

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STRONSIYUM KATKILI BİYOAKTİF CAM MALZEME ÜRETİMİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Özlem ÖZARPAT**

Anabilim Dalı : Kimya Mühendisliği

Programı : Kimya Mühendisliği

HAZİRAN 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STRONSIYUM KATKILI BİYOAKTİF CAM MALZEME ÜRETİMİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Özlem ÖZARPAT
(506091052)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 06 Mayıs 2011

Tezin Savunulduğu Tarih : 10 Haziran 2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sadriye KÜÇÜKBAYRAK OSKAY (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Melkon TATLIER (İTÜ)
Prof. Dr. Yılmaz TAPTIK (İTÜ)

HAZİRAN 2011

ÖNSÖZ

Bilimi, yaşamın en önemli olgusu olan insan sağlığı üzerine yönlendiren böyle bir araştırmada, bana çalışma fırsatı verdiği için saygıdeğer hocam Sadriye KÜÇÜKBAYRAK OSKAY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yapılan araştırmaların verimli bir şekilde yürütülebilmesi için, bize en uygun koşullara sahip çalışma ortamını sunan ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşegül ERSOY MERİÇBOYU'na, Prof. Dr. Hanzade AÇMA'ya ve Prof. Dr. Serdar YAMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana yol gösteren, bilgi ve görüşleriyle aydınlatan, gerek akademik gerekse hayata dair her konuda içten paylaşımlarıyla beni geliştiren, çok özel ve değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Melek Mümine EROL'a ve Ar. Gör. Dr. Ayşe ARİFOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Büyük bir itina ile deneysel çalışmalarına yapmış olduğu katkılarından dolayı Kimya Mühendisi Esra ENGİN'e teşekkür ederim.

Ortak çalışma alanını bir aile içtenliğiyle paylaştığımız, deneysel çalışmalarında olduğu kadar manevi anlamda da samimiyetleri ile bana destek olan sevgili arkadaşlarım Kimya Yüksek Mühendisleri Seza Özge GÖNEN'e, Ahmet BAYKAN'a ve Fulya Ulu'ya, Kimya Mühendisleri Ayşen AKTÜRK'e, Fatih ÇAKIROĞLU'na, Emine TOPSAK'a ve Çağla MUSTAFAOĞLU'na teşekkür ederim.

Araştırmalarım süresince varlıklarıyla bana destek olan, yüce gönüllü sevgili dostlarım Kimya Yüksek Mühendisi Elif Zehra ATUKEREN'e ve Metalurji-Malzeme Mühendisi Oğuzhan OĞUZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Değerli hocalarımdan, çalışmalarım sırasında bana en fazla azim ve gücü vererek takdiri hak eden, hayata dair her konuda yüzümü güldüren, tüm başarılarımın arkasında saklı olan isim, Serkan ELMALI'ya teşekkür ederim.

Son olarak yüksek lisans öğrenimimi tamamlayabilmemde en büyük paya sahip olan ELMALI ailesine, desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sevgili abim Yavuz ÖZARPAT ile eşi Hafize ÖZARPAT'a ve tüm hayatım boyunca maddi ve manevi her alanda bana destek olan, her başarımda büyük katkıya sahip, tek kişilik kocaman ailem olmayı başaran anneme tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2011

Özlem ÖZARPAT
(Kimya Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET.....	xv
SUMMARY.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. BİYOAKTİF CAMLAR	3
2.1 Biyoaktif Camlar ve Özellikleri	3
2.2 Biyocam®-Yüzey Tepkimeleri	7
2.3 Biyoaktif Cam Üretim Yöntemleri.....	9
2.3.1 Ergitme yöntemi	9
2.3.2 Sol-jel yöntemi	9
2.4 Stronsiyum Katkılı Biyoaktif Camlar.....	10
2.5 Biyocam®'ın Kullanım Alanları	15
3. BİYOPOLİMERLER	19
3.1 Doğal Biyopolimerler	20
3.1.1 Kollajen	20
3.1.2 Fibrin	20
3.1.3 Aljinat	20
3.1.4 Hiyalüronik asit.....	21
3.1.5 Kitin ve kitosan	21
3.1.6 Jelatin	22
3.2 Sentetik Biyopolimerler.....	22
3.2.1 Doygun alifatik poliestерler.....	23
3.2.2 Polipropilen fumarat (PPF)	24
3.2.3 Polihidroksialkanoatlar (PHB, PHBV, P4HB, PHBHHx, PHO)	24
3.2.4 Yüzey biyoaşınma polimerleri	25
4. KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE KULLANILAN YAPI İSKELESİ..	27
4.1 Kemik Doku Mühendisliğinde KullanılanYapı İskelesi Malzemeleri	28
4.2 İdeal Bir Yapı İskelesinin Sahip Olması Gereken Özellikler	30
4.3 Yapı İskelesi Üretim Yöntemleri.....	32
4.3.1 3D biyoaktif cam yapı iskeleleri	32
4.3.1.1 Sol-jel prosesi	32
4.3.1.2 Sünger kopyalama yöntemi	33
4.3.2 Polimer kaplı Biyocam® yapı iskeleleri	34
4.3.3 Polimer kompozit yapı iskeleleri.....	34
4.3.3.1 Çözücü döküm yöntemi	34
4.3.3.2 Çözücü döküm/tanecik uzaklaştırma ve mikroküre dolgulama	35
4.3.3.3 Isıl etkiyle faz ayrımı (TIPS)/dondurarak kurutma	35

4.3.3.4 Mikroküre sinterleme	36
4.3.3.5 Polimerik sünger-inorganik kaplama	36
4.3.3.6 Katı serbest form (SFF) (hızlı prototipleme) yöntemi	37
4.4 Yapı İskelesi Üretimi ile İlgili Literatürde Yer Alan Çalışmalar	38
5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	43
5.1 Çalışma Programı	43
5.2 Numunelerin Hazırlanması	44
5.2.1 Ergitme yöntemi ile stronsiyum katkılı biyoaktif cam üretimi	44
5.2.2 Sol-jel yöntemi ile stronsiyum katkılı biyoaktif cam üretimi	45
5.2.3 Polimer sünger kopyalama yöntemi ile yapı iskelesi üretimi	46
5.2.3.1 Yapı iskelelerinin jelatin ile kaplanması	47
5.3 Biyoaktif Cam Numunelerinin ve Yapı İskelelerinin Karakterizasyonu	47
5.3.1 X-ışını difraktometresi (XRD) analizleri	48
5.3.2 Üretilen biyoaktif cam numunelerine DTA (diferansiyel termal analiz) uygulanması	48
5.3.3 Üretilen biyoaktif cam numunelerinin tane boyutu dağılım analizi	48
5.3.4 İn vitro çalışmalar	48
5.3.4.1 Yapay vücut sıvısının hazırlanması	48
5.3.4.2 Biyoaktivite analizleri	49
5.3.4.3 Biyobozunma çalışmaları	50
5.3.5 FTIR analizleri	51
5.3.6 Mikroyapı (SEM) analizleri	51
5.3.7 Gözeneklilik ve yoğunluk ölçümleri	51
6. DENEYSEL ÇALIŞMALARIN SONUÇLARI VE DEĞERLENDİRİLMESİ	53
6.1 Biyoaktif Cam Numunelerinin XRD Sonuçları	53
6.2 Biyoaktif Cam Numunelerinin DTA Sonuçları	54
6.3 Yoğunluk Ölçümü	56
6.4 Biyoaktif Camların İn vitro Biyoaktivite Karakterizasyonu	56
6.4.1 Yapay vücut sıvısının analizi	56
6.4.2 Biyoaktif camların yüzey karakterizasyonları	59
6.4.2.1 XRD analizi	59
6.4.2.2 Mikroyapı analizi	60
6.5 Biyoaktif Cam Numunelerinin Tane Boyutu Dağılımı	63
6.6 Biyoaktif Yapı İskelesi Numunelerinin Yüzey Karakterizasyonları	64
6.6.1 Yapı iskelesi numunelerinin FTIR analizleri	64
6.6.2 Yapı iskelesi numunelerinin XRD analizleri	65
6.6.3 Yapı iskelesi numunelerinin SEM analizleri	66
6.7 Gözeneklilik Ölçümü	69
6.8 Yapı İskelesi Numunelerinin Biyoaktivite Karakterizasyonları	69
6.8.1 XRD analizleri	69
6.8.2 SEM analizleri	70
6.9 İn vitro Biyobozunma Analizleri	71
7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	75
7.1 Sonuçlar	75
7.2 Öneriler	77
KAYNAKLAR	79
EKLER	85
ÖZGEÇMİŞ	91

KISALTMALAR

BG	: Biyoaktif Cam
BGC	: Biyoaktif Cam-Seramik
BMP	: Kemik Yapı Proteini
CAD	: Bilgisayar Destekli Tasarım
Ç.A.	: Çalışma Arkadaşları
DTA	: Diferansiyel Termal Analiz
EDS	: Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi
EISA	: Evaporasyon Yöntemi
EPD	: Elektroforetik Kaplama
FDA	: A.B.D. Gıda ve İlaç Kurumu
FDM	: Eriterek Kaplama
FTIR	: Fourier Kızıl Ötesi Dönüşüm Spektroskopisi
HA	: Hidroksiapatit
HCA	: Hidroksikarbonat Apatit
ICP	: İndüktif Eşleşmiş Plazma
ISO	: Uluslararası Standartlar Örgütü
PCL	: Poli(ε-kaprolakton)
PDLA	: Poli-D-laktit
PDLLA	: Poli-D,L-laktit
PGA	: Poli(glikolik asit)
PHA	: Polihidroksialkanoat
PHB	: Poli-3-hidroksibütirat
PLA	: Poli(laktik asit)
PLGA	: Poli(laktik asit-ko-glikolik asit)
PLLA	: Poli-L-laktit
PPF	: Polipropilen Fumarat
PVA	: Polivinil Alkol
MBG	: Mezogözenekli Biyoaktif Cam
nBGC	: Biyoaktif Cam-Seramik Nanopartikülü
SBF	: Yapay Vücut Sıvısı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SFF	: Katı Serbest Form
SLA	: Stereolitografi
SLS	: Lazerle Kalıplama
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
TEOS	: Tetraetil Ortosilikat
TEP	: Trietil Fosfat
TIPS	: Isıl Etkiyle Faz Ayrımı
UV	: Ultraviyole
XRD	: X-Işınları Difraksiyonu
Yİ	: Yapı İskelesi
3D	: Üç Boyutlu

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : 45S5 Biyocam [®] , A/W cam-seramik ve insan kortikal kemiğinin mekanik özellikleri	4
Çizelge 5.1 : Yapay vücut sıvısının hazırlanmasında kullanılan kimyasal bileşikler	49
Çizelge 6.1 : Üretilen biyoaktif cam numunelerinin DTA sonuçları.....	55
Çizelge 6.2 : Stronsiyum katkılı biyoaktif camların yoğunluk değerleri.....	56

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Biyocam® bileşimleri için faz diyagramı.	5
Şekil 2.2 : (1) Programlı hücre ölümü (apoptozis), (2) mitoz ve hücre çoğalması veya; (3) mineralize osteositin (olgun kemik) son farklılaşma ve oluşumuna yol açan osteojenik (kemik yapıcı) ata hücre döngüsünün şematik gösterimi.	6
Şekil 2.3 : Alkali silikat camın atom yapısı.	7
Şekil 2.4 : Biyocam® yüzeyinde gerçekleşen tepkimelerin aşamaları.	8
Şekil 2.5 : (a) Proses adımlarının zaman-sıcaklık ilişkileri (1) cam, (2) polikristalin seramik, (3) ve (4) katı haldeki sinterlenmiş seramik, (5) polikristalin seramik, (6) sıvıdan polikristalin kaplama; T _m , erime sıcaklığı; T _s , faz diyagramının katılaşma hattı. (b) Ergitme yöntemine kıyasla sol-jel esaslı cam üretiminin proses adımları.	10
Şekil 2.6 : Biyoaktif camın kullanım alanları.	17
Şekil 3.1 : Jelatinin moleküler yapısı.	22
Şekil 4.1 : Çeşitli şekillerde hazırlanmış yapı iskeleleri.	28
Şekil 4.2 : Hücreler, genellikle yapısı değiştirilmemiş polimerlere bağlanmamaktadır. Ancak, Biyocam® gibi biyoaktif taneciklerin katılması daha doğal bir hücre morfolojisine imkan vermektedir.	29
Şekil 4.3 : Kemik doku mühendisliğinde kullanılan yapı iskelelerinin sahip olması gereken en önemli faktörler.	31
Şekil 4.4 : Biyocam® esaslı doku mühendisliği yapı iskeleleri üretmek için kullanılan sünger kopyalama yönteminin şematik gösterimi.	33
Şekil 4.5 : Biyocam® yapı iskelelerini polimer ile kaplamak için polimer çözeltisine daldırma yöntemi.	34
Şekil 4.6 : Sulu süspansiyon içindeki yüklü Biyocam® tanecikleri ile polimerik süngerini kaplamak için kullanılan elektroforetik kaplama (EPD) hücresinin şematik gösterimi.	37
Şekil 5.1 : (a) Saf suya, (b) Grafit kalıba döküm sonucu elde edilen ergitme esaslı stronsiyum katkılı biyoaktif cam numuneleri.	44
Şekil 5.2 : (a) Etüvde bekledikten sonra jelleşen sol-jel çözeltisi, (b) Jellerin ısıtılma işlemi tabi tutulmasıyla elde edilen sol-jel esaslı stronsiyum katkılı biyoaktif cam numunesi.	45
Şekil 5.3 : (a) Kalıp olarak kullanılan poliüretan süngerler, (b) Polimer sünger kopyalama yöntemi ile üretilen stronsiyum katkılı yapı iskeleleri.	47
Şekil 5.4 : Yapı iskelelerinin jelatin çözeltisinde bekletilmesiyle elde edilen biyoaktif cam/polimer kompozit yapı iskeleleri.	47
Şekil 5.5 : (a) Ergitme yöntemiyle üretilen biyoaktif cam, (b) Biyoaktif camın 28 gün süreyle yapay vücut sıvısında bekletilmesiyle, yüzeyi üzerinde gözle görülebilecek şekilde meydana gelen hidroksiapatit tabakası.	50
Şekil 6.1 : Ergitme yöntemiyle üretilen, SiO ₂ -Na ₂ O-P ₂ O ₅ -CaO-SrO bileşimine sahip biyoaktif cam numunelerinin XRD grafikleri.	53

Şekil 6.2 : Sol-jel yöntemi uygulanarak üretilen, $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$ bileşimine sahip cam numunelerinin XRD grafikleri.	54
Şekil 6.3 : Biyoaktif cam numunelerinin DTA grafikleri.	55
Şekil 6.4 : SBF çözeltisindeki iyon derişimlerinin zamana bağılı değışimi.	57
Şekil 6.5 : (a) ve (d) sırasıyla, ağırlıkça %0.1 SrO içeren bileşimin SBF’de bekletilmeden önceki ve SBF’de 28 gün bekletildikten sonraki; (b) ve (e) sırasıyla, ağırlıkça %0.5 SrO içeren bileşimin SBF’de bekletilmeden önceki ve SBF’de 28 gün bekletildikten sonraki; (c) ve (f) sırasıyla, ağırlıkça %2 SrO içeren bileşimin SBF’de bekletilmeden önceki ve SBF’de 28 gün bekletildikten sonraki SEM görüntüleri.	61
Şekil 6.6 : SBF’de 28 gün bekletilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin EDS grafiğı.	62
Şekil 6.7 : 45 μm ’lik elekten geçirilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım analizi.	63
Şekil 6.8 : 106 μm ’lik elekten geçirilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım analizi.	64
Şekil 6.9 : Numunelerin FTIR grafikleri.	65
Şekil 6.10 : Yapı iskelesi numunelerinin XRD grafikleri.	66
Şekil 6.11 : Ortalama tane boyutu 25.7 μm olan toz camdan üretilen kaplanmamış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x35, (b) x200.	67
Şekil 6.12 : Ortalama tane boyutu 25.7 μm olan toz camdan üretilen ve jelatin ile kaplanmış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x35, (b) x100.	68
Şekil 6.13 : Ortalama tane boyutu 83.2 μm olan toz camdan üretilen kaplanmamış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x35, (b) x150.	68
Şekil 6.14 : Ortalama tane boyutu 83.2 μm olan toz camdan üretilen ve jelatin ile kaplanmış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x50, (b) x100.	68
Şekil 6.15 : SBF’de 28 gün bekletilen, ortalama tane boyutu 25.7 μm olan toz camdan üretilen ve kaplanmamış yapı iskelesi numunesinin SEM görüntüleri: (a) x100, (b) x350.	70
Şekil 6.16 : SBF’de 28 gün bekletilen, ortalama tane boyutu 25.7 μm olan toz camdan üretilen ve kaplanmamış yapı iskelesi numunesinin EDS grafiğı.	71
Şekil 6.17 : 28 gün boyunca SBF’de bekletilen yapı iskelelerinin %su absorpsiyonu değıerleri.	72
Şekil 6.18 : 28 gün boyunca SBF’de bekletilen yapı iskelelerinin %ağırlık kaybı değıerleri.	73
Şekil A.1 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %0.1 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.	86
Şekil A.2 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %0.25 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.	86
Şekil A.3 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %0.5 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.	87
Şekil A.4 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %1 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.	87
Şekil A.5 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.	88
Şekil A.6 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ortalama tane boyutu 25.7 μm olan numune kullanılarak üretilen yapı iskelesinin XRD grafikleri.	88

Şekil A.7 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen, ortalama tane boyutu 25.7 µm olan numune kullanılarak üretilen ve jelatin ile kaplanan yapı iskelesinin XRD grafikleri.	89
Şekil A.8 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ortalama tane boyutu 83.2 µm olan numune kullanılarak üretilen yapı iskelesinin XRD grafikleri.	89
Şekil A.9 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen, ortalama tane boyutu 83.2 µm olan numune kullanılarak üretilen ve jelatin ile kaplanan yapı iskelesinin XRD grafikleri.	90

STRONSIYUM KATKILI BİYOAKTİF CAM MALZEME ÜRETİMİ

ÖZET

Bilim adamları, toplumun hayat kalitesini sürdürmek için çeşitli çalışmalar yürütmektedirler. Bunlardan biri, yaşlanma gibi doğal süreçlerle ya da çeşitli sebeplerle oluşabilen çatlak ve kırık gibi kemik kusurlarının giderilmeye çalışılmasıdır. Bu amaçla uygulanabilecek yaklaşımlardan biri, kemik nakli yapılmasıdır. Fakat, bu durumda, donör eksikliği ve nakil edilecek bölgenin ölümü gibi bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Biyo inert malzemeler ile implantasyon yapılması ise, kemik yoğunluğunda kayba sebep olmaktadır. Ayrıca, bu malzemeler belirli bir sürenin sonunda yenilenme ihtiyacı duymaktadırlar. Kemik doku mühendisliği; biyobozunur yapı iskeleleri yardımı ile yaralı kemik dokularının onarımı, değiştirilmesi veya yeniden üretilmesi amacıyla hızla gelişen bir bilim alanıdır. Bu yaklaşımın avantajı, gerekli operasyon sayısının azalması ile hastanın iyileşme süresinin kısılmasıdır.

Kemik doku mühendisliğinde, kemik yenilenmesi için anahtar bileşen, kemik mineralinin yapısını taklit eden ve istenen hücresel cevaplar için kalıp gibi davranabilen yapı iskeleleridir. Birçok yapı iskelesi hazırlama malzemesi arasında biyoaktif camlar; biyoyumlu, biyoaktif, osteokondüktif ve osteoüretken olmaları sebebiyle kemik doku yenilenmesinde mükemmel bir performans sergilemektedirler. Bu malzemeler, insan vücuduna yerleştirdiklerinde yüzeyleri üzerinde hidroksiapatit tabakası oluşumu vasıtasıyla kemik ile bağlanabilmektedirler. Bu malzemelerin kemik üretimi özelliklerini geliştirmek için, kimyasal bileşimlerine kemik hücrelerini uyaran iyonlar katılabilmektedir. Stronsiyumun, kemik iyileşme sürecini hızlandırdığı ve kemik doku onarımı üzerinde pozitif etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu tür malzemelerin ya da bunların, polimerler ile kompozit şeklindeki üretimlerinin, mekanik, biyoaktif ve osteoüretken özellikler açısından umut verici olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada, farklı ağırlık yüzdelere sahip stronsiyum içeren biyoaktif camların ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$) üretilmesi amaçlanmıştır. Camların; fiziksel, ısı ve in vitro biyolojik özellikleri incelenmiş ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Yapay vücut sıvısında (SBF) bekletildiklerinde tüm camlar, kalsiyum fosfat tabakasının çökmesini desteklemiştir; ancak, cam bileşimindeki stronsiyum içeriğinin artması sonucunda camların biyoaktivitesi de artmıştır. Ayrıca bu çalışmada, kemik doku mühendisliği uygulamaları için üç boyutlu (3D) yapı iskelelerinin üretilmesi ve karakterizasyonu da amaçlanmıştır. Yapı iskeleleri, polimer sünger kopyalama yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Elde edilen yapı iskeleleri, biyoaktif davranışlarının geliştirilebilmesi amacıyla jelatin ile kaplanmıştır. Yapı iskelelerinin mikroyapısında, sürdürülen ve iyi bir gözenek bağlılığı olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda jelatinin, gözenekleri tıkamadan, homojen bir kaplama oluşturarak biyoaktif cam yapı iskelelerinin yüzeyine bağlandığı tespit edilmiştir. Ayrıca, jelatin ile kaplanan yapı iskeleleri, kaplı olmayanlara kıyasla oldukça yüksek bir biyoaktivite davranışı sergilemiştir. Ancak, jelatin ile kaplı olan yapı iskelelerinin

biyobozunma davranışı, kaplanmayan yapı iskelelerinininkine kıyasla daha yüksektir. Sonuçlar, 3D kompozit yapı iskelelerinin kemik doku mühendisliği uygulamaları için potansiyel adaylar olduğunu göstermiştir.

PRODUCTION OF STRONTIUM SUBSTITUTED BIOACTIVE GLASS MATERIALS

SUMMARY

Scientists carry out various studies to maintain quality of life of the community. One of them is repairing bone defects like cracks and fractures, which occur via natural processes or other reasons. One of the solutions is bone transplantation. But there are some limitations such as lack of donors and morbidity of the donor site. Implantation with bioinert materials leads to loss of bone density. In addition, these materials eventually need to be replaced. Bone tissue engineering is a rapidly developing discipline with the intension to repair, replace or regenerate injured bone tissues with the aid of biodegradable scaffolds. The advantage of this approach is the reduced number of operations needed, resulting in a shorter recovery time for the patient.

A key component in tissue engineering for bone regeneration is scaffolds, which mimic the structure of bone mineral and act as templates for desired cell responses. Among a variety of materials for the scaffold preparation, bioactive glasses exhibit great performances for bone tissue regeneration because they are biocompatible, bioactive, osteoconductive and osteoproduative. These materials are able to bind with bone through a layer of hydroxyapatite formed on their surfaces when they are implanted in human body. In order to improve bone production properties of these biomaterials, bone cell stimulator ions can be incorporated into their chemical compositions. Strontium is known to accelerate bone healing processes and have positive effects on bone tissue repair. Production of this kind of materials or their composites with polymers is thought to be promising in terms of mechanical, bioactive and osteoproduative properties.

In this study, it was aimed to produce bioactive glasses ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$) with the substitution of strontium in different weight percentages. Physical, thermal and in vitro biological properties of the glasses were studied and compared to each other. All glasses favored precipitation of calcium phosphate layer when they were soaked in simulated body fluid (SBF); however bioactivity of the glasses increased with the increase of strontium content in the glasses. It was also aimed in this study to fabricate and characterize three-dimensional (3D) scaffolds for bone tissue engineering applications. The scaffolds were fabricated by using polymer foam replication technique. The obtained scaffolds were also coated with gelatin to be able to improve the bioactive behavior of them. It was observed that there was a good pore interconnectivity maintained in the scaffold microstructure. It was also detected that gelatin attached onto the bioactive glass scaffolds surface forming a uniform coating without blockage of the pores. Furthermore, the scaffolds coated with gelatin exhibited highly bioactive behavior compared to the uncoated ones. However, biodegradation behavior of the scaffolds coated with gelatin are higher than those of uncoated scaffolds. The results showed that 3D composite scaffolds could be promising candidates for bone tissue engineering applications.

1. GİRİŞ

Vücudumuzdaki kemikler, artan yaş [1] ve kanser vakaları [2] nedeniyle yoğunluklarını yitirmekte ve mukavemet kaybına uğramaktadırlar [3]. Kritik bir büyüklüğün üzerindeki kemik kusurları, kemik dokusunun doğal gelişimi ile onarılamamaktadır [4]. Doğal sürecin ve hastalıkların yol açtığı kemik bozulmalarının giderilmesi ve çeşitli sebeplerle oluşabilen çatlak, kırık ve kopmaların onarılması amacıyla kullanılmak üzere değişik fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip olan yapay kemik malzemeleri geliştirilmektedir [3].

Kalıcı implant ihtiyacını ortadan kaldıran kemik doku mühendisliği, hasarlı kemik dokusunun onarımı ve yenilenmesinde alternatif bir yaklaşım sergilemektedir [5,6]. Esas amaç, hasarlı dokuyu biyolojik ve mekanik fonksiyonelliğine geri döndürmektir [6]. Bu amaçla takip edilebilecek olan yol, kemik mineralinin yapısına benzeyen, kemiğe bağlanan ve bazı durumlarda kemik gelişimini uyarmak için kemik hücrelerindeki genleri aktive eden yapı iskelelerinin kullanılmasıyla kemiğin yenilenmesidir [7]. Yapı iskeleleri, yerine geçecekleri organın yapısını ve özelliklerini taklit etmek için tasarlanmaktadır [8].

Kemik yenilenmesi konusunda; biyouyumluluğu, biyoaktivitesi, osteokondüktifliği ve kemik üretkenliği sebebiyle en çok ilgiyi çeken, biyoaktif camlar olmuştur [6,9]. Özellikle kemik mineralinin düşük yoğunluğu ve kemiğin gevrekliği sebebiyle metalik takviyenin uygulanabilir olmadığı durumlarda, iyileşmeyi kolaylaştıran implantlar olarak bu biyoaktif malzemelerden yararlanılmaktadır [10]. Bu malzemeler, yüzeyleri üzerinde kemik doku oluşumunu teşvik etmekte ve canlı vücuda yerleştirildiğinde çevredeki kemik dokuya bağlanmaktadır [11]. Biyoaktif camlar, geleneksel ergitme yöntemi olarak bilinen yüksek sıcaklıklarda ergitmeyle ya da sol-jel yöntemi olarak bilinen düşük sıcaklık prosesi ile üretilmektedir [7,12].

Biyoaktif camlar gibi malzemelerin, kemik hücrelerini uyarıcı özelliklerini geliştirmek için uygulanan yaklaşımlardan biri, kimyasal bileşimlerinin içerisine kemik hücrelerini uyarıcı iyonların katılmasıdır. Stronsiyumun, kemiğin iyileşme sürecini hızlandığı ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu bilinmektedir

[12,13]. Kalsiyuma benzer yük ve iyonik çapı dolayısıyla stronsiyum, biyoaktif camlara kalsiyumun yerine katılabilmekte ve kemik yapısı içerisinde kalsiyuma benzer bir rol oynayabilmektedir [13,14].

Biyoaktif camların dezavantajı, düşük kırılma tokluğu ve düşük mekanik dayanımlarıdır (özellikle gözenekli formda) [15]. Bu sorunu çözebilmek amacıyla, polimer/seramik kompozit sistemlerin üretimi gerçekleştirilmektedir. Biyoaktif bir cam fazı ile birlikte sentetik ve biyolojik polimerleri içeren kompozitler, polimerlerin yüke dayanım özelliklerini geliştirmekte ve yapı iskelelerinin biyobozunur olduğu kadar biyoaktif olmasını da sağlamaktadır [11,16].

Yapı iskelesi üretim yöntemlerinden olan polimer sünger kopyalama tekniği, ayarlanabilir gözenek boyutuna sahip gözenekli yapılar üretebilen, zehirli kimyasal kullanımı içermeyen, hızlı ve uygun maliyetli bir yöntemdir [17].

Bu çalışmada, ergitme yönteminden yararlanılarak beş farklı oranda stronsiyum oksit içeren, $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$ sistemine sahip biyoaktif camlar üretilmiştir. İki farklı tane boyutuna sahip biyoaktif cam numunelerinden, polimer sünger kopyalama yöntemi kullanılarak yapı iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen biyoaktif cam numuneleri ve yapı iskelelerine (jelatin ile kaplanan ve kaplanmayan) çeşitli karakterizasyon işlemleri uygulanarak yapısal ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Biyoaktivite ve biyobozunma analizleri, numunelerin farklı süreler boyunca, laboratuvar koşullarında üretilen yapay vücut sıvısında bekletilmesiyle gerçekleştirilmiştir.

2. BİYOAKTİF CAMLAR

21. yüzyılda, insanların ortalama ömrü uzamıştır ve tüm bireyler yüksek bir hayat kalitesi arzu etmektedirler. Fakat, bu isteği başarmak zordur. Çünkü, tüm dokular otuzlu yaşlardan sonra artan bir şekilde bozulmaya başlamaktadır [18].

Herhangi bir doku, organ ya da vücut fonksiyonunun tedavisi, çoğalması veya yenisiyle değiştirilmesi için biyolojik sistemler ile arayüz bağı oluşturabilen biyomalzemeler kullanılmaktadır [19]. İlk nesil biyomalzemeler mümkün olduğunca biyoinert üretilmiştir ve dolayısıyla esas doku ile etkileşimdeki arayüzeyde meydana gelen yara doku oluşumu en aza indirilmiştir. İkinci nesil ise, 1969 yılında üretilen biyoaktif camlar sayesinde bir implantın yüzeyi ile doku arasında bağ kurma özelliğine sahip biyomalzemelerdir [20]. Özellikle, kemik mineralinin düşük yoğunluğu ve kemiğin gevrekliği sebebiyle metalik malzemelerin uygulanabilir olmadığı durumlarda, iyileşmeyi kolaylaştıran ya da eksik veya kayıp kemik dokusunun (özellikle osteoporoza bağlı kırıklarda) yerini tutan implantlar olarak bu biyoaktif malzemelerden yararlanılmaktadır [10].

Biyoaktif camlar, hastalıklı kemik dokularının onarımı ve canlandırılması için kullanılmaktadırlar. Bu malzemeler, yüzeyleri üzerinde kemik dokusunun oluşumunu teşvik etmekte ve canlı vücuda yerleştirildiğinde çevredeki kemik dokuya bağlanmaktadır. Biyoaktif camların ayırıcı ortak özelliği, insan plazmasını taklit eden fizyolojik akışkanlar ya da çözeltiler ile temas ettiklerinde yüzeyleri üzerinde apatit benzeri bir tabakanın oluşumudur [11].

2.1 Biyoaktif Camlar ve Özellikleri

Vücudun hastalıklı veya zarar görmüş kısımlarının onarımı ve yeniden yapılandırılmasında kullanılan seramiklere (metal olmayan inorganik katı malzemeler) ‘biyoseramik’ adı verilmektedir. Alumina, trikalsiyum fosfat, hidroksiapatit, kalsiyum aluminatlar, biyoaktif cam ve cam-seramikler biyoseramiklere örnek olarak verilebilir [21].

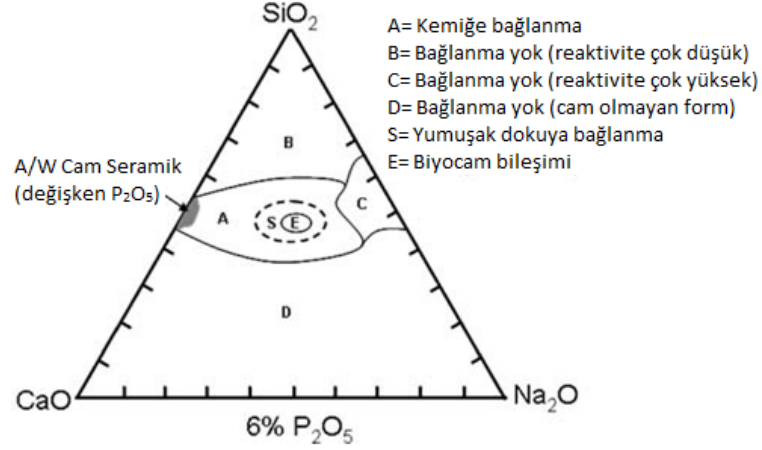
Biyoaktif camlar biyouyumlu, biyoaktif ve hatta vücutta kemik hücresi üretimini uyarabilen amorf silika esaslı malzemelerdir [9]. Çoğu biyoaktif camın temel bileşenleri SiO_2 , Na_2O , CaO ve P_2O_5 'tir [15]. Biyoaktif camlar, vücutta çözündüklerinde kemik hücrelerinin gelişimini teşvik etme ve fibroz doku oluşturmadan hem yumuşak hem de sert dokulara sıkıca bağlanabilme kabiliyetleri ile tanınmaktadırlar [22]. Diğer biyoaktif seramiklere göre kemikle daha hızlı bağ oluşturmaları [23]. Kemiğe bağlanabilme kabiliyetleri; implantasyon sonrası vücut sıvısı ile temas ettiklerinde gerçekleşen belirli tepkimeler sonucunda, cam yüzeyinde hidroksikarbonat apatit (HCA) tabakası oluşumuna dayanmaktadır. HCA tabakasının bileşimi ve yapısı, kemik minerali ile benzerdir ve bu sayede güçlü bir bağ oluşabilmektedir [7,24]. İn vivo (vücut içi) implantasyon uygulama sonuçları, bu tür cam bileşimlerinin bölgesel ya da sistemik zehirliliğe, iltihaba ya da yabancı madde etkisine neden olmadığını göstermiştir [22].

Biyoaktif camların başlıca dezavantajları; amorf yapıya sahip olmaları, iki yönlü cam ağından kaynaklanan mekanik zayıflıkları ve kırılma tokluklarıdır (özellikle gözenekli yapılarda). Bu nedenle, yüke maruz kalan durumlarda kullanımları sınırlıdır. Çizelge 2.1 yoğun ve gözenekli biyoaktif seramikler için basma dayanımı, elastisite modülü ve bazı kırılma tokluğu değerlerini vermektedir [15]. Biyoaktif camlar, hidroksiapatit seramiklere nazaran, canlı yapıya yerleştirildikten sonra ve bu işlemin öncesinde yapılan testlere göre mekanik özelliklerini daha uzun süre sürdürebilmektedirler. Biyoaktif camların biyoaktiviteleri de hidroksiapatit biyoaktif seramiğe kıyasla daha fazladır [5].

Çizelge 2.1 : 45S5 Biyocam[®], A/W cam-seramik ve insan kortikal kemiğinin mekanik özellikleri [15].

Malzeme	Basma dayanımı (MPa)	Gerilme dayanımı (MPa)	Elastisite modülü (GPa)	Kırılma tokluğu ($\text{MPa}\sqrt{m}$)
45S5 Biyocam [®]	~500	42	35	0.5-1
Cam-seramik A/W	1080	215	118	2.0
Gözenekli biyoaktif cam 70S30C (%82)	2.25	-	-	-
Gözenekli Biyocam [®] cam-seramik (>%90)	0.2-0.4	-	-	-
Kortikal kemik	130-180	50-151	12-18	6-8
Süngerimsi kemik	4-12	-	0.1-0.5	-

İlk biyoaktif cam 1971 yılında Hench tarafından geliştirilmiştir. Bileşimi ağırlıkça %45 SiO_2 , %24.5 Na_2O , %24.5 CaO ve % 6 P_2O_5 şeklinde olan bu cam, geleneksel ergitme yöntemi ile üretilmiş olup ‘Biyocam®’ olarak adlandırılmıştır [22,23,25]. Bileşim, kolay ergitme sağlayan üçlü ötektiğe çok yakındır (Şekil 2.1) [20].



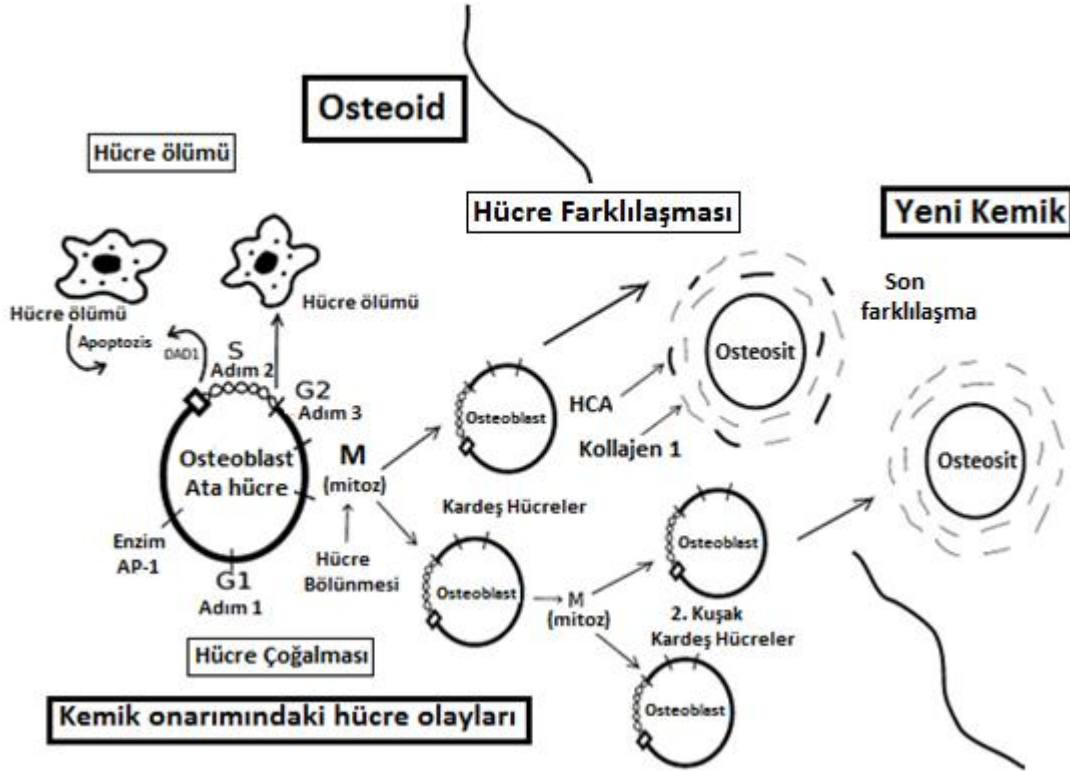
Şekil 2.1 : Biyocam® bileşimleri için faz diyagramı [20].

Biyoaktif cam ve cam-seramiklerin kemiğe bağlanabildikleri bileşim aralığı Şekil 2.1’de A bölgesi ile gösterilmiştir. Sınırlar, faz denge sınırları değil, kinetik sınırlardır. En yüksek seviyede biyoaktiviteye ve hızla kemiğe bağlanabilme özelliğine sahip camlar, Na_2O - CaO - SiO_2 diyagramının ortasında yer almaktadır (E bölgesi); tüm bileşimler ağırlıkça %6 oranında P_2O_5 içermektedir. Daha yavaş hızda bağlanma sergileyen bileşimler, ağırlıkça %52-60 SiO_2 içeren bölgede bulunmaktadır. %60’tan daha fazla SiO_2 içeren bileşimler (B bölgesi) kemiğe bağlanamamaktadırlar ve biyoinerttirler. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, yalnızca hızlı tepkime hızına sahip cam bileşimleri yumuşak doku bağı oluşturabilmektedir. Bu camlar Şekil 2.1’de S bölgesindeki bileşimle sınırlıdır. Cam bileşimi ağırlıkça %52 SiO_2 sınırını aştığında ise cam, kemiğe bağlanabiliyorken yumuşak dokulara bağlanamaz [20].

Hench ve çalışma arkadaşları (Ç.A.), biyoaktif cam bileşimlerini göstermiş oldukları biyoaktiviteye göre üç sınıfa ayırmışlardır. SiO_2 - Na_2O - CaO - P_2O_5 sistemine sahip ve %55’ten daha az SiO_2 içeren A sınıfı biyoaktif camlar, yüksek biyoaktivite indeksi sergilemekte ve hem yumuşak hem de sert dokulara bağlanabilmektedirler. Bunlar osteoüretken (artan osteoblast aktivitesi dolayısıyla malzeme yüzeyi üzerinde kemik hücresi gelişimi) ve osteokondüktiftirler. B sınıfı biyoaktif camlar, yalnızca

osteokondüktif özellik göstermektedirler. Diğer biyoaktif camlar ise, doku içinde 10-30 gün içerisinde geri emilmektedirler [26].

A sınıfı biyoaktif camların; osteoblast (kemik oluşturu) hücre döngüsü (Şekil 2.2) üzerinde genetik bir kontrol uygulayan ve osteojenik genlerin dışı vurumunu aktive eden iyonları serbest bıraktığı, anjiyogenezi (kan damarlarının oluşumu), büyüme faktörlerinin üretimini, hücre çoğalmasını ve osteogenezi (kemik oluşumu) artırdığı bildirilmiştir [7,20,22,24]. Osteojenik davranış; hücreler, biyoaktif camdan çözünen ve biyolojik olarak aktif Si ile Ca iyonlarının kritik derişimlerine maruz kaldığında oluşmaktadır. Bunun için yaklaşık 17-20 ppm çözünür Si ve 88-100 ppm çözünür Ca iyonu gereklidir [18,20].



Şekil 2.2 : (1) Programlı hücre ölümü (apoptozis), (2) mitoz ve hücre çoğalması veya; (3) mineralize osteositin (olgun kemik) son farklılaşma ve oluşumuna yol açan osteojenik (kemik yapıcı) ata hücre döngüsünün şematik gösterimi [18].

Şekil 2.2, biyolojik olarak aktif iyonik çözünme ürünleri varlığında osteoblast ata hücre topluluğunda meydana gelen değişimleri göstermektedir. Kemik yenileyici onarımı için kilit noktalar; (1) hücre döngüsünün aktif fazlarına girebilme kabiliyeti olan hücre topluluğunu kontrol etmek, (2) mitozu tamamlayabilmek ve (3) olgun bir osteositi (kemik döngüsü içerisindeki dinlenme hücreleri) meydana getiren

ekstrasellüler (hücre dışı) proteinlerin tamamını üretme kabiliyetine sahip bir yapıya dönüşmeyi başarmaktır. Böyle bir osteoblast hücre döngüsü kontrolü, 45S5 biyoaktif camından iyonik çözünme ürünlerinin kontrollü salınımı ile başarılabilmektedir [18].

Apoptozis, kemik onarımı için yanlış yapıdaki hücrelerin çoğalmasını engellemek için gereklidir. Biyoinert malzemeler ile çevrili kimyasal çevre, apoptozisi harekete geçiremez. Sonuç, yapışkan olmayan ve mineralize olmayan yara dokusu karakteristiğine sahip hücre tiplerinin hızla çoğalmasındır. Bu nedenle, yalnızca biyolojik olarak aktif iyonları uyarabilen A sınıfı biyoaktif malzemeler, in vitro (vücut dışı) mineralize kemik nodül büyümesi ve in vivo kemik üretimini yapabiliyorken [18], biyoinert malzemeler ya da B sınıfı biyoaktif malzemeler yapamazlar [20].

2.2 Biyocam®-Yüzey Tepkimeleri

Biyocam® adı altında tanımlanmış olan biyoaktif camların atomsal düzeydeki içyapıları normal pencere camının yapısına benzemektedir. Şekil 2.3'te şematik olarak gösterilen bu yapıda, silisyum ve oksijen atomlarına bağlanmaksızın, serbest halde duran sodyum iyonları camın biyoaktif özellik kazanmasının başlıca nedenlerinden birisidir [3].



Şekil 2.3 : Alkali silikat camın atom yapısı [3].

Biyocam®, kemiğe ara yüzeyde Ca-P açısından zengin bir tabaka oluşturarak kimyasal olarak bağlandığı bildirilmiştir [27]. Biyocam®, kemiğe bağlanma kabiliyeti, fizyolojik sıvıya maruz kaldığında, implant yüzeyi üzerinde, yüzey çözünmesi ile başlayan (camdan katyon salınımı) ve birbiri ardına hızla meydana gelen kimyasal tepkimelerin bir sonucu olarak gerçekleşmektedir [20,25,28]. Biyoaktif camların yüzeyinde gerçekleşen tepkimeler Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4 : Biyocam[®] yüzeyinde gerçekleşen tepkimelerin aşamaları [29].

Tepkimelerin ilk beş basamağı, iyonların hızla salınımı ile cam yüzeyi üzerinde silika hidrat ve polikristalin hidroksikarbonat apatit (HCA) oluşumuna öncülük etmektedir [20]. Öncelikle, silisyum açısından zengin tabakanın oluşumunu sağlayan tüm alkali iyonlar camın yapısından çözünmektedir. Vücut sıvısındaki H₃O⁺ iyonu ile cam yüzeyinden Ca²⁺, Na⁺ ya da K⁺ iyonlarının salınımıyla Si-OH grupları oluşmaktadır (1-2. aşama). Aynı su molekülleri eş zamanlı olarak Si-O-Si bağı ile de tepkimeye girerek (3. aşama) Si-OH gruplarını oluşturmaktadır [27]. Son aşamada ise, HCA tabakasını meydana getirecek olan, içerisinde çözünmüş CO₂, Ca²⁺ ve PO₄²⁻ iyonları bulunan silika açısından zengin bir tabaka oluşmaktadır [28]. Oluşan yüzey tabakası oldukça gözenekli bir yapıya sahiptir. Kalsiyum ve fosfat iyonları, camın yüzeyinde amorf kalsiyum fosfat tabakasının oluşmasını (4. aşama) sağlamaktadır. Kalsiyum fosfat tabakası genellikle silika yapının üstünde yer almakta ve çözeltideki α -CaP fazından karbonat iyonlarının birleşmesiyle HCA yapısında kristalize olmaktadır (5. aşama) [30]. Bir kez apatit çekirdeği oluştuğunda, sıvıdan kalsiyum ve fosfat iyonları alınarak büyüme kendiliğinden devam etmektedir [31]. Tepkime aşamaları, büyüme faktörlerinin adsorpsiyon ve desorpsiyonunu artırmakta (6. basamak), makrofajların implant bölgesini doku onarımına hazırlamak için ihtiyaç duydukları süreyi (7. basamak), bağlanma süresini (8. basamak) ve osteoblastların eşzamanlı çoğalma ile farklılaşma sürelerini (9. basamak) etkilemektedir. Matrisin mineralizasyonu (11. basamak) bunları takiben

gerçekleşmektedir. Vücut içi veya vücut dışında gerçekleşen bu aşamalardan sonra (6-12 gün), kollajen-HCA matrisi ile kaplı olgun kemik hücreleri, son ürün olarak elde edilmektedir [20]. Bu tepkimeler, malzemenin yerleştirilmesinden sonraki ilk 12-24 saat içinde gerçekleşmektedir. Malzeme arayüzeyinde oluşan tepkimeler ilk beş aşamada tamamlanmış olur. Dokulara bağlanma ise, altıncı aşamadan başlayarak gerçekleşmektedir [30].

2.3 Biyoaktif Cam Üretim Yöntemleri

Biyoaktif camlar, geleneksel ergitme yöntemi olarak bilinen yüksek sıcaklıklarda ergitmeyle ya da sol-jel yöntemi olarak bilinen düşük sıcaklık prosesi ile üretilmektedirler [7,12].

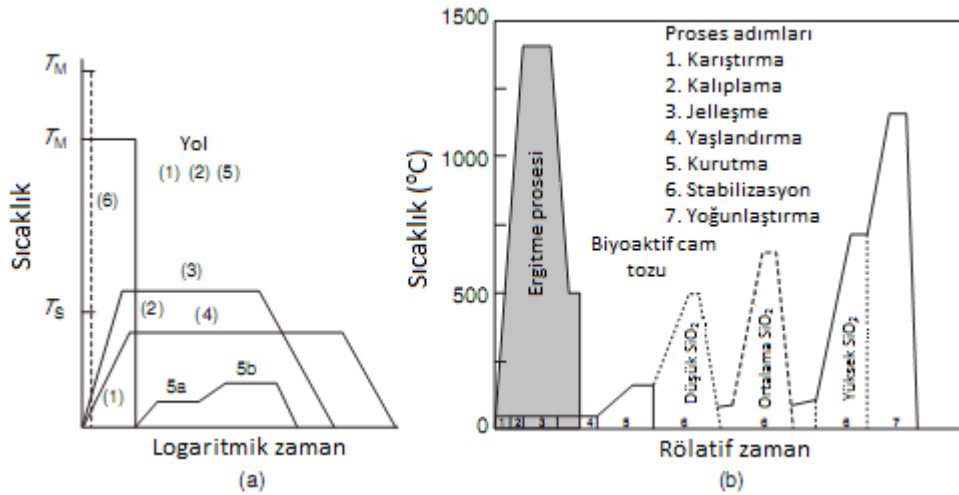
2.3.1 Ergitme yöntemi

İlk biyoaktif cam ve cam-seramik prosesleri, kuru başlangıç bileşiminin karıştırıldıktan sonra yüksek sıcaklıklarda (~ 1773 K) ergitilmesi ve bunu takiben arzu edilen şekillerde kalıplanması işlemini içermektedir [3]. Bu yöntemde kullanılan hammaddeler saf olmalıdır. Karıştırma, ergitme, homojenleştirme ve camı şekillendirme, yabancı maddelerin karışmasını engelleyerek yapılmalıdır. Cam üretimi sırasında eriyiğin kirlenmemesi için sadece platin veya platin alaşımlı potalar kullanılmalıdır. Numuneler, dökümle veya püskürtme dökümle oluşturulabilmektedir [30].

2.3.2 Sol-jel yöntemi

Sol-jel tekniği, kolloidal bir çözelti (sol) oluşturmak için oda sıcaklığında tetraetil ortosilikat (TEOS) gibi alkoksitlerin hidrolizini gerektirmektedir [32]. Su molekülü ile alkoksit birbirini etkilemekte ve alkol molekülü oluşmaktadır. Daha sonra ise Si-OH gruplarının polikondenzasyonu ile oligomerler oluşur. Polimerizasyonun tamamlanması ile beraber üç boyutlu, çapraz bağlı yapı meydana gelmektedir [30]. Ağın bağlanabilirliği arttıkça viskozite de artmakta ve sonunda bir jel biçimlenmektedir. Daha sonra dayanımı artırmak için jel, 333 K'de yaşlandırma, polikondenzasyon tepkimesinin sıvı yan ürünlerini uzaklaştırmak için 403 K'de kurutma ve malzemenin yüzeyinden organik türlerin uzaklaştırılması için 773-1073 K'de sinterleme/stabilizasyon işlemlerine maruz bırakılmaktadır [32].

Ergitme esaslı camlara kıyasla sol-jel metodu ile yüksek homojenliğe, yüksek yüzey alanı ile gözenekliliğe ve daha fazla biyoaktiviteye sahip yüksek saflıkta camlar üretilebilmektedir [20]. Ayrıca, biyoaktif bir cam, sol-jel yöntemi ile %100 SiO₂ içeriğinden oluşabiliyorken, ergitme esaslı camlarda biyoaktivite bileşimsel aralıkla sınırlıdır ve SiO₂ molar %60 değerinden daha az olmalıdır [12]. Şekil 2.5(a) camlar, seramikler ve cam-seramikler için ergitme prosesinde kullanılan zaman-sıcaklık ilişkilerini gösterirken, Şekil 2.5(b) ise sol-jel esaslı cam üretiminin zamana bağlı işlem adımlarını ve ergitme prosesi ile karşılaştırılmasını göstermektedir [21]. Sol-jel yönteminde, daha düşük sıcaklıklarda çalışılmasının yanında, morfoloji daha iyi kontrol edilebilmektedir [33]. Ergitme yöntemi ise daha az zaman alan bir yöntemdir [21]. Sol-jel prosesinin en önemli avantajlarından birisi, camın kristallendirilmeden birbirine bağlı makrogözenekli ağa sahip gözenekli yapı iskeleleri oluşturulabilmesidir [23].



Şekil 2.5 : (a) Proses adımlarının zaman-sıcaklık ilişkileri (1) cam, (2) polikristalin seramik, (3) ve (4) katı haldeki sinterlenmiş seramik, (5) polikristalin seramik, (6) sıvıdan polikristalin kaplama; T_M , erime sıcaklığı; T_S , faz diyagramının katılma hattı. (b) Ergitme yöntemine kıyasla sol-jel esaslı cam üretiminin proses adımları [21].

2.4 Stronsiyum Katkılı Biyoaktif Camlar

Kemik yenilenmesi sürecinde, biyomalzemelerden aktif iyonların kontrollü olarak salınımı kritik bir hale gelmiştir. Ancak, biyoaktif camlar gibi malzemelerin birçoğu hastalıklı doku için biraz tedavi edici etki sağlamaktadır [28]. Bu malzemelerin kemik hücrelerini uyarıcı özelliklerini geliştirmek için uygulanan yaklaşımlardan

biri, kimyasal bileşimlerinin içerisinde kemik hücrelerini uyarıcı iyonların katılmasıdır [12].

Birçok araştırmacı, hücre çoğalması, farklılaşması ve dolayısı ile kemik mineralizasyonu üzerine benzersiz etkileri nedeniyle çinko, magnezyum ve silisyum benzeri iyonların ilave edildiği biyoseramik esaslı biyomalzemelerin hazırlanması ve karakterizasyonu konusuna yoğunlaşmaktadır. Stronsiyumun, kemik hücrelerinin iyileşme sürecini hızlandırdığı ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. İn vitro ve in vivo çalışmalar; stronsiyumun, insan ve hayvan kemiği oluşumunu artırdığını ve osteoporozu azalttığını göstermektedir. Ancak, cam bileşimindeki stronsiyum iyon derişiminin yüksek oranda bulunması, hücre gelişimi ve çoğalmasını geciktirebilmekte veya engelleyebilmektedir [12].

Biyoaktif camlar gibi silikat cam sistemlerinde, kalsiyumun ağ yapısını değiştiren bir iyon olarak davrandığı açıklanmıştır [14]. Stronsiyumun iyonik yarıçapı 1.13 Å iken kalsiyum için bu değer 1.00 Å'dur [12]. Yükleri ve iyonik çaplarındaki benzerlikten dolayı stronsiyum, biyoaktif camlara kalsiyumun yerine katılabilmekte ve kalsiyuma benzer bir rol oynayabilmektedir. Stronsiyum içeren biyoaktif camlar, biyoaktif camların kemik yenileyici özellikleri ile stronsiyum katyonlarının anabolik (protein yapıcı) etkilerini birleştirme özelliğine sahiptirler [13,14,34].

Stronsiyum, insan vücudunda doğal olarak meydana gelen eser bir elementtir [19]. Stronsiyumun normal bir öz sıvıdaki derişiminin 10 µg/L (1.14×10^{-3} mM) ve 217 µg/L (2.48×10^{-3} mM) aralığında olduğu belirlenmiştir. Ancak, kemik dokusundaki stronsiyum miktarı kanda olduğundan daha yüksektir. Absorblanan stronsiyumun %99.1'i kemik içinde depolanmaktadır (36–140 mg/kg) [35]. Bu nedenle, stronsiyumun belirli dozlarının kemik öncül hücrelerinin çoğalmasını teşvik ettiğine ve kemik yenilenmesine yarar sağladığına inanılmaktadır [36].

Osteoporoz için yeni geliştirilen bir ilaç olan stronsiyum ranelat (Protelos®), osteoblast farklılaşmasını teşvik eden ve osteoklast aktivitesi ile kemik desorpsiyonunu engelleyerek, osteoporozlu hastalarda kırık ihtimalini azaltabilen çift yönlü etkiler göstermektedir [10,36,37]. Bu ilacın gelişimi, stronsiyumun biyolojik rolüne [19] ve stronsiyum katkılı hidroksiapatit ile kalsiyum polifosfata ve SrO içeren biyoaktif camlar gibi, stronsiyum katkılı biyomalzemelere karşı artan bir ilgiye neden olmuştur [36].

Hesarakı ve Ç.A., sol-jel yöntemi ile $\text{SiO}_2\text{-CaO-SrO-P}_2\text{O}_5$ esaslı biyoaktif silikofosfat cam üretmiş ve bunun fizikokimyasal, biyoaktif ve hücresel özelliklerini uygun analitik teknikler kullanarak, stronsiyum içermeyen biyoaktif cam ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlar, cam bileşiminde stronsiyum kullanılması ve yaşlandırma sıcaklığının artması ile birlikte jel viskozitesinin ve dolayısıyla jel oluşum hızının arttığını göstermiştir. SrO reaktivitesinin, CaO reaktivitesine kıyasla daha yüksek olması, bu sonucu açıklamak için uygun bir yaklaşım olarak görülmüştür. İn vitro yapay vücut sıvısı (SBF) çalışmaları, stronsiyum iyonlarının camların yüzeyi üzerinde kalsiyum fosfat çökmesini çok az geciktirdiğini göstermiştir. Stronsiyum/kalsiyum silikofosfat camının in vitro biyobozunma hızının, stronsiyum içermeyen cama kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Fare kafatası kemik dokuları kullanılarak gerçekleştirilen hücre kültürü deneyleri, cam bileşimine stronsiyum ilave edilmesinin, zamana bağlı olarak, hücre çoğalmasını teşvik ettiğini ve alkalın fosfataz aktivitesini artırdığını göstermiştir [12].

Gorustovich ve Ç.A., fare kaval kemiği iliğine yerleştirilen stronsiyum katkılı biyoaktif cam taneciklerinin osteokondüktifliğinin, histolojik ve histomorfometrik değerlendirmesini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ve EDS (Enerji Dağılımlı X-Işınlari Spektroskopisi) yöntemleri ile kemik-biyoaktif cam arayüzeyi ve biyoaktif cam taneciklerinin etrafında yeni oluşan kemik dokudaki stronsiyum içeriği belirlenmeye çalışılmıştır. Ergitme yöntemi ile hazırlanan stronsiyum katkılı camlar (45S5.6Sr), CaO yerine ağırlıkça %6 SrO kullanılmasıyla hazırlanmıştır. Histolojik analizler, lamelli yeni kemiğin hem 45S5, hem de 45S5.6Sr biyoaktif parçacıklarının yüzeyi boyunca 4 hafta içerisinde oluştuğunu göstermiştir. Osteokondüktifliği değerlendirebilmek için afinite indisi (kemik-implant etkileşim yüzdesi) hesaplanmıştır. İmplantasyondan 30 gün sonra, 45S5 ve 45S5.6Sr biyoaktif camlarının neredeyse özdeş indislere sahip olduğu belirlenmiştir (%88±7 ve %87±9). 45S5.6Sr biyoaktif cam taneciklerinin etrafını çevreleyen yeni kemik dokusunun içinde stronsiyum tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar 45S5.6Sr biyoaktif cam taneciklerinin, fare kaval kemiği iliği içine yerleştirildiğinde osteokondüktif olduğunu, 45S5 ile osteokondüktiflik potansiyelleri arasında önemli bir fark olmadığını ve Ca/P oranı açısından kemik mineralizasyonunda değişiklik meydana getirmediğini göstermiştir [38].

Kimyasal çöktürme yöntemini kullanan Zhang ve Ç.A., stronsiyum silikat (SrSiO_3) tozları sentezlemişlerdir. Toz camların in vitro hücre uyumluluğunu belirleyebilmek için hem fare fibroblastları hücre dizisi (L929), hem de tavşan kemik iliği stromal hücreleri (rMSC) kullanılmıştır. L929 kültür deneyleri, yüksek iyon derişimleri dışında SrSiO_3 iyonik ürünlerinin zehirlilik sergilemediğini göstermiştir (Si 3.75 mM ve Sr 0.12 mM). Ayrıca, belirli iyon derişimlerinde (Si 1.87–0.12 mM ve Sr 0.12– 3.75×10^{-3} mM) SrSiO_3 iyonik ürünleri, rMSC çoğalmasını teşvik etmiştir [36].

Wong ve Ç.A., 1, 3, ve 6 ay süreyle tavşanların kalça kemiği tepesindeki süngerimsi kemiğe, stronsiyum içeren biyoaktif hidroksiapatit kemik çimentosu yerleştirerek, in vivo ortamda kemiğin davranımını incelemişlerdir. İmplantasyondan 1 ay sonra kemiksi tabaka oluşumunun ve osteoblast adhezyonunun, yeni kemik oluşumunun kanıtı olduğu düşünülmüştür. Yeni oluşan kemiğin, kemik çimentosu üzerinde 3 ay sonra geliştiği görülmüştür. 3 ay sonunda çimento üzerindeki kemik implant etkileşiminin 73.55 ± 3.50 'den 85.15 ± 2.74 'e yükseldiği belirlenmiştir [39].

Stronsiyum ilavesi sonrası kemik kristal değişimlerinin anlaşılması amacıyla Li ve Ç.A. tarafından, farklı miktarda Sr içeren hidroksiapatit nanokristalitleri sentezlenmiştir. XRD (X-Işınları Difraksiyonu) ve TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu) sonuçları, %1.5'ten daha düşük atomik oranda stronsiyum ilavesinin, kimyasal bileşimi ve kristal yapıyı etkilemediğini göstermiştir. Ancak, %15 stronsiyum ilavesinin, kristal büyüklüğü ve kristalleşmeyi önemli ölçüde değiştirdiği belirlenmiştir [40].

Lakhkar ve Ç.A., ilk kez beş bileşenden oluşan $\text{P}_2\text{O}_5\text{--Na}_2\text{O--CaO--TiO}_2\text{--SrO}$ sisteminde biyoaktif cam üretimini gerçekleştirmişler ve stronsiyumun, camların hücre uyumluluğu ile fiziksel özellikleri üzerine olan etkisini incelemişlerdir. 15 günden uzun süre yürütülen çalışmalar, stronsiyum içeren camların daha yüksek bozunma ve iyon salınım hızı gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. MG63 (insan osteosarkoma) hücreleri kullanılarak 7 günlük sürede gerçekleştirilen hücre uyumluluk çalışmaları sonucunda, molar %5 SrO ilavesinin hücre yaşayabilirliğini artırdığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, incelenen beş bileşenli Sr-Ti camlarının, dördü TiO_2 fosfat camlarına kıyasla hücre uyumluluğu olumsuz bir şekilde etkilemeden ve daha hızlı bir şekilde bozunduğunu göstermiştir [41].

Guida ve Ç.A., dental çürük tedavilerinde kullanılmak üzere stronsiyum oksiti, cam iyonmer çimentoları (GIC) içerisine ilave ederek antibakteriyel özelliklerini değerlendirmişlerdir. Genellikle, cam iyonmer çimentolarından florür salınımının antibakteriyel etkiden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ancak, bu çalışmada stronsiyum içeren GIC'lerde, çürük gelişimi engellenmesinin, florürden çok stronsiyum salınımı ile başarıldığı gözlenmiştir [13].

Towler ve Ç.A., SrO-CaO-ZnO-SiO_2 camları hazırlamış, in vitro SBF ve fare kalça kemiği modelini kullanarak da in vivo hücresel uyumluluk deneylerini gerçekleştirmişlerdir. SBF içerisinde camların; hidroksiapatit tabakası oluşturamamasına rağmen, herhangi bir iltihaplı etki göstermeden implantasyon bölgesine çok yakın bir bölgede kemik oluşumu ile in vivo ortamda biyoaktif bir davranış sergilediği tespit edilmiştir [42].

Pan ve Ç.A. tarafından, stronsiyumla birleştirilen borat camının kimyasal yapısı araştırılmış ve bozunma davranışı ile biyouyumluluğu incelenmiştir. Borat camına stronsiyum katkısının sadece borun hızlı salınımını yavaşlatmadığı, aynı zamanda osteoblast tipi hücrelerin bağlılığını artırarak, borat camının hücresel uyumluluğunu önemli ölçüde yükselttiği belirlenmiştir. Apatit içeren gözenekli yapıda katmanlı tabakaların oluşumunun, apatit tarafından kaplanan osteoblast hücrelerinin yayılmasını ve erken aşamalarda kemik benzeri doku oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiştir [10].

Stronsiyumun etkisini incelemek amacıyla Zhang ve Ç.A., stronsiyum katkılı kalsiyum silikat ve borosilikat camları üretmişler ve stronsiyum katkılı hidroksiapatit ile karşılaştırmışlardır. Yapı, bileşim, bozunma davranışı ve biyolojik cevaplar incelenmiştir. Stronsiyum katkılı hidroksiapatitte faz geçişi bulunmamasına rağmen, kalsiyum silikat ve borosilikatların biyolojik performansı, malzemenin stronsiyum içeriğinden önemli ölçüde etkilenmiştir. Stronsiyum varlığında üç belirgin sonuç bulunmuştur: (1) hidroksiapatit çözünürlüğünün arttığı; (2) kalsiyum silikat bozunma hızına önemli bir etkide bulunmadığı; (3) hızlı borosilikat bozunma hızının belirgin şekilde azaldığı. Stronsiyum salınımı, her durumda osteoblast çoğalmasını ve alkalik fosfataz aktivitesini etkilemiştir. Bu sonuç, optimum bir stronsiyum miktarının olduğunu göstermiştir. Stronsiyum ilavesi, hücre çoğalmasını desteklerken, fazlasının ise zararlı olduğu tespit edilmiştir [34].

Stronsiyum katkılı kalsiyum silikat içeren poli(metil metakrilat) kemik çimentolarının, Sr^{+2} salınımı dolayısıyla biyoaktivite ve biyouyumluluğunun arttığı saptanmıştır. Bu salınımın, sadece osteoblast çoğalmasını teşvik etmediği, aynı zamanda apatit çökmesini kolaylaştırdığı ve kemik-implant arayüzündeki mekanik dayanımı artırdığı belirlenmiştir [43,44].

2.5 Biyocam®'ın Kullanım Alanları

Hench ve Ç.A.'nın 1971 yılında 45S5 biyoaktif camı üretmelerinden itibaren, 45S5 ve 45S5 bileşim esaslı diğer silikat biyoaktif camlar biyomedikal uygulamalar için yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar [24]

A.B.D. piyasasında açıklanan ilk Biyocam® içeren cihaz, orta kulaktaki kemiklerin değiştirilmesi sonucu oluşan duyu kaybının tedavi edilmesinde kullanılmıştır. Cihaz, 'Bioglass® Ossicular Reconstruction Prosthesis' olarak adlandırılmış olup ticari adı 'MEP®'ir. MEP®'in kullanımda olan diğer cihazlara kıyasla avantajı, kemik dokusuyla olduğu kadar yumuşak doku (timpanik membran) ile de bağ yapabilme özelliğidir. Klinik çalışmalar MEP®'in, diğer biyoseramik ve metal protezlerden daha üstün olduğunu göstermiştir [20].

Diğer Biyocam® içeren cihaz ise, 'Endosseous Ridge Maintenance Implant (ERMI®)' adıyla 1988 yılında piyasaya girmiştir. Cihaz, doğal diş köklerinde dudak ve dil katmanlarını desteklemek için tasarlanmıştır. Bu cihazlar kemik dokusuna bağlanabilmiş ve aynı amaç için kullanılan diğer malzemelerden çok daha düşük hata oranları ile oldukça stabil olduklarını kanıtlamışlardır [20].

Kemikaltı kusurlardaki periodontal hastalıktan kaynaklı kemik kaybını onardığı bilinen PerioGlas®, Avrupa'da pazarlanmasına 1995 yılında başlamıştır. PerioGlas®'ın piyasadaki başarısı üzerine, 'NovaBone®' ticari adı altında toz Biyocam® da 1999 yılında Avrupa piyasasına girmiştir. 2000 yılında ürünün, yüke maruz kalmayan bölgelerde ortopedik kemik dokusu nakli için uygun olduğu açıklanmıştır. NovaBone®, Amerika, Avrupa, Çin ve daha birçok ülkede satılmaktadır [20].

Üçüncü nesil olarak adlandırılan biyoaktif camlar, kompozitler, hibrit malzemeler ve makrogözenekli süngerler, canlı dokuların yenilenmesini teşvik eden (harekete

geçiren) genleri etkinleştirmek için tasarlanmaktadır. Üçüncü nesil biyomalzeme kullanımı ile günümüzde iki tür alternatif onarım yolu mümkündür [20]:

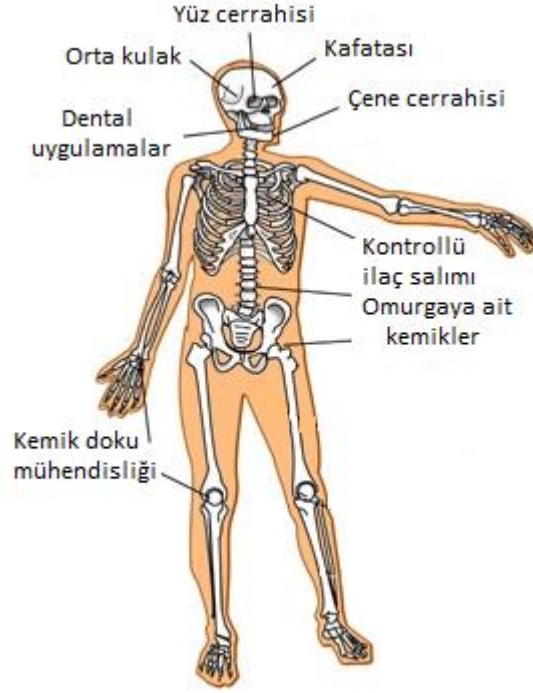
- 1) Doku mühendisliği: Ata hücreler, biyolojik olarak aktif emilebilir yapı iskeleleri üzerinde çekirdeklendirilir. Hücreler, vücut dışında büyür, farklılaşır ve doğal şekilde meydana gelen dokuları taklit ederler. Bu doku mühendisliği yapıları daha sonra hastalıklı veya zarar görmüş dokuların yerini alması için hastaya yerleştirilir. Yapı iskeleleri zamanla vücuttan atılarak, canlı kan kaynağı ve sinirleri içeren ana doku ile yer değiştirir. Canlı doku mühendisliği yapıları, fizyolojik çevreye adapte olarak kalıcı onarım sağlamaktadırlar. Klinik uygulamalar, eklem kıkırdağı, deri ve vasküler sistem onarımını içermesine rağmen, onarılan dokuların stabilitesinin geliştirilmeye ihtiyacı vardır [20].
- 2) Yerinde doku üretimi: Bu yaklaşım, bölgesel doku onarımını harekete geçirmek için toz, çözelti ya da koyu kıvamlı mikro boyuttaki taneciklerden oluşan biyomalzemelerin kullanımını içermektedir. Biyomalzemeler, uyarıcı ile temas halindeki hücreleri harekete geçiren iyonik çözünme ürünleri ya da kemik yapı proteini gibi (BMP) büyüme faktörleri formundaki kimyasalları, difüzyon ya da ağ kırılması yoluyla kontrollü hızla salmaktadırlar. NovaBone[®], NovaMin[®] ve NovaThera[®] ürünlerinin hepsi üçüncü nesil biyoaktif cam ürünleridir.

Biyoaktif camlar, yüzeyleri üzerinde hidroksiapatit tabakası oluşumu vasıtasıyla canlı doku ile kuvvetli bir bağ oluşturmakta ve birçok kafatası, çene-yüz cerrahisi ve diş eti tedavisi uygulamalarında kullanılmaktadırlar (Şekil 2.6) [25,45]. Hızlı in vitro kemik oluşturma kabiliyeti nedeniyle de damak restorasyonları, göz çukuru çevresindeki yüz kemiklerinin restorasyonu ve benzeri uygulamalarda aranılan yapay kemik seramikleri arasına girmişlerdir [3].

Bileşimlerinde gümüş içeren biyoaktif camlar geliştirilerek, toz ya da yapı iskelesi olarak çeşitli uygulamalarda kullanımları test edilmektedir. Bu sol-jel esaslı biyoaktif malzemeler, gümüş iyonlarını kontrollü olarak ppm mertebesinde salmaktadır. Gümüş iyonları, insan hücrelerine zarar vermeden e-coli ve gram⁺ ve gram⁻ bakterileri için hem bakteriyostatik (bakteri gelişimini engelleyen) hem de bakterisidal (bakteri öldürücü) etkiler sağlamaktadır [20].

Gözenekli biyoaktif camlar, zayıf mekanik özelliklerine rağmen, yüke maruz kalmayan bölgelerde ve metal katmanlar üzerine kaplama şeklinde

kullanılabilmektedirler [25]. Yüksek yüzey alanı, düzenli gözenekler ve yüksek gözenek hacmine sahip mezogözenekli biyoaktif camların, kontrollü ilaç salınımında potansiyel kullanım alanları incelenmektedir [5]. Düşük molekül ağırlıkları sebebiyle implantasyon bölgesine hızla difüze olan kemik yapı proteinleri (BMP)'nin sürdürülebilir salınımı için cam-seramik yapı iskeleleri kullanılabilmektedir [1]. Rijit biyoaktif camlardan üretilen yapı iskeleleri ile biyopolimer kaplamalar birleştirilerek, yapı iskelesine ilaç salınım özelliği kazandırılabilceği belirtilmiştir [46]. Bu amaçla ilaç, üç boyutlu (3D) biyoaktif camı homojen bir şekilde kaplayan polimer faz ile kaplanmaktadır. Amaç, rijit inorganik yapı iskelesinin yapısal bütünlüğünü sağlarken, polimerin bozunma hızına bağlı olarak ilacı kontrollü bir hızda salmaktır [47].



Şekil 2.6 : Biyoaktif camın kullanım alanları [45].

3. BİYOPOLİMERLER

Polimerler, biyoinert ve biyoemilir olarak sınıflandırılabilirler. Biyoemilir bir polimer, işlevini gerçekleştirdikten sonra vücut içerisinde bozunacak şekilde tasarlanmaktadır. Biyopolimerler, implantasyon durumunda vücuda karşı zehirli etki yapmamaktadırlar [21]. Biyobozunur olmaları ve doğal ekstrasellüler bileşenlere benzer yapısal gruplar içermeleri nedeniyle avantajlıdır [22]. Ancak, kemiğe bağlanamaz ve kemik hücreleri içindeki genleri uyaramazlar [7]. Ayrıca, düşük mekanik dayanımları nedeni ile yük taşıyan kemiklerle yer değiştirmek amacıyla kullanımları zordur [7,16].

Kemik; bileşenleri başlıca kollajen ve hidroksiapatitten oluşan seramik bir kompozittir. Kemik, % 69 kalsiyum fosfat, % 20 kollajen, % 9 su ve % 2 organik madde içermektedir. Kollajen; kemik, deri ve bağ dokunun ana bileşeni olan jelatinimsi bir proteindir. Kollajen, biyouygun ve biyobozunurdur. Protein ve polisakkaritlerden oluşan dokular seramikten hazırlanamaz, çünkü yüksek esnekliğe ihtiyaç vardır. Bu durumda en iyi aday polimerdir. Polimerlerin, viskoelastik özellikleri nedeni ile mükemmel dayanımları vardır. Kolay şekle girebildiği için, polimer kullanmak kırılabilir ikinci faz (seramik) oluşumu için gereklidir. Oluşan bu seramik faz, polimerik maddenin kemiğe bağlanmasını sağlamaktadır. Bu nedenle, yapı iskelesi üretiminde biyoseramik/polimer kompozit malzemeler kullanılmaktadır [1,15,17]. Biyoaktif bir cam fazı ile birlikte sentetik ve biyolojik polimerleri içeren kompozitler, polimerlerin yüke dayanım özelliklerini geliştirmekte ve yapı iskelelerinin biyobozunur olduğu kadar, biyoaktif olmasını da sağlamaktadır [11,16]. Bu tür polimerlerin ve kompozitlerinin iki belirgin avantajı bulunmaktadır: (i) polimer emildikçe daha az gerilim yığılması oluşması, (ii) implantın kolayca erimesiyle ikinci bir operasyona ihtiyaç kalmamasıdır [21].

İki tip biyobozunur polimer sınıfı bulunmaktadır: Birinci kategori polisakkaritleri (nişasta, aljinat, kitin/kitosan, hialüronik asit türevleri) ya da proteinleri (soya, kollajen, fibrin jel, ipek) içeren doğal esaslı malzemelerdir. İkinci kategori ise sentetik biyobozunur polimerlerdir [15].

3.1 Doğal Biyopolimerler

Doğadan elde edilen birçok polimer, dokuların yapısal bileşenlerinden meydana gelmelerinden dolayı, doku yenileme uygulamalarında düşük antijen üretimi, biyobozunurluk ve biyouyumluluk gibi avantajlara sahiptirler. Zehirli olmayıp, canlı hücreler ile etkileşim gösterirler [11,48]. Doğal polimerler, düşük mekanik dayanımları ve yüksek bozunma hızları dolayısıyla kompozit olarak kullanılmaktadırlar. Ancak, bu değişiklikler zehirli bir etkiye veya biyouyumluluğun azalmasına neden olabilmektedir [48].

3.1.1 Kollajen

Kollajen, vücudun her tarafında bol miktarda bulunan doğal bir proteindir ve doku mühendisliği yapı iskelelerinde kullanımı yaygın bir şekilde araştırılmaktadır. Mekanik ve bozunma özelliklerini geliştirmek için çeşitli teknikler ile çapraz bağlanmakta ve bir biyomalzeme olarak uygulama alanı genişletilebilmektedir. Kullanımdaki faydalarından biri, kollajenin emilebilir olması ve vücutla bütünleşmesidir. Hücresel adhezyon ve çoğalmaya katkıda bulunmaktadır [21]. Yapay kan damarlarında [21], antibiyotik gibi düşük molekül ağırlıklı ilaçların bölgesel salınımlarında, plazmid DNA ile gen salınımı ve protein taşıyıcı araç olarak kullanımı kapsamlı bir şekilde incelenmektedir [49].

3.1.2 Fibrin

Fibrin, trombin ve CaCl_2 (kan pıhtılaştırıcı) varlığında fibrinojen polimerizasyonu ile oluşan doğal bir polimerdir. Biyomedikal uygulamalar için sünger, tanecik, tabaka, veya doku yapıştırıcısı olarak formüle edilmektedir. Fibrin, yaygın olarak hücre kapsüllenmesi ve çeşitli büyüme faktörlerinin salınımı için kullanılmaktadır [21].

3.1.3 Aljinat

Aljinat, α -D-mannuronik asit ve deniz yosunu türeviden olan β -L-guluronik asitten oluşan doğal bir polisakkarittir. Aljinat polimerler, polimer omurgasındaki guluronat gruplarının karboksilat gruplarını çapraz bağlayarak jel oluşturmaktadırlar. Aljinat jeller; yara kapayıcı, sinir naklinde Schwann hücre matrisi ve doku mühendisliğinde hücre taşıyıcı olarak kullanılmaktadır [21]. Kontrollü ilaç salınım sistemlerinde de yaygın bir şekilde yer almaktadırlar [50].

3.1.4 Hiyalüronik asit

Hiyalüronik asit önemli bir ekstrasellüler biyolojik polisakkarittir. Vücudun çeşitli doku ve sıvılarında bulunan bir glikozaminoglikandır. Bakteriyel geçişe karşı koyma vazifesi görerek ekstrasellüler sıvının su içeriğini kontrol etmektedir. Katyonları bağlamakta, hücre değişkenliği ve doku gelişimini kuvvetli bir şekilde etkilemektedir [21]. Yapısında değişiklik yapılmadığında hiyalüronidaz varlığında vücutta 2-5 gün içerisinde bozunmaktadır. Doğal oluşumlu bir polisakkarit olduğundan, in vivo olarak tamamen bozunabilmektedir. Bu da onu, kontrollü ilaç salınımı için uygun bir matris yapmaktadır. Eklem ve kırıldak hasarlarının tedavisinde, oftalmoloji (göz hastalıkları) uygulamalarında ve cilt bakımı amaçlı kullanılmaktadır [51]. Aynı zamanda, yapışkan olmayan yara kapama malzemesi olarak da kullanımı uygun bir malzemedir [21].

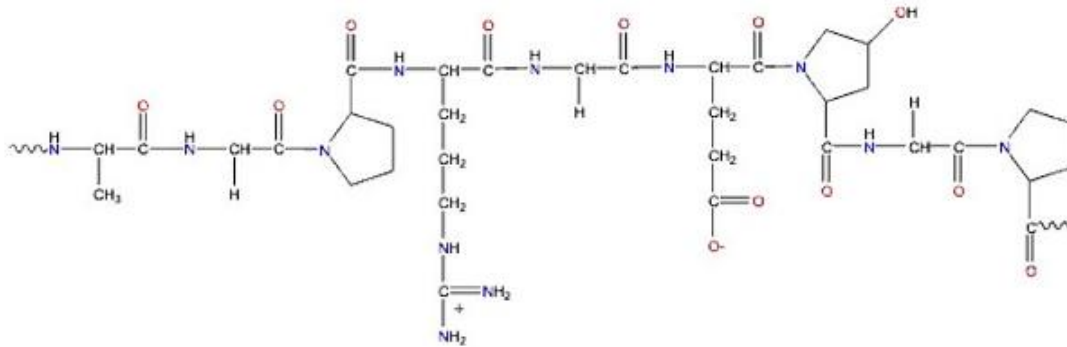
3.1.5 Kitin ve kitosan

Kitin; yengeç, ıstakoz, karides ve böceklerin kabuklarında bulunan bir makromoleküldür. Kitin fiberlerden, yapay deri ve emilebilir ameliyat ipliği yapımında yararlanılmaktadır. Doğal yapıdayken çözünebilir değildir; fakat, kitosan yapıdayken suda çözünabilmektedir. Biyoyumludur ve antibakteriyel özelliklere sahiptir. Su tutma ve nemlendirici özelliklerinden dolayı, kozmetik endüstrisinde de uygulama alanı bulmaktadır [50].

Kitosan, kitinin kısmi asetillenmesiyle elde edilen polisakkarit tipi, bol bulunan ve üretimi düşük maliyetli olan bir biyopolimerdir [11,22]. Yüksek biyoyumluluğu, biyobozunurluğu ve kan koagülasyon özelliklerinden dolayı, biyomedikal uygulamalar için uygun bir malzeme olarak kullanılmaktadır. Antibakteriyel özellikleri kitosanı, alveolar kemik yenilenmesinde kullanılan yapı iskelelerinin tasarımı için uygun bir malzeme yapmaktadır [22]. Mevcut çalışmalar kitosanın; kırıldak, deri, kemik gibi çeşitli dokularda yapı iskelesi malzemesi olarak değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilmektedir [49]. Saf kitosan, zayıf temelli anyon değiş tokuş kabiliyeti sebebiyle, çoğunlukla yüzeyi değiştirilmiş anyon saptama sensörlerinde kullanılmaktadır [52].

3.1.6 Jelatin

Jelatin; kollajenin kısmi türevi olup, bir hayvan proteini (Şekil 3.1). Hücre adhezyonuna katkıda bulunan glisin, prolin ve hidroksiprolin gibi bir dizi aminodan oluşmaktadır [22]. Biyobozunur olup, suda çözünmektedir. Hazırlanmasında, alkalın ön işlemleri bulunup bulunmamasına bağlı olarak, iki türü mevcuttur. Asitle muamele (A tipi jelatin) domuz derisinden elde edilende, alkalın muamelesi (B tipi jelatin) ise sığır deri ve kemiklerinden elde edilende kullanılmaktadır [52].



Şekil 3.1 : Jelatinin moleküler yapısı [52].

Hücre bağlanması, göçü, farklılaşması ve çoğalmasını artırmak için kitosan, β -trikalsiyum fosfat, hidroksiapatit gibi malzemeler ile harmanlanarak kompozit şeklinde işlenebilmektedir. Jelatin derişiminin, yapı iskelesi özelliklerini etkilediği bilinmektedir [22]. Aynı zamanda şarap ve meyve suyu berraklaştırma işleminde inceltme ajanı olarak kullanılmaktadır [52]. Ayrıca, çeşitli ilaçların kaplanması ve mikrokapsülasyonu ile biyobozunur hidrojeller hazırlamak için biyomedikal alanda çeşitli uygulamaları görülmektedir [50].

3.2 Sentetik Biyopolimerler

Kimyasal yolla sentezlenen polimerlerin çok yönlülüğü, özel doku uygulamalarına uyum sağlayan farklı özelliklere sahip (şekil, gözeneklilik ve gözenek büyüklüğü, bozunma hızı, mekanik özellikler) yapı iskelesi üretimine imkan sağlamaktadır [48]. Diğer bir avantaj, malzeme safsızlığının kontrol edilebilmesidir. Zehirlilik, immunojenite (bağışıklık sağlayıcılık) ve enfeksiyon destekleme gibi mümkün riskler, saf sentetik polimerler için daha düşüktür [15].

3.2.1 Doygun alifatik poliestерler

Doku mühendisliğinde 3D yapı iskeleleri için en çok yararlanılan biyobozunur sentetik polimerler poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA) ve poli(laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) kopolimerlerini içeren doygun poli- α -hidroksi esterlerdir. PLA'nın üç türü mevcuttur: L-PLA (PLLA), D-PLA (PDLA) ve D,L-PLA (PDLLA) rasemik karışımı [15].

Bu polimerlerin kimyasal özellikleri, de-esterifikasyon vasıtasıyla hidrolitik bozunmaya müsaade etmektedir. Bir kez bozunmaya başladıklarında her bir polimerin monomerik bileşeni doğal yollar aracılığıyla giderilmektedir. Vücut, monomerik laktik ve glikolik asit bileşenlerini tamamen uzaklaştırabilen oldukça düzenli mekanizmalara sahiptir. Bu özellikleri sebebiyle emilebilir ameliyat ipliği olarak, ya da ilaç salınım sistemlerinde kullanımlarının klinik olarak umut verici olduğu kanıtlanmış ve FDA (the United States Federal Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır [15,53]. PLA ve PGA kolaylıkla işlenebilmekte ve bozunma hızları, fiziksel ve mekanik özellikleri ayarlanabilmektedir. Ancak, bu polimerler erozyona uğrayarak yapı iskelelerinin zamansız bir şekilde bozulmasına neden olabilmektedirler. Ayrıca, bu asidik bozunma ürünlerinin ani salınımı kuvvetli bir inflamatuvar (iltihaplı) cevaba neden olabilmektedir. Bozunma hızları PGA>PDLLA>PLLA>PCL (poli(ϵ -kaprolakton)) sırasını takiben azalmaktadır. Bozunma kinetiğini; kimyasal bileşim, üretim geçmişi, molar kütle, polidispersite, gerilim, çevresel şartlar, kristallik, morfoloji, zincir yapısı, kimyasal olarak reaktif olan bileşiklerin matris içindeki dağılımı, katkı maddeleri gibi farklı birçok faktör etkilemektedir [15].

Polilaktit uygulamaları; kemik dolgu, vida ve kırık sabitleme plakalarını içermektedir [21]. İmplant performansı bakımından üstün özellikleri sebebiyle PDLLA, biyomedikal kaplama malzemesi olarak kapsamlı bir şekilde incelenmektedir. Mekanik stabilitesine ek olarak, osteokondüktif potansiyel ve in vivo olarak mükemmel bir biyouyumluluk sergilemektedir [15]. PDLLA, bölgesel ilaç salınım sistemleri oluşturmak için, büyüme faktörleri ve antibiyotikler gibi biyomoleküller ile birleştirilebilmektedir [17]. Biyoaktiviteyi artırmak için Biyocam® tanecikleri, PDLLA süngerleri içine hem kaplama hem de dolgu olarak uygulanabilmektedir [53].

PLGA, biyouyumlu, biyobozunur fakat gevrek bir polimerdir. Küçük bir miktar kil ilavesi ile tokluğu geliştirilerek dikiş ipliği, emilebilir ağ olarak ve kontrollü ilaç salınımında kullanılmaktadır [54].

PCL, alifatik poliester ailesinin önemli bir diğer üyesidir ve kemik kusurlarının tedavisinde, kemik gelişimi ve yenilenmesini artırmak amacıyla ilaç salınım sistemi olarak değerlendirilebilmektedir. Yüksek molekül ağırlıklı bir PCL sistemin bozunmasının oldukça yavaş olduğu, vücuttan tamamen uzaklaşması için üç yıl gerektiği belirlenmiştir [15]. Uzun süre tedavi imkanı sağlayabilen bu polimerin, bozunum sonucunda diğer poliesterler gibi asidik bir çevre oluşturmaması ve böylece dokudaki protein ile hücrelere hiçbir zarar vermemesi de istenilen rejenerasyona ulaşılması açısından önemli bir özelliğidir [51].

3.2.2 Polipropilen fumarat (PPF)

PPF, doymamış doğrusal bir poliesterdir. PLA ve PGA'da olduğu gibi bozunma ürünleri biyouyumludur ve vücuttan kolaylıkla uzaklaştırılabilmektedir. Mekanik özellikler ve bozunma zamanı, molekül ağırlığı değiştirilerek kontrol edilebilmektedir. Doku yenilemesi uygulamalarında yapı iskelesi olarak ve sıklıkla, kemik yerini alan enjekte edilebilir kompozitlerin bir parçası olarak kullanılmaktadır [15].

3.2.3 Polihidroksialkanoatlar (PHB, PHBV, P4HB, PHBHHx, PHO)

Polihidroksialkanoatlar (PHA) da alifatik poliesterlerdir, fakat dengesiz büyüme koşullarında mikroorganizmalar tarafından üretilmektedirler. Biyobozunur ve ısı olarak işlenebilir olmaları, tıbbi cihaz ve doku mühendisliği uygulamalarında biyomalzeme olarak kullanımlarını ilgi çekici yapmaktadır [15]. PHA'ların, özellikle poli-3-hidroksibütirat (PHB), 3-hidroksibütirat ve 3-hidroksivalerat (PHBV) kopolimerleri, poli-4-hidroksibütirat (P4HB), 3-hidroksibütirat ve 3-hidroksihegzanoat (PHBHHx) kopolimerleri ile poli-3-hidroksioktanoat (PHO) polimerlerinin doku mühendisliği için uygun olduğu kanıtlanmıştır [15,17].

İmplantasyon sonrası, 12 aya varan süre zarfında istenmeyen bir kronik inflamatuvar yanıt göstermediği ve tutarlı bir kemik doku adaptasyonu meydana getirdiğinin kanıtlanmış olmasından dolayı PHB, doku mühendisliği uygulamaları için özel bir ilgi görmektedir [17]. Ancak, polimer içine su difüzyonunu engelleyen yüksek

kristalliliğin sonucu olarak birçok biyomedikal uygulamada oldukça yavaş bozunmaktadır. Sadece vücutta değil, toprakta da bozunabiliyor olması nedeniyle PHB, bozunabilir ambalaj malzemesi olarak da kullanılmaktadır [21].

Farklı uygulamalar için gereken özelliklere bağlı olarak, mekanik ve biyouyumluluk özelliklerini ayarlamak için PHA polimerleri harmanlanabilmekte, yüzeyleri değiştirilebilmekte ve enzimler ya da inorganik malzemeler gibi diğer polimerler ile birleştirilebilmektedir. Bazı PHA polimerlerinin sınırlı mevcudiyetleri ve bakteri kültürlerinden ekstraksiyon prosedürlerinin zaman alması ise bu polimerlerin dezavantajlarıdır [15].

3.2.4 Yüzey biyoaşınma polimerleri

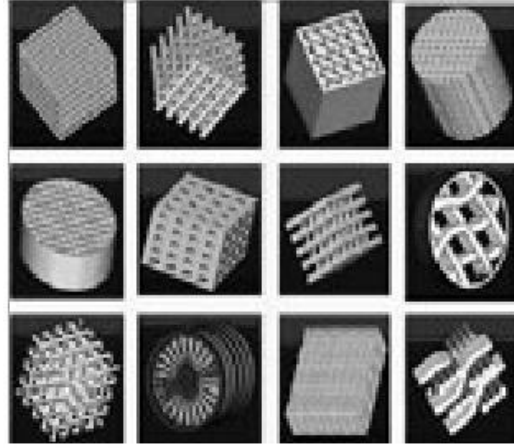
Hidroliz prosesinin genelde polimer-su arayüzeyi ile sınırlı olduğu durumda, heterojen hidrolize uğrayarak ‘yüzey aşınma’ özelliği gösteren bir polimer ailesi bulunmaktadır. Bu özelliği gösterdiği bilinen polimerler poli(anhidritler), poli(orto-esterler) ve polifosfazenlerdir. Bu polimerler, yoğun şekilde ilaç salınım aracı olarak kullanılmaktadırlar. Yapı iskelesi malzemesi olarak kullanıldıklarında ise üç önemli avantaj sunmaktadırlar: (1) kütle hacim oranının korunmasından dolayı mekanik bütünlüğün sürdürülmesi, (2) çözünürlük ve bozunma ürünlerinin düşük derişimde olması sayesinde minimum zehirlilik, (3) aşınma ilerledikçe gözenek büyüklüğünün artması sebebiyle, gözenekli yapı iskeleleri içindeki kemik gelişiminin kayda değer şekilde artması [55].

4. KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE KULLANILAN YAPI İSKELESİ

Sağlık hizmetleri geliştikçe, beklenen ortalama ömür uzunluğu artmaktadır. Ancak, vücudumuzdaki kemikler, artan yaş [1] ve kanser vakaları [2] nedeniyle yoğunluklarını yitirmekte ve mukavemet kaybına uğramaktadırlar [3]. Cerrahi işlemlerin geçmişine bakıldığında, zarar görmüş kemiği yenilemek için biyoinert malzemelerin kullanıldığı görülmektedir. Ancak bu malzemeler, kemik yoğunluğunda daha büyük bir kayba sebep olmakta ve sonunda yenilenme ihtiyacı duymaktadırlar. Günümüzdeki ortopedik implantların tümü, yaşayan dokuların en kritik üç özelliğinden yoksundurlar: (1) kendini onarabilme kabiliyeti, (2) kan akışını sürdürebilme kabiliyeti ve (3) mekanik yüklemeler gibi çevre faktörlerine cevap olarak, yapı ve özelliklerini değiştirebilme kabiliyeti. Ayrıca, tüm implantlar kısıtlı bir ömre sahip olduğundan, dokuların protezler ile yer değiştirmesi düşüncesinden, dokuların yenilenmesine doğru değişen yeni bir çözüm yolu üzerinde durulmaktadır [7].

Kalıcı implant ihtiyacını ortadan kaldıran doku mühendisliği, hasarlı insan dokusunun onarımı ve yenilenmesinde alternatif bir yaklaşım sergilemektedir [5,6]. Esas amaç, hasarlı dokuyu biyolojik ve mekanik özelliğine geri döndürmektir. Bu amaçla doku mühendisliği basitçe, ‘vücudu, kendine özgü onarım mekanizmaları tarafından iyileştirmeye ikna etme bilimi’ olarak tanımlanmaktadır [6]. Bu yaklaşımın avantajı, gerekli operasyon sayısının azalması ve hastanın iyileşme süresinin kısılmasıdır [15].

Kritik bir büyüklüğün üzerindeki kemik kusurları, kemik dokusunun doğal gelişimi ile onarılamamaktadır [4]. Kemik hücrelerinin, vücudun yenileyici mekanizmasını harekete geçiren malzemelere ihtiyacı bulunmaktadır. Bu noktada takip edilebilecek olan yol, kemik mineralinin yapısına benzeyen, kemiğe bağlanan ve bazı durumlarda kemik gelişimini uyarmak için, kemik hücrelerindeki genleri aktive eden yapı iskelelerinin kullanılmasıyla kemiğin yenilenmesidir [7,23]. Basit bir tanımla yapı iskeleleri, yerine geçecekleri organın yapısını ve özelliklerini taklit etmek için tasarlanmaktadır [8]. Şekil 4.1’de çeşitli şekillerde hazırlanmış yapı iskeleleri görülmektedir [56].



Şekil 4.1: Çeşitli şekillerde hazırlanmış yapı iskeleleri [56].

4.1 Kemik Doku Mühendisliğinde Kullanılan Yapı İskelesi Malzemeleri

Doğal kemik matrisi; biyolojik seramik (doğal apatit) ve biyolojik polimerden (kollajen) oluşan bir kompozit olduğundan, yapı iskelesi üretiminde, sentetik veya doğal, seramik, polimer ya da kompozit malzemeler kullanılmaktadır [17]. Bu malzemeler; jelatin, agar, fibrin ya da kollajen gibi doğal polimerler, poli(laktik asit), poli(glikolik asit), polikaprolakton ve poli(propilen fumarat) gibi sentetik biyoemilir polimerler olduğu kadar, biyoaktif gözenekli seramikler ve mercan gibi doğal seramikleri de içermektedir [53].

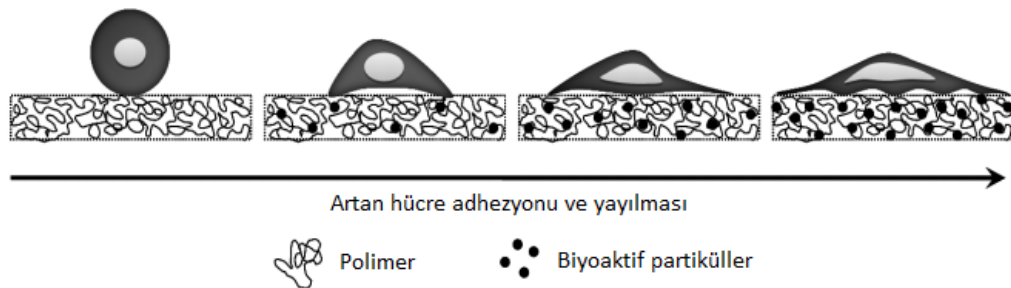
Seramiklerin içerisinde hidroksiapatit, β -trikalsiyum fosfat (β -TCP), biyoaktif camlar, apatit ve wollastonit içeren cam-seramikler, kemik yenilenmesi için kullanımı en çok incelenen yapı iskelesi malzemeleridir [1]. Kemiğin inorganik kısmını oluşturan hidroksiapatit, osteokondüktifliği dolayısıyla biyoaktif bir malzeme olarak bilinmektedir [57]. Ancak biyouyumluluğu, biyoaktivitesi, osteokondüktifliği ve kemik hücresi üretimini uyarması ile en çok ilgiyi çeken biyoaktif camlar olmuştur [6,9,24]. Biyoaktif cam yapı iskeleleri gevrek olmalarına rağmen, bazı polimerlere kıyasla daha yüksek mekanik dayanım sağlayabilmektedirler [16].

Biyoemilir poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA) ve poli(laktik asit-koglikolik asit) (PLGA) doku mühendisliğinde kullanılan yapı iskeleleri için ilgi çekici kopolimerlerdir [58]. Bunun nedeni; doku mühendisliği uygulamaları için gerekli olan gözenek morfolojisine sahip 3D yapı iskelelerinin kolaylıkla üretilebilmesi,

tokluk ve mekanik özelliklerin polimerin moleköl ağırlığı değiştirilerek rahatlıkla kontrol edilebilmesidir [21].

Biyobozunur polimerler arasında polihidroksialkanoatlar (PHA), biyomedikal uygulamalarda tek başına veya başka malzemelerle birlikte kullanılmaktadırlar [59]. PHA'ları doku mühendisliği için mükemmel adaylar yapan biyouyumluluk, hücre gelişimini destekleme, hücre adhezyonu ve biyobozunurluk gibi birtakım faktörler vardır. Tıbbi uygulamalarda, istenmeyen hücre sel cevaplara neden olabilecek herhangi bir metal katalizör içermediklerinden dolayı, mikrobiyal fermentasyon ile üretilen PHA'lar, kimyasal olarak sentezlenen polimerlere tercih edilmektedir. Ancak, kemik doku mühendisliğinde yapı iskelesi olarak kullanıldıklarında, biyolojik olarak aktif apatit tabakası vasıtasıyla canlı dokuya bağlanmayı ya da yük taşıyan bölgelerde mekanik talepleri karşılamayı başaramamaktadırlar [47].

Son yıllarda doku mühendisliği uygulamalarında, polimer ve seramiklerden yapılan kompozitlere artan bir ilgi bulunmaktadır. Yoğun ve gözenekli hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat seramikleri, biyoaktif cam ve cam-seramikleri; kollajen, kitosan gibi doğal; poli(etilen), poli(metil metakrilat), polisülfon gibi biyobozunur olmayan ve poli(α -hidroksiasitler) gibi biyobozunur birçok polimer ile birleştirilebilmektedir. Böylece seramiklerin biyoaktivite özellikleri ile polimer matrisler üzerindeki kuvvetlendirici etkilerinden faydalanılmaktadır [58]. Gevrek cam ve seramiklerin esnekliğinin ve yapı iskelesinin mekanik özelliklerinin geliştirilmesinin yanı sıra, kompozit malzemeler sayesinde polimerlerin asidik bozunma ürünleri, biyoaktif camların bozunması ile tamponlanarak inflamatuvar tepkimelerin önüne geçilebilmekte ve hücreler için istenmeyen, düşük pH'a sahip bir çevre oluşumu önlenmektedir (Şekil 4.2) [17,54].



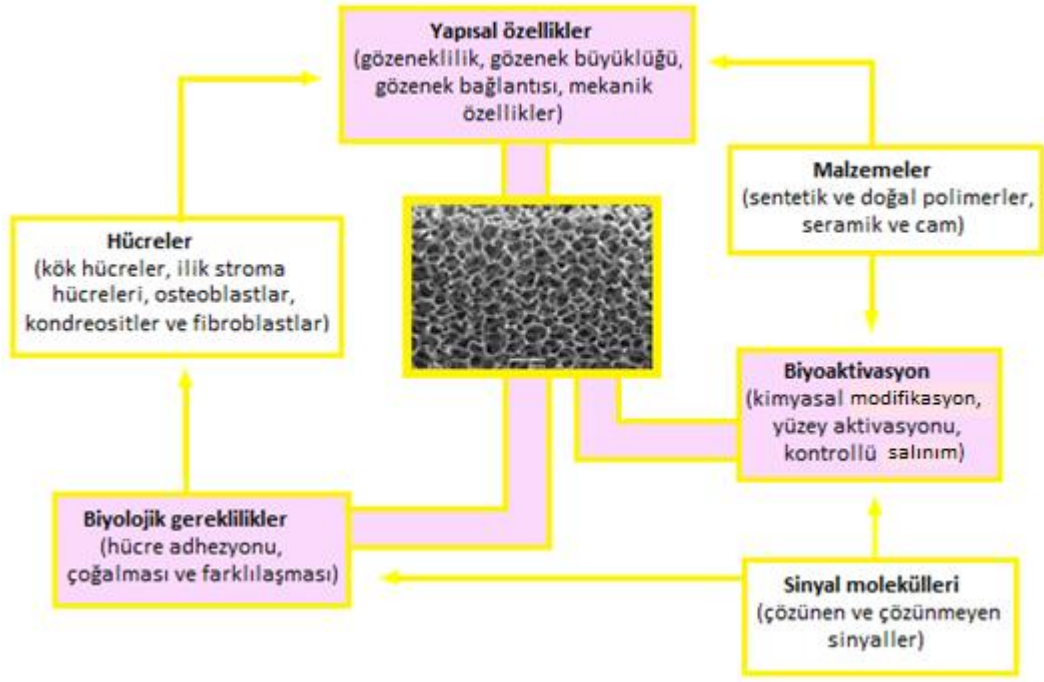
Şekil 4.2 : Hücreler, genellikle yapısı değiştirilmemiş polimerlere bağlanmamaktadır. Ancak, Biyocam® gibi biyoaktif taneciklerin katılması daha doğal bir hücre morfolojisine imkan vermektedir [54].

4.2 İdeal Bir Yapı İskelesinin Sahip Olması Gereken Özellikler

Hasta ya da zarar görmüş kemiği, orijinal ve sağlıklı durumuna döndürecek şekilde yenilemek için vücudun onarım mekanizmasını uyaracak olan yapı iskelelerinin birçok özelliğe sahip olması istenmektedir [23]. Her şeyden önce yapı iskelesi biyouyumlu olmalıdır [7,16,23,53]. Esas dokuya, yara dokusu oluşturmadan bağlanmalı, biyoaktif ve osteokondüktif özellikler sergilemelidir. Ayrıca, hasta dokudaki kusurun şekline benzer, karmaşık şekiller üretebilen çok yönlü üretim teknikleri ile üretilmelidir [53].

Başarılı bir yapı iskelesi; yerine yerleştirildiğinde hücre bağlanması, çoğalması, göçü ve fonksiyonu için üç boyutlu bir kalıp gibi davranabilmeli [7] ve kemik morfolojisinin üç boyutlu geometrisini taklit edebilmelidir. Yeterli mekanik özelliğe sahip olmalı, elle tutma esnasında veya hastanın normal faaliyeti süresince çökmemeli [15] ve zamanla emilip uzaklaşmalıdır [7,23,53]. Diğer bir deyişle, üç boyutta kemik gelişimini teşvik etmek ve desteklemekle kalmamalı, aynı zamanda yeni doku oluşumu meydana geldikçe yapı iskelesi bozunmalıdır [22,23].

Üç boyutlu kemik gelişiminde karşılıklı bağlantı büyüklüğü, gözenek ağı için en önemli parametredir. Kemiğin canlılığını sürdürebilmesi için, vaskülerize olması gerektiği çoğu kez görmezden gelinmektedir. Yapı iskelesi içine kan damarları yerleşmediği takdirde, yeni oluşan doku ölecektir [23]. Hücre çoğalmasını, vasküler gelişimi ve içsel mineralize kemik oluşumunu kolaylaştırmak için genellikle yapı iskelesinin makrogözenek bağlantıları 50-100 μm 'den, gözenekler ise 150 μm 'den daha büyük olmalıdır [5]. Önerilen minimum gözenek büyüklüğü 100 μm [5,7,16] olmasına rağmen, son çalışmalar 300 mikrometreden daha büyük gözeneklere sahip implantlar için kemik oluşumunun daha iyi olduğunu göstermektedir [22]. Ancak, mekanik özelliklerle alakalı kısıtlardan dolayı, gözeneklilik ve gözenek büyüklüğünde bir üst sınır bulunmaktadır. Boşluk hacmindeki artış, yapı iskelesinin mekanik dayanımında azalmaya sebep olmaktadır ki bu durum yüke maruz kalan kemik yenilemelerinde kritik olabilmektedir [48]. Yapı iskelelerinin sahip olması gereken en önemli özellikler Şekil 4.3'te özetlenmiştir [17].



Şekil 4.3 : Kemik doku mühendisliğinde kullanılan yapı iskelelerinin sahip olması gereken en önemli faktörler [17].

Özetlenecek olursa, kemik yenileyici yapı iskelesinin herhangi bir kemik kusurunda doğrudan implantasyonda başarılı olabilmesi için [7,23,53]:

1. Biyouyumlu olması ve zehirli olmayan bir malzemeden yapılması,
2. Üç boyutlu doku gelişimi için bir kalıp gibi davranması,
3. İmplant üzerinde, yenilenen dokunun merkezine hücre nüfuzu, doku gelişimi ve yeni damar oluşumu ile besin taşınımının gerçekleşebilmesi için, 100 μm 'den büyük çapa sahip gözenekler içeren birbirine bağlı makrogözenekli bir ağ yapıya sahip olması,
4. Yaralı doku oluşumu olmaksızın esas dokuya bağlanabilmesi, osteokondüktif bir malzemeden yapılması,
5. Hücre bağlanmasına ve biyolojik metabolitlerin adsorpsiyonuna katkıda bulunan bir yüzey doku özelliği sergilemesi,
6. Hücre farklılaşması ve çoğalmasına imkan tanıyan, genlerdeki kemik üretim hücrelerini etkilemesi,
7. Onarılan hücrelerle aynı hızda emilip eritilmesi, kontrol edilebilir bir bozunma hızına sahip olması, bozunma ürünlerinin zehirli olmaması ve örneğin üriner sistem yardımıyla kolayca vücuttan atılması,

8. Mevcut kusurun geometrisine uygun olarak şekillenebilmesine olanak sağlayan bir üretim yöntemine sahip olması,
9. İmplantasyon bölgesindeki dokunun mekanik özellikleri ile eşleşmesi,
10. Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO) ve FDA için gereken ticari olarak üretilbilir bir potansiyele sahip olması gerekmektedir.

4.3 Yapı İskelesi Üretim Yöntemleri

Yapı iskelesi özellikleri, biyomalzemenin doğası, implantın 3D mikro-mimarisine olduğu kadar üretim prosesine bağlı olarak da değişmektedir [60].

Gözenekli, üç boyutlu polimer, biyoaktif cam ve seramik yapı iskeleleri üretmek için polimer sünger kopyalama, dondurarak kurutma [16], süngerleştirici ajan kullanımı, katı serbest form üretimi, sol-jel [24], jel döküm, polimerik mikrokürelerin sinterlenmesi, hızlı prototipleme metodu ve çözücü döküm/tanecik uzaklaştırma [53] teknikleri gibi birtakım yöntemler kullanılmaktadır.

4.3.1 3D biyoaktif cam yapı iskeleleri

4.3.1.1 Sol-jel prosesi

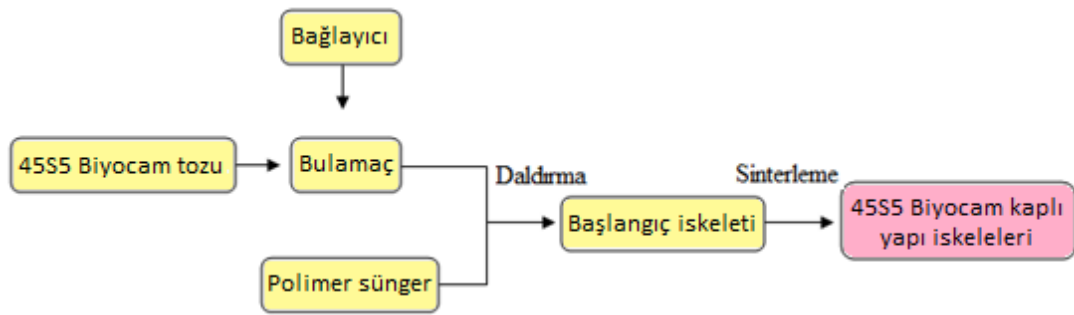
Sol-jel prosesi; çözeltinin hazırlanması, çözeltinin jelleşmesi ve çözücünün uzaklaştırılması ile inorganik malzemelerin kimyasal sentezi olarak tanımlanmaktadır. Sol-jel prosesi, sıvı bir çözeltiden katı bir 'jel' fazına geçişi içermektedir [17].

Çift bıçaklı karıştırıcı, yüzey aktif bir madde ve asidik bir katalizör (seyreltik HF) kullanılarak çözeltinin doğrudan süngerleştirilmesiyle oldukça gözenekli camlar (ya da cam süngerler) geliştirilebilmektedir [17]. Çözelti, yüzey aktif madde varlığında kuvvetli çalkalanmaya maruz bırakılmaktadır. Sıvının yüzey gerilimini azalttığı ve sol (kolloid) içerisindeki hava kabarcıklarını stabilize ettiği için, yüzey aktif maddenin tipi ve derişimi kritiktir [23]. Cam süngerlerin başlangıç maddeleri $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ve iki alkoksittir: tetraetil ortosilikat (TEOS) ile trietil fosfat (TEP). Doku gelişimi için (10-500 μm) birbirine bağlı makrogözeneklere ve reaktivite ile hücre bağlanması artışı için (2-50 nm) mezogözeneklere sahip hiyerarşik bir yapı elde edilebilmektedir [17]. Makrogözenek ve karşılıklı bağlantı boyu, yüzey aktif

maddenin derişimi ve son sinterleme sıcaklığı kontrol edilerek değıştirilebilmektedir [23].

4.3.1.2 Sünger kopyalama yöntemi

Açık, trabeküler yapıya sahip polimerik bir sünger, kalıp olarak kullanılarak [1,24] trabeküler kemiğe benzer mikroyapıya sahip yapı iskeleleri hazırlanabilmektedir [16]. Sünger kopyalama yöntemi, seramik süngerlerin üretimi için geliştirilmiş bir prosestir. Yöntemin, Biyocam[®] yapı iskeleleri üretmek için uyarlanması Şekil 4.4'te gösterilmiştir [17].



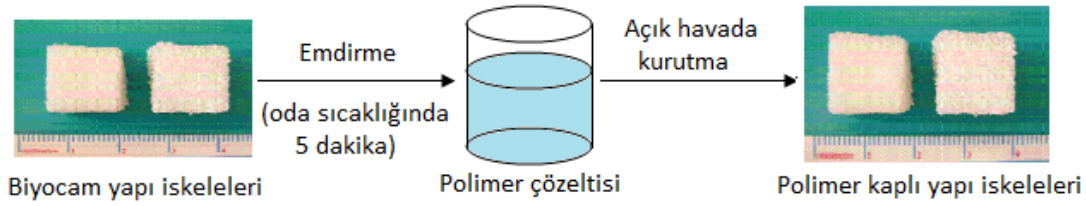
Şekil 4.4 : Biyocam[®] esaslı doku mühendisliği yapı iskeleleri üretmek için kullanılan sünger kopyalama yönteminin şematik gösterimi [17].

Polimer kopyalama prosesinde başlangıç iskeleti, bir polimer (örneğin poliüretan) süngerin biyoaktif cam tanecikleri (Biyocam[®]) ile kaplanmasıyla hazırlanmaktadır. Bulamaç, polimer içine emdirilmekte, böylece polimer yüzeyi üzerinde homojen bir Biyocam[®] tanecik kaplaması sağlamak üzere yapı içine sızması sağlanmaktadır. Kuruma gerçekleştikten sonra, gözenekli Biyocam[®] kaplamanın mikroyapı hasarını (örneğin kılcal çatlama) mümkün olduğu kadar azaltmak için polimer, yüksek sıcaklıkta (>723 K) yavaşça yakılıp yok edilmektedir. Polimer uzaklaştırıldığında, cam istenen yoğunluğa sinterlenmektedir. Proses, polimer süngerin makrogözenekli yapısını kopyalamakta ve kendine özgü mikroyapılar meydana getirmektedir [17].

Diğer yapı iskelesi üretim yöntemlerinin ötesinde bu teknik, ayarlanabilir gözenek boyutuna sahip oldukça gözenekli süngerler üretme kabiliyetine sahiptir. Ayrıca, kemik kusurunun boyut ve şekline uygun düzensiz şekiller üretilebilmektedir. Bu teknik daha hızlıdır ve zehirli kimyasal kullanımı içermemektedir. Hızlı prototipleme gibi diğer standart proseslere kıyasla daha ekonomiktir [17].

4.3.2 Polimer kaplı Biyocam® yapı iskeleleri

Gözenekli seramik yapı iskelelerinin mekanik kararlılığını geliştirmek amacıyla birçok araştırmacı, yapı iskelelerinin biyobozunur polimerler ile kaplanmasını incelemektedir. Polimer tabaka, mikroçatlakları kaplamak, doldurmak ve yapı iskelesinin mekanik sağlamlığını geliştirmek için hazırlanmaktadır. Doğal kemiğin kırılma sürecinde kollajen fibrillerin etkisine benzer şekilde, polimer tabakaların çatlak kenetlenme mekanizmasını eyleme geçirdiği düşünülmektedir (Şekil 4.5) [17,61].



Şekil 4.5 : Biyocam® yapı iskelelerini polimer ile kaplamak için polimer çözeltisine daldırma yöntemi [61].

4.3.3 Polimer kompozit yapı iskeleleri

Doku mühendisliği yapı iskeleleri için biyobozunurluk ve biyoaktivite özelliklerinin bir araya getirilmesi, kompozit malzemenin tasarımı açısından çok iyi fırsatlar sunmaktadır. Gözenekli biyoemilir polimerler ve biyoaktif seramikler ya da cam fazların birleştirilmesi ile elde edilen kompozit yapı iskelelerinin tercih edilme nedenleri [53]: (i) biyoaktif faz tarafından sağlanan osteokondüktiflik özellikleri sebebiyle daha iyi bir hücre çekirdeklenmesi ve gelişimi başarılabilen, (ii) poliesterlerin asidik bozunma yan ürünleri tamponlanabilmekte ve (iii) geleneksel kompozit yaklaşımı kullanılarak mekanik özellikler geliştirilebilmektedir.

Birçok polimer işleme teknikleri arasında; tanecik uzaklaştırma içeren veya içermeyen çözücü döküm, dondurarak kurutma işlemi ile birleştirilen ısıl etkiyle faz ayrımı ve katı serbet form üretimi teknikleri, polimer-seramik kompozit yapı iskeleleri üretiminde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır [17].

4.3.3.1 Çözücü döküm yöntemi

Kompozit yapı iskelelerin çözücü döküm prosesi, polimerin organik bir çözücü içerisinde çözünmesi, biyoaktif cam ya da seramik granülleri ile karıştırılması ve önceden belirlenmiş 3D bir kalıp içine çözeltinin dökümünü içermektedir. Çözücü

sonradan buharlaştırılmaktadır. Bu tekniğin başlıca avantajı, gelişmiş ekipman ihtiyacı olmadan üretimin kolaylıkla yapılabilmesidir. Çözücü döküm yönteminin başlıca dezavantajları ise: (1) şekil kısıtlaması (genellikle düz levha ve tüp şekli), (2) polimer içerisinde muhtemel zehirli çözücü kalması, (3) çözücü kullanımı dolayısıyla polimere katılan proteinlerin ya da diğer doğal moleküllerin yapısının bozulması. Polimeri dökmek için kullanılan organik çözücüler, biyoindüktif moleküllerin aktivitesini düşürebilmektedir [17].

4.3.3.2 Çözücü döküm/tanecik uzaklaştırma ve mikroküre dolgulama

Biyoaktif polimer/seramik yapılar; çözücü döküm, tanecik uzaklaştırma ve mikroküre dolgulama yöntemlerinin birleşimi ile üretilebilmektedir. Önce polimer mikroküreler, geleneksel yağ/su emülsiyonuyla şekillendirilmektedir. Daha sonra çözücü, tuz ya da şeker taneciklerinin biyoaktif cam ya da seramik tanecikler ve önceden sertleştirilmiş mikroküreler ile karıştırılmasıyla polimer/biyoseramik yapı iskeleleri oluşturulmaktadır. Tanecik uzaklaştırma ve mikroküre dolgulamayı birleştiren bu yöntem esas alınarak, kontrollü gözenekliliğe sahip 3D yapı oluşturulabilmektedir. Bu yöntem, çözücü döküm tekniği ile aynı avantaj ve dezavantajlara sahiptir [17].

4.3.3.3 Isıl etkiyle faz ayrımı (TIPS)/dondurarak kurutma

TIPS yöntemi ve evaporasyon uygulanması sonucunda gözenekli kompozit yapılar elde edilebilmektedir. Faz ayrımını harete geçirmek için uygulanan yaklaşımlardan biri, polimer ve inorganik malzeme süspansiyonunun sıcaklığını düşürmektir. Öncelikle, polimer ve seramik karışımının ara boşluklara hareketi sağlanarak çözücü katılaştırılmaktadır. Daha sonra, içinde çözücünün buharlaştığı, soğutmalı bir kurutucu kullanılarak soğumuş olan karışım liyofilize (dondurarak kurutma) edilmektedir [17].

TIPS yöntemi kullanılarak; sinir, kas, tendon, kemik ve diş gibi dokular için uygun kontrollü makro ve mikroyapıya sahip 3D, emilebilir ve oldukça gözenekli (~%97) polimer yapı iskeleleri hazırlanabilmektedir. Ayrıca, trake, bağırsak ve kan damarları gibi tüp şekilleri gerektiren dokuların yenileme uygulamaları için gözenekli boru şeklinde yapı iskeleleri de bu yöntemle üretilebilmektedir. TIPS ile üretilen süngerlerin mikrogözenekliliği, gözenek morfolojisi, mekanik özellikleri, biyoaktivitesi ve bozunma hızları, çözeltideki polimer derişimi, ikinci fazın hacim

fraksiyonu, ani soğutma sıcaklığı, kullanılan polimer ve çözücü değiştirilerek kontrol edilebilmektedir [15].

Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere, biyoemilir gözenekli yapı iskelesi üretiminde TIPS yöntemi birçok avantaj sunmaktadır [62]: (i) gözenek hacmi fraksiyonunun optimum kontrolü, (ii) gözenek şekli, oryantasyonu ve büyüklüğünü ayarlayabilme imkanı vermesi, (iii) uygun bir çözücüde çözünebilir herhangi bir polimere uygulanabilir olması, (iv) yeniden oluşturulabilmesi (kopyalanabilmesi) ve (v) biyoaktif cam fazları ya da büyüme faktörlerinin, polimer matris içine katılabilmesi [15].

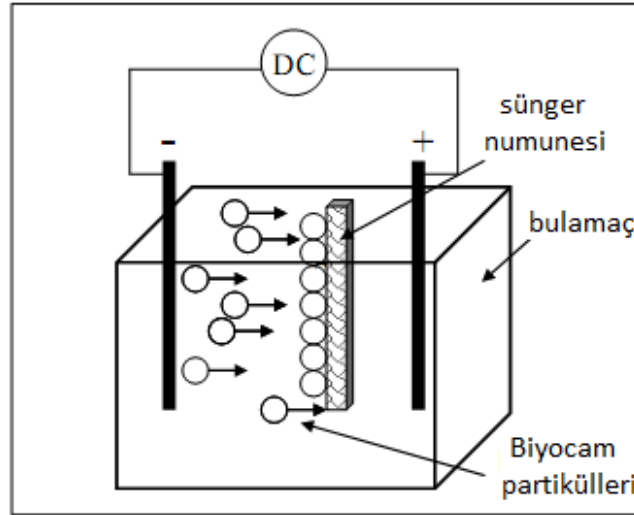
4.3.3.4 Mikroküre sinterleme

Bu yöntemde, öncelikle emülsiyon/çözücü evaporason tekniği kullanılarak seramik ve polimer kompozite ait mikroküreler sentezlenmektedir. Kompozit mikroküreler üretildiğinde, genellikle basınç uygulanmadan gerçekleştirilen sinterleme işlemi geriye 3D, gözenekli kompozit yapı iskeleleri bırakmaktadır [15].

4.3.3.5 Polimerik sünger-inorganik kaplama

Biyobozunur polimerler ve biyoaktif cam ya da seramik malzemeleri birleştiren alternatif bir yaklaşım, polimerik süngerleri inorganik tanecikler ile kaplamaktır. Örneğin; gözenekli polimerik yapı iskeleleri, bulamaca daldırma ya da elektroforetik kaplama (EPD) yöntemleri ile biyoaktif cam ya da diğer inorganik tanecikler ile kaplanmaktadır [17].

EPD yöntemi, Şekil 4.6'da gösterildiği gibi sulu süspansiyon içindeki yüklü Biyocam[®] taneciklerinin, büyük boyutlardaki elektrotlara doğru dikey olarak yönlendirilen polimer makrogözenekleri içine sızması aracılığıyla gerçekleştirilmektedir [63].



Şekil 4.6 : Sulu süspansiyon içindeki yüklü Biyocam® tanecikleri ile polimerik sünger numunesi kaplamak için kullanılan elektroforetik kaplama (EPD) hücresinin şematik gösterimi [63].

4.3.3.6 Katı serbest form (SFF) (hızlı prototipleme) yöntemi

Yapı iskeleleri içinde oluşan gözeneklerin bağlantısını ve yapısını kontrol etmek zordur. Hızlı prototipleme teknikleri, bilgisayar destekli tasarım (CAD) sistemlerinin ürettiği verileri kullanarak, oldukça karmaşık 3D nesneleri hızla üretebilmektedir [7]. Bu teknikte, üretimi istenilen doku veya organa ait üç boyutlu yapı, CAD yazılımı kullanılarak bilgisayar ortamına aktarılmakta ve dokunun kesitsel görüntüleri çıkartılmaktadır. Bu işlemi takiben, doku iskelesi için kullanılacak malzeme, bilgisayardan gelen bilgiler doğrultusunda tabakalar halinde oluşturulmaya başlanmaktadır. Tabakaların nerede birleşeceği ve nerelerin boş kalacağı bilgisayar programı tarafından önceden belirlenmektedir. Bu işlem tekrarlanarak, tabakalar üst üste getirilmekte ve tasarlanan üç boyutlu yapı elde edilmektedir [56].

Hızlı prototipleme; eriterek kaplama (FDM), lazerle kalıplama (SLS), 3D baskı, stereolitografi (SLA) tekniklerini kullanarak 3D nesneleri tabakadan tabakaya yapılandırmaktadır. SLS teknolojisiyle, polimer parçacıklarının lazer ışını yardımıyla istenilen şekilde ve tabakalarda birleştirilmesi sağlanmaktadır. Bu teknolojinin en önemli dezavantajları; kullanılacak malzemenin toz halinde olma zorunluluğu ve yüksek sıcaklıkta işlemenin gerekli oluşudur. FDM teknolojisiyle, bir enjektörden basılan eriyik halindeki polimer veya seramikler, tabakalar halinde üst üste eklenerek üç boyutlu iskele oluşumu sağlanmaktadır. Bu yöntem, doğal polimerler için uygun olmadığı gibi, yüksek sıcaklık nedeniyle doku iskelesinin biyomoleküllerle

etkileşimine de fırsat vermemektedir. SLA teknolojisi ise bir fotopolimerizasyon tekniğidir. Her üç teknikteki dezavantajları (yüksek sıcaklık, fotobaşlatıcı gereksinimi) ortadan kaldıran teknik, üç boyutlu baskı tekniğidir. Bu teknikte inkjet baskı makinesinden, toz haldeki polimer tabakalarının üzerine bağlayıcı püskürtülerek üç boyutlu doku iskelesi hazırlanmaktadır [56].

4.4 Yapı İskelesi Üretimi ile İlgili Literatürde Yer Alan Çalışmalar

Fu ve Ç.A., polimer sünger kopyalama tekniğini kullanarak borat esaslı biyoaktif cam yapı iskeleleri hazırlamış ve kemik onarma uygulamalarında kullanılabilme potansiyelini değerlendirmişlerdir. Ergitme yöntemi kullanılarak, molar %22 CaO, %6 Na₂O, %8 MgO, %8 K₂O, %18 SiO₂, %36 B₂O₃ ve %2 P₂O₅ içeren bileşime sahip borat esaslı camlar hazırlanmıştır. Bu camlar kullanılarak, insan trabeküler kemiğinin mikroyapısına neredeyse özdeş yapı iskeleleri (gözeneklilik=%72±3; gözenek büyüklüğü=200-500 µm) üretilmiştir. İn vitro biyoaktivite çalışmaları ile cam yüzeyi üzerinde yedi gün içinde hidroksiapatit tabakasının oluştuğu tespit edilmiştir. Belirli bir eşik değeri (0.65 mM) altındaki bor derişimleri için camdan çözünen iyonların, kemik iliği bağ dokusu hücrelerinin çoğalmasını desteklediği belirlenmiştir. SEM çalışmaları, cam yapı iskeleleri yüzeyi üzerinde kültürlenmiş MLO-A5 hücrelerinin (kemik oluşturuıcı bir hücre dizisi) bağlanma ve yoğunluklarında sürekli artış olduğunu göstermiştir. Camlardan salınan bor miktarının eşik değeri altında kalmasının sağlanabilmesi şartıyla, sonuçlar, borat esaslı biyoaktif camların kemik doku mühendisliği için potansiyel bir yapı iskelesi malzemesi olabileceğine işaret etmiştir [24].

Zhu ve Kaskel tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, model olarak poliüretan sünger kullanılmış, 80S15C5P (S, C ve P sırasıyla SiO₂, CaO ve P₂O₅ bileşiklerini temsil etmektedir; molar oranları ise sırasıyla %80, %15 ve %5'tir) bileşimine sahip, üç boyutlu gözenekli biyoaktif cam (BG) ve mezogözenekli biyoaktif cam (MBG) yapı iskeleleri hazırlanmıştır. Her iki yapı iskelesinin de, kemik doku yapısı için uygun olduğu düşünülen 300-500 µm gözenek çapına sahip, birbirine bağlı makrogözenekli ağı sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak, MBG yapı iskeleleri 4.8 nm büyüklüğünde mezogözenekler içeren cidarlara sahip olduğundan, daha fazla yüzey alanı ve gözenek hacmi sergilemiştir. Gentamisin, bölgesel bir ilaç salınım sistemi elde etmek üzere yapı iskelelerinin içine yerleştirilmiştir. Sonuçlar, MBG yapı

iskelelerinin BG yapı iskelelerine kıyasla, yüzeyde daha hızlı HCA oluşum hızına sahip olduğu ve iki kat daha fazla ilaç miktarı ile yüklenebildiğini göstermiştir [5].

Hong ve Ç.A., molar 55:40:5 oranında $\text{SiO}_2\text{:CaO:P}_2\text{O}_5$ bileşimine sahip, farklı miktarlarda biyoaktif cam-seramik (BGC) ve poli(L-laktik asit) (PLLA) içeren gözenekli nanokompozit yapı iskelelerini, TIPS yöntemi ile hazırlamışlardır. BGC nanopartiküllerinin ağırlıkça %20'den daha az ilave edilmesi, PLLA süngerinin gözenekliliğini dikkate değer biçimde etkilememiştir. Ancak, BGC içeriğinin %30'a yükseltilmesinin, kompozit gözenekliliğini hızla düşürdüğü gözlemlenmiştir. BGC içeriği %0-30 aralığında artarken, yapı iskelelerinin basma modülü 5.5'ten 8 MPa'a, basma dayanımı ise 0.28'den 0.35 MPa'a yükselmiştir. Ağırlıkça %10 BGC içeren yapı iskelelerinde, SBF içerisinde 21 günlük bekleme süresi sonunda kompozit yapı iskelelerinin yüzeyi üzerinde karnabahar benzeri apatit kümeleri oluşmuştur. Ağırlıkça %20 BGC içeren yapı iskelelerinde ise, bir günlük bekleme süresi sonunda apatit kümeleri, yapı iskelelerinin neredeyse tüm yüzeyini kaplamıştır. Biyobozunma sonuçları, BGC nanopartikülleri ilavesinin, özellikle düşük BGC içeriğinde, PLLA yapı iskelelerinin su alımını artırdığını ve PLLA matrisinin bozunma hızını olumlu bir şekilde etkilediğini göstermiştir [57].

$\text{SiO}_2\text{:CaO:P}_2\text{O}_5$ içeren biyoaktif cam-seramik nanopartikülleri (nBGC), sol-jel yöntemi ile Peter ve Ç.A. tarafından sentezlenmiştir. nBGC içeren kitosan(CS)-jelatin(CG) kompozit yapı iskeleleri, kitosan ve jelatinin nBGC ile harmanlanmasıyla hazırlanmıştır. SEM görüntülerinde, artan kitosan derişimi ile birlikte gözenek büyüklüğünün düştüğü görülmüştür. Nanokompozit yapı iskelelerinin şişme ve bozunma davranışı, içerdikleri jelatin derişimi artışı ve nBGC ilavesine bağlı protein adsorpsiyonunun artması sonucunda düşmüştür [22].

Zhu ve Ç.A., evaporasyon yöntemi (EISA) ile dört farklı kimyasal bileşime sahip, 3D, mezogözenekli biyoaktif cam (MBG) yapı iskeleleri hazırlamışlardır. Bu çalışmada, poliüretan sünger, makrogözenekli yapı için kalıp, non-iyonik blok kopolimer $\text{EO}_{20}\text{PO}_{70}\text{EO}_{20}$ (P123) yüzey aktif maddesi ise EISA yöntemi uygulanırken MBG sentezi için yapı yönlendirici ajan olarak kullanılmıştır. Tüm yapı iskeleleri birbirine bağlı makrogözenekli ağa (200-400 μm gözenek çapı) ve mezogözenekli cidarlara (4.9 nm gözenek büyüklüğü) sahiptir. Hazırlanan MBG yapı iskelelerinin mezoyapı ve dokusal özellikleri birbirine yakın olmasına rağmen, in vitro biyoaktiviteleri kimyasal bileşime bağlı olarak değişmiştir [9].

Renghini ve Ç.A. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, kemik doku mühendisliği için biyoaktif ve biyoemilir olan cam-seramik yapı iskeleleri hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Bu amaç için %45 SiO₂, %3 P₂O₅, %26 CaO, %7 MgO, %15 Na₂O, %4 K₂O bileşiminde camlar (CEL2) kullanılmıştır. Yapı iskelelerinin hazırlanmasında sünger kopyalama yöntemi tercih edilmiştir. Hazırlanan yapı iskeleleri, micro-CT (X-Işını Mikro Tomografi) ile incelenmiş ve analiz sonuçları XRD ve SEM verileri ile karşılaştırılmıştır. Yapı iskelelerinin 3D modelleri ve SEM görüntüleri, CEL2 yapı iskelelerinin süngerimsi kemik dokusuna benzer, birbirine bağlı gözenek ağına ve 2 MPa'ın üzerinde mekanik dayanıma sahip olduğunu doğrulamıştır [60].

Misra ve Ç.A., porojen olarak şeker küpleri ile çözücü dökümü ve tanecik uzaklaştırma tekniklerinin bir kombinasyonunu kullanarak, yüksek gözenekliliğe sahip yapı iskeleleri hazırlamışlardır. Yapı iskelelerinin mikroyapısı içine, hem mikrometre ((m-BG), <5 µm) hem de nanometre ((n-BG), 30 nm) büyüklüğündeki 45S5 Biyocam[®] bileşimine sahip biyoaktif cam (BG) tanecikleri ilave etmişlerdir. Birbirine bağlı gözenekli mikroyapıya sahip süngerlerin, MG-63 osteoblast hücre bağlanması ve çoğalması için uygun olduğu kanıtlanmıştır. Farelerin deri altına yerleştirilen yapı iskeleleri, implantasyondan bir hafta sonra zehirli olmayan yabancı cisim tepkisi göstermiştir. Biyoaktivite ve biyouyumluluk göstermelerine ek olarak PHB/BG kompozit süngerleri, Staphylococcus aureus patojeni gelişimi konusunda gerçekleştirilen testler sonucunda, bakteri azaltıcı etki sergilemiştir. BG'ye ek olarak belirli derişimlerde E vitamini (antioksidatif özellikler sebebiyle) ve/veya karbon nanotüp (elektriksel iletkenlik özellikleri nedeniyle) ilavesi yapılarak, çok fonksiyonlu yapı iskeleleri üretimi gerçekleştirilmiştir. Her bir katkı maddesi, kompozit performansına katkıda bulunmuştur. Örneğin; Biyocam[®] tanecikleri biyoaktiviteyi geliştirmiş; vitamin E, protein adsorpsiyonunu iyileştirmiş; karbon nanotüpler ise elektriksel iletkenliği artırmıştır [64].

Jones ve Ç.A., biyoaktif 3D yapı iskelelerinin, osteoblast gelişimini ve ilave organik büyüme faktörü kullanmadan da hücrelerin farklılaşmasını desteklediğini kanıtlamışlardır. İnsan osteoblastları (HOBs), sol-jel prosesi ile elde edilen 70S30C (molar %70 SiO₂ ve %30 CaO) sünger yapı iskelelerinin üzerinde gelişmeye bırakılmıştır. Sonuçlar, biyoaktif yapı iskelelerinin ortamda ilave büyüme faktörü

olmadan, birincil HOBs in vitro kültürünün mineralize kemik nodülü oluşumunu iki hafta içinde uyardığını göstermiştir [65].

Boccaccini ve Maquet, iki farklı laktit:glükolik (LA:GA) oranı içeren poli(laktik asit-ko-glükolik asit) (PLGA) kopolimeri kullanılmışlardır. Biyoaktif malzeme olarak, ortalama tanecik büyüklüğü $<5 \mu\text{m}$ olan 45S5 biyoaktif cam tozu kullanılmıştır. Biyoaktif cam tanecikleri içeren ve iyi tanımlanmış, yönlendirilmiş ve birbirine bağlı gözeneklilik sergileyen PLGA içeren yapıları üretmek için TIPS yöntemi geliştirilmiştir. Biyocam[®] içeriği artışına paralel olarak kompozit yoğunluğu artmış, gözeneklilik azalmıştır. PLGA/Biyocam[®] kompozit süngerlerinin basma modülünün, saf PLGA süngerininkinden üç kat daha yüksek olduğu bulunmuştur. İn vitro çalışmaları sonucunda, kompozit süngerlerin yüzeyi üzerindeki hidroksiapatit oluşumu ESEM gözlemleri ve EDS analizi ile doğrulanmıştır. Süngerlerin hem iç hem de dış yüzeylerindeki gözenek cidarları üzerindeki Biyocam[®] taneciklerinin varlığı, implant/doku arayüzeyinden yapı iskelesinin içine doğru hem kemik hem de yumuşak doku gelişimini teşvik etmiştir [53].

Maquet ve Ç.A., TIPS ve çözücü süblimasyon yöntemi ile farklı miktarlarda (ağırlıkça %10, %25 ve %50) biyoaktif cam (45S5 Biyocam[®]) içeren yüksek gözenekliliğe sahip poli-D,L-laktit (PDLLA) ve PLGA kompozit yapı iskeleleri hazırlamışlardır. Polimer süngerlere artan miktarda Biyocam[®] ilavesi, gözenek hacmini düşürmüştür. Ancak, polimer malzemelerin mekanik özellikleri gelişmiştir. Polimer süngerlere Biyocam[®] ilavesi, katkısız polimer süngerlere kıyasla, su absorpsiyonu ve kütle kaybını artırmış, polimerin bozunma hızını geciktirmiştir [58].

Vitale-Brovarone ve Ç.A., $\text{SiO}_2\text{--P}_2\text{O}_5\text{--CaO--MgO--Na}_2\text{O--K}_2\text{O}$ sistemindeki biyoaktif cam tozlarını ve kalıp olarak poliüretan süngerini kullanarak makrogözenekli cam-seramik yapı iskeleleri geliştirilmişlerdir. Yapı iskelelerinin gerilme dayanımının yaklaşık $1\pm 0.4 \text{ MPa}$ olduğu ve çok yüksek bir biyoaktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Özellikle, yapay vücut sıvısı içerisinde yapı iskeleleri üzerinde çekirdeklenen insan osteoblast hücre dizisi (MG-63), yüksek derecede hücre çoğalması ve kalsiyum nodülü üretebilme kabiliyeti göstermiştir. Ayrıca, hücre çekirdeklenmesinin ardından, kemik yapı proteinlerinin ilavesi ile birlikte osteoblast aktivitesine işaret eden kalsiyum nodüllerinin miktar ve büyüklüğünde zamanla artış olduğu gözlenmiştir [1].

Sol-jel yöntemi ile poli(vinil) alkol (PVA)/biyoaktif cam ve kitosanla (chi) özgün hibrit makrogözenekli yapı iskeleleri Mansur ve Costa tarafından hazırlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda, hem PVA/biyoaktif cam hem de PVA/kitosan/biyoaktif cam hibrit sistemleri başarılı bir şekilde üretilmiş ve hiyerarşik makrogözenekli (3-500 µm) 3D yapılar elde edilmiştir. Ayrıca, hücre yaşayabilirliğinin, PVA/biyoaktif cam oranı ya da hibrit içerisine kitosan biyopolimeri katkısıyla önemli bir değişim göstermediği tespit edilmiştir [11].

Fu ve Ç.A., insan trabeküler kemiğinkine benzer mikroyapıya sahip 13-93 biyoaktif camından (bileşimi ağırlıkça %53 SiO₂, %6 Na₂O, %12 K₂O, %5 MgO, %20 CaO, %4 P₂O₅) gözenekli yapı iskeleleri hazırlamak için poliüretan sünger aracılığıyla polimer sünger kopyalama tekniğini kullanmışlardır. Yapı iskelelerinin (%85±2 gözeneklilik ve 100-500 µm gözenek büyüklüğü) basma dayanımı ve elastisite modülü, sırasıyla, 11±1 MPa ve 3.0±0.5 GPa olarak ölçülmüştür (hemen hemen insan trabeküler kemiği için 2-12 MPa olarak belirlenen en yüksek değerlere eşit). Hücre kültürü çalışmaları, yapı iskelelerinin hem yüzeyde, hem de gözenekli yapının iç kısımlarında MC3T3-E1 (fare preosteoblastik hücreleri) çoğalmasını mükemmel şekilde desteklediğini göstermiştir [16].

Francis ve Ç.A., kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere ilaç salınımı için PHB mikroküre/45S5 Biyocam[®] esaslı çok fonksiyonlu kompozit yapı iskeleleri geliştirilmişlerdir. Sünger kopyalama yöntemi kullanılarak üretilen, yüksek gözenekliliğe sahip 45S5 Biyocam[®] -cam esaslı- seramik yapı iskeleleri, PHB'den hazırlanan biyobozunur mikroküreler (büyüklük<2 µm) ile kaplanmıştır. Basma dayanımı testleri, mikroküre kaplamanın yapı iskelesi mekanik dayanımını bir miktar artırdığını göstermiştir (0.11 MPa'dan 0.27 MPa'ya). Mikroküre kaplamanın aynı zamanda, dört haftaya kadar yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilen yapı iskelesinin biyoaktivitesini engellemediği de belirlenmiştir. Ancak, mikroküre kaplı yapı iskelelerinin yüzey pürüzlülüğünün, kaplanmayan numunelere oranla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu özellik, hücre bağlanması ve çoğalmasına yardımcı olmuştur. Ayrıca, yapı iskelelerinin ilaç salınım özelliğini belirleyebilmek için, geniş spektrumu sebebiyle tercih edilen gentamisin ilacı, PHB mikrokürelerinin içerisine başarılı bir şekilde yerleştirilmiştir. Kaplama yapılmayan yapı iskelelerine kıyasla, kaplama yapılan kompozit yapı iskelelerinden ilaç salınımının yavaş ve kontrollü olduğu belirlenmiştir [47].

5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1 Çalışma Programı

Biyoaktif camların, kemik uyarıcı özelliklerini geliştirmek için kimyasal bileşimlerine çeşitli iyonların katıldığı bilinmektedir. Hem kemik hücrelerinin oluşumunu artırıcı özelliklerinin bulunması, hem de kalsiyuma benzer yük ve iyonik çapa sahip olduğundan cam bileşimine kolaylıkla dahil edilebilmesi nedeniyle, bu çalışmada stronsiyum katkılı biyoaktif cam üretimi gerçekleştirilmiştir.

Başlangıç hammaddelerinden, bileşimleri ağırlıkça; %45 SiO₂, %24.5 Na₂O, %6 P₂O₅, %x SrO ve %(24.5-x) CaO (x=0.1; 0.25; 0.5; 1; 2) olacak şekilde beş farklı oranda SrO içeren biyoaktif cam numuneleri, klasik ergitme ve sol-jel yöntemleri uygulanarak üretilmiştir. Yüksek stronsiyum derişiminin biyoaktiviteyi ve biyoyumluluğu olumsuz yönde etkileyebileceği düşünüldüğünden, bileşim içindeki stronsiyum oksit oranı en fazla %2 ile sınırlandırılmıştır. Üretilen cam numunelerine XRD (X-Işınları Difraksiyonu) uygulanarak amorf yapıları, Diferansiyel Termal Analiz (DTA) uygulanarak camsı geçiş (T_g) ve kristalizasyon (T_c) sıcaklıkları tespit edilmiştir. Ayrıca, yapay vücut sıvısı içerisindeki davranışları incelenerek, en yüksek biyoaktiviteye sahip olan cam numunesinden, polimer sünger kopyalama yöntemi yardımıyla, kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere yapı iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, biyoaktivite ve biyobozunur özelliklerinin geliştirilmesi amacı ile, doğal bir polimer olan jelatin kullanılarak, polimer/biyoaktif cam kompozit yapı iskeleleri üretilmiştir.

Biyoaktif camlara ve yapı iskelelerine uygulanan karakterizasyon işlemleri sırasıyla aşağıda belirtilmiştir:

- Yüzeyleri üzerinde biyoaktivite özelliğinin bir işareti olan hidroksiapatit oluşumunun incelenmesi amacıyla numuneler, belirli süreler boyunca laboratuvar koşullarında hazırlanan yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilmiştir. İndüktif eşleşmiş plazma (ICP) ve Ultraviyole (UV) cihazları

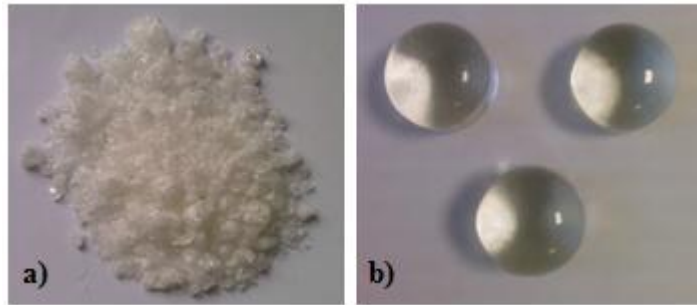
kullanılarak yapay vücut sıvısı içerisindeki kalsiyum, silisyum, sodyum, stronsiyum ve fosfor iyonlarının derişimleri belirlenmiştir.

- Biyobozunma davranışlarının incelenmesi amacıyla yapı iskeleleri, yapay vücut sıvısı içerisinde belirli süreler bekletilmiştir.
- Fourier kızıl ötesi dönüşüm spektroskopisi (FTIR) kullanılarak, numunelerin yapılarında oluşan kimyasal bağlar belirlenmiştir.
- X-ışınları difraksiyonu (XRD) kullanılarak, mineralojik analizler gerçekleştirilmiştir.
- Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak, mikroyapı aydınlatması yapılmıştır.
- Cam numunelerinin, helyum piknometresi kullanılarak tespit edilen yoğunluk değerlerinin yardımıyla, yapı iskelelerinin gözeneklilikleri hesaplanmıştır.

5.2 Numunelerin Hazırlanması

5.2.1 Ergitme yöntemi ile stronsiyum katkılı biyoaktif cam üretimi

Klasik ergitme yöntemi kullanılarak ağırlıkça %0.1, %0.25, %0.5, %1 ve %2 olmak üzere beş farklı oranda stronsiyum oksit içeren $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$ sistemine sahip biyoaktif cam numuneleri üretilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1 : (a) Saf suya, (b) Grafit kalıba döküm sonucu elde edilen ergitme esaslı stronsiyum katkılı biyoaktif cam numuneleri.

Üretim için, Merck kalitede SiO_2 , Na_2HPO_4 (P_2O_5 ve Na_2O kaynağı olarak), CaCO_3 (CaO kaynağı olarak), $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ (SrO kaynağı olarak) ve Na_2CO_3 (Na_2O kaynağı olarak) hammaddelerinden hazırlanan başlangıç karışımı, daha homojen bir karışım elde edebilmek amacıyla öncelikle agat havanda dövülmüştür. Daha sonra, platin pota içerisinde Protherm PLF-1600 markalı fırında toz karışım 1623 K'de ergitilmiş, eriyik bu sıcaklıkta 1 saat bekletildikten sonra saf suya dökülmüştür. Homojenliğin

sağlanması için, elde edilen granül halindeki cam parçacıkları tekrar agat havanda öğütülmüş ve viskoziteyi düşürerek camı rahatça dökülebilmek için aynı sıcaklıktaki fırın içerisinde 2 saat süreyle bekletilmiştir. Elde edilen homojen cam eriyikleri, termal şoku önlemek amacıyla önceden 573-673 K'e ısıtılmış olan grafit kalıplara dökülerek 1x1x1 cm³ boyutlarında silindirik şeklindeki biyoaktif cam numuneleri elde edilmiştir.

5.2.2 Sol-jel yöntemi ile stronsiyum katkılı biyoaktif cam üretimi

Sol-jel tekniği kullanılarak ağırlıkça %0.1, %0.25, %0.5, %1 ve %2 olmak üzere beş farklı oranda stronsiyum oksit içeren SiO₂-Na₂O-P₂O₅-CaO-SrO sistemine sahip biyoaktif cam numuneleri üretilmiştir (Şekil 5.2).



Şekil 5.2 : (a) Etüvde bekledikten sonra jelleşen sol-jel çözeltisi, (b) Jellerin ısıtılma işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen sol-jel esaslı stronsiyum katkılı biyoaktif cam numunesi.

Merck kalitede Si(OC₂H₅)₄ (TEOS, SiO₂ kaynağı olarak), (C₂H₅)₃PO₄ (TEP, P₂O₅ kaynağı olarak), Ca(NO₃)₂.4H₂O (CaO kaynağı olarak), Sr(NO₃)₂ (SrO kaynağı olarak) ve NaNO₃ (Na₂O kaynağı olarak) başlangıç hammaddeleri kullanılmıştır. SiO₂-Na₂O-P₂O₅-CaO-SrO bileşiminde biyoaktif cam üretebilmek için öncelikle, deiyonize su ve 0.1 M nitrik asit 15 dakika süreyle karıştırılmıştır. Bu karışıma TEOS ilave edilmiş ve asit hidroliz tepkimesinin tamamlanması için 60 dakika daha karıştırılmıştır. Bu işlemi takiben çözeltiye 45 dakika arayla trietil fosfat (TEP) ve kalsiyumnitrat tetrahidrat (Ca(NO₃)₂.4H₂O) ilave edilmiştir. Elde edilen çözelti, hidroliz tepkimesinin tamamlanması için 60 dakika daha karıştırılmaya devam edilmiştir. Son olarak çözeltiye, 60 dakika arayla sodyum nitrat (NaNO₃) ve stronsiyum nitrat (Sr(NO₃)₂) ilave edilerek homojen bir çözelti elde edilmiştir.

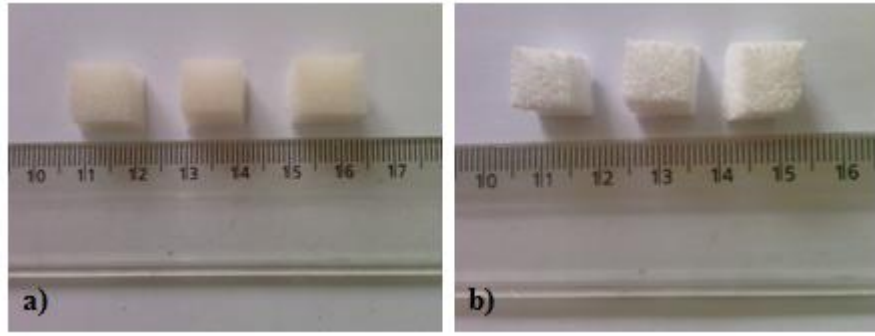
Hazırlanan çözelti, jelleşme gerçekleşene kadar sıcaklığı 333K'de sabit tutulan bir etüvde bekletilmiştir. Oluşan jeller, teflon bir kap içerisinde ağzı kapalı olacak

şekilde (teflon kabın ağzı alüminyum folyo ve parafin kullanılarak kapatılmıştır) etüve yerleştirilmiş ve burada 473K'de 40 saat tutularak yaşlandırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kuartz krozelere aktarılan numuneler, Heraeus Marka fırında camsı yapının oluşması ve nitrat kalıntılarının uzaklaşması amacıyla 873K'de 5 saat ve 973K'de 3 saat süreyle bekletilerek biyoaktif cam numuneleri elde edilmiştir.

5.2.3 Polimer sünger kopyalama yöntemi ile yapı iskelesi üretimi

Yapı iskelesi üretimi için öncelikle biyoaktif camlar agat havanda öğütülerek toz haline getirilmiştir. Tane boyutunun yapı iskelesi özellikleri üzerine etkisini inceleyebilmek amacıyla, ergitme yöntemiyle üretilen camlar, 45 µm ve 106 µm'den küçük olacak şekilde iki farklı tane boyutuna öğütülmüştür.

Yapı iskelesi üretimi için; oda sıcaklığında karışmakta olan saf su içerisine, çözelti viskozitesini ve cam taneciklerinin sünger kaplama kabiliyetini kontrol eden bağlayıcı ajan olarak gerekli miktarda polivinil alkol (PVA) ilave edilmiştir. 45 µm'den küçük tane boyutundaki toz camlar kullanılarak, ağırlıkça ortalama %5 PVA, %60 su, %35 toz cam; 106 µm'den küçük tane boyutundaki toz camlar için ise, ağırlıkça ortalama %5 PVA, %52 su, %43 toz cam bileşimlerine sahip çözeltiler elde edilmiştir. Polimerin çözünmesi için karıştırıcı ısıtıcının sıcaklığı 343 K'e ayarlanmış ve çözelti aynı sıcaklıkta 1 saat boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir. PVA'nın çözünmesiyle birlikte sıcaklık 303K'e düşürülerek, toz cam yavaş yavaş çözelti içerisine ilave edilmiştir. Trabeküler kemiğe yakın bir yapıya sahip olan [16] ve daha önceden 1 cm³'lük küpler halinde hazırlanan 60 PPI (pore per inch-152 gözenek/cm) poliüretan süngerler, hazırlanan polimer çözeltisine daldırılmış ve karışımı emmesi için 1-2 dakika süreyle bekletilmiştir. Gözeneklerin tıkanmaması için, süngerler sıkılarak çözeltinin fazlası alınmış ve süngerler bir gece süreyle oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işlemini takiben süngerler, polimeri uzaklaştırmak ve inorganik cam fazı sinterlemek için Nabetherm marka fırında sırasıyla 823 K'de ve 1223 K'de ısıtılma tabi tutulmuştur. Sıcaklık artım hızı 4 K/dakika olup, bu sıcaklıklarda bekleme süresi 2 saattir. 873 K'de poliüretan sünger tamamen uzaklaşmıştır [1,60]. Isıl işlem sonucunda poliüretan süngerlerin yapısını taklit eden yapı iskeleleri elde edilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3 : (a) Kalıp olarak kullanılan poliüretan süngerler, (b) Polimer sünger kopyalama yöntemi ile üretilen stronsiyum katkılı yapı iskeleleri.

5.2.3.1 Yapı iskelelerinin jelatin ile kaplanması

Kaplama için, ağırlıkça %5 jelatin içeren kaplama çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla, saf su içerisine %50 A tipi ve %50 B tipi olacak şekilde jelatin ilave edilmiştir. Çözelti, 308 K'e ayarlanan bir karıştırıcı ısıtıcı kullanılarak, taneciklerin tamamen çözünmesi için yaklaşık 30 dakika süreyle karıştırılmıştır. Çözünme gerçekleştiğinde, yapı iskelelerinin bir kısmı çözelti içine daldırılıp 2 dakika süreyle bekletilerek kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.4). Çözeltiyi emen yapı iskelelerinde gözeneklerin tıkanmaması ve fazla çözeltinin akarak uzaklaşması için, yapı iskeleleri bir gece süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir.



Şekil 5.4 : Yapı iskelelerinin jelatin çözeltisinde bekletilmesiyle elde edilen biyoaktif cam/polimer kompozit yapı iskeleleri.

5.3 Biyoaktif Cam Numunelerinin ve Yapı İskelelerinin Karakterizasyonu

Üretilen numunelerin mikroyapılarının, fiziksel ve yüzey özelliklerinin belirlenmesi amacıyla çeşitli karakterizasyon işlemleri uygulanmıştır.

5.3.1 X-ışını difraktometresi (XRD) analizleri

Agat havanda öğütülerek tanecik boyutu küçültülen ve beş farklı oranda SrO içeren biyoaktif cam numunelerinin amorf yapısının ve biyoaktivite testleri sonunda camlar ile yapı iskelelerinin yüzeylerinde oluşan kristal fazların belirlenmesi amacıyla, Pan'alytical Marka, X'Pert Pro Model X-ışınları difraktometresi kullanılmıştır. Difraksiyon diyagramındaki veriler, 0.154 nm dalga boyundaki Cu-K α radyasyonunda 0.0167 derecelik tarama adımı ve 26.67 s'lik tarama zamanı ile $5^{\circ} < 2\theta < 60^{\circ}$ aralığında toplanmıştır. Difraksiyon diyagramları incelenerek, numunelerde yapay vücut sıvısına daldırma öncesi ve sonrası hangi fazların oluştuğu belirlenmiştir.

5.3.2 Üretilen biyoaktif cam numunelerine DTA (diferansiyel termal analiz) uygulanması

Üretilen biyoaktif cam numunelerinin; kristalizasyon eğilimlerini ve camsı geçiş sıcaklıklarını tespit etmek amacıyla TA Marka, SDT Q600 Model DTA cihazı kullanılmıştır. Deneylerde referans madde olarak α -Al₂O₃ kullanılmıştır. DTA analizinde cam numuneleri, 20 K/dakika'lık ısıtma hızı ile 1273 K'e kadar ısıtılmıştır.

5.3.3 Üretilen biyoaktif cam numunelerinin tane boyutu dağılım analizi

Yapı iskelesi üretiminde kullanılmak üzere, agat havanda 45 μ m'lik ve 106 μ m'lik eleğin altına geçecek şekilde öğütülen toz cam numunelerinin ortalama tane büyüklüklerinin belirlenmesi amacıyla, tane boyut dağılım analizi uygulanmıştır. Toz cam numunelerinin sulu çözeltilerindeki ölçümler, Malvern Marka, Mastersizer 2000 Model cihazda 700 rpm karıştırıcı ve 2000 rpm pompa koşullarında, dağıtıcı ajan olarak saf su kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihazda tane boyutu ölçümü, belirli tane boyutu aralığında bulunan cam taneciklerinin, çözelti içerisindeki toplam hacminin belirlenmesi prensibine dayanmaktadır.

5.3.4 İn vitro çalışmalar

5.3.4.1 Yapay vücut sıvısının hazırlanması

Yapay vücut sıvısı, insan kanı plazmasına benzer bileşim ve iyonik derişime sahip olup [5,36,66] Çizelge 5.1'de yer alan kimyasallar kullanılarak hazırlanmıştır.

Çizelge 5.1 : Yapay vücut sıvısının hazırlanmasında kullanılan kimyasal bileşikler [66].

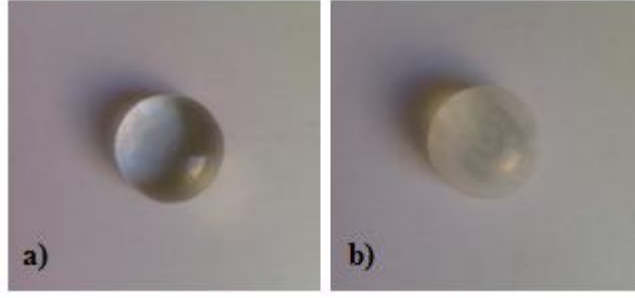
Sıra	Kimyasal	Safılık	Miktar
1	NaCl	Min %99.5	7.996 g
2	NaHCO ₃	Min %99.5	0.350 g
3	KCl	Min %99.5	0.224 g
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	Min %99.0	0.228 g
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	Min %98.0	0.305 g
6	1 M HCl	-	40 ml
7	CaCl ₂	Min %95.0	0.278 g
8	Na ₂ SO ₄	Min %99.0	0.071 g
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	Min %99.9	6.057
10	1 M HCl	-	pH ayarı için uygun miktarda

Çözelti hazırlanmadan önce, kullanılan tüm malzemeler bir gece süreyle seyreltik hidroklorik asit içerisinde bekletilmiş ve ardından saf su ile iyice temizlenmiştir. Bir litrelik polipropilen behere 750 ml deiyonize su konmuştur. Çizelge 5.1’de yer alan ilk sekiz kimyasal sırasıyla ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı kullanılarak her ilave edilen kimyasalın tam olarak çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan çözeltinin sıcaklığı 310 K’e ulaştığında, tris base ((CH₂OH)₃CNH₂) mümkün olduğunca yavaş bir şekilde ilave edilmiştir. Artan pH, 1 M hidroklorik asit çözeltisi kullanılarak 7.4’e ayarlanmıştır. Hazırlanan çözelti cam bir balonjojeye aktarıldıktan sonra, sıcaklığı yaklaşık 293 K olana kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Soğuyan çözeltinin hacmi, saf su ile bir litreye tamamlandıktan sonra, polipropilen bir balonjojeye alınmıştır. Çökme olup olmadığını gözlemlemek amacıyla çözelti, 1 hafta süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir [66].

5.3.4.2 Biyoaktivite analizleri

Numunelerin yüzeylerinde hidroksiapatit tabakası oluşumunun gözlenmesi amacıyla, numuneler 1, 7, 14 ve 28 gün süreyle 15 ml hacmindeki yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilmiştir (Şekil 5.5). Bekleme süreleri boyunca, içinde cam numuneleri bulunan SBF çözeltileri etüv içerisine yerleştirilmiş ve sıcaklık 310 K’de sabit tutulmuştur.

Biyoaktivite davranışlarının incelenmesi amacıyla, jelatin ile kaplanan ve kaplanmayan yapı iskelesi numuneleri de 1, 7, 14 ve 28 gün boyunca 30 ml hacmindeki SBF çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Sıcaklık aynı şekilde 310 K’de sabit tutulmuştur.



Şekil 5.5 : (a) Ergitme yöntemiyle üretilen biyoaktif cam, (b) Biyoaktif camın 28 gün süreyle yapay vücut sıvısında bekletilmesiyle, yüzeyi üzerinde gözle görülebilecek şekilde meydana gelen hidroksiapatit tabakası.

Biyoaktivitesi incelenen tüm biyoaktif cam ve yapı iskelesi numunelerinin içinde bulunduğu SBF çözeltileri, üç günde bir değiştirilerek tazelenmiştir.

Belirlenen sürelerin sonunda yapay vücut sıvısındaki kalsiyum, silisyum, sodyum ve stronsiyum iyonlarının zamana bağlı olarak değişen derişimleri Perkin Elmer Marka, Optima 2100 DV Model ICP (Inductively Coupled Plasma) cihazının 13.56 MHz'ta kullanılmasıyla ölçülmüştür. Fosfor iyonlarının derişimi ise, Thermo Marka, Aquamate Model UV (Ultraviyole) cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Biyoaktivite testi sonucunda numunelerde oluşan kristal fazların saptanması amacıyla XRD analizi uygulanmıştır.

Yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilen numunelerin mikroyapıları SEM kullanılarak belirlenmiştir.

Yapı iskelelerinin gözenekliliği, jelatin çözeltisinin ve camın yoğunlukları belirlendikten sonra hesaplanmıştır.

Aynı analizler, karşılaştırma yapabilmek ve değişimleri inceleyebilmek amacıyla, yapay vücut sıvısında bekletilmeyen numunelere de uygulanmıştır.

5.3.4.3 Biyobozunma çalışmaları

İki farklı tane boyutuna sahip biyoaktif camdan üretilen ve ardından jelatin ile kaplanan ve kaplanmayan yapı iskelelerinin in vitro biyobozunma çalışmaları 1, 7, 14 ve 28 günlük süreler boyunca sıcaklığı 310K'de sabit tutulan 30 ml hacmindeki yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilmeleriyle gerçekleştirilmiştir. Yapı iskelelerinin başlangıç ağırlıkları (W_i), SBF çözeltisinden çıkarıldıktan sonraki ıslak ağırlıkları (W_w) ve bir gece süreyle 310 K'deki etüvde kurutulduktan sonraki kuru ağırlıkları

(W_d) kaydedilmiştir. Su absorpsiyonu (W_A) ve ağırlık kaybı değerleri (W_L) sırasıyla (5.1) ve (5.2) eşitlikleri kullanılarak hesaplanmıştır [59].

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

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

5.3.5 FTIR analizleri

Numunelerin yapılarındaki kimyasal bağların belirlenmesi amacıyla Perkin Elmer Marka, Spectrum 100 Model Fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopi cihazı kullanılmıştır. Cihazın çalışması, kimyasal bağların spesifik frekans veya dalga boylarında kızılötesi enerjiyi absorblaması prensibine dayanmaktadır. KBr ile 1:100 oranında harmanlandıktan sonra pelet haline getirilerek ölçümü yapılan numunelerin, $650-4000 \text{ cm}^{-1}$ aralığında kaydedilen absorbans değerleri incelenerek, numunelerdeki fonksiyonel gruplar belirlenmiştir.

5.3.6 Mikroyapı (SEM) analizleri

Taramalı elektron mikroskobu, biyoaktif cam numuneleri üzerinde oluşan hidroksiapatit tabakasını ve yapı iskelelerinin biyoaktivitesi ile yapısal morfolojilerini gözlemlemek amacıyla kullanılmıştır. Silindir şeklindeki biyoaktif cam numunelerinin yüzeyleri 400, 600, 800 ve 1000 numaralı zımparalar kullanılarak pürüzsüzleştirilmiş ve zayıf iletkenlik özellikleri nedeniyle, analizden önce tüm numunelerin yüzeyleri ince bir altın tabakası ile kaplanmıştır. Görüntüler 10 kV'da EDS (Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi) bağlantılı Jeol Marka, JSM-5410 Model cihaz yardımıyla elde edilmiştir.

5.3.7 Gözeneklilik ve yoğunluk ölçümleri

Beş farklı oranda stronsiyum katkısı ile üretilen camların yoğunluk ölçümü, Quantachrome Marka, Ultrapycnometer 1000 Model cihazda helyum gazı kullanılarak ve 293 K sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Analizin prensibi, ölçüm yatağında numuneden geriye kalan boşlukları dolduran helyum gazı hacminin belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu sayede hacmi belirlenen ve miktarı bilinen numunelerin yoğunlukları hesaplanabilmektedir. Sonuçlar, her numune için tekrarlanan üç ölçümün ortalaması alınarak elde edilmiştir.

Jelatin içeren kaplama çözeltisinin yoğunluğu ise, saf su değeri referans alınarak 10 ml hacmindeki piknometre yardımıyla belirlenmiştir.

Hazırlanan yapı iskelelerinin kaplanmamış (P_1) ve kaplanmış (P_2) durumdaki gözenekliliği, camın (ρ_1) ve kaplama malzemesinin yoğunluğu (ρ_2) kullanılarak ve (5.3) ile (5.4) eşitlikleri yardımıyla hesaplanmıştır. W_1 ve W_2 sırasıyla kaplanmamış ve jelatin ile kaplanmış yapı iskelesinin kütlesi olup, gözenekli yapı iskelelerinin hacim (V) değerleri, boyutları temel alınarak hesaplanmıştır.

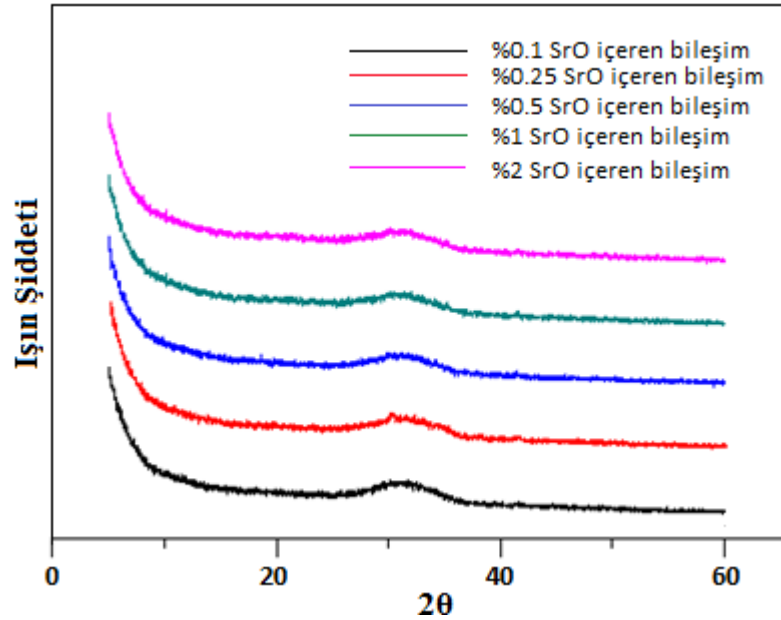
$$P_1 = [1 - (W_1/(\rho_1 \times V))] \times 100 \quad (5.3)$$

$$P_2 = [1 - (W_1/\rho_1 + (W_2 - W_1)/\rho_2)/V] \times 100 \quad (5.4)$$

6. DENEYSEL ÇALIŞMALARIN SONUÇLARI VE DEĞERLENDİRİLMESİ

6.1 Biyoaktif Cam Numunelerinin XRD Sonuçları

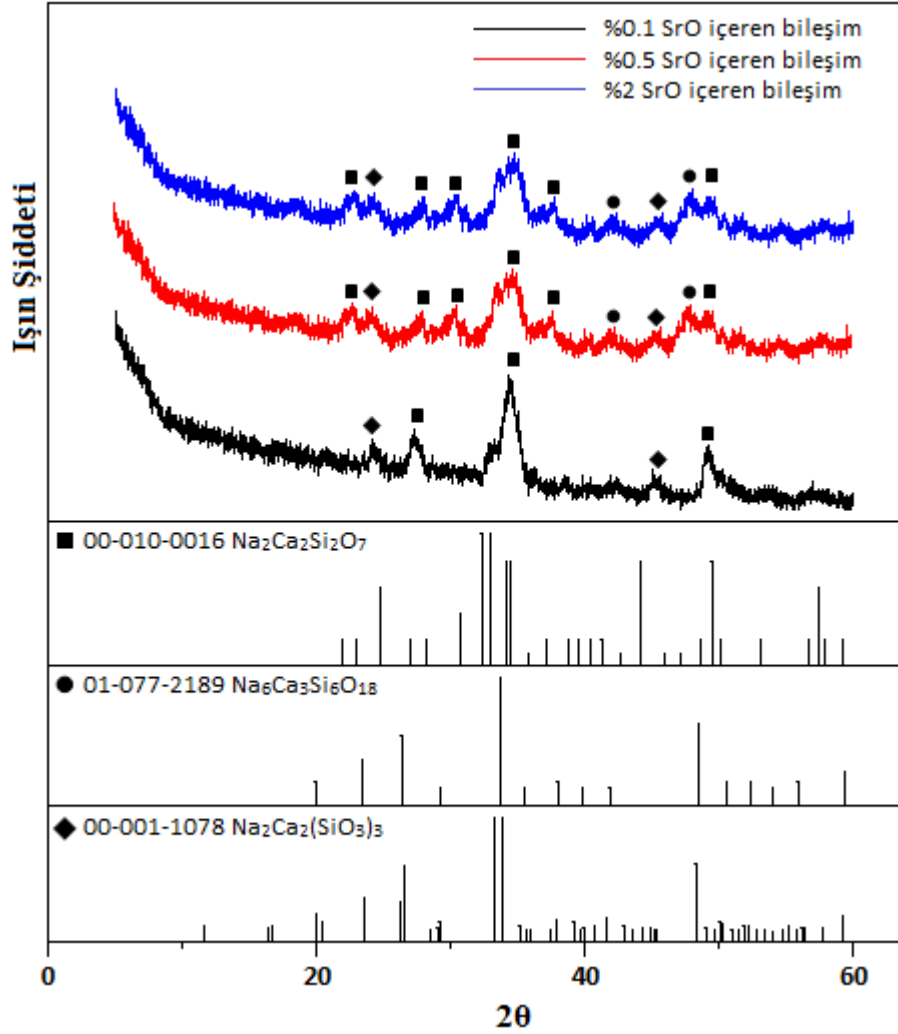
Ergitme ve sol-jel yöntemi ile üretilen cam numunelerde amorf yapı oluşumunun tespit edilebilmesi amacıyla XRD cihazı kullanılmıştır. Şekil 6.1’de, beş farklı oranda (ağırlıkça %0.1, %0.25, %0.5, %1 ve %2) stronsiyum oksit içeren $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$ sistemine ait ve ergitme yöntemiyle üretilen biyoaktif cam numunelerinin XRD grafikleri verilmiştir.



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

Difraksiyon diyagramları incelendiğinde, tüm bileşimlerin amorf yapıya özgü geniş bantlara sahip olduğu [24] ve herhangi bir kristalin faz içermediği görülmüştür. $2\theta=25^\circ\text{-}40^\circ$ aralığındaki geniş yansıma dışında difraksiyon piki görülmemesi [5,9,11,22], numunelerdeki amorf yapı varlığını doğrulamıştır. Bu sonuç, stronsiyum katkısının hem cam ağının yapısını etkilemediğini, hem de eriyiğin soğuması sırasında kristalizasyon eğilimi oluşturmadığını göstermiştir.

Sol-jel yöntemi uygulanarak üretilen cam numunelerinin XRD grafikleri (Şekil 6.2) incelendiğinde ise, ergitme yöntemiyle üretilen cam numunelerin aksine, amorf yapı oluşumu tespit edilememiştir. Bu durum, stronsiyumun ağ yapı içerisine yerleştirilemediğini ve camsı bir yapı elde edilemediğini göstermektedir. Bu nedenle, takip eden çalışmaların sadece ergitme yöntemiyle üretilen numunler ile gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.



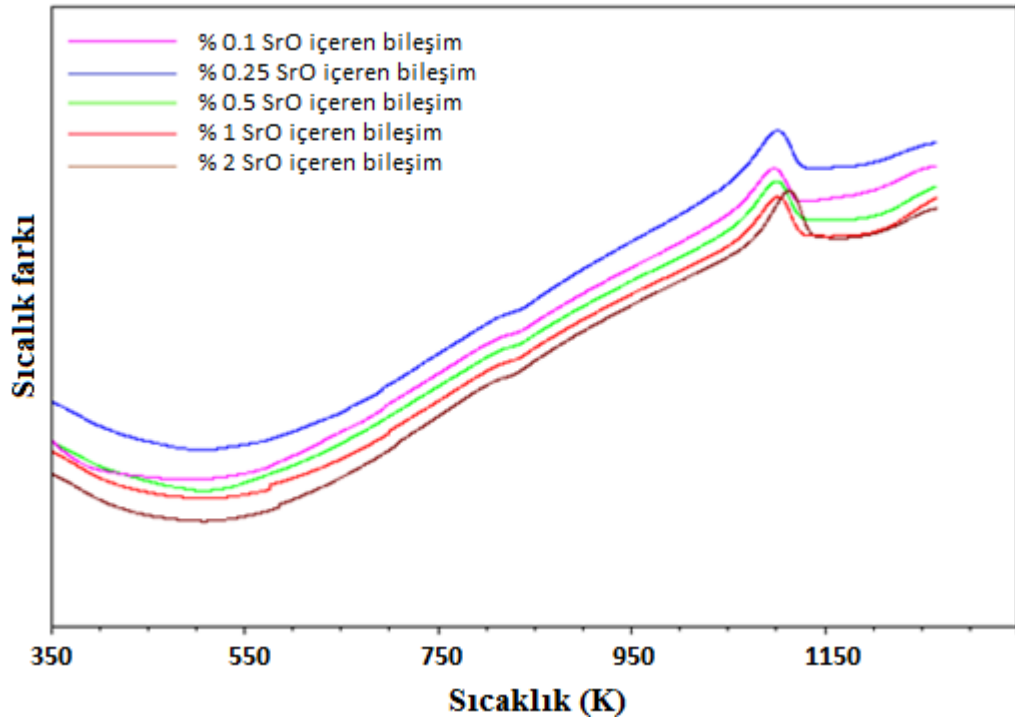
Şekil 6.2 : Sol-jel yöntemi uygulanarak üretilen, $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$ bileşimine sahip cam numunelerinin XRD grafikleri.

6.2 Biyoaktif Cam Numunelerinin DTA Sonuçları

Ergitme yöntemi ile üretilen beş farklı kimyasal bileşime sahip biyoaktif cam numunelerinin camsı geçiş sıcaklığı ile kristalizasyon sıcaklığının belirlenmesi amacıyla DTA uygulanmıştır. DTA eğrileri, cam numunelerinin 323 K'den 20

K/dakika'lık bir ısıtma hızı ile 1273 K'e kadar ısıtılmasıyla elde edilmiştir (Çizelge 6.1).

Biyoaktif cam numunelerine ait DTA eğrileri (Şekil 6.3) incelendiğinde, numunelerin 831-838 K aralığında değişen camsı geçiş sıcaklığını belirten birer endotermik pik ve 1097-1112 K aralığında değişen kristallenme sıcaklığını belirten birer ekzotermik pik belirlenmiştir. Genel olarak, stronsiyum miktarının değişmesiyle, camsı geçiş ve kristalizasyon sıcaklıklarının çok fazla değişmediği görülmektedir. Analiz sonucunda elde edilen kristalizasyon sıcaklıkları, biyoaktif cam kullanılarak gerçekleştirilen yapı iskelesi üretimi için gerekli olan 1223 K sinterleme sıcaklığına ulaşıldığında, yapıda kristalizasyonun gerçekleşeceğini göstermektedir.



Şekil 6.3 : Biyoaktif cam numunelerinin DTA grafikleri.

Çizelge 6.1 : Üretilen biyoaktif cam numunelerinin DTA sonuçları.

Numune	Camsı geçiş sıcaklığı (K)	Kristallenme sıcaklığı (K)
%0.1 SrO içeren bileşim	838	1097
%0.25 SrO içeren bileşim	836	1101
%0.5 SrO içeren bileşim	834	1100
%1 SrO içeren bileşim	832	1101
%2 SrO içeren bileşim	831	1112

6.3 Yoğunluk Ölçümü

Üretilen biyoaktif camların, helyum piknometresi ile ölçülen yoğunluk değerleri Çizelge 6.2’de verilmiştir. Çizelge 6.2’den görüldüğü üzere, üretilen biyoaktif camların yoğunluk değerleri $2.58\text{-}2.71\text{ g/cm}^3$ değerleri arasında değişmektedir. Elde edilen veriler ile stronsiyum katkısı arasında tam bir ilişki gözlenememekle birlikte, değerlerin dar bir aralıkta yer aldığı görülmektedir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmada kullanılan biyoaktif cam numunelerinin bileşimine yakın cam numunesinin yoğunluk değerinin de 2.65 g/cm^3 olduğu saptanmıştır [12].

Çizelge 6.2 : Stronsiyum katkılı biyoaktif camların yoğunluk değerleri.

Numune	Yoğunluk (g/cm^3)
%0.1 SrO içeren biyoaktif cam	2.71
%0.25 SrO içeren biyoaktif cam	2.69
%0.5 SrO içeren biyoaktif cam	2.71
%1 SrO içeren biyoaktif cam	2.70
%2 SrO içeren biyoaktif cam	2.58

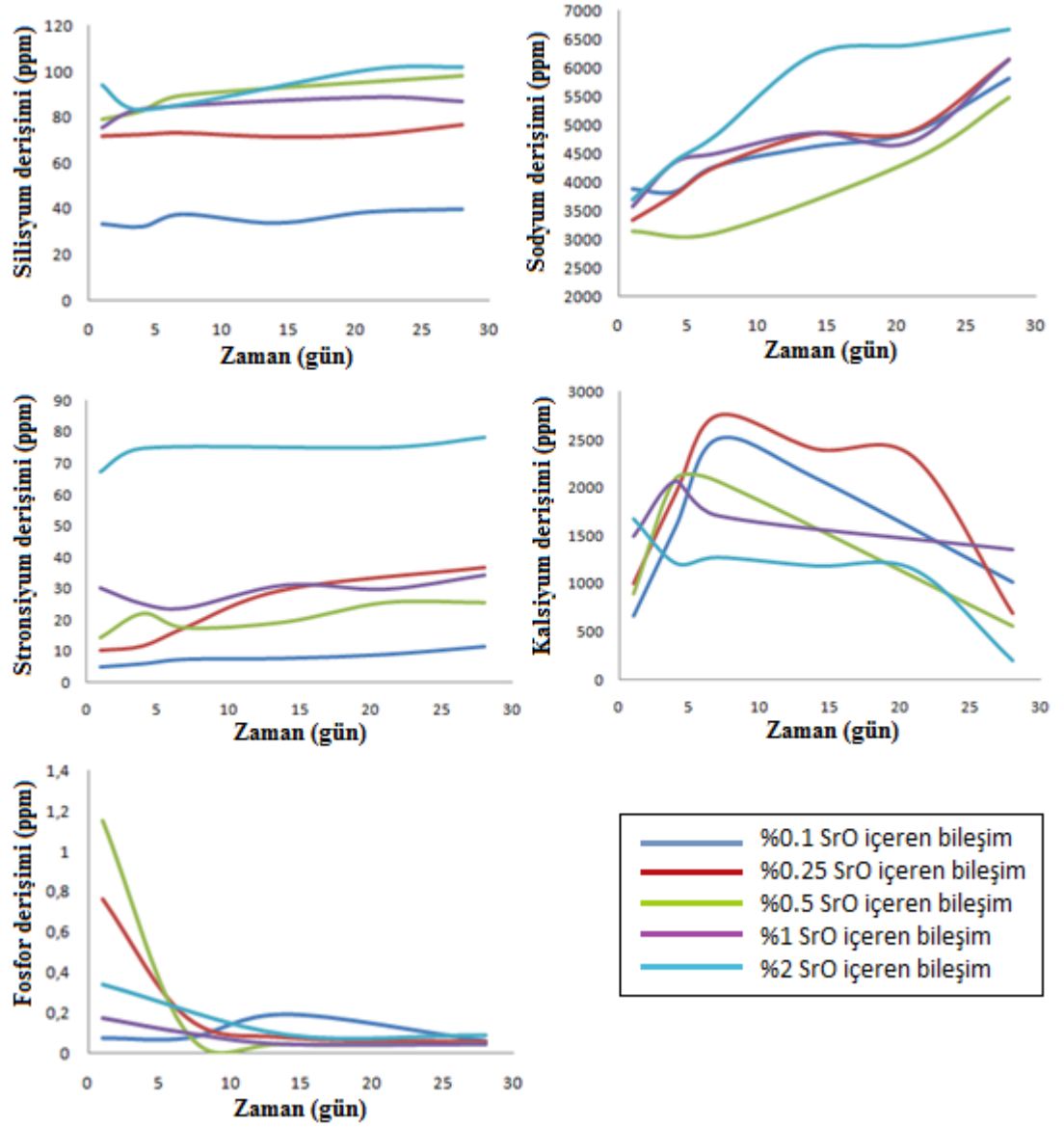
6.4 Biyoaktif Camların İn vitro Biyoaktivite Karakterizasyonu

Üretilen biyoaktif cam numuneleri, yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilerek, numunelerin vücut içerisindeki davranışları belirlenmeye çalışılmıştır. XRD ve SEM analizleri uygulanarak numunelerin yüzey karakterizasyonu yapılmış, yapay vücut sıvısına ise ICP ve UV analizleri uygulanarak çeşitli iyon derişimlerinin değişimi incelenmiştir. Açıklamalarda kolaylık sağlaması açısından yapay vücut sıvısı (simulated body fluid), SBF şeklinde kısaltılarak kullanılmıştır.

6.4.1 Yapay vücut sıvısının analizi

Biyomalzemelerin biyoaktivite özelliği, hem in vitro hem de in vivo ortamda yüzeyleri üzerinde apatit tabakası oluşturarak canlı kemiğe bağlanma kabiliyeti olarak kabul edilmektedir [5,9]. Bu çalışmada biyoaktif cam numunelerinin biyoaktiviteleri, 310 K’deki yapay vücut sıvısında bekletilmeleriyle değerlendirilmiştir. SBF çözeltisinin zamana bağlı olarak değişen sodyum, kalsiyum, silisyum ve stronsiyum iyon miktarları ICP cihazı kullanılarak, fosfor miktarları ise UV cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Beş farklı oranda stronsiyum oksit içeren $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$ sistemine sahip biyoaktif camların SBF çözeltisinde 28 gün

süreyle bekletilmesi sonucu, çözeltideki Si^{4+} , Na^+ , Sr^{2+} , Ca^{2+} ve P^{5+} iyon derişimlerinin zamana bağılı değışimi Şekil 6.4'te verilmiştir.



Şekil 6.4 : SBF çözeltisindeki iyon derişimlerinin zamana bağılı değışimi.

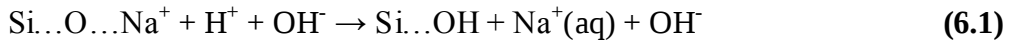
Görüldüğü gibi, tüm cam bileşimleri için silisyum, sodyum ve stronsiyum iyonlarının derişimi, SBF çözeltisi içerisindeki bekleme zamanına bağılı olarak artış göstermesine rağmen, silisyumun çözünürlük limitine ulaşılmamıştır (su içerisinde 120 ppm) [14]. Başlangıç bileşiminde bulunan stronsiyum miktarının artması, çözeltideki stronsiyum iyon derişiminin yükselmesi ile sonuçlanmıştır. Cam bileşimindeki stronsiyum katkısı arttıkça, çözeltideki silisyum ve sodyum iyonlarının daha yüksek derişimlerde bulunması, stronsiyum ilavesinin camın çözünürlüğünü

artırdığını göstermiştir. Bu sonuç, uygulamaya bağlı olarak, istenen iyonların uygun miktarda salınımı amacıyla cam kimyasının ayarlanabileceğini göstermiştir.

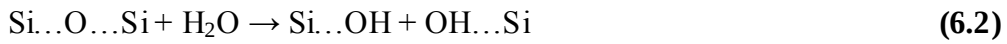
SBF çözeltisindeki kalsiyum iyonlarının derişimi, ağırlıkça %2 SrO içeren cam hariç, 3-7 gün arasında artış göstermiş ancak, daha sonra numune yüzeyi üzerinde apatit tabakası oluşumu nedeniyle azalmıştır. Ağırlıkça %2 SrO içeren cam numunesinin SBF çözeltisindeki kalsiyum iyonlarının derişimi ise, sürekli azalan bir eğilim göstermektedir. Fosfor iyonlarının derişimi ise, SBF'deki bekleme süresinin artmasıyla birlikte sürekli azalmaktadır. Çözelti içindeki kalsiyum ve fosfor derişimlerindeki bu azalma, vücut sıvısının apatite kıyasla aşırı doygun olması nedeniyle, apatit çekirdeğinin bir kez oluştuktan sonra çevre sıvıdaki kalsiyum ve fosfat iyonlarını tüketerek kendiliğinden büyümesi ile açıklanabilmektedir [12].

Yapay vücut sıvılarındaki iyon derişimlerinin değişimi, biyoaktif cam numunesinin yüzeyinde gerçekleşen bir dizi tepkimeden kaynaklanmaktadır. Öncelikle, camdaki Ca^{2+} iyonları ile çözeltideki H_3O^+ iyonlarının yer değişimi gerçekleşmektedir. Bunun ardından, silikanın ağ yapısı bozunarak silanol bağları oluşmaktadır. Oluşan silanol bağları polimerize olarak, silika hidrojel oluşturmakta ve bunu takiben apatit tabakası meydana gelmektedir. Tepkime adımları aşağıdaki gibidir [67]:

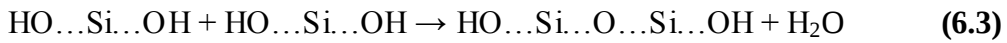
1. Adım: Na^+ veya Ca^{2+} ile çözeltideki H^+ veya H_3O^+ gibi katyonların hızla yer değişimi gerçekleşir.



2. Adım: Silika, $\text{Si}(\text{OH})_4$ formunda çözeltiye geçer; böylece, Si-O-Si bağları kopar ve cam-çözelti arayüzeyinde Si-OH'ların (silanoller) oluşumu gerçekleşir.



3. Adım: Alkali ve toprak alkali katyonları tüketilerek, yüzeydeki SiO_2 'ce zengin tabakanın kondenzasyonu ve polimerizasyonu gerçekleşir.



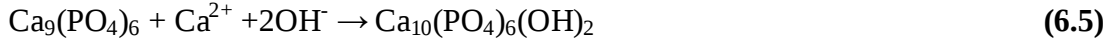
4. Adım: Ca^{2+} ve PO_4^{3-} gruplarının yüzeye göçü ile birlikte, SiO_2 'ce zengin tabakanın üzerinde Ca-PO_4^{3-} gruplarının oluşumu ve amorf kalsiyum fosfat tabakasının büyümesi gerçekleşir.

5. Adım: Çözeltiden gelen OH^- ve CO_3^{2-} anyonları vasıtasıyla amorf kalsiyum fosfatın kristalizasyonu gerçekleşir ve böylece apatit tabakası oluşur.

Hidroksiapatit tabakasının oluşabilmesi için, öncelikle Ca/P oranının 1.5 ve üzerinde olması gerekmektedir. Ca/P oranı 1.5 veya bu değere yakın ise aşağıdaki tepkime gerçekleşir.



Bu tepkimeyi takiben aşağıdaki tepkimeler meydana gelmektedir:



$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'nın çözünürlüğü hidroksiapatitinkinden daha yüksek olduğu için, Ca^{2+} iyonlarının derişimi (6.4) numaralı tepkimenin öncelikli olarak gerçekleşmesine neden olmaktadır. Bu da hidroksiapatitteki Ca/P oranının artmasını sağlamaktadır. Yüksek pH'larda ise, (6.5) numaralı tepkime meydana gelmektedir. Başlangıç bileşimine rağmen, Ca/P oranı 1.5 değerinin üzerine çıkmakta (1.667) ve bu da ortamda sadece hidroksiapatit fazının oluşmasına neden olmaktadır.

6.4.2 Biyoaktif camların yüzey karakterizasyonları

Üretilen biyoaktif cam numunelerinin yüzey karakterizasyonları XRD ve SEM kullanılarak yapılmıştır.

6.4.2.1 XRD analizi

X-ışınları difraksiyon analizleri, yapay vücut sıvısında beklemeleri sonucunda biyoaktif cam numunelerinin yüzeyleri üzerinde oluşan hidroksiapatit tabakasını tespit edebilmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Şekil A.1-A.5 aralığındaki grafikler, SBF içerisinde 1, 7, 14, ve 28 gün süreyle bekletilen, beş farklı oranda stronsiyum katkısı içeren biyoaktif cam numunelerinin XRD difraktogramlarını göstermektedir.

Tüm biyoaktif cam numunelerinin XRD grafiklerinde, Şekil 6.1'de belirlenen orijinal numunelere ait amorf yapının zamanla kaybolduğu görülmektedir. Yapay vücut sıvısı çalışmalarının XRD grafiklerinde, tüm numuneler için $2\theta=32^\circ$ 'de kristalin bir pik tespit edilmiştir. Bu pikin, hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{27}$) tabakasına ait olduğu belirlenmiştir. Ancak, Şekil A.5'ten de görüldüğü gibi, ağırlıkça %2 SrO içeren cam numunesinde ilk günden itibaren HA (hidroksiapatit) piki oluşmuş ve uzun bekletme sürelerinde HA piklerinin şiddetleri artmıştır. Bu da, yapay vücut sıvısı içerisinde uzun süre bekletilen numunelerin yüzeylerinde oluşan HA fazının

miktarının arttığını göstermektedir. Ayrıca, ağırlıkça %2 SrO içeren cam numunesinde, diğer cam numunelerine kıyasla daha kısa sürede HA piklerinin oluşması, bu numunenin daha yüksek biyoaktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, stronsiyum katkısının artmasına bağlı olarak, piklerin şiddetinin arttığı tespit edilmiştir. En şiddetli ve belirgin kristal pikine sahip ağırlıkça %2 SrO içeren cam numunesinin, en yüksek biyoaktiviteye sahip olduğu belirlenmiş ve yapı iskelelerinin üretiminde bu numunenin kullanılmasına karar verilmiştir.

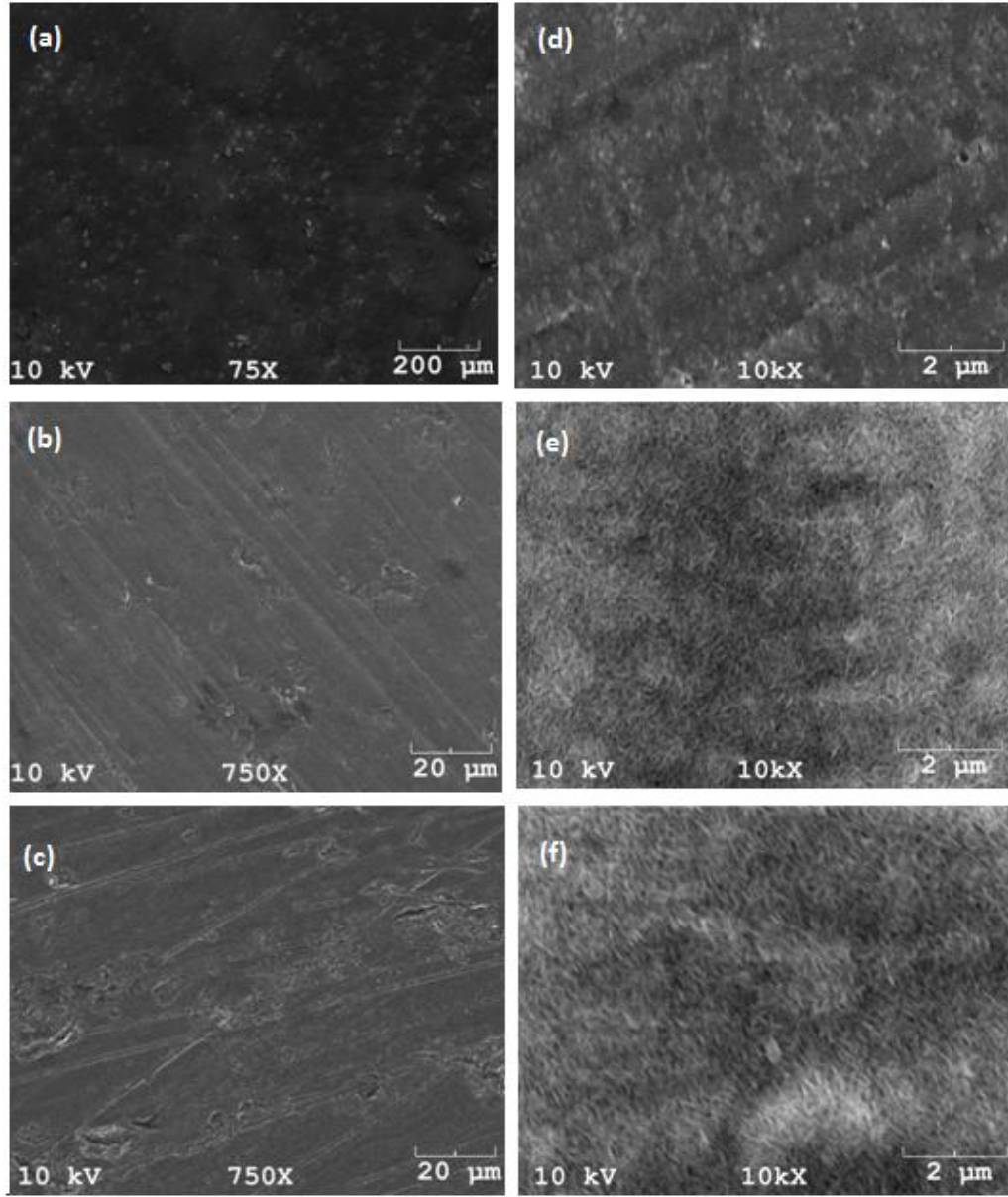
6.4.2.2 Mikroyapı analizi

Üretilen biyoaktif camların yüzeyinde oluşan hidroksiapatit tabakasını belirlemek amacıyla, ağırlıkça %0.1 SrO içeren, %0.5 SrO içeren ve %2 SrO içeren bileşime sahip biyoaktif camların yapay vücut sıvısında bekletilmeden önce ve 28 gün bekletildikten sonra, yüzeylerinde meydana gelen değişimler SEM yardımıyla incelenmiştir (Şekil 6.5).

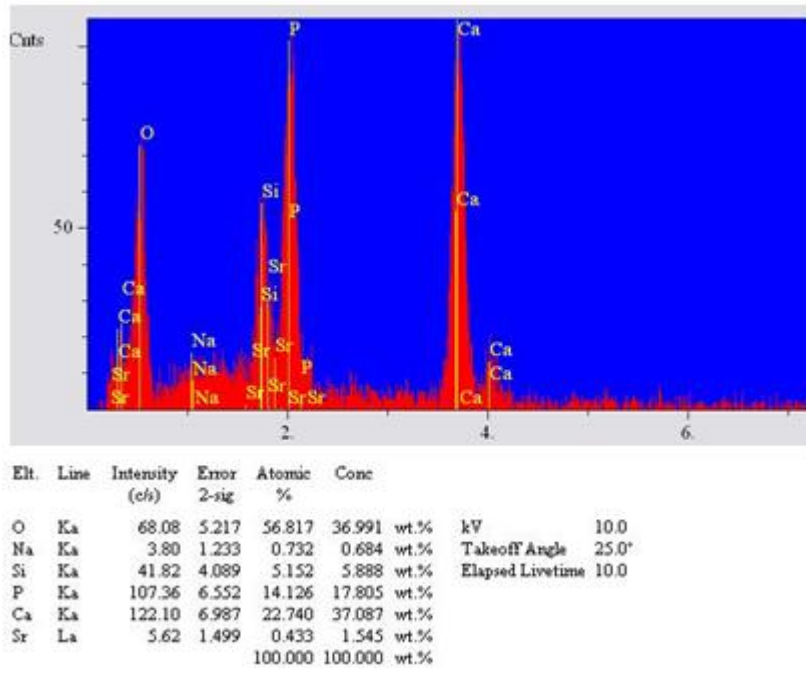
Şekil 6.5 (a), (b) ve (c)'de numunelerin yapay vücut sıvısında bekletilmeden önce amorf yapıya sahip oldukları ve herhangi bir kristalin faz içermedikleri görülmektedir. Tüm numunelerin 28 gün süreyle SBF içerisinde bekletilmesiyle, yüzeylerinin beyaz halde görülen homojen bir hidroksiapatit tabakası ile kaplandığı tespit edilmiştir (Şekil 6.5 (d) (e) ve (f)). İpliksi yapıdaki HA kristallerinin, özellikle ağırlıkça %0.5 ve %2 SrO içeren cam numunelerinde oluştuğu görülmektedir. Ancak, ağırlıkça %0.1 SrO içeren cam numunesinde, HA taneciklerinin rastgele bir dağılım gösterdiği ve tüm yüzeyi kaplamadığı belirlenmiştir. SEM analizlerine paralel olarak, ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin EDS ölçümü de gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.6). Numunenin, SEM fotoğrafında görülen yüzeylerinde EDS ile yapılan nokta analiz ölçümleri sonucunda belirlenen kalsiyum ve fosforun ağırlıkça yüzdeleri de Şekil 6.6'da verilmiştir.

EDS sonucundan, biyoaktif cam numunesinin yüzeyinde tespit edilen Ca/P oranının 2.07 olduğu hesaplanmıştır. Bu değer, hidroksiapatit fazının oluşması için gerekli olan $Ca/P=1.667$ değerinin üzerinde olması, yüzeydeki tabakanın HA olduğu sonucunu göstermektedir. Biyoaktif cam numunesinin yüzeyinde saptanan Ca/P oranı, SEM fotoğraflarında tespit edilen HA tabakasının varlığını kanıtlamaktadır. Bu sonuç; SEM-EDS çalışmalarının XRD sonuçlarını desteklediğini ve stronsiyum miktarının artmasıyla birlikte, oluşan hidroksiapatit tabakası kalınlığının da arttığını,

dolayısıyla, biyoaktivitesi en yüksek numunenin ağırlıkça %2 SrO içeren bileşime sahip cam olduğunu göstermektedir.



Şekil 6.5 : (a) ve (d) sırasıyla, ağırlıkça %0.1 SrO içeren bileşimin SBF’de bekletilmeden önceki ve SBF’de 28 gün bekletildikten sonraki; (b) ve (e) sırasıyla, ağırlıkça %0.5 SrO içeren bileşimin SBF’de bekletilmeden önceki ve SBF’de 28 gün bekletildikten sonraki; (c) ve (f) sırasıyla, ağırlıkça %2 SrO içeren bileşimin SBF’de bekletilmeden önceki ve SBF’de 28 gün bekletildikten sonraki SEM görüntüleri.



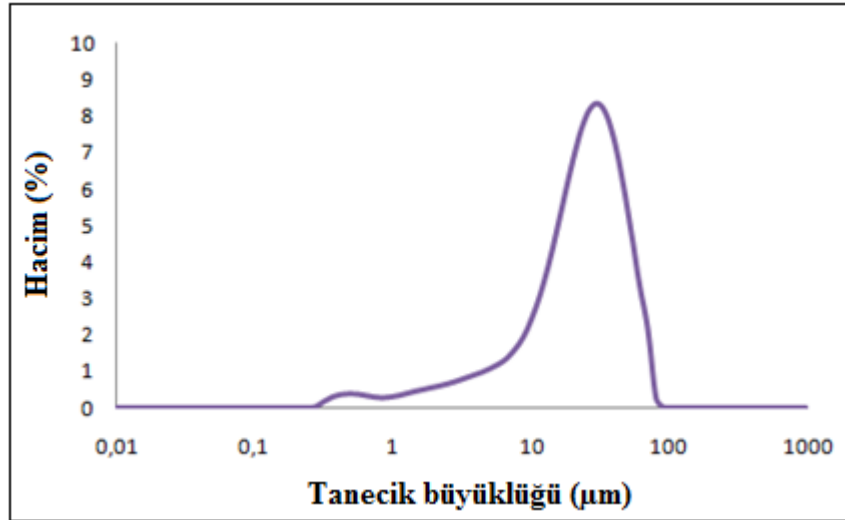
Şekil 6.6 : SBF’de 28 gün bekletilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin EDS grafiği.

Biyoaktivite karakterizasyonu için yapılan tüm analiz sonuçları; numunelerin biyoaktif özelliğe sahip olduğunu ve yapay vücut sıvısı içerisine konulduğunda yüzeylerinde HA tabakasının oluştuğunu göstermektedir. Yapay vücut sıvısı içerisine yerleştirilen numunelerin yapısından Ca^{2+} , P^{5+} ve Si^{4+} çözünerek, çözeltiye geçmekte ve Ca^{2+} iyonları, H^+ veya H_3O^+ iyonları ile yer değiştirmektedir. Numunelerin yapısından çözünen silisyum, çözeltide silisik asit $[\text{Si}(\text{OH})_4]$ olarak bulunmakta ve zamanla numunenin yüzeyinde silika jel tabakası oluşmaktadır. Çözelti içerisindeki Ca^{2+} ve P^{5+} iyonları, silika jelin üzerinde Ca-P tabakası oluşturmakta ve zamanla HA kristalleri meydana gelmektedir. HA tabakası oluşurken, yapay vücut sıvısı içerisindeki kalsiyum ve fosfor iyonlarının derişimi azalır. ICP analizi sonucunda, çözeltideki kalsiyum iyonlarının derişiminin önce biraz arttığı, sonra zamanla azaldığı; fosfor iyonlarının derişiminin ise, sürekli azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, HA tabakasının numunelerin yüzeyinde oluştuğunu göstermektedir. Şekil A.1-A.5 aralığında yer alan XRD sonuçlarında, %2 SrO içeren biyoaktif cam numunelerinin yüzeylerinde birinci günden itibaren, diğer biyoaktif cam numunelerinin yüzeylerinde ise 14. günden itibaren HA tabakasının oluştuğu ve oluşan miktarın zamanla arttığı tespit edilmiştir. ICP sonuçlarına göre, %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin bulunduğu SBF çözeltisindeki kalsiyum iyonlarının miktarlarının sürekli azalması da, XRD sonuçlarını (Şekil A.1-A.5)

desteklemektedir. %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinden ilk 24 saat içerisinde Ca^{2+} iyonları çözünmekte ve 24 saat sonunda çözelti içerisindeki Ca^{2+} iyonları, Ca-P tabakası oluşturmaya başlamaktadır. Numunelerin yüzeylerinde zamana bağlı olarak HA kristalizasyonunun ilerlemesi ve fazın kararlı hale gelmesi, elde edilen tüm verilerin birbirleriyle uyum içerisinde olduğunu göstermektedir.

6.5 Biyoaktif Cam Numunelerinin Tane Boyutu Dağılımı

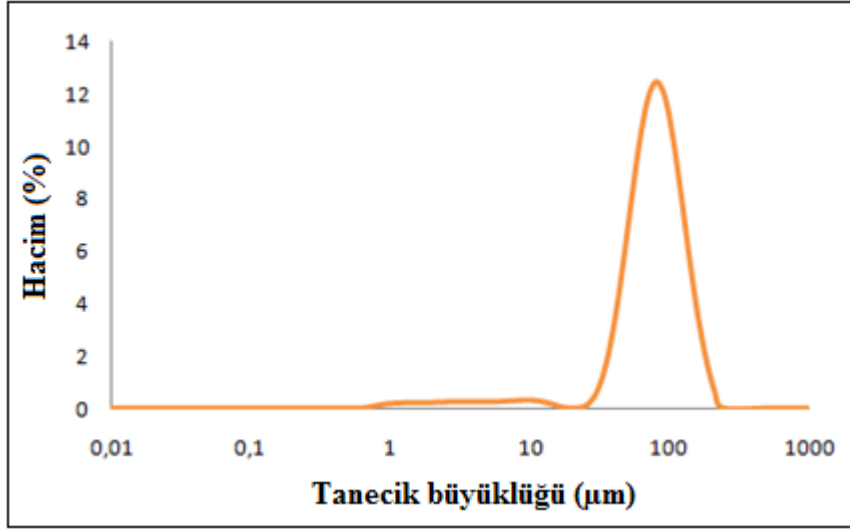
Toz halindeki biyoaktif cam numunelerinin tane büyüklüğü, yapı iskelesi üretimi için hazırlanan polimer çözeltisinin viskozitesini etkilemektedir. Tane büyüklüğü, trabeküler kemiğin sahip olduğu gözenek yapısına yakın bir gözeneklilik elde edebilmek için dikkat edilmesi gereken önemli bir faktördür [1]. Bu çalışmada, kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere yapı iskelesi üretiminde yararlanılan ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesi, öğütülüp uygun eleklerden geçirilerek (45 μm ve 106 μm) iki farklı tane boyutuna ayrılmıştır. Öğütülen tozlara uygulanan tane boyutu dağılım analizinin sonuçları Şekil 6.7 ve Şekil 6.8’de görülmektedir.



Şekil 6.7 : 45 μm 'lik elekten geçirilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım analizi.

45 μm 'lik elekten geçirilen cam tozlarının analizi sonucunda; toplam tane boyutunun %10'unun 5.3 μm 'nin altında, %50'sinin (ortalama) 25.7 μm 'nin altında, %90'ının ise 53.2 μm 'nin altında olduğu belirlenmiştir. 106 μm 'lik elekten geçirilen cam tozlarının analiz sonucu ise, toplam tane boyutunun %10'unun 44.6 μm 'nin altında,

%50'sinin (ortalama) 83.2 μm 'nin altında, %90'ının ise 149.3 μm 'nin altında olduğunu göstermiştir.



Şekil 6.8 : 106 μm 'lik elekten geçirilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım analizi.

Şekil 6.7 ve Şekil 6.8 incelendiğinde biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılımının, kullanıma uygun dar bir aralık sergilediği tespit edilmiştir. Analiz sonucunda, elek boyutlarından büyük bazı tanecik büyüklüklerinin tespit edilmesinin nedeni ise, ölçüm sırasında su ile temas eden cam tozlarının aglomerasyonudur.

6.6. Biyoaktif Yapı İskelesi Numunelerinin Yüzey Karakterizasyonları

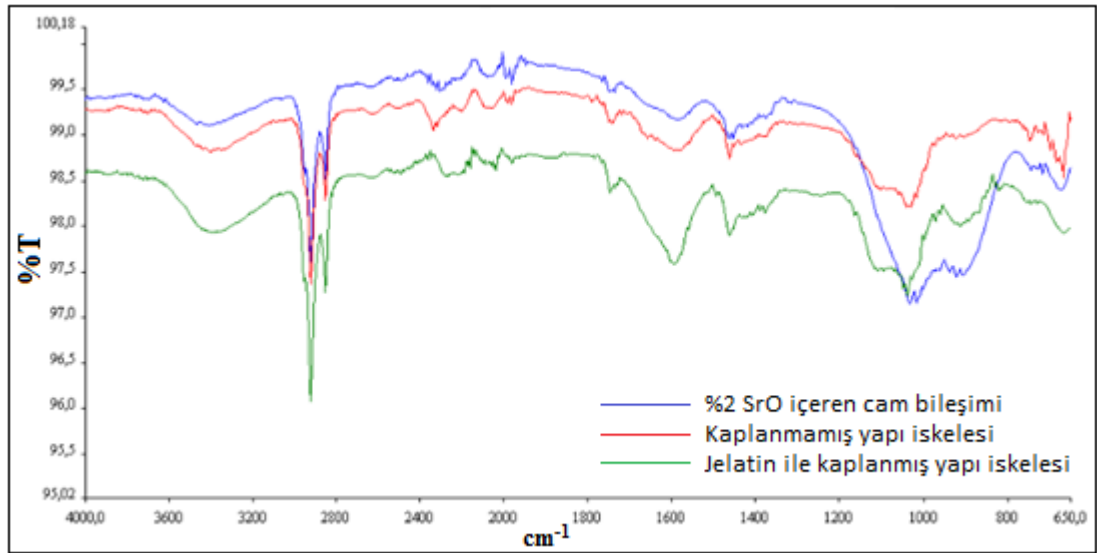
Üretilen biyoaktif yapı iskelesi numunelerinin yüzey karakterizasyonları, X-ışınları, FTIR ve elektron mikroskobu kullanılarak yapılmıştır.

6.6.1 Yapı iskelesi numunelerinin FTIR analizleri

Bu çalışmada, 650-4000 cm^{-1} aralığında kaydedilen absorbands değerleri incelenerek, numunelerin yapılarındaki fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. Şekil 6.9'da ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin, aynı numune kullanılarak üretilen jelatin ile kaplanmış ve kaplanmamış yapı iskelelerinin FTIR grafikleri görülmektedir.

Her üç numune için, 1022-1110 cm^{-1} dalga boyu aralığında görülen yoğun bantların Si-O-Si eğilme gerilimini ve yaklaşık 910 cm^{-1} civarında görülen bandın ise numunelerdeki Si-O-Si asimetric gerilimini gösterdiği saptanmıştır [11,34,36]. FTIR sonuçları da, numunelerde düzgün dört yüzlü SiO_2 yapısının oluştuğunu

göstermektedir. 3600-3000 cm^{-1} aralığında yer alan geniş bantların numunelerin nem kapmasıyla ilişkili olarak hidroksil gruplarına ait olduğu ve güçlü hidrojen bağından kaynaklı O-H gerilimini gösterdiği belirlenmiştir [11,12]. Elde edilen sonuçlar ve literatürde yer alan diğer çalışmaların sonuçları incelendiğinde [12,34,36], stronsiyum ilavesinin numunelerin kimyasal bağlarında herhangi belirgin bir değişim yaratmadığı ve camsı yapıyı bozmadığı tespit edilmiştir. Sadece jelatin ile kaplanmış yapı iskelesi numunesinde görülen 1590 cm^{-1} 'deki absorpsiyon pikinin ise, amin gruplarındaki N-H eğilme titreşimine ait olduğu tespit edilmiştir [11]. Bu sonuç, yapı iskelesinin jelatin ile kaplandığını ve jelatinin yüzeyde tutunduğunu göstermektedir.



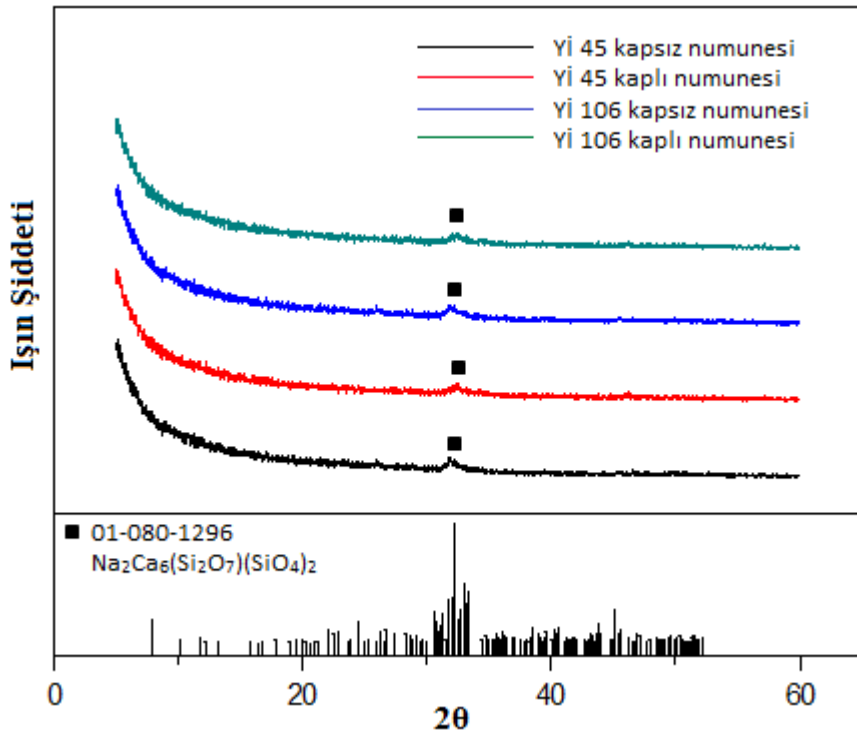
Şekil 6.9: Numunelerin FTIR grafikleri.

6.6.2 Yapı iskelesi numunelerinin XRD analizleri

X-ışınları difraksiyon analizleri, yapı iskelesi numunelerinde sinterleme işlemi sonucunda oluşan kristal fazları belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Grafiklerde oluşabilecek karışıklıkları önlemek amacıyla bazı kısaltmalar yapılmıştır. Yİ, yapı iskelesini; 45, 45 μm 'lik elekten geçirilen biyoaktif cam kullanılarak üretim yapıldığını; 106, 106 μm 'lik elekten geçirilen biyoaktif cam kullanılarak üretim yapıldığını; kaplı, jelatin ile kaplamanın gerçekleştirildiğini; kapsız ise jelatin ile kaplama işleminin yapılmadığını ifade etmektedir.

Şekil 6.10' da yapı iskelesi numunelerinin XRD grafikleri görülmektedir. Cam numunelerine uygulanan DTA sonucunda elde edilen kristalizasyon sıcaklıkları (1097-1112 K), sinterleme sıcaklığının (1223 K) altında olduğundan, yapı

iskelelerinde kristalin faz oluşumu beklenmektedir. Ancak, beklenilenin aksine sinterleme işlemi sonucunda yapı iskelelerinin genelde amorf bir yapıya sahip olduğu, küçük bir oranda kristal yapı içerdikleri belirlenmiştir. Görüldüğü gibi, numunelerde amorf yapı içerisinde, $2\theta=33^\circ$ 'de çok küçük bir kristal pik tespit edilmiştir. Bu pikin, $\text{Na}_2\text{Ca}_6(\text{Si}_2\text{O}_7)(\text{SiO}_4)_2$ kristalin fazına ait olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlardan sinterleme sıcaklığı ve süresinin, yapı içerisinde kristalin fazın gelişimine uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde [6,7,18,20], in vitro ve in vivo şartlarda fizyolojik sıvı içerisinde amorf yapının daha kolay çözünmesi nedeniyle, camların biyoaktiflik özelliklerinin kristalin yapıdaki seramiklere göre çok daha üstün olduğu görülmüştür. Ayrıca, yapı iskelelerinin jelatin ile kaplanmasının, amorf yapılarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı Şekil 6.10'dan görülmektedir.

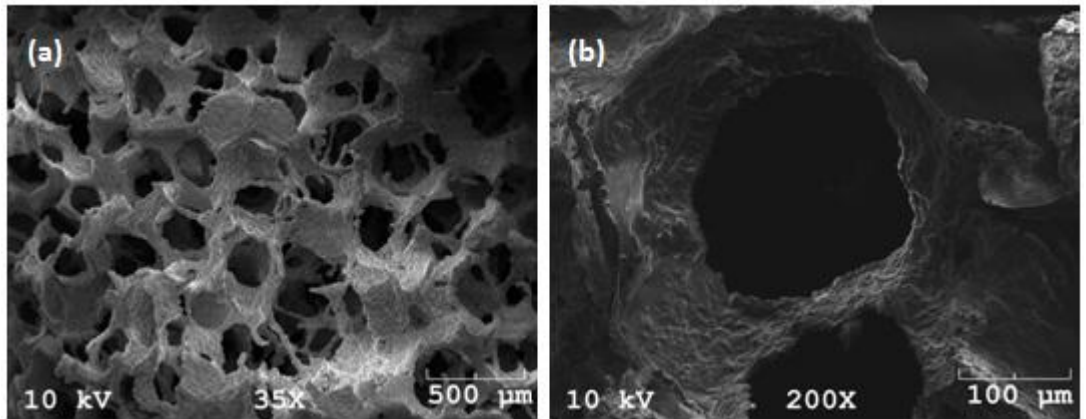


Şekil 6.10 : Yapı iskelesi numunelerinin XRD grafikleri.

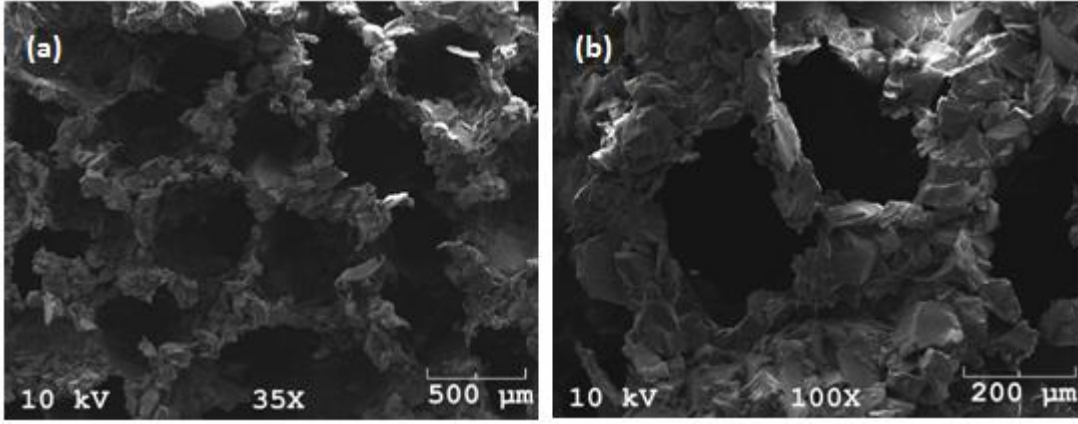
6.6.3 Yapı iskelesi numunelerinin SEM analizleri

Yapı iskelesi numunelerine ait SEM görüntüleri Şekil 6.11-6.14'te verilmiştir. Şekil 6.11'de görüldüğü gibi, polimer sünger kopyalama yöntemi ile $25.7 \mu\text{m}$ ortalama tane boyutuna sahip biyoaktif camdan üretilen yapı iskeleleri, kullanılan poliüretan süngerin yapısına benzer üç boyutlu, açık ve birbirine bağlı bir makroyapı

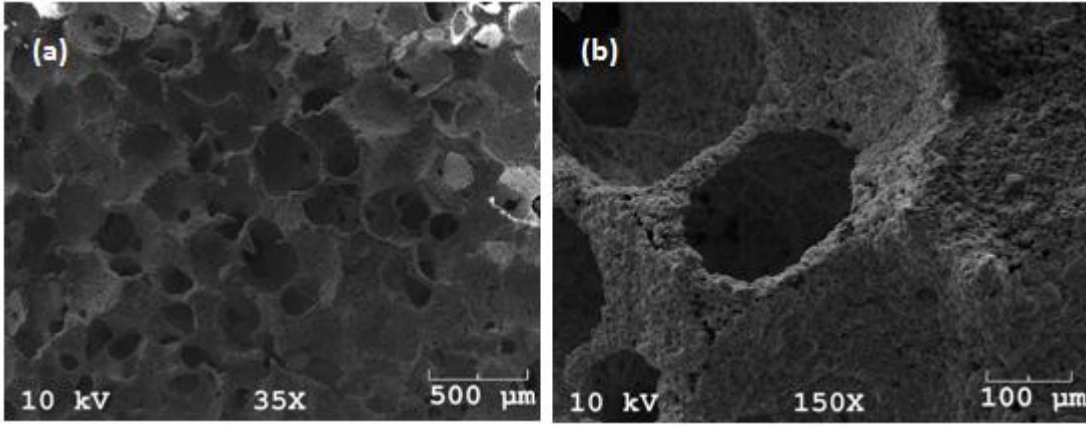
sergilemiştir. Yapı iskelesinde oluşan gözeneklerin büyüklüğü 250-450 μm arasında değişmektedir. Elde edilen bu gözenek çapı, üretilen yapı iskelesinin kemik oluşumunu destekleyici makrogözenek yapısını göstermektedir. Ayrıca, Şekil 6.11(b)'den de görüldüğü gibi, yapı iskelesinde gözenek cidarlarının tam oluştuğu ve kalınlıklarının da yapının çökmesini engelleyecek boyutta olduğu saptanmıştır. Şekil 6.12'de, jelatinin yapı iskelesini homojen bir şekilde kapladığı ve makrogözenekli yapıda herhangi bir gözenek tıkanmasına yol açmadığı görülmektedir. Ancak, büyük tane boyutlu cam numunesi kullanılarak üretilen yapı iskelelerinde, istenilen gözenek yapısı sağlanamamıştır (Şekil 6.13). Tanecik boyutunun büyümesi, polimer çözeltisinin süngere emdirme işleminin iyi yapılamadığını göstermiş; başka bir ifadeyle, homojen olmayan süreksiz bir ağ oluşumuna neden olarak, yapı iskelesinin gözenek yapısını olumsuz yönde etkilemiştir. Tane boyutu küçük cam tozları, polimer çözeltisi içerisinde homojen bir şekilde dağılarak, süngerin gözeneklerini düzgün bir şekilde kaplamaktadırlar. Bu sonuçlar, elverişli ve sürekli bir makrogözenek yapısı elde edebilmek için, tanecik boyutunun kritik olduğunu göstermiştir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, cam tozlarının ortalama tane boyutunun 50 μm civarında olmasının uygun bir gözenek yapısı oluşumu için ideal olduğu belirtilmektedir [15,17,58]. Şekil 6.14'te de gözenek yapısının Yİ 106 numunesinde tam oluşmadığı, ancak, jelatinin tüm numuneyi homojen bir şekilde kapladığı görülmektedir. Yİ 45 ve Yİ 106 numunelerinin, jelatin ile kaplama işleminin başarıyla gerçekleştiği ve gözenekli yapıda herhangi bir tıkanmaya neden olmadığı SEM çalışmaları sonucunda tespit edilmiştir.



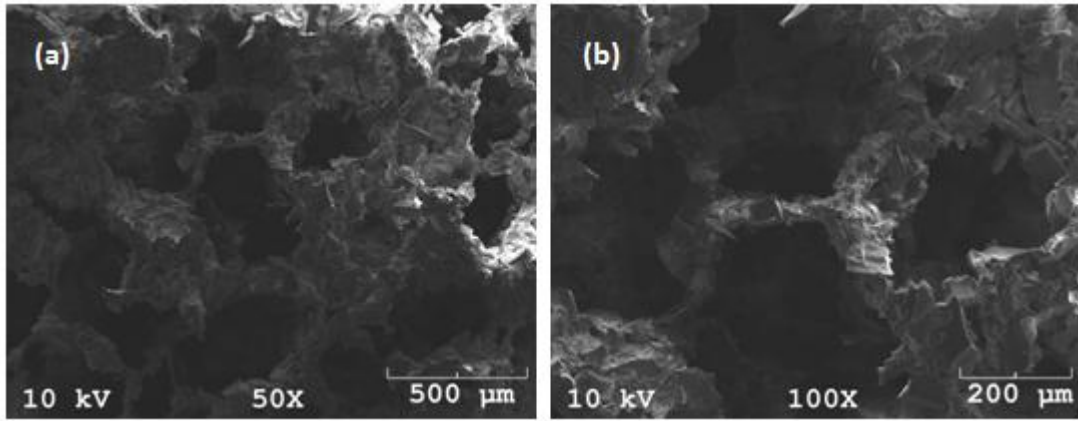
Şekil 6.11 : Ortalama tane boyutu 25.7 μm olan toz camdan üretilen kaplanmamış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x35, (b) x200.



Şekil 6.12 : Ortalama tane boyutu 25.7 µm olan toz camdan üretilen ve jelatin ile kaplanmış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x35, (b) x100.



Şekil 6.13 : Ortalama tane boyutu 83.2 µm olan toz camdan üretilen kaplanmamış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x35, (b) x150.



Şekil 6.14 : Ortalama tane boyutu 83.2 µm olan toz camdan üretilen ve jelatin ile kaplanmış yapı iskelesinin SEM görüntüleri: (a) x50, (b) x100.

6.7 Gözeneklilik Ölçümü

Gözeneklilik (%hacimce), bir katı içerisindeki boşluk yüzdesi olarak tanımlanmaktadır [60]. Bu çalışmada, (5.3) ve (5.4) eşitlikleri kullanılarak ortalama tane boyutu 83.2 µm olan toz camdan üretilen jelatin ile kaplı ve kapsız yapı iskelelerinin ortalama gözeneklilik değerleri sırasıyla %76.35 ve %88.60 olarak belirlenmiştir. Ortalama tane boyutu 25.7 µm olan toz camdan üretilen jelatin ile kaplı ve kapsız yapı iskelelerinin ortalama gözeneklilik değerleri ise sırasıyla %79.58 ve %92.37 olarak saptanmıştır. Görüldüğü gibi, insan trabeküler kemiğinin sahip olduğu makroyapıya (%55-70) benzeyen oldukça gözenekli yapı iskelesi üretimi başarılmıştır. Yapı iskelelerinin gözeneklilik değerlerinin, kemik dokusunun içeriye doğru büyüebilmesi için minimum gereksinim olarak görülen %50 gözeneklilik değerinden daha iyi olduğu tespit edilmiştir [7,16,24]. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, tane boyutu küçük olan cam numunesi kullanılarak üretilen yapı iskelelerinin gözeneklilik değerlerinin, büyük tane boyutlu numuneye kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuç, SEM çalışmalarında tespit edilen düzgün makrogözenekli yapıyı ve büyük gözenek çaplarını da desteklemektedir. Jelatin ile kaplama işlemi sonucunda, yapı iskelelerinin gözeneklilik değerlerinde beklenen bir düşme meydana gelmiştir. Ancak, elde edilen sonuç, minimum gereksinim kabul edilen %50 gözeneklilik değerinin çok üzerindedir. Bu sonuç, üretilen yapı iskelelerinin kemik doku yenilenmesi için uygun adaylar olduğunu göstermektedir.

6.8 Yapı İskelesi Numunelerinin Biyoaktivite Karakterizasyonları

Üretilen yapı iskelelerinin SBF içinde bekletilmelerinden sonra yüzeylerinde meydana gelen değişimler, XRD ve SEM kullanılarak incelenmiştir.

6.8.1 XRD analizleri

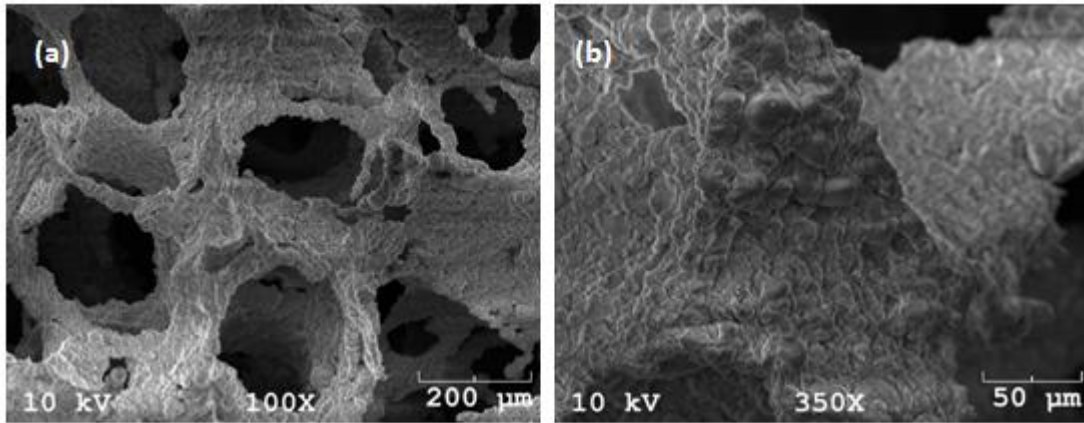
SBF içerisinde 1, 7, 14 ve 28 gün süreyle bekletilen yapı iskelelerinin XRD grafikleri Şekil A.6-A.9'da verilmiştir. Yapı iskelelerinin SBF sonrası XRD grafiklerinde de, biyoaktif camlarda görülene benzer şekilde, tüm numuneler için $2\theta=32^\circ$ 'de bulunan, ilk günden itibaren oluşmaya başlayarak SBF'de bekleme süresinin artmasını takiben belirginleşen kristalin hidroksiapatit tabakasına ait pikler bulunmaktadır. Ayrıca, jelatin ile kaplama işleminin biyoaktiviteye engel olmadığı, hatta jelatin ile kaplı yapı

iskelelerinde hidroksiapatit piklerinin daha kısa sürede oluştuğu saptanmıştır. Bu sonuç, jelatinin yüksek biyoaktiviteye sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Yapı iskelelerinin jelatin ile kaplanması, numunelerin biyoaktiflik özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir.

Bu çalışma sonucunda, tüm numunelerin yüzeyleri üzerinde hidroksiapatit tabakasının oluşması, numunelerin in vitro biyoaktif özelliğe sahip olduğunu göstermiştir. Biyoaktif cam üretiminde, bileşime stronsiyum ilave edilmesinin ya da yapı iskelesi üretiminde farklı tane boyutuna sahip (ortalama 25.7 μm ve 83.2 μm) biyoaktif cam kullanımının, numunelerin biyoaktivite kabiliyetini etkilemediği sonucuna varılmıştır.

6.8.2 SEM analizleri

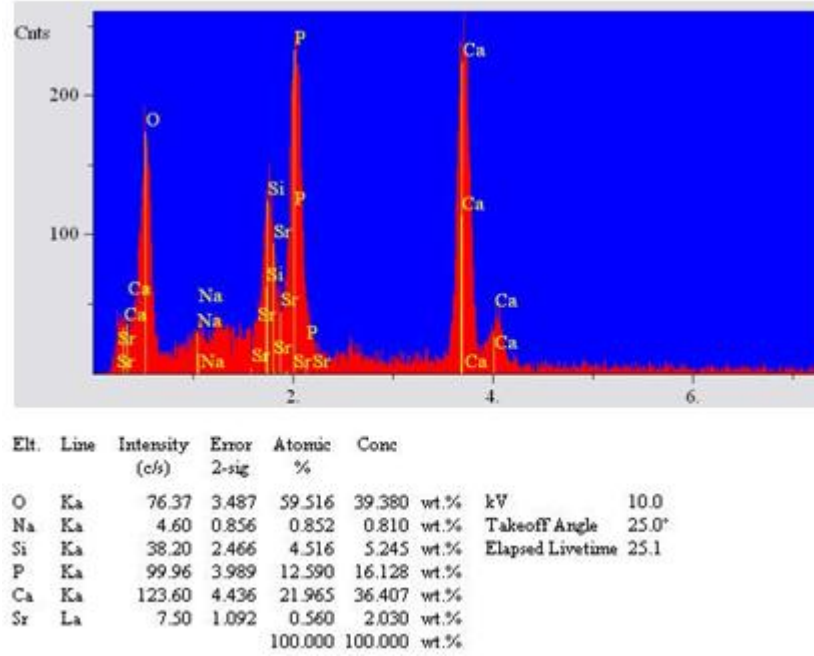
Yapay vücut sıvısında 28 gün bekletilen küçük taneli toz camdan üretilen ve jelatin ile kaplanmamış olan yapı iskelesi numunesine yapılan taramalı elektron mikroskobu analizleri sonucunda, numunenin yüzeyinde HA tabakasının oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 6.15 (a) ve (b)). Orijinal yapı iskelelerinin pürüzsüz yüzeylerine kıyasla, SBF’de bekletilen yapı iskelesinin yüzeyi üzerinde karnabahar benzeri [57] hidroksiapatit tabakası oluşumu açıkça görülmektedir. Tane boyutu küçük olan yapı iskelesinin yapısının daha hızlı çözünmesi nedeniyle, HA tabakasının daha hızlı oluştuğu saptanmıştır.



Şekil 6.15 : SBF’de 28 gün bekletilen, ortalama tane boyutu 25.7 μm olan toz camdan üretilen ve kaplanmamış yapı iskelesi numunesinin SEM görüntüleri: (a) x100, (b) x350.

Şekil 6.15’te yer alan SEM fotoğrafının görülen yüzeylerinde EDS ile yapılan nokta analiz ölçümlerinin sonucu Şekil 6.16’da görülmektedir. EDS sonucundan, yapı

iskelesinin yüzeyinde tespit edilen Ca/P oranının 2.26 olduğu hesaplanmıştır. Numunenin yüzeyinde saptanan Ca/P oranı, SEM fotoğraflarında tespit edilen HA tabakasının varlığını kanıtlamaktadır.

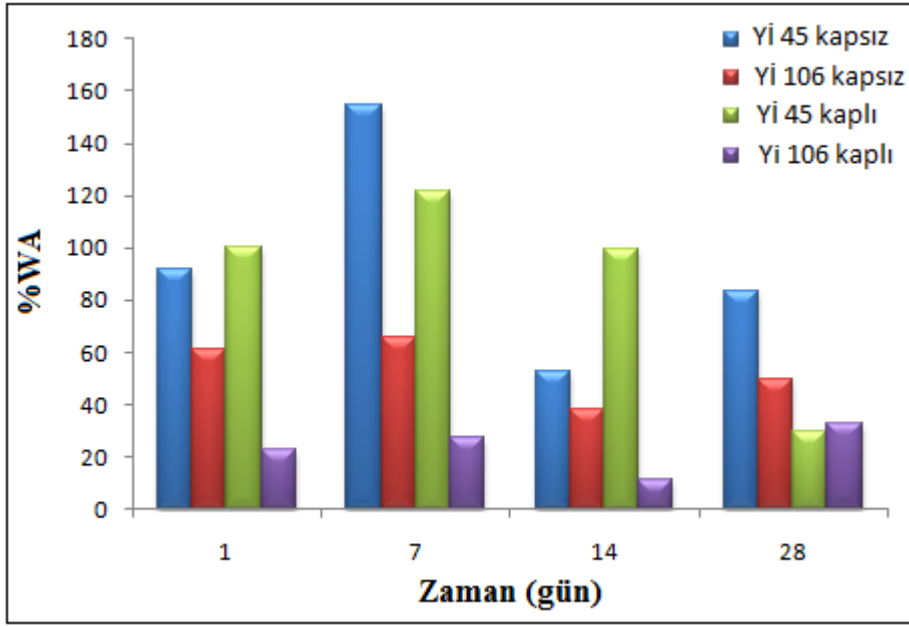


Şekil 6.16 : SBF’de 28 gün bekletilen, ortalama tane boyutu 25.7 µm olan toz camdan üretilen ve kaplanmamış yapı iskelesi numunesinin EDS grafiği.

6.9 İn vitro Biyobozunma Analizleri

Yapı iskelelerinin biyobozunmasının incelenmesi, yeni kemik dokusunun oluşması ile birlikte biyomalzemenin vücuttan atılma hızı arasındaki dengeyi anlayabilmek için çok önemlidir. Yapı iskelesinin biyobozunma özelliklerini inceleyebilmek amacıyla gerçekleştirilen su absorpsiyonu ve ağırlık kaybı çalışmaları, 1,7, 14 ve 28 günlük sürelerde SBF içerisinde gerçekleştirilmiştir. İn vitro biyobozunma çalışmalarının sonuçları Şekil 6.17 ve Şekil 6.18’de özetlenmiştir. Su absorpsiyon kabiliyeti, kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere tasarlanan yapı iskelelerinde, hücrelerin üç boyutlu yapı içerisine nüfuzunu kolaylaştırmaktadır. Daha yüksek oranda su absorpsiyonu sergileyen numuneler, daha geniş yüzey alanı/gözenek hacmi oranına sahiptirler [22]. Bu çalışmada yapılan su absorpsiyon analizlerinin sonucu (Şekil 6.17) incelendiğinde, büyük tane boyutuna sahip numuneye kıyasla, tane boyutu küçük olan biyoaktif cam numunesi kullanılarak üretilen yapı iskelelerinin su absorpsiyon kabiliyetinin, daha yüksek olduğu

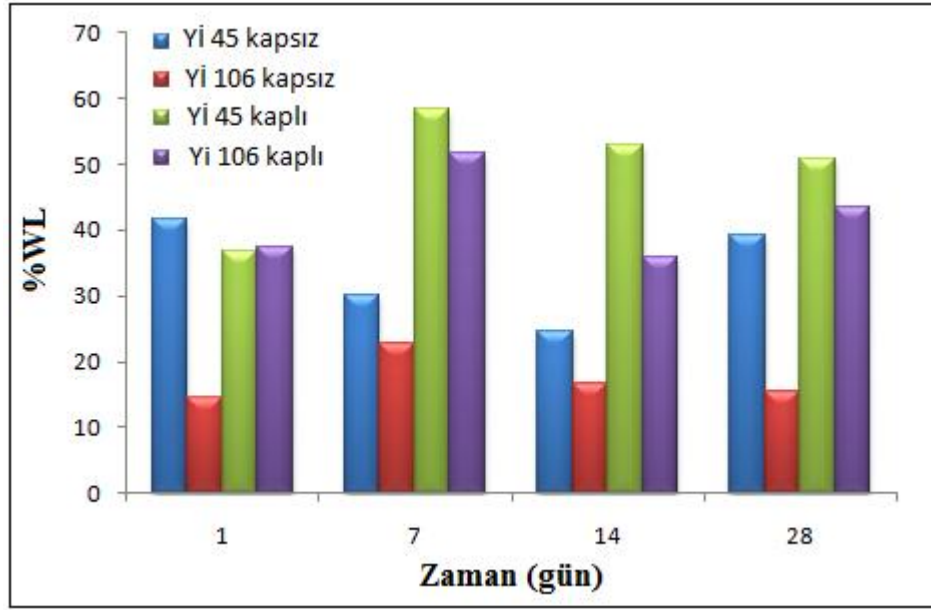
görülmüştür. Büyük tane boyutlu cam kullanılarak üretilen yapı iskelesinin gözenek hacminin küçük olması ile gözeneklerinin kapalı ve gözenekler arası bağlantılarının olmaması nedeniyle, suyun yapı iskelesinin içine ilerlemesi diğer numuneye kıyasla çok daha zordur. Bu nedenle, su absorpsiyon oranı daha düşüktür. Her bir numune için SBF içerisinde bekleme süresi boyunca, su absorpsiyon kabiliyetinin 7. günden itibaren azalması, kütle kaybına bağlı yüzey alanı ve gözenek hacmindeki düşüşle açıklanabilmektedir.



Şekil 6.17 : 28 gün boyunca SBF’de bekletilen yapı iskelelerinin %su absorpsiyonu değerleri.

Ağırlık kaybı çalışmalarının sonucu incelendiğinde (Şekil 6.18), tane boyutu büyük olan biyoaktif cam numunesi kullanılarak üretilen yapı iskelelerinin, diğer numuneye oranla daha düşük yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle, biyobozunma hızlarının daha yavaş olduğu görülmüştür. Jelatin ile kaplanmamış numunelerin ağırlık kaybı, SBF içerisinde amorf camsı yapının çözünmesi nedeniyle gerçekleşmektedir. Yapı iskelelerinde, sinterleme işlemi sırasında kısmi kristalizasyonun gerçekleşmesi, yapının daha hızlı çözünmesine neden olmuştur. Jelatin ile kaplama işlemi ise, numunelerin biyobozunma hızında belirgin bir artışa sebep olmuştur. Hidrofilik bir polimer olan jelatinin, su varlığında hızla hidrolize uğraması sebebiyle, yüksek derişimde jelatin içeren yapı iskelelerinin daha hızlı bozunduğunun literatürde bildirilmesi [22], elde edilen bu sonucu doğrulamıştır. Ancak, jelatinin varlığı biyobozunma hızını çok fazla artırmıştır. Yapı iskelesi vücuda yerleştirildikten sonra,

kemik dokusunun gelişebilmesi amacıyla en az 3 ay süreyle üç boyutlu yapısını korumak zorundadır. Ancak, ilk yedi gün sonunda bile jelatin ile kaplanan numuneler yaklaşık %60'lık bir ağırlık kaybına uğramaktadır. Bu değere, in vivo çalışmalarda üç ay sonunda ulaşılması istenmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada kullanılan jelatinin derişiminin çok yüksek olduğuna karar verilmiştir. Daha düşük derişimde hazırlanacak jelatin çözeltisi ile kaplanacak olan yapı iskelelerinin ağırlık kaybının daha düşük olacağı düşünülmektedir.



Şekil 6.18 : 28 gün boyunca SBF’de bekletilen yapı iskelelerinin %ağırlık kaybı değerleri.

Yapılan çalışmalar sonucunda, küçük tane boyutuna sahip biyoaktif camdan üretilen ve jelatin ile kaplanmamış olan yapı iskelesi numunesinin, sahip olduğu yüksek gözeneklilik ve biyoaktivite ile uygun biyobozunma hızı nedeniyle, kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere uygun potansiyel bir yapı iskelesi olduğu sonucuna varılmıştır.

7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

7.1 Sonuçlar

$\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SrO}$ sistemi temel alınarak üretilen biyoaktif cam numunelerinin kullanılmasıyla yapı iskelesi üretiminin gerçekleştirildiği bu çalışmada, aşağıda özetlenen sonuçlar elde edilmiştir:

- 1) Ergitme yöntemi ile üretilen ve beş farklı oranda (%0.1, %0.25, %0.5, %1 ve %2) stronsiyum oksit katkısı içeren bileşime sahip numunelerde, XRD analizi sonucunda amorf camsı yapıların oluştuğu tespit edilmiştir. Ancak, sol-jel yöntemi uygulanarak aynı bileşimlere sahip cam üretimi gerçekleştirilememiştir.
- 2) Üretilen biyoaktif cam numunelerine 20 K/dakika'lık ısıtma hızıyla uygulanan DTA sonucunda, numunelerin camsı geçiş sıcaklıklarının 831-838 K, kristallenme sıcaklıklarının ise 1097-1112 K aralığında değiştiği saptanmıştır. Kristallenme sıcaklığının, 1223 K olan sinterleme sıcaklığından düşük olması, yapı iskelelerinin XRD grafiklerinde $\text{Na}_2\text{Ca}_6(\text{Si}_2\text{O}_7)(\text{SiO}_4)_2$ kristalin fazına ait ufak bir pik görülmesine neden olmuştur.
- 3) Üretilen biyoaktif cam numunelerinin belirli sürelerde bekletildiği SBF çözeltilerine uygulanan ICP ve UV analizleri sonucunda, Si^{4+} , Na^+ , Sr^{2+} iyon derişimlerinin artması ve Ca^{2+} ile P^{5+} iyon derişimlerinin düşmesiyle birlikte kalsiyum fosfat tabakasının oluştuğu belirlenmiştir.
- 4) XRD çalışmaları sonucunda, yapay vücut sıvısında bekletilen bütün cam numunelerinin yüzeyleri üzerinde 14 gün sonunda hidroksiapatit tabakası oluştuğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, numunelerin in vitro biyoaktivite kabiliyetine sahip olduğunu göstermiştir. Ancak, ağırlıkça %2 SrO içeren camın XRD grafiğinde, birinci günün sonunda HA kristalin fazına ait bir pik görülmesi nedeniyle, bu numunenin en yüksek biyoaktiviteye sahip cam olduğu tespit edilmiştir.
- 5) Biyoaktif cam numunesi ve yapı iskelelerine uygulanan FTIR analizleri sonucunda, camsı yapının temel titreşim bantları olan Si-O-Si bağlarına ait pikler ve

jelatin ile kaplamanın gerçekleştiğini gösteren N-H amin grubuna ait pikler tespit edilmiştir.

6) Ortalama 25.7 μm tane boyutuna sahip biyoaktif cam numunesinden üretilen yapı iskelesinin, gözenekliliğinin ve gözenek yapısının diğer numuneye (ortalama 83.2 μm tane boyutuna sahip numune ile üretilen) oranla daha iyi olduğu görülmüştür. Küçük tane boyutuna sahip biyoaktif cam numunesi ile üretilen yapı iskelelerinin (%92.37 gözeneklilik), diğer numune (ortalama 83.2 μm tane boyutuna sahip numune ile üretilen) ile hazırlananlara (%88.60 gözeneklilik) oranla daha geniş bir yüzey alanına sahip olduğu ve jelatin ile kaplama işleminin gözeneklilik değerlerinde düşmeye neden olduğu tespit edilmiştir.

7) XRD ve SEM ile gerçekleştirilen analizler sonucunda, yapı iskelesi numunelerinin yapay vct sıvısında bekletilmeleri ile yüzeylerinin üzerinde hidroksiapatit tabakası olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, yapı iskelelerinin jelatin ile kaplanmasının, numunelerin biyoaktiflik özelliklerini olumlu yönde etkilediği saptanmıştır. XRD, SEM ve EDS sonuçlarının birbiriyle uyumlu olması nedeniyle, üretilen numunelerin biyoaktiflik özelliğine sahip oldukları sonucuna varılmıştır.

8) XRD analizleri sonucunda, yapı iskelelerine uygulanan sinterleme işleminin ve jelatin ile kaplamanın, numunelerin amorf yapılarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Bu durumun, yapı iskelelerinin biyoaktiflik özelliklerini olumlu yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.

9) Yapı iskeleleri ile gerçekleştirilen biyobozunma çalışmalarında, küçük tane boyutuna sahip biyoaktif camdan üretilen yapı iskelelerinin su absorpsiyon kabiliyetinin ve biyobozunma hızının diğer numuneye (ortalama 83.2 μm tane boyutuna sahip biyoaktif cam kullanılarak üretilen) kıyasla daha yüksek olduğu ve jelatin ile kaplamanın bozunma hızını artırdığı belirlenmiştir.

10) Bu çalışmada, küçük tane boyutuna sahip biyoaktif camdan üretilen ve jelatin ile kaplanmamış olan yapı iskelesi numunesinin, sahip olduğu yüksek gözeneklilik ve biyoaktivite ile uygun biyobozunma hızı nedeniyle, kemik doku mühendisliğinde kullanılmak üzere potansiyel bir yapı iskelesi olduğu sonucuna varılmıştır.

7.2 Öneriler

- 1) Biyoaktif cam bileşimine, stronsiyum dışında, antibakteriyel özellik kazandırabilecek (Ag_2O gibi) farklı bileşenlerin ilave edilmesiyle, çok fonksiyonlu biyomalzemelerin üretiminin gerçekleştirilmesi araştırılabilir.
- 2) Üretilen biyoaktif cam ve yapı iskelelerinin hücre uyumluluğu çalışmaları gerçekleştirilebilir.
- 3) Yapay vücut sıvısında daha uzun süreli biyoaktivite ve biyobozunma analizleri gerçekleştirilerek, biyoaktif camların ve yapı iskelelerinin in vitro ortamdaki davranımlarının incelenmesi faydalı olacaktır.
- 4) Kaplama işleminde kullanılan jelatin derişimi değiştirilerek, optimum biyobozunma hızı tespit edilmelidir. Ayrıca, yapı iskelelerinin farklı polimerler ile kaplama çalışmaları gerçekleştirilerek, elde edilen malzemelerin fiziksel, mekanik ve biyoaktivite özellikleri incelenmelidir.
- 5) 3D, gözenekli ve birbirine bağlı gözenek yapısına sahip yapı iskelelerinin mekanik özelliklerinin de incelenmesi sonucunda kemik doku mühendisliği için uygun olup olmadıkları değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] Vitale-Brovarone, C., Verne, E., Robiglio, L., Appendino, P., Bassi, F., Martinasso, G., Muzio, G. and Canuto, R., 2007: Development of glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering: Characterisation, proliferation of human osteoblasts and nodule formation, *Acta Biomaterialia*, **3**, 199-208.
- [2] Rodrigues, C.V.M., Serricella, P., Linhares, A.B.R., Guerdes, R.M., Borojevic, R., Rossi, M.A., Duarte, M.E.L. and Farina, M., 2003: Characterization of a bovine collagen–hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering, *Biomaterials*, **24**, 4987-4997. ([1] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [3] Timuçin, M., Öztürk, A., Korkusuz, F., Korkusuz, P., Durucan, C., Koç, N., Park, J., Vakıfahmetoğlu, Ç. ve Tan, C., 2008. Apatit-wollastonit biyoaktif seramiklerin üretimi ve karakterizasyonu, TÜBİTAK Mühendislik Araştırma Destek Grubu, **Proje No: 104M400**.
- [4] Martina, M., Subramanyam, G., Weaver, J.C., Hutmacher, D.W., Morse, D.E. and Valiyaveetil, S., 2005: Developing macroporous bicontinuous materials as scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*, **26**, 5609-5616. ([1] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [5] Zhu, Y. and Kaskel, S., 2009: Comparison of the in vitro bioactivity and drug release property of mesoporous bioactive glasses (MBGs) and bioactive glasses (BGs) scaffolds, *Microporous and Mesoporous Materials*, **118**, 176-182.
- [6] Hench, L.L. and Polak, J.M., 2002: Third-generation biomedical materials, *Science*, **295**, 1014-1017. ([53] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [7] Jones, J.R. and Hench, L.L., 2003: Regeneration of trabecular bone using porous ceramics, *Current Opinion Solid State and Materials Science*, **7**, 301-307.
- [8] Stevens, M.M. and George, J.H., 2005: Exploring and engineering the cell surface interface, *Science*, **310**, 1135-1138. ([23] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [9] Zhu, Y., Wu, C., Ramaswamy, Y., Kockrick, E., Simon, P., Kaskel, S. and Zreiqat, H., 2008: Preparation, characterization and in vitro bioactivity of mesoporous bioactive glasses (MBGs) scaffolds for bone tissue engineering, *Microporous and Mesoporous Materials*, **112**, 494-503.

- [10] **Pan, H.B., Zhao, X.L., Zhang, X., Zhang, K.B., Li, L.C., Li, Z.Y., Lam, W.M., Lu, W.W., Wang, D.P., Huang, W.H., Lin, K.L. and Chang, J.**, 2010: Strontium borate glass: potential biomaterial for bone regeneration, *Journal of the Royal Society Interface*, **7**, 1025-1031.
- [11] **Mansur, H.S. and Costa, H.S.**, 2008: Nanostructured poly(vinyl alcohol)/bioactive glass and poly(vinyl alcohol)/chitosan/bioactive glass hybrid scaffolds for biomedical applications, *Chemical Engineering Journal*, **137**, 72-83.
- [12] **Hesaraki, S., Alizadeh, M., Nazarian, H. and Sharifi, D.**, 2010: Physico-chemical and in vitro biological evaluation of strontium/calcium silicophosphate glass, *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, **21**, 695-705.
- [13] **Guida, A., Towler, M.R., Wall, J.G., Hill, R.G. and Eramo, S.**, 2003: Preliminary work on the antibacterial effect of strontium in glass ionomer cements, *Journal of Material Science Letters*, **22**, 1401-1403. ([33] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [14] **Gentleman, E., Fredholm, Y.C., Jell, G., Lotfibakhshaiesh, N., O'Donnell, M.D., Hill, R.G. and Stevens, M.M.**, 2010: The effects of strontium-substituted bioactive glasses on osteoblasts and osteoclasts in vitro, *Biomaterials*, **31**, 3949-3956.
- [15] **Rezwan, K., Chen, Q.Z., Blaker, J.J. and Boccaccini, A.R.**, 2006: Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*, **27**, 3413-3431.
- [16] **Fu, Q., Rahaman, M.N., Bal, B.S., Brown, R.F. and Day, D.E.**, 2008: Mechanical and in vitro performance of 13-93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique, *Acta Biomaterialia*, **4**, 1854-1864.
- [17] **Chen, Q., Roether, J.A. and Boccaccini, A.R.**, 2008: *Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials*, Eds., Ashammakhi, N., Reis, R. and Chiellini, F., **Vol.4**, Chapter 6, 1-21.
- [18] **Hench, L.L.**, 2009: Genetic design of bioactive glass, *Journal of the European Ceramic Society*, **29**, 1257-1265.
- [19] **Lao, J., Jallot, E. and Nedelec, J.**, 2008: Strontium-delivering glasses with enhanced bioactivity: A new biomaterial for antiosteoporotic applications?, *Chemistry of Materials*, **20**, 4969-4973.
- [20] **Hench, L.L.**, 2006: The story of Bioglass[®], *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, **17**, 967-978.
- [21] **Hench, L.L. and Jones, J.R.**, 2005. *Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- [22] **Peter, M., Binulal, N.S., Nair, S.V., Selvamurugan, N., Tamura, H. and Jayakumar, R.**, 2010: Novel biodegradable chitosan-gelatin/nano-bioactive glass ceramic composite scaffolds for alveolar bone tissue engineering, *Chemical Engineering Journal*, **158**, 353-361.

- [23] **Jones, J.R.**, 2009: New trends in bioactive scaffolds: The importance of nanostructure, *Journal of the European Ceramic Society*, **29**, 1275-1281.
- [24] **Fu, H., Fu, Q., Zhou, N., Huang, W., Rahaman, M.N., Wang, D. and Liu, X.**, 2009: In vitro evaluation of borate-based bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication method, *Materials Science and Engineering*, MSC-02663.
- [25] **Nandi, S.K., Kundu, B., Datta, S., De, D.K. and Basu, D.**, 2009: The repair of segmental bone defects with porous bioglass: An experimental study in goat, *Research in Veterinary Science*, **86**, 162-173.
- [26] **Hench, L.L.**, 1998: Bioceramics, *Journal of the American Ceramic Society*, **81**, 1705-1728. ([15] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [27] **Hench, L.L. and Paschall, H.A.**, 1974: Histochemical responses at a biomaterial's interface, *Journal of Biomedical Materials Research*, **8**, 49-64. ([25] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [28] **Murphy, S., Boyd, D., Moane, S. and Bennett, M.**, 2009: The effect of composition on ion release from Ca-Sr-Na-Zn-Si glass bone grafts, *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, **20**, 2207-2214.
- [29] **Kükürtçü, B.**, 2008. Biyoaktif cam ve cam-seramik malzemelerin üretimi ve yapay vücut sıvısı içerisindeki davranımlarının incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [30] **Hench, L.L. and Wilson, J.**, 1993. *An Introduction to Bioceramics*, Scientific Publishing Co Ltd, Singapore. ([29] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [31] **Neuman, W., Neuman, M.**, 1958. *The Chemical Dynamics of Bone Mineral*, University of Chicago Press, Chicago. ([26] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [32] **Saravanapavan, P. and Hench, L.L.**, 2003: Mesoporous calcium silicate glasses. I. Synthesis, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **318**, 1-13. ([7] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [33] **Kim, Y., Towler, M.R., Wren, A. and Ohtsuki, C.**, 2009: Fabrication of spherical CaO-SrO-ZnO-SiO₂ particles by sol-gel processing, *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, **20**, 2267-2273.
- [34] **Zhang, W., Shen, Y., Pan, H., Lin, K., Liu, X., Darvell, B.W., Lu, W.W., Chang, J., Dneg, L., Wang, D. and Huang, W.**, 2011: Effects of strontium in modified biomaterials, *Acta biomaterialia*, **7**, 800-808.
- [35] **Cabrera, W.E., Schrooten, I., De Broe, M.E. and D'Haese, P.C.**, 1999: Strontium and bone, *Journal of Bone and Mineral Research*, **14**, 661-668. ([36] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [36] **Zhang, M., Zhai, W., Lin, K., Pan, H., Lu, W. and Chang, J.**, 2010: Synthesis, in vitro hydroxyapatite forming ability, and cytocompatibility of strontium silicate powders, *Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials*, **93B**, 252-257.

- [37] **O'Donnell, M.D. and Hill, R.G.**, 2010: Influence of strontium and the importance of glass chemistry and structure when designing bioactive glasses for bone regeneration, *Acta Biomaterialia*, **6**, 2382-2385.
- [38] **Gorustovich, A.A., Steimetz, T., Cabrini, R.L. and Lopez, J.M.P.**, 2009: Osteoconductivity of strontium-doped bioactive glass particles: A histomorphometric study in rats, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 232-237.
- [39] **Wong, C.T., Lu, W.W., Chan, W.K., Cheung, K.M.C., Luk, K.D.K., Lu, D.S., Rabie, A.B.M., Deng, L.F. and Leong, J.C.Y.**, 2004: In vivo cancellous bone remodeling on a Strontium-containing hydroxyapatite (Sr-HA) bioactive cement, *Journal of Biomedical Materials Research*, **68A**, 513-521. ([38] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [40] **Li, Z.Y., Lam, W.M., Yang, C., Xu, B., Ni, G.X., Abbah, S.A., Cheung, K.M.C., Luk, K.D.K. and Lu, W.W.**, 2007: Chemical composition, crystal size and lattice structural changes after incorporation of strontium into biomimetic apatite, *Biomaterials*, **28**, 1452-1460. ([38] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [41] **Lakhkar, N.J., Abou Neel, E.A., Salih, V. and Knowles, J.C.**, 2009: Strontium oxide doped quaternary glasses: effect on structure, degradation and cytocompatibility, *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, **20**, 1339-1346.
- [42] **Towler, M.R., Boyd, D., Freeman, C., Brook, I.M. and Farthing, P.**, 2009: Comparison of in vitro and in vivo bioactivity of SrO-CaO-ZnO-SiO₂ glass grafts, *Journal of Biomaterials Applications*, **23**, 561-572. ([41] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [43] **Cheung, K.M.C., Lu, W.W., Luk, K.D.K., Wong, C.T., Chan, D., Shen, J.X., Qiu, G.X., Zheng, Z.M., Li, C.H., Liu, S.L., Chan, W.K. and Leong, J.C.Y.**, 2005: Vertebroplasty by use of a strontium-containing bioactive bone cement, *Spine*, **30**, 84-91. ([34] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [44] **Ni, G.X., Lu, W.W., Chiu, K.Y., Li, Z.Y., Fong, D.Y.T. and Luk, K.D.K.**, 2006: Strontium-containing hydroxyapatite (Sr-HA) bioactive cement for primary hip replacement: An in vivo study, *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, **77B**, 409-415. ([34] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [45] <<http://dspace.mit.edu/bitstream/handle/1721.1/34996/3-051JSpring2004/OCwWeb/Materials-Science-and-Engineering/3-051JSpring2004/CourseHome/index.htm>>, 15/03/2011.
- [46] **Kim, H.W., Knowles, J.C. and Kim, H.E.**, 2005: Hydroxyapatite porous scaffold engineered with biological polymer hybrid coating for antibiotic Vancomycin release, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **16**, 189-195. ([47] numaralı kaynaktan alınmıştır).

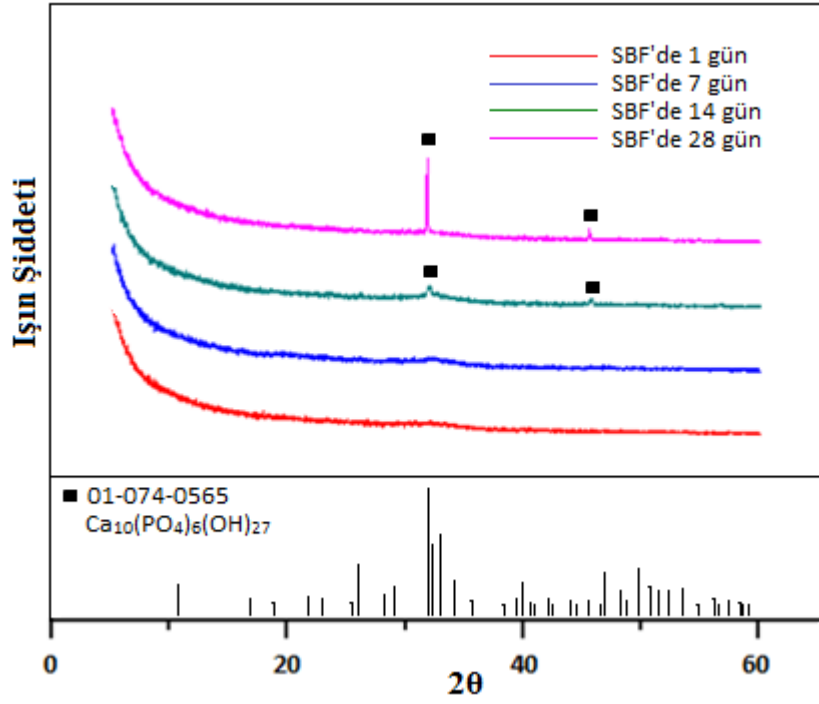
- [47] Francis, L., Meng, D., Knowles, J.C., Roy, I. and Boccaccini, A.R., 2010: Multi-functional P(3HB) microsphere/45S5 Bioglass®-based composite scaffolds for bone tissue engineering, *Acta Biomaterialia*, **6**, 2773-2786.
- [48] Karageorgiou, V. and Kaplan, D., 2005: Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis, *Biomaterials*, **26**, 5474-5491.
- [49] Nair, L.S. and Laurencin, C.T., 2007: Biodegradable polymers as biomaterials, *Progress in Polymer Science*, **32**, 762-798.
- [50] Chandra, R. and Rustgi, R., 1998: Biodegradable polymers, *Progress in Polymer Science*, **23**, 1273-1335.
- [51] Keskin, D., Tezcaner, A., Bilgili, H. and Geçit, M.R., 2007. Değişik kompozisyonlarda biyocam/kalsiyum sülfat temelli kompozit malzemelerin geliştirilmesi, mekanik ve biyoetkinlik özelliklerinin incelenmesi, *TÜBİTAK Mühendislik Araştırma Destek Grubu*, Proje No: 104M172.
- [52] Ray, S.S. and Bousmina, M., 2005: Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world, *Progress in Materials Science*, **50**, 962-1079.
- [53] Boccaccini, A.R. and Maquet, V., 2003: Bioresorbable and bioactive polymer/Bioglass® composites with tailored pore structure for tissue engineering applications, *Composites Science and Technology*, **63**, 2417-2429.
- [54] Wu, C.J., Gaharwar, A.K., Schexnailder, P.J. and Schmidt, G., 2010: Development of biomedical polymer-silicate nanocomposites: A materials science perspective, *Materials*, **3**, 2986-3005.
- [55] Shastri V.P., Zelikin, A., Hildgen, P., 2002. *Synthesis of synthetic polymers: poly(anhydrides)*, In: *Methods of tissue engineering*, Eds., Atala, A. and Lanza, R.P., Academic Press, California, 609-617. ([15] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [56] Gümüşderelioğlu, M., Maviş, B., Karakeçili, A., Kahraman, A.S., Çakmak, S., Tıǧlı, S., Demirtaş, T.T. ve Aday, S., 2007: Doku mühendisliğinde nanoteknoloji, *Bilim ve Teknik: Yeni Ufuklara*, Ekim Sayısı, 1-15.
- [57] Hong, Z., Reis, R.L. and Mano, J.F., 2008: Preparation and in vitro characterization of scaffolds of poly(L-lactic acid) containing bioactive glass ceramic nanoparticles, *Acta Biomaterialia*, **4**, 1297-1306.
- [58] Maquet, V., Boccaccini, A.R., Pravata, L., Notingher, I. and Jerome, R., 2004: Polymer poly(α -hydroxyacid)/Bioglass® composite scaffolds for bone tissue engineering. I: preparation and in vitro characterisation, *Biomaterials*, **25**, 4185-4194.
- [59] Misra, S.K., Mohn, D., Brunner, T.J., Stark, W.J., Philip, S.E., Roy, I., Salih, V., Knowles, J.C. and Boccaccini, A.R., 2008: Comparison of nanoscale and microscale bioactive glass on the properties of P(3HB)/Bioglass® composites, *Biomaterials*, **29**, 1750-1761.

- [60] **Renghini, C., Komlev, V., Fiori, F., Verne, E., Baino, F. and Vitale-Brovarone, C.**, 2009: Micro-CT studies on 3-D bioactive glass-ceramic scaffolds for bone regeneration, *Acta Biomaterialia*, **5**, 1328-1337.
- [61] **Chen, Q.Z. and Boccaccini, A.R.**, 2006: Poly(D,L-lactic acid) coated 45S5 Bioglass[®]-based scaffolds: Processing and characterization, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **77A**, 445-457. ([17] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [62] **Maquet, V. and Jerome, R.**, 1997: Design of macroporous biodegradable polymer scaffolds for cell transplantation, *Materials Science Forum*, **250**, 15-42. ([53] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [63] **Roether, J.A., Boccaccini, A.R., Hench, L.L., Maquet, V., Gautier, S. and Jerome, R.**, 2002: Development and in vitro characterisation of novel bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams and Bioglass[®] for tissue engineering applications, *Biomaterials*, **23**, 3871-3878. ([17] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [64] **Misra S.K., Ansari, T.I., Valappil, S.P., Mohn, D., Philip, S.E., Stark, W.J., Roy, I., Knowles, J.C., Salih V. and Boccaccini A.R.**, 2010: Poly(3-hydroxybutyrate) multifunctional composite scaffolds for tissue engineering applications, *Biomaterials*, **31**, 2806-.2815.
- [65] **Jones, J.R., Tsigkou, O., Coates, E.E., Stevens, M.M., Polak, J.M. and Hench, L.L.**, 2007: Extracellular matrix formation and mineralization on a phosphate-free porous bioactive glass scaffold using primary human osteoblast (HOB) cells, *Biomaterials*, **28**, 1653-1663. ([18] numaralı kaynaktan alınmıştır).
- [66] **How to prepare the simulated body fluid (SBF) and its related solutions**, <<http://mswebs.naist.jp/LABs/tanihara/ohtsuki/SBF/index.html>>, 22/03/2011.
- [67] **Hench, L.L. and Clark, D.E.**, 1978: Physical chemistry of glass surfaces, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **28**, 83-105. ([29] numaralı kaynaktan alınmıştır).

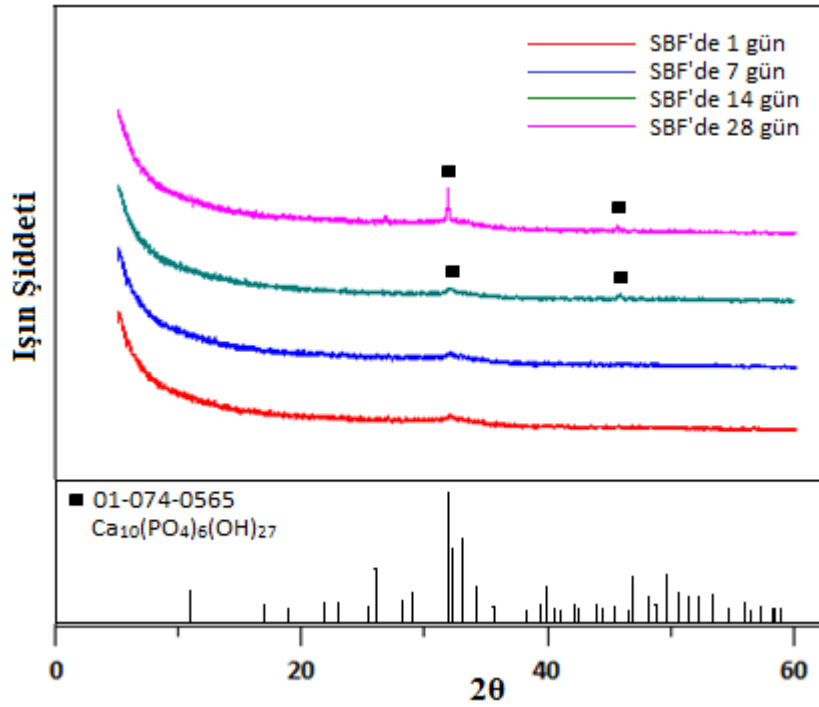
EKLER

EK A : Üretilen biyoaktif camların ve yapı iskelelerinin çeşitli günler boyunca SBF çözeltisinde beklemeleri sonucu elde edilen XRD difraktoqramları.

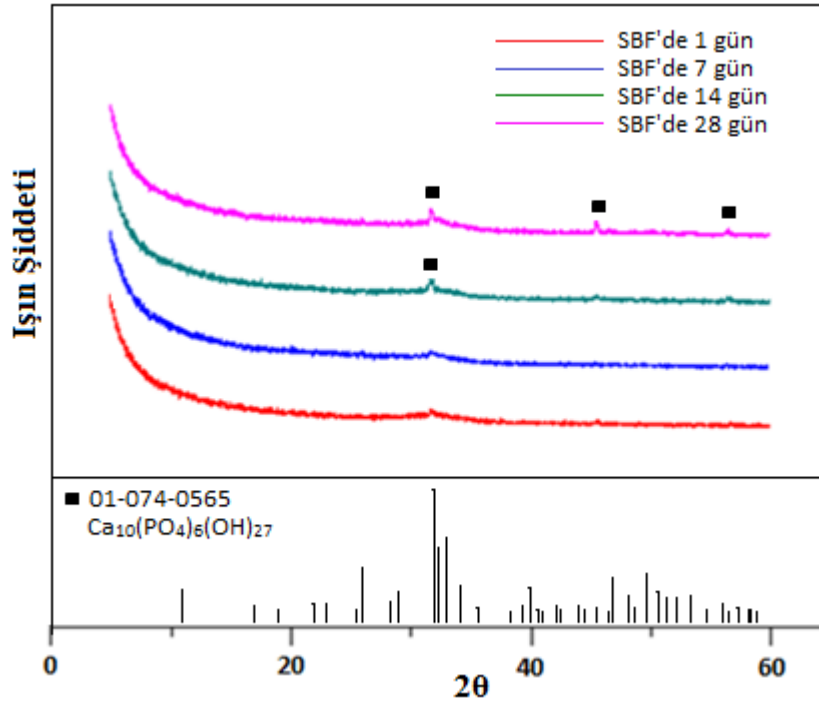
EK A



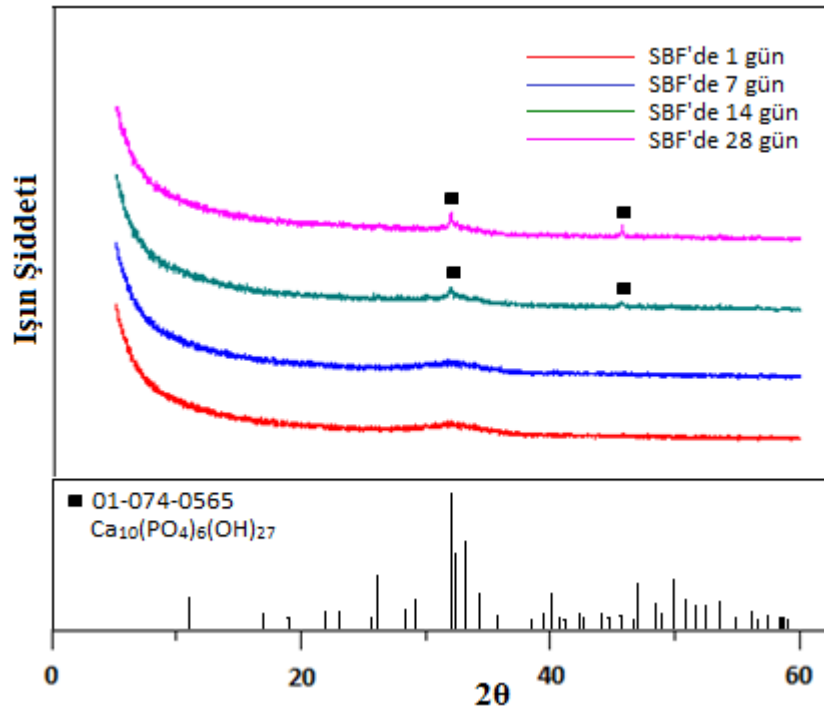
Şekil A.1 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %0.1 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.



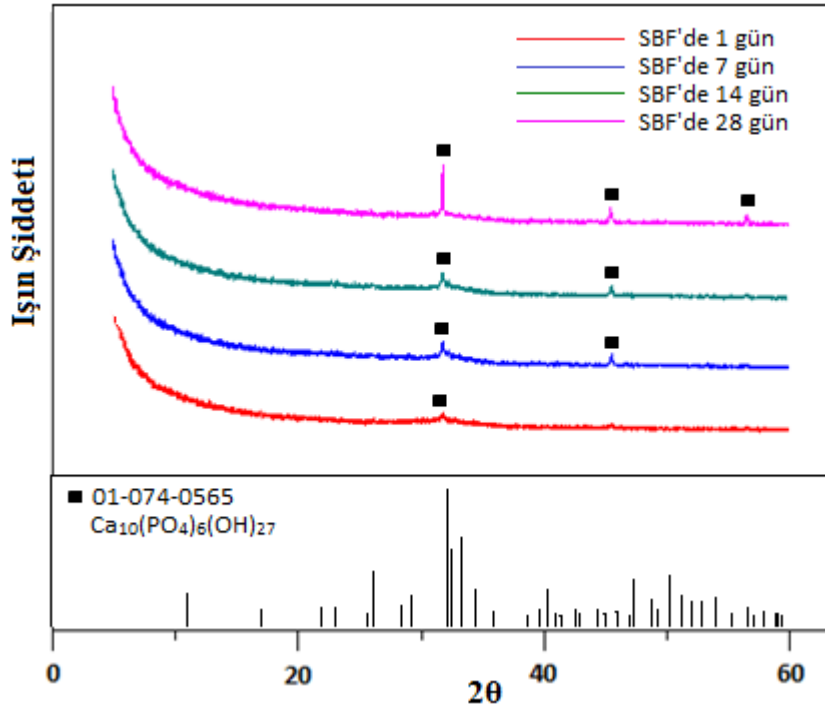
Şekil A.2 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %0.25 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.



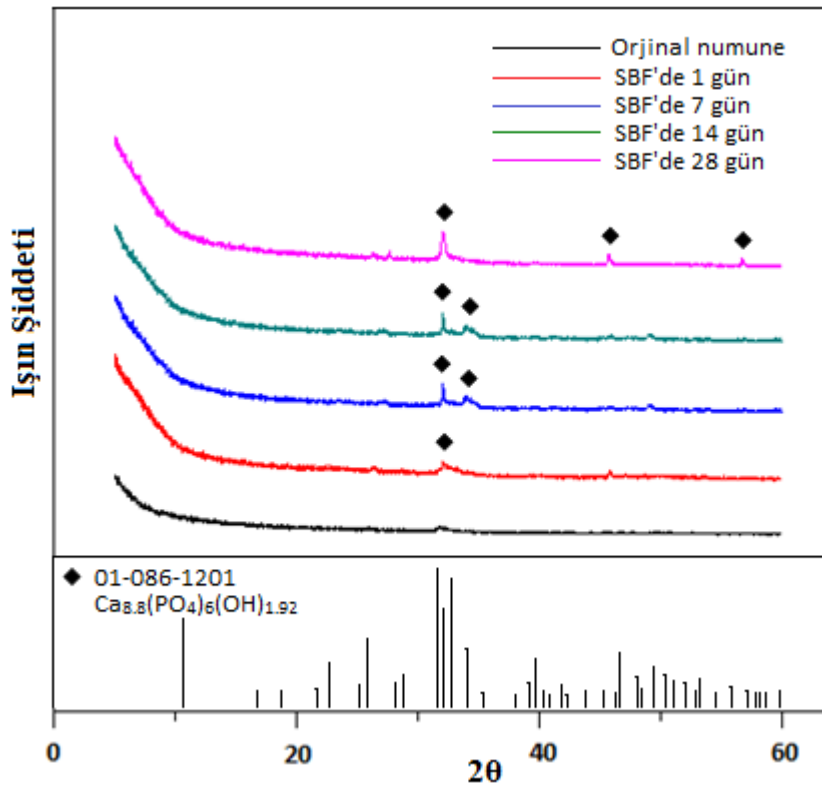
Şekil A.3 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %0.5 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.



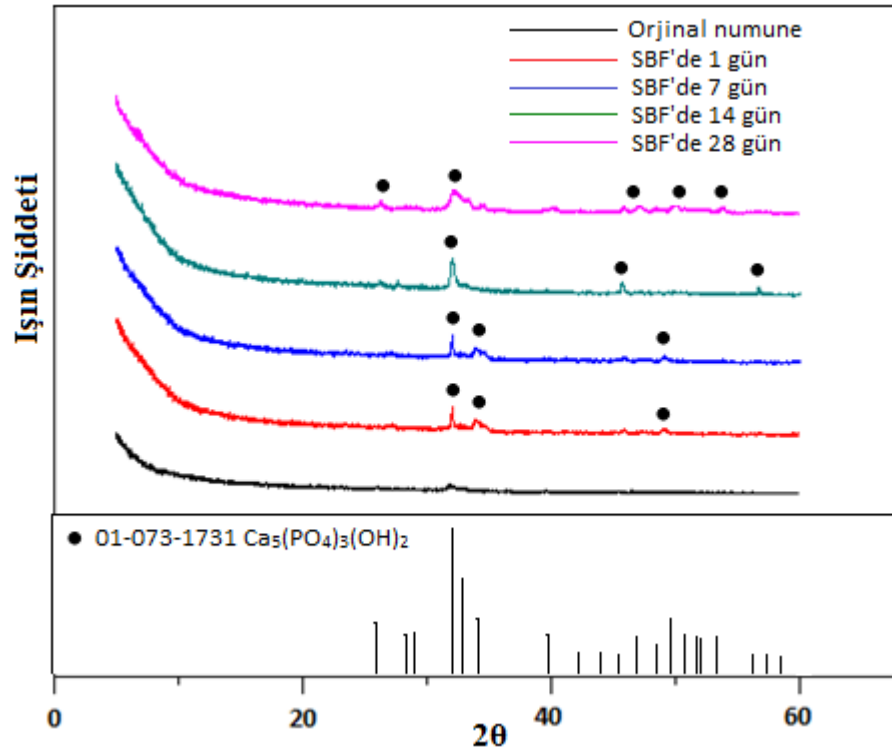
Şekil A.4 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %1 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.



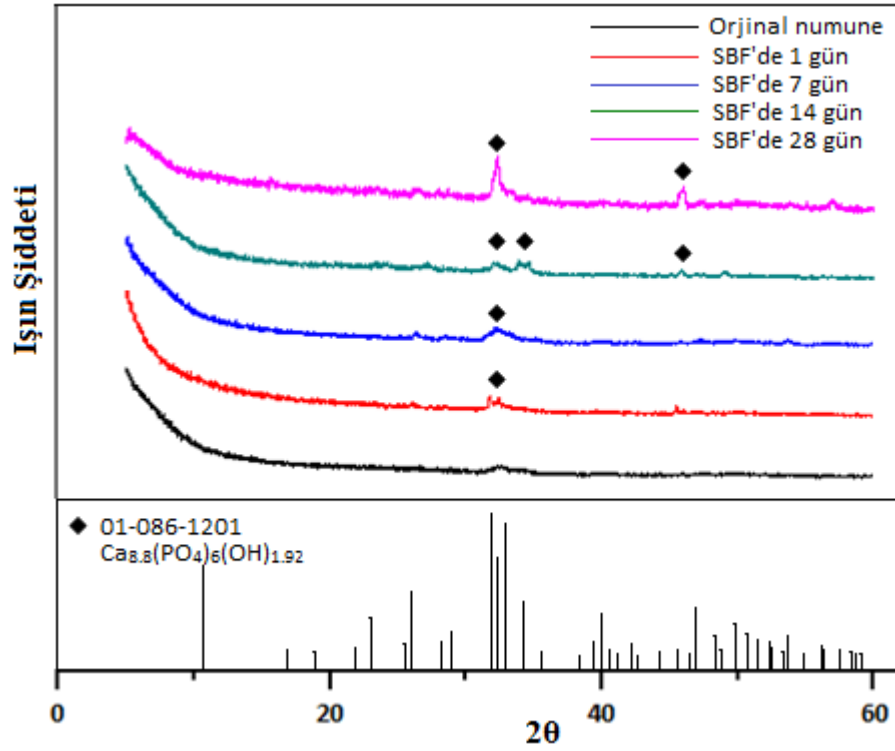
Şekil A.5 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ağırlıkça %2 SrO içeren biyoaktif cam numunesinin XRD grafikleri.



Şekil A.6 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ortalama tane boyutu 25.7 μm olan numune kullanılarak üretilen yapı iskelesinin XRD grafikleri.



Şekil A.7 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen, ortalama tane boyutu 25.7 μm olan numune kullanılarak üretilen ve jelatin ile kaplanan yapı iskelesinin XRD grafikleri.



Şekil A.8 : Yapay vücut sıvısında çeşitli sürelerde bekletilen ve ortalama tane boyutu 83.2 μm olan numune kullanılarak üretilen yapı iskelesinin XRD grafikleri.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: Özlem ÖZARPAT

Doğum Yeri ve Tarihi: Bursa, 08/10/1986

Lisans Üniversite: Yıldız Teknik Üniversitesi

Adres: Siteler Mah. 3. Cd. Doğrukent Sit. F Blok K:2 D:9 Mudanya/BURSA

