. BS toz numunesinin ani ağırlık azalması fiziksel olarak adsorplanmış suyun silika yüzeyinden uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. Sonrasında gerçekleşen yavaş ve düzenli azalma ise silanol gruplarının yavaş kondenzasyonu sonucu ortaya çıkan su moleküllerinin uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. TS toz numunesinde, BS toz numunesinde gerçekleşen su moleküllerinin uzaklaşması 4 farklı sıcaklık aralığında gerçekleşmiştir. Her iki numunenin ağırlık azalması 800 °C sonrasında durmuş ve termogram doğrusal (sabit) duruma gelmiştir.



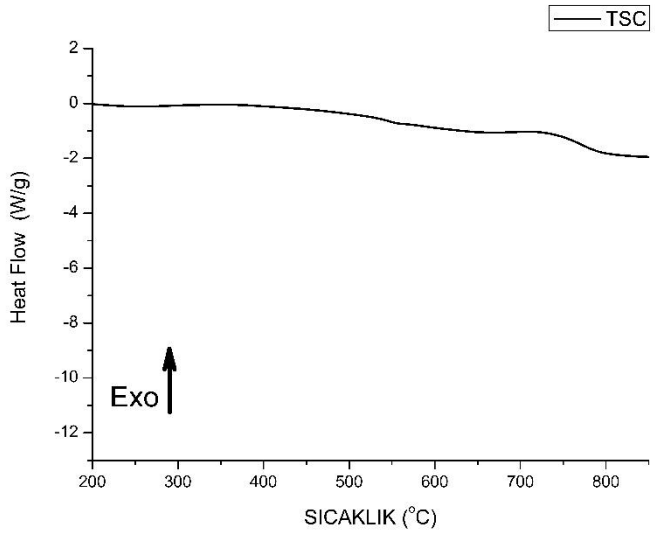
Şekil 6. 10 Ticari silika (TS) toz numunesinin TG analizi sonucu elde edilen termogram eğrisi



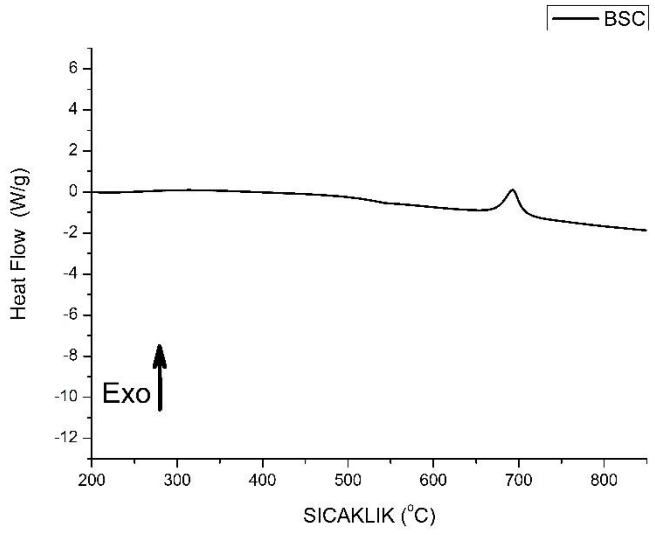
Şekil 6. 11 Biyosilika (BS) toz numunesinin TG analizi sonucu elde edilen termogram eğrisi

TSC ve BSC toz numunelerinin DSC analizi sonucu elde edilen DSC eğrileri Şekil 6.12 ve Şekil 6.13' te verilmiştir. DSC eğrileri incelendiği zaman camsı geçiş sıcaklığını (Tg) belirten endotermik küçük pikler TSC ve BSC toz numuneleri için sırasıyla 552 °C ve 541 °C sıcaklıklarında görülmektedir. Ayrıca kristallenme sıcaklığını (Tc) belirten ekzotermik

pikler ise, TSC ve BSC toz numuneleri için sırasıyla 717 °C ve 691 °C sıcaklıklarında görülmektedir.



Şekil 6. 12 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) toz numunesinin DSC analizi sonucu elde edilen DSC eğrisi

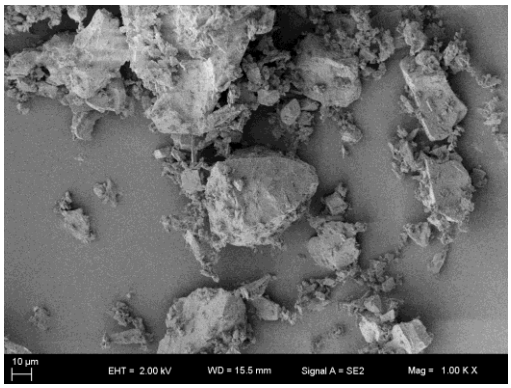


Şekil 6. 13 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) toz numunesinin DSC analizi sonucu elde edilen DSC eğrisi

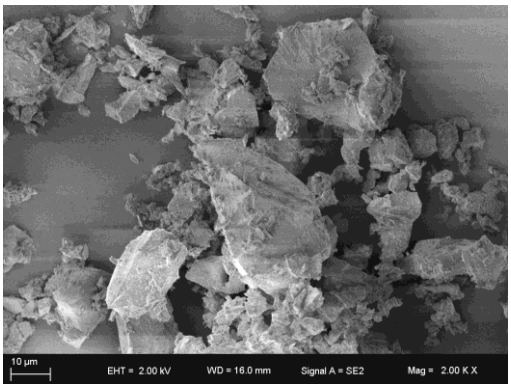
6.7 Ticari Silika-Biyosilika ve Biyoaktif Camların SEM-EDS Analizleri

Şekil 6.14-Şekil 6.17 arasında tez kapsamında tedarik edilmiş TS numunesinin ve tez kapsamında üretilmiş BS, TSC, BSC toz numunelerinin farklı büyütme değerlerinde (1000X, 2000X, 3500X, 5000X) SEM görüntüleri ve EDS grafikleri yer almaktadır. SEM görüntüleri incelendiği zaman, numune partiküllerinin belirli bir şekil ve boyuta sahip olmadığı görülmektedir. Partikül boyutu dağılım analizlerinde bulunan sonuçlarla paralel olarak toz numune partiküllerinin belirli bir aralıkta dağılım gösteren farklı boyutlarda parçacıklara sahip olduğu söylenebilir.

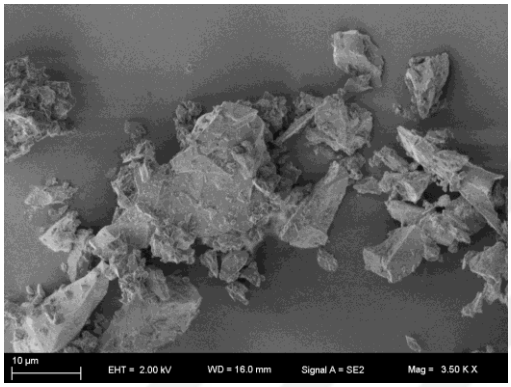
TS ve BS numunelerinin yarı kantitatif EDS analizleri sonucu elde edilen grafikler incelendiği zaman, numune yapılarının sadece Si ve O elementlerinden oluştuğu açık bir şekilde görülmektedir. Böylece tez kapsamında elde edilen BS numunelerinin arzu edildiği (Saf SiO_2) gibi üretilebildikleri söylenebilir. Diğer bir yandan TSC ve BSC numunelerinin yarı kantitatif EDS analizleri sonucu elde edilen grafikler incelendiği zaman, numune yapılarının Si, O, Na, Ca ve P elementlerinden oluştuğu görülmektedir. Ergitme yöntemi ile üretilmiş olan TSC ve BSC biyoaktif cam numunelerinin istenilen kompozisyon içeriğinde başarılı bir şekilde elde edildikleri söylenebilir. EDS analizleri, bütün numuneler için numune yüzeyindeki üç farklı noktada gerçekleştirilmiştir. Tüm numuneler için yapılan üç nokta analizleri birbirleri ile benzer sonuçlar vermiştir. Bu nedenle her numune için bir adet EDS grafiği sonuçlar içerisinde verilmiştir.



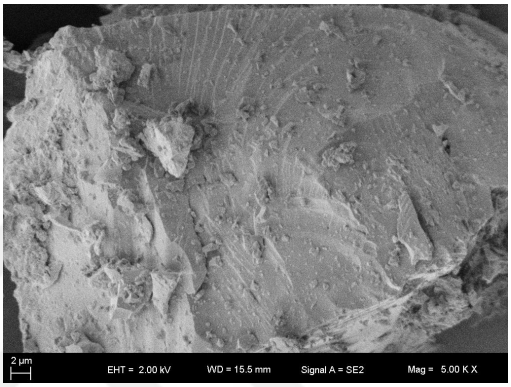
(A)



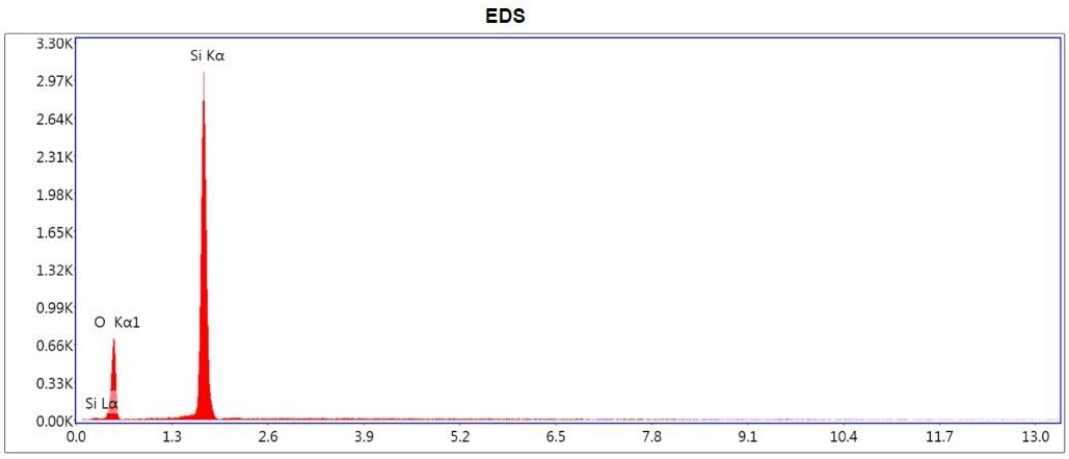
(B)



(C)

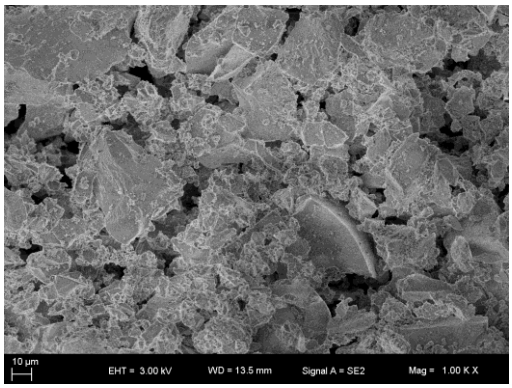


(D)

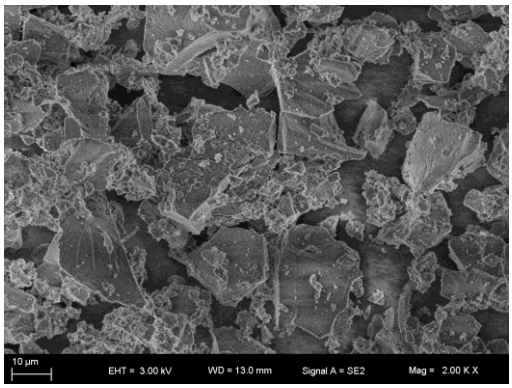


(E)

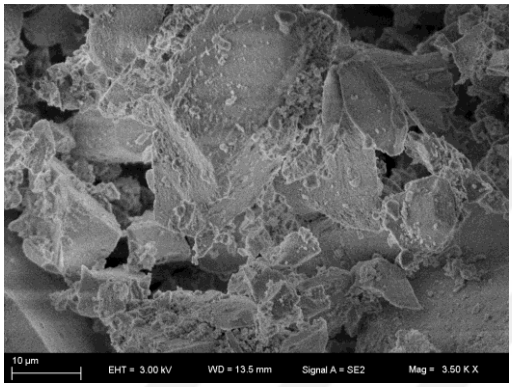
Şekil 6. 14 Ticari silika (TS) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, TS numunesinin EDS grafiği (E)



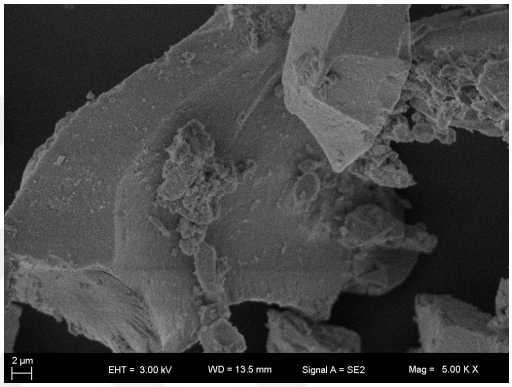
(A)



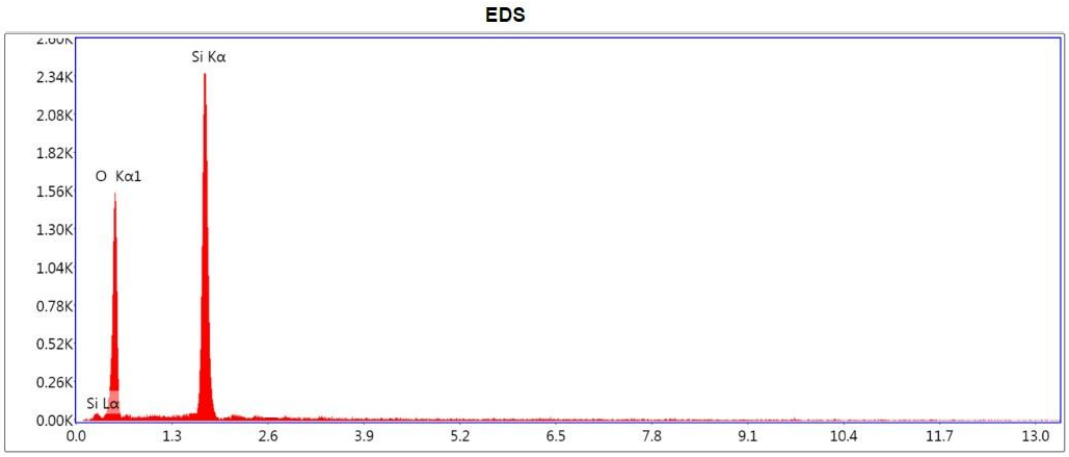
(B)



(C)

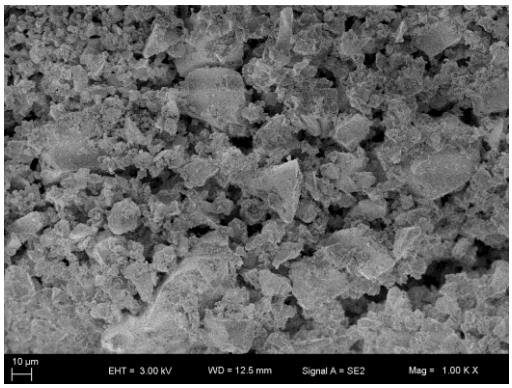


(D)

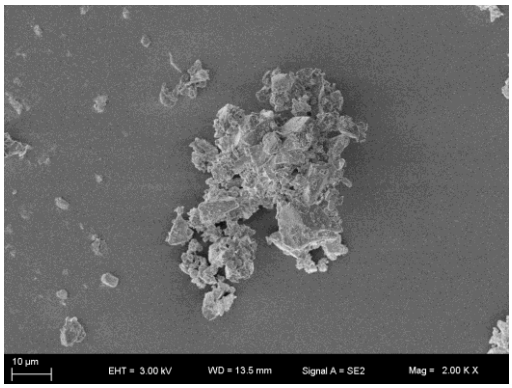


(E)

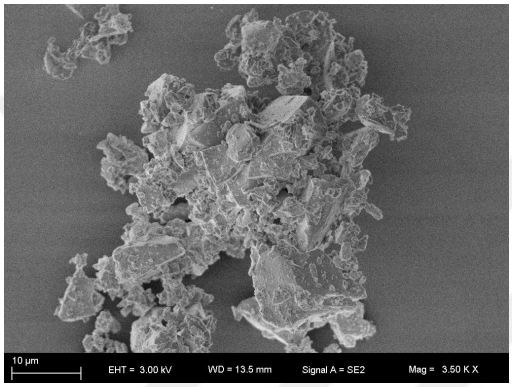
Şekil 6. 15 Biyosilika (BS) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, BS numunesinin EDS grafiği (E)



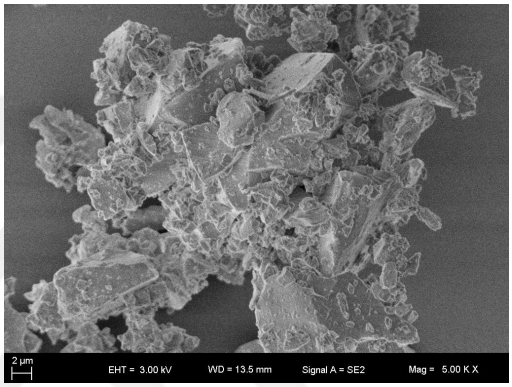
(A)



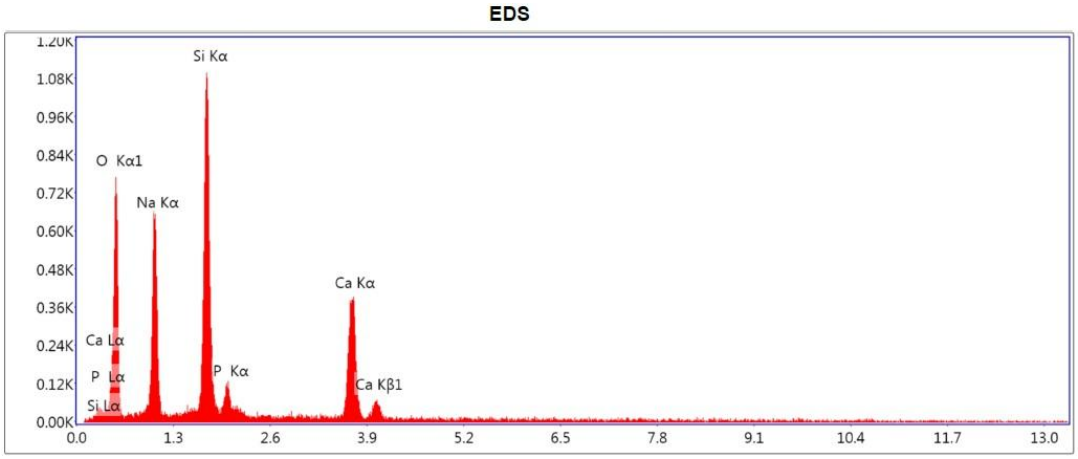
(B)



(C)

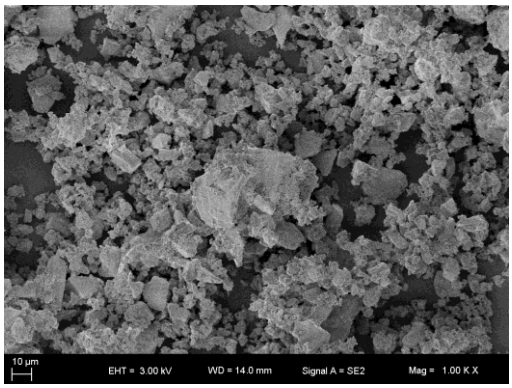


(D)

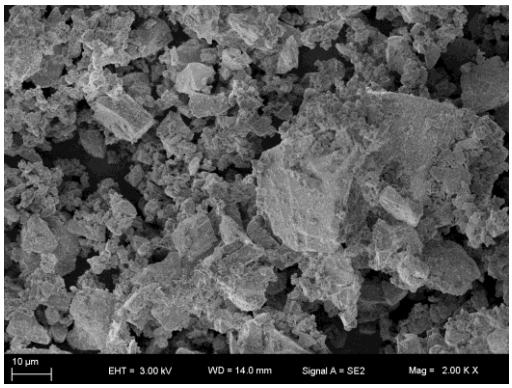


(E)

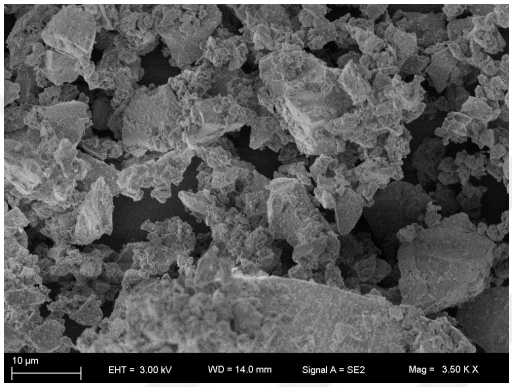
Şekil 6. 16 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, TSC numunesinin EDS grafiği (E)



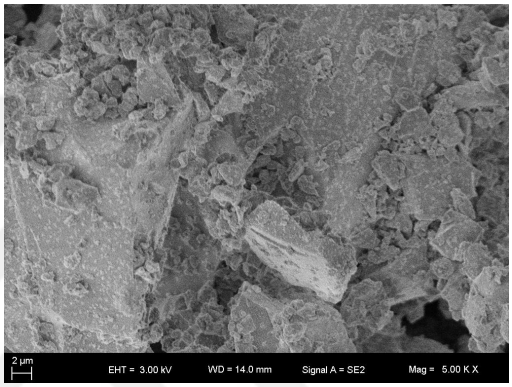
(A)



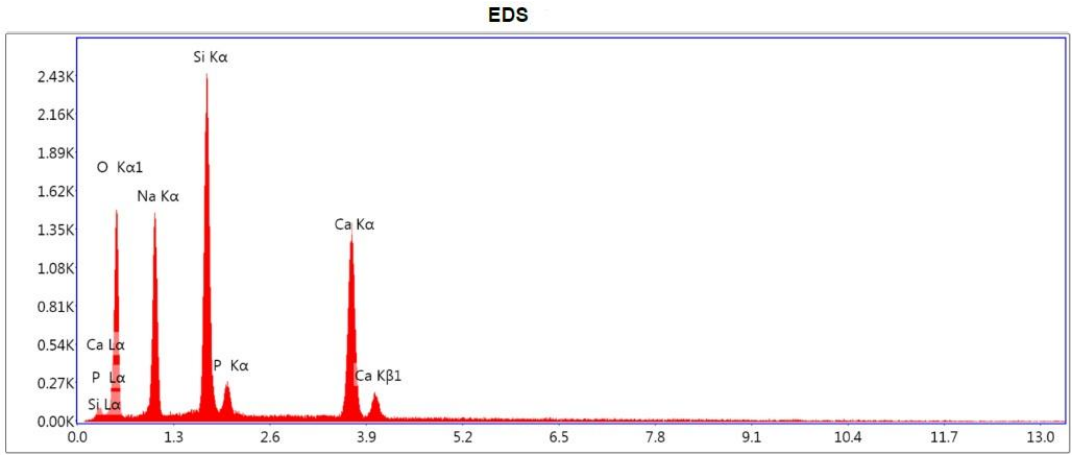
(B)



(C)



(D)

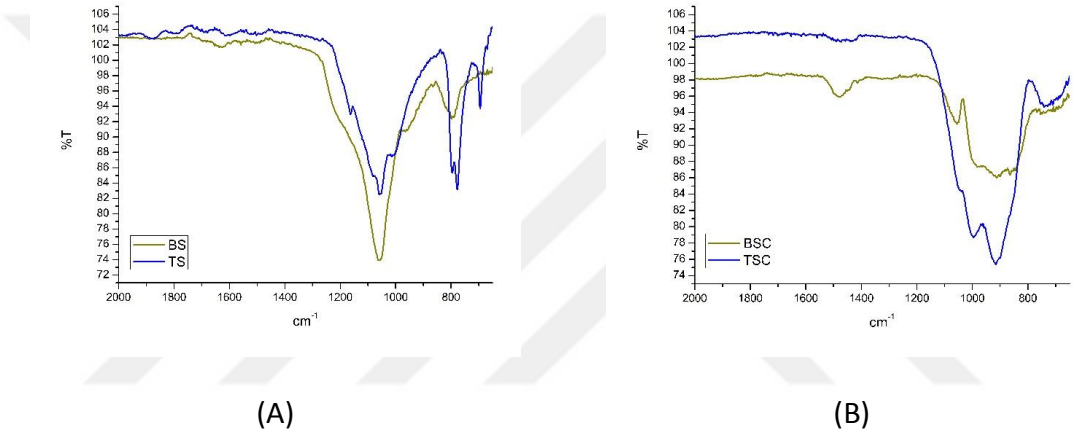


(E)

Şekil 6. 17 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) numunesinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri;(A):1000X, (B):2000X, (C):3500X, (D):5000X, BSC numunesinin EDS grafiği (E)

6.8 FT-IR Analizleri

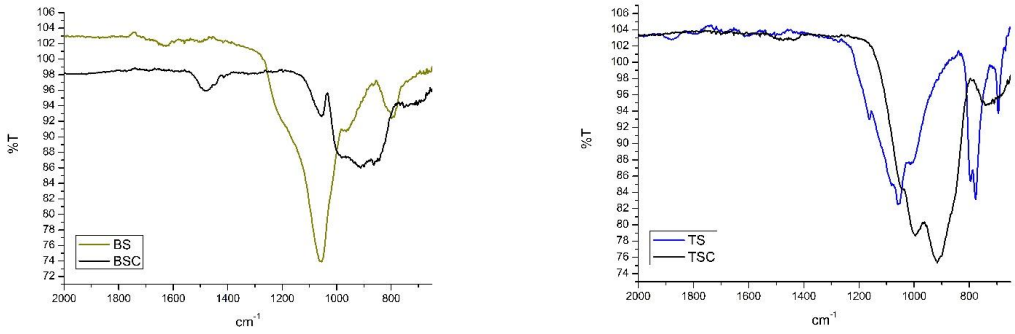
Ticari silika ve biyosilika, ticari silikalı biyoaktif cam ve biyosilikalı biyoaktif cam numunelerinin karşılaştırmalı FT-IR grafikleri Şekil 6.18-6.19' da verilmiştir. Şekil 6.18(A)' daki ticari silikanın ve biyosilikanın karşılaştırmalı FT-IR spektrumları incelendiğinde, TS ve BS yapısında bulunan asimetrik Si-O-Si gerilme titreşimleri 1000-1190 cm^{-1} dalga boyları arasında görülmektedir. 750-800 cm^{-1} dalga boyları arasında görülen pikler ise simetrik Si-O-Si gerilme titreşimlerini temsil etmektedir. Ayrıca 900-1000 cm^{-1} ve 650-750 cm^{-1} dalga boyları arasında bulunan pikler ise silanol (Si-OH) gruplarını göstermektedir.



(A) (B)

Şekil 6. 18 Ticari silika ve biyosilika FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), ticari silikalı ve biyosilikalı biyoaktif camların FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B)

Şekil 6.18(B), Şekil 6.19' daki karşılaştırmalı FT-IR spektrumları incelendiğinde biyoaktif camların (BSC ve TSC) yapısında bulunan ve modifiye silika ağ yapısının bir kanıtı olan Si-O-Si grupları 900-930 cm^{-1} dalga boyları arasında bulunan pik varlığı ile anlaşılmaktadır. $(SiO_4)^{-4}$ tetrahedron yapısında iki adet köprü yapmamış oksijen içeren Si-O gruplarının varlığını 950-1090 cm^{-1} dalga boyları arasında görülen pik göstermektedir. Ayrıca 850 cm^{-1} dalga boyundaki pik, biyosilikalı biyoaktif cam numunelerinde bulunan Si-OH gruplarını temsil etmektedir.

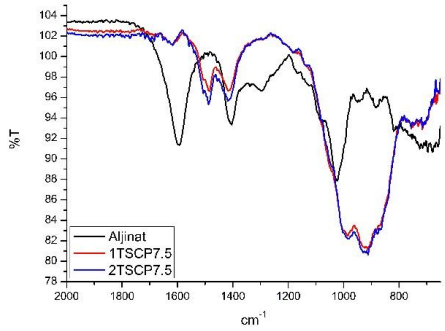


(A) (B)

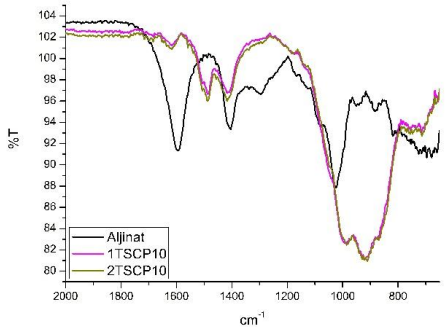
Şekil 6. 19 Biyosilika ve biyosilikalı biyoaktif cam FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), ticari silika ve ticari silikalı biyoaktif cam FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B)

Şekil 6.20-Şekil 6.23 arasında bulunan FT-IR grafikleri aljinat biyopolimeri, BSC-TSC, BSCP7.5-BSCP10 ve TSCP7.5-TSCP10 örneklerinin birbirleri arasındaki karşılaştırmalarını içermektedir. Öncelikle, 1600-1650 cm^{-1} dalga boyları arasında bulunan pik varlığı aljinat biyopolimerinin yapısında bulunan asimetrik kaboksilat tuz iyonları gerilmesini (COO^-) ve 1400-1500 cm^{-1} dalga boyları arasında bulunan piklerin varlığı ise aljinat biyopolimerinin yapısında bulunan simetrik kaboksilat tuz iyonları gerilmesini (COO^-) göstermektedir. 1100-1200 cm^{-1} dalga boyları arasında bulunan piklerin varlığı aljinat biyopolimerinin yapısında bulunan C-C, C-O ve C-O-C gerilmelerini temsil etmektedir. Ayrıca 700-790 cm^{-1} dalga boyları arasında bulunan pik C-C gerilme titreşimlerini göstermektedir.

Özellikle BSCP7.5-BSCP10 ve TSCP7.5-TSCP10 örneklerinin bulunduğu FT-IR grafiklerinin aljinat ve biyoaktif cam karşılaştırmaları incelendiğinde aljinat biyopolimerinin varlığını temsil eden pikler ile biyoaktif cam kimyasal bağ yapısını gösteren piklerin aynı grafikler üzerinde yer aldığı gözlemlenmektedir. Bu durum, hem biyosilikalı camlar kullanılarak hem de ticari silikalı camlar kullanılarak hazırlanan polimer-biyoaktif cam kompozit yapısının başarıyla oluşturulduğunu kanıtlamaktadır.

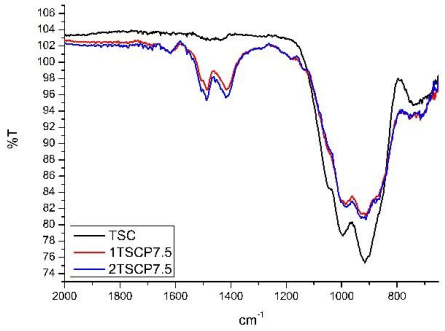


(A)

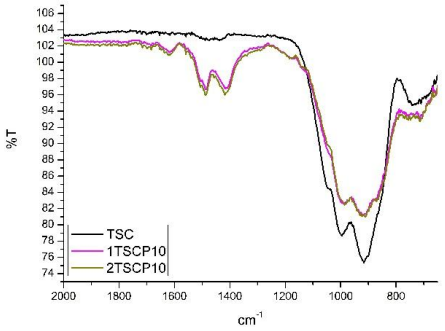


(B)

Şekil 6. 20 Aljinat, 1TSCP7.5-2TSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), Aljinat, 1TSCP10-2TSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarıında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B)

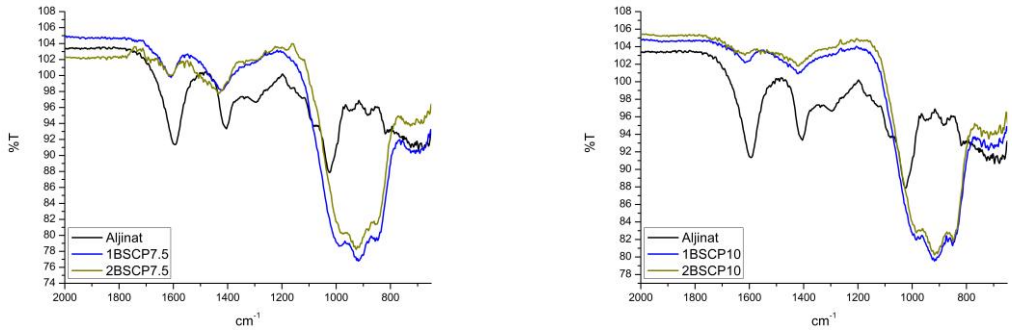


(A)



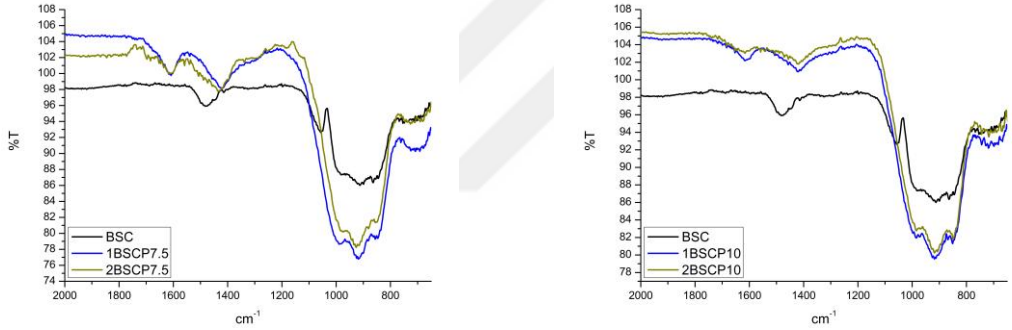
(B)

Şekil 6. 21 TSC, 1TSCP7.5-2TSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), TSC, 1TSCP10-2TSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarıında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B)



(A) (B)

Şekil 6. 22 Aljinat, 1BSCP7.5-2BSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), Aljinat, 1BSCP10-2BSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B)



(A) (B)

Şekil 6. 23 BSC, 1BSCP7.5-2BSCP7.5 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (A), BSC, 1BSCP10-2BSCP10 (1:1 ve 2:1 oranlarında; biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemeleri) FT-IR grafiklerinin karşılaştırılması (B)

6.9 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin Reoloji Analizleri

Biyoaktif cam karıştırılmamış %7.5 ve %10 Aljinat konsantrasyonuna sahip çözeltiler ve farklı oranlarda hazırlanan TSCP-BSCP numuneleri için rotasyon (döndürme) modeli kullanılarak gerçekleştirilmiş olan reoloji analizleri sonucu elde edilen kayma gerilmesi-kayma hızı, viskozite-kayma hızı eğrileri, karşılaştırmalı grafikler halinde Şekil 6.24-Şekil

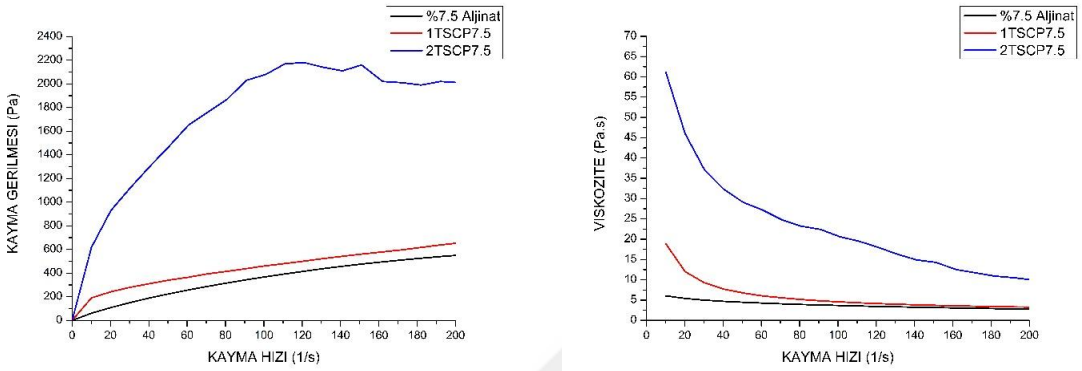
6.35 arasında verilmiştir. Bütün doku destek malzemesi numuneleri 200 s^{-1} kayma hızı değerinin üzerinde bozunma davranışı sergiledikleri için grafikler 0-200 s^{-1} kayma hızı arasında çizilmiştir.

Ticari silikalı biyoaktif cam içeren enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin (TSCP) kayma gerilmesi-kayma hızı, viskozite-kayma hızı eğrilerinin yer aldığı Şekil 6.24 ve Şekil 6.25 incelendiği zaman, %7.5 aljinat çözeltisi ve %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanan doku destek malzemelerinde ticari silikalı biyoaktif cam içeriği arttıkça kayma gerilmesinin (kayma hızına bağlı olarak) ve viskozitenin arttığı açık bir şekilde görülmektedir. Ek olarak aynı grafiklerde kayma hızının artışına bağlı olarak kayma gerilmesinin de arttığı rahatlıkla söylenebilir. Ayrıca Şekil 6.24(B) ve Şekil 6.25(B)' de yer alan viskozite-kayma hızı grafikleri doğrultusunda numunelerin viskozitelerinin kayma hızının artışına bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Bu durum, 2TSCP10 numunesi haricindeki diğer numunelerin akışkan ve enjekte edilebilir bir yapıya sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Diğer bir yandan Şekil 6.26 ve Şekil 6.27' de yer alan farklı konsantrasyonlarda aljinat çözeltisi ile aynı oranda ticari silikalı biyoaktif cam içeren numunelerin karşılaştırmalı grafikleri incelendiği zaman, 1:1 (g:ml) oranlarında ticari silikalı biyoaktif cam-%7.5 aljinat veya ticari silikalı biyoaktif cam-%10 aljinat çözeltisi ile hazırlanan doku destek malzemelerinde (1TSCP7.5 ve 1TSCP10) sabit biyoaktif cam içeriğine karşın aljinat konsantrasyonu arttıkça viskozitenin arttığı belirlenmiştir. Aynı şekilde 2:1 (g:ml) oranlarında ticari silikalı biyoaktif cam-%7.5 aljinat veya ticari silikalı biyoaktif cam-%10 aljinat çözeltisi ile hazırlanan doku destek malzemeleri (2TSCP7.5 ve 2TSCP10) için de benzer durum söz konusudur.

Ayrıca 2:1 (g:ml) oranlarında hazırlanan TSCP doku destek malzemeleri için iki farklı durumu ortaya çıkarmıştır. Bu durumlar aşağıda maddeler olarak verilmiştir;

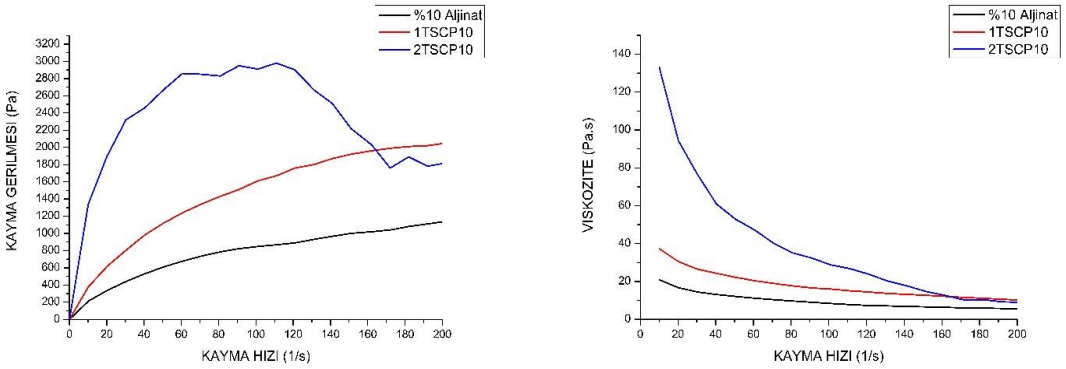
- 1. durum: %7.5 aljinat ile 2:1 (g:ml) oranında hazırlanan kompozisyon yapı (2TSCP7.5), beklenilenin aksine %10 aljinat çözeltisinden daha yüksek viskozite değerlerine sahiptir.
- 2. durum: 2:1 (g:ml) oranında her iki konsantrasyondaki aljinat çözeltisi ile hazırlanan kompozisyon yapılar (2TSCP7.5 ve 2TSCP10) ortam şartlarında hızlı bir donma davranışı sergilemektedir. Kayma gerilmesi-kayma hızı grafiklerinde

yer alan 2TSCP7.5 ve 2TSCP10 numunelerinin eğrilerindeki belirli bir kayma hızından sonraki azalma numunelerin donma davranışından dolayı gerçekleşmektedir.



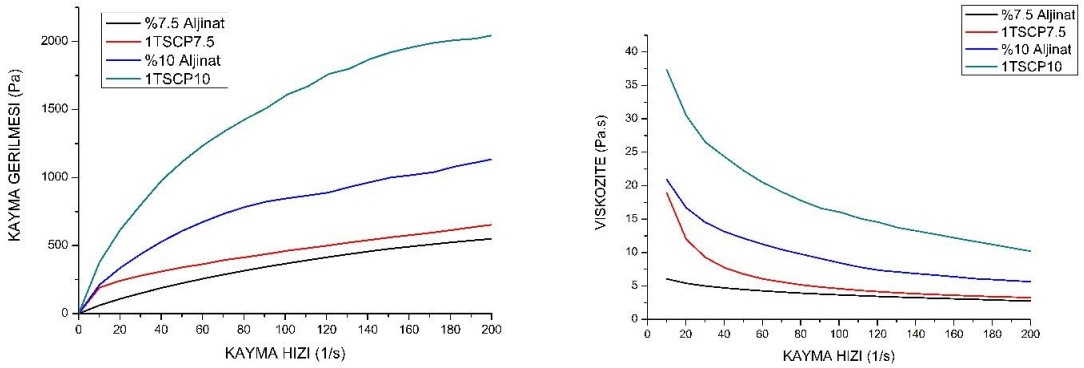
(A) (B)

Şekil 6. 24 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-2TSCP7.5 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-2TSCP7.5 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri



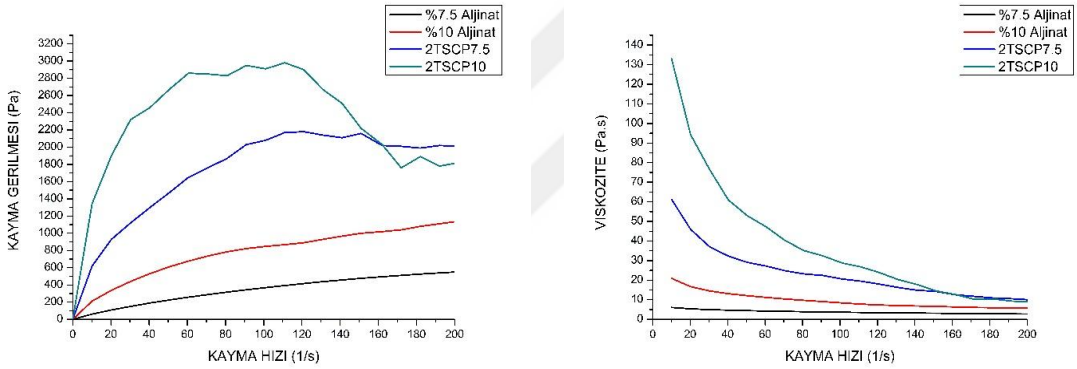
(A) (B)

Şekil 6. 25 (A): %10 aljinat çözeltisi-1TSCP10-2TSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %10 aljinat çözeltisi-1TSCP10-2TSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri



(A) (B)

Şekil 6. 26 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-1TSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1TSCP7.5-1TSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri

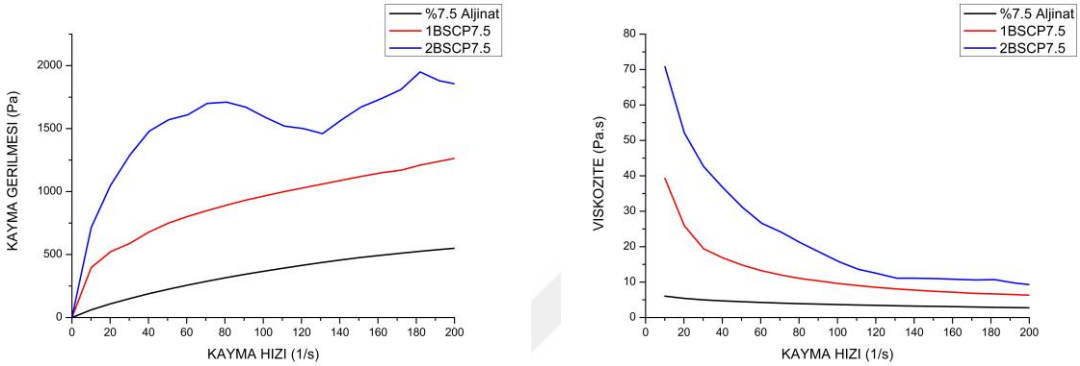


(A) (B)

Şekil 6. 27 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2TSCP7.5-2TSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2TSCP7.5-2TSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri

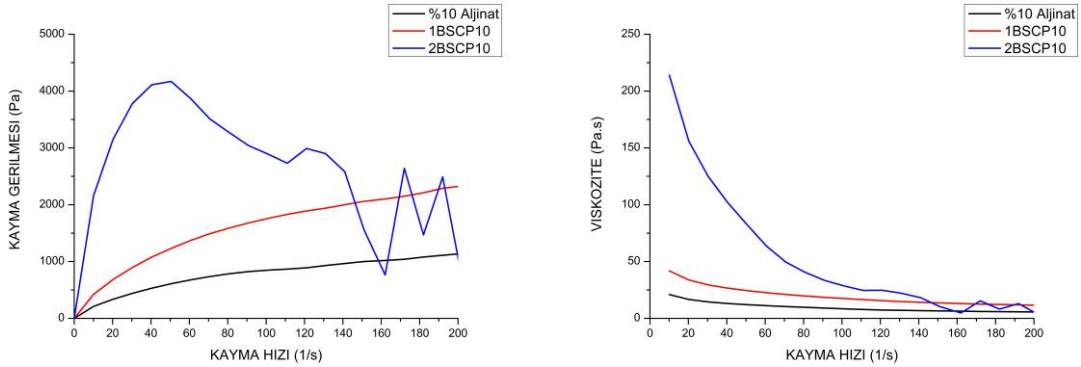
Biyosilikalı biyoaktif cam içeren enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin (BSCP) kayma gerilmesi-kayma hızı, viskozite-kayma hızı eğrilerinin yer aldığı Şekil 6.28 ve Şekil 6.31 incelendiği zaman, TSCP numunelerinde olduğu gibi aljinat konsantrasyonunun ve biyosilikalı biyoaktif cam içeriğinin artmasına bağlı olarak kayma gerilmesi (kayma hızına bağlı olarak) ve viskozitedeki artış açık bir şekilde görülmektedir. Ayrıca Şekil 6.28(B) ve Şekil 6.29(B)' de yer alan viskozite-kayma hızı grafikleri doğrultusunda BSCP numunelerinin viskozite değerlerinin kayma hızının artışına bağlı olarak azaldığı

görülmektedir. Bu durum, 2BSCP10 numunesi haricindeki diğer numunelerin akışkan ve enjekte edilebilir bir yapıya sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Ek olarak TSCP numunelerinde olduğu gibi BSCP numunelerinde de ortam şartlarında hızlı bir donma davranışı gözlemlenmiştir. Bu durum, TSCP numunelerinde olduğu gibi 2:1 oranlı BSCP numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı grafiklerine yansımıştır.



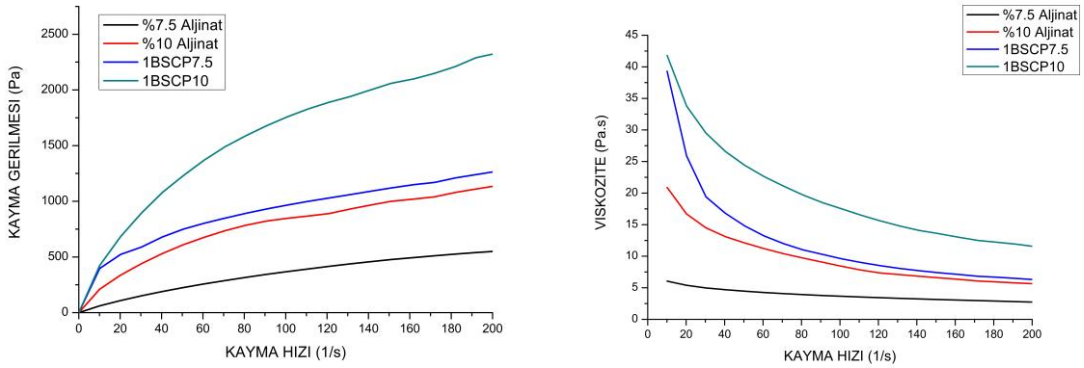
(A) (B)

Şekil 6. 28 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-2BSCP7.5 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-2BSCP7.5 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri



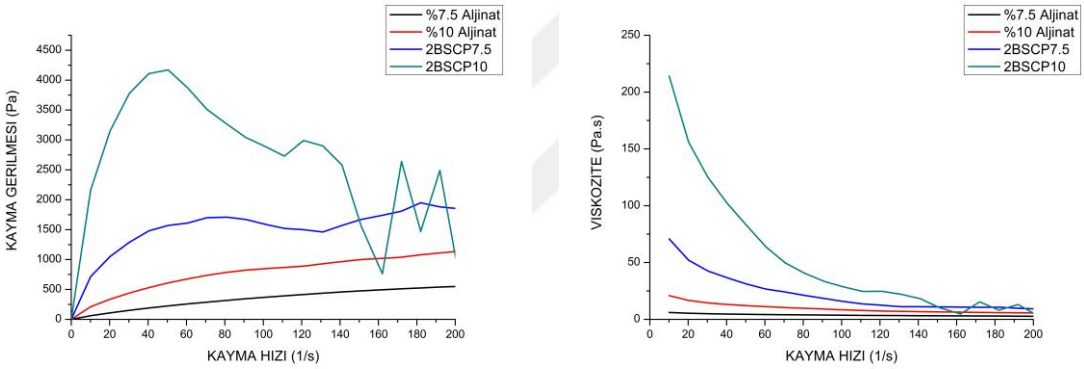
(A) (B)

Şekil 6. 29 (A): %10 aljinat çözeltisi-1BSCP10-2BSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %10 aljinat çözeltisi-1BSCP10-2BSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri



(A) (B)

Şekil 6. 30 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-1BSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-1BSCP7.5-1BSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri



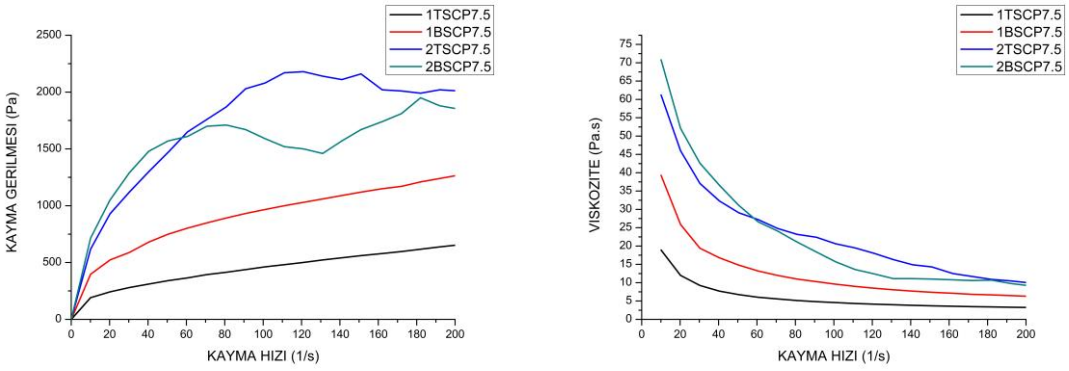
(A) (B)

Şekil 6. 31 (A): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2BSCP7.5-2BSCP10 numunelerinin kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri; (B): %7.5 aljinat çözeltisi-%10 aljinat çözeltisi-2BSCP7.5-2BSCP10 numunelerinin viskozite-kayma hızı eğrileri

Biyoaktif cam-aljinat karışımı ile elde edilen enjekte edilebilir kompozit doku destek malzemelerinin sabit aljinat içeriğine bağlı veya sabit biyoaktif cam içeriğine bağlı kayma gerilmesi-kayma hızı ve viskozite-kayma hızı karşılaştırmalı grafikleri Şekil 6.32-Şekil 6.35 arasında verilmiştir. Numunelerin viskozite-kayma hızı karşılaştırmalı grafikleri incelendiği zaman, %7.5 konsantrasyondaki sabit aljinat içeriğine sahip 1 gram veya 2 gram biyoaktif cam içeren TSCP ve BSCP numuneleri için ve %10 konsantrasyondaki sabit aljinat içeriğine sahip 1 gram veya 2 gram biyoaktif cam içeren

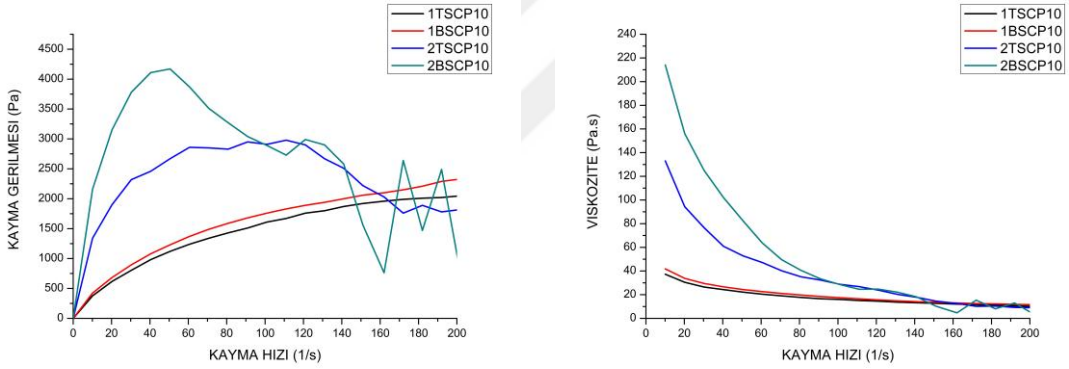
TSCP ve BSCP numuneleri için biyoaktif cam içeriğinin artmasına bağlı olarak numune viskozite değerlerinin arttığı görülmektedir. Kayma hızının artışına bağlı olarak numune viskozitelerindeki azalma da açık bir şekilde görülmektedir. Ayrıca 1:1 oranlı TSCP ve BSCP numuneleri için aljinat konsantrasyonuna bağlı viskozite değerleri benzer değerlere sahip iken 2:1 oranlı TSCP ve BSCP numuneleri için aljinat konsantrasyonunun artması gözle görülür bir viskozite farklılığına sebep olmaktadır. Ek olarak %10 aljinat konsantrasyonuna sahip 2:1 oranlı TSCP ve BSCP numunelerinin viskozite değerlerinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Numunelerin kayma gerilmesi-kayma hızı karşılaştırmalı grafikleri incelendiği zaman, %7.5 konsantrasyondaki sabit aljinat içeriğine sahip 1 gram veya 2 gram biyoaktif cam içeren TSCP ve BSCP numuneleri için ve %10 konsantrasyondaki sabit aljinat içeriğine sahip 1 gram veya 2 gram biyoaktif cam içeren TSCP ve BSCP numuneleri için biyoaktif cam içeriğinin artmasına bağlı olarak numune kayma gerilmesi değerlerinin arttığı görülmektedir. Kayma hızının artmasına bağlı olarak numunelerin kayma gerilmesi değerlerindeki artış da açık bir şekilde görülmektedir. Ayrıca %7.5 ve %10 konsantrasyonlarında aljinat içeren 1:1 oranlı TSCP ve BSCP numuneleri için kayma hızının artışına bağlı kayma gerilmesi değerlerindeki artış 2:1 oranlı TSCP ve BSCP numunelerinin kayma hızının artışına bağlı kayma gerilmesi değerlerindeki artışa göre daha düzenli olduğu görülmektedir.

Üretilen enjekte edilebilir kompozit doku destek malzemelerinin sabit biyoaktif cam içeriğine bağlı kayma gerilmesi-kayma hızı ve viskozite-kayma hızı karşılaştırmalı grafikleri incelendiği zaman, 1:1 ve 2:1 oranlı TSCP ve BSCP numunelerinin aljinat konsantrasyonu arttıkça kayma hızına bağlı kayma gerilmesi değerlerinin arttığı ve kayma hızına bağlı viskozite değerlerinin azaldığı görülmektedir.



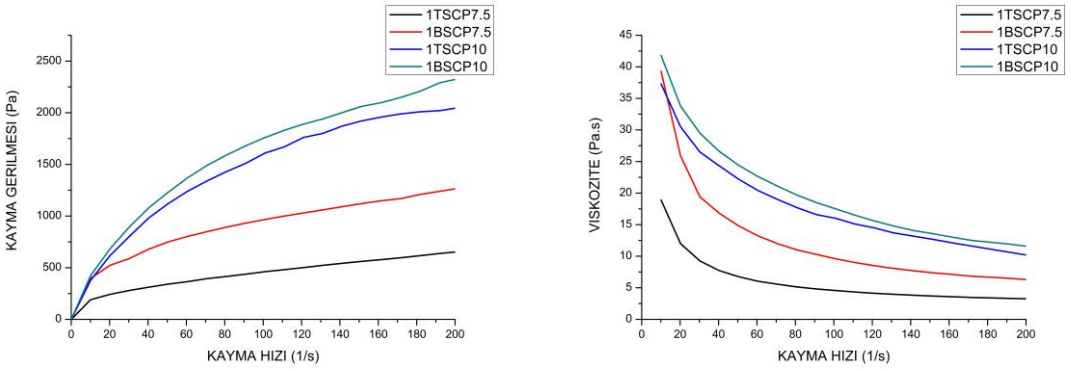
(A) (B)

Şekil 6. 32 Sabit aljinat konsantrasyonunda (%7.5 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit aljinat konsantrasyonunda (%7.5 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B)



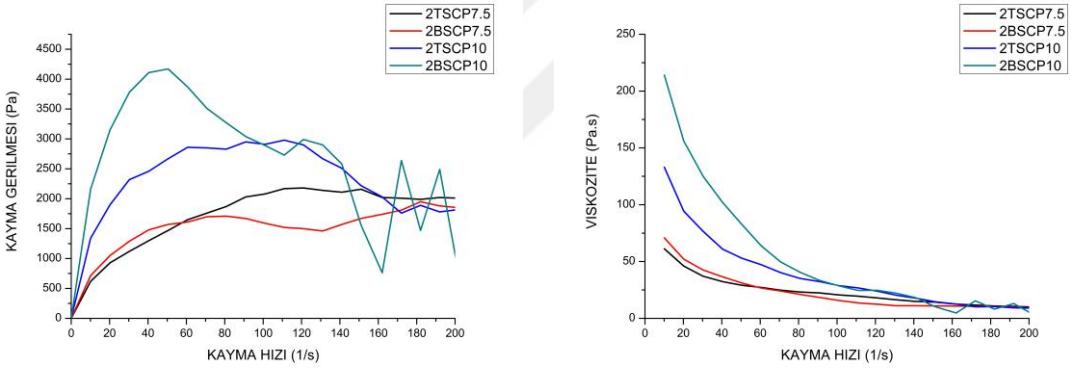
(A) (B)

Şekil 6. 33 Sabit aljinat konsantrasyonunda (%10 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit aljinat konsantrasyonunda (%10 Aljinat) ve farklı biyoaktif cam içeriğinde elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B)



(A) (B)

Şekil 6. 34 Sabit biyoaktif cam içeriğinde (1 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit biyoaktif cam içeriğinde (1 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B)



(A) (B)

Şekil 6. 35 Sabit biyoaktif cam içeriğinde (2 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı kayma gerilmesi-kayma hızı eğrileri (A); Sabit biyoaktif cam içeriğinde (2 gram biyoaktif cam) ve farklı aljinat konsantrasyonlarında elde edilen TSCP ve BSCP numunelerinin karşılaştırmalı viskozite-kayma hızı eğrileri (B)

Elde edilen TSCP ve BSCP enjekte edilebilir doku destek malzemesi numunelerinin akış modelini belirlemek için kullanılan Ostwald de Waele (Power Law) eşitliğine bağlı numunelerin kayma gerilmesi ve kayma hızı değerleri arasındaki R^2 korelasyon (ilişki-

bağlantı), k (tutarlılık katsayısı-tutarlılık göstergesi) ve n (power law katsayısı-akış göstergesi) sayısal değerleri Çizelge 6.4' te verilmiştir.

Çizelge 6. 4 Farklı konsantrasyonlardaki aljinat çözeltilerinin ve enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin k, n ve R^2 değerleri

	k ($Pa.s^n$)	n	R^2
%7.5 Aljinat	16.96252 ± 1.10*	0.66226 ± 0.013*	0.9983
%10 Aljinat	91.43212 ± 6.52*	0.47674 ± 0.014*	0.9961
1TSCP7.5	59.30402 ± 2.50*	0.44818 ± 0.008*	0.9984
2TSCP7.5	439.08885 ± 82.11*	0.31056 ± 0.039*	0.9503
1TSCP10	164.80001 ± 14.45*	0.48535 ± 0.018*	0.9944
2TSCP10	2090.14701 ± 576.74*	**0.02950 ± 0.060***	**0.7311**
1BSCP7.5	164.98325 ± 2.74*	0.38268 ± 0.003*	0.9994
2BSCP7.5	621.31214 ± 94.58*	0.20615 ± 0.032*	0.8615
1BSCP10	181.08297 ± 13.26*	0.48495 ± 0.015*	0.9946
2BSCP10	2148.21262 ± 531.70*	**0.05002 ± 0.053***	**0.3405**

*%95 güven aralığında hesaplanan standart sapma değerleri

Elde edilen kayma gerilmesi-kayma hızı grafikleri ve n değeri göz önüne alındığı zaman, tez kapsamında üretilen 2TSCP10 ve 2BSCP10 numuneleri haricindeki enjekte edilebilir doku destek malzemesi numunelerinin newtonyen olmayan (kayma ile incelen) ve psödoplastik akış (n değeri aralığı; $0<n<1$) özelliği gösterdiği söylenebilir. Ek olarak, 2TSCP10 ve 2BSCP10 numuneleri haricinde tüm numunelerin Ostwald de Waele (Power Law) eşitliğine %85' in üzerinde uygunluk gösterdiği söylenebilir. Ancak 2TSCP10 ve 2BSCP10 numuneleri, n değerleri ve standart sapmaları ayrıca R^2 değerleri göz önüne alındığı zaman, bu numunelerin akışkanlık davranışlarının çok zayıf olduğu ve Ostwald de Waele (Power Law) eşitliğine uygunluk göstermediği sonucuna varılmıştır.

Ayrıca;

- Biyoaktif cam içeriğinin n değerini azalttığı görülmektedir. Bu durum biyoaktif cam artış miktarına bağlı olarak akış modelinin newtonyen akıştan uzaklaştığını göstermektedir.
- Aljinat konsantrasyonunun ve biyoaktif cam içeriğinin birlikte artması, akışkanlığı önemli ölçüde etkilemektedir.
- 2:1 oranlı doku destek malzemelerinin k değeri, 1:1 oranlı doku destek malzemelerine göre oldukça yüksektir. Bu durum, biyoaktif cam içeriğinin belirli bir orandan fazla olmasının, yapının akışkanlığını önemli derecede azalttığını göstermektedir.

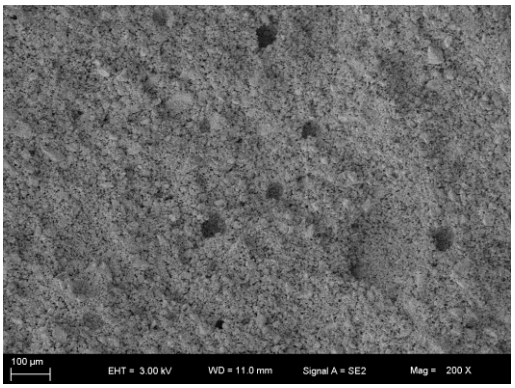
6.10 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin SEM-EDS Analizleri

Tez kapsamında üretilen farklı oranlarda aljinat-biyoaktif cam içeriğine sahip TSCP ve BSCP numunelerinin farklı büyütmelerdeki (200X, 500X, 1000X, 2000X) SEM görüntüleri ve yarı kantitatif EDS analizleri (EDS analizleri numune yüzeyi üzerinde belirlenen üç farklı noktada gerçekleştirilmiştir) sonucu elde edilen EDS grafikleri Şekil 6.36-Şekil 6.43 arasında verilmiştir. Akışkan yapıdaki TSCP ve BSCP numunleri SEM-EDS analizleri için oda şartlarında silindirik kalıplar içerisinde kurutulmuştur. Numune yüzeyindeki üç farklı noktada yapılan EDS analizleri benzer sonuçlar verdiği için EDS grafiklerinden sadece bir tanesi sonuçlarda verilmiştir.

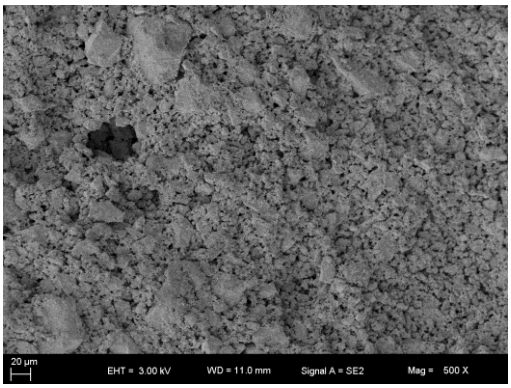
TSCP ve BSCP numunelerinin SEM analiz cihazı ile elde edilen yüzey morfolojisi görüntüleri incelendiği zaman, bütün numunelerin polimer-seramik kompozisyonuna sahip bir yapıda olduklar görülmektedir. Böylece, tez kapsamında elde edilen doku destek malzemelerinin polimer-seramik kompozit yapısına sahip olduğu rahatlıkla söylenebilir. Diğer bir yandan, aljinat konsantrasyonunun artması veya biyoaktif cam içeriğin artması yüzeysel görüntülerde belirgin bir farklılığa sebep olmamaktadır. Ancak BSC numuneleri ile elde edilen BSCP numunelerinin yüzey görüntülerinde TSC numuneleri ile elde edilen TSCP numunelerine göre bölgesel aljinat birikminin daha fazla olduğu göze çarpmaktadır. Bu durum BSC numunelerinin TSC numunelerine göre

daha yüksek yüzey alanına ve gözenek hacmine ve gözenek çapına sahip olması ile ilişkilendirilebilir.

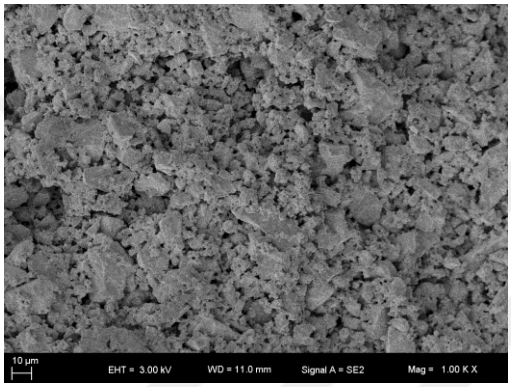
Diğer bir yandan TSCP ve BSCP numunelerinin noktasal EDS analizleri sonucu elde edilen grafikler incelendiği zaman, numune yapılarının biyoaktif cam içeriğini oluşturan Si, Na, Ca, P ve O elementlerinin yanı sıra beklenildiği üzere aljinat yapısını oluşturan C elementini de içerdiği görülmektedir. Böylece, EDS analizleri doğrultusunda TSCP ve BSCP numunelerinin polimer-seramik kompozit yapısına sahip olduğu rahatlıkla söylenebilir.



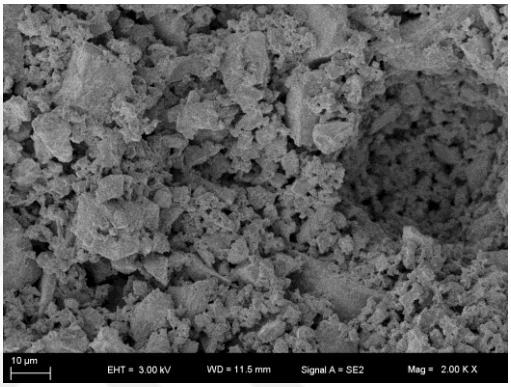
(A)



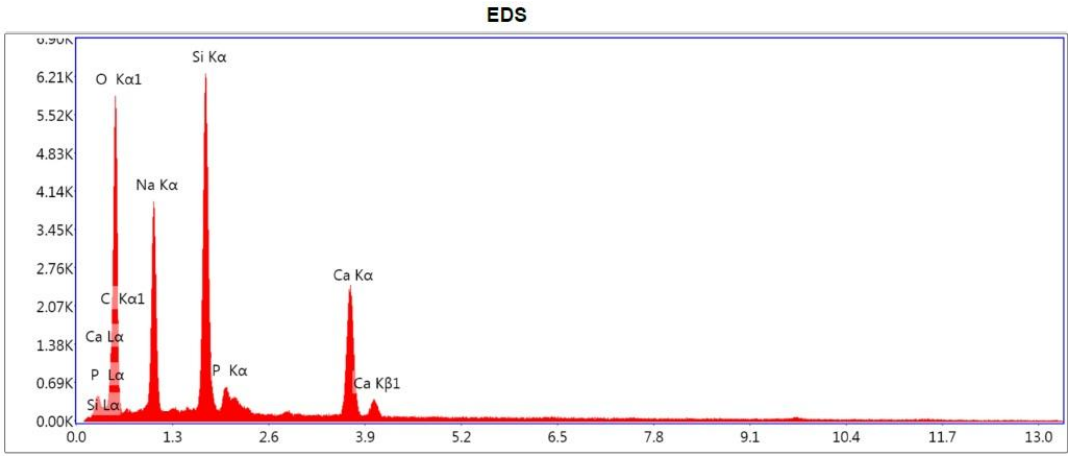
(B)



(C)

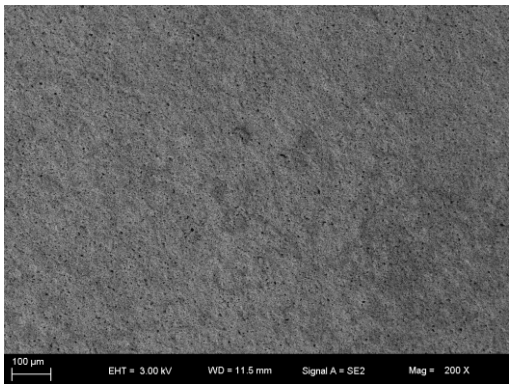


(D)

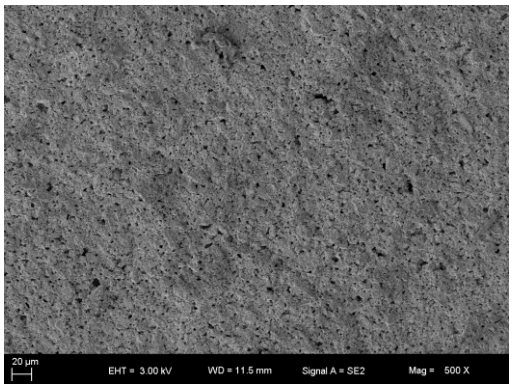


(E)

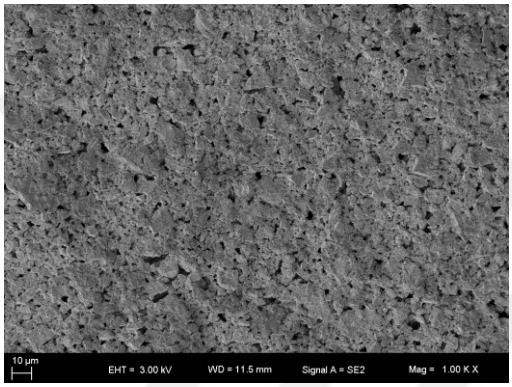
Şekil 6. 36 1TSCP7.5 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E)



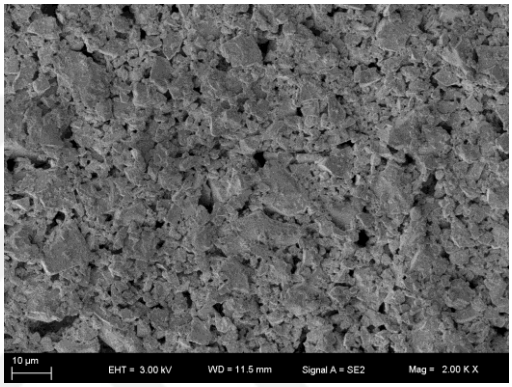
(A)



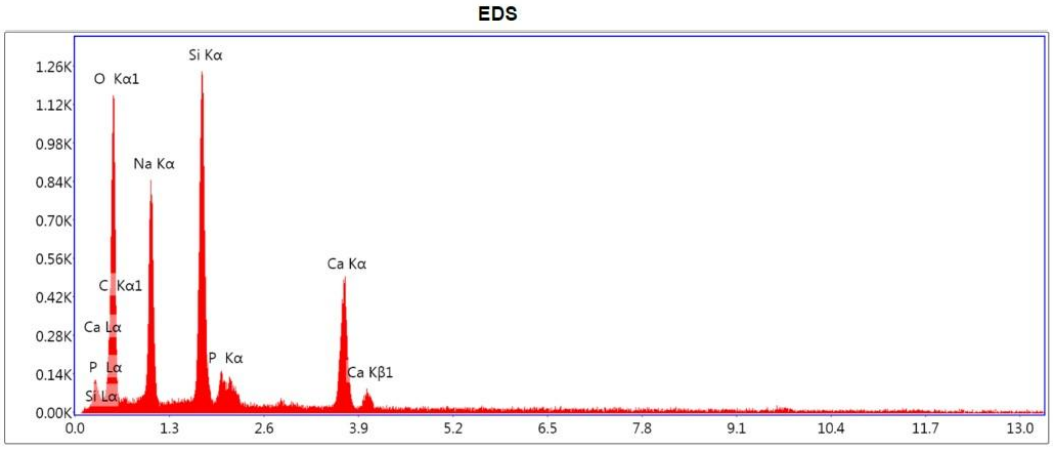
(B)



(C)

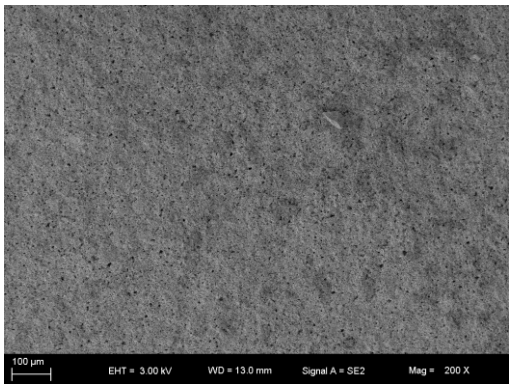


(D)

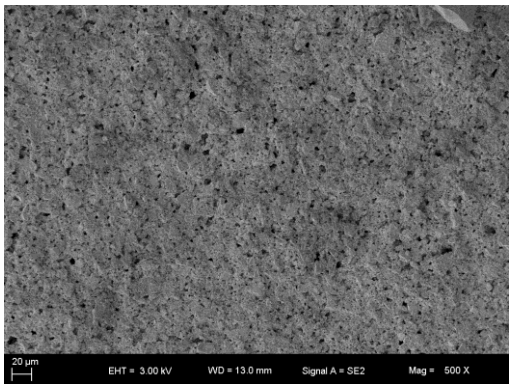


(E)

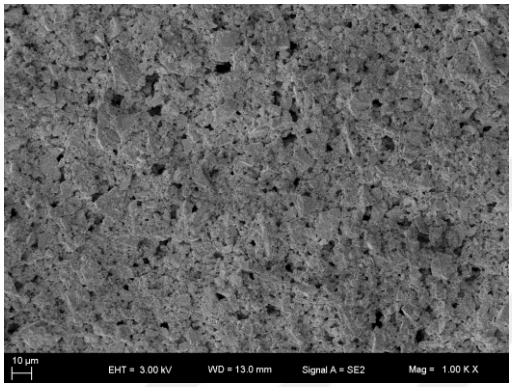
Şekil 6. 37 2TSCP7.5 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E)



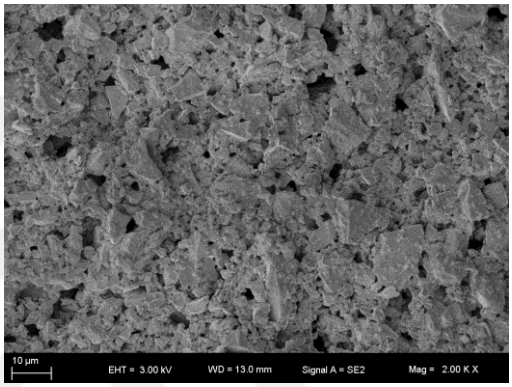
(A)



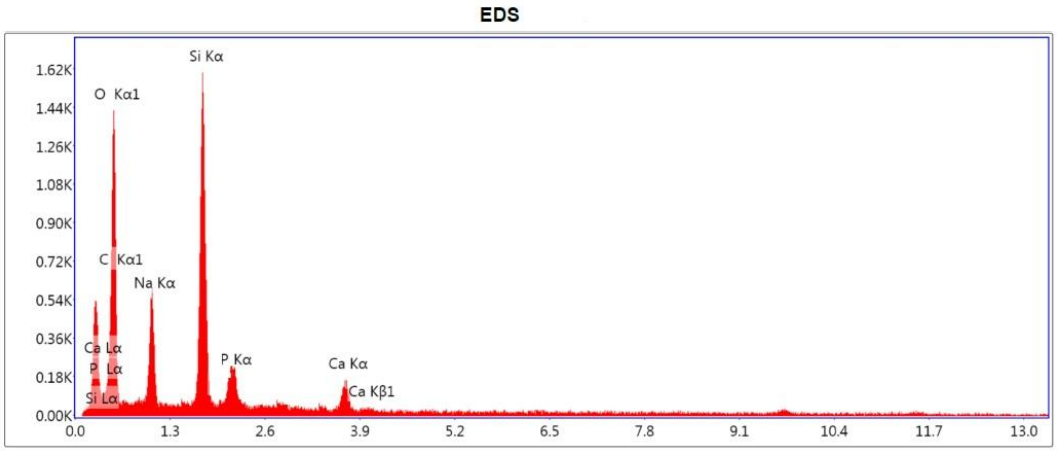
(B)



(C)

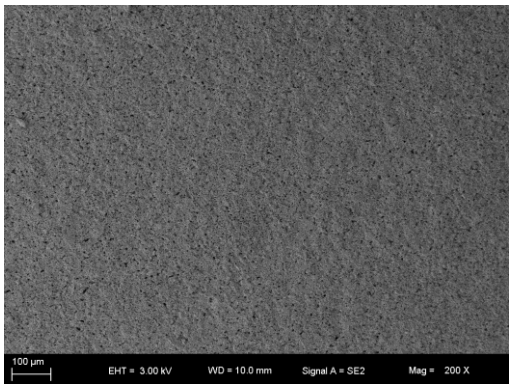


(D)

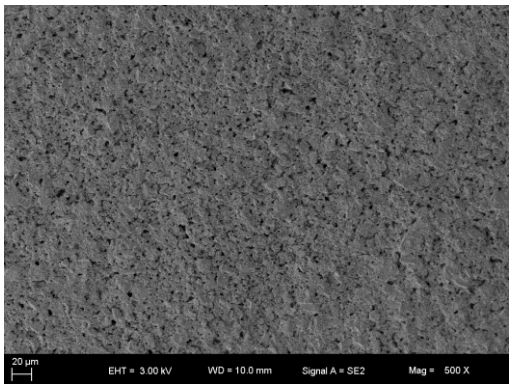


(E)

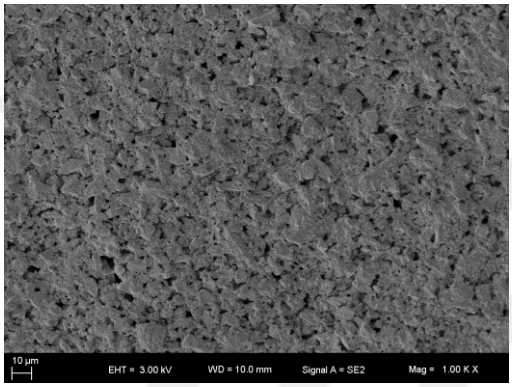
Şekil 6. 38 1TSCP10 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP10 numunesinin EDS grafiği (E)



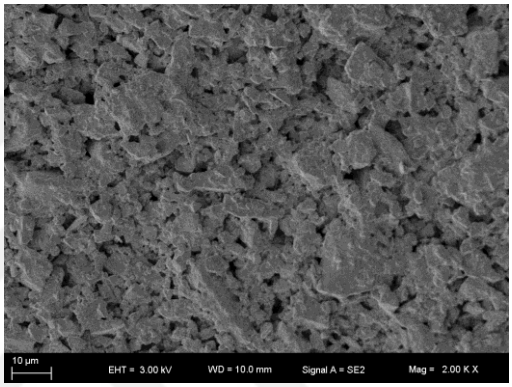
(A)



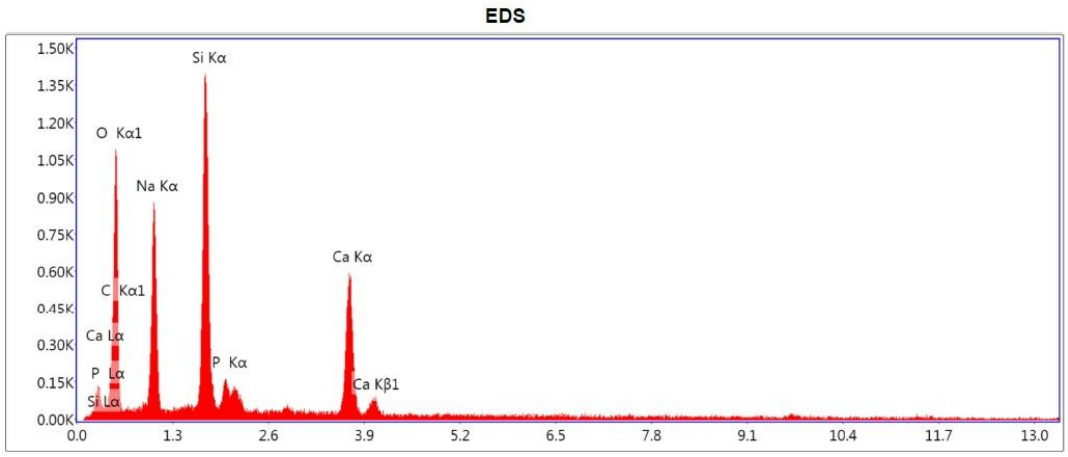
(B)



(C)

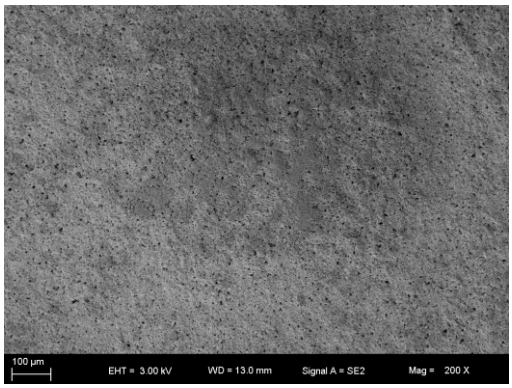


(D)

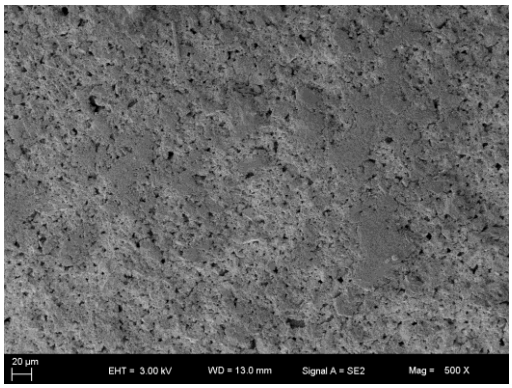


(E)

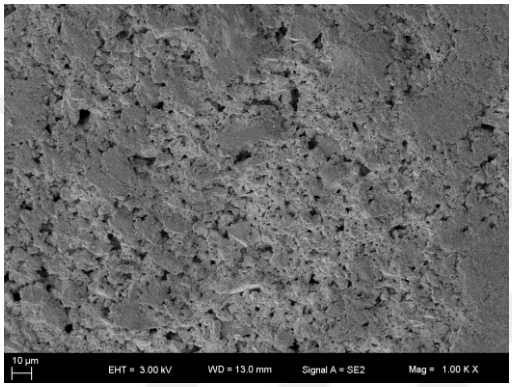
Şekil 6. 39 2TSCP10 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP10 numunesinin EDS grafiği (E)



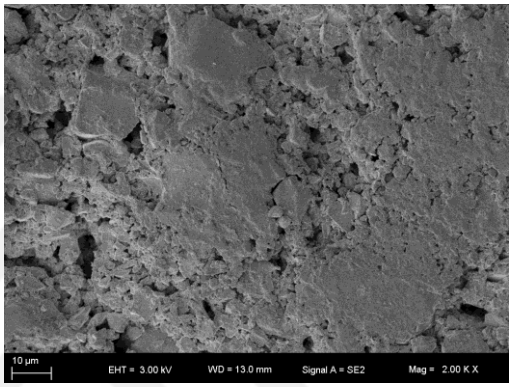
(A)



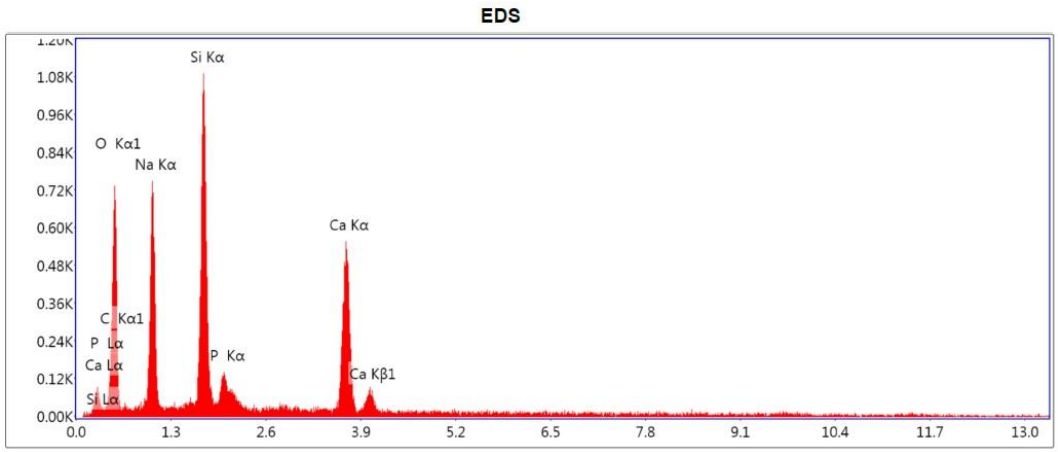
(B)



(C)

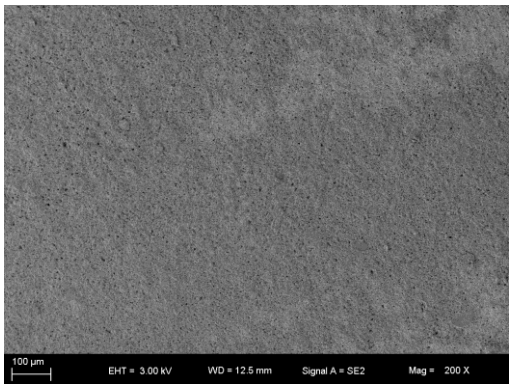


(D)

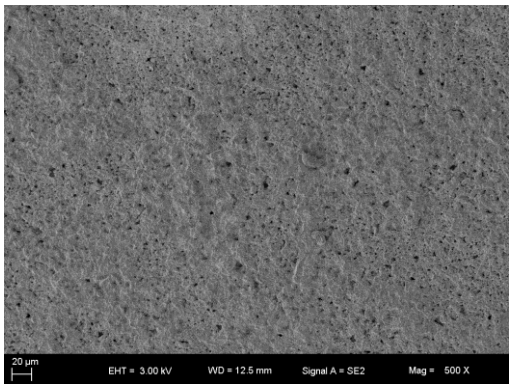


(E)

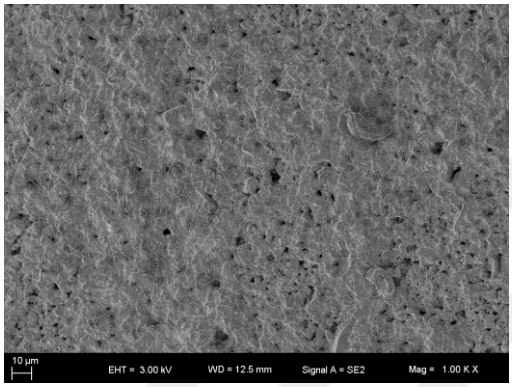
Şekil 6. 40 1BSCP7.5 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E)



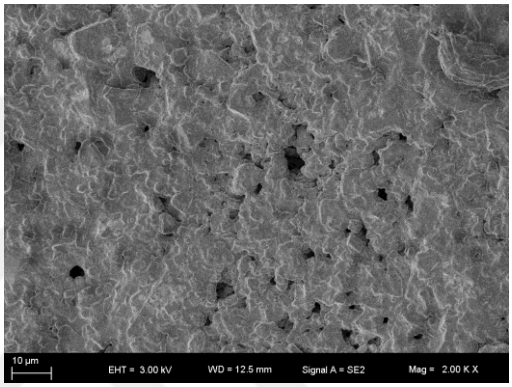
(A)



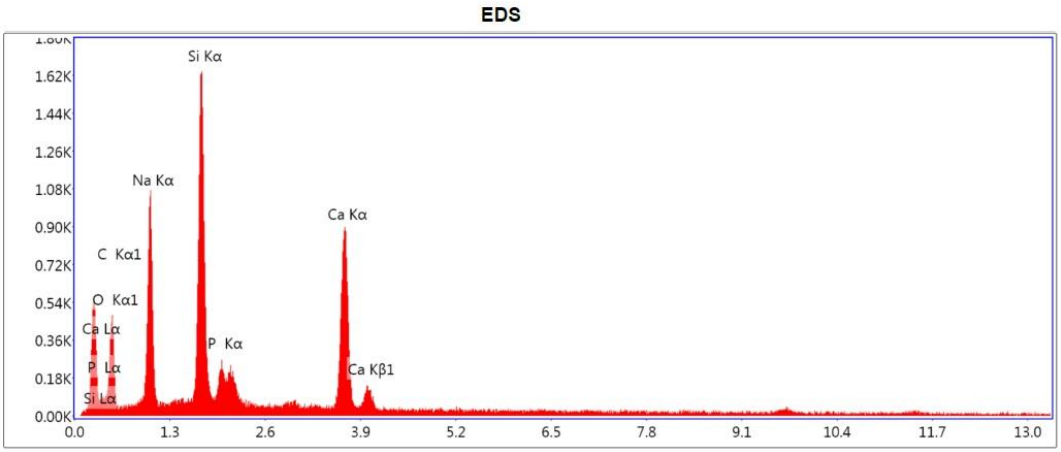
(B)



(C)

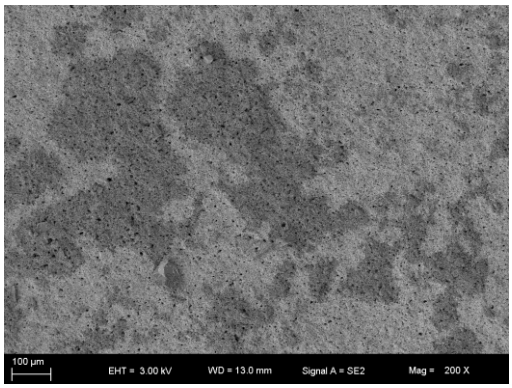


(D)

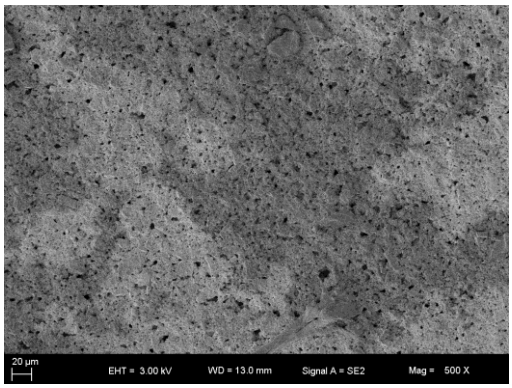


(E)

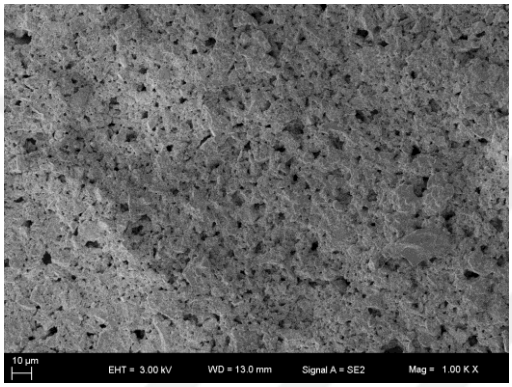
Şekil 6. 41 2BSCP7.5 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP7.5 numunesinin EDS grafiği (E)



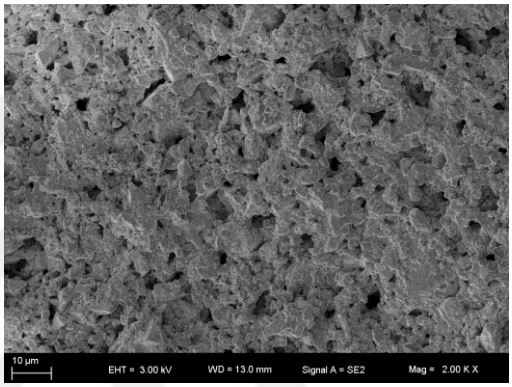
(A)



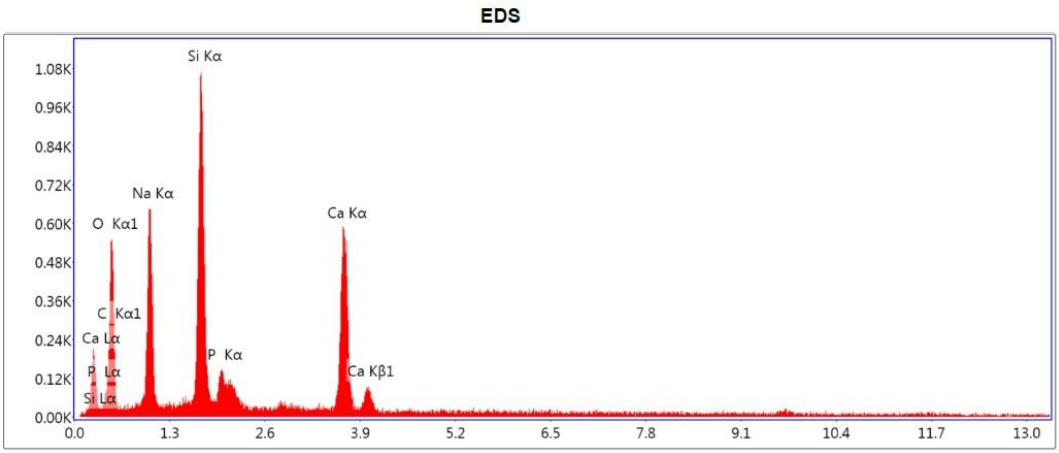
(B)



(C)

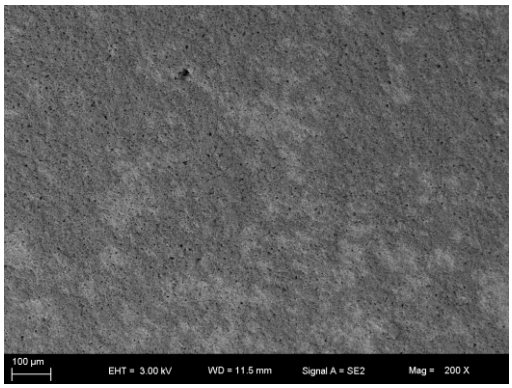


(D)

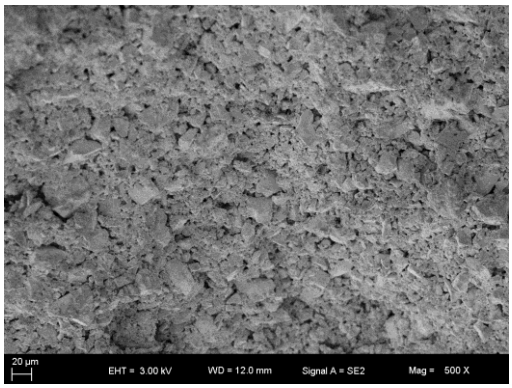


(E)

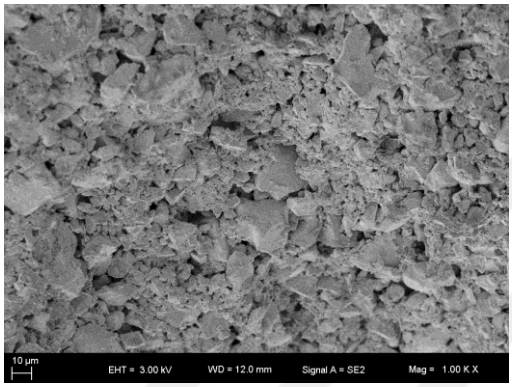
Şekil 6. 42 1BSCP10 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP10 numunesinin EDS grafiği (E)



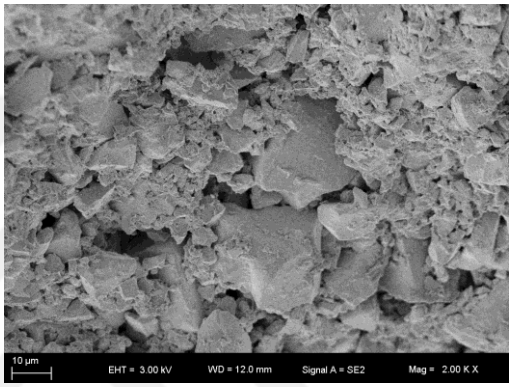
(A)



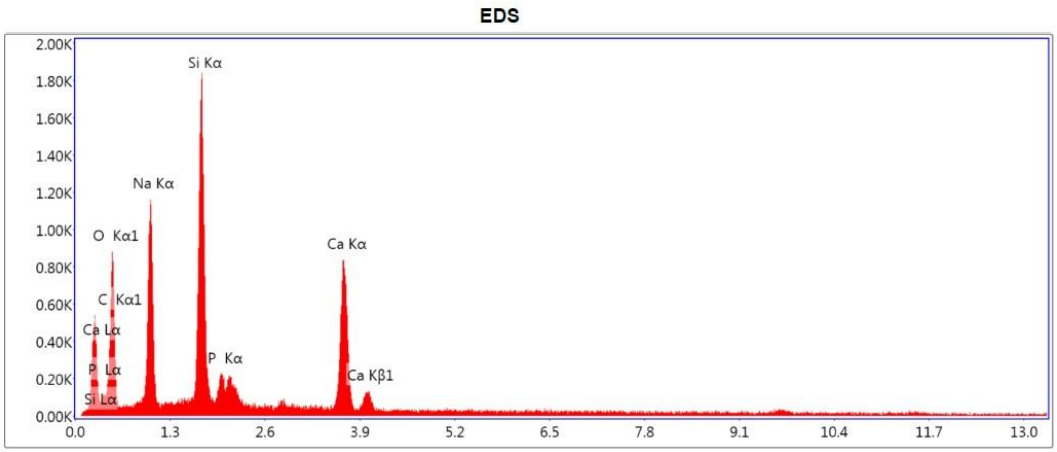
(B)



(C)



(D)



(E)

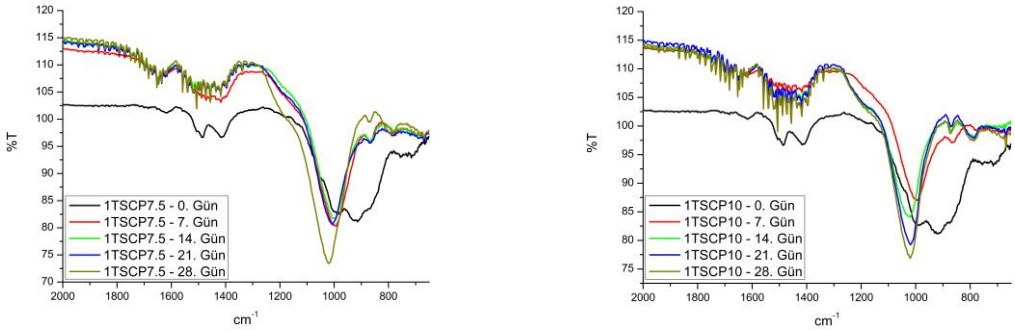
Şekil 6. 43 2BSCP10 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP10 numunesinin EDS grafiği (E)

6.11 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin *in vitro* Biyoaktivite Analizleri

Üretilen TSCP ve BSCP doku destek malzemesi numunelerinin yapay vücut sıvısı içerisinde belirli periyotlarda (7, 14, 21, 28; gün) bekletilmesi sonucu yapısal ve yüzeysel özelliklerindeki değişimlerin incelenmesi FT-IR ve SEM-EDS analizleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Numunelerin bekletildiği ve belirli periyotlarda (7, 14, 21, 28; gün) toplanan yapay vücut sıvısı örneklerinin iyon içeriğinin belirlenmesi ve sonuçların TSCP ve BSCP doku destek malzemesi numunelerinin biyoaktivite özellikleri ilişkilendirilmesi için yvs örneklerinin ICP-OES analizleri gerçekleştirilmiştir.

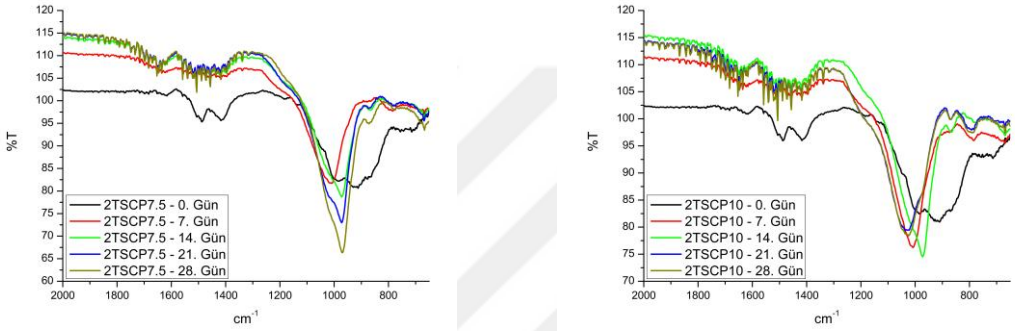
6.11.1 YVS İçerisinde Bekletilen Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin FT-IR Analizleri

Yapay vücut sıvısı içerisinde inkübasyonu gerçekleştirilen doku destek malzemesi numunelerinin YVS öncesi ve YVS sonrası (7., 14., 21., 28.; gün) karşılaştırmalı FT-IR grafikleri Şekil 6.44 ve Şekil 6.45' te verilmiştir. Farklı biyoaktif cam içeriğinde ve farklı aljinat konsantrasyonlarında üretilen TSCP ve BSCP numunelerinin YVS içerisinde bekletilmesi sonucu elde edilen FT-IR spektrumları incelendiği zaman, biyoaktivitenin bir göstergesi olan HCA ve HA oluşumunun varlığını ispatlayan 950-1100 cm^{-1} dalga boyları arasında yer alan belirgin pik P-O bağı titreşimlerine aittir. Ayrıca YVS inkübasyonu öncesi yoğun bir şekilde varlığı görülen 850 cm^{-1} dalga boyundaki Si-OH gruplarını gösteren pik, YVS sonrası numunelerde oldukça azalmıştır. Bu durum YVS inkübasyonu esnasında gerçekleşen iyon salınımı ve HCA veya HA oluşumu reaksiyonlarının gerçekleşmiş olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ek olarak, HCA ve HA oluşumunun kanıtı olan ve HCA-HA yapısındaki P-O bağını gösteren pik yoğunluklarının, numunelerin YVS içerisindeki inkübasyon süresinin artışına bağlı olarak arttığı söylenebilir.



(A)

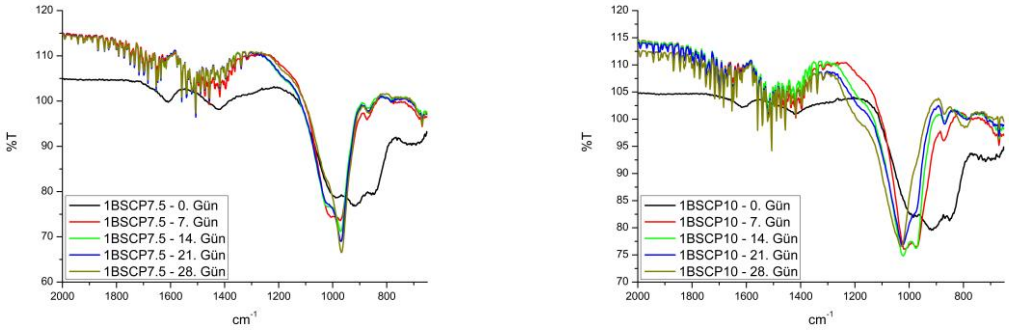
(B)



(C)

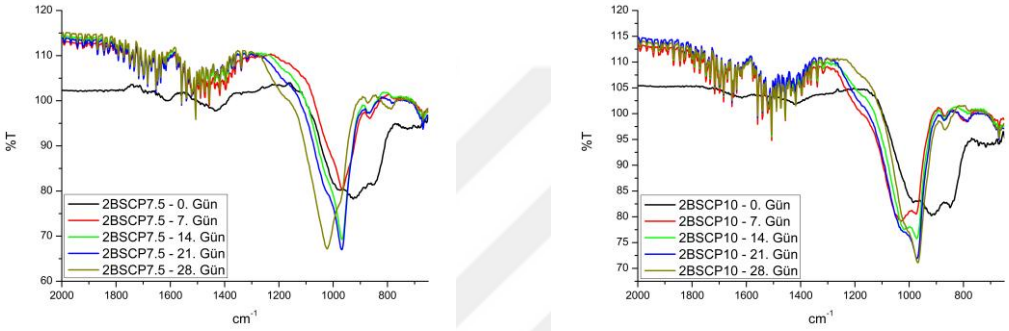
(D)

Şekil 6. 44 (A): 1TSCP7.5, (B): 1TSCP10, (C): 2TSCP7.5, (D): 2TSCP10 numunelerinin YVS öncesi ve 7, 14, 21 gün ve 28 gün YVS inkübasyonu sonrası elde edilen karşılaştırmalı FT-IR grafikleri



(A)

(B)



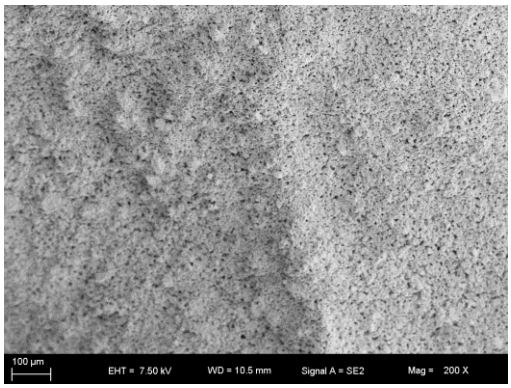
(C)

(D)

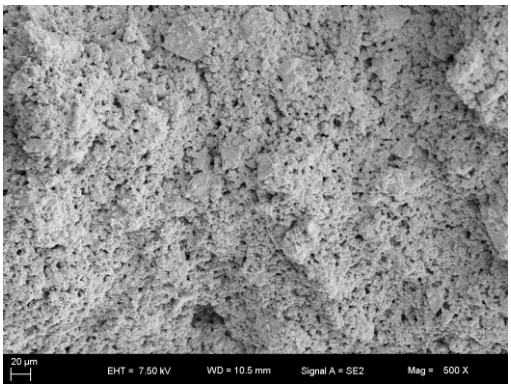
Şekil 6. 45 (A): 1BSCP7.5, (B): 1BSCP10, (C): 2BSCP7.5, (D): 2BSCP10 numunelerinin YVS öncesi ve 7, 14, 21 gün ve 28 gün YVS inkübasyonu sonrası elde edilen karşılaştırmalı FT-IR grafikleri

6.11.2 YVS İçerisinde Bekletilen Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin SEM-EDS Analizleri

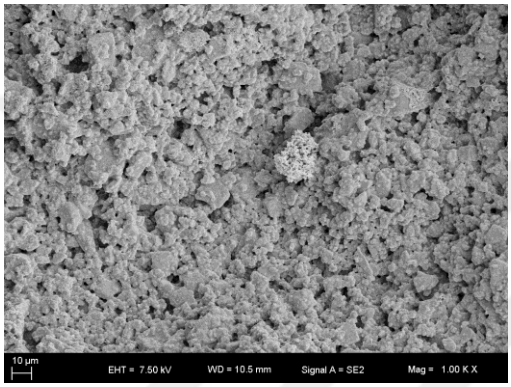
Yapay vücut sıvısı içerisinde inkübasyonu gerçekleştirilen doku destek malzemesi numunelerinin 28 günlük YVS inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri ve EDS grafikleri Şekil 6.46 - Şekil 6.53 arasında verilmiştir. Farklı biyoaktif cam içeriğinde ve farklı aljinat konsantrasyonlarında üretilen TSCP ve BSCP numunelerinin YVS içerisinde bekletilmesi sonucu elde edilen SEM görüntüleri incelendiği zaman, numunelerin üzerinde HA oluşumu ve HA birikimi net bir şekilde görülmektedir. YVS öncesi doku destek malzmesi numunelerinin SEM görüntüleri ile YVS sonrası (28 gün sonra) doku destek malzmesi numunelerinin SEM görüntüleri karşılaştırıldığı zaman, tüm numunelerin yüzeylerinin neredeyse tamamen HA yapısı ile kaplandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca numunelerin ve EDS grafikleri, YVS içerisinde bekletilen numunelerin yüzeyinde gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar sonucu yüzey üzerindeki elementel değişimi net bir şekilde göstermektedir. EDS grafikleri doğrultusunda tüm numunelerin yüzeyinde Si içeriği azalırken Ca ve P içeriğinin arttığı söylenebilir. Bu durum, biyoaktif cam-YVS etkileşimine bağlı SiO_2 içeriği zengin tabakanın üzerine Ca-P çökmesinin gerçekleştiğini ve buna bağlı HA oluşumunu ve birikimini kanıtlar niteliktedir. Doku destek malzemesi numunelerinin yüksek büyütmelerdeki SEM görüntüleri, YVS öncesi ve YVS sonrası karşılaştırmalı EDS grafikleri EK-A' da verilmiştir.



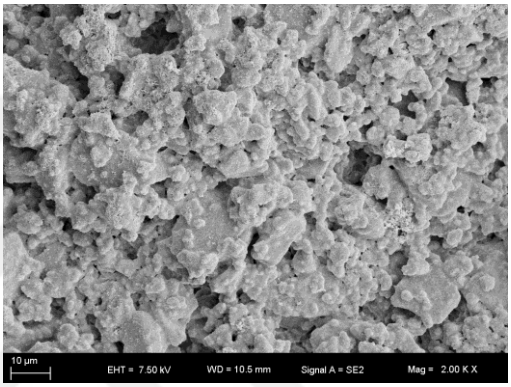
(A)



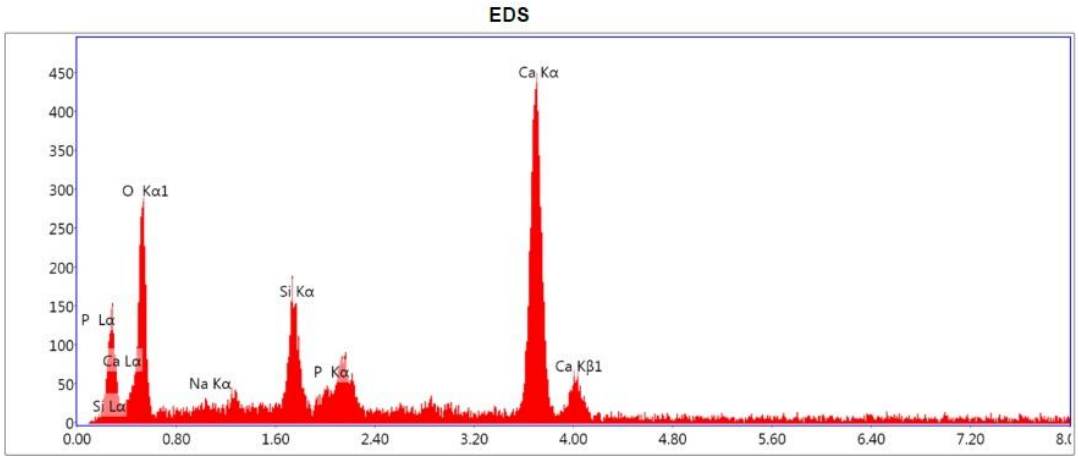
(B)



(C)

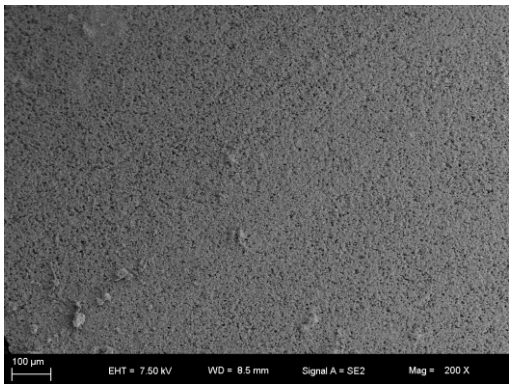


(D)

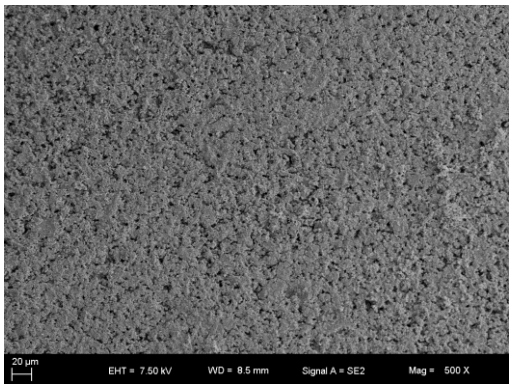


(E)

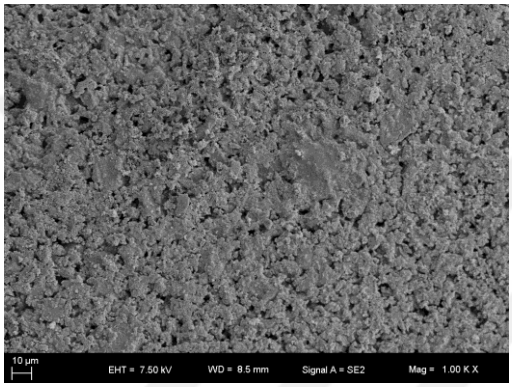
Şekil 6. 46 1TSCP7.5 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)



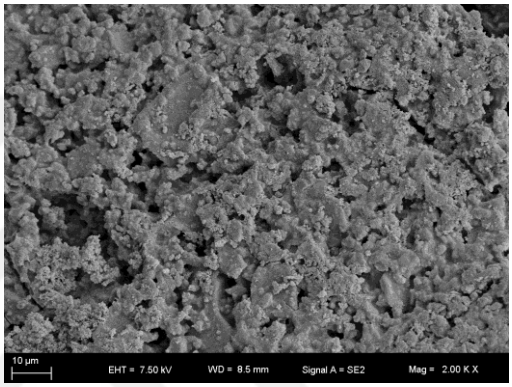
(A)



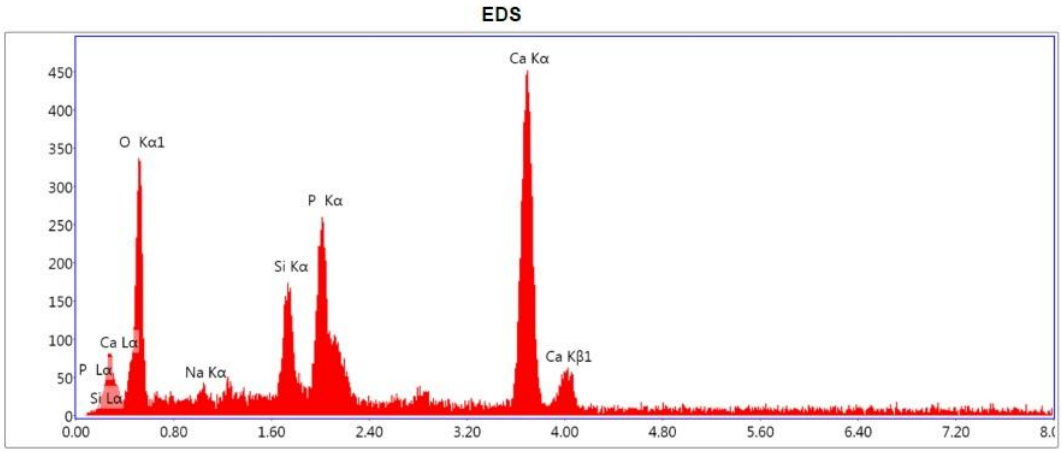
(B)



(C)

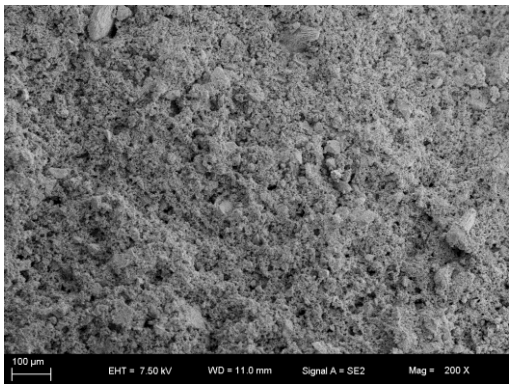


(D)

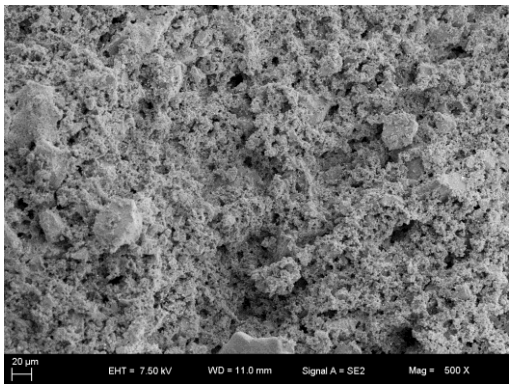


(E)

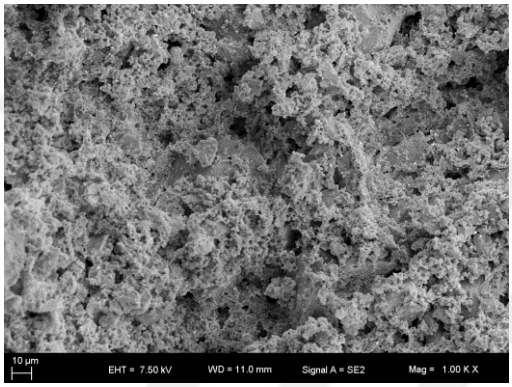
Şekil 6. 47 2TSCP7.5 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)



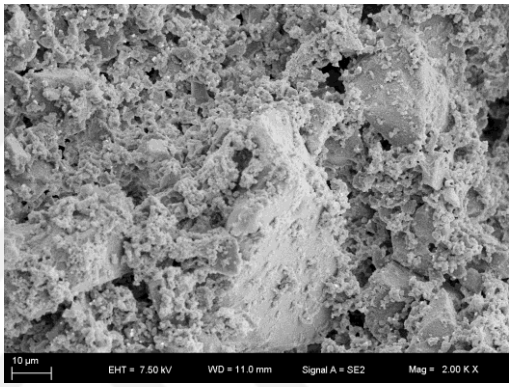
(A)



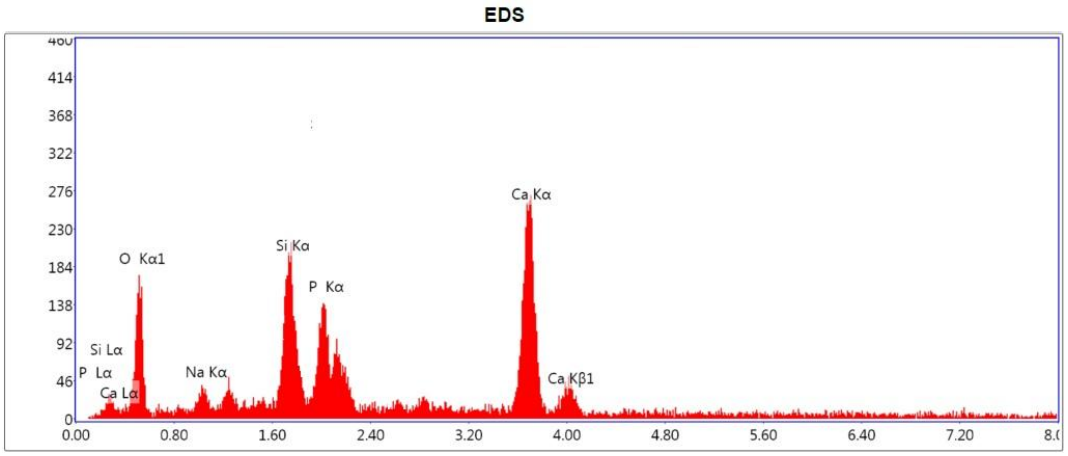
(B)



(C)

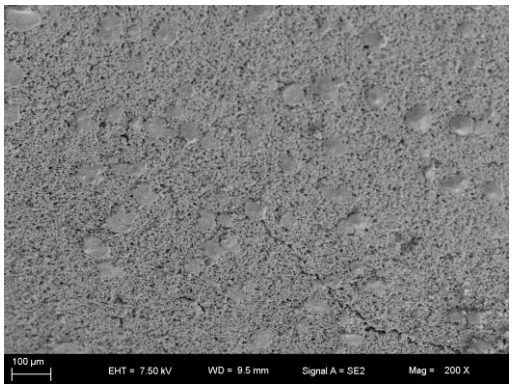


(D)

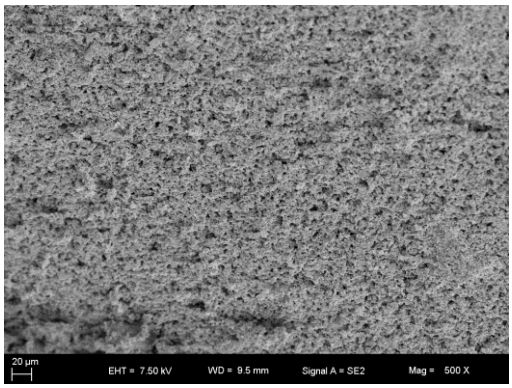


(E)

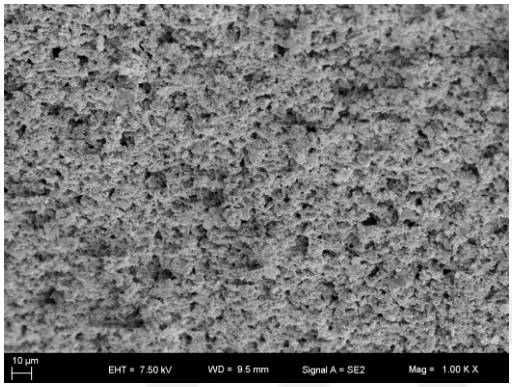
Şekil 6. 48 1TSCP10 (1:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)



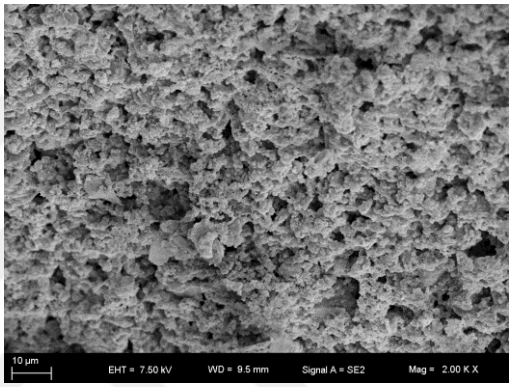
(A)



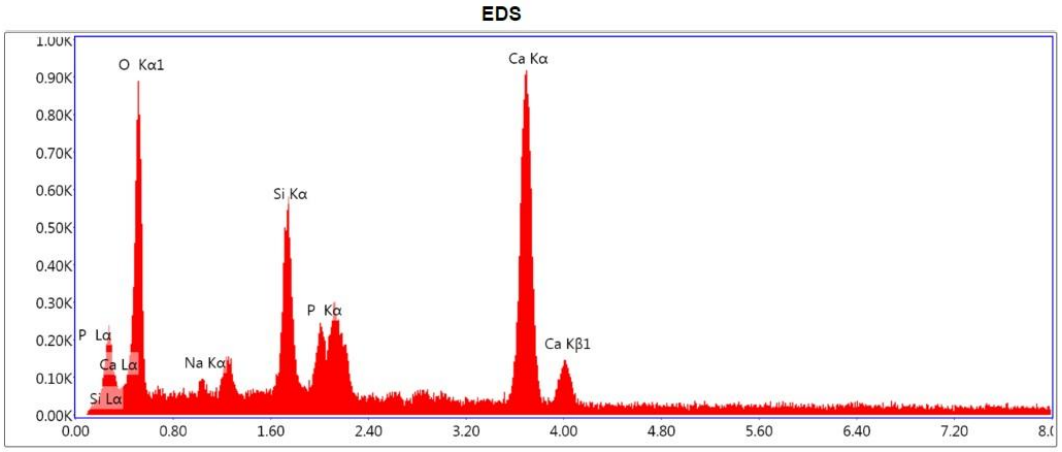
(B)



(C)

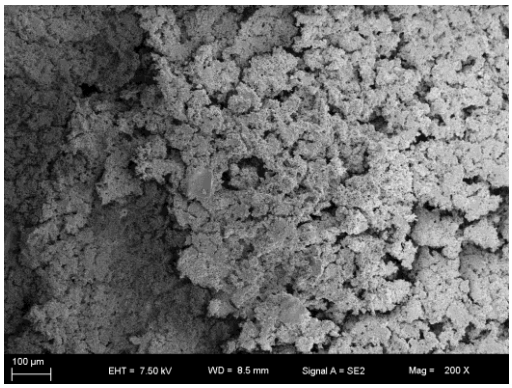


(D)

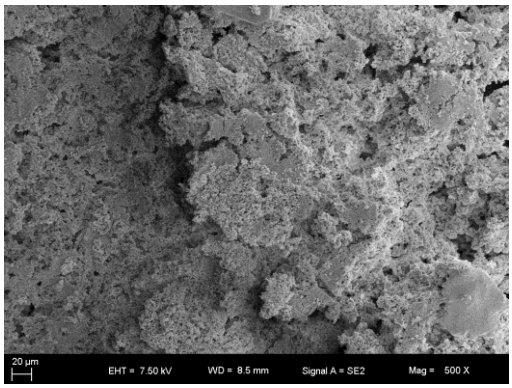


(E)

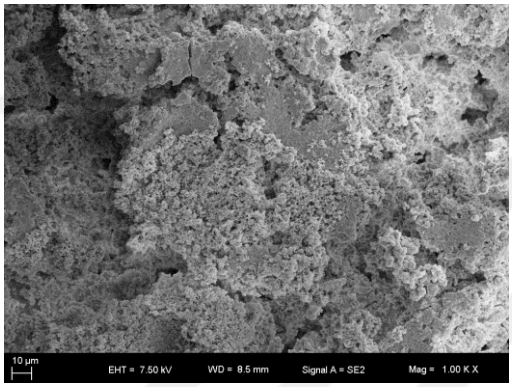
Şekil 6. 49 2TSCP10 (2:1 oranında; ticari silikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)



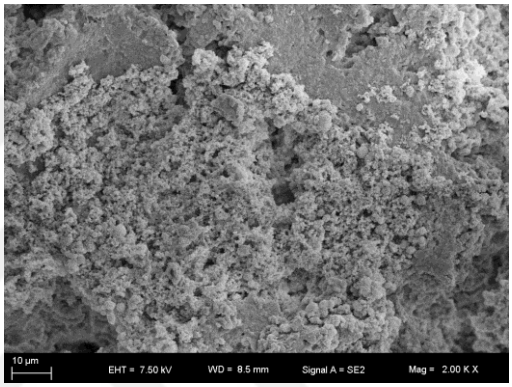
(A)



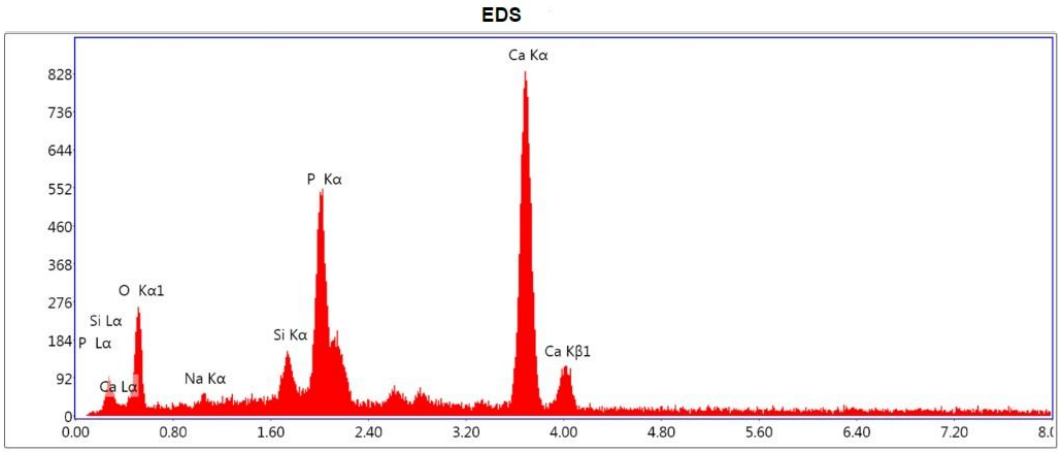
(B)



(C)

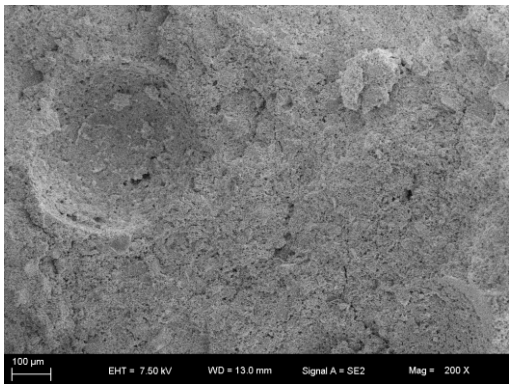


(D)

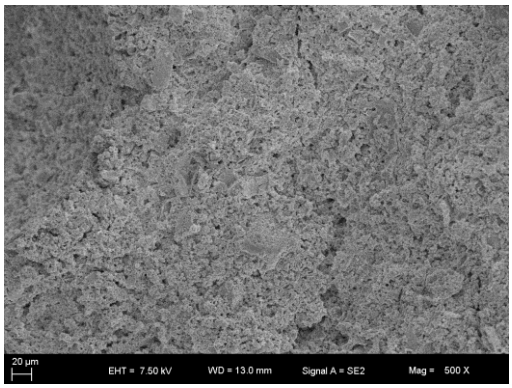


(E)

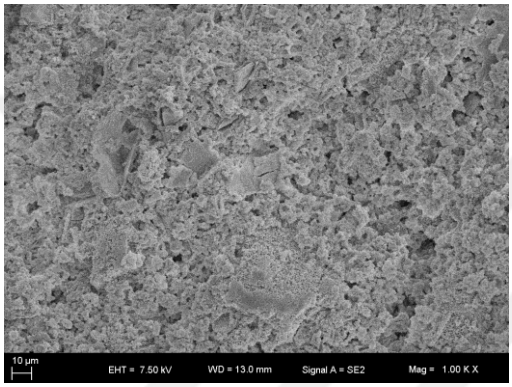
Şekil 6. 50 1BSCP7.5 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)



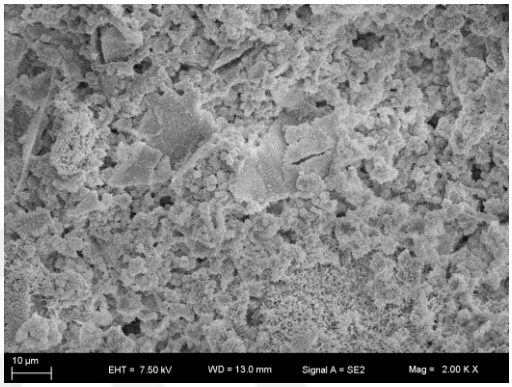
(A)



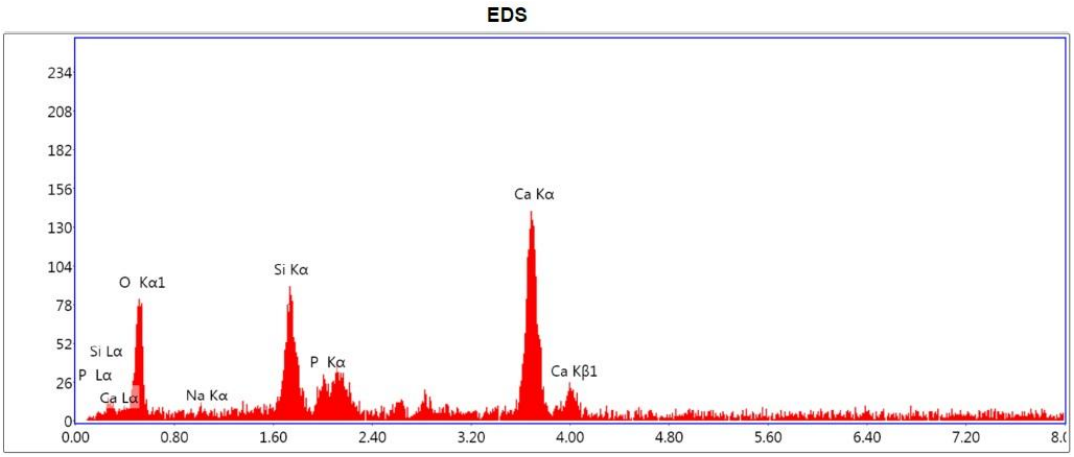
(B)



(C)

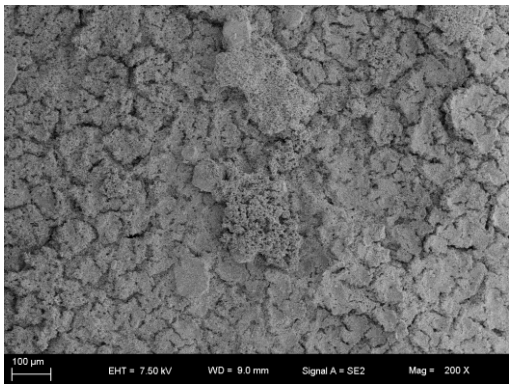


(D)

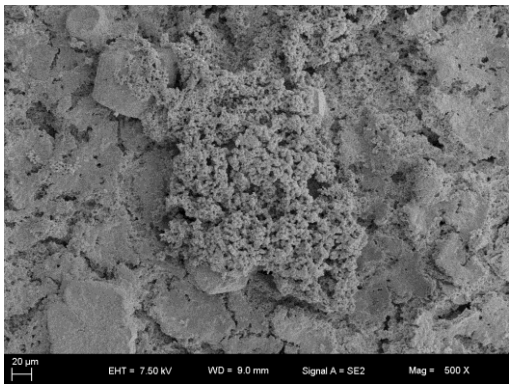


(E)

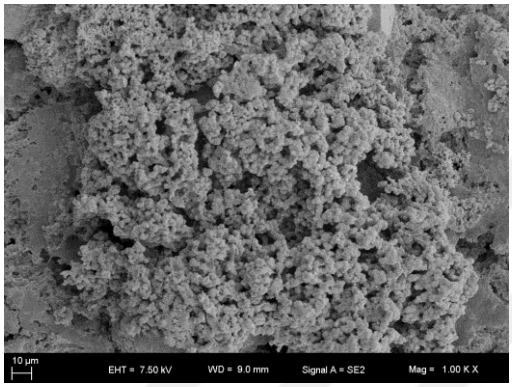
Şekil 6. 51 2BSCP7.5 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %7.5 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)



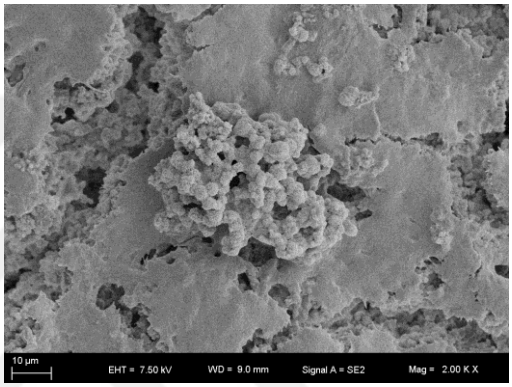
(A)



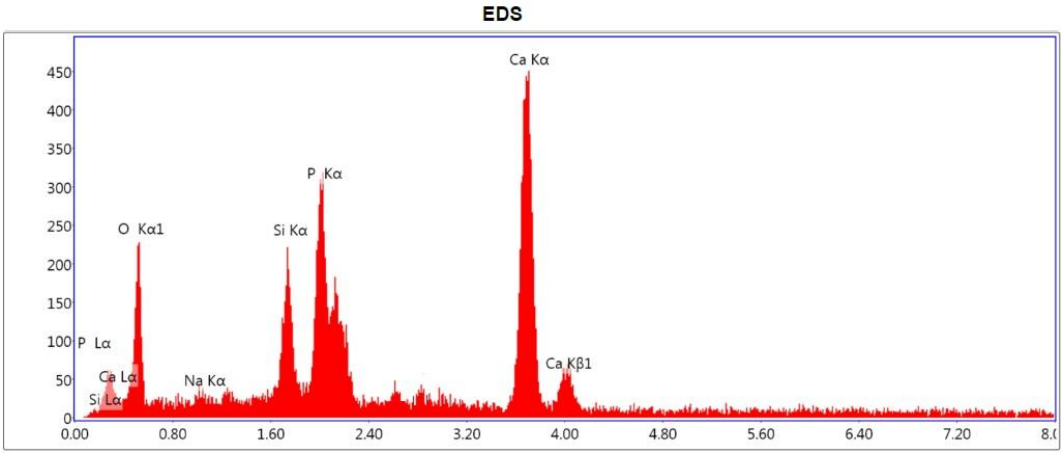
(B)



(C)

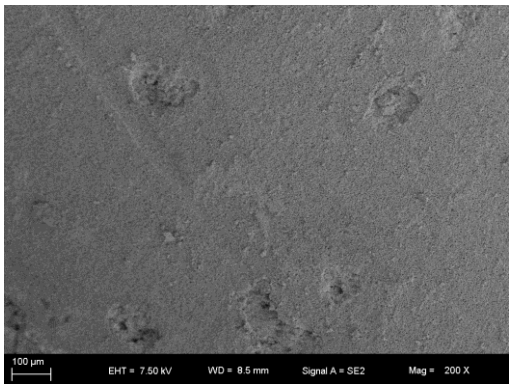


(D)

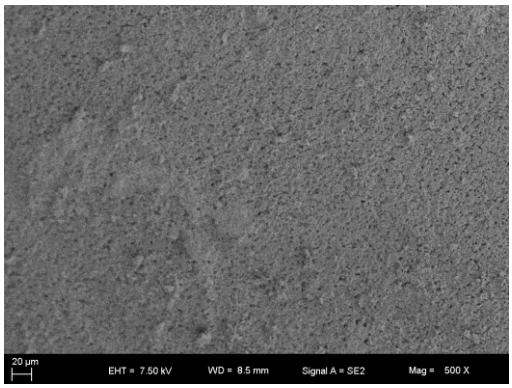


(E)

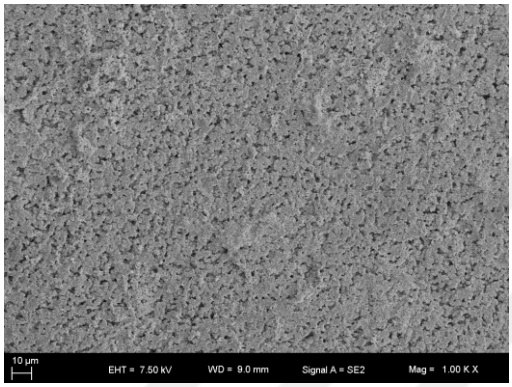
Şekil 6. 52 1BSCP10 (1:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 1BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)



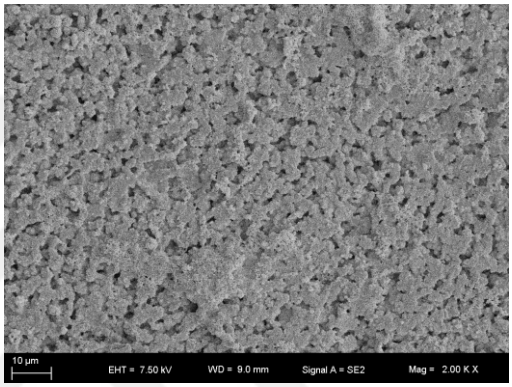
(A)



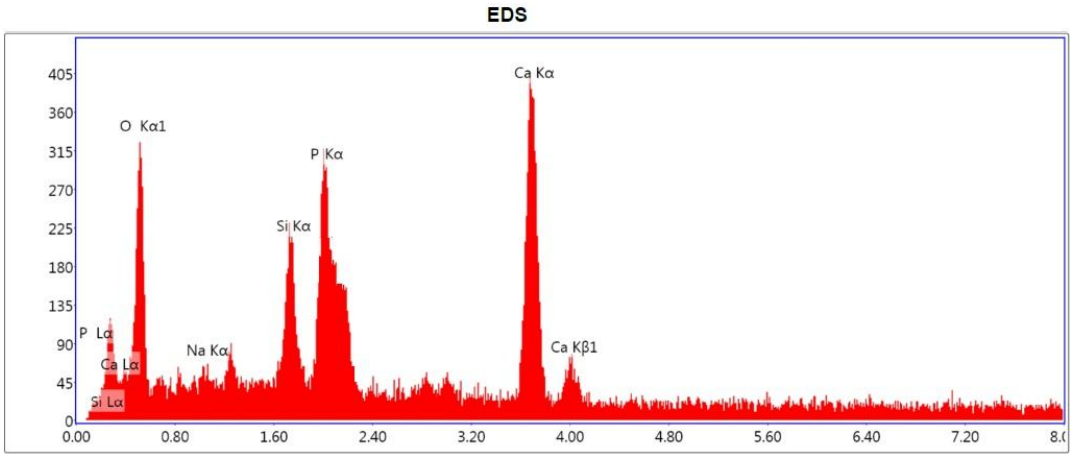
(B)



(C)



(D)



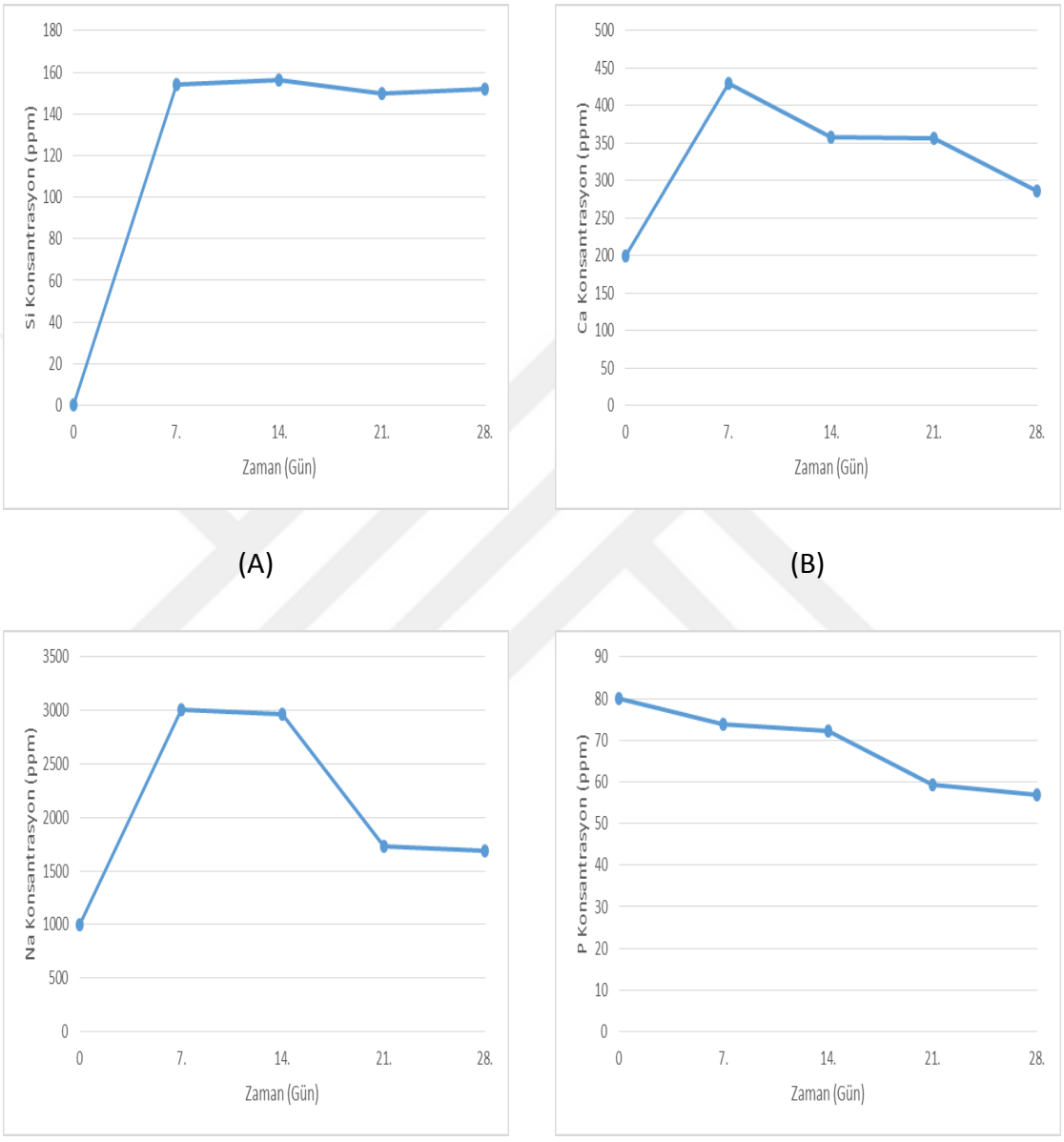
(E)

Şekil 6. 53 2BSCP10 (2:1 oranında; biyosilikalı biyoaktif cam:aljinat; g:ml, %10 aljinat çözeltisi ile hazırlanmış enjekte edilebilir doku destek malzemesi) numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası SEM görüntüleri; (A):200X, (B):500X, (C):1000X, (D):2000X, 2BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün inkübasyonu sonrası EDS grafiği (E)

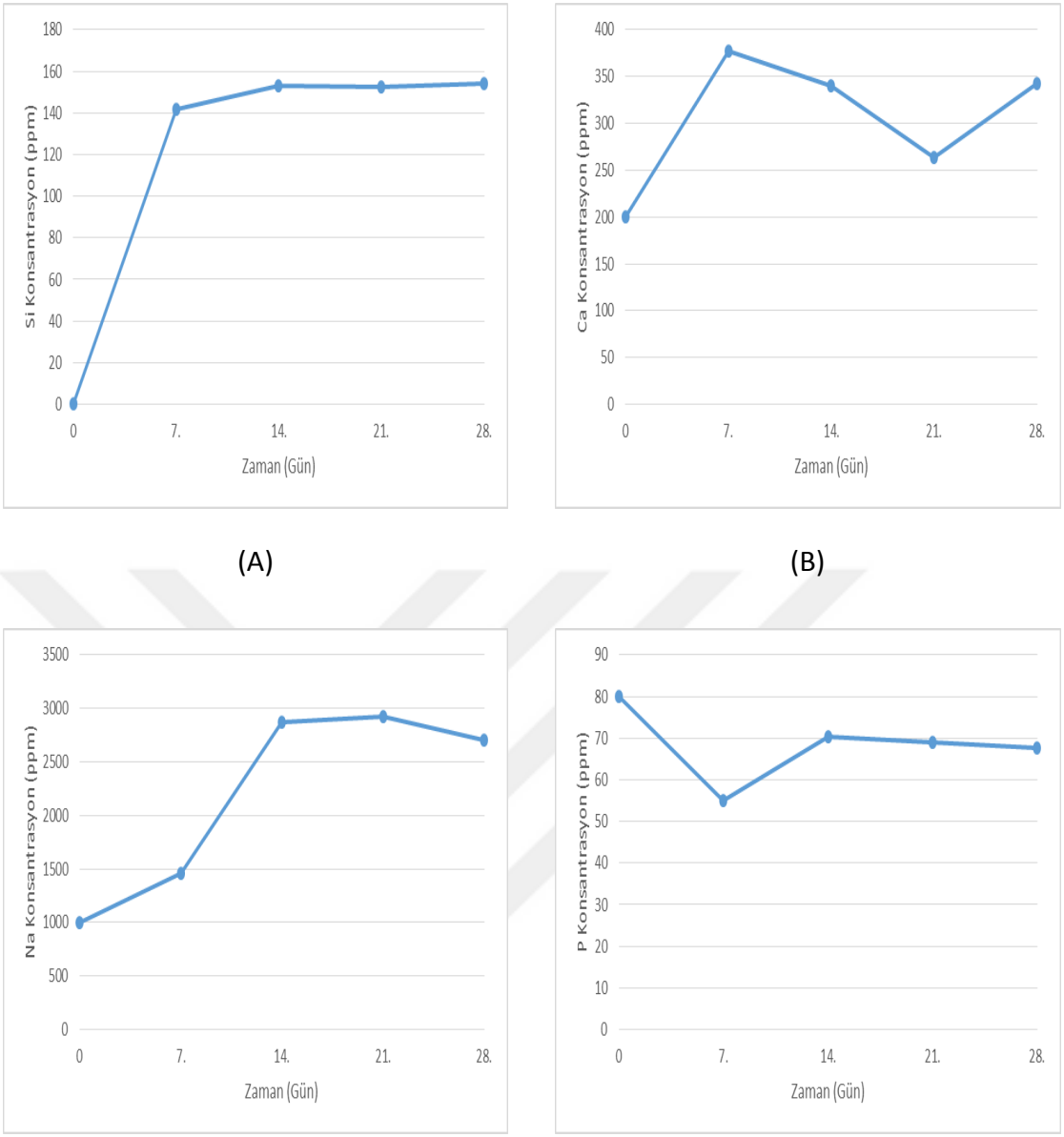
6.11.3 Enjekte Edilebilir Doku Destek Malzemelerinin İnkübasyon Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizleri

Doku destek malzemesi numunelerinin belirli periyotlarda (7., 14., 21., 28.; gün) yvs içersindeki inkübasyonu sonrası toplanan yvs örneklerinin ICP-OES analizleri ile belirlenen Si^{+4}, Ca^{+2}, Na^{+} ve P^{+5} iyonlarındaki değişimler Şekil 6.54-Şekil 6.61 arasında verilmiştir. Doku destek malzemesi numunelerinin içerisinde bulunan biyoaktif cam yapısındaki iyonların zaman içerisindeki salımı numunelerin biyoaktivite davranışlarını incelemede ve yorumlamada büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda yvs ile etkileşime giren numunelerin biyoaktivitesi, etkileşim sonucu oluşan kimyasal reaksiyonların iyon salımı ile ilişkilendirilmesine bağlı yorumlanabilmektedir. TSCP ve BSCP numunelerinin inkübe edildiği yvs örneklerinde zamana bağlı gerçekleşen iyon değişimleri incelendiği zaman, Si^{+4} iyonu konsantrasyonundaki ilk 7 gün sonundaki artış, yapı içerisindeki Si-O-Si bağlarının kırılarak Si^{+4} iyonunun yvs içerisinde salınması ile açıklanmaktadır. Diğer haftalarda ise bu durumun neredeyse sabit değerlere ulaşması numune üzerinde oluşan SiO_2 bakımından zengin amorf tabakanın artmasıyla ilişkilidir. Ca^{+2} ve Na^{+} iyonlarındaki ilk 7 gün sonundaki artış yvs içerisindeki H^{+} veya H_3O^{+} iyonları ile numunelerin yapısındaki Ca^{+2} ve Na^{+} iyonlarının yer değiştirme reaksiyonlarından dolayı gerçekleşmektedir. Diğer haftalarda ise, Ca^{+2} ve Na^{+} iyonlarının konsantrasyonlarındaki artış ve azalışlar numunelerin yapısında çözünmenin devam etmesi ayrıca çözelti içerisinde bulunan Ca^{+2} ve $(PO_4)^{-3}$ iyonlarının SiO_2 bakımından zengin amorf tabakanın üzerine çökmesi ve amorf kalsiyum fosfat (ACP) formasyonunun gerçekleşmesi ile açıklanmaktadır. Bütün yvs örneklerindeki P^{+5} iyon konsantrasyonlarındaki genel azalma ACP oluşuma ve numunelerin yüzeyi üzerinde birikme hızının numune yapısındaki P_2O_5' in çözünme hızından daha fazla olması ile ilişkilidir. Bütün iyon değişimleri göz önüne alındığı zaman, TSCP ve BSCP numunelerinin yüzeyinde HCA ve HA kristal oluşumlarının ilk 7 gün sonunda gerçekleştiği ve 28 gün boyunca devam ettiği rahatlıkla söylenebilir. Ayrıca numunelerin 28 gün sonra elde edilen SEM görüntüleri bu durumu destekler niteliktedir. Böylece tez kapsamında elde edilen doku destek malzemelerinin biyoaktivite özelliğine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Ticari silikalı biyoaktif cam kullanılarak elde edilen doku destek malzemelerinde olduğu gibi biyosilikalı biyoaktif

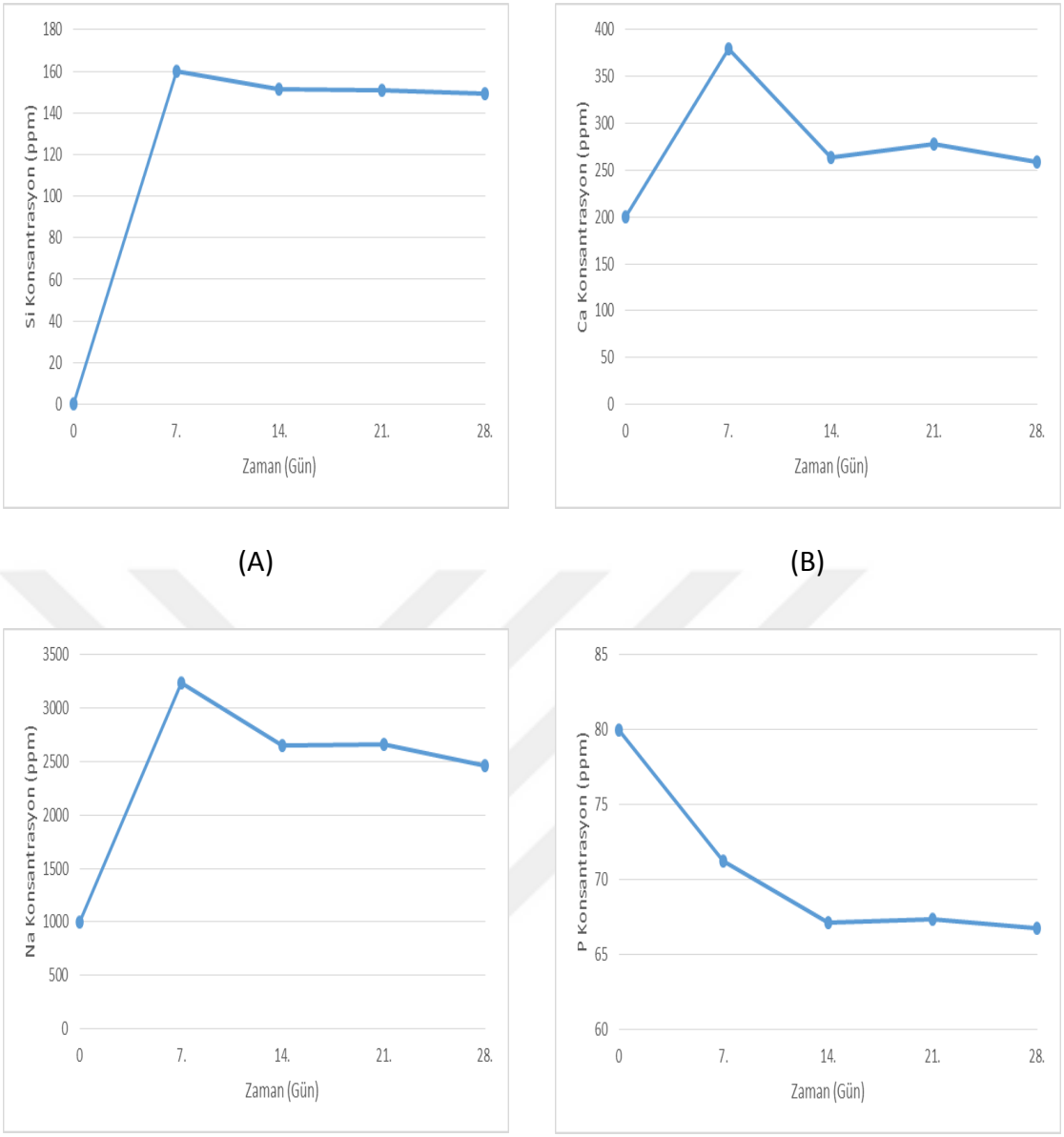
cam kullanılarak elde edilen doku destek malzemelerinin de biyolojik olarak aktif olduğu söylenebilir. Ek olarak, TSCP ve BSCP numunelerinin yapısındaki aljinat konsantrasyonunun değişimi, numunelerin biyoaktivitesine olumlu ya da olumsuz olarak bir etkide bulunmadığı söylenebilir.



Şekil 6. 54 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1TSCP7.5 numunesi için)



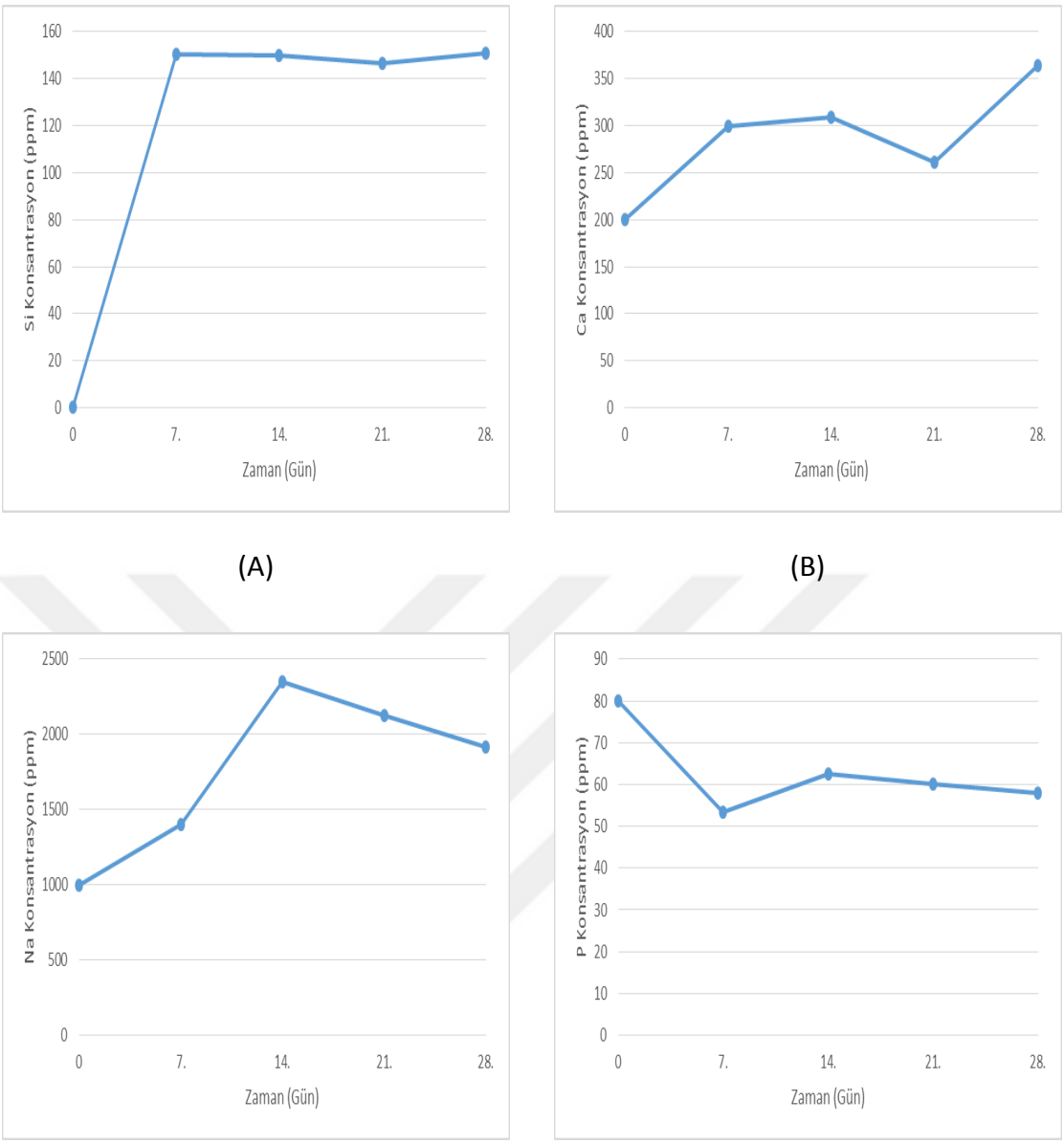
Şekil 6. 55 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2TSCP7.5 numunesi için)



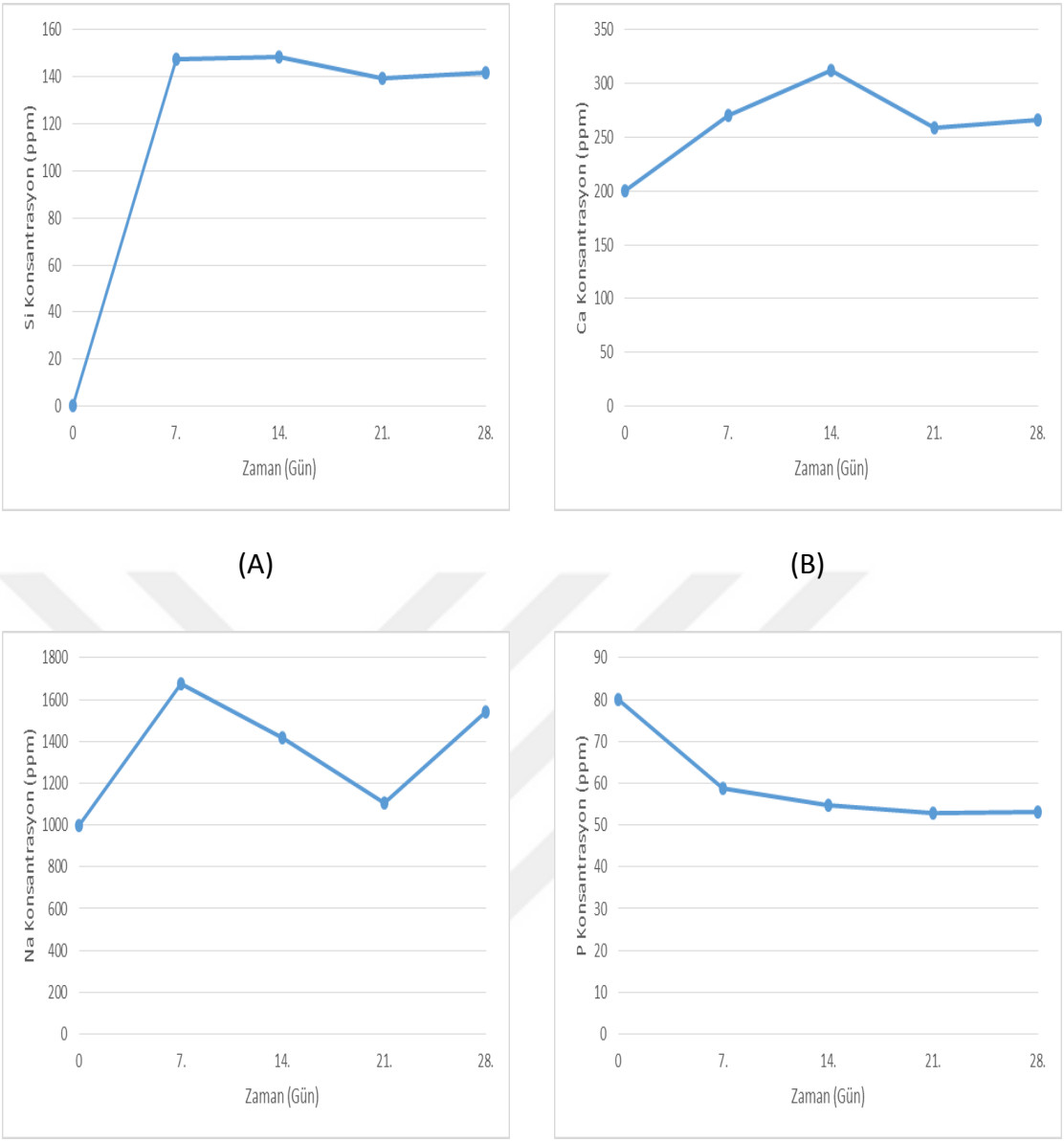
(A) (B)

(C) (D)

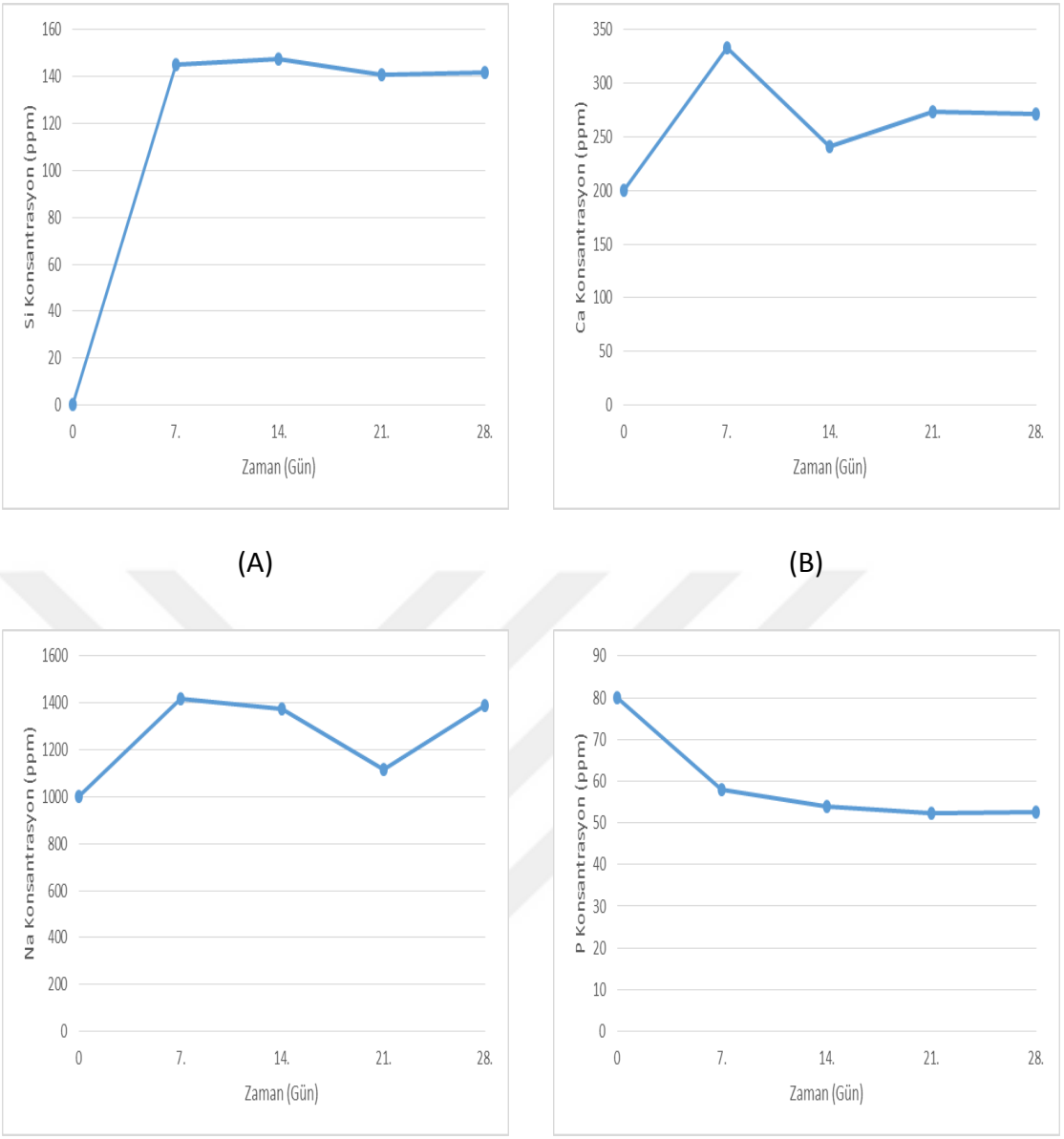
Şekil 6. 56 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1TSCP10 numunesi için)



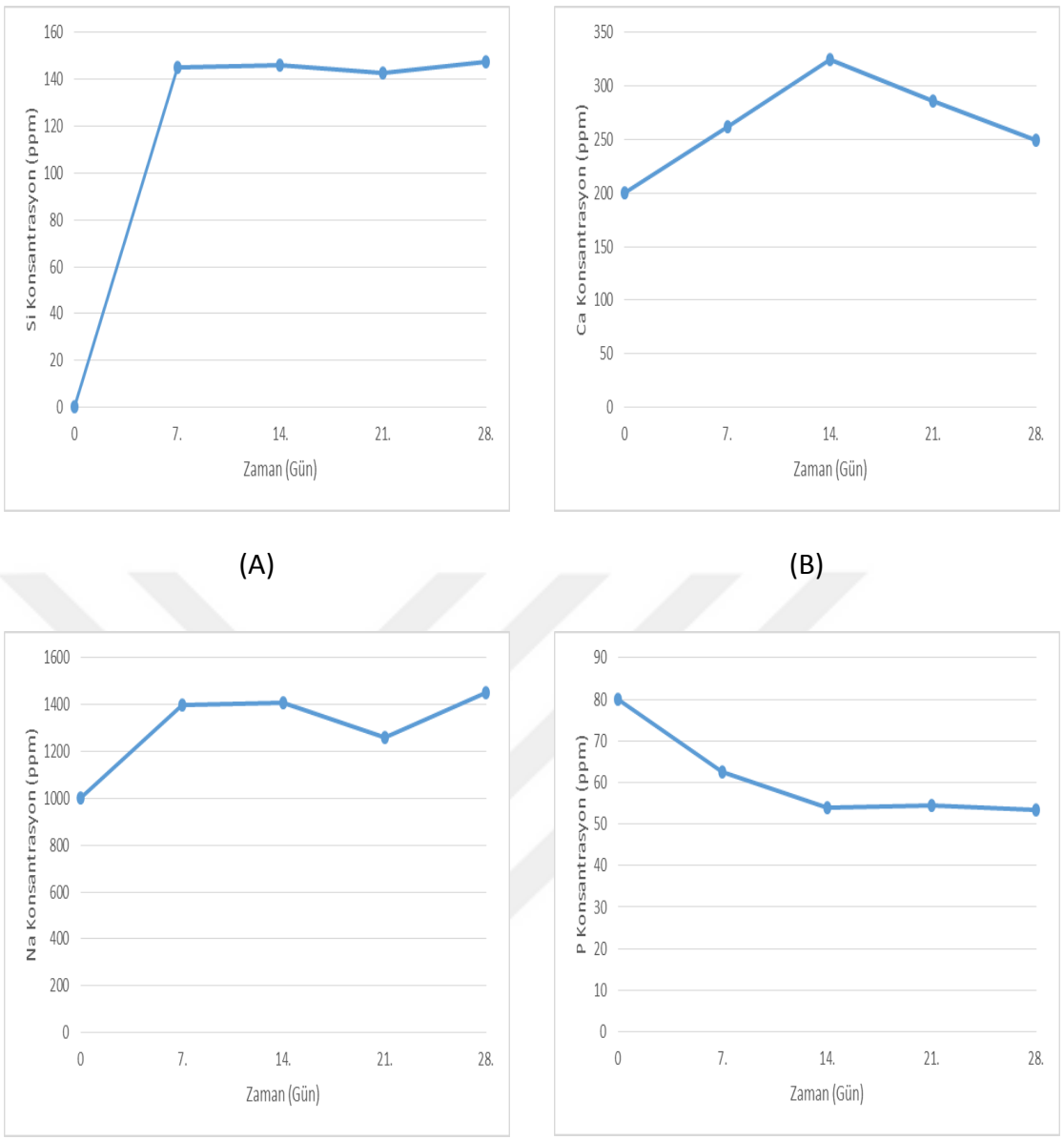
Şekil 6. 57 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2TSCP10 numunesi için)



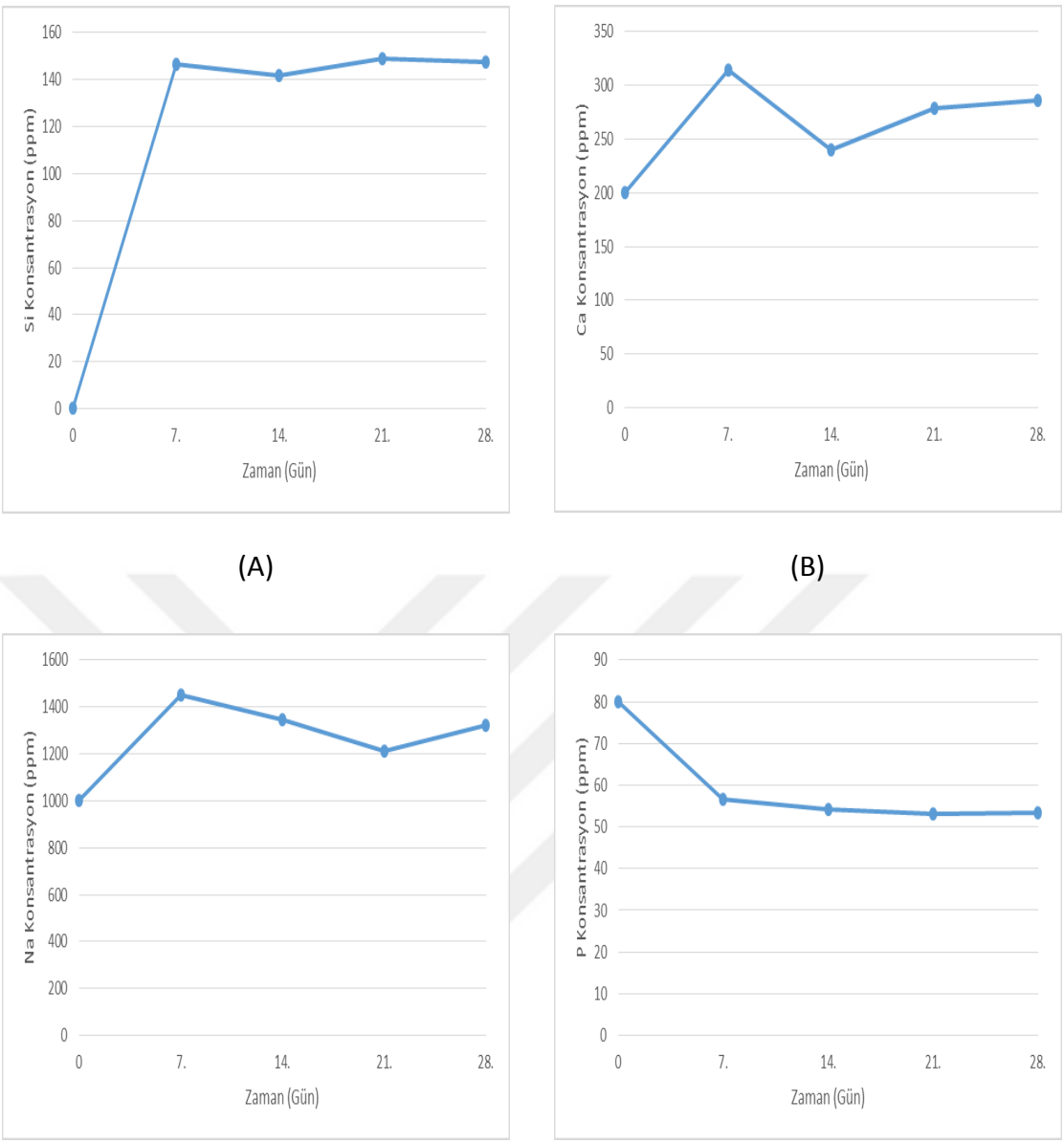
Şekil 6. 58 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1BSCP7.5 numunesi için)



Şekil 6. 59 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2BSCP7.5 numunesi için)



Şekil 6. 60 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (1BSCP10 numunesi için)



Şekil 6. 61 YVS örneklerinin günlere bağlı iyon konsantrasyonlarındaki değişim grafikleri, (A): Si konsantrasyonu, (B): Ca konsantrasyonu, (C): Na konsantrasyonu, (D): P konsantrasyonu, (2BSCP10 numunesi için)

BÖLÜM 7

GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yapılan bu tez çalışması kapsamında pirinç kabuğundan biyosilika üretimi, 2 farklı silika kaynağından biyoaktif cam üretimi ve farklı silika kaynaklı biyoaktif camlar ve aljinat biyopolimeri kullanılarak enjekte edilebilir doku destek malzemesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen numunelerin herbirinin yapısal özelliklerinin belirlenmesi için çeşitli karakterizasyon işlemleri (FT-IR, SEM-EDS, XRD, TGA-DSC, N_2-adsorpsiyon-desorpsiyon) gerçekleştirilmiştir.

Tez kapsamında amaçlanan farklı silika kaynaklı biyoaktif cam ve aljinat biyopolimerinden oluşan enjekte edilebilir kompozit yapıların biyoaktif cam-aljinat içeriğine bağlı akışkanlık davranışları ayrıca incelenerek çeşitli kemik doku mühendisliği uygulamaları için uygunluğu araştırılmıştır. Ek olarak, bu yapıların yapay vücut sıvısı içerisindeki davranışları incelenerek biyoaktivite özellikleri belirlenmiştir.

Yapılan tüm bu çalışmalar neticesinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1)Pirinç kabuğu külünden alkali ekstraksiyon yöntemi ile 2 modül sodyum silikat çözeltisi elde edilmiştir ve bu sodyum silikat çözeltisi %3.2 SiO_2 içeriğine sahiptir.

2)Sodyum silikat çözeltisinden elde edilen biyosilika numunesinin yapılan XRD analizleri sonucunda amorf yapıya sahip olduğu anlaşılmaktadır.

3)Farklı silika kaynağı kullanılarak ergitme yöntemi ile elde edilen biyoaktif camların XRD analizleri sonucunda amorf yapıya sahip oldukları belirlenmiştir.

4)Elde edilen biyosilika numunesinin N_2-adsorpsiyon-desorpsiyon analizleri sonucunda 265.88 m^2/g spesifik yüzey alanına sahip olduğu, biyosilikalı biyoaktif cam numunelesinin spesifik yüzey alanının ise 0.7347 m^2/g olduğu belirlenmiştir. Bu durum, ergitme işleminin spesifik yüzey alanını oldukça düşürdüğü şeklinde yorumlanabilir. Ayrıca tüm numunelerin ortalama gözenek çapı değerlerinin 2-50 nm arasında olduğu belirlenmiştir. Böylece numunelerin mezogözenek (IUPAC komitesinin belirlediği tanım) yapıya sahip olduğu söylenebilir.

5)Elde edilen ticari silikalı biyoaktif camların ve biyosilikalı biyoaktif camların yoğunluk analizleri (sırasıyla; 2.66 gr/cm^3 ve 2.70 gr/cm^3) doğrultusunda literatürde yer alan 2.78 gr/cm^3 yoğunluk değeri ile uyumlu olduğu söylenebilir.

6)Yapılan TG analizleri sonucunda, elde edilen biyosilika numunesinin sıcaklık artışına bağlı ağırlık kaybı 20-90 °C arasında ve 100-800°C arasında olmak üzere iki adımda gerçekleştiği ve 800°C sıcaklıktan sonra ağırlık kaybı yaşanmadığı belirlenmiştir. Yapılcan DSC analizleri sonuçlarında, elde edilen ticari silikalı ve biyosilikalı biyoaktif camların geçiş sıcaklık (T_g) değerleri sırasıyla 552 °C ve 541 °C olarak, kristallenme sıcaklık (T_c) değerleri ise, 717 °C ve 691 °C olarak belirlenmiştir.

7)Biyosilika ve farklı silika kaynaklı biyoaktif camların SEM görüntüleri doğrultusunda tüm numunelerin belirli bir morfolojik görüntü sergilemediği tespit edilmiştir. Diğer bir yandan yarı kantitatif EDS analizleri doğrultusunda elde edilen biyosilika numunesinin sadece Si ve O elementlerinden meydana geldiği anlaşılmaktadır. Ayrıca biyoaktif camların EDS analizleri doğrultusunda, cam numunelerin istenilen element içeriğinde (Si, O, Na, Ca ve P) üretilebildiği rahatlıkla söylenebilir.

8)Bu tez kapsamında, farklı oranlarda biyoaktif cam ve aljinat biyopolimeri içeriğinde kompozit doku destek malzemeleri üretimi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Bu durumu, biyoaktif cam yapısına özgü kimyasal bağlara ait FT-IR piklerinin ve aljinat yapısına özgü kimyasal bağlara ait FT-IR piklerinin bir arada yer aldığı FT-IR analizleri kanıtlamaktadır.

9)Kompozit doku destek malzemelerinin yüzey morfolojisini gösteren SEM görüntüleri, biyoaktif cam-aljinat kompozit yapısının başarıyla elde edildiğini göstermektedir. Ayrıca yarı kantitatif EDS analizleri doğrultusunda kompozit yapıda bulunması istenen elementlerin (C, Si, O, Na, Ca ve P) varlığı da bu durumu destekler niteliktedir.

10) Enjekte edilebilir kompozit doku destek malzemelerinin rotasyon yöntemi ile gerçekleştirilen reoloji analizleri, tez kapsamında üretilen tüm numunelerin newtonyen olmayan, zamandan bağımsız ve kayma hızına bağlı psödoplastik akış sergilediğini göstermiştir. Ayrıca tüm numuneler belirli bir kayma hızı (200 s^{-1}) sonrası bozunma davranışı sergilemektedir.

11) Elde edilen enjekte edilebilir doku destek malzemelerinin biyoaktif cam içeriği ve aljinat konsanstrasyonu yapının akışkanlık davranışını doğrudan etkilemektedir. Yapılan reoloji analizleri doğrultusunda, biyoaktif cam içeriğinin artmasının veya aljinat konsantrasyonunun artmasının kompozit yapının akışkanlığını azalttığı ayrıca akış türünün newtonyen akıştan uzaklaştığı yönünde sonuçlar vermiştir.

12) Elde edilen enjekte edilebilir kompozit doku destek malzemeleri için biyoaktif cam içeriğindeki artış veya aljinat konsantrasyonundaki artışın, yapının viskozitesinde belirgin bir artışa neden olduğu da diğer bulgular arasında yer almaktadır. Ayrıca farklı silika kaynaklı biyoaktif camların farklı spesifik yüzey alanına sahip olmaları da doku destek malzemelerinin viskozite özelliklerini kısmen etkilemektedir.

13) Enjekte edilebilir kompozit doku destek malzemelerinin Ostwald de Walde (Power Law) eşitliğine uygunluğu incelendiği zaman, 2TSCP10 ve 2BSCP10 numuneleri haricindeki tüm numunelerin %85’ in üzerinde uygunluk gösterdiği rahatlıkla söylenebilir. 2TSCP10 ve 2BSCP10 numunelerinin akışkanlık davranışlarının çok düşük olması ve eşitliğe (modele) uygun olmaması, oda şartlarında hızlı donma davranışı sergilemeleriyle ilişkilendirilmiştir.

14)FTIR sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde tüm doku destek malzemeleri için Si-O-Si pikinin inkübasyon süresince (7, 14, 21, 28; gün) azaldığı ve Si-OH

pikinin arttığı görülmüştür. Ayrıca HA oluşumuna bağlı olarak $(PO_4)^{-3}$ gruplarına ait pik şiddetlerinin de arttığı görülmüştür.

15) Yapay vücut sıvısı içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen doku destek malzemelerinin yüzey morfolojisini gösteren SEM görüntüleri incelendiğinde HA oluşumu ve HA birikmesi tüm doku destek malzemesi numuneleri için net bir şekilde görülmektedir. Ek olarak, EDS analizleri doğrultusunda yapılan incelemelerde doku destek malzemelerinin yüzeyindeki Si elementindeki belirgin azalma ve Ca-P elementlerindeki belirgin artma HA çökelmesi ve oluşumunu destekler niteliktedir.

16)ICP-OES analizleri doğrultusunda, tez kapsamında elde edilen doku destek malzemelerinin yapay vücut sıvısı ile etkileşimi sonrası beklenildiği gibi iyon salımı gerçekleştirdiği ve böylece biyoaktivitenin bir göstergesi olan HA oluşumunu destekleyerek doku destek malzemesi yüzeyinde HA birikiminin oluşmasını sağladığı anlaşılmaktadır. Özellikle HCA veya HA tabakası oluşumunda yapıya katılan Ca^{+2} ve P^{+5} iyonları açısından incelendiğinde, yapay vücut sıvısı içerisindeki P^{+5} iyonunun 28 gün boyunca tükenmesi ve Ca^{+2} iyonunun özellikle 7., 14., 21. gün sonrasındaki azalışı gözlemlenmektedir. Bu sonuç ayrıca SEM görüntülerinde yorumlanan sonuçlar ile paralellik taşımaktadır.

Öneriler:

1)Hızlı donma davranışı sergileyen biyoaktif cam içeriği fazla olan veya aljinat konsantrasyonu fazla olan numuneler için akışkanlık testlerinin yanı sıra viskoelastik testlerinin yapılması bu tür numunelerin enjekte edilebilir şekilde kullanılmak yerine macun olarak kullanılmasının araştırılması uygun olacaktır.

2)Doku destek malzemeleri yüzeyindeki HA tabakası oluşumunun daha hassas analizler ile (XRD vb.) desteklenmesi faydalı olacaktır.

3)Doku destek malzemelerinin *in vitro* yapay vücut sıvısı analizlerinden farklı olarak *in vitro* hücre testlerinin yapılması ve biyolojik davranışlarının kemik hücreleri üzerindeki etkisinin incelenmesi çalışmanın akademik niteliğini artırarak kemik doku mühendisliği uygulamalarına katkı sağlamasını kolaylaştırabilir. Bu sebeple

doku destek malzemeleri kullanılarak, sitotoksisite, hücre canlılığı ve mineralizasyon testlerinin gerçekleştirilmesi uygun olacaktır.

4)Doku destek malzemelerinin antibakteriyel etki testlerinin yapılması, ileriki süreçte gerçekleştirilebilecek klinik çalışmalar için büyük önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Langer, R. ve Vacanti, J.P., (1993). "Tissue engineering", Science, 260: 920-926.

[2] Carulli, C., Matassi, F., Civinini, R., ve Innocenti, M., (2013). "Tissue engineering applications in the management of bone loss", Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism, 10: 22-25.

[3] Laurencin, C.T., Ambrosio, A., Borden, M., ve Cooper Jr, J., (1999). "Tissue engineering: orthopedic applications", Annual Review of Biomedical engineering, 1: 19-46.

[4] Hutmacher, D.W., (2000). "Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage", Biomaterials, 21: 2529-2543.

[5] Wu, S., Liu, X., Yeung, K.W., Liu, C., ve Yang, X., (2014). "Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering", Materials Science and Engineering: R: Reports, 80: 1-36.

[6] Stevens, M.M., (2008). "Biomaterials for Bone Tissue Engineering", Materials Today, 11: 5.

[7] Salgado, A.J., Coutinho, O.P., ve Reis, R.L., (2004). "Bone tissue engineering: state of the art and future trends", Macromolecular Bioscience, 4: 743-765.

[8] Orban, J.M., Marra, K.G., ve Hollinger, J.O., (2002). "Composition options for tissue-engineered bone", Tissue Engineering, 8: 529-539.

[9] Gönen, S.Ö., Taygun, M.E., ve Küçükbayrak, S., (2016). "Fabrication of bioactive glass containing nanocomposite fiber mats for bone tissue engineering applications", Composite Structures, 138: 96-106.

[10] Swetha, M., Sahithi, K., Moorthi, A., Srinivasan, N., Ramasamy, K., ve Selvamurugan, N., (2010). "Biocomposites containing natural polymers and hydroxyapatite for bone tissue engineering", International Journal of Biological Macromolecules, 47: 1-4.

[11] Chen, G., Ushida, T., ve Tateishi, T., (2002). "Scaffold design for tissue engineering", Macromolecular Bioscience, 2: 67-77.

[12] Ozarslan, A.C. ve Yucel, S., (2016). "Fabrication and characterization of strontium incorporated 3-D bioactive glass scaffolds for bone tissue from biosilica", Materials Science and Engineering: C, 68: 350-357.

[13] O'brien, F.J., (2011). "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering", Materials Today, 14: 88-95.

[14] Babensee, J.E., Anderson, J.M., McIntire, L.V., ve Mikos, A.G., (1998). "Host response to tissue engineered devices", Advanced Drug Delivery Reviews, 33: 111-139.

[15] Brown, B.N., Valentin, J.E., Stewart-Akers, A.M., McCabe, G.P., ve Badylak, S.F., (2009). "Macrophage phenotype and remodeling outcomes in response to biologic scaffolds with and without a cellular component", Biomaterials, 30: 1482-1491.

[16] Lyons, F.G., Al-Munajjed, A.A., Kieran, S.M., Toner, M.E., Murphy, C.M., Duffy, G.P., ve O'Brien, F.J., (2010). "The healing of bony defects by cell-free collagen-based scaffolds compared to stem cell-seeded tissue engineered constructs", Biomaterials, 31: 9232-9243.

[17] Phelps, E.A. ve Garcia, A.J., (2009). "Update on therapeutic vascularization strategies", Regenerative Medicine, 4: 65-80.

[18] Ko, H., Milthorpe, B.K., ve McFarland, C.D., (2007). "Engineering thick tissues—the vascularisation problem", European Cells and Materials Journal, 14:1-18.

[19] Yannas, I., Lee, E., Orgill, D., Skrabut, E., ve Murphy, G., (1989). "Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin", Proceedings of the National Academy of Sciences, 86: 933-937.

[20] Murphy, C.M., Haugh, M.G., ve O'Brien, F.J., (2010). "The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen–glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering", Biomaterials, 31: 461-466.

[21] Murphy, C.M. ve O'Brien, F.J., (2010). "Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds", Cell Adhesion and Migration, 4: 377-381.

[22] Liu, C., Xia, Z., ve Czernuszka, J., (2007). "Design and development of three-dimensional scaffolds for tissue engineering", Chemical Engineering Research and Design, 85: 1051-1064.

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

[24] Ambrosio, A., Sahota, J.S., Khan, Y., ve Laurencin, C.T., (2001). "A novel amorphous calcium phosphate polymer ceramic for bone repair: I. Synthesis and characterization", Journal of Biomedical Materials Research, 58: 295-301.

[25] Wang, M., (2003). "Developing bioactive composite materials for tissue replacement", Biomaterials, 24: 2133-2151.

[26] Liu, H., Slamovich, E.B., ve Webster, T.J., (2006). "Less harmful acidic degradation of poly (lactic-co-glycolic acid) bone tissue engineering scaffolds

through titania nanoparticle addition", International Journal of Nanomedicine, 1: 541.

[27] Kim, S.-S., Park, M.S., Jeon, O., Choi, C.Y., ve Kim, B.-S., (2006). "Poly (lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering", Biomaterials, 27: 1399-1409.

[28] Laurencin, C. T., ve Nair, L. S., (2008). "Nanotechnology and tissue engineering: the scaffold", Boca Raton, FL, CRC Press.

[29] Gutowska, A., Jeong, B., ve Jasionowski, M., (2001). "Injectable gels for tissue engineering", The Anatomical Record, 263: 342-349.

[30] Kona, S., Wadajkar, A.S., Nguyen, K.T., (2011). "Tissue engineering applications of injectable biomaterials", Injectable Biomaterials Science and Applications A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials, 6:142-182.

[31] Mano, J.F., Silva, G.A., Azevedo, H. S., Malafaya, P.B., Sousa, R.A., Silva, S.S., Boesel, L.F., Oliveira, J.M., Santos, T.C., Marques, A.P., Neves, N.M. ve Reis, R.L., (2007). "Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends", Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society, 4:999-1030.

[32] Chung, J.E., Kurisawa, M., Uyama, H. ve Kobayashi, S., (2003). "Enzymatic synthesis and antioxidant property of gelatin-catechin conjugates", Biotechnology Letters, 25:1993-1997.

[33] Kobayashi, S., Fujikawa, S. ve Ohmae, M., (2003). "Enzymatic synthesis of chondroitin and its derivatives catalyzed by hyaluronidase", Journal of The American Chemical Society, 125:14357-14369.

[34] Bauer, T.W. ve Muschler, G.F., (2000). "Bone graft materials. An overview of the basic science", Clinical Orthopaedics and Related Research, 371:10-27.

[35] Albee H. ve Morrison S.J., (1920). "Studies in bone growth triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis", Annals of Surgery., 71:32-39.

[36] Dreesmann, H., (1892). "Ueber Knochenplombierung", Beitr. Klin. Chir., 9:804-810.

[37] Cameron, H.U., Macnab, I. ve Pilliar, R.M., (1977). "Evaluation of a biodegradable ceramic", Journal of Biomedical Materials Research, 11:179-186.

[38] Hench, L.L., (1980). "Biomaterials", Science, 208:826-831.

[39] Hulbert, S.F., Young, F.A., Mathews, R.S., Klawitter, J.J., Talbert, C.D. ve Stelling, F.H., (1970). "Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses", Journal of Biomedical Materials Research, 4:433-456.

[40] Jarcho, M., Bolen, C.H., Thomas, M.B., Bobick, J., Kay, J.F. ve Doremus, R.H., (1976). "Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form", Journal of Materials Science Letters, 11: 2027-2035.

[41] Klawitter, J.J. ve Hulbert, S.F., (1971). “Application of porous ceramics for the attachment of load bearing internal orthopedic applications”, Journal of Biomedical Materials Research Symposium, 2:161-229.

[42] Nery, E.B., Lynch, K.L. ve Rooney, G.E., (1978). “Alveolar ridge augmentation with tricalcium phosphate ceramic”, Journal of Prosthetic Dentistry, 40:668-675.

[43] Roy, D.M. ve Linnehan, S.K., (1974). “Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange”, Nature, 247:220-222.

[44] White, R.A., Weber, J.N. ve White, E.W., (1972). “Replamineform: a new process for preparing porous ceramic, metal, and polymer prosthetic materials”, Science, 176:922-924.

[45] Brown, W.E. ve Chow, L.C., (1983). “A new calcium phosphate setting cement”, Journal of Dental Research, 62:672.

[46] LeGeros, R.Z., Chohayeb, A. ve Shulman, A., (1982). “Apatitic calcium phosphates: possible dental restorative materials”, Journal of Dental Research, 1982:343.

[47] Hanker, J.S., Terry, B.C., Ambrose, W.W. ve Lupton C.R., (1986). “Plaster of paris as a bioresorbable scaffold in implants for bone repair” inventors; University of North Carolina, assignee, USA.

[48] Klein, C.P., van der Lubbe, H.B. ve de Groot, K., (1987). “A plastic composite of alginate with calcium phosphate granulate as implant material: an in vivo study”, Biomaterials, 8:308-310.

[49] Gerhart, T.N., Miller, R.L., Kleshinski, S.J. ve Hayes, W.C., (1988). “In vitro characterization and biomechanical optimization of a biodegradable particulate composite bone cement”, Journal of Biomedical Materials Research, 22:1071-1082.

[50] Gerhart, T.N., Renshaw, A.A., Miller, R.L., Noecker, R.J. ve Hayes, W.C., (1989). “In vivo histologic and biomechanical characterization of a biodegradable particulate composite bone cement”, Journal of Biomedical Materials Research, 23:1-16.

[51] Constantz, B.R., Ison, I.C., Fulmer, M.T., Poser R.D., Smith, S.T., VanWagoner, M., Ross, J., Goldstein, S.A., Jupiter, J.B. ve Rosenthal, D.I., (1995). “Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone”, Science, 267:1796-1799.

[52] Kveton, J.F., Friedman, C.D. ve Costantino, P.D., (1995). “Indications for hydroxyapatite cement reconstruction in lateral skull base surgery”, American Journal of Otolaryngology, 16:465-469.

[53] Kveton, J.F., Friedman, C.D., Piepmeier, J.M. ve Costantino, P.D., (1995). “Reconstruction of suboccipital craniectomy defects with hydroxyapatite cement: a preliminary report”, Laryngoscope, 105:156-159.

[54] Khairoun, I., Driessens, F.C., Boltong, M.G., Planell, J.A. ve Wenz, R., (1999). “Addition of cohesion promotors to calcium phosphate cements”, Biomaterials, 20:393-398.

[55] Lee, D.D., Tofighi, A., Aiolova, M., Chakravarthy, P., Catalano, A., Majahad A. ve Knaack, D., (1999). “alpha-BSM: a biomimetic bone substitute and drug delivery vehicle”, Clinical Orthopaedics and Related Research, 367:S396-405.

[56] Tofighi, A., Mounic, S., Chakravarthy, P., Rey C. ve Lee, D., (2001). “Setting reactions involved in injectable cements based on amorphous calcium phosphate”, Key Engineering Materials, 192-195:769-772.

[57] Frayssinet, P., Roudier, M., Lerch, A., Ceolin, J.L., Depres, E. ve Rouquet, N., (2000). “Tissue reaction against a self-setting calcium phosphate cement set in bone or outside the organism”, Journal of Materials Science:Materials in Medicine, 11:811-815.

[58] Mulliez, M.A. ve Wenz, R., (2002). “Physical-chemical characterization of a new magnesium containing calcium phosphate cement SOPRIM”, European Society for Biomaterials Annual Meeting (ESB 2002), 11-14 September 2002, Barcelona.

[59] Fernandez, E., Planell, J.A., Best, S.M. ve Bonfield, W., (1998). “Synthesis of dahllite through a cement setting reaction”, Journal of Materials Science:Materials in Medicine, 9:789-792.

[60] Bohner, M., Theiss, F., Apelt, D., Hirsiger, W., Houriet, R., Rizzoli, G., Gnos, E., Frei, C., Auer, J.A. ve von Rechenberg, B., (2003). “Compositional changes of a dicalcium phosphate dihydrate cement after implantation in sheep”, Biomaterials, 24:3463-3474.

[61] Hench, L.L., (2006). "The story of bioglass", The Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 17: 967-978.

[62] Hench, L.L., (1988). "Bioactive ceramics", Annals of the New York Academy of Sciences, 523: 54-71.

[63] Lee, E.-J., Kim, H.-W., ve Knowles, J.C., (2014). “Ceramic biomaterials as tissue scaffolds”, Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences, 163-174.

[64] Kasuga, T., (2005). "Bioactive calcium pyrophosphate glasses and glass-ceramics", Acta Biomaterialia, 1: 55-64.

[65] Vitale-Brovarone, C., Verné, E., Robiglio, L., Martinasso, G., Canuto, R.A., ve Muzio, G., (2008). "Biocompatible glass–ceramic materials for bone substitution", Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 19: 471-478.

[66] Vitale-Brovarone, C., Vernè, E., Bosetti, M., Appendino, P., ve Cannas, M., (2005). "Microstructural and in vitro characterization of SiO2-Na2O-CaO-MgO glass-ceramic bioactive scaffolds for bone substitutes", Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 16: 909-917.

[67] Gentleman, E., Fredholm, Y.C., Jell, G., Lotfibakhshaiesh, N., O'Donnell, M.D., Hill, R.G., ve Stevens, M.M., (2010). "The effects of strontium-substituted

bioactive glasses on osteoblasts and osteoclasts in vitro", Biomaterials, 31: 3949-3956.

[68] Sindhu, S., Sanghi, S., Agarwal, A., Seth, V., ve Kishore, N., (2006). "Structural, optical, physical and electrical properties of V 2 O 5· SrO· B 2 O 3 glasses", Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 64: 196-204.

[69] Cannillo, V. ve Sola, A., (2009). "Potassium-based composition for a bioactive glass", Ceramics International, 35: 3389-3393.

[70] Aina, V., Malavasi, G., Pla, A.F., Munaron, L., ve Morterra, C., (2009). "Zinc-containing bioactive glasses: surface reactivity and behaviour towards endothelial cells", Acta Biomaterialia, 5: 1211-1222.

[71] Karakuzu B., (2015). Yapay Kemik Olarak Kullanılabilen Biyosilikalı Sr ve Mo Katkılı 45S5 Biyoaktif Camların Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[72] Mete E., (2016). Kemik Kırıklarının Tedavisinde Kullanılmak Üzere Biyosilikalı TiO_2 Katkılı 45S5 Biyoaktif Camların Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[73] Rahmanlar İ., (2016). Mg, Al, Se Katkılı Biyoaktif Camların Biyosilikadan Ergitme Yöntemi ile Üretimi ve Biyoaktivite, Biyobozunurluk Davranışları ile Hücre Çalışmalarının İncelenmesi, Doktora Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[74] Hench, L.L. ve Paschall, H., (1973). "Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle", Journal of biomedical materials research, 7: 25-42.

[75] Kim, C.Y., Clark, A., ve Hench, L.L., (1992). "Compositional dependence of calcium phosphate layer formation in fluoride Bioglasses®", Journal of Biomedical Materials Research, 26: 1147-1161.

[76] Blumenthal, N., Posner, A., Cosma, V., ve Gross, U., (1988). "The effect of glass–ceramic bone implant materials on the in vitro formation of hydroxyapatite", Journal of Biomedical Materials Research, 22: 1033-1041.

[77] Yoshii, S., Kakutani, Y., Yamamuro, T., Nakamura, T., Kitsugi, T., Oka, M., Kokubo, T., ve Takagi, M., (1988). "Strength of bonding between A-W glass-ceramic and the surface of bone cortex", Journal of Biomedical Materials Research, 22: 327-338.

[78] Höland, W., Vogel, W., Naumann, K., ve Gummel, J., (1985). "Interface reactions between machinable bioactive glass-ceramics and bone", Journal of Biomedical Materials Research, 19: 303-312.

[79] Andersson, O.H., Karlsson, K.H., Kangasniemi, K., ve Xli-Urpo, A., (1988). "Models for physical properties and bioactivity of phosphate opal glasses", Glastechnische Berichte, 61: 300-305.

[80] Zehnder, M., Söderling, E., Salonen, J., ve Waltimo, T., (2004). "Preliminary evaluation of bioactive glass S53P4 as an endodontic medication in vitro", Journal of Endodontics, 30: 220-224.

[81] Ceyhan, T., Günay, V., Çapoğlu, A., Sayrak, H., ve Karaca, Ç., (2007). "Production and characterization of a glass-ceramic biomaterial and in vitro and in vivo evaluation of its biological effects", Acta Orthopaedica Et Traumatologica Turcıca, 41: 307-313.

[82] Erol-Taygun, M., Zheng, K., ve Boccaccini, A.R., (2013). "Nanoscale bioactive glasses in medical applications", International Journal of Applied Glass Science, 4: 136-148.

[83] Hench, LL., (1998). "Bioceramics", Journal of the American Ceramic Society, 81: 1705–1728.

[84] 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: 583-596.

[85] 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, 47: 647-658.

[86] Fu, Q., Saiz, E., Rahaman, M.N., ve Tomsia, A.P., (2011). "Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives", Materials Science and Engineering: C, 31: 1245-1256.

[87] 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: 2355-2373.

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

[89] Borhan, S., Hesaraki, S., Behnamghader, A.A. ve Ghasemi, E., (2016). “Reological evaluations and in vitro studies of injectable bioactive glass-polycaprolactone-sodium alginate composites”, Journal of Materials Science:Materials in Medicine, 27:137.

[90] Elalmış, Y., (2015). Dental kompozitlerde pirinç kabuğu külünden üretilen silika tozlarının kullanılması , Doktora Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[91] Lagaly, G., Tufar, W., Minihan, A. ve Lovell, A., (2000). “Silicates”, Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry, 32:509-572.

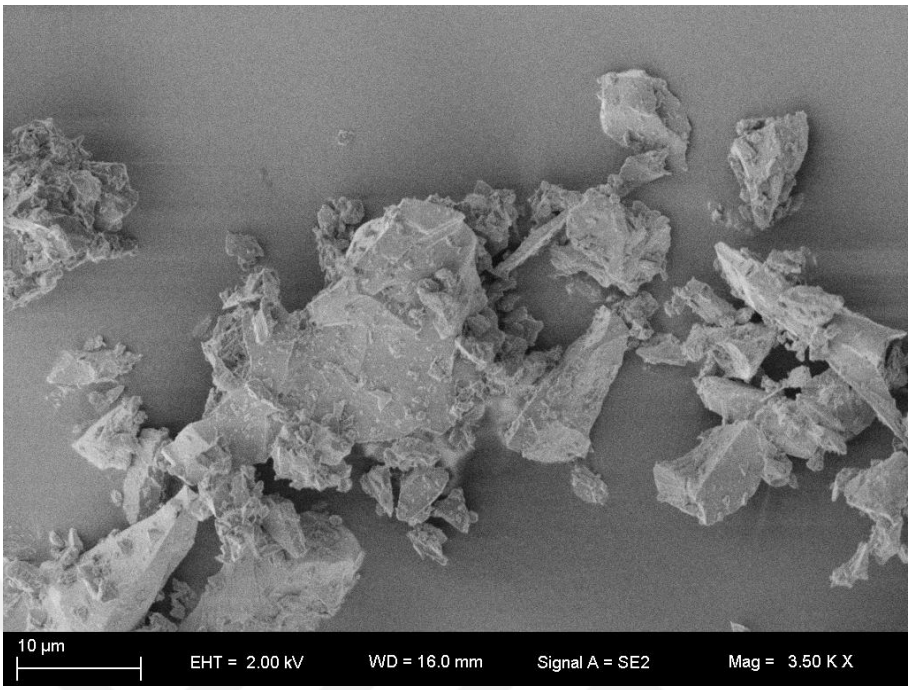
[92] Desimone, D., Li, W., Roether, J.A., Schubert, D.W., Crovace, M.C., Rodrigues, A.C.M., Zanotto E.D. ve Boccaccini, A.R., (2013). “Biosilicate®–gelatine bone scaffolds by the foam replica technique: development and characterization”, Science and Technology of Advanced Materials, 14:045008.

EK-A

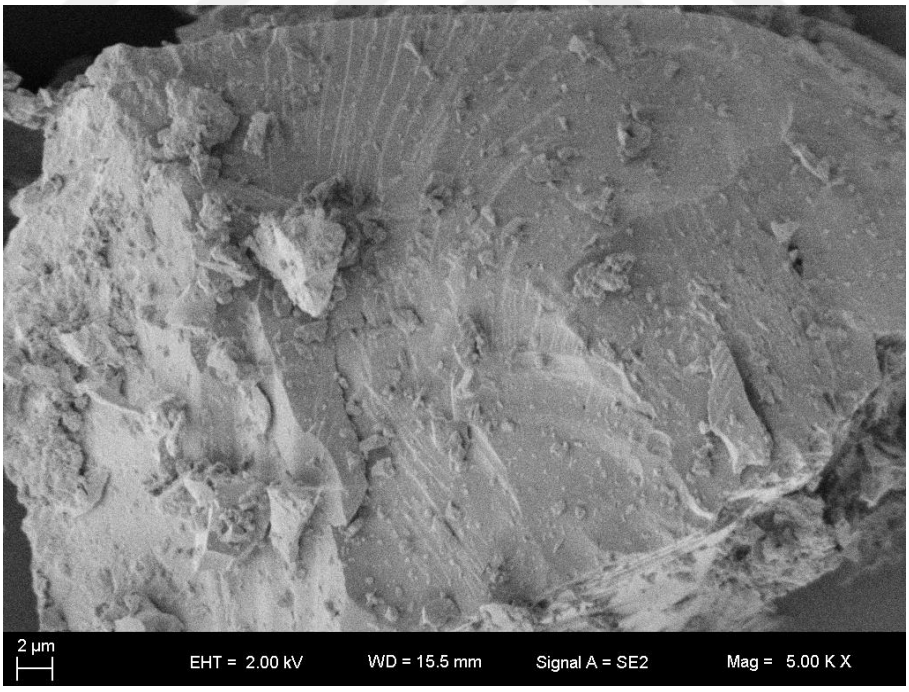
EK GÖRÜNTÜLER ve GRAFİKLER

Ticari silika ve biyosilika numunelerinin, ticari silikalı biyoaktif cam ve biyosilikalı biyoaktif cam numunelerinin, elde edilen doku destek malzemesi numunelerinin farklı büyütmelerdeki ek SEM görüntüleri, doku destek malzemelerinin YVS öncesi ve YVS sonrası karşılaştırmalı ek SEM görüntüleri bu bölümde ek olarak verilmiştir.

A-1 Ticari Silika ve Biyosilika Numunelerinin Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri

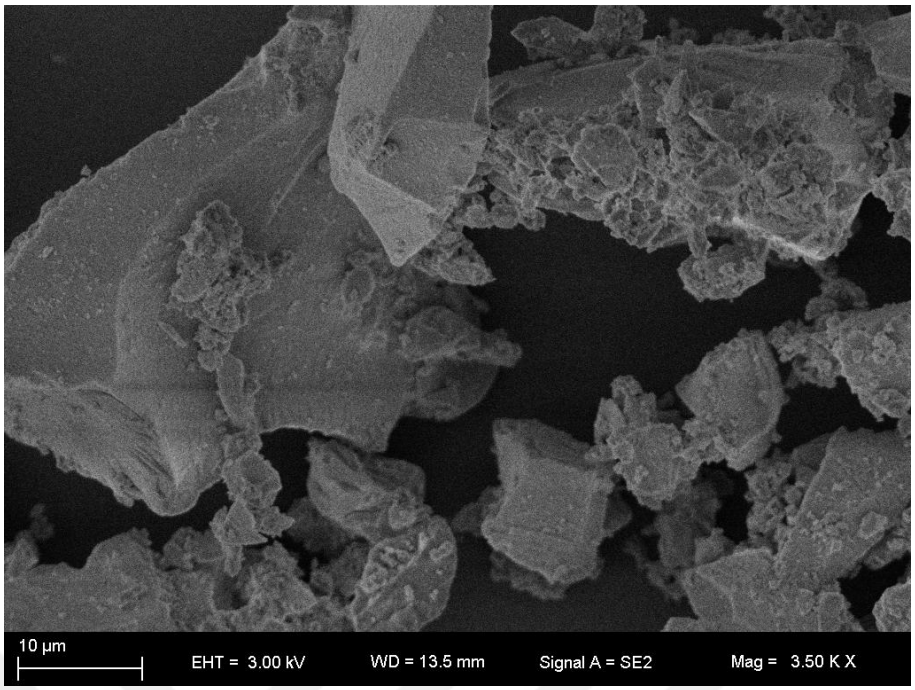


(A)

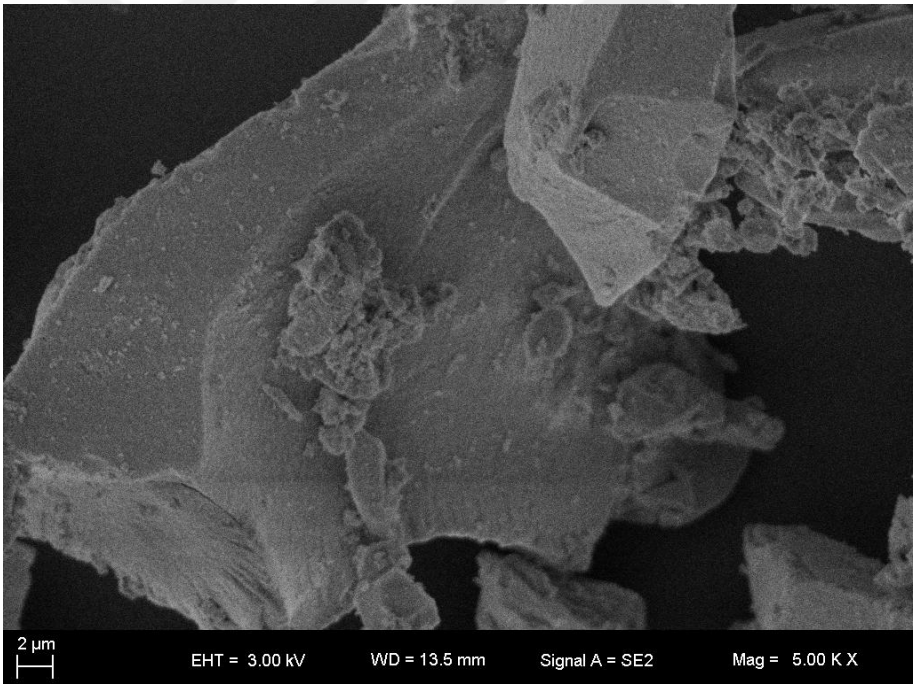


(B)

Ek-A-1. 1 Ticari silika (TS) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX



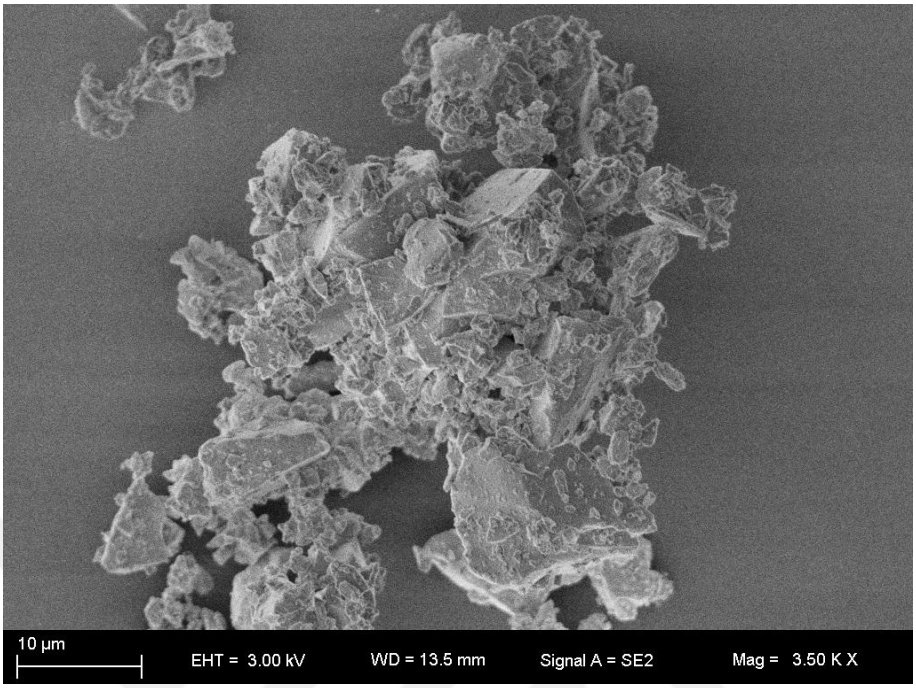
(A)



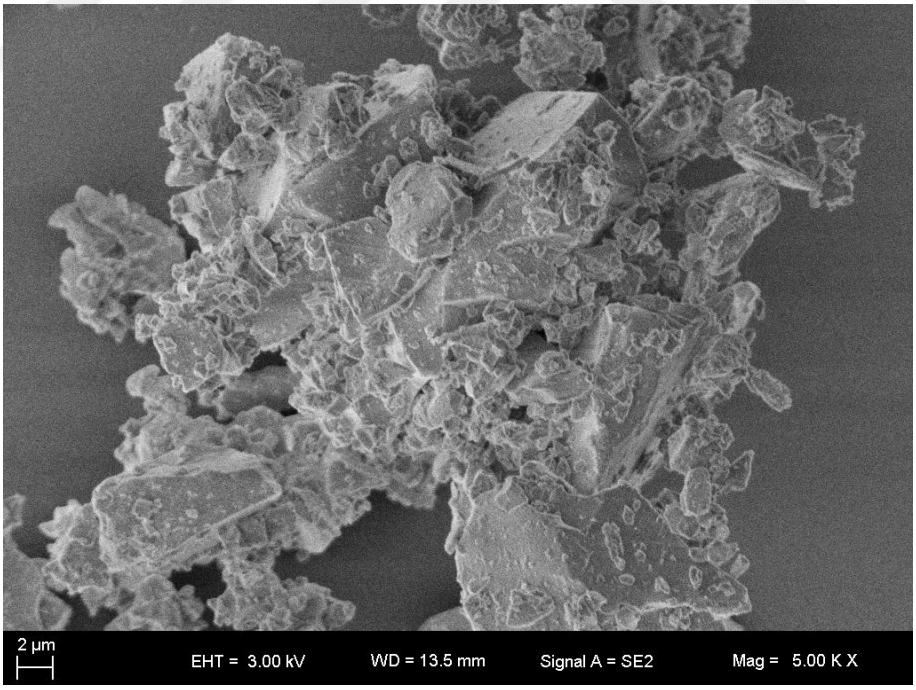
(B)

Ek-A-1. 2 Biyosilika (BS) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX

A-2 Ticari Silikalı Biyoaktif Cam ve Biyosilikalı Biyoaktif Cam Numunelerinin Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri

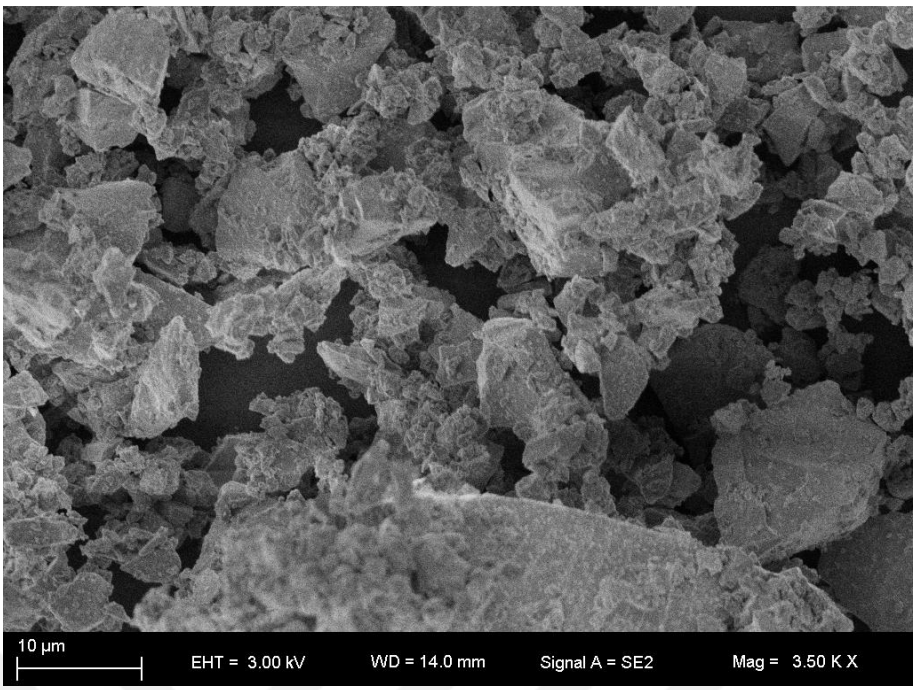


(A)

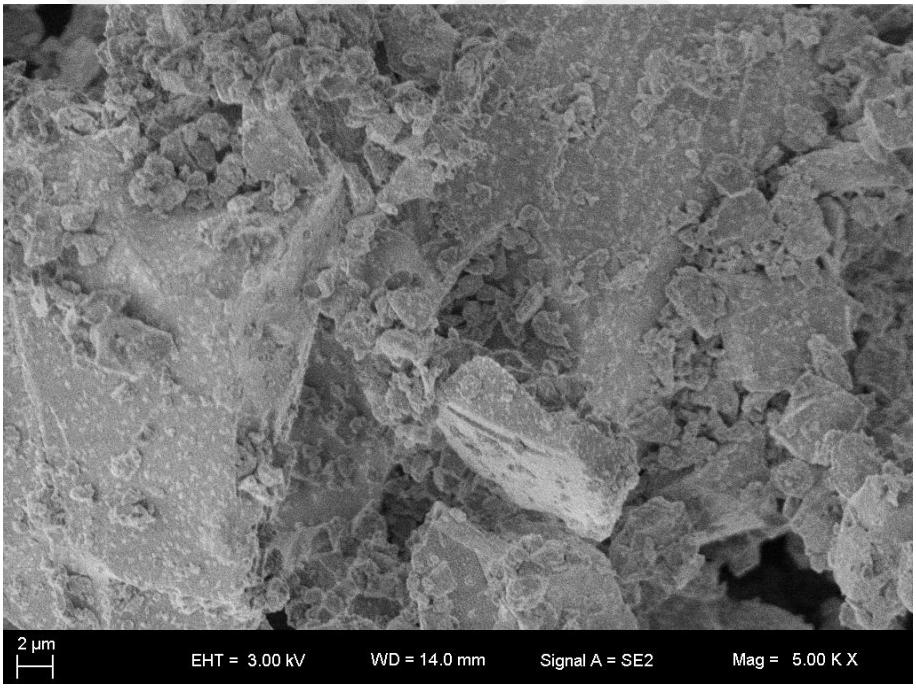


(B)

Ek-A-2. 1 Ticari silikalı biyoaktif cam (TSC) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX



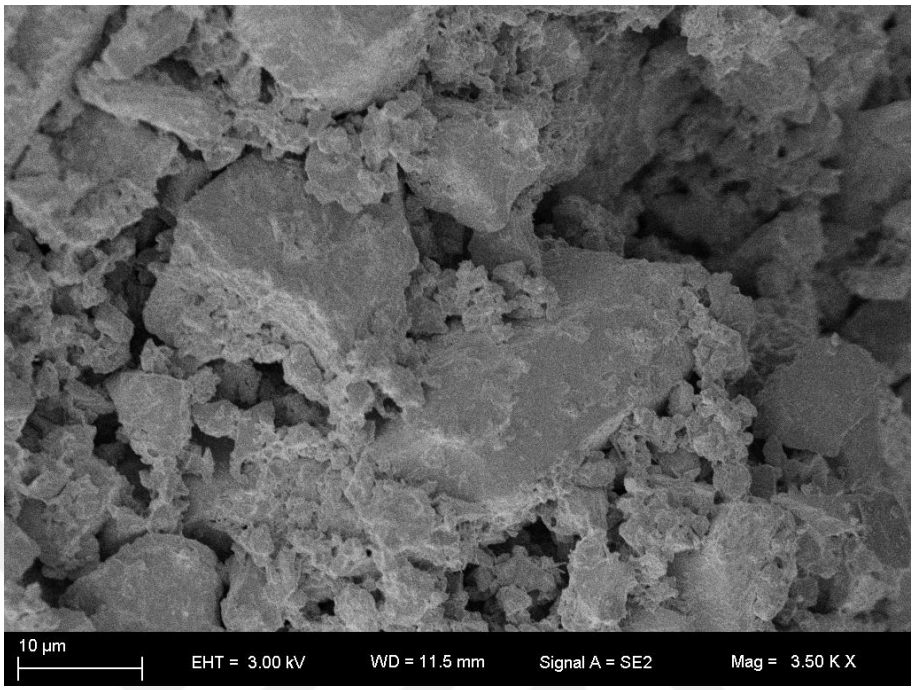
(A)



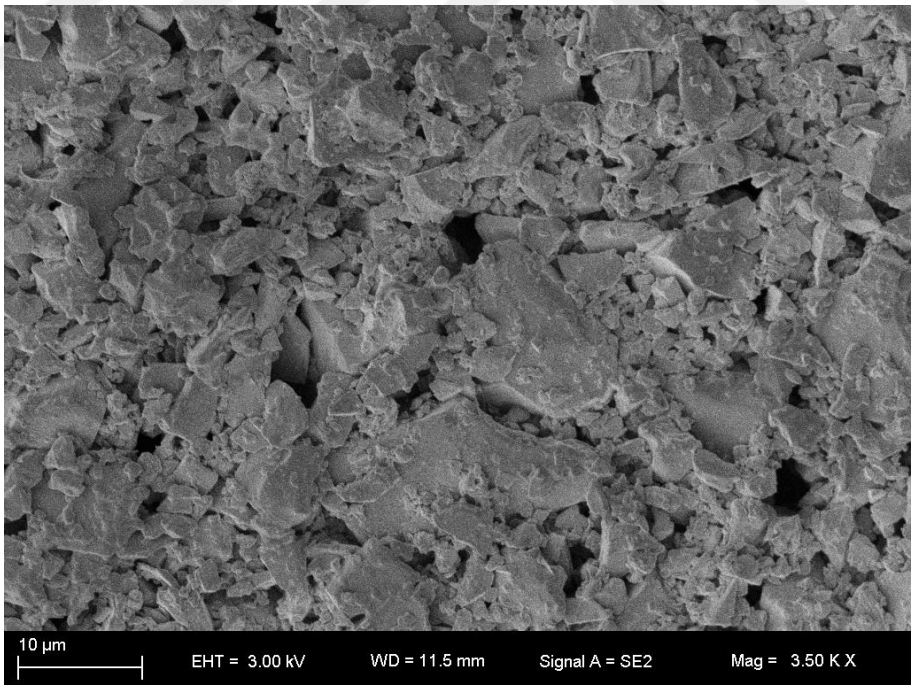
(B)

Ek-A-2. 2 Biyosilikalı biyoaktif cam (BSC) numunesinin yüksek büyütme değerlerindeki SEM görüntüleri (A); 3.50KX, (B); 5.00KX

A-3 Doku Destek Malzemesi Numunelerinin YVS Öncesi Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri

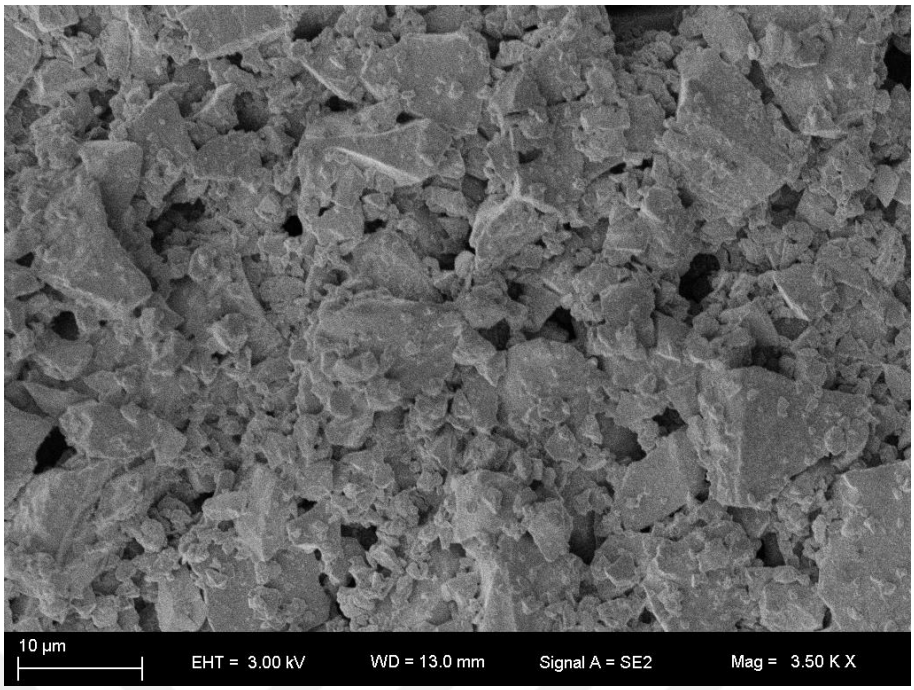


(A)

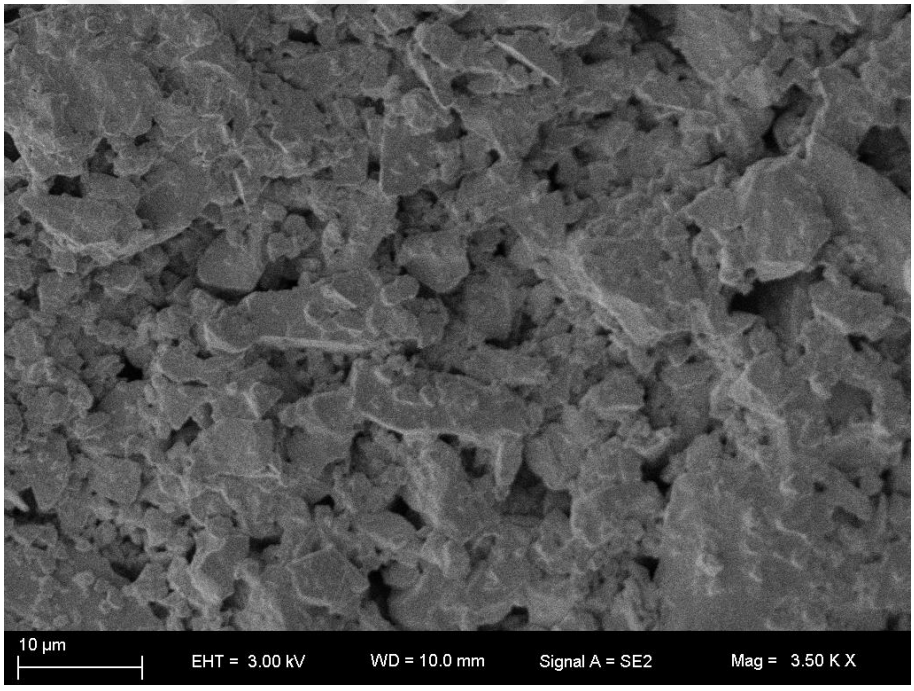


(B)

Ek-A-3. 1 (A); 1TSCP7.5, (B); 2TSCP7.5 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri

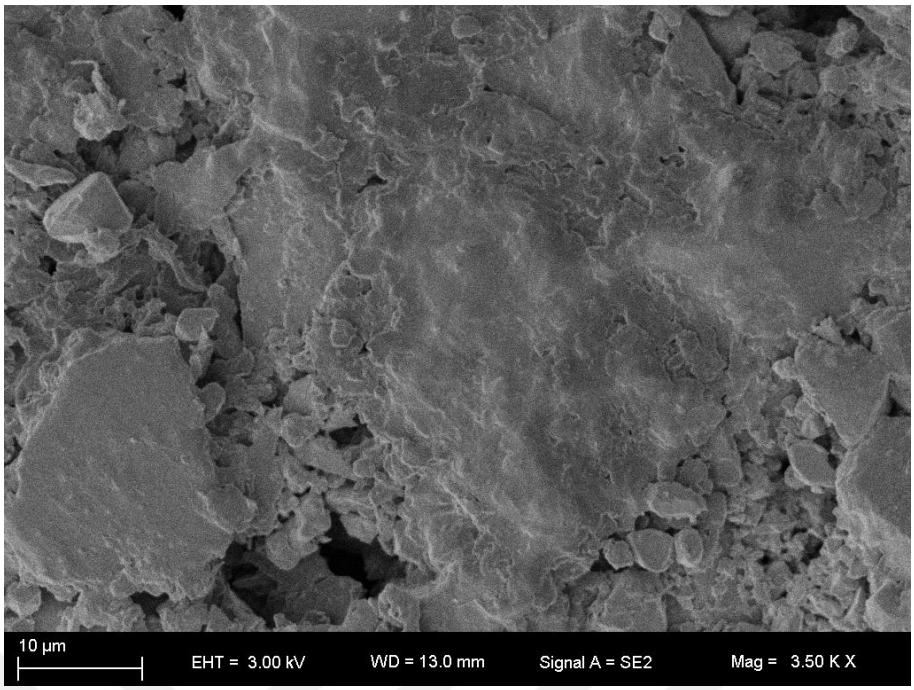


(A)

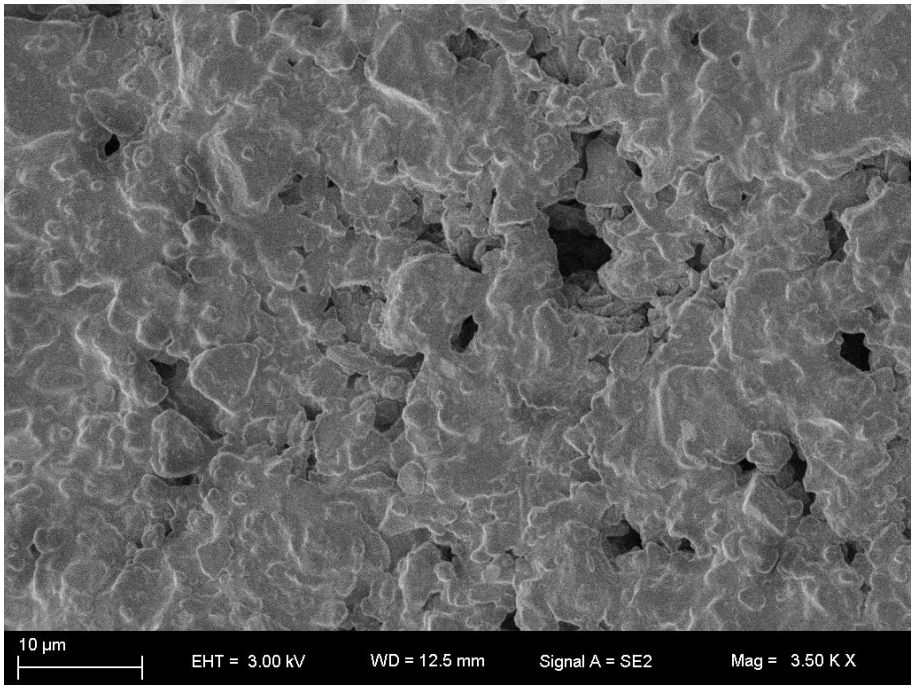


(B)

Ek-A-3. 2 (A); 1TSCP10, (B); 2TSCP10 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri

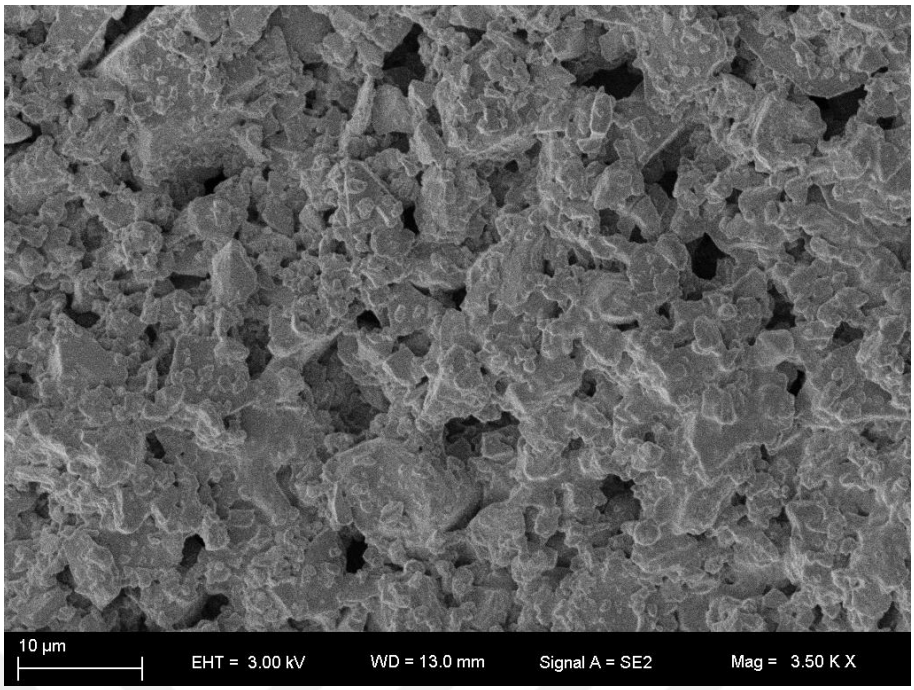


(A)

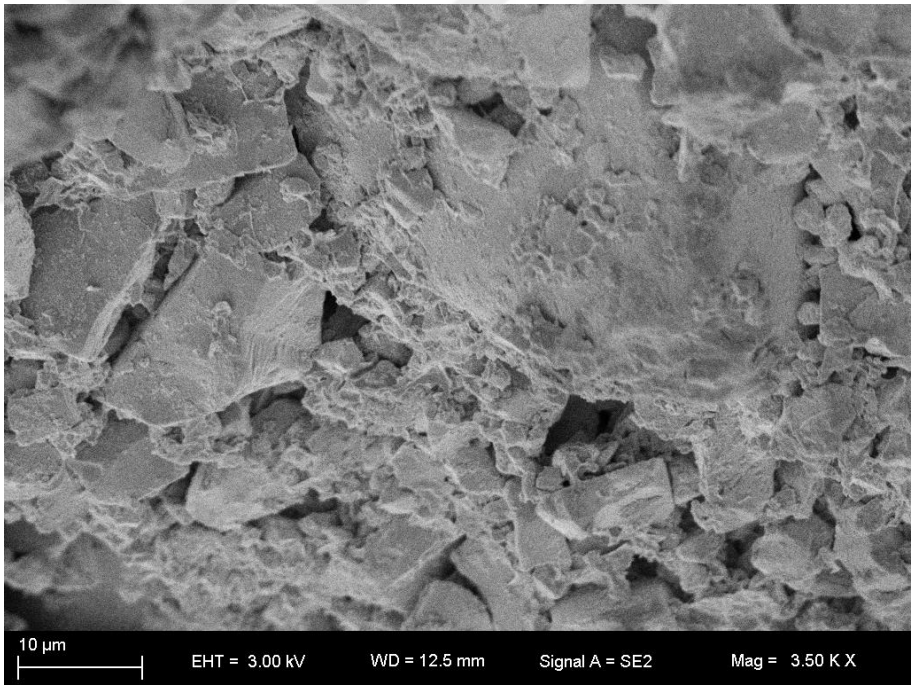


(B)

Ek-A-3. 3 (A); 1BSCP7.5, (B); 2BSCP7.5 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri



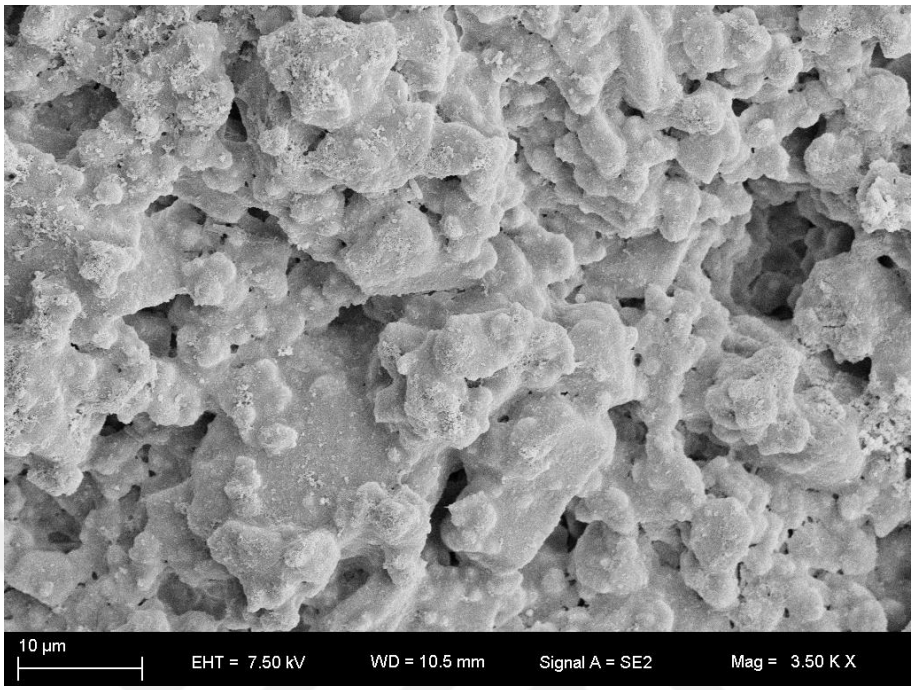
(A)



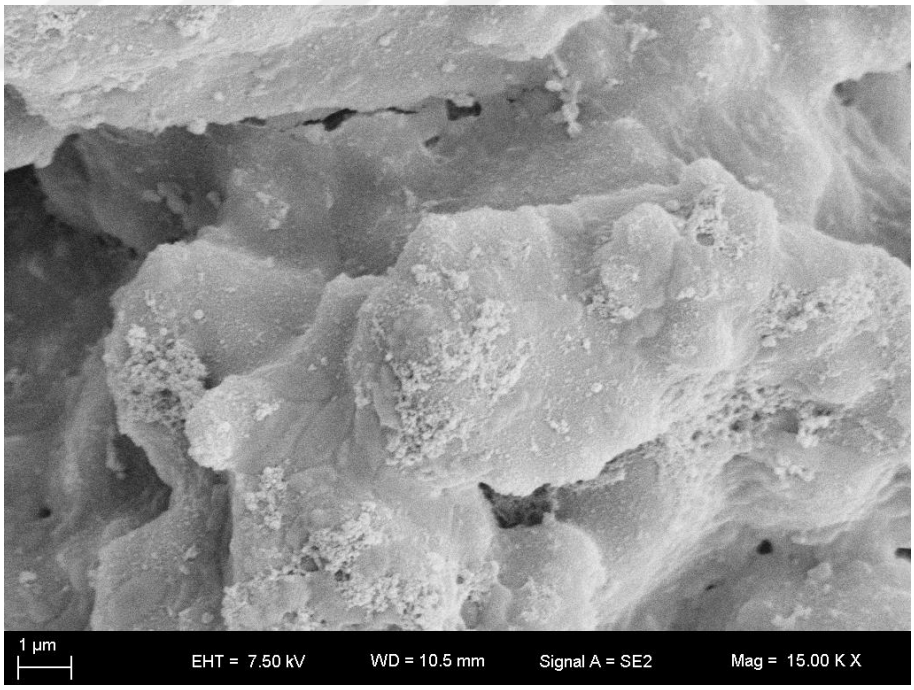
(B)

Ek-A-3. 4 (A); 1BSCP10, (B); 2BSCP10 numunelerinin 3.50KX büyütmedeki SEM görüntüleri

A-4 Doku Destek Malzemesi Numunelerinin YVS Sonrası Yüksek Büyütmedeki SEM Görüntüleri

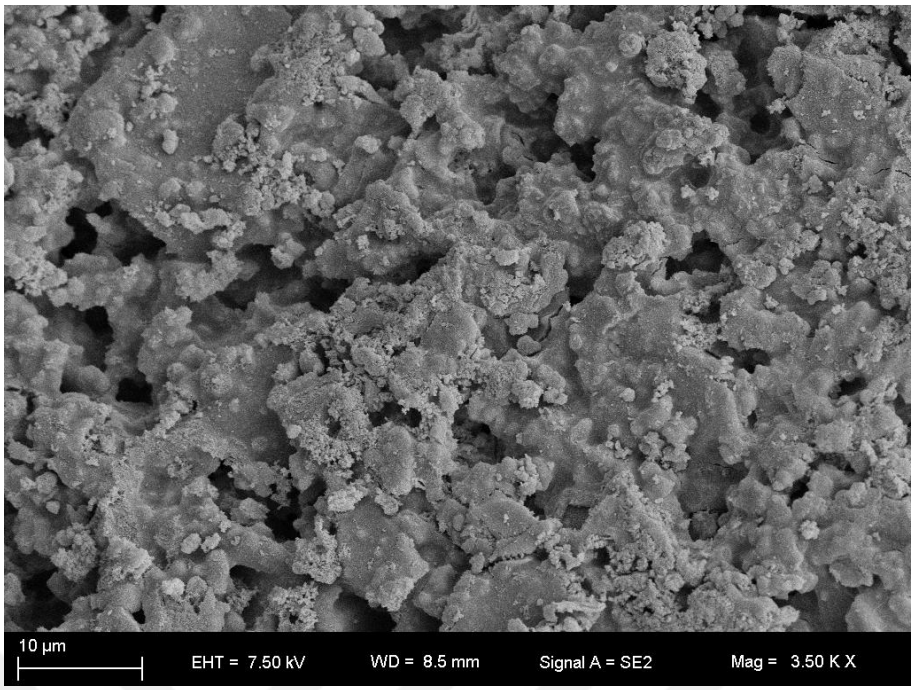


(A)

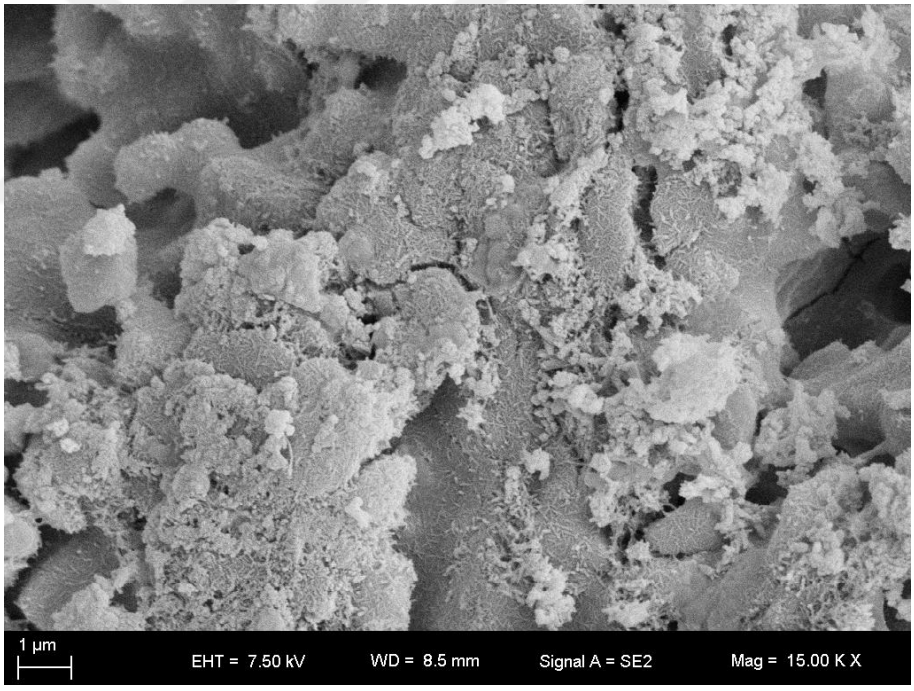


(B)

Ek-A-4. 1 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri

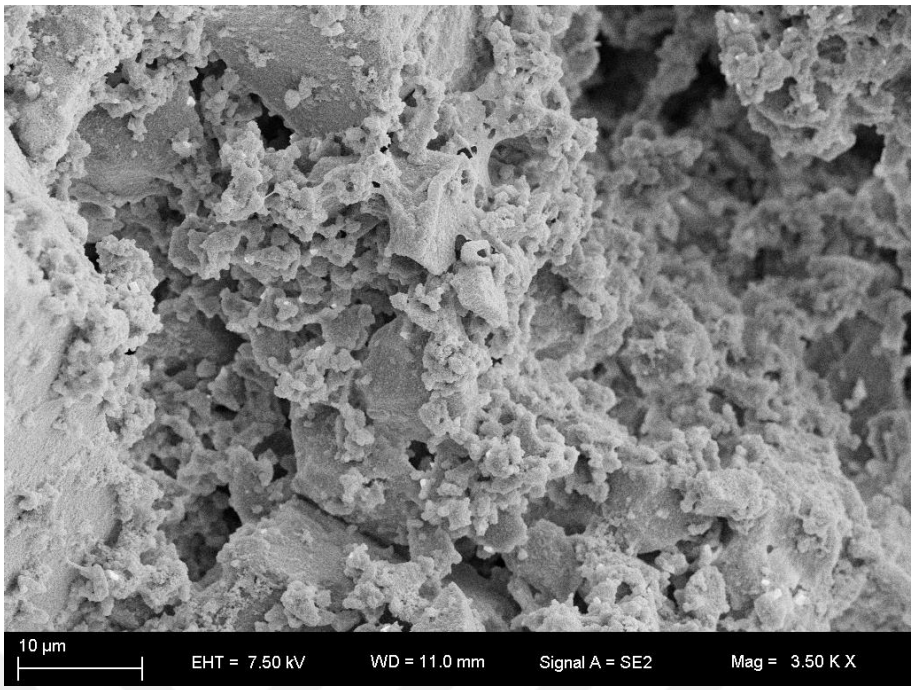


(A)

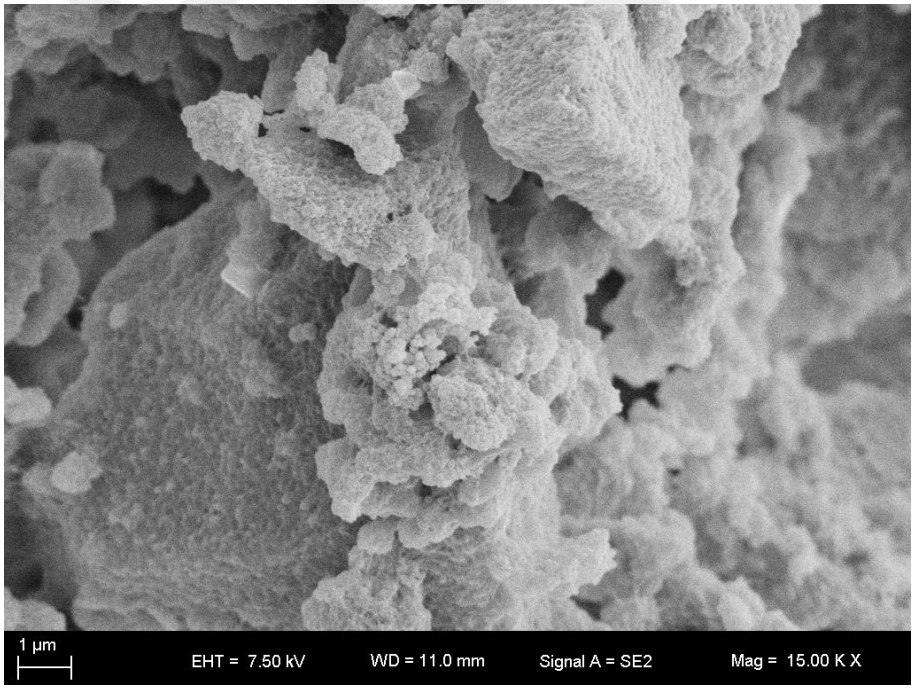


(B)

Ek-A-4. 2 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2TSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri

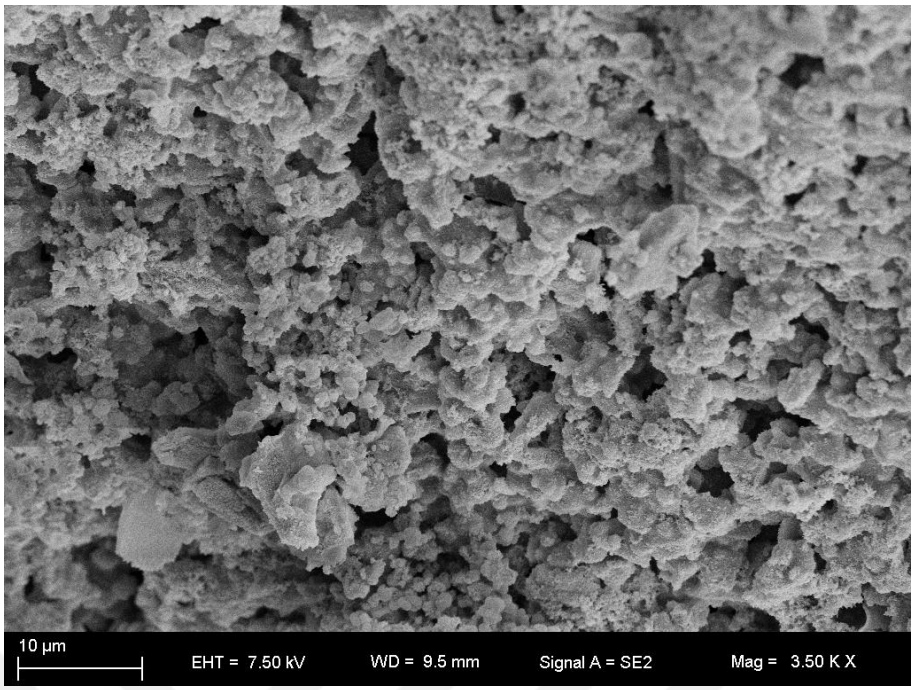


(A)

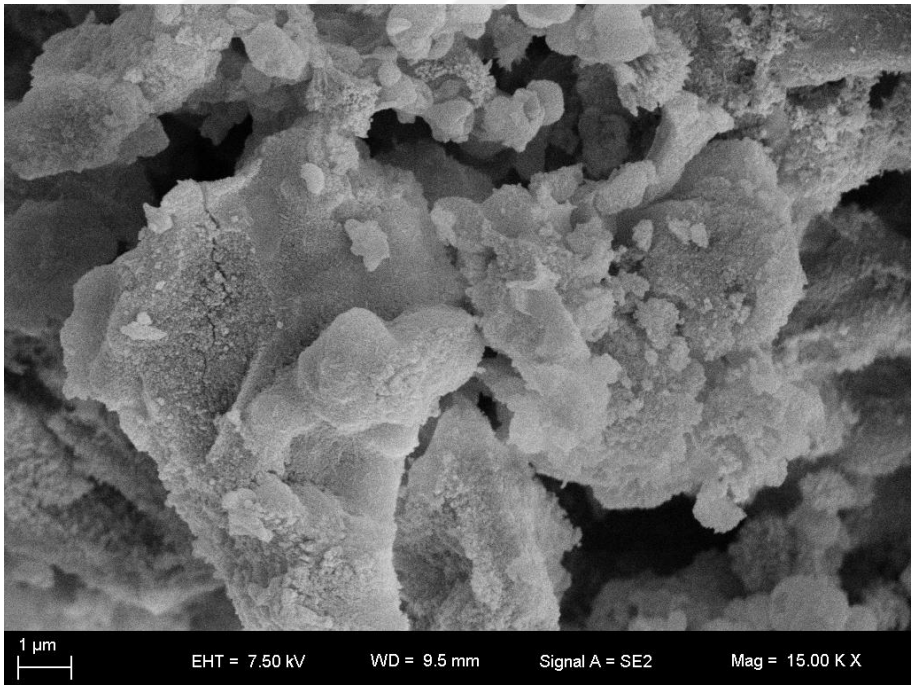


(B)

Ek-A-4. 3 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri

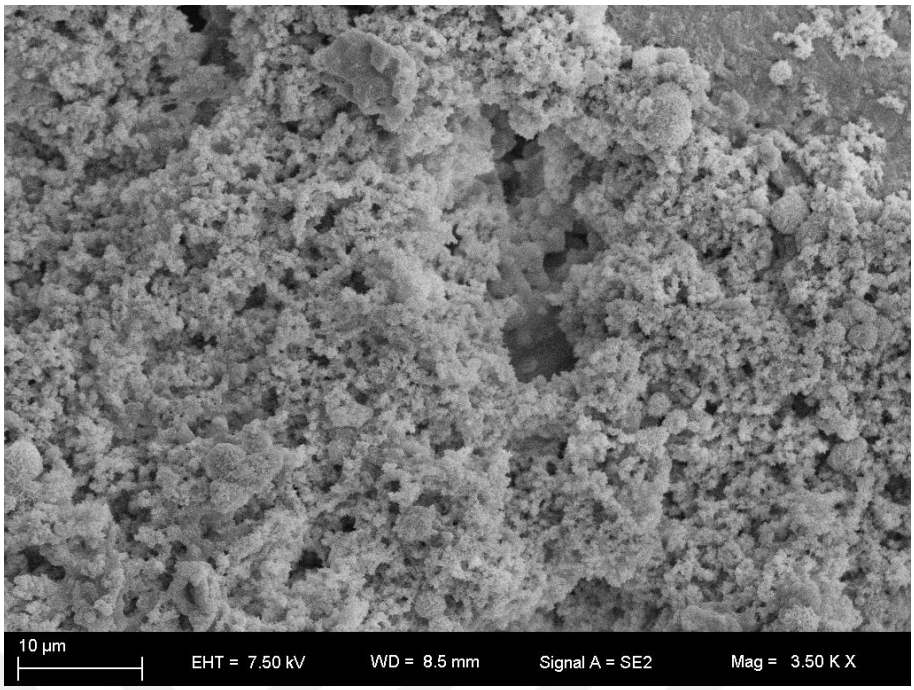


(A)

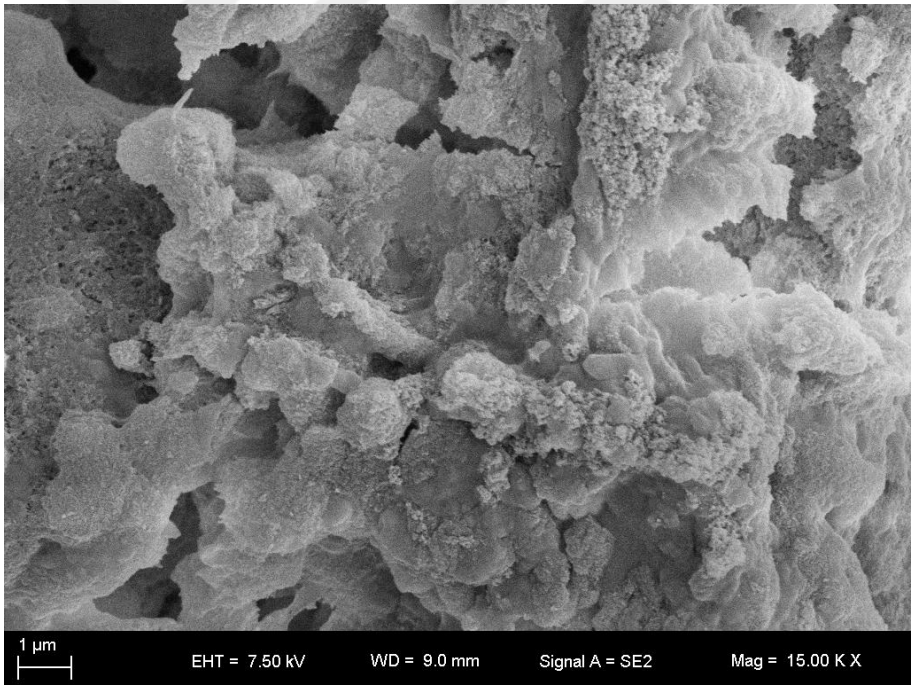


(B)

Ek-A-4. 4 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2TSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri

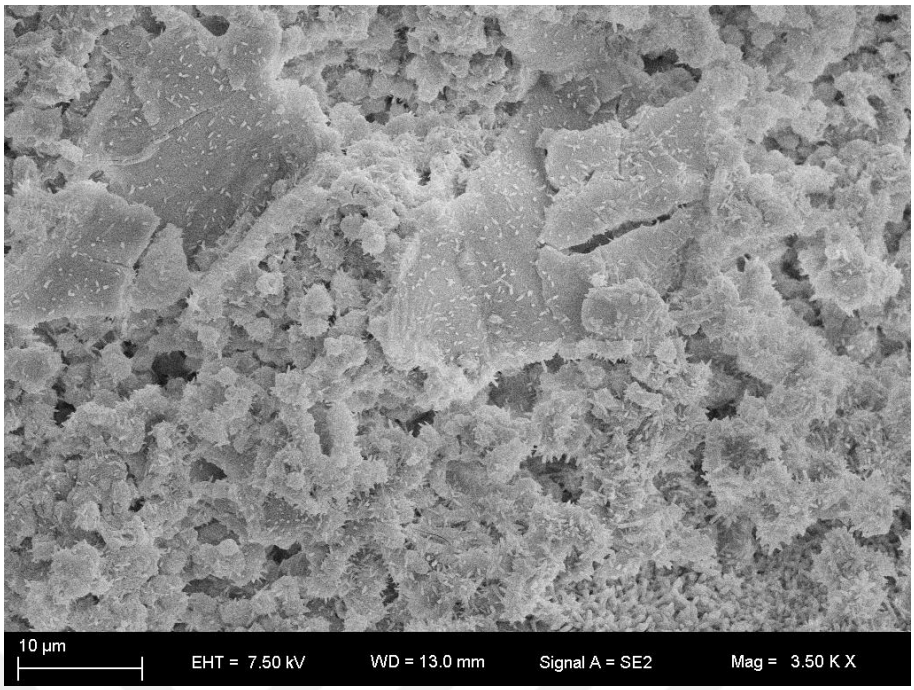


(A)

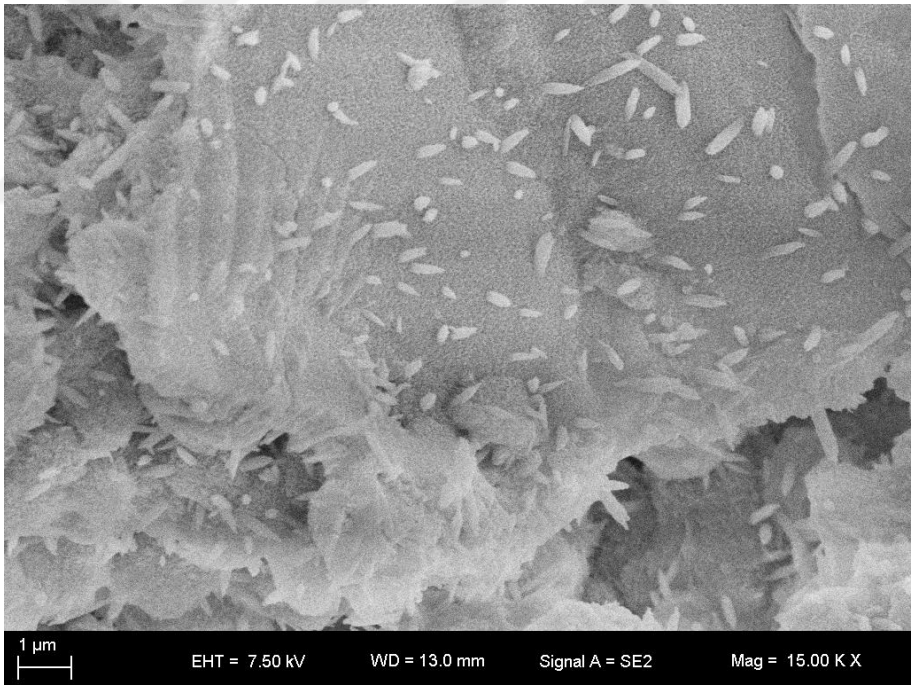


(B)

Ek-A-4. 5 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri

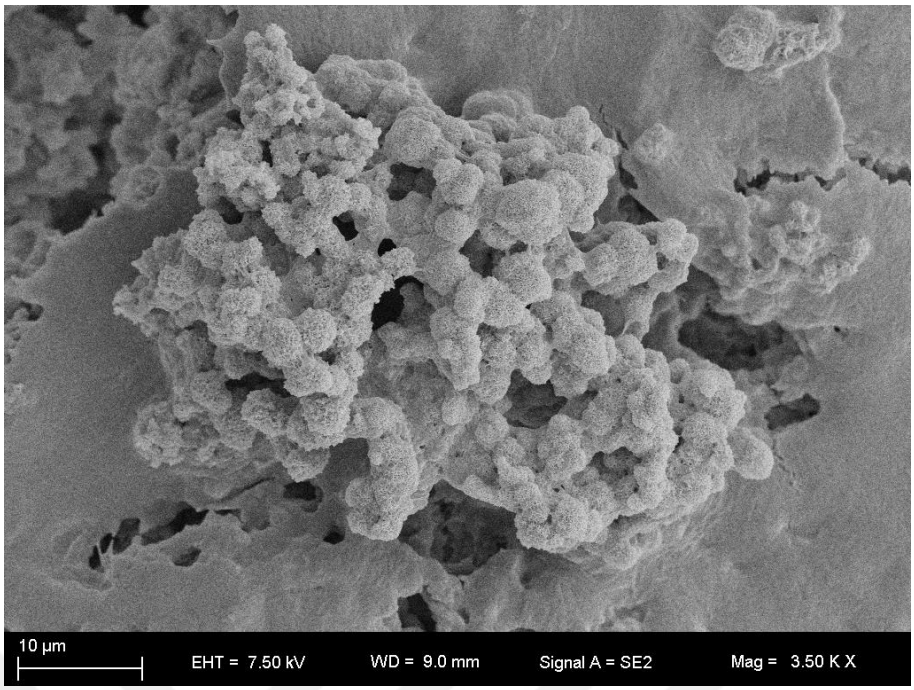


(A)

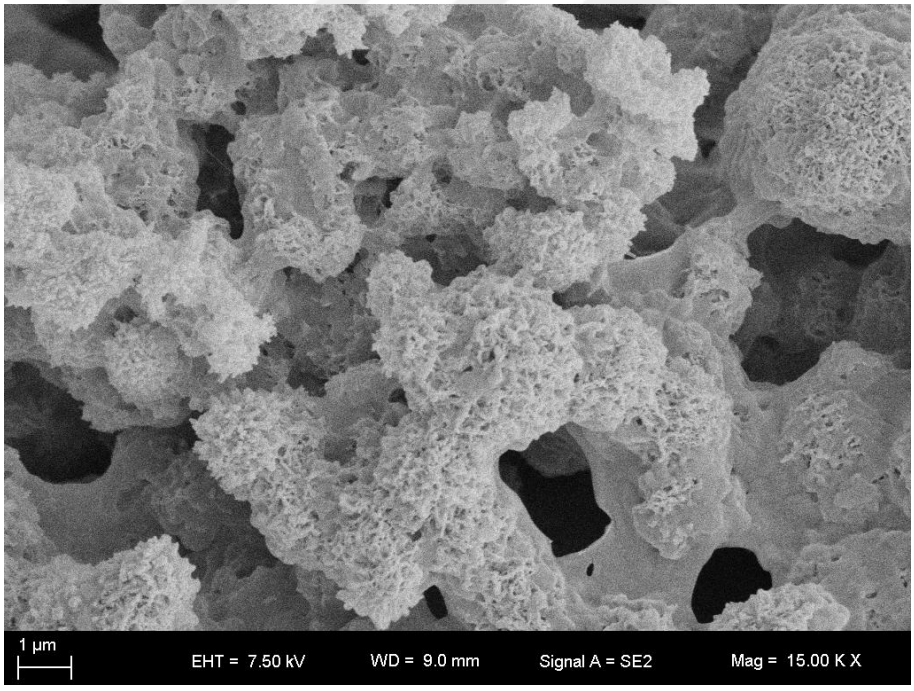


(B)

Ek-A-4. 6 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2BSCP7.5 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri

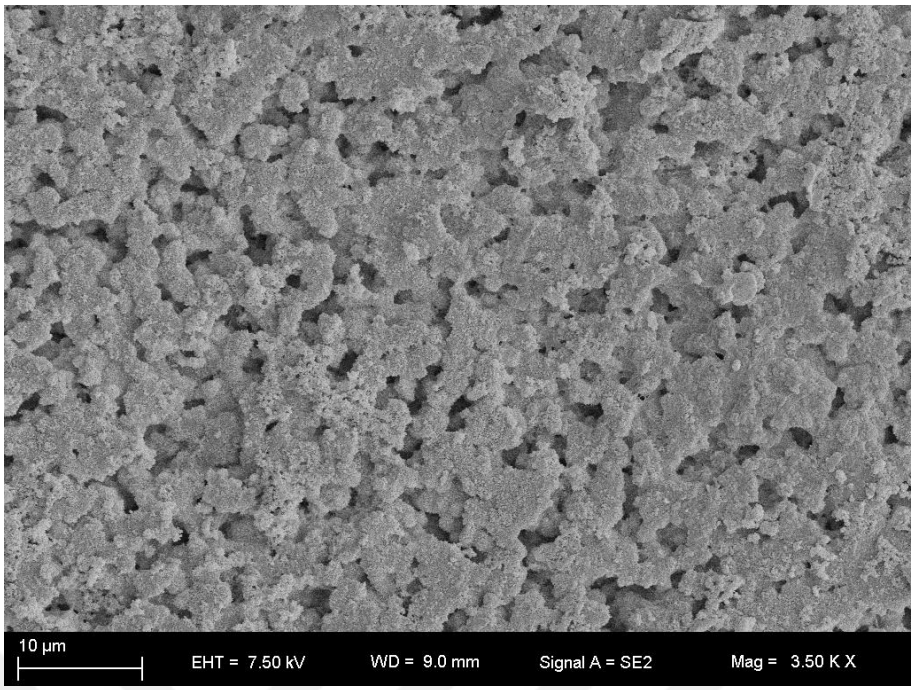


(A)

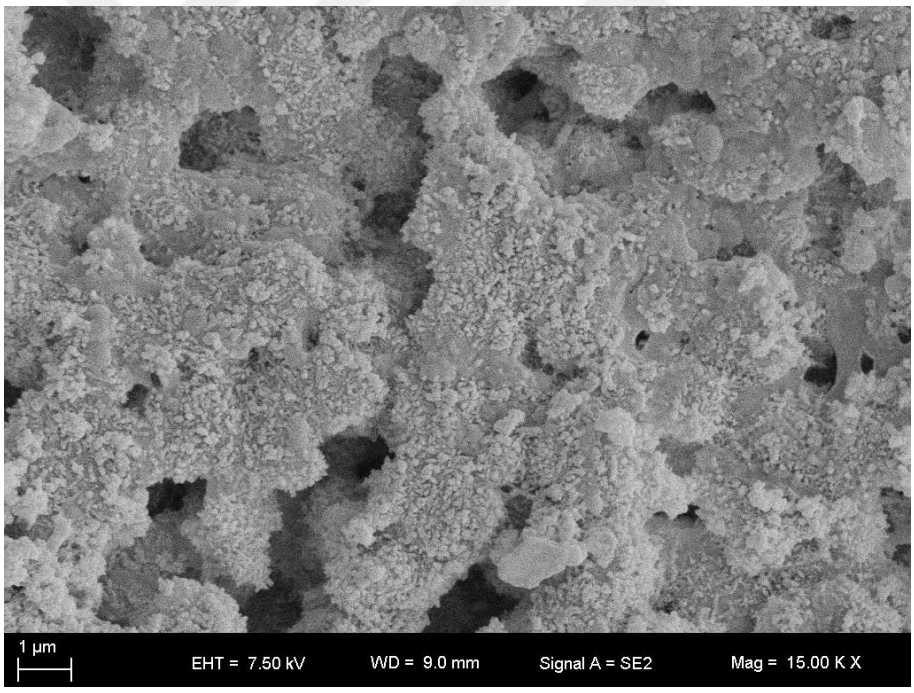


(B)

Ek-A-4. 7 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 1BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri



(A)



(B)

Ek-A-4. 8 (A); 3.50KX, (B); 15.00KX, 2BSCP10 numunesinin YVS içerisindeki 28 gün sonrası SEM görüntüleri

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ali Can ÖZARSLAN

Doğum Tarihi ve Yeri : 10/03/1990 - Konya

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : alicanozarslan@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	**Alan**	**Okul/Üniversite**	**Mezuniyet Yılı**
Y. Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2017
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lise	Anadolu Lisesi	Dolapoğlu Anadolu Lisesi	2008

YAYINLARI

Makale

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

2.**Özarslan, A.C.** ve Yücel, S., (2016). "Fabrication and Characterization of Strontium Incorporated 3-D Bioactive Glass Scaffolds for Bone Tissue from Biosilica", Materials Science and Engineering: C, 68: 350-357.

Bildiri

1.Özarslan, A.C., “Fabrication of Scaffolds from Bioactive Glass for Bone Tissue Engineering”, BIOMED, Ağustos 2014, Muğla-Türkiye.

2.Özarslan, A.C., “Fabrication of Scaffolds from Different Silica Based Bioactive Glass and Investigation of Bioactivity and Biodegredation Behaviours”, SB3C, Haziran 2015, Utah-Amerika.

3.Özarslan, A.C., “Porous Scaffold Design from Polymer-Bioactive Glass Composite for Bone”, 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress (IMSEC), Ekim 2016, Adana-Türkiye.

4.Özarslan, A.C., “Production of Bioactive Glass Scaffolds for Bone Tissue Engineering”, 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress (IMSEC), Ekim 2016, Adana-Türkiye.

5.Özarslan, A.C., “Preparation and Characterization of Bioceramics Based on Boron Sodium Biosilicate”, 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress (IMSEC), Ekim 2016, Adana-Türkiye.

6.Özarslan, A.C., “Production of Bone Tissue Support Materials Based on Bioactive Glass-Polymer Composites”, 2nd Annual Conference and Expo on Biomaterials, Mart 2017, Madrid-İspanya.

Proje

1.Pirinç Kabuğu Silikasından Yapay Kemik Olarak Kullanılacak Biyoaktif Camların Üretimi ve Osteosit Hücreleri Üzerine Etkisi, TÜBİTAK 3001, 213M647 numaralı proje (Bursiyer)