

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

**Mg, Al, Se KATKILI BİYOAKTİF CAMLARIN BİYOSİLİKADAN ERGİTME
YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE BİYOAKTİVİTE, BİYOBOZUNURLUK
DAVRANIŞLARI İLE HÜCRE ÇALIŞMALARININ İNCELENMESİ**

İSA RAHMANLAR

**DOKTORA TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEVİL YÜCEL**

İSTANBUL, 2016

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Mg, Al, Se KATKILI BİYOAKTİF CAMLARIN BİYOSİLİKADAN ERGİTME
YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE BİYOAKTİVİTE, BİYOBOZUNURLUK
DAVRANIŞLARI İLE HÜCRE ÇALIŞMALARININ İNCELENMESİ**

İsa RAHMANLAR tarafından hazırlanan tez çalışması tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sevil YÜCEL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sevil YÜCEL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Faik Nüzhet OKTAR
Marmara Üniversitesi

Doç.Dr. Mehmet PİŞKİN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Ergün KELEŞOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2016-07-04-DOP01, TÜBİTAK 3001 213M647 numaralı projeleri ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Önerilen bu tez çalışmasında farklı içerikli biyoaktif camların biyosilikadan ergitme yöntemi ile üretimi yapılmış ve biyoaktiviteleri incelenmiştir.

Bu çalışmada ve tüm akademik hayatımda sabır ve sevgiyle bana destek olan değerli danışman hocam Prof Dr. Sevil Yücel'e, çalışmalarımda büyük katkısı olan değerli arkadaşım Burcu Karakuzu'ya ve tüm diğer laboratuvar arkadaşlarıma, biyoaktif cam üretimi boyunca bize her türlü desteği sağlayan Necla Bakmaz ve Ahmet Yılmaz'a ve tüm değerli Şişecam Bilim ve Teknoloji Merkezi çalışanlarına, sonuçlarımın istatistiksel analizlerinde yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Serpil Depren'e hücre çalışmalarında verdiği destekten dolayı Dr. Zeynep Aydın Sinirlioğlu'na, tez boyunca ve hayatımın her alanında bana inanan ve destek olan aileme teşekkür ederim.

Temmuz, 2016

İsa RAHMANLAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KISALTMA LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	xv
ÖZET	xvi
ABSTRACT.....	xviii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	2
BÖLÜM 2	
KEMİĞİN YAPISI VE ONARIM SÜRECİ	4
2.1 Organik ve İnorganik Yapı	5
2.1.1 Kemik Doku Hücreleri	5
2.1.2 Onarım Süreci	6
BÖLÜM 3	
BİYOMALZEMELER	8
3.1 Biyoaktif Malzemeler	8
3.1.1 Bir Biyomalzemenin Sahip Olması Gereken Özellikler	9
3.1.2 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması	11
3.2 Biyoaktif Camlar	14
3.2.1 Biyoaktif Camların Kemığe Bağlanma Mekanizmaları.....	15

3.2.2	Biyoaktif Camlardaki İyon Katkılarının Önemi.....	18
3.3	Biyoaktif Cam Üretim Yöntemleri	24
3.3.1	Ergitme Yöntemi	24
3.3.2	Sol-Jel Yöntemi	24
3.4	Biyoaktif Cam Üretiminde Kullanılan Kaynaklar	25
3.4.1	Silika Kaynağı Olarak Pirinç Kabuğu Külü.....	25
BÖLÜM 4		
DENEYSEL YÖNTEM.....		27
4.1	Pirinç Kabuğu Külünden Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi.....	27
4.1.1	Sodyum Silikat Çözeltisinden Silika Eldesi	28
4.1.2	Biyoaktif Camların Kompozisyonunun Hazırlanması	29
4.2	Ergitme Yöntemi ile 45S5 Biyoaktif Camların Eldesi.....	30
4.3	Biyoaktif Camların Karakterizasyonu	30
4.3.1	Yapay Vücut Sıvısı (YVS) Analizleri	31
4.3.2	Biyobozunma Çalışmaları için TRIS Çözeltisinin Hazırlanması.....	33
4.4	Hücre Çalışmaları	33
4.4.1	Biyoaktif cam içeren ortamın hazırlanması	33
4.4.2	Hücre kültürü, hücre canlılığı ve sitotoksosite	34
4.4.3	Mineralizasyon ve alkalın fosfataz aktivitesi analizi	34
BÖLÜM 5		
SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME		36
5.1	Üretilen Biyosilika Tozlarının Karakterizasyonu.....	36
5.2	Biyoaktif Camların YVS İçerisinde İnkübasyonu Sonucu Meydana Gelen Ağırlık Değişimleri	38
5.3	Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi.....	42
5.3.1	Al Katkılı Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi	42
5.3.2	Mg Katkılı Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi	50
5.3.3	Se Katkılı Biyoaktif Camların İnkübasyon Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi	59
5.4	Biyoaktif Camların TRIS Çözeltisi İçerisinde İnkübasyonu Sonucu Meydana Gelen Ağırlık ve pH Değişimleri.....	66
5.5	Vickers Sertlik Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	75

5.5.1	Mg Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri	75
5.5.2	Al Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri.....	79
5.5.3	Se Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri	84
5.6	FTIR Analizi Sonuçları	87
5.6.1	Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri	89
5.6.2	Mg Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri	89
5.6.3	Al Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri	90
5.6.4	Se Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri	91
5.7	SEM Görüntüleri	92
5.8	Hücre Çalışmaları	99
5.8.1	Hücre Kültürü, Hücre Canlılığı ve Sitotoksisite Sonuçları	99
5.8.2	Mineralizasyon ve Alkalın Fosfataz Aktivitesi Sonuçları.....	104
BÖLÜM 6		
SONUÇ VE ÖNERİLER		110
KAYNAKLAR.....		114
EK-A		
FTIR SONUÇLARI.....		120
ÖZGEÇMİŞ		129

KISALTMA LİSTESİ

BSA	Bovine Serum Albumin
FBS	Fetal Bovine Serum
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
HA	Hidroksiapatit
HCA	Hydroxy Carbonate Apatite
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Salin)
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
YVS	Yapay Vücut Sıvısı

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Kemiğin Şematik Diyagramı.....	5
Şekil 2.2 Ana hatlarıyla kemik onarımı [2]	7
Şekil 4.1 Pirinç kabuğu külleri (solda), Kül yakma fırını Protherm (sağda)	27
Şekil 4.2 Elde edilen Silika	29
Şekil 5.1 pH 7’de üretilen biyosilika tozlarının XRD spektrumu.....	36
Şekil 5.2 pH7’de elde edilen biyosilika toz numunesinin SEM görüntüleri, A: 1000x, B:5000x; C: 5000x büyütmede partikül boyutları verilmiştir.....	37
Şekil 5.3 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen 45S5 Mg katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları	38
Şekil 5.4 YVS içerisindeki Mg katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen % ağırlık azalmaları	38
Şekil 5.5 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen 45S5 Al katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları	39
Şekil 5.6 YVS içerisindeki Al katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen % ağırlık azalmaları	40
Şekil 5.7 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen 45S5 Se katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları	41
Şekil 5.8 YVS içerisindeki Se katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen % ağırlık azalmaları	41
Şekil 5.9 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm).....	42
Şekil 5.10 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	43
Şekil 5.11 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)	43
Şekil 5.12 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	44
Şekil 5.13 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Al İyon Miktarı (ppm)	45
Şekil 5.14 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)	45
Şekil 5.15 Al Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm).....	46
Şekil 5.16 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm).....	47
Şekil 5.17 Al Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	47
Şekil 5.18 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm).....	48

Şekil 5.19 Al Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)	48
Şekil 5.20 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	49
Şekil 5.21 Al Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	49
Şekil 5.22 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Al İyon Miktarı (ppm)	50
Şekil 5.23 Al Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Al İyon Miktarı (ppm)	50
Şekil 5.24 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)	51
Şekil 5.25 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	52
Şekil 5.26 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)	52
Şekil 5.27 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	53
Şekil 5.28 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Mg İyon Miktarı (ppm).....	53
Şekil 5.29 Mg Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm).....	54
Şekil 5.30 Mg Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm).....	54
Şekil 5.31 Mg Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm).....	55
Şekil 5.32 Mg Katkılı Ticari silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	55
Şekil 5.33 Mg Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm).....	56
Şekil 5.34 Mg Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)	56
Şekil 5.35 Mg Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	57
Şekil 5.36 Mg Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm).....	57
Şekil 5.37 Mg Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Mg İyon Miktarı (ppm).....	58
Şekil 5.38 Mg Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Mg İyon Miktarı (ppm)	58
Şekil 5.39 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)	59
Şekil 5.40 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	60
Şekil 5.41 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)	60

Şekil 5.42 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	61
Şekil 5.43 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	61
Şekil 5.44 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)	62
Şekil 5.45 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)	62
Şekil 5.46 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	63
Şekil 5.47 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)	63
Şekil 5.48 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)	64
Şekil 5.49 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)	64
Şekil 5.50 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	65
Şekil 5.51 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)	65
Şekil 5.52 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Se İyon Miktarı (ppm)	66
Şekil 5.53 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Se İyon Miktarı (ppm)	66
Şekil 5.54 TRIS çözeltisi içerisindeki Mg katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları	67
Şekil 5.55 TRIS çözeltisi içerisindeki Mg katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları	67
Şekil 5.56 TRIS çözeltisi içerisindeki Al katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları	68
Şekil 5.57 TRIS çözeltisi içerisindeki Al katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları	69
Şekil 5.58 TRIS çözeltisi içerisindeki Se katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları	69
Şekil 5.59 TRIS çözeltisi içerisindeki Se katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları	70
Şekil 5.60 Biyosilikalı ve ticari silikalı, katkısız biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri	70
Şekil 5.61 45S5 Mg katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri	71
Şekil 5.62 45S5 Mg katkılı, ticari biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri	72
Şekil 5.63 45S5 Al katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri	73
Şekil 5.64 45S5 Al katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri	73

Şekil 5.65 45S5 Se katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri	74
Şekil 5.66 45S5 Se katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri	74
Şekil 5.67 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	76
Şekil 5.68 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	80
Şekil 5.69. Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	84
Şekil 5.70 Biyosilikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	89
Şekil 5.71 Ticari silikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	89
Şekil 5.72 Biyosilikalı %0.75 Mg katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	90
Şekil 5.73 Ticari silikalı %0.75 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	90
Şekil 5.74 Biyosilikalı %1.5 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	91
Şekil 5.75 Ticari silikalı %1.5 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	91
Şekil 5.76 Biyosilikalı %1.5 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	92
Şekil 5.77 Ticari silikalı %1.5 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	92
Şekil 5.78 YVS içerisinde (A)katkısız-B ve (B) katkısız -T biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X).....	93
Şekil 5.79 YVS içerisinde Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) (A)%0,75 Mg-B (B)%1,5 Mg-B, (C)%3 Mg-B ve (D)%6 Mg-B.....	94
Şekil 5.80 YVS içerisinde Mg katkılı ticari silikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) (A)%0,75 Mg-T (B)%1,5 Mg-T, (C)%3 Mg-T ve (D)%6 Mg-T.....	95
Şekil 5.81 YVS içerisinde Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) (A)%0,75 Al-B (B)%1,5 Al-B, (C)%3 Al-B ve (D)%6 Al-B	96
Şekil 5.82 YVS içerisinde Al katkılı ticari silikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) (A)%0,75 Al-T (B)%1,5 Al-T, (C)%3 Al-T ve (D)%6 Al-T	97
Şekil 5.83 YVS içerisinde Se katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) (A)%0,75 Se-B (B)%1,5 Se-B, (C)%3 Se-B ve (D)%6 Se-B.....	98
Şekil 5.84 YVS içerisinde Se katkılı ticari silikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) (A)%0,75 Se-T (B)%1,5 Se-T, (C)%3 Se-T ve (D)%6 Se-T.....	99
Şekil 5.85 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi.....	100
Şekil 5.86 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi.....	100
Şekil 5.87 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi.....	101

Şekil 5.88 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi.....	101
Şekil 5.89 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi.....	102
Şekil 5.90 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi.....	103
Şekil 5.91 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için, 7., 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi	105
Şekil 5.92 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için, 7., 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi	105
Şekil 5.93 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için, 7., 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi	106
Şekil 5.94 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camların mineralizasyon analizi	107
Şekil 5.95 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camların mineralizasyon analizi	107
Şekil 5.96 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar mineralizasyon analizi	108
Şekil 5.97 Tüm biyoaktif camlar için mineralizasyon analizi mikroskopik görüntüleri .	109
Şekil A.1 Biyosilikalı %1.5 Mg katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	120
Şekil A.2 Ticari silikalı %1.5 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	121
Şekil A.3 Biyosilikalı %3 Mg katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	121
Şekil A.4 Ticari silikalı %3 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	122
Şekil A.5 Ticari silikalı %6 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	122
Şekil A.6 Biyosilikalı %0.75 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	123
Şekil A.7 Ticari silikalı %0.75 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	123
Şekil A.8 Biyosilikalı %3 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	124
Şekil A.9 Ticari silikalı %3 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	124
Şekil A.10 Biyosilikalı %6 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	125
Şekil A.11 Ticari silikalı %6 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	125
Şekil A.12 Biyosilikalı %0.75 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	126
Şekil A.13 Ticari silikalı %0.75 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta	126

Şekil A.14 Biyosilikalı %3 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	127
Şekil A.15 Ticari silikalı %3 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	127
Şekil A.16 Biyosilikalı %6 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	128
Şekil A.17 Ticari silikalı %6 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta.....	128



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 4.1 Biyoaktif camlarda katkı oranları.....	29
Çizelge 4.2 Kan plazması ve YVS karşılaştırılması	31
Çizelge 4.3 YVS için kullanılan kimyasal malzemelerin katılım sırası ve miktarı	32
Çizelge 5.1 Üretilen biyosilika numunelerinin ICP-OES ile belirlenen element içerikleri (%).	37
Çizelge 5.2 Mg katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri.....	76
Çizelge 5.3 Mg katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri.....	77
Çizelge 5.4 Mg katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri	78
Çizelge 5.5 Mg katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri	78
Çizelge 5.6 Al katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri.....	80
Çizelge 5.7 Al katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri.....	81
Çizelge 5.8 Al katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri	82
Çizelge 5.9 Al katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri	83
Çizelge 5.10 Se katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri.....	84
Çizelge 5.11 Se katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri.....	85
Çizelge 5.12 Se katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri	86
Çizelge 5.13 Se katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri	87
Çizelge 5.14 FTIR spektrumunda fonksiyonel grupların dalga boylarına bağlı olarak yorumlanması	88

**Mg, Al, Se KATKILI BİYOAKTİF CAMLARIN BİYOSİLİKADAN ERGİTME
YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE BİYOAKTİVİTE, BİYOBOZUNURLUK
DAVRANIŞLARI İLE HÜCRE ÇALIŞMALARININ İNCELENMESİ**

İsa RAHMANLAR

Biyomühendislik Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Biyoaktif camlar doku ile cam yüzeyi arasında hidroksiapatit tabakası oluşturması ve biyoaktivitesi sayesinde son yıllarda klinik araştırmalarda tercih edilen bir biyomalzemedir. Biyoaktif camlar diğer camlara nazaran vücut içerisinde kolaylıkla çözünabilmektedir. Bu çözünme sayesinde cam üzerinde hidroksiapatit tabakaları kolaylıkla oluşabilmektedir. Biyoaktif camların yapısında bulunan kalsiyum ve fosfatın kemiğin yapısına benzer olmasını sağlamaktadır. Bunun dışında yapılan çalışmalar da biyoaktif camların osteoindüktif olduğunu ve herhangi bir fibröz yapıya gerek duymadan dokuya bağlanabildiğini göstermiştir.

Bu tez çalışmasında farklı silika kaynaklarına %0.75, %1.5, %3 ve %6 oranlarında magnezyum, alüminyum ve selenyum katkıları ayrı ayrı eklenerek 45S5 biyoaktif camlar ergitme işlemi ile elde edilmiştir. Biyosilika ve ticari silika ile üretilen biyoaktif camlar YVS içerisinde 4 hafta boyunca 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyondan önce ve sonra biyoaktif camların FTIR, SEM ve Vickers sertlik analizleri ile mekanik, yapısal ve yüzey özellikleri; YVS içerisindeki iyon salımlarının ICP ile analizi sayesinde *in vitro* biyoaktiviteleri saptanmıştır. TRIS çözeltisi içerisinde 1 hafta boyunca ağırlık ve pH değişimleri takip edilerek biyobozunurlukları ve biyoaktiviteleri saptanmıştır. Ayrıca hücre çalışmaları da yapılarak hücre canlılığı ve mineralizasyon testleri gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmada, Vickers sertlik testleri sonucunda katkıların her oranda eklenmesiyle biyoaktif camın mekanik özelliklerini geliştirdiği anlaşılmıştır. Vickers sertlik

değişimlerinden elde edilen sonuç; %1,5 Mg katkısının biyoaktif camların diğer oranlardaki katkılardan daha fazla biyoaktivite gösterdikleri şeklinde olmuştur. Katkısız biyosilikalı biyoaktif camların katkısız ticari silikalı biyoaktif camlara göre biyoaktivitesinin daha yüksek olduğu ağırlık azalmaları değerlendirmeleri sonucunda ortaya çıkmıştır. Biyosilikalı ve ticari silikalı biyoaktif camları kendi içerisinde eklenen iyon bazında değerlendirdiğimizde ise; biyosilikalı biyoaktif camlarda, Mg katkılı biyoaktif camların katkısız biyoaktif camlara göre çözünme hızını arttırdığı, Al ve Se katkılı biyoaktif camların ise çözünme hızını azalttığı saptanmıştır. Ticari silikalı biyoaktif camlarda ise Al katkısının %0.75 ve %1,5 gibi düşük oranlarda, Se ve Mg katkısının ise tüm oranlarda çözünme hızını arttırdığı görülmüştür.

ICP- OES ile yapılan iyon tayini testlerinde TRIS ağırlık değişimine benzer sonuçlar alınmıştır. Özellikle %1,5 Mg katkılı hem biyosilikalı hem de ticari silikalı biyoaktif camlarda ve %3 Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda HCA tabakasının oluşumunun göstergesi olan Ca^{+2} iyonlarının YVS içerisinde azalmasının daha fazla oranda olduğu görülmüştür. FTIR testlerinde ise HCA oluşumuna bağlı olarak $(CO_3)^{-2}$ ve $(PO_4)^{-3}$ gruplarına ait pik şiddetlerinin arttığı görülmüştür.

Mg ve Al her konsantrasyonda her iki silika kaynağı ile üretilen biyoaktif camlarda hücre canlılığını arttırdığı, Se katkılı camlarda ise sadece biyosilikalı camlarda hücre canlılığını artırıcı rol oynadığı saptanmıştır. ALPaz enzim aktiviteleri incelendiğinde 21. gün sonunda Mg ve Al için kemik oluşum sürecinin devam ettiği görülmüştür. Se için ise 21. gün sonunda ALPaz aktivitesi düştüğü için kemik oluşum sürecinin bittiği anlaşılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alüminyum, biyoaktif cam, ICP-OES, FTIR, magnezyum, pirinç kabuğu külü, selenyum

ABSTRACT

PRODUCTION OF Mg, Al, Se DOPED BIOACTIVE GLASSES WITH GLASS MELTING METHOD AND INVESTIGATION OF THEIR BIOACTIVITY, BIODEGRADABILITY AND CELL STUDY

İsa RAHMANLAR

Department of Bioengineering
PhD Thesis

Adviser: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Bioactive glass to create a hydroxyapatite layer between the glass surface of the tissue and biomaterial biyoaktivite thanks preferred welds in clinical trials in recent years.

Bioactive glasses can be easily dissolved in the body than others. Hydroxyapatite layer on the glass through this dissolution can occur easily. The presence of calcium and phosphate in bioactive glass provides the similar structure to the bone content. In studies conducted outside of it is osteoinductive of bioglass and can connect to the tissue without requiring any fibrous structure.

In this study, 45S5 bioactive glasses were obtained according to glass melting process by adding separately 0,75%, 1,5%, 3% and 6% Mg, Al and Se ions to different silica sources. Bioactive glasses produced from biosilica and Bioactive glasses produced from commercial silica were incubated in SBF at 37 ° C for 4 weeks. Mechanical, structural and surface properties of bioactive glasses were determined by SEM and Vickers hardness analysis. *In vitro* bioactivities of them were obtained by ICP-OES analysis of ions in SBF. Biodegradability and bioactivity were determined by following weight and pH changes during the first week in TRIS solution. Also performing cell viability and cell studies in mineralization tests were carried out. It was observed that additions for all ratios developed the mechanical properties of bioactive glasses from Vickers hardness analysis. The result from vickers hardness was that low addition ratios of Mg to bioactive glass demonstrated more bioactivity than the other additions. The result of the evaluation of weight reductions in TRIS solution was that bioactive glass produced from biosilicate without addition was more bioactive than the one produced from commercial

silicate without addition. In bioactive glasses produced from biosilicate, it was observed that Mg addition enhanced the dissolution rate, on the contrary Al and Se addition decreased the dissolution rate. In bioactive glasses produced from commercial silicate, it was seen that addition of Se and Mg enhanced the dissolution rate of glass and addition of Al enhanced it only at 0,75% and 1,5% ratios. In ICP-OES ion Exchange determination tests were similar to TRIS weight analysis. Especially 1,5 % Mg addition in both biosilicate and commercial silicate and 3% Al addition in biosilicate increase the decrease in Ca^{+2} ions in SBF which is indication of formation of HCA layer. In FTIR analysis, it is observed that peak intensity of $(\text{CO}_3)^{-2}$ and $(\text{PO}_4)^{-3}$ groups increased depending on HCA layer formation.

Cell studies were carried out on the basis of ALPaz enzyme activity. At each concentration, Mg and Al increase the cell viability for glass produced from both silica sources, while Se doped glass is only found to play a role enhancing the viability of cells for glasses produced from biosilicate. ALPaz enzyme activity was observed to continue to increase when analyzed at the end of the 21st day which means continued bone formation process for Mg and Al. After 21 days, while for Se doped glass was at the end because its ALPaz activity fell which means the bone formation process ends.

Keywords: ALPaz, aluminium, bioactive glass, magnesium, rice hull ash, selenium

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Pirinç silisyum açısından zengin topraklarda yetişen bir bitkidir. Pirinç elde edilmesi sırasında yüksek miktarda pirinç kabuğu atık olarak çıkmaktadır. Pirinç kabuğu, yetiştiği topraklardan alınan silisyumu silika şeklinde bünyesinde saklamaktadır. Pirinç kabuğunun %20 si silikadan oluşmaktadır. Pirinç kabuğunun yakılması sonucu oluşan pirinç kabuğu külü ortalama % 90 civarında amorf yapıda silika içermektedir. Maliyetli işlemler sonucu elde edilen silikanın tarımsal atık olan pirinç kabuğu külünden elde edilmesi daha ekonomik bir yöntemdir. Pirinç kabuğu külünden saf silikanın eldesi NaOH ekstraksiyonu ve sol jel yöntemi ile gerçekleştirilmektedir.

Biyoaktif camlar doku ile cam yüzeyi arasında hidroksiapatit tabakası oluşturmaları ve biyoaktivitesi sayesinde son yıllarda klinik araştırmalarda tercih edilen bir biyomalzemedir. Biyoaktif camlar diğer camlara nazaran vücut içerisinde kolaylıkla çözünmektedir. Bu çözünme sayesinde oluşan kalsiyum ve fosfat iyonları sayesinde cam üzerinde hidroksiapatit tabakası kolaylıkla oluşabilmektedir. Biyoaktif camların yapısında kalsiyum ve fosfatın bulunması kemiğin içeriğine benzer olmasını sağlamaktadır. Bunun dışında yapılan çalışmalarda biyocamların osteoindüktif olduğunu ve herhangi bir fibröz yapıya gerek duymadan dokuya bağlanabildiğini göstermiştir.

Biyoaktif camlar 45S5 olarak ilk defa Hench tarafından keşfedilmiştir. 45S5 biyoaktif cam yapısında ağırlıkça %45 SiO₂, %24,5 Na₂O, %24,5 CaO ve %6 P₂O₅ bulundurur. Keşfedildiği günden beri değişik oranlar ve farklı iyon katkıları denenerek yeni ve daha etkili biyoaktif cam üretme çalışmaları devam etmektedir.

İyon katkılı biyoaktif cam çalışmalarında iyonların biyoaktif cama sağladıkları mekanik ve biyoaktivite özellikleri değerlendirilmektedir. Alüminyum mekanik özelliklerin kuvvetlendirilmesi için kullanılan iyonlardan biridir. Magnezyum ise kemik yapısında bulunması nedeniyle katkı olarak kullanılan bir diğer iyondur. Selenyum ise miktarının az veya fazla olması durumunda kemik hastalıklarına neden olabilen kemik sağlığı açısından önemli bir element olması nedeniyle iyon katkısı olarak kullanılabilme potansiyeli olan bir elementtir. Bu çalışma kapsamında ilk defa Se katkısı biyoaktif camlara eklenmiş, biyobozunurluk ve biyoaktivite özellikleri incelenmiştir.

Laboratuvarlarımızda 45S5 biyosilika kullanılarak Mg, Al ve Se ilaveleri yapılarak biyoaktif camlar elde edilmiştir. Elde edilen biyoaktif camların mekanik özellikleri, biyoaktiviteleri, biyobozunurlukları incelenmiş, osteosit hücreleri üzerine etkileri saptanmıştır. Katkıların bu özellikleri üzerine etkilerinin katkı miktarlarına ve katkı çeşidine göre değiştiği tespit edilmiştir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında 45S5 biyoaktif camların farklı oranlarda selenyum magnezyum ve alüminyum ilave edilerek iki farklı silika kaynağından üretimi, karakterizasyonu, mekanik özellikleri, biyoaktivitesi, biyobozunurluluğu ve hücre üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Silika kaynağı olarak hem ticari silika hem de pirinç kabuğu külünden elde edilen amorf silika kullanılarak her iki silika kaynağının farklı katkılarla kazanmış olduğu özelliklerin de kıyaslanmaları amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmasında biyoaktif camlar için 3 farklı katkı kullanılmıştır. Kullanılan katkılardan biri olan Se ilk defa bu tez çalışmasında biyoaktif camlara eklenmiştir. Se iyonunun kemik mineral yoğunluğuna pozitif etkisi ve osteoklast, osteoblast ve osteosit metabolizmasında da önemli rol oynadığı bilindiğinden biyoaktif camlarda uygun miktarlarda katıldığında kemik kırıklarının tedavisinde bu özelliklerinden dolayı pozitif etki yaratacağı beklenmektedir. Diğer bir katkı olan magnezyum 45S5 dahil çeşitli biyoaktif camlara eklenmiş mekaniksel özelliklerini arttırmıştır. Bu sebeple pirinç kabuğu külünden elde edilen silikadan yapılmış biyoaktif camlara çeşitli oranlarda katıldığında biyoaktivite, mekanik ve hücre özelliklerine olumlu katkılar yapacağı beklenmektedir.

Biyoaktif camlara eklenen Al katkısının 45S5 camlarda yapılmış çalışmalarda mekanik özelliği arttırıcı ancak çözünmeyi azaltıcı etkileri görülmüştür. Bu etkilerini biyosilika katkılı biyoaktif camlarda da göstereceği düşünülmektedir.



KEMİĞİN YAPISI VE ONARIM SÜRECİ

Vücutta mekanik ve koruyucu fonksiyonlara sahip olan kemik, nano boyutta birçok organik ve inorganik bileşen içeren nano kompozit bir malzemedir. Elastikliğin sağlayıcısı olan organik matriste sialoprotein, osteokalsin, osteopontin, preteoglikan gibi proteinlerin yanı sıra kan damarları ve kemik hücreleri bulunur. Kemiğin sertliğini sağlayan inorganik matriste ise yüksek oranda hidroksiapatit, kalsiyum florür, magnezyum fosfat, sodyum klorür ve az miktarda su bulunur [1].

Kemiğin vücuda destek sağlamak dışında çeşitli görevleri vardır. Bunlar iç organları korumak, asit-baz dengesini sağlamak, kalsiyum dengesini sağlamak, büyüme için rezerv sağlamak ve kan üretimi için ilik boşlukları oluşturmaktır.

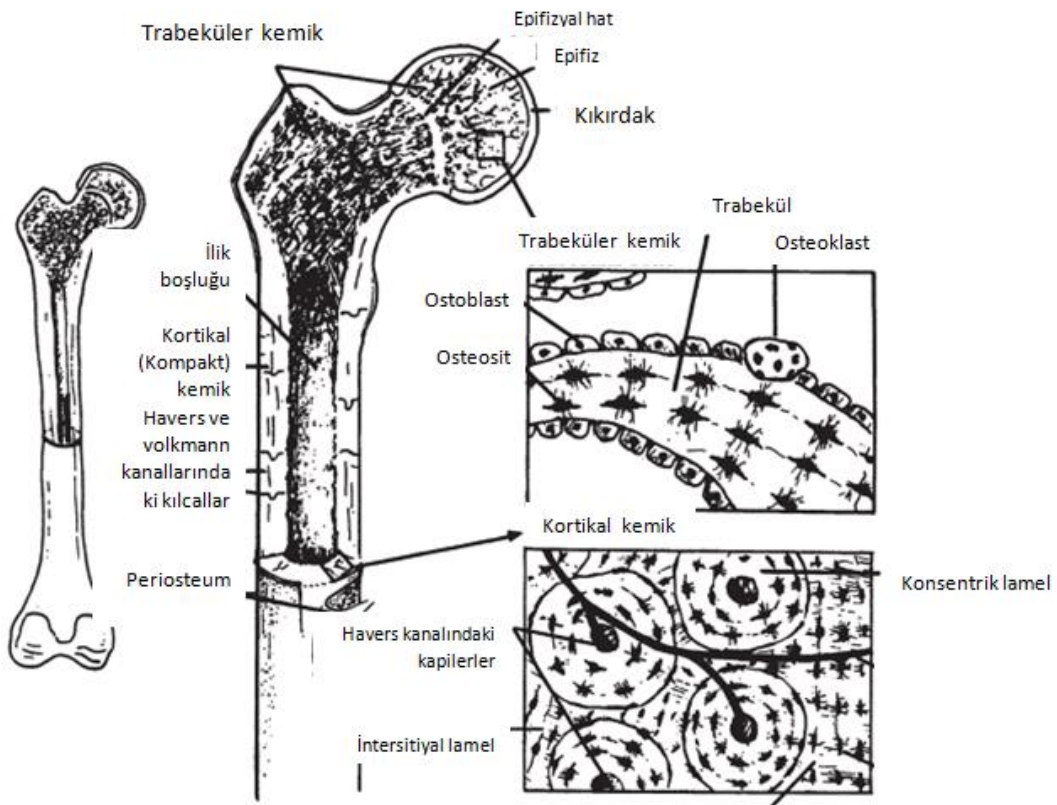
Kemiğin kortikal ve trabeküler olmak üzere iki formu vardır. İskelet sisteminin farklı bölümlerinde farklı oranlarda bu formlardan bulunur. Kortikal form boşluk içermeyen daha sıkı bir doku iken trabeküler form daha gevşek, bol boşluklu, süngerimsi bir yapıya sahiptir. Kırmızı kemik iliği ve sarı kemik iliği bu boşluklarda yer almaktadır.

Kemiğin onarımında ise kemiğin dış yüzeyinin önemi büyüktür. Kemiğin dış yüzeyi periosteum diye adlandırılan bir bağ dokusu ile çevrilidir. Bu bağ dokusunun temel özelliği kemik oluşturabilmesidir. Bağ dokusunun aktivitesi büyümeyi ve kemik onarımını etkiler. Kemiğin iç kısmı ise endosteum ile kaplıdır. Endosteum membran bir yapıdır ve kortikal, trabeküler kemik ile kan damarları kanallarının iç kısımlarını kaplar.

2.1 Organik ve İnorganik Yapı

Kemik organik ve inorganik yapıdan oluşur. İnorganik yapıda yüksek oranda kalsiyum ve fosfat bulunmaktadır. Bunun dışında ise sodyum, potasyum, klor, magnezyum gibi maddeler yer alır. Kalsiyum ve fosfat kemiğin içine hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) şeklinde yer alır.

Organik yapı ise kollajen liflerden, glikozaminoglikan ve proteinlerden oluşur. Kemik yapısında bu lifler birbirine paralel şekilde yer alır ve bu liflerin arasına hidroksiapatit kristalleri yerleşir. Böylece kemik hem sağlam hem de esnek bir yapıya kavuşmuş olur. Organik ve inorganik yapının kemik içerisindeki oranı önemlidir. İnorganik yapının azalması kemiği dayanıksız hale getirirken, organik yapının azalması kemiğin esnekliğinin kaybolmasına neden olur. Optimum oranın sağlanması için kemik devamlı bir denge halindedir. Bu denge vücut sıvıları ile kemik arasındaki iyon alışverişisi ile sağlanır [2], [3].



Şekil 2.1 Kemiğin Şematik Diyagramı

2.1.1 Kemik Doku Hücreleri

Kemik yapısında inorganik ve organik yapıların haricinde hücreler de bulunmaktadır. Bu hücreleri kemik yapısındaki görevlerine göre dörde ayırabiliriz.

1. Osteoprogenitör hücreler:

Olgun kemik hücresine dönüşen hücrelerdir. Kemik büyümesinde veya kemik kırılmalarında mitoz ile çoğalarak osteoblast hücresine dönüşürler.

2. Osteoblast hücreler:

Kemik dokusundaki matrisin yapımından sorumlu olan hücrelerdir. Alkalen fosfataz enzimi ile reaksiyona girerler. Alkalen fosfataz enzimi kemik yapımı başladığında kanda çoğalan bir enzimdir. Fosfat iyonlarını artırarak kalsiyum ile kemik dokusuna çökmesini sağlar ve kemik yapısını güçlendirir.

3. Osteosit hücreler:

Olgun kemik hücresi olarak adlandırılırlar. Kemiğin esas hücreleridir. Kemikte düzenleyici görevleri vardır. Kalsiyumun kana verilmesinden ve homeostatik mekanizmanın düzenlenmesinden sorumludur.

4. Osteoklast hücreleri:

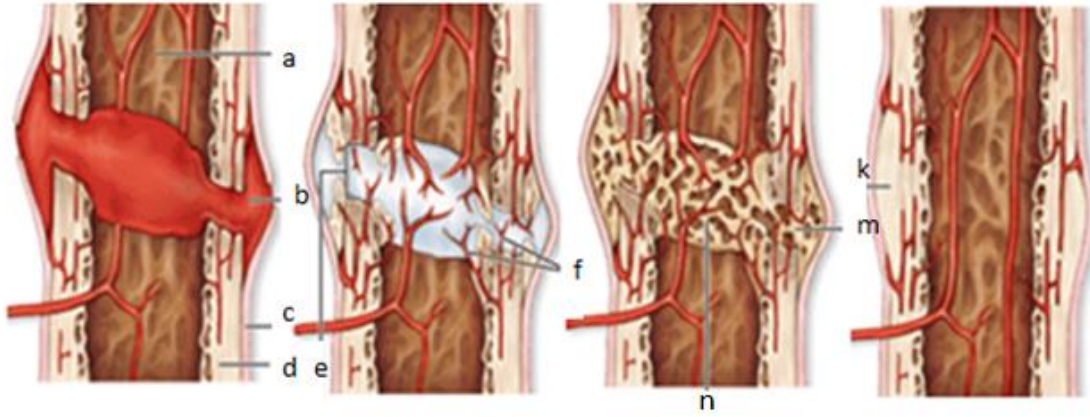
Fonksiyonlarından dolayı makrofaj bir hücre olarak kabul edilirler. Kemik yıkımından sorumludurlar.

Kollagenaz gibi proteolitik enzimlerle kemik dokusunu eritirler. Daha sonra kemik dokusunu hücre içine alırlar.

2.1.2 Onarım Süreci

Onarım sürecinde kemik yeniden modellenir. Osteoklastlar eski kemiği yıkarken osteoblastlar osteositlere dönüşerek yeni kemiğin sentezlenmesini sağlar.

Kemik sürekli bir halde yeniden yapılır bir yandan eski kemik yıkılırken diğer taraftan yeni kemiğin oluşumu devam eder; sağlıklı bir insanın tüm kemikleri ortalama olarak 10 yılda bir yenilenir. Böylece yenilenen iskelet sistemi ortam koşullarına ve yeni fizyolojiye uyum sağlar. Bunun dışında kemik yenilenme yeteneği en gelişmiş dokulardan birisidir. Kemik kırılımında kırılan bölgeler yeni kemik dokusu ile tamamen normal hale gelebilmektedir.



Şekil 2.2 Ana hatlarıyla kemik onarımı [2]

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

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

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

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

BİYOMALZEMELER

Biyomalzemeler hasarlı olan vücut dokusunun işlevlerini iyileştirmek için kullanılan veya bu hasarlı doku ile yer değiştirebilen, sürekli veya belirli aralıklarla vücut akışkanları ile temas eden sentetik malzemeler olarak tanımlanmaktadır [4].

Biyomalzemelerin tıbbi olarak farklı uygulamaları ve fonksiyonları vardır. Örneğin; kalp kapakçığı olarak kullanıldığı zaman iyileştirici fonksiyonu ön plana çıkabilir. Hidroksiapatit kaplı eklemlerde olduğu gibi vücut ile daha iyi etkileşim sağlaması amacı ile biyoaktif bir işleve de sahip olabilirler [5].

Biyomalzemelerin ilk başarılı medikal uygulamaları; iskeletteki kırıkların tedavisinde kullanılan kemik plakalar, kan damarlarının değişimi ve yapay kalp damarlarının geliştirilmesi, kalça protezleridir. Ayrıca biyomalzemelerin temel olarak tıbbi uygulamalarda kullanılmaları olsa da, biyoteknolojik alandaki kullanımları da göz ardı edilmemelidir.

Atıksu arıtımında tutucu malzeme olarak, hücre teknolojisinde destek malzeme olarak, biyosensörlerde, biyoaktif maddelerin immobilizasyonunda, biyoçiplerde kullanılmaktadırlar.

Doku mühendisliği ve gen teknolojileri geliştikçe biyomalzemelerinin uygulama alanları da artmaktadır. Nanoteknolojide yaşanan hızlı gelişimin biyomalzemelerin gelişimine yansıması hedeflenmektedir [6]

3.1 Biyoaktif Malzemeler

Biyoaktif malzeme belirli bir biyolojik aktivitenin gerçekleşmesi için tasarlanmış malzemelerdir [7]. Vücut içerisine yerleştirildiğinde vücut sıvıları ile reaksiyona girebilen böylece dokularla

sıkı bir bağ oluşması için HA benzeri tabaka oluşturabilen malzemeler de biyoaktif malzeme olarak tanımlanabilir [8].

Malzemelerin vücut içerisindeki biyoaktiviteleri hakkında bir öngörü elde etmek için laboratuvar ortamında yapay vücut sıvısı ile çalışılabilir. Yapay vücut sıvısı içerisindeki malzemede oluşacak HA tabakası biyoaktivitenin en net göstergesidir[9]. Ancak yine de istisnalar oluşmaktadır. Örneğin; dikalsiyum fosfat dihidrat *in vitro* ortamda incelenirken yapay vücut sıvısında HA benzeri tabaka oluşturabilmesine karşın *in vivo* ortamda doğrudan kemik bağlanmasını gerçekleştiremezler [10].

3.1.1 Bir Biyomalzemenin Sahip Olması Gereken Özellikler

Biyomalzeme dokuyla belli aralıklarla veya sürekli temas halinde olduğu için vücuttaki sisteme zarar vermemesi adına bazı özelliklere haiz olmalıdır. Bu özellikler şu şekilde sıralanabilir.

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

Yani kısacası bir biyomalzemenin fiziksel, kimyasal, mekanik, termal özelliklerinin iyi bilinmesi ve doku ile alerjik, toksik, karsinojenik reaksiyon vermemesi istenir [11].

Biyouyumluluk

Biyouyumluluk bir biyomalzemenin yaşayan dokular ile uyumluluğu ya da uyumdur. Araştırmacılar ‘biyomalzeme’ ve ‘biyouyumluluk’ terimlerini malzemelerin biyolojik performanslarını ayırt edebilmek için kullanmışlardır. Biyouyumlu olan malzemeler biyomalzemeler olarak anılırlar ve biyouyumluluk bir malzemenin özel bir uygulamadaki performansının uygun konakçı cevabı olarak tanımlanır [12]. Etkileşimin gerçekleşeceği kemik,

yumuşak doku, plazma iyonik bileşimi, hücre içi ve hücre dışı matris gibi ortamlarda kesinlikle olumsuz bir etkiye sebep olmamalıdır [13]. Tüm bu özellikleri taşıyan malzemeler biyolojik sistemler içerisinde güvenle kullanılabilirler.

Vücutta kullanılacak malzeme seçilirken en önemli kriter biyouyumluluktur.

Biyofonksiyonellik

Malzeme kullanıldığı yerdeki işlevleri yerine getirebilecek nitelikte olmalıdır. Mesela eklemlerde kullanılacaksa harekete izin vermeli, kulakta kullanılacak bir implantsa ses geçirgen olmalıdır [13].

Toksikoloji

Toksikoloji biyolojik olarak olumsuz sonuçlara neden olan iyonlarla alakalıdır. Kanseri tedavilerinde olduğu gibi salım için tasarlanmadıkları sürece biyomalzemelerin kütlesinde azalma olmamalıdır [14].

Uygun tasarım ve üretilebilirlik

Belli bir kalite standardını tutturabilmesi için biyomalzemeler kolay işlenebilir, kalıp haline getirilebilir olmalıdır. Günümüzde modern üretim süreçlerinin cihazlar için kaliteyi garanti etmesi gereklidir [14].

Biyomalzemelerin mekanik özellikleri

Akma dayanımı, elastik modülü, korozyon ve yorulma dayanımı, çekme dayanımı, yüzey kalitesi, sünme ve sertlik biyomalzemelerin uygulamalarında dikkatli çalışılması ve analiz edilmesi gereken önemli özelliklerinden bazılarıdır. Bunun dışında kullanıldığı yere özel fiziksel özellikler hesaba katılmalıdır. Eklemlerin uç kısımlarında kullanılacak malzemenin yağlayıcı özellikte olması gerekirken gözde kullanılan lenslerde kırılma ve optik özellikler ön plana çıkmaktadır [14].

Yüksek korozyon direnci

Yapılan çalışmalarda korozyon vücut sıvısı nedeniyle metalik biyomalzemelerin seçiminde korozyon direncinin çok önemli bir konu olduğu saptanmıştır [15]. Korozyon direnci düşük implantlar metal iyonları salılabilmektedir. Bu durumda implant ömrü azalır ve yeniden operasyon gerektirir. Bunun dışında yayılan metal iyonları toksik etkiye neden olur ve insan hayatını kısaltabilir. Yapılan çalışmalarda metal iyonlarının vücudun belli yerlerinde biriktiği

veya vücut içerisinde başka bölgelere yayılarak insan sağlığını olumsuz etkilediği bildirilmiştir [16].

Yüksek aşınma direnci

Yüksek sürtünme katsayısına sahip implantlar kolaylıkla aşınabilirler. Bunun sonucunda implantlarda gevşemeler görülür. Aşınmalar nedeniyle oluşan implant kalıntıları biyolojik olarak aktiftir ve iltihaplara neden olabilirler. Kemiği desteklemek için yerleştirilen implant kemiğin zarar görmesine neden olabilir. İmplant aşınmasının mekanik yüklemenin artması ile daha da artacağı unutulmamalıdır [17].

Uzun yorulma ömrü

Yorulma mukavemeti devamlı yüklere maruz kalan malzemenin verdiği cevap ile ilgilidir. Güçlü bir mikro yapı yorulma mukavemetini artırır. Yorulma mukavemetinin yetersiz olması kırıklara implant gevşemelerine yol açabilir. Bu durum en çok kalça protezlerinde görüldüğü belirtilmektedir [18].

Uygun dayanım

Yetersiz dayanım implantta kırıklara yol açabilir. Kemik implant ara yüzü başarısız olmaya başladığında ara yüzde yumuşak fibröz doku gelişmesi implant ve kemik arasında daha bağlı bir harekete neden olur ve kemik yükleme altında kalır. Bu durum hastada belirli bir süre ağrıya neden olur, daha sonra bu ağrı dayanılmaz bir hal alır ve implantın değiştirilmesi için yeniden cerrahi operasyonu gerektirir [18].

3.1.2 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

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

Biyomalzemeler üretildikleri malzemelerin cinsine göre 4 grupta incelenebilir. Bunlar;

- 1) Metalik biyomalzemeler,
- 2) Polimerik biyomalzemeler,
- 3) Seramik biyomalzemeler,
- 4) Kompozit biyomalzemelerdir [4].

3.1.2.1 Seramik Biyomalzemeler

Seramik binlerce yıl önceden beri kullanılan bir malzemedir. Su tutma ve ateşe dayanıklı oluşu gibi özellikleri sayesinde saklama kabı veya pişirme kabı olarak kullanılmaya başlanmıştır.

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

Biyoseramik malzemelerin; biyoyumluluklarının üstün olması, zehirleyici etki göstermemesi, alerjik ve kanserojen olmamaları, kararlı kimyasal yapıları nedeniyle paslanma risklerinin olmaması, aşınmaya karşı dayanıklı ve oldukça da hafif olmalarından dolayı tıp teknolojisinde kullanımları yaygınlaşmış inorganik malzemelerdir [19].

Klinik uygulamalarda biyoseramikler; kemiklerin, eklemlerin ve dişlerin onarılmasında, kalp damar sisteminde kalp kapakçığı olarak ve tümör tedavisinde kullanılırlar.

Vücut dışında ise; gözlüklerde, teşhise ait cihazlarda, kimyasal mamullerde, termometrelerde, doku kültürü şişelerinde, kromatografi kollarında, lazerler ve fiber optik endoskopi aletlerinde kullanılmaktadır.

Seramiklerin vücut içinde kullanımı son yıllarda başlayan bir uygulamadır. Seramik türü olan alümina kullanarak kalça yenilenmesi 20 yıllık bir geçmişe sahiptir. Biyoseramikler tedavi ihtiyacına göre değişik formlarda uygulanabilir. Bunlar; toz, kaplama ve katı hacim formlarıdır. Bunun dışında tedavi ihtiyacına göre değişik fazda biyoseramikler kullanılabilir.

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

□ Kompozitler (polietilen-hidroksiapatit)

Tedavide hangi fazın kullanılacağı tedavinin uygulanacağı yerin fonksiyon özelliklerine ve kullanılacak fazın mekanik yapısına bağlıdır. Örneğin diş tedavisinde çok daha dayanıklı bir seramik gerekmektedir, dayanıklılığı yüksek olan tek kristal fazdaki safir bu tedavi için uygun fazdır ve genellikle diş implantı olarak kullanılmaktadır. Omurga tedavisinde ise implantın yüksek mukavemete sahip ve kemiğe bağlanma kabiliyeti yüksek bir faz gerekmektedir. Cam-seramikler bu özelliklerinden dolayı omurganın değişiminde implant olarak kullanılmaktadır. Yüklemelemin fazla olmadığı kemik zedelenmelerinde düşük mukavemete sahip ancak kemik bağlanma mekanizması hızlı gerçekleşen biyoaktif camlar kullanılır [20].

Biyoseramikler doku ile etkileşimlerine göre biyoinert, biyobozunur ve biyoaktif olarak sınıflandırılabilir. Biyoaktif seramikler, doku ve implant arasındaki etkileşim sonucu kimyasal bağ kurabilirler. Biyoinert seramikler, inert yapıda olup doku ile kimyasal bir bağlanma gerçekleştirmezler. Oksijen iyonlarının oluşturduğu düzlemde metal iyonlarının dağılmasıyla oluşan polikristalin seramiklerdir. Doku ile etkileşimi mekanik bağ şeklindedir. Bu bağ sayesinde doku ile implant bir arada bulunabilir fakat aralarında bir etkileşim veya sıkı bağlanma gözlenmez. Kalsiyum fosfat seramikleri biyobozunur seramiklere verilebilecek en iyi örneklerden biridir; kalsiyum ve fosfattan oluştukları için zaman içerisinde reaksiyona girerek kalsiyum ve fosfat iyonlarını vücuda salarlar ve yerlerini implante edildikleri dokuya bırakırlar. Biyoseramikler yapısal işlevlerine göre ise; oksit seramikleri, kalsiyum fosfat seramikleri, cam ve cam seramikleri olarak sınıflandırmak mümkündür [10].

Oksit seramikleri; bu seramiklere verilebilecek en iyi örnekler alumina ve zirkonyadır. Alumina yüksek yoğunluk ve yüksek saflığa sahiptir. Korozyon direnci, yüksek dayanımı ve biyouyumluluk özelliğinden dolayı, kalça protezlerinde ve diş implantlarında yaygın kullanıma sahiptir. Zirkonya alümina ya göre yüksek çatlama ve bükülme direncine sahiptir, bu özelliği sayesinde uyluk kemiği protezlerinde başarıyla kullanılmaktadır. Ancak uygulamalarında fizyolojik sıvılar nedeniyle zamanla gerilme direncinin azalması, kaplama özelliklerinin zayıf oluşu ve potansiyel radyoaktif malzemeler içermesi gibi 3 önemli problem ile karşılaşılır. Bu problemlerden en önemlisi radyoaktif element içermesi potansiyelidir. Radyoaktif elementleri malzemeden ayırmak için çok pahalı bir işlem gerekmektedir. Bu elementler yapıdan ayrılmadığı sürece alfa ve gama ışınları yapmaktadırlar. Alfa parçacıkları, yüksek iyonlaştırma kapasitesine sahip olduklarından yumuşak ve sert doku hücrelerini tahrip

edebilirler. Radyoaktivite düzeyi düşük olduğunda da bu etkinin uzun süreli sonuçlarının incelenmesi gerekmektedir [20].

Kalsiyum-fosfat (Ca-P) seramikler; kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılardır. Hidroksiapatit ($\text{HA:Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), Trikalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ve Oktakalsiyum fosfat ($\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_6$) bu yapılara örnek verilebilir. Tüm kalsiyum fosfat seramikleri biyolojik olarak bozunurlar. Bunun dışında Hidroksiapatit biyouygunluk ve toksik olmaması nedeniyle oküler implant olarak kullanılmaktadır [21].

Cam ve cam-seramikler; camlar genel olarak silika içerirler; cam seramiklerin farkı ise silikaya ek olarak, (Li/Al) Lityum/Alüminyum veya (Mg/Al) Magnezyum/Alüminyum kristalleri içermeleridir. Biyocam vücuda özellikle de kemiğe uyum sağlaması amacıyla yapılarına kalsiyum, fosfor ve sodyum katılmış camlardır. Böylece doku ile bağ kurabilmektedirler [21]. Kemiğe kimyasal olarak bağlanırlar. Bu uygulamada kullanılan biyocam (45S5-Bioglass®) (kimyasal kompozisyonu; %45 SiO_2 , %24,5 CaO , %6 P_2O_5 ve %24,5 Na_2O), biyoaktivite açısından HA dan daha iyi olmasına karşın dayanıklılığı ve yük taşıması zayıf olduğundan kuvvetli mekanik özellik gerektiren durumlarda kullanılmamaktadırlar [20].

3.2 Biyoaktif Camlar

Hench tarafından geliştirilen (45S5-Bioglass®) biyoaktif cam ve hidroksiapatit gibi biyoaktif seramikler protezlerin korozyona uğramalarından kaynaklanan veya kullanılan malzemenin biyoinert olması nedeniyle doku ile bağ kuramamasından kaynaklanan sorunları kısmen çözmüşlerdir. Hench in başarısı çalışmalarına kemik yapısını inceleyerek başlamasından kaynaklanmaktadır. Kemiği inceledikten sonra kemiğin yapısına benzer yapıda kalsiyum ve fosfattan oluşacak malzemelerin vücut tarafından kabul göreceğini öngörmüştür. Bu fikirler ışığında yürüttüğü çalışmalar sonucunda (45S5-Bioglass®) adı ile anılan biyoaktif cam ortaya çıkmıştır. Bu çalışma biyoseramik araştırmaları konusunda bir dönüm noktası olmuştur [22], [23].

Biyoaktif camların en önemli özelliği kimyasal olarak sert ve yumuşak dokuya bağlanabilmeleridir. Yapılan araştırmalarda bu özelliğin biyoaktif camların yüzeylerinde meydana gelen hidroksi karbon apatit (HCA) tabakasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. Biyoaktiviteleri sayesinde biyoaktif camlar medikal alanda kullanılmaya başlanmıştır [24].

Biyoaktif camların en önemli özellikleri; Enzimatik faaliyetleri, Üç boyutlu vasküler yapı oluşumunu desteklemeleri, Kemik dokudaki mezenkimal hücrelerin farklılaşmasına yardımcı olmaları, Kemik doku ile organik bağlarla bağlanmalarıdır [25].

Biyoaktif camın standart formülü genelde 45S5 olarak bilinmektedir. Ağırlıkça yüzde bileşenleri; %45 SiO₂, %24,5 Na₂O, %24,5 CaO ve %6 P₂O₅ 'tir. Bileşen oranları değiştirilerek yapılan çalışmalarda SiO₂ bileşeninde değişiklikler yapılır, P₂O₅ oranı sabit tutulur. Kalsiyum fosfor oranı yüksek tutularak ve silika oranı %60'ın altına çekilerek camın biyoaktif bir yüzeye sahip olması sağlanmaktadır [26].

Biyocamlar düşük mekanik özelliklere sahiptir. Bu yüzden kemiğe bağlanma özellikleri çok iyi olmasına rağmen yüke maruz kalan alanlardaki uygulamaları sınırlıdır. Kafatası ve ortakulak uygulamalarında kullanılmaktadır.

Son dönemde yapılan araştırmalar biyoaktif camların antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu da göstermektedir. Özellikle dişte çürüğe neden olan patojenler üzerinde önemli bir etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla artık dental uygulamalarda da tercih edilen bir malzeme grubudur. [27], [28].

Bir diğer önemli araştırmada ise biyoaktif camların kök hücrelerdeki farklılaşmayı başlattığı ve laboratuvar koşullarında olarak osteoblastların çoğalmasını ve beslenmesini desteklediği gösterilmiştir [5].

Kemik doku mühendisliğinde de son dönemde biyocamlar kullanılmaktadır. Biyocamların tercih edilmesinin en önemli nedeni biyocamların enzim aktivitesini artırması ve bununla birlikte, osteoprogenitör ve mezenkimal kök hücrelerin de farklılaşmasını desteklemesidir [6].

3.2.1 Biyoaktif Camların Kemiğe Bağlanma Mekanizmaları

Biyoaktif camın hızlı bir şekilde kemiğe bağlanması araştırma konusu olmuş ve mekanizma incelenmeye başlanmıştır. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar neticesinde, 45S5 biyoaktif camın kemiğe bağlanma mekanizması hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır. Bunlardan belki de en önemlisi yapay vücut sıvısında biyoaktif cam yüzeyinde oluşan hidroksikarbonapatit (HCA) benzeri tabakanın vücut içerisindeki kemik bağlanma mekanizmasında önemli rol oynamasıdır. HCA tabakası kemikteki mineral bileşenlere olan benzerliği sayesinde canlı kemik ile ve yumuşak doku ile sıkı bir şekilde bağlanma kapasitesine sahiptir. HCA tabakasının

oluşumu Hench tarafından vücut sıvısı ile temas eden biyoaktif camın yüzeyinde gerçekleşen bir dizi reaksiyon sonucu oluştuğu şeklinde açıklanmıştır [29].

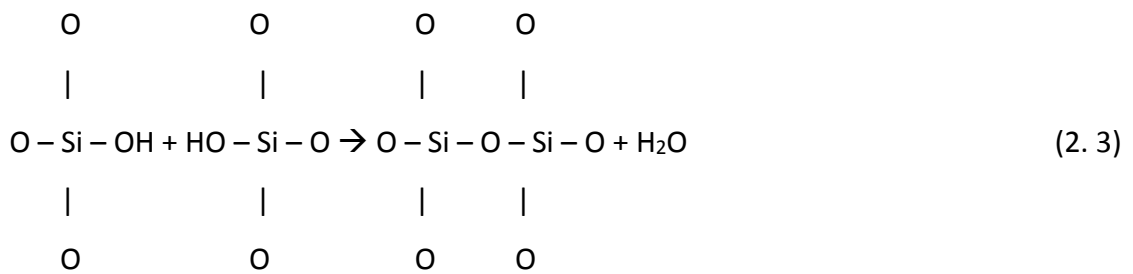
Birinci aşamada cam yapısının düzenleyicileri olan Na^+ ve Ca^{+2} iyonları ile çözeltide bulunan H^+ (veya H_3O^+) iyonları arasında hızlı bir şekilde gerçekleşen iyon değişimi reaksiyonu, silika gruplarının hidrolizine öncülük ederek cam yüzeyinde silanol (Si-OH) grubunun oluşumuna yol açar (Eşitlik 2. 1). Çözelti içerisindeki H^+ iyonlarının reaksiyona katılması sonucu miktarında azalma meydana gelir ve bu durum yapay vücut sıvısı içerisinde pH değerinin artması ile takip edilebilir [30].



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



Normal şartlarda silikanın çözünürlüğü düşük olmasına rağmen 45S5 biyoaktif cam ve cam seramiklerin sulu çözeltiye çözünmesi ile Si konsantrasyonunda bir artış gözlenmektedir [30]. Üçüncü aşamada Na^+ ve Ca^{+2} iyonlarının tükenmesi ile 1-2 μm kalınlığındaki, SiO_2 bakımından zengin amorf tabakanın cam yüzeyinde yoğunlaşması ve polimerizasyonu gerçekleşir. (Eşitlik 2.3)



Dördüncü aşamada camdaki çözünme sonucu salınan ve ayrıca çözeltiden de gelen Ca^{+2} ve $(\text{PO}_4)^{-3}$ iyonları birlikte SiO_2 bakımından zengin olan tabakanın üzerine çökerek amorf kalsiyum fosfat (ACP) tabakasını oluştururlar.

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

Vücut içerisinde ise kemiğe bağlanmanın şu şekilde gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Öncelikle büyüme faktörleri alınır, sonra osteoprogenitör hücreler gelerek farklılaşır ve çoğalır [31]. Ardından osteoblastlar gelerek kolajen oluşturur, daha sonra bunlar nanokristal bir mineral haline gelir ve kollajen cam implant üzerinde oluşur, Bu sırada da camın zamanla bozulması ve değişime uğraması ile bağlanma gerçekleşmektedir [32].

Bu aşamalara biyolojik fonksiyonel grupların (kan proteinleri, büyüme faktörleri, kollajen gibi) absorpsiyonu katılmaktadır. Proteinler ve diğer biyolojik komponentlerin absorpsiyonu, ilk dört aşamayla aynı zamanda meydana gelmektedir ve karbonize hidroksiapatit yapının biyolojik karakterini oluşturmaktadır. Laboratuvar ortamında yaklaşık 3 ile 6 saat arasında kalsiyum fosfat tabakası, bağlanma tabakası olarak adlandırılan hidroksi karbon apatit (HCA) tabakasına kristalize olmaktadır. Bu tabaka malzeme ile kemik arasında oluşması planlanan kimyasal bağlantı için zorunludur. Çünkü bu yüzey kimyasal ve yapısal olarak doğal kemikteki mineral faza eşdeğer özellik göstermektedir ve vücut dokuları bu yapıya direkt olarak bağlanabilmektedir [33].

Yukarıda anlatılan aşamalarda da belirtildiği gibi 45S5 biyoaktif cam kimyasal olarak çözünmektedir. Bu çözünme ürünlerinden Ca^{+2} ve Na^+ vücut sıvısındaki iyonlar ile ve camdan salınan diğer iyonlar ile birlikte camın yüzeyine çökerek HCA tabakasının oluşmasına imkân verir.

Bu esnada diğer çözünme ürünü olan silikon da silisik asit formunda vücuda salınır fakat fagositler tarafından parçalanarak dışarı atıldığı tahmin edilmektedir. Bunun araştırılmasının yapıldığı bir çalışmada 45S5 biyoaktif cam tozlarının tavşan kaval kemiğine ve kaslarına implante edilerek camın bozunma süresince meydana gelen silikon salımı incelenmiş, tavşanın kan ve idrar örnekleri implantasyondan sonraki 7 ay boyunca izlenmiştir. Bu çalışma neticesinde 45S5 biyoaktif camın çözünme ürünlerinden olan ve HCA tabakasına katılmayan silikonun da camın biyobozunma aşaması süresince vücuda zarar vermeden atıldığı tespit edilmiştir [34].

45S5 biyoaktif camlar *in vivo* ortamda kemik oluşumu desteklemektedirler [50]. 45S5 biyoaktif cam ve sentetik HA'nın tavşan uyluk kemiğine implantasyonu sonucu kemik oluşumunun 45S5

biyoaktif cam implante edilen tavşanda daha hızlı meydana getirdiği yapılan bir çalışma sonucu ortaya konmuştur [35]. Kemik implant ara yüzeyi boyunca yeni kemik büyümesini sağlayan HA, osteokondüktif olarak sınıflandırılır. Bunun yanı sıra 45S5 biyoaktif camlar kemik implant ara yüzeyinde yeni kemik büyümesini sağladıkları için osteokondüktif, implant kemik ara yüzeyi dışında implant içinde de kemik büyümesine imkân sağladıkları için de osteoindüktif olarak sınıflandırılırlar.

Osteoindüksiyonun tetiklenmesi yeni kemik oluşumuna imkân sağladığı için 45S5 biyoaktif camın bu mekanizmayı nasıl tetiklediği yapılan çalışmalar ile incelenmektedir. Daha önce de belirtildiği üzere 45S5 biyoaktif camların kimyasal olarak çözünmeleri esnasında çözünme ürünleri olarak Na^+ , Ca^{+2} iyonları ve Si(OH)_4 formunda çözünmüş silika açığa çıkar. Salınan iyonların bir kombinasyonunun yeni kemik oluşumunda tetikleyici olduğu düşünülmektedir [36]. Bu bağlamda Ca^{+2} ve Si(OH)_4 konsantrasyonlarının kritik oldukları düşünülmektedir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda silikanın bu mekanizmadaki rolü hakkında soru işaretleri oluşmuştur. Örneğin yapılan bir çalışmada içerisinde Si bulunmayan borat biyoaktif camın yeni kemik oluşumunun 45S5 biyoaktif cama kıyasla daha fazla desteklediği görülmüştür [37].

3.2.2 Biyoaktif Camlardaki İyon Katkılarının Önemi

Biyomalzemelerin kompozisyonu biyobozunurluluklarını biyoaktivitelerini etkileyen en önemli faktörlerdendir [31].

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, biyoaktif camlardan ve diğer silika bazlı camlardan salınan Si, Ca, P gibi iyonik çözünme ürünlerinin osteoblast hücrelerdeki çeşitli genlerin ekspresyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir [38]. Bunun yanı sıra, biyoaktif camların *in vitro* ve *in vivo* ortamda anjiyogenezi uyardığı gözlenmiştir. Ayrıca bu biyoaktif camların antibakteriyel özellikleri de araştırılmaktadır [39]. İnorganik malzemelerden salınan iyonlar doku çalışmalarında bu malzemelerin davranışlarının anlaşılmasında çok önemlidir. İnsanın yapısında var olan ve kemik metabolizmasında da önemli etkilere sahip olan Sr, Zn ve Cu gibi iyonların biyoaktiviteyi arttırıcı etkileri yeni çalışmaların ve hipotezlerin ortaya atılmasına neden olmuştur [40]. İmplamantasyonu gerçekleştirildikten sonra bu iyonların eklenmesiyle oluşan biyoaktif malzemelerden başlayan iyon salımı hücre davranışları üzerinde pozitif etki sağlamıştır. Bunun sayesinde de osteogenez ve anjiyogenez ile birlikte biyoaktiviteyi arttırdığı söylenebilmektedir. Yapılan araştırmalar da bu iyonların farklı oranlarda ve farklı içeriklere

sahip biyoaktif camlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu biyomalzemelerdeki çözünme davranışları ve malzemenin özelliklerindeki değişimlerin incelemelerinde artış gözlenmiştir.

İnsan kemiği osteoblast ve osteoklastların düzenlemesi sonucu hayat boyunca yeniden modellenebilme yeteneğine sahip olan, fazlaca damarlanmış ve dinamik olan bir yapıdır [41]. Büyüme faktörlerinin, hormonların, strese bağlı olarak sistematik düzenleyicilerin işlevleri sonucunda kemik oluşumu veya yıkımı meydana gelir [42]. Kalsiyum, fosfor, silikon, stronsiyum, çinko, bor, vanadyum, kobalt, magnezyum ve selenyum gibi inorganik iyonlar kemik dokusunun mineralizasyonu, büyümesi ve anjiyogenezinde fizyolojik olarak rol oynarlar [43]. Metal iyonları enzimlerde de kofaktör olarak görev yaptığından enzim kofaktörü gibi davranırlar ve sinyalleri etkileyerek doku oluşumu sırasında gerçekleşen metabolik faaliyetleri uyarırlar. Bu etkiler metal iyonlarını yumuşak ve sert doku mühendisliği alanlarında iyileştirici ajanlar olarak kullanımında daha tercih edilir hale getirmiştir [44].

Bu metal iyonlarından özellikle Ca ve P iyonları kemiğin inorganik fazındaki biyolojik apatitin ana komponentlerinden ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$) olması sebebi ile kemik oluşumunda ve yeniden modellenmesinde çok önemli bir role sahiptirler. Bu iyonların doku mühendisliğinde kullanımı ECM (ekstrasellüler matris) konsantrasyonlarının ve bu iyonların kemik hücreleri ile etkileşimleri ve kemik oluşumundaki uyarıcı etkilerinin bilinmesi ile mümkün olabilir. Bu bilgiler ışığında üretilecek olan biyomalzemelerin biyolojik yanıtları vücut sıvısı ile temas halinde iken salınan iyonların konsantrasyonları ile tahmin edilebilir [44]. Örneğin, Ca^{+2} *in vitro* ortamda insan osteoblast hücrelerinin çoğalmasını etkileyen büyüme hormonlarını uyarmasıyla bilinir. Yapılan bir çalışmada salınan Ca^{+2} iyon konsantrasyonuna göre oluşan biyolojik cevaplar incelenmiştir. Yüksek Ca^{+2} konsantrasyonları sitotoksik etki gösterirken, düşük ve orta Ca^{+2} konsantrasyonları osteoblast çoğalmasına, farklılaşmasına ve ECM mineralizasyonuna imkân tanıdığı saptanmıştır [45]. Aynı şekilde inorganik fosfatın da benzer etkileri olduğu, kemik oluşumunda önemli etapları etkilediği yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır [46].

Ayrıca kemik apatiti, kalsiyum ve fosfatın yanında düşük konsantrasyonlarda Si, Sr, Zn, Cu, Mg, B gibi birçok farklı elementten meydana gelir. Bu yüzden tüm bu iyonlar implant malzemelerinde veya doku iskelelerinde kemik oluşum yeteneğini arttırıcı ajanlar olarak kullanılabilir [44].

Çinko kemik metabolizmasında önemli bir rol oynarken anti enfeksiyonel etkiye de sahiptir. Çinko osteoblast hücrelerindeki protein sentezini aktive ederek *in vitro* ortamda kemik oluşumunu hızlandırır. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucu, çinkonun osteoklast hücreleri üzerinde inhibitör etki yaparak kemik erimesini önlediği saptanmıştır [47].

Cu, anjiyogenezde önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan bir araştırmada bakırın FGF-2 büyüme faktörü ile birlikte *in vitro* ortamdaki anjiyogenezi tetikleyici etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur [48].

3.2.2.1 Magnezyumun katıldığı biyoaktif camlar

Magnezyumun biyomedikal uygulamalarda kullanım oranının artışı insan metabolizmasındaki ve hücrel işlemlerdeki temel rolü ile alakalıdır [49]. Magnezyum vücuttaki en önemli mineral elementlerden biridir. Fizyolojik olarak bulunan magnezyumun yarısı vücutta saklanmaktadır [50].

Ayrıca birçok çalışma magnezyum gibi 2 değerlikli katyonların kemik modellemesinde ve iskelet gelişiminde anahtar rol oynadıklarını göstermiştir [51].

Osteoblast hücreleri ile biyomalzeme yüzeyi arasındaki interaktivite, genellikle hücre zarı bağlanma reseptörleri (integrin) tarafından sağlanır. Magnezyum bu reseptörün içinde önemli bir rol oynar [52]. Magnezyumun hücre dışı değişimleri, hücrelerin biyomalzemelere bağlanma ilgisini değiştirebilir. Magnezyum katkılı biyoseramikler ve biyocamlar, mekanik özellik ve biyoaktiviteye olumlu katkılarından dolayı dolayısı ile üzerinde çalışma yapılan ilgi çekici konulardan biri olmuştur. Bu malzemelerin hücrelerin bağlanmasını, çoğalmasını, yayılmasını ve değişmesini tetiklediği görülmüştür [53].

Genel olarak magnezyumun hidroksiapatit tabakası oluşumu üzerinde olumlu etkisi olduğu bilinmektedir. Fakat bu konuda yine de iki farklı görüş mevcuttur. Bazı çalışmalarda magnezyum katkısının hidroksiapatit tabakası oluşumunu engellediği iddia edilmiştir [54]. Diğer çalışmalarda ise biyoaktif cam üzerindeki katman oluşumunu etkilemediğini bunun aksine magnezyumun varlığının camın mineralleşmesini hızlandığını düşünmüşlerdir. Kalsiyum yerine magnezyum kullanımının camın mekanik özelliklerini arttırabileceği öne sürülmüştür. Mekanik özelliklerinin güçlenmesi ile Mg katkılı biyoaktif camların doku iskelesi ve fiber gibi farklı ürünlerde de kullanılabileceği düşünülmektedir. Magnezyumla ilgili bu çelişkili sonuçlara açıklık getirmek için de çalışmalar yapılmış ve magnezyumun ACP

tabakasının oluşumunu etkilemediği ancak ACP yapısından kristal HCA yapısına geçişi inhibe ederek kalsiyum fosfat oluşumunu geciktirdiği savunulmuştur [55].

Bir diğer çalışmada Li ve arkadaşları magnezyum, çinko ve bakır katkılı biyoaktif camların karakterizasyonu üzerine yoğunlaşmışlardır. Magnezyum katkılı biyoaktif camın yüzey alanının diğer elementler ile üretilen biyoaktif camlara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak bütün element katkılarının özellikle %6 mol oranlarının üzerinde hidroksiapatit (HA) formasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir [56]. Bir diğer çalışmada ise magnezyum oranının %7' mol oranını geçtiği denemelerde hidroksiapatit oluşumunun yavaşlamaya başladığı görülmüştür [55].

Souza ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 45S5 camlarda CaO yerine MgO kullanılmıştır. Kullanılan MgO mol oranları %3,4, %6,7, %10 ve %13,45 şeklinde olmuştur. Öncelikle DSC analizleri ile biyoaktif cam oluşumlarına magnezyumun etkisi incelenmiştir. Daha sonra NMR analizleri ile magnezyumun cam stabilitesine olan katkısı incelenmiş ve stabiliteyi arttırmada çok önemli bir rolünün olduğu görülmüştür. Bu araştırmalardan magnezyumun ağ yapıcı olarak değil ağ yapısını düzenleyici olarak çalıştığı görülmüştür. Daha sonra oluşan camlar yapay vücut sıvısına alınmış ve ACP ve HCA tabakalarının oluşumları FTIR, ICP analizleri ile takip edilmiştir. Magnezyumun kalsiyumun yerini almasının biyoaktif cam üzerinde ilk fazda oluşan ACP tabakasının oluşum hızını etkilemediği görülmüştür. Tam tersine ACP formundan HCA formuna dönüşüm hızını azalttığı gözlemlenmiştir [57].

Watts ve arkadaşları yaptıkları çalışmada magnezyum katkısının biyoaktif camın yapısına olan etkisini incelemişlerdir. Magnezyum katkısının biyoaktif cam içerisinde camı depolimerize eden ağ düzenleyicisinden çok ara oksit olarak ağ yapısının içinde yer aldığı sonucuna varmışlar. Magnezyum oranının artmasıyla cama geçiş sıcaklığının azaldığını ve termal genişleme katsayısının arttığını gözlemlemişlerdir. Bunun nedeni olarak Mg-O bağının Si-O bağlarından daha zayıf olmasını göstermişlerdir [58].

MgO/CaO oranındaki artış biyoaktivite de artış sağlamaktadır. Ancak bazı çalışmalarda da MgO'in apatit oluşumunu geciktirdiği gözlenmiştir. Magnezyum oranının artışı ile cam çözünmesi de yavaşlamıştır [54].

3.2.2.2 Alüminyumun katıldığı biyoaktif camlar

İnsan vücuduna implante edilecek olan biyomalzemelerde biyobozunma önemli bir parametredir. Uzun süreli kullanılacak implantlarda, biyoaktiviteyi kaybetmeden bu bozunmanın kontrol altında tutulması gerekmektedir.

Alüminyum biyoinert bir malzemedir. Biyoaktif camlara Al_2O_3 eklenmesinin uzun süreli kullanımlarda biyocamların stabilitesini arttırdığı görülmüştür [59]. Biyostabilitesi ve kapasitesi sayesinde kemik dolgusu olarak ve yapay eklem olarak kullanılmaktadır. Ancak alüminyumun korozyon önleyici özelliği nedeni ile biyocama eklenmesinin biyocamın biyoaktivitesini düşürdüğü savunulmuştur.

Alüminyum köprü yapmamış oksijeni elimine ederek biyoaktif cam yapısında ağ sağlamlığı sağlaması nedeni ile cam yapısında daha çok dengeleyici olarak görev yapmaktadır. Ayrıca alüminyum silikat filmi oluşumu camın çözünmesini geciktirmektedir. Bunlara ek olarak alüminyumun iyonik bağları güçlendirerek daha kuvvetli ve daha dayanıklı bir cam oluşmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

Alüminyumun biyoaktif cama eklenmesi silikayı kalsiyum fosfat oluşumunu engelleyecek şekilde sabitleyerek, HCA oluşum hızını azalmasına neden olmakta bu da kemik bağlanmasını engellemektedir. Al_2O_3 katkısı ağırlıkça %1,5'a kadar olan oranlarda biyoaktif cam yapısına eklendiğinde biyoaktiviteyi etkilemediği Otshuki ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir [16]. Otshuki'nin çalışmasında ağırlıkça %1,5 ve altındaki oranlarda alüminyum katkılı ve katkısız biyoaktif camlarda apatit oluşumu gözlemlendiği, ağırlıkça %1,7 ve üzerindeki oranlarda apatit tabakası oluşumunun gözlenmediği belirtilmiştir.

Biyoaktif camın biyoaktivitesini baskılayacak alüminyum oranı biyoaktif camın kimyasal dayanımına ve kompozisyonuna bağlıdır. Silika yerine bor kullanılarak üretilen biyoaktif camlarda yapılan çalışmada alüminyum katkısının biyocamın aktivitesini daha çabuk etkilediği gözlemlenmiştir[59]. Ayrıca alüminyum katkısı camın yapısal özelliklerini de değiştirmiştir. Yapılan çalışmada daha fazla Al_2O_3 eklenmesinin termal yayılım katsayısını düşürdüğü görülmüştür. Katsayıdaki bu düşüş alüminyumun fosfat zincirleri arasına girerek daha kuvvetli iyonik bağlar kurmasıyla açıklanabilir [59].

Mohini ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise bor bazlı biyoaktif cama alüminyum katkısının etkisi incelenmiştir. Öncelikle üretilen camlar optikal adsorpsiyon ve kızılötesi

spektrometrelerle incelenmiştir. Biyoaktivitenin incelenmesi için ise %0'dan %3,2'ye kadar alüminyum katkısı eklenmiş camlar yapay vücut sıvısında 30 güne kadar bekletilmiştir. Biyocamlardaki ağırlık kaybı ve sıvılardaki pH değişimleri vücut sıvısında kalma zamanının bir fonksiyonu olarak incelenmiştir. Bunun dışında biyocamların vücut sıvılarından çıkarıldıktan sonraki yüzeyleri de incelenmiştir. Sonuç olarak alüminyumun tetrahedral pozisyona geçmesi HA tabakasının oluşumuna ve biyoaktiviteye engel teşkil ettiği görülmüştür. Alüminyum kullanılarak alüminyumun dengeleyici ve güçlendirici özelliğinden yararlanmak istenilmiştir. Çünkü bor bazlı biyocamların çözünmesi silika bazlılara göre daha hızlı olmaktadır. Bu da daha yüksek biyoaktivite sağlarken camın stabilitesini ve mukavemetini azaltmaktadır. Bu yüzden bor bazlı biyoaktif camlar uzun süreli kullanım gerektiren uygulamalarda kullanılamamaktadır. Al_2O_3 ün ise stabilizeyi güçlendirdiği görülmüştür. Ancak %1,7 mol oranı üzerindeki Al_2O_3 katkısı biyoaktiviteyi tamamen ortadan kaldırmaktadır [59] .

3.2.2.3 Selenyumun katıldığı biyoaktif camlar

Selenyum, temel geçiş elementlerinden biridir. Selenoenzimlerin aktif bölgesindeki selenosisteinlerde selenoproteinlerde bulunmaktadır. Selenoenzimlerin bir büyük sınıfı, reaktif oksijen bölgelerini (ROS) temizleyen glutathione peroksidazdır. Yapılan hayvan çalışmalarına göre; selenyum eksikliği kemik ve eklemlerde anormalliklere, büyüme yavaşlamasına, osteopeni ve kondronekrozise neden olmaktadır. İnsan çalışmaları, toprak selenyum eksikliği ile Kashin-Beck hastalığının yaygınlığı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışma selenyum eksikliğinin zararlı etkilerinin; büyümenin gecikmesi, hasarlı kemik ve kırıkta metabolizması ve osteopeni olduğunu belirtmektedir. Selenyum eksikliği, osteoporozu şiddetlendirebilmektedir. Aşırı selenyum tüketimi de kemik mineral yoğunluğunda azalma ve kemik yapısının değişmesi gibi kemik sağlığı için zararlı etkiler gösterebilmektedir. Osteoklast, osteoblast ve osteosit metabolizması, ROS üretimi ve temizliğinden oldukça etkilenmektedir. Selenyumun asıl aktivitesinin ROS'u nötralize etmek olduğu düşünülmektedir. Ancak son *in vitro* çalışmalar selenyumun osteoklast farklılaşmasını önlemekte olduğunu ve osteoklast apoptozunu uyaran antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Sun ve diğerleri tarafından selenoproteinlerin kemik gelişimini etkileyen mikro RNA'ları düzenlediği tespit edilmiştir. Selenoproteinlerin rolü tam olarak bilinmemekle beraber, birden fazla metabolizmada anahtar rol oynadığı düşünülmektedir [44].

Daha önceki çalışmalarda da selenyum un osteojenik ve antibakteriyel aktivite oluşturduğu gözlenmiştir [60].

Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise selenyum katkılı gözenekli biyoaktif cam ilaç salımı için kullanılmıştır. Hazırlanan camın hidroksiapatit oluşturma kabiliyeti ve ilaç difüzyonu hızı incelenmiştir. Üç gün yapay vücut sıvısında bekletilen camın hidroksiapatit oluşturma özelliğini göstermişlerdir. Çalışmanın sonucunda Li ve arkadaşları özellikleri değerlendirilen bu malzemenin kötü huylu kemik tümörlerinde kullanılabilmeye aday olduğunu belirtmişlerdir [56].

3.3 Biyoaktif Cam Üretim Yöntemleri

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

3.3.1 Ergitme Yöntemi

Biyoaktif camların üretilmesinde ilk kullanılan yöntem ergitme yöntemidir. Toz halinde hazırlanan başlangıç malzemeleri 1300 ila 1500°C arasında belirlenen bir sıcaklıkta ergitilir. Biyoaktif camların daha homojen ve saf olarak elde edilmeleri açısından çeşitli ara işlemlerin uygulanmasının ardından kalıplara dökülerek şekillendirilir. Bu yöntemde kullanılan başlangıç malzemeleri saf olmalıdır. Çok yüksek sıcaklıklarda çalışıldığı için bu yöntemde platin potaların kullanılması uygundur.

3.3.2 Sol-Jel Yöntemi

Sol-jel ismi İngilizce “solution-gelation” sözcüklerinin birinci hecelerinin birleştirilmesinden çıkmıştır; çözeltiye alma-pelteleştirme (jelleştirme) yöntemidir. Çeşitli metal-alkoksitler, metal tuzları, alkol ve karbon içeren (organik) çözücüler ve suyun kullanıldığı sol-jel yöntemi, toz şeklinde kullanılacak yüzey tepkili seramikler için en uygun üretim yöntemlerinden biridir [62]. Tozların içerdikleri kristal fazlarının boyutları nanometre seviyelerinde tutulabilmektedir. Tüm bu özellikler hem üretim, hem daha sonra uygulanan ısıl işlemler sırasında kazandırılabilir.

Sol-jel yöntemi; tane boyutlarının, şeklin ve yüzey alanının kontrol edilebilmesi nedeniyle diğer üretim yöntemlerine göre avantajlıdır. Üretim moleküler seviyede yapıldığından üretilmesi zor olan karışımlar kolaylıkla yapılabilir. Malzemenin biyolojik etkilerinin kontrolü için biçimsel özellikler çok önemlidir. Sol-jel yöntemi ile cam-seramiklerin boyut ve şekilleri istenilen şekilde üretilbilir; böylece malzemenin biyolojik etkilerinin daha kolay incelenebilmesi sağlanmaktadır. Bunun yanında oda sıcaklığında ve daha basit şartlarda çalışıldığı için oldukça kolay, hızlı ve ekonomik bir yöntemdir.

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

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

3.4 Biyoaktif Cam Üretiminde Kullanılan Kaynaklar

Biyoaktif cam üretiminde kullanılan kaynaklar cam üretimindeki fonksiyonuna göre 3 sınıfta incelenebilir. Birinci sınıf cam yapıcı olan kaynaklar; bunlar camın içerisinde en fazla bulunan malzemelerdir; örnek olarak silikat SiO_2 verilebilir. Son zamanlarda biyoaktiviteleri ve biyobozunurluluklarının kimyasal kompozisyonlarındaki değişiklikler ile kontrol edilebilmesi gibi özellikleri ile borat cam yapıcı olarak biyoaktif cam üretiminde kullanılmaya başlanmıştır. İkinci sınıf cam ağ düzenleyicileridir; bunlara örnek olarak kalsiyum CaO ve sodyum Na_2O verilebilir. Son sınıf ise ağ yapıcılarıdır bunlara örnek olarak B_2O_3 ve fosfat P_2O_5 verilebilir [33].

3.4.1 Silika Kaynağı Olarak Pirinç Kabuğu Külü

Pirinç kabuğu aşındırıcı yapısı ve düşük besin ögesi içeriği sebebiyle gıda olarak tüketim için uygun değildir. Genellikle açık havada yakılarak bertaraf edilmekte ya da tarım alanlarında istiflenmektedir. Yakılması ile atmosfere tehlikeli maddeler salınmakta, tarım alanlarında

istiflenmesi ile verimli araziler işgal edilmektedir. Özellikle çevrenin korunması açısından tarımsal atıkların farklı endüstrilerde değerlendirilmesi çok önemlidir.

Pirinç kabuğunun yakılması yarısından çoğu uçucu madde olarak uzaklaşır. Pirinç kabuğu külü ise %90 oranında SiO_2 içerir. Geriye kalan kısmı ise karbon ve diğer safsızlıklardan oluşur. Termal uygulamalarla pirinç kabuğunda bulunan silis, silisin kristal hali olan kristabolite dönüşmektedir. Böylelikle zengin bir silika içeriğine sahip olan pirinç kabuğu külü yüksek reaktivlik özelliği kazanmaktadır.

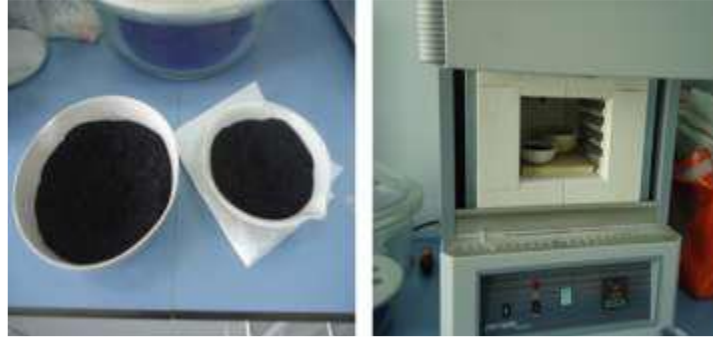
Bu özelliklerinden dolayı pirinç kabuğu külü çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Örneğin beton üretiminde çimento ve kireçle karıştırılarak kullanılmaktadır [36],[37]. Özellikle nanosilikalı çimentoların daha iyi mekanik özelliklere sahip olması beton üretiminde silika kullanımına olan ilgiyi arttırmıştır [44]. Biyogübre olarak ta yine elde edildiği pirinç tarlalarında kullanılmaktadır. Pirinçlerin silika eksikliğini biyogübre olarak tamamlamaktadır. Atık arıtmada ise içerdiği yüksek silika oranı yüzünden filtrasyon malzemesi olarak kullanılmaktadır. Bunların dışında boya katkı malzemesi ve pestisit taşıyıcı olarak ta kullanılmaktadır [45] .

Yüksek silika içeriğinden dolayı pirinç kabuğu külü silikajel ve tozlarının üretimi için ekonomik bir hammadde olarak kullanılabilir. Plazma sentez, kimyasal buhar çökeltme, sol-jel işleme, mikro-emülsiyon işleme ve hidrotermal teknik silika elde etme yöntemlerinden bazılarıdır. Alkali ekstraksiyon metodu kolay üretimi ve ekonomik yönden uygun olması nedeni ile genellikle tercih edilir.

DENEYSEL YÖNTEM

4.1 Pirinç Kabuğu Külünden Sodyum Silikat Çözeltisi Eldesi

Fabrikadan (Yetiş Gıda Ltd.) alınan pirinç kabuğu külleri, içerisinde bulunan tüm organik bileşikleri uzaklaştırmak ve silika içeriğini arttırmak amacı ile tekrar yakılmıştır. Yakma işlemi porselen kroze içerisinde 5 saat boyunca 600°C’de gerçekleştirildi. Şekil 4.1 ‘de porselen kroze içerisinde pirinç kabuğu külleri ve küllerin yakıldığı Protherm kül yakma fırını verilmiştir.



Şekil 4.1 Pirinç kabuğu külleri (solda), Kül yakma fırını Protherm (sağda)

Asit ile kaynatma; Külün içerisindeki safsızlıklardan kurtulmak için HCl ile geri soğutucu altında kaynatma işlemi uygulandı. Hidroklorik asit reaktif bir madde olduğundan safsızlıklarla yüksek sıcaklıkta reaksiyona girerek külden safsızlıkların uzaklaştırılmalarını sağladı. Asitle kaynatma işleminde izlenen yöntem aşağıdaki gibidir.

1. 40 gr kül tartılıp balon jojeye alındı.
2. Üzerine 6:1 oranında yani 240 ml distile su eklendi.

3. Karıştırıcıda 750 rpm'de karışmaya bırakıldı.
4. Sürekli pH kontrolü yapılarak, pH'ı 1 olana kadar 6 M HCl damla damla eklendi.
5. Kaynatma işlemi manyetik karıştırıcıda 2 saat süre ile geri soğutucu altında gerçekleştirildi.
6. 2 saatin sonunda vakum altında 400 ml su ile yıkama işlemi ve süzme yapıldı.
7. Yıkanan kül saat camında oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra etüvde kurutma işlemi gerçekleştirildi.

Külün alkali ekstraksiyonu: Alkali ekstraksiyonu silika eldesi için en ekonomik yöntemdir. Alkali olarak 1M sodyum hidroksit çözeltisi kullanılmıştır. Ekstraksiyon için aşağıdaki işlemler yapılmıştır.

1. Balona aktarılan külün üzerine 240 ml NaOH eklendi.
2. 1 saat süre ile geri soğutucu altında kaynatma işlemi yapıldı.
3. Vakum altında süzme işlemi gerçekleştirildi.
4. Elde edilen Na_2SiO_3 çözeltisi kullanıma kadar plastik bir şişede muhafaza edildi.

4.1.1 Sodyum Silikat Çözeltisinden Silika Eldesi

Sodyum silikat çözeltisi eldesinden sonraki aşama silika eldesidir. Silika üretimi literatürde de sıklıkla kullanılan bir yöntem olan sol-jel yöntemi ile gerçekleştirildi. Jelleştirme için hazırlanan 1 M ve 6 M HCl çözeltisi kullanıldı. Sodyum silikat çözeltisi manyetik karıştırıcıda karıştırılırken pH'ı 8 olana kadar 6 M HCl eklendi. pH'ı 8 olduktan sonra pH'ı 7 olana kadar 1M HCl eklendi. Oda sıcaklığında yaklaşık yarım saat içerisinde jelleşme gerçekleşti. Üretilen jeller silika ağının güçlenmesi için 18 saat boyunca oda sıcaklığında yaşlandırılmaya bırakıldı.

Sodyum silikat çözeltilerinden elde edilen silikalarda silika haricinde bir takım safsızlıklar bulunur. Bu safsızlıkların en önemlisi sodyumdur. Jelleştirme esnasında kullanılan asidin türüne göre çeşitli sodyum tuzları oluşur. Bu çalışmada ise HCl kullanımına bağlı olarak NaCl tuzları oluşmuştur. Saf bir silika elde etmek amacı ile silika jel içerisindeki NaCl yapıdan uzaklaştırılmalıdır. Bu amaçla yaşlandırılan jeller 3 kere distile su ile santrifüjlenerek yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkanan jeller kurutmanın daha etkili olabilmesi için saat camlarına yayıldı ve 80°C sıcaklıkta 24 saat boyunca kurutuldu. Kurutma sonunda silikalar büyük parçacıklar halinde kurduğundan ince toz haline getirilmesi için havanda öğütüldü.



Şekil 4.2 Elde edilen Silika

4.1.2 Biyoaktif Camların Kompozisyonunun Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında Mg, Se ve Al katkılı 45S5 biyoaktif camlar üretildi. Silika kaynağı olarak ise pirinç kabuğu külü silikası ve ticari silika olmak üzere 2 çeşit silika kullanıldı. Çizelge 4.1’ de biyoaktif camların içerikleri(%ağ.) yer almaktadır. Tüm biyoaktif camlar için, eklenen katkı maddeleri yüzdeleri kadar Na₂O içeriği yüzdesinden eksiltmiştir.

Çizelge 4.1 Biyoaktif camlarda katkı oranları

	SiO ₂	Na ₂ O	CaO	P ₂ O ₅	MgO	Al ₂ O ₃	SeO ₂
Katkısız	45	24,5	24,5	6	-	-	-
%0,75 Mg Katkılı	45	23,75	24,5	6	0,75	-	-
%1,5 Mg Katkılı	45	23	24,5	6	1,5	-	-
%3 Mg Katkılı	45	21,5	24,5	6	3	-	-
%6 Mg Katkılı	45	18,5	24,5	6	6	-	-
%0,75 Al Katkılı	45	23,75	24,5	6	-	0,75	-
%1,5 Al Katkılı	45	23	24,5	6	-	1,5	-
%3 Al Katkılı	45	21,5	24,5	6	-	3	-
%6 Al Katkılı	45	18,5	24,5	6	-	6	-
%0,75 Se Katkılı	45	23,75	24,5	6	-	-	0,75
%1,5 Se Katkılı	45	23	24,5	6	-	-	1,5
%3 Se Katkılı	45	21,5	24,5	6	-	-	3
%6 Se Katkılı	45	18,5	24,5	6	-	-	6

4.2 Ergitme Yöntemi ile 45S5 Biyoaktif Camların Eldesi

Tez çalışmasında üretilen biyoaktif camlar ergitme yöntemi ile elde edilmişlerdir. Ergitme işlemleri Şişecam Bilim ve Teknoloji Merkezi Eritiş laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Homojen bir karışım elde edilmesi için üretilecek olan her bir biyoaktif cam örneği için ayrı ayrı tartılan bileşenler mekanik karıştırıcıda bir süre karıştırılmaya bırakıldı. Karıştırıcıdan alınan biyoaktif cam bileşenleri platin potalara aktarıldı. Platin potalardaki toz karışımı 1400°C sıcaklıktaki kül fırınında 1 saat süre ile ergitildi. Bu aşamada bileşenler içerisinde bulunan karbon, hidrojen ve oksijen karbondioksit ve su buharı şeklinde sıcaklığın etkisiyle uzaklaştırıldı. 1 saat sonunda eriyik hale geçen biyoaktif cam karışımı fırından alınarak soğuk su içerisine akıtıldı. Su içerisinde donarak şekil alan biyoaktif camlar 150°C'ye ayarlanmış etüvde kurumaya bırakıldı. İçerisindeki nemden tamamen uzaklaştırılmış olan camlar tekrar öğütüldükten sonra platin potaya yerleştirildi. Fırın sıcaklığı 1450°C'ye çıkarıldı ve öğütülen biyoaktif cam tozları 2 saat daha fırınında bekletildi. Biyocamın ikinci kez fırınlanması camın daha kristal ve daha saf bir hal almasını sağladı. 2 saatin sonunda fırından çıkarılan eriyik biyoaktif camlar metal tezgaha damlalar halinde döküldü ve tavlama için 550 °C 'deki tavlama fırınına yerleştirildi. Ani ısı değişimi nedeniyle cam da meydana gelebilecek gerilmeler tavlama işlemi ile ortadan kaldırıldı.

4.3 Biyoaktif Camların Karakterizasyonu

Ergitme yöntemiyle ürettiğimiz biyoaktif camların mekanik, yüzey özellikleri, bağ yapıları, hücrelerle etkileşimi ve biyobozunurluğunu saptamak için çeşitli analizler yapılmıştır. Numuneler biyoaktivite özelliklerinin belirlenmesi için 7, 14, 21 ve 28 günlük süreler ile 37°C'de YVS içerisinde bekletilerek yüzeylerinde oluşan hidroksiapatit tabakası incelenmiştir. FTIR analizleri ile tabakanın oluşumu sırasında kurulan bağlar ve fonksiyonel gruplar, ICP analizleri ile biyoaktivite göstergesi olan biyoaktif camların yapay vücut sıvısı ile yaptığı iyon alışverişleri, Vickers sertlik analizleri ile mekanik özellikleri, SEM analizleri ile yüzey aktivitesi, TRIS çözeltisi içine bırakılan numunelerin 7 günlük periyodlar halinde 37°C'de bekletilerek yapılan ağırlık ve pH ölçümleriyle biyobozunurluk incelenmiştir.

4.3.1 Yapay Vücut Sıvısı (YVS) Analizleri

Yarı kararlı tampon çözeltisi olarak bilinen ve iyon konsantrasyonu açısından, insan kan plazmasına eşdeğer kimyasal yapıda olan yapay vücut sıvısı çalışılmıştır. Kokubo'nun hazırlamış olduğu YVS'deki; HCO_3^- ve Cl^- değerlerinde değişiklik yaparak, kan plazmasındaki iyon konsantrasyonuna daha uygun YVS elde etmiştir. Pasinli ve arkadaşları ise yeni bir yaklaşım ile kan plazmasında bulunan Cl^- iyonunu 103 mM değerinde gerçekleştirmiş ve hazırlanan YVS, tüm inorganik iyonlar yönünden de ilk defa kan plazması ile benzer bileşim göstermiştir. Aşağıda verilen Çizelge 4.2 de insan kan plazması ve YVS'nin iyon konsantrasyonu görülmektedir.

Çizelge 4.2 Kan plazması ve YVS karşılaştırılması

İyon	Kokubo (mM)	Taş (mM)	Lac-SBFx1 (mM)	İnsan Plazması (mM)
Na	142,0	142,0	142,0	142,0
Cl^-	147,8	125,0	103,0	103,0
HCO_3^-	4,2	27,0	27,0	27,0
K^+	5,0	5,0	5,0	5,0
Mg^{+2}	1,5	1,5	1,5	1,5
Ca^{+2}	2,5	2,5	2,5	2,5
HPO_4^{-2}	1,0	1,0	1,0	1,0
SO_4^{-2}	0,5	0,5	0,5	0,5

Çizelge 4.3' te YVS hazırlamak için kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları tablo halinde verilmiştir. Bu kimyasal maddeler verilen sırası ile 750 ml distile su içerisine eklendi. İlk 5 kimyasal eklendikten sonra 40 ml 1 M HCl çözeltisi eklendi ve çözeltinin sıcaklığı 37°C'ye ayarlandı. 7 ve 8 numaralı kimyasal da eklendikten sonra son kimyasal olan $(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$ (hidroksimetilaminametan) pH değerinde hızlı bir artışa neden olduğundan ve bu artış çözeltide bulanıklık ile sonuçlandığından, çözeltiye yavaş yavaş eklendi. Çözeltinin pH değeri belirli bir sınır değerinin üstüne çıktığında 1 M HCl ile titre edildi. Aksi halde çözeltide bulanıklık

oluştugu gözlemlendi. Son olarak pH değeri 7,4'e ulaştığında oda sıcaklığına kadar soğuması sağlanıp, hacmi distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Üretilen biyoaktif camların *in vitro* ortamda biyoaktivitelerini ve bununla ilişkili olarak yüzeylerinde hidroksiapatit oluşumunu saptamak amacı ile YVS çözeltisi her bir biyoaktif cam için ayrı ayrı hesaplanan miktarlarda konuldu.

Çizelge 4.3 YVS için kullanılan kimyasal malzemelerin katılım sırası ve miktarı

Eklenme Sırası	Kimyasal Madde	g/l
1	NaCl	6,547
2	NaHCO ₃	2,268
3	KCl	0,378
4	Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,178
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305
6	1 M HCl	40 ml
7	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,368
8	Na ₂ SO ₄	0,071
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6,057

Vücut sıvılarının bir taklidi olan YVS çözeltisi, vücut sıvıları gibi yenilenmek zorundadır. Bu yüzden her 7 gün sonunda YVS çözeltisi tazelendi. Eşit zaman aralıklarını karşılaştırabilmek için 7 gün ara ile ölçümler yapıldı, YVS içerisinde bulunan biyoaktif camlar 7, 14, 21 ve 28 günlük periyotlarda mekanik özelliklerini belirleyebilmek için Vickers sertlik değeri cihazı olan "Micro Vickers Hardness Tester, Microbul – 1000D" cihazı (Bulut Makine, Türkiye) ile 500 g yük ve 10 sn koşullarında ölçüldü.

Üretilen biyoaktif cam numuneleri YVS içerisine konulduktan sonra YVS içerisinde meydana gelen iyon değişimlerin tespiti için Optima 2100 DVModel ICP (Inductively Coupled Plasma) cihazının 13.56 MHz' ta kullanılması ile ölçülmüştür.

YVS içerisinde biyoaktif cam numunelerinin yüzeyinde meydana gelen hidroksiapatit oluşumu 7 günlük sürelerde SEM ve FTIR cihazları kullanılarak belirlenmiştir. Yapılarında bulunan bağlar Perkin Elmer marka Spectrum One Model Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskopisi (FTIR) ile analiz edilmiştir. Cihazın çalışması kimyasal bağların spesifik frekans veya dalga boylarında kızıl ötesi enerjiyi absorblaması prensibine dayanmaktadır. 650-4000 cm^{-1} aralığında belirlenen absorban değerleri ve literatürde bunlara karşılık gelen gruplar temsil edilerek YVS öncesi ve sonrası numunelerin fonksiyonel grupları tespit edilerek belirlenmiştir.

Biyoaktif camlardan salınan iyonlar YVS içerisindeki iyonlar ile etkileşime girerek HCA tabakası oluştururlar. Biyoaktif camların yüzey morfolojilerinde meydana gelen bu değişimler YVS çözeltisinde inkübe edilmeden önce ve sonrasında 7, 14 ve 28. günlerde SEM cihazı ile tayin edilmiştir. Ayrıca iyon değişiminin bir göstergesi olan biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları da 7 günlük periyotlarda saptanmıştır.

4.3.2 Biyobozunma Çalışmaları için TRIS Çözeltisinin Hazırlanması

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

4.4 Hücre Çalışmaları

4.4.1 Biyoaktif cam içeren ortamın hazırlanması

Konsantrasyonu 20 mg/ml (toz / DMEM- F12) olacak şekilde biyoaktif cam içeren ortamın hazırlanması için, toz malzemeden 0.1 g alınarak 5 ml serumsuz DMEM-F12 içerisine konur ve 37°C'de 24 saat boyunca bırakılır. 24 saat sonunda karışım santrifüjlenir, süpernatant toplanır ve daha sonra sterilizasyon için 0,2 μm filtre içinden geçirilir.

4.4.2 Hücre kültürü, hücre canlılığı ve sitotoksosite

SAOS-2 osteoblast benzeri hücreler DMEM-F12 içerisinde %10 FBS ile 37 °C 'de %5 CO₂ ortamında kültüre edildi. Kültür ortamı, her iki günde bir değiştirildi. Hücre canlılığı, üretici firmanın protokolüne göre (Sigma ABD) MTT analizi ile ölçülmüştür. Hücreler, 96 oyuklu bir plaka içinde çukur başına 10³ hücre olacak şekilde ekildi. 24 saat inkübasyondan sonra biyoaktif camlar farklı konsantrasyonlarda ilave edildi. 7 gün sonra 20 µl MTT çözeltisi (5 mg/ml), her kuyucuğa ilave edildi. 4 saat boyunca ek inkübasyondan sonra, 100 µl DMSO ilave edildi. Absorbans mikropilaka okuyucu ile 495 nm dalga boyunda okundu

4.4.3 Mineralizasyon ve alkalın fosfataz aktivitesi analizi

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

4.4.3.1 Alkalın fosfataz aktivitesi analizi

Alkalın fosfataz (ALP) p-nitrofenil fosfat (Sigma, ABD) gibi bir substrat ile değerlendirildi. SAOS-2 hücreleri kuyucuk başına 2x10⁵ hücre yoğunluğunda olacak şekilde 6 kuyucuklu plakalar üzerine ekildi ve belirlenen süre boyunca muamele edildi. Daha sonra elde edilen hücreler 10 dakika süreyle sonikasyona tabi tutularak çözündürüldü. Sonikasyon sonrası 10 dakika süre ile santrifüj edildi ve süpernatant kısmı ALP aktivitesi analizi için kullanıldı. Protein konsantrasyonları bisinkoninik (BCA) protein analizi ayracı ile tespit edilmiştir. Numunenin ilişkili aktivitesi aktivite oranına ve ilgili protein konsantrasyonuna (U / mg) bağlı olarak rapor edildi.

4.4.3.2 Mineralizasyon Analizi

Hücreler üzerindeki kalsifiye nodüller alizarin kırmızı boyama ile belirlendi. SAOS-2 hücreleri kuyucuk başına 2x10⁵ hücre yoğunluğunda olacak şekilde 3,5 cm'lik kaplar içine ekildi ve belirlenen süre boyunca muamele edildi. İnkübasyondan sonra, hücreler PBS ile (Mg²⁺ ve Ca²⁺ olmadan) durulandı ve -20°C'de 30 dakika boyunca buz soğukluğunda %95 etanol içinde

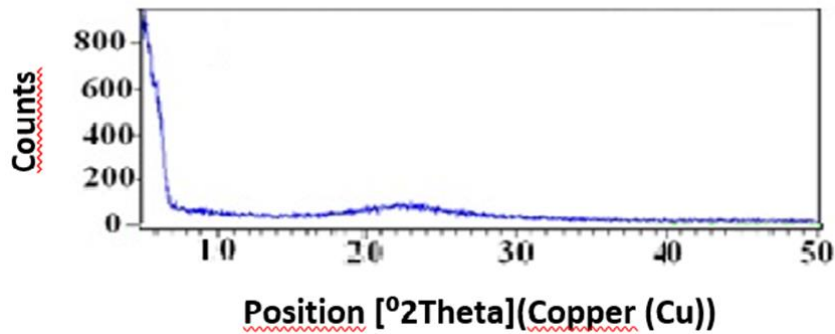
bekletildi. Daha sonra hücreler ve matriks, 40 mM alizarin red-S ile (pH 4.2) oda sıcaklığında 1 saat bekletilerek boyandı. Boyanan nodüllerde parlak kırmızı renk ortaya çıktı ve ışık mikroskobu ile tespit edildi. Boyanan bölgedeki mineralizasyonu karşılaştırmak için, bütün kap fotoğraflandı.

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

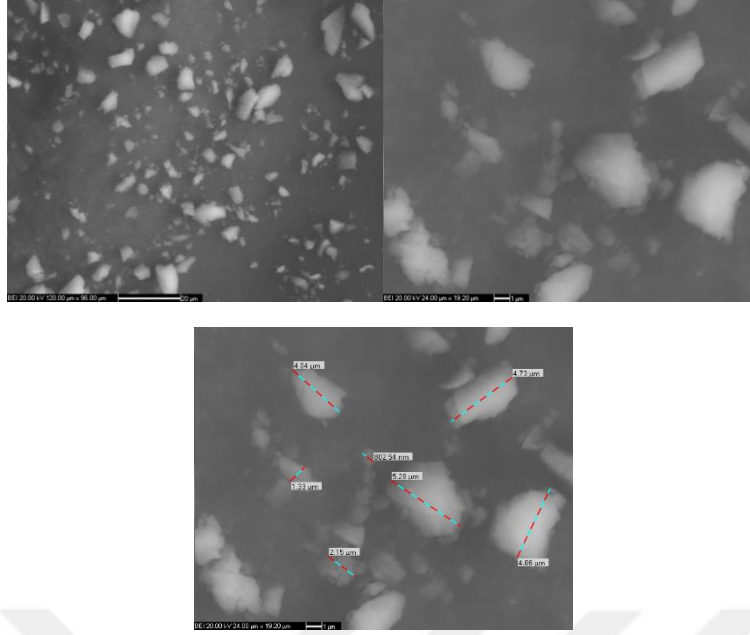
SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

5.1 Üretilen Biyosilika Tozlarının Karakterizasyonu

Pirinç kabuğu külünden üretilen biyosilika toz numunelerinin kristal yapısı ,SEM görüntüleri ve element içerikleri daha önce Biyokompozit ve Lipid laboratuvarında yapılan doktora tezi kapsamında incelenmiştir [63]. Çalışmada X ışınlarının 45 kV ve 40 mA değerlerinde CuK α tüpünde üretildiği X-Işını Difraktometresi (X’Pert XRD Philips Panalytical X’Pert Pro, Hollanda) ile incelenmiş, 2 θ adım sayısı 0,03° olarak belirlenerek ve spektrumlar 5-90° 2 θ aralığında alınmıştır. Deneysel çalışmalarda elde edilen ürünlerin mikro yapıları CamScan marka Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile incelendi. pH 7 değerinde üretilen silika örneklerinin eser element içeriği ise ICP-OES (Perkin Elmer, Optima 2100 DV) ile belirlendi. Biyosilika numunelerinin amorf yapıda olduğu şekil 5.1 de görülmektedir. Şekil 5.1 ve şekil 5.2 de ve çizelge 5.1 de biyosilika tozlarına ait XRD, SEM ve ICP-OES sonuçları yer almaktadır.



Şekil 5.1 pH 7’de üretilen biyosilika tozlarının XRD spektrumu



Şekil 5.2 pH7’de elde edilen biyosilika toz numunesinin SEM görüntüleri, A: 1000x, B:5000x; C: 5000x büyütmede partikül boyutları verilmiştir.

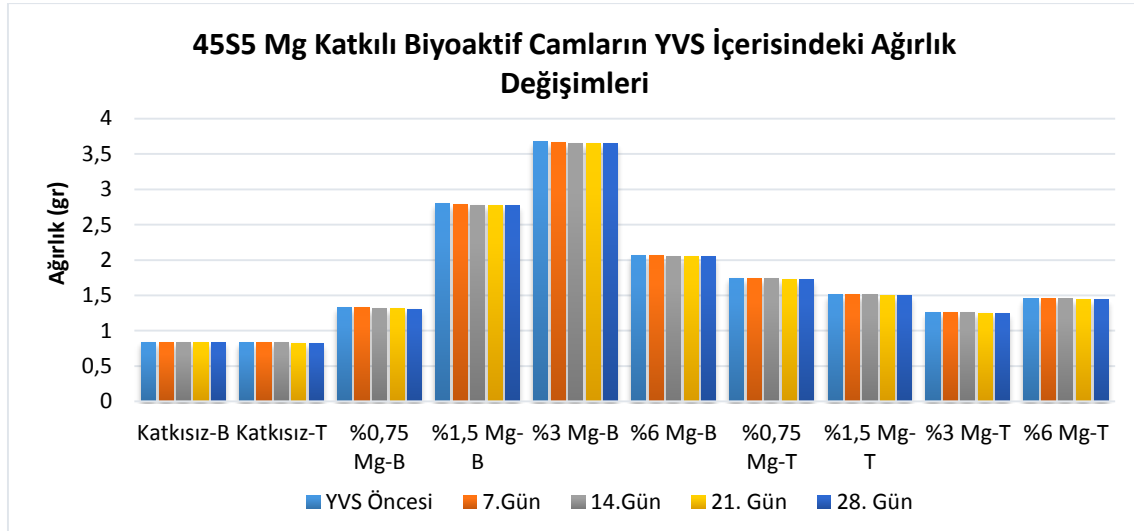
Çizelge 5.1 de biyosilika toz numunelerinin majör elementinin Si olduğu az miktarda da Na ve diğer elementleri de eser miktarda içerdiği görülmektedir.

Çizelge 5.1 Üretilen biyosilika numunelerinin ICP-OES ile belirlenen element içerikleri (%).

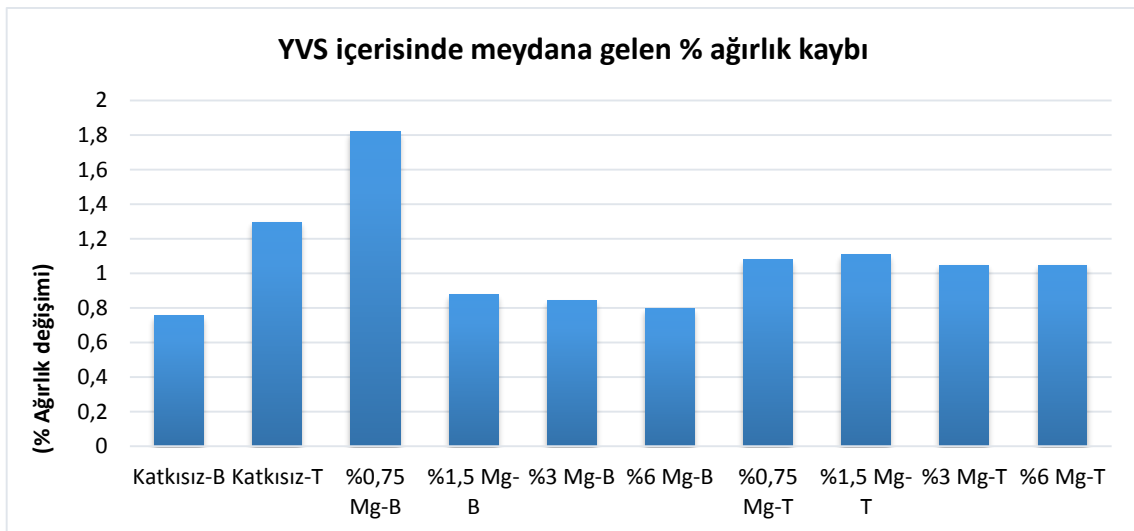
Element	Bileşim (% ağı.)
Si	97,68
Na	1,6
Al	0,079
Ca	0,050
Cu	$7,1 \times 10^{-5}$
Fe	0,015
K	0,505
Mg	0,026
Mn	0,012
Mo	$3,0 \times 10^{-5}$
Se	-
Ti	0,0009
Zn	0,0002

5.2 Biyoaktif Camların YVS İçerisinde İnkübasyonu Sonucu Meydana Gelen Ağırlık Değişimleri

28 gün boyunca YVS çözeltisi içerisinde, 37°C’de inkübe edilen Mg katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık değişimleri ve ağırlık azalmalarının yüzde cinsinden değerlerinin oluşturduğu grafikler Şekil 5.3 ve Şekil 5.4’de verilmiştir.



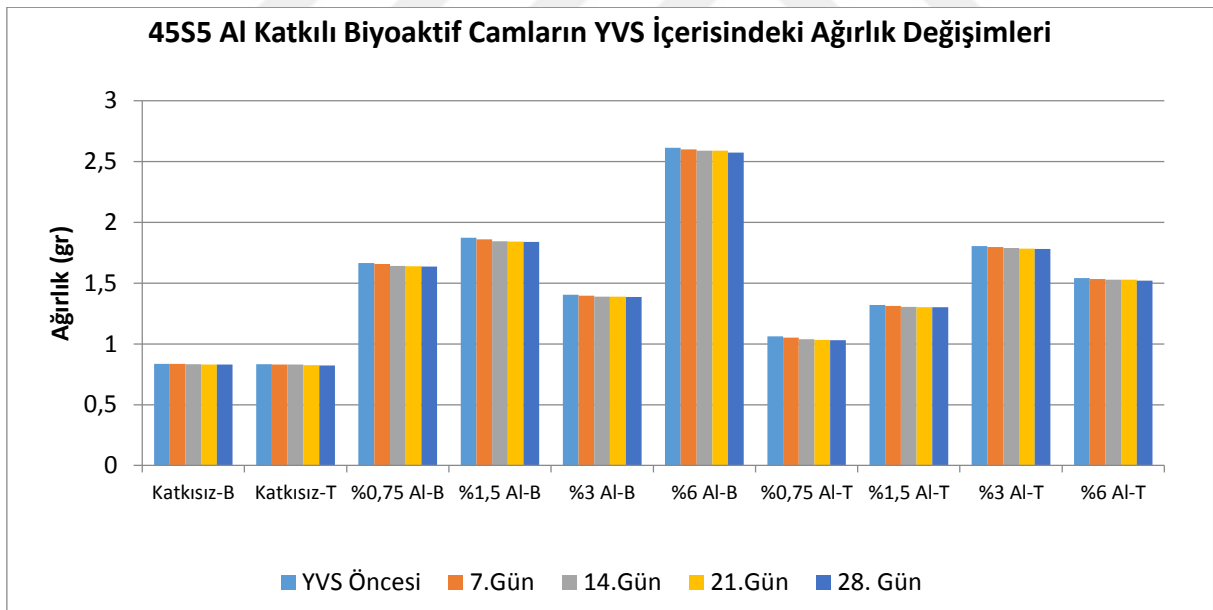
Şekil 5.3 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen 45S5 Mg katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları



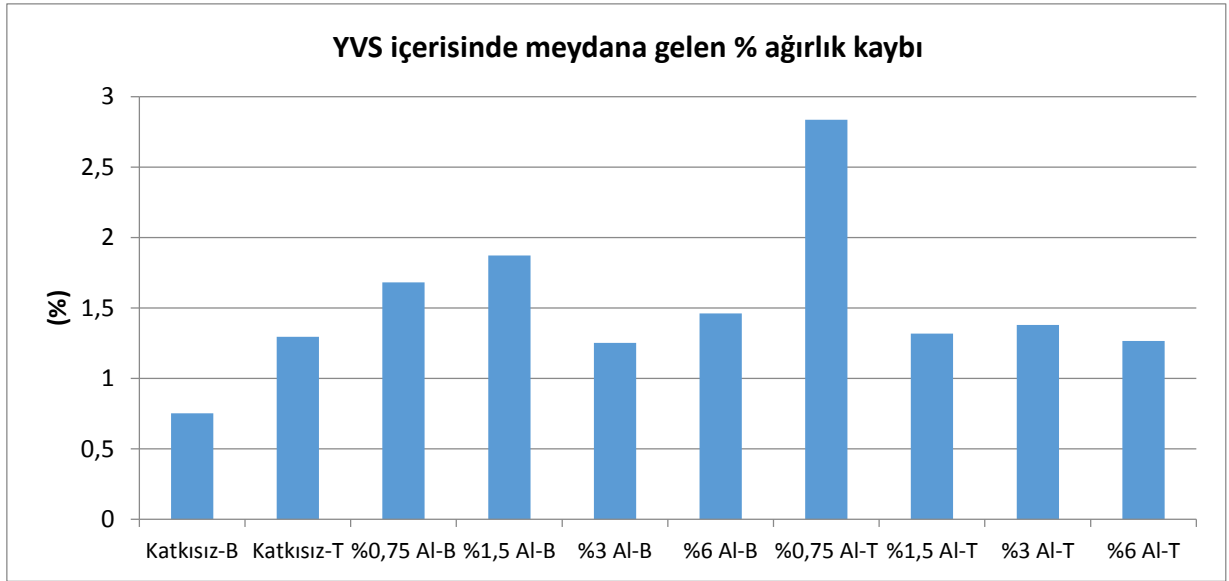
Şekil 5.4 YVS içerisindeki Mg katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen % ağırlık azalmaları

Literatürde biyoaktif camlara Mg ilavesinin biyobozunurluğa etkisi ile ilgili birbiri ile çelişen bazı çalışmalar bulunmaktadır. Mg ilavesinin biyobozunurluğu artması ile ilgili Dietrich ve

arkadaşları yaptıkları çalışmada 46S6 biyoaktif camlarda Mg iyonunun eser olarak bile varlığının biyoaktif cam çözünürlüğünü iyileştirdiği ve silika jel katmanı kalınlığında artış meydana getirdiğini kanıtlamışlardır [57]. Biyoaktif camların biyobozunurluk derecelerinin MgO artışıyla birlikte kademeli olarak azaldığı ve cam yüzeyinde apatit tabakası oluşumunun geciktiği ise birçok çalışmada belirtilmiştir [55],[56]. Şekil 5.4 incelendiğinde katkısız biyosilikalı biyoaktif camlara Mg ilavesinin ağırlık azalmasını arttırdığı fakat Mg iyonunun artan oranlarında ise ağırlık kayıplarının azaldığı görülebilir. Bu sonuçlar literatür sonuçları ile benzerlik taşımaktadır. Ticari silikalı biyoaktif camlara Mg ilavesinin ise ağırlık kayıplarında bir artışa neden olmadığı görülmektedir. Literatürde bu sonuçlar ile benzerlik gösteren çalışma Moya ve arkadaşları tarafından yapılmıştır[58]. $\text{SiO}_2\text{--CaO--Na}_2\text{O--P}_2\text{O}_5$ kimyasal kompozisyonuna sahip biyoaktif camlar ile yapılan çalışmada Mg katkısının hidroksiapatit tabakası oluşturmada rolünün olmadığı sonucuna varılmıştır. 28 gün boyunca YVS çözeltisi içerisinde, 37°C 'de inkübe edilen Al katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık değişimleri ve ağırlık azalmalarının yüzde cinsinden değerlerinin oluşturduğu grafikler Şekil 5.5 ve Şekil 5.6'da verilmiştir.



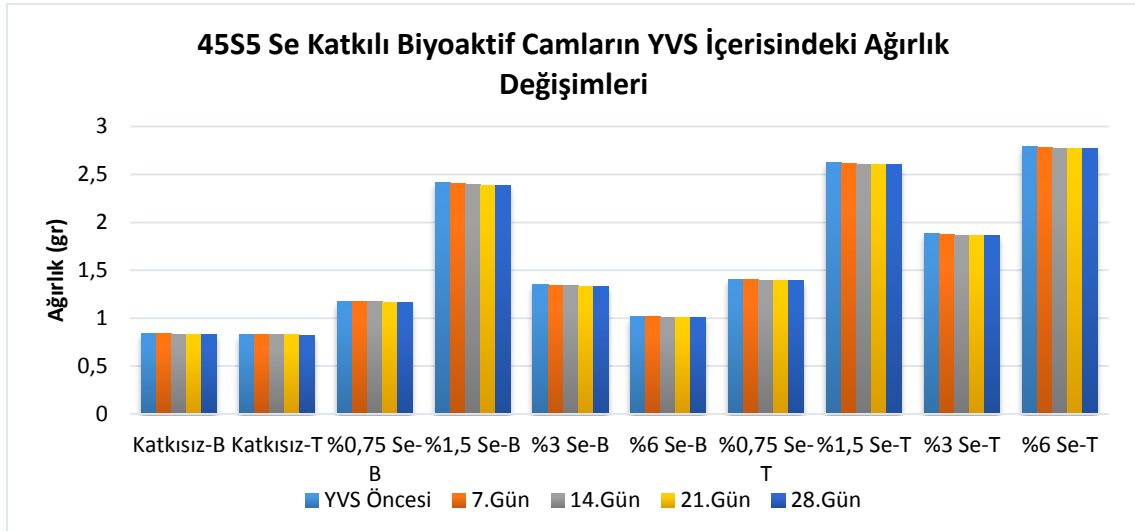
Şekil 5.5 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen 45S5 Al katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları



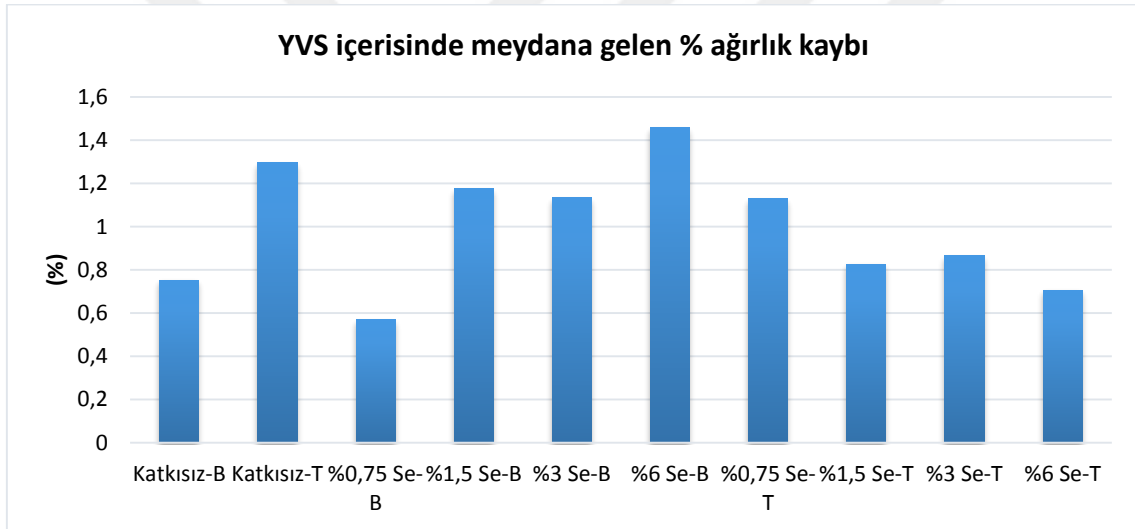
Şekil 5.6 YVS içerisindeki Al katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen % ağırlık azalmaları

Şekil 5.6 incelendiğinde ticari silikalı %0,75 Al katkılı biyoaktif camda meydana gelen % ağırlık azalmasının en fazla olduğu görülmektedir ve bu durum Vickers sertlik değerlerindeki azalmalar ile de doğrulanmaktadır. Al_2O_3 ilavesi biyoaktif camların stabilitesini arttırmaktadır. Bunu camların çözünürlüğünü azaltarak sağlamaktadır. Bu yüzden vücut içerisinde dayanıklılık gereken bölgelerde kullanacak implantlar için uygundur. Ayrıca biyoaktif cam yüzeyinde oluşan aluminasilikat tabakası da çözünmeyi geciktirici bir etki oluşturmaktadır. Tez kapsamında elde edilen bulgulara ticari silikalı olanlarda Al katkısı çözünürlükte çok büyük bir değişikliğe yol açmazken sadece %0,75 Alüminyum katkılı ticari silikalı biyoaktif camda çözünme artışı gerçekleşmiştir. Literatürde Alüminyum katkısının çözünmeyi arttırdığına sadece tetrahedral pozisyondan AlO_4 oktahedral pozisyona geçen AlO_6 alüminyumlarda rastlanmıştır [59]. Biyosilikalı camlarda ise Al katkısı her oranda çözünürlüğü arttırmıştır.

28 gün boyunca YVS çözeltisi içerisinde, $37^\circ C$ 'de inkübe edilen Se katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık değişimleri ve ağırlık azalmalarının yüzde cinsinden değerlerinin oluşturduğu grafikler Şekil 5.7 ve Şekil 5.8'de verilmiştir.



Şekil 5.7 YVS içerisinde 28 gün boyunca inkübe edilen 45S5 Se katkılı biyoaktif camlarda meydana gelen ağırlık azalmaları



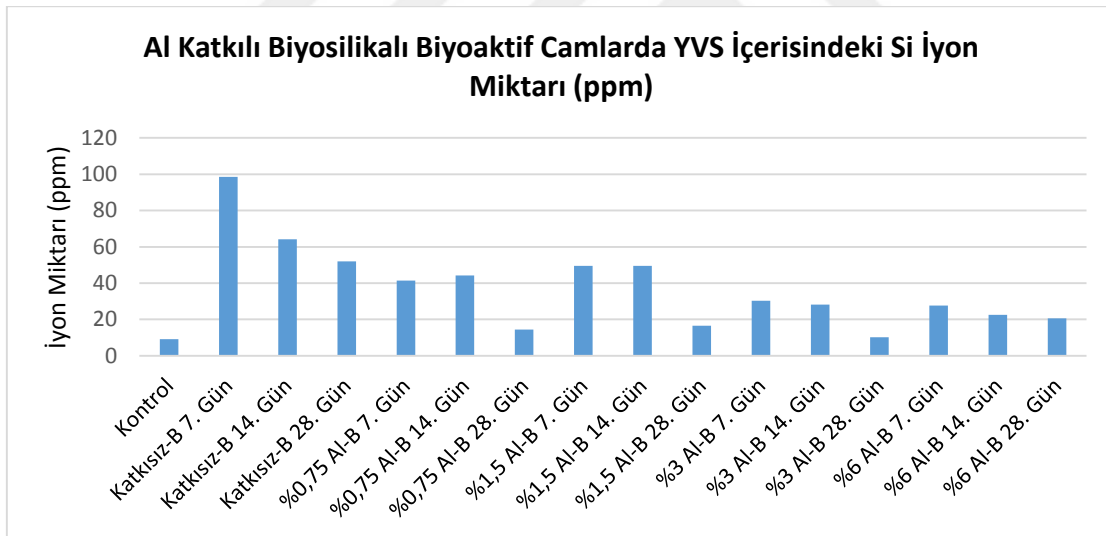
Şekil 5.8 YVS içerisindeki Se katkılı biyoaktif camlarda 28 gün sonunda meydana gelen % ağırlık azalmaları

Şekil 5.8 incelendiğinde 28 gün sonunda biyosilikalı %6 Se katkılı biyoaktif camda meydana gelen % ağırlık azalmasının en fazla olduğu görülmektedir. Selenyum katkılı biyoaktif cam ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Sadece ilaç salımı ile ilgili yapılan çalışmalarda selenyumun biyomalzemenin biyoaktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir, buradan selenyum katkısının biyoaktif camların aktivitesini daha da arttırabileceği düşünülmüştür[61]. Şekilde de görüldüğü gibi %0,75 katkısı dışındaki tüm biyosilikalı camlarda çözünürlüğü arttırıcı bir etki oluşturmuşlardır. Ticari silikalı camlarda ise tüm oranlar çözünürlüğü azaltıcı etki yapmıştır.

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

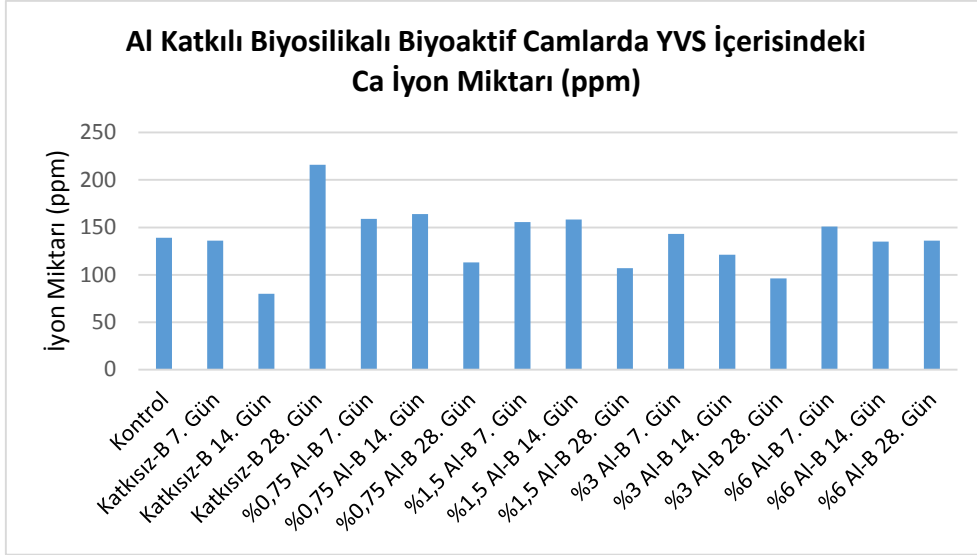
5.3.1 Al Katkılı Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi

Alüminyum katkılı biyosilikalı biyoaktif camların YVS içerisindeki iyon miktarını incelediğimiz zaman silis iyon salımının azaldığını görülmektedir. Bunun nedeni literatürde de belirtildiği gibi alüminyumun camın stabilitesini kuvvetlendirmesi olabilir [59]. YVS içerisindeki silisyum iyon miktarını incelendiğinde katkısız camlardaki silisyum iyon miktarının daha fazla olduğu açıkça görülmektedir. Genellikle haftalar ilerledikçe Si salımı azalmakta ve 4.haftada silis salımlarının en az seviyede olduğu görülmüştür. Alüminyum katkısı arttıkça silisyum salım miktarı azalmaktadır. Alüminyumun biyoaktif camların çözünmesini azalttığı görülmektedir. En az Si salımının %3 ve %6 Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda olduğu görülmüştür. Buna neden olarak % 1,9 un üzerinde alüminyumun cam içerisinde tetrahidral pozisyona geçişi ve bunun sonucunda da camın daha stabil hale gelerek çözünmenin azalması gösterilebilir [59].



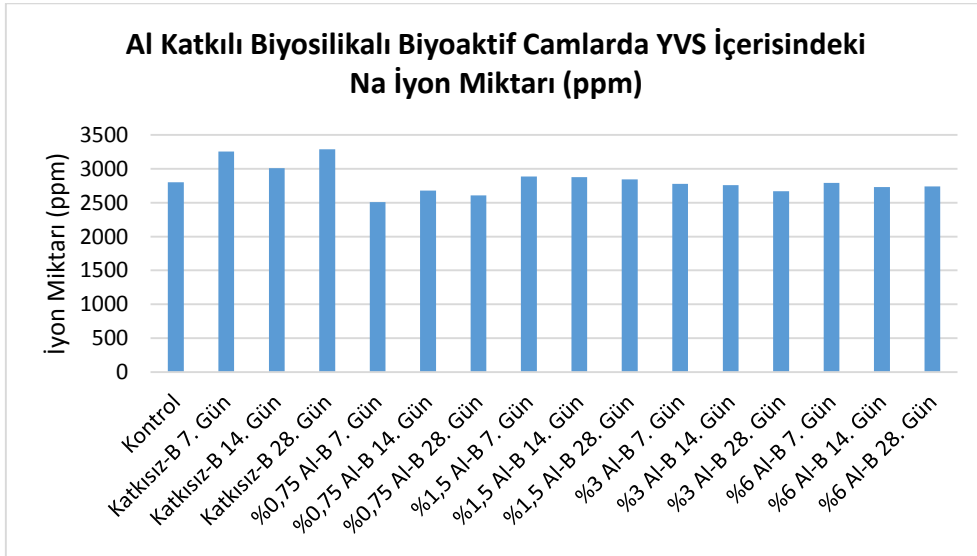
Şekil 5.9 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)

Kalsiyum iyonu HCA tabakası oluşumunda tüketildiğinden HCA oluşumlarında YVS içerisindeki kalsiyum iyonlarında azalma görülmektedir. Bu kalsiyum salımının azaldığını göstermekten çok HCA tabakasının oluştuğunu gösterir. Katkısız biyoaktif camların bulunduğu YVS sıvısında 14. günün sonunda kalsiyum iyon miktarında azalma meydana gelirken alüminyum katkılı tüm camlarda maksimum azalma 28. gün sonunda gerçekleşmiştir. Bu da Al katkısının HCA tabakası oluşumunu geciktirdiğini göstermektedir. Al katkısı açısından değerlendirildiğinde ise %3 Al katkılı biyosilikalı biyoaktif cam'ın en düşük kalsiyum değerine ulaştığı görülmektedir.



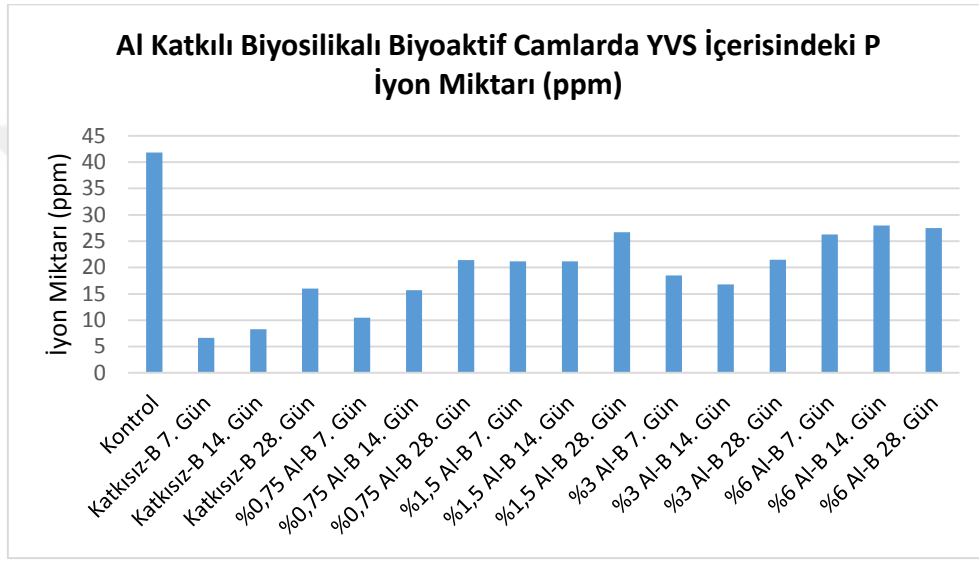
Şekil 5.10 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

Sodyum iyonu biyoaktif camların içerisinde sadece ağ yapıcı olarak görev alır ve hidroksiapatit in yapısına katılmazlar. YVS sıvısı içerisindeki sodyum iyon miktarına bakıldığında alüminyum katkısız biyoaktif camlardaki sodyum iyon salımının alüminyum katkılı tüm biyocamlardaki sodyum iyon salımından daha fazla olduğu görülmektedir. Bazı Al katkılı camlarda ve özellikle %0,75 alüminyum katkılı camlarda sodyum iyon miktarında kontrol sodyum miktarına göre azalmalar meydana gelmiştir. Bunun nedeninin hidroksiapatit çökmesi oluşurken biyoaktif camların üzerinde HCA çökmesi oluşurken arada kalan sodyum iyonlarının varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir.



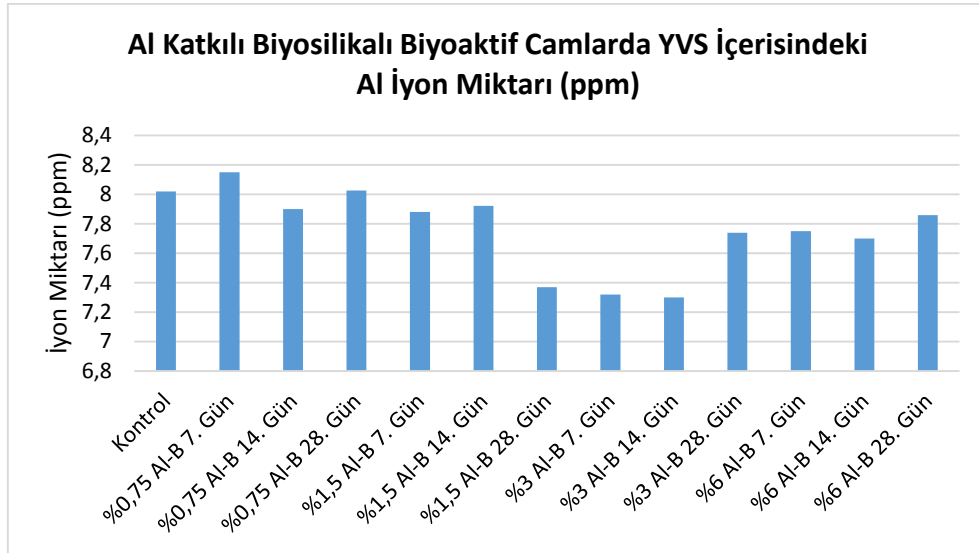
Şekil 5.11 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

Fosfat iyonları YVS içerisindeki kalsiyum iyonları ile birleşerek kalsiyum fosfatı ve daha sonra da HCA tabakasını oluştururlar. Şekil 5.12’ de verilen fosfor iyon miktarı değişimini bu açıdan incelediğimizde katkısız camlardaki fosfor iyonları miktarının katkılı olanlardan daha az olduğu görülmektedir. Katkısız camlardaki P iyonlarının 7. gün sonunda az olmasının nedeni ancak 7. gün boyunca gerçekleşen hızlı HCA tabakası oluşumu ile açıklanabilir. Al katkılı biyoaktif camların içerisinde fosfor iyonlarındaki en fazla azalmanın %0,75 alüminyum katkılı camlarda olduğu görülmektedir. Tüm haftalık değerler incelendiğinde Al katkısı arttıkça HCA tabakası oluşumlarının geciktiği sonucuna varılabilir.



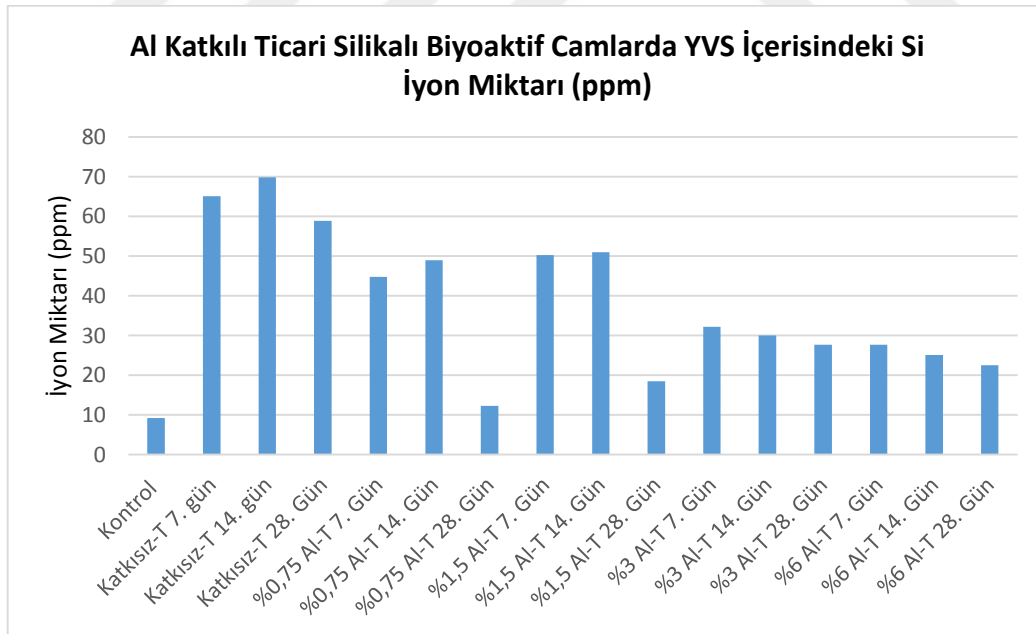
Şekil 5.12 Al Katkılı Biyosilikali Camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

Şekil 5.13’te verilen YVS sıvısı içerisindeki Al Katkılı Biyosilikali camlarda alüminyum iyon miktarına baktığımız zaman sıvı içerisindeki Al iyonlarının yedinci gün sonunda daha fazla olduğu gözlenmektedir. Bu da ilk 7 günde Al iyonlarının vücut sıvısına karıştığını göstermektedir. 14. Gün sonunda ise iyon salım miktarı azalmaktadır. Al katkısı üzerinden inceleme yaptığımızda ise en az Al salımının %3 Al katkılı biyosilikali biyoaktif camda olduğu görülmüştür.

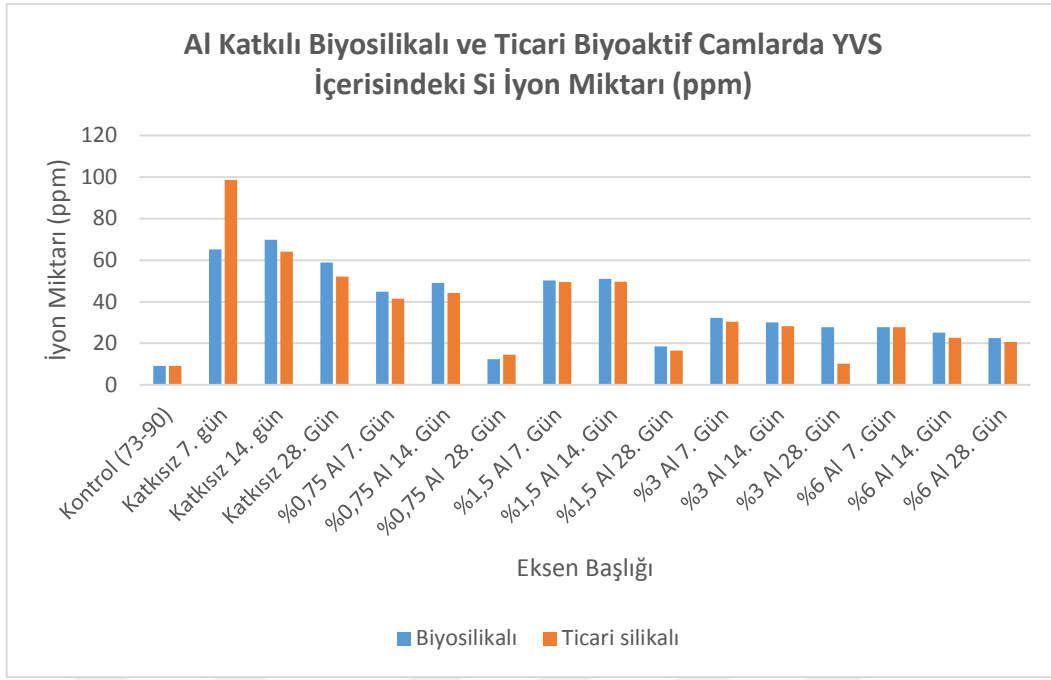


Şekil 5.13 Al Katkılı Biyosilikalı Camlarda YVS İçerisindeki Al İyon Miktarı (ppm)

Ticari silikalı biyoaktif camların silis iyon salımlarını incelediğimizde biyosilikalı olanlar ile benzerlikleri görülmektedir(Şekil 5.14 ve Şekil 5.15). Özellikle Al katkılı ticari silikalı biyoaktif camlardaki iyon salımlarındaki azalma biyosilikalı biyoaktif camlarla benzerlik göstermektedir. İlk hafta ticari silikalı katkısız biyoaktif camlar biyosilikalı biyoaktif camlara göre daha fazla silisyum salımı yapmışlardır.



Şekil 5.14 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)



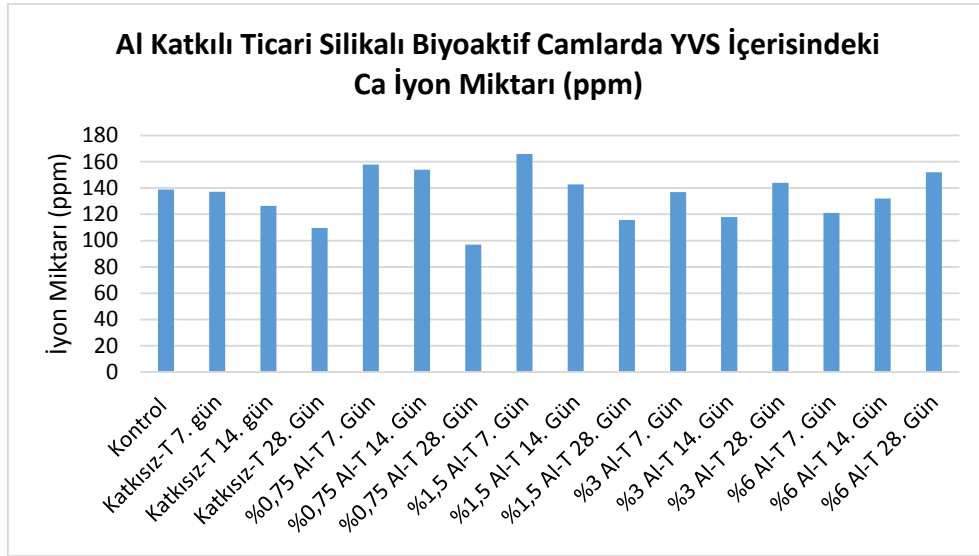
Şekil 5.15 Al Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)

YVS içerisinde kalsiyum miktarına baktığımız zaman ticari silikalı katkısız biyoaktif camlarda da beklenildiği gibi kalsiyum miktarında azalma meydana geldiği görülmektedir.

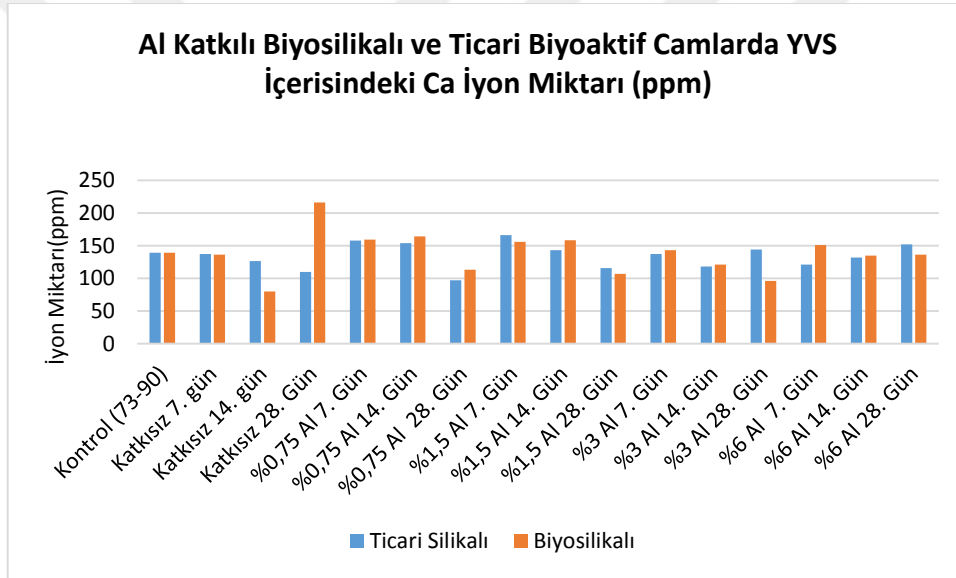
Şekil 5.17 de katkısız biyosilikalı ve ticari silikalı biyoaktif camları karşılaştırdığımızda biyosilikalı camlarda 7. ve 14. günlerde önemli ölçüde azalmaların olduğu ticari silikalı camlarda ise 28. günde en fazla miktarda kalsiyum miktarında azalma görülmektedir. Bu da HCA tabakasının oluşumunun biyosilikalı camlarda ilk haftalarda daha hızlı oluştuğunun bir göstergesidir. Şekil 5.20 deki fosfor iyon salımındaki paralel azalma da bunu desteklemektedir.

Alüminyum katkılı ticari silikalı camlarda ise alüminyum miktarı arttıkça kalsiyum miktarının azaldığı görülmektedir (Şekil 5.16). Bu da Al miktarının HCA tabakasının oluşumunu geciktirmesinden kaynaklanmaktadır.

Alüminyum katkılı ticari silikalı ve biyosilikalı camlarda kalsiyum miktarını karşılaştırdığımızda hemen hemen tüm katkılarda aynı davranışı göstermiştir (Şekil 5.17).

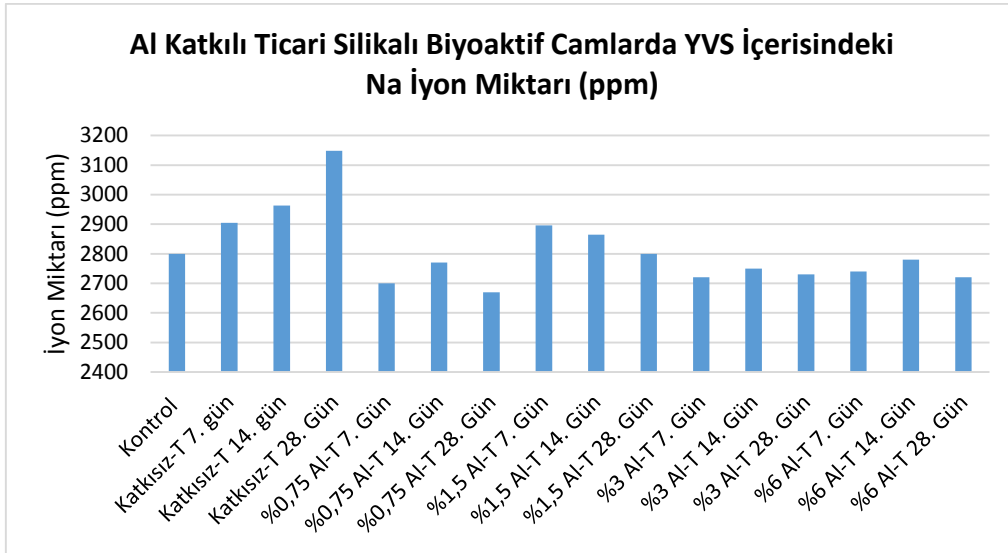


Şekil 5.16 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

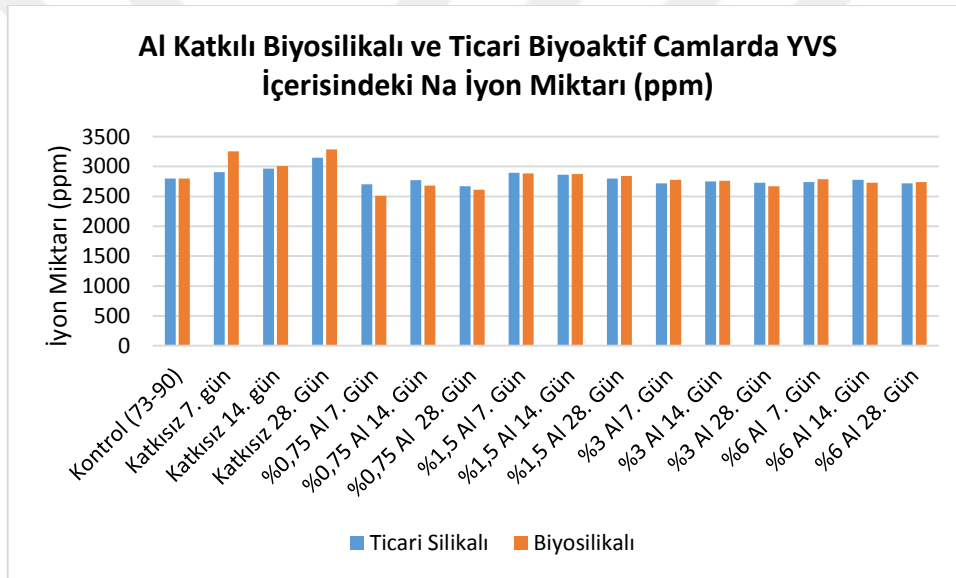


Şekil 5.17 Al Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

Ticari silikalı camlarda YVS içerisindeki sodyum iyon miktarına bakıldığında biyosilikalı camlarda olduğu gibi alüminyum katkısız biyoaktif camlardaki sodyum iyon salımının alüminyum katkılı tüm biyocamlardaki sodyum iyon salımından daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 5.18 ve Şekil 5.19).

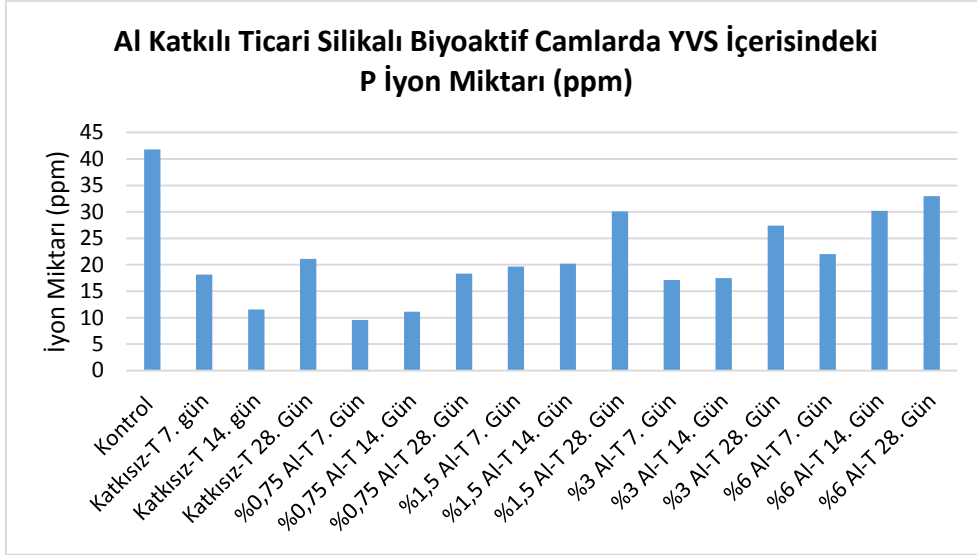


Şekil 5.18 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

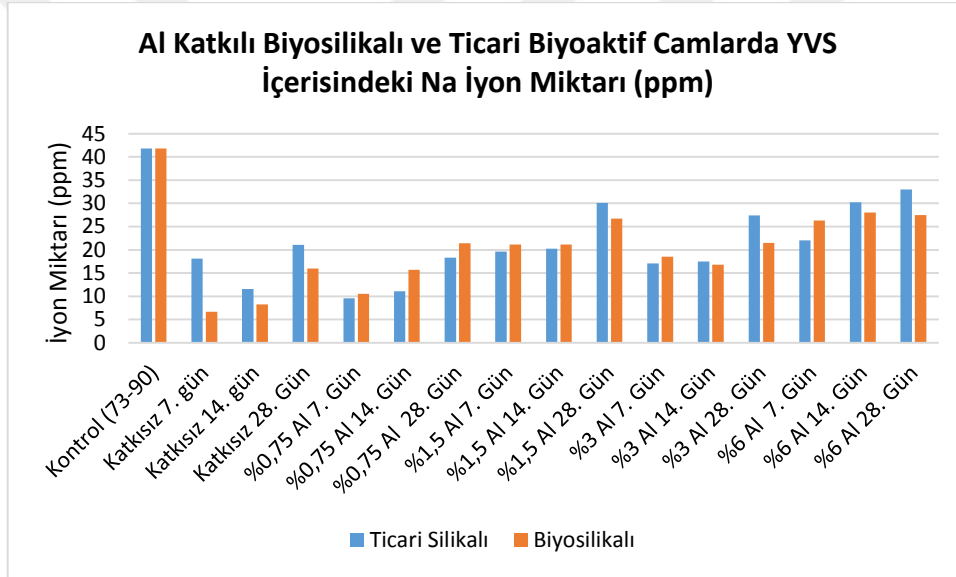


Şekil 5.19 Al Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

Şekil 5.20 incelendiğinde katkısız camlarda başlangıçtaki YVS ile karşılaştırdığımızda fosfor iyon miktarının azaldığı görülmektedir. 14. günde azalma daha yüksek orandadır. Al katkı oranının artması ile fosfor iyon miktarındaki azalmalar daha düşük seviyede kalmıştır. Fakat %0,75 Al katkılı camlarda katkısız camlara göre fosfor iyon miktarının daha az olduğu görülmektedir. Bundan dolayı HCA tabakasının oluşumunda %0,75 Al katkısının olumlu etkisinin olduğu söylenebilir. Şekil 5.21 deki verilen katkısız ticari ve biyosilikalı camları karşılaştırdığımızda fosfor miktarları biyosilikalı camlarda daha düşük oranda olduğu görülmekte ve böylece HCA tabakasının daha hızlı bir şekilde oluştuğu anlaşılmaktadır.

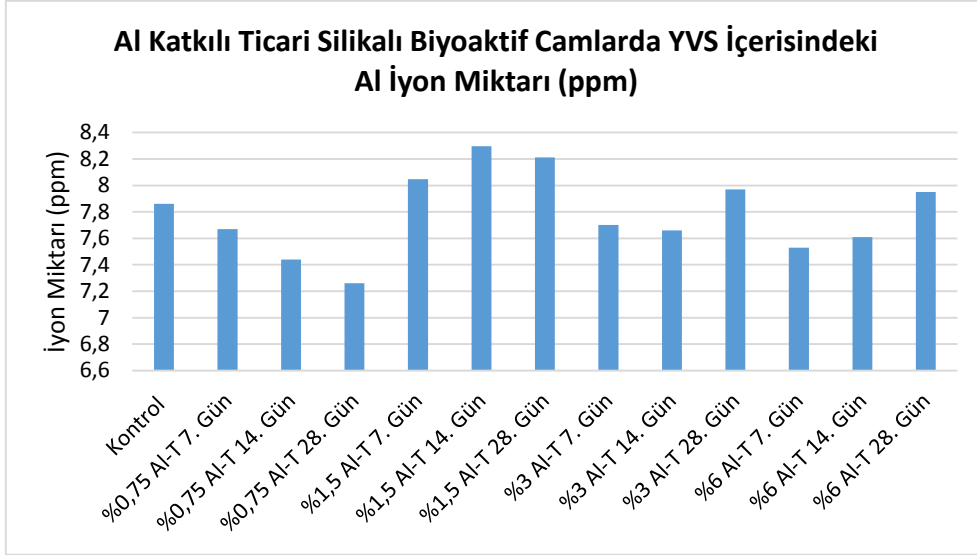


Şekil 5.20 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS içerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

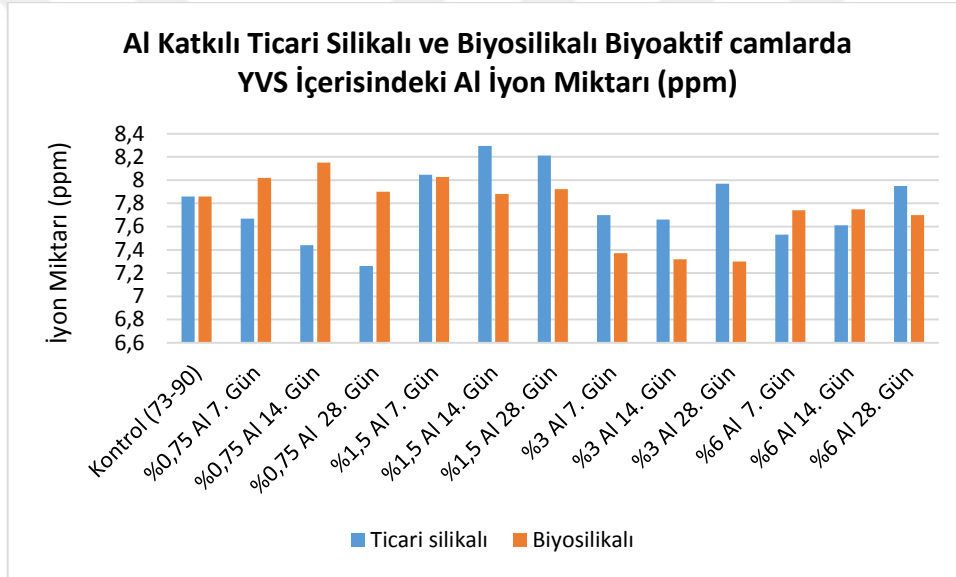


Şekil 5.21 Al Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS içerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

Ticari silikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Al iyon miktarı sonuçları incelendiğinde iyon salımının % 1,5 alüminyum içeren camlarda daha fazla olduğu görülmektedir. Ancak % 0,75 Al katkılı camlarda alüminyum iyon miktarının azaldığı görülmektedir. %0,75 Al katkılı ticari silikalı camlarda ağırlık kaybının diğerlerine göre en fazla görülmüştür.(Şekil 5.22) Şekil 5.23'te biyosilikalı ve ticari silikalı biyoaktif camları karşılaştırdığımızda YVS Al iyon miktarındaki azalma ticari silikalı camlarda %0,75 Al katkılı olanlarda görülürken biyosilikalı camlarda %3 Al katkılı camlarda görülmüştür.



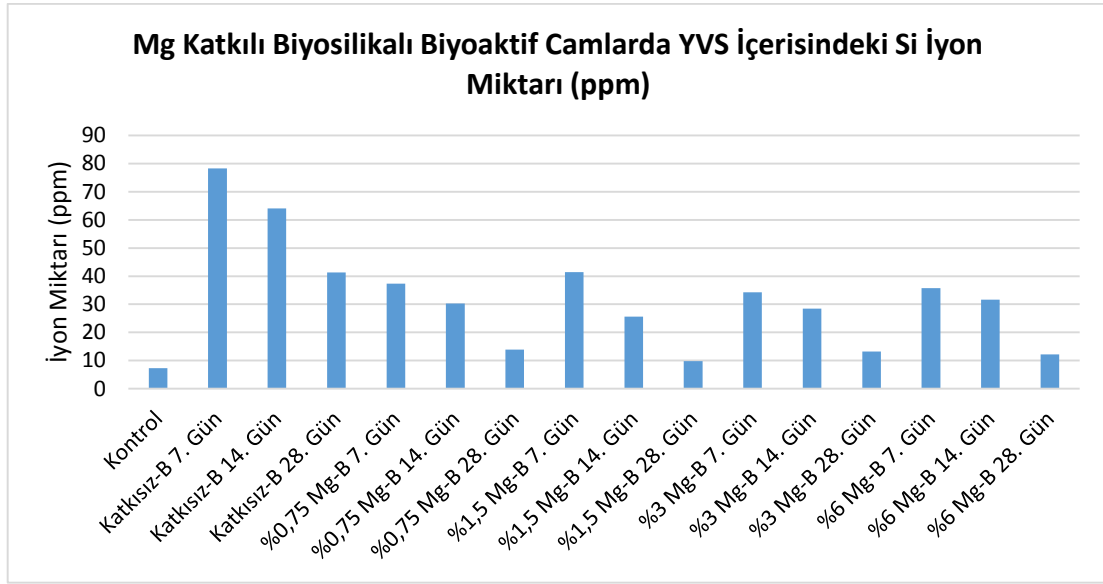
Şekil 5.22 Al Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Al İyon Miktarı (ppm)



Şekil 5.23 Al Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Al İyon Miktarı (ppm)

5.3.2 Mg Katkılı Biyoaktif Camların İnkübasyonu Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi

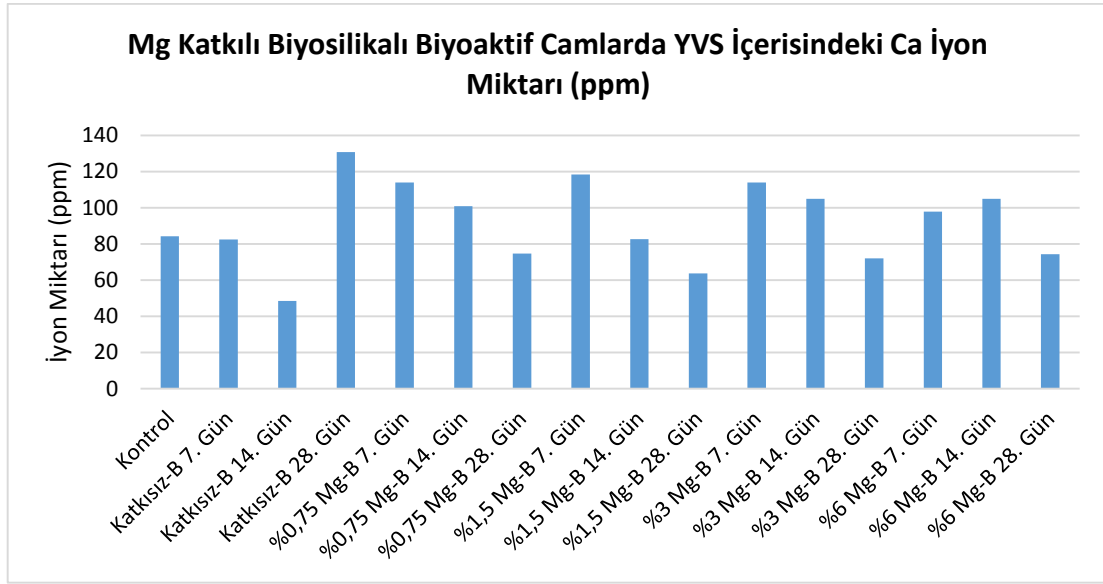
Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camların YVS içerisindeki silisyum iyon miktarlarına baktığımızda katkısız olan camların silisyum değerleri magnezyum katkılı olanlardan çok daha yüksektir. Bu da katkısız camların daha iyi çözündüğünü göstermektedir. Camların çözünürlüğü ilk haftadan sonra giderek azalmaktadır. Katkısız camlarla magnezyum katkılı camları karşılaştırdığımızda 7. günün sonunda Si iyon miktarının hemen hemen yarı yarıya olduğu saptanmıştır. (Şekil 5.24) Haftalar ilerledikçe Si salımı katkılı camlarda azalmaktadır.



Şekil 5.24 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)

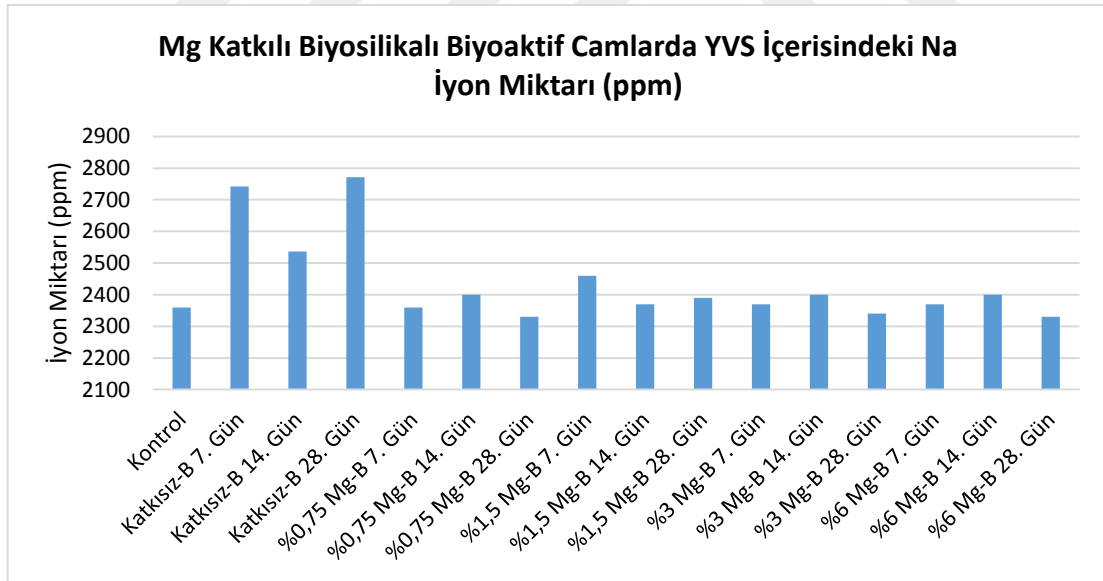
Kalsiyum iyon miktarı incelendiğinde, tüm biyoaktif camlarda birinci haftadan sonra haftalar ilerledikçe Ca iyon miktarında azalmalar görülmektedir. Katkılı ve katkısız camlar karşılaştırıldığında katkısız camlarda 7. ve 14. günlerdeki kalsiyum iyon miktarlarının katkılı camlara göre daha düşük olduğunu bu camlarda HCA tabakasının daha hızlı bir şekilde oluştuğunun göstergesi olabilir.

Katkılı camlarda tüm katkı miktarlarında kalsiyum iyon miktarının haftalara göre YVS deki kalsiyum iyon miktarı göz önüne alındığında %1,5 Mg katkılı hariç 7. ve 14. günde arttığı fakat 28. günde azaldığı bu da daha yavaş bir HCA tabakası oluştuğunu göstermektedir (Şekil 5.25). %1,5 Mg katkılı da kalsiyum miktarında 7. ve 14. günde daha düşük oranlarda kalsiyum miktarı gözlenmiştir. Tezimizde magnezyum katkılı cam ile ilgili bulduğumuz sonuçlar literatürde yer alan Mg nin ACP yapısının HCA ya dönüşümünü inhibe ederek yavaşlattığını onaylar niteliktedir [57].



Şekil 5.25 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

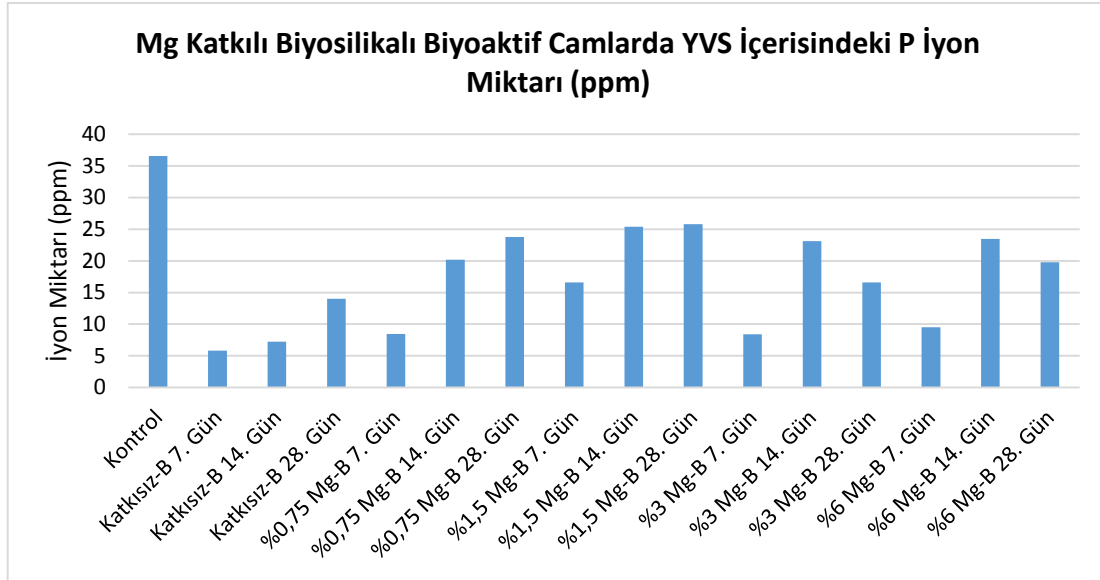
Sodyum iyon miktarının beklenildiği üzere Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda artışı net bir biçimde gözlenmemiştir. Al katkılı camlarda olduğu gibi Na iyon miktarı bütün haftalarda artmıştır. Katkılı camlarda sadece % 1,5 Mg katkılı biyoaktif camda 7. günün sonunda sodyum iyon miktarı 100 ppm kadar artmıştır.



Şekil 5.26 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

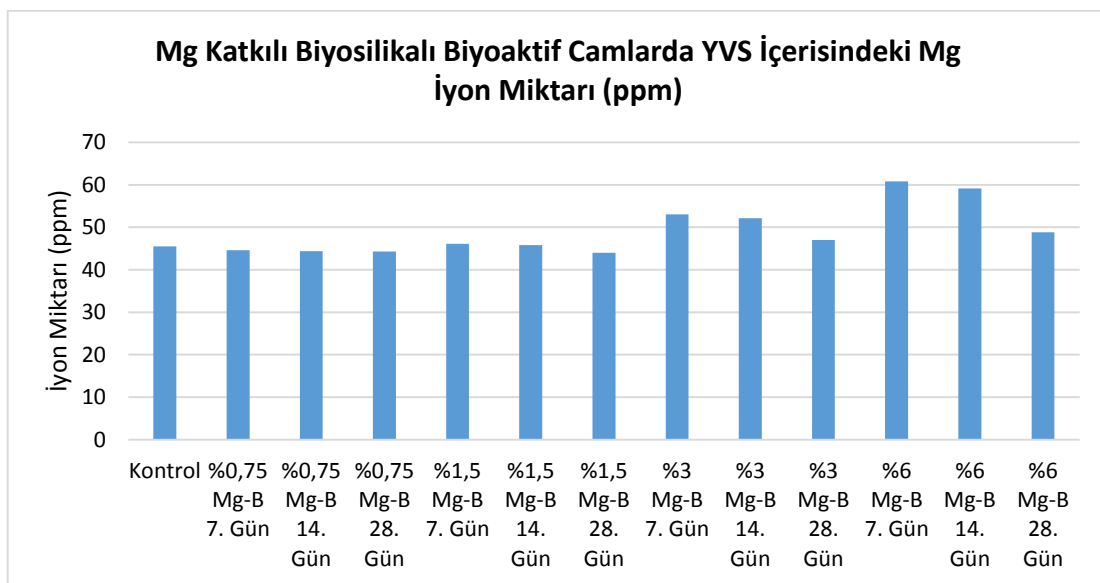
Fosfor iyonları HCA tabakasının temel taşlarındandır. Bu nedenle HCA oluşumuyla azalmaları beklenmektedir. Mg katkılı camları incelediğimizde de katkısız biyosilikalı camlarda 7. günde iyon miktarının çok düşük olduğu gözlenmektedir. Bunun nedeni 7. gün öncesinde başlayan HCA tabakası oluşumudur. Mg katkılı camlarda da bu görülmektedir. Ancak katkısız camlar ile

Mg katkılı camları karşılaştırdığımızda fosfor iyon miktarındaki azalmanın katkısız camlarda daha fazla olduğu görülmektedir. Bunun sebebi katkısız camlar üzerinde daha fazla HCA tabakası oluşumu olarak görülebilir. Katkılı camlar içerisinde %3 Mg katkılı camlarda tüm haftalarda en düşük fosfor iyon değerleri görülmüştür.



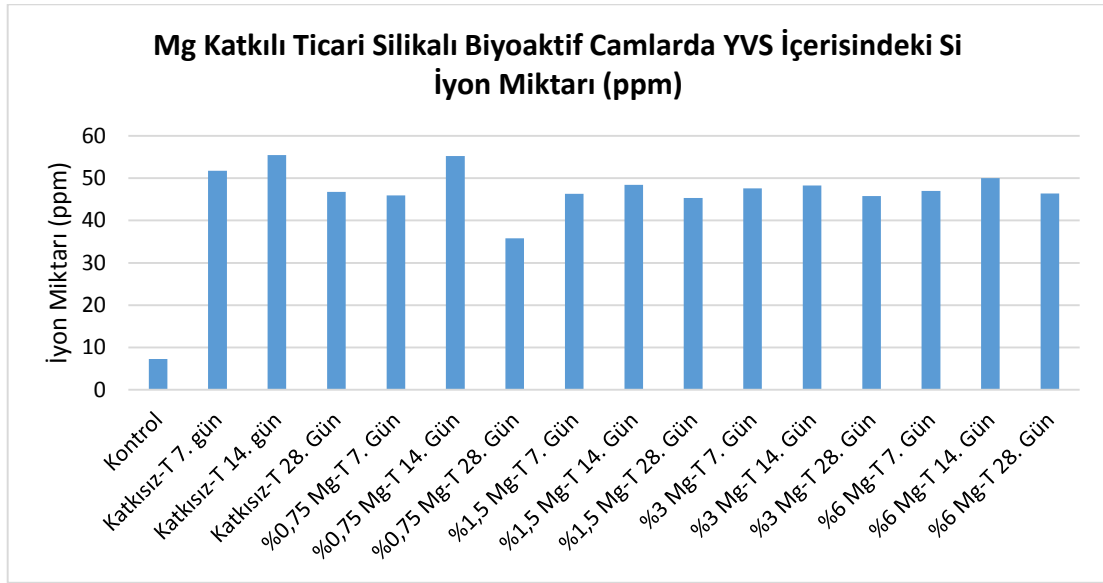
Şekil 5.27 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

Şekil 5.27'deki magnezyum iyon miktarına bakıldığında zamanla %0,75 Mg katkılı biyoaktif cam YVS içerisindeki Mg iyon miktarını değişmediği görülmektedir. %3 ve %6 Mg katkılı camlarda 15 ppm lere varan bir artış söz konusudur. Bu da %3 ve %6 Mg katkılı camların daha fazla magnezyum içermesinden kaynaklanmaktadır.

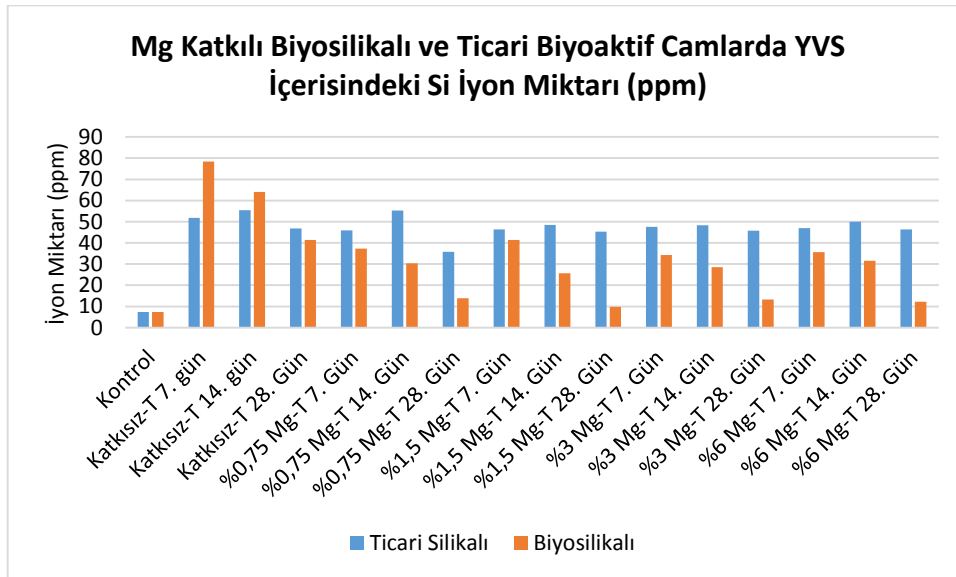


Şekil 5.28 Mg Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Mg İyon Miktarı (ppm)

Ticari silikalı camlarda Mg katkısının Si iyonunun çözünürlüğünde çok önemli bir katkısı olmamıştır. Tüm haftalarda Si çözünürlüğü devam etmiştir. Ticari silikalı biyocam ile biyosilikalı biyoaktif camın silisyum iyon miktarlarını karşılaştırdığımızda biyosilikalı biyocamdaki silisyum değerlerinin 7. günde daha yüksek olduğu görülmektedir. Buradan da biyosilikalı biyocamların silisyum iyonları açısından değerlendirirsek daha hızlı çözünmeye başladığı sonucuna varabiliriz (Şekil 5.29). Ancak Mg katkısının etkisine baktığımız zaman; ticari silikalı biyoaktif camlarda Mg katkısı Si iyon miktarında önemli bir değişiklik yaratmazken biyosilikalı camlarda Mg katkısının Si iyon salımını azalttığı görülmektedir.

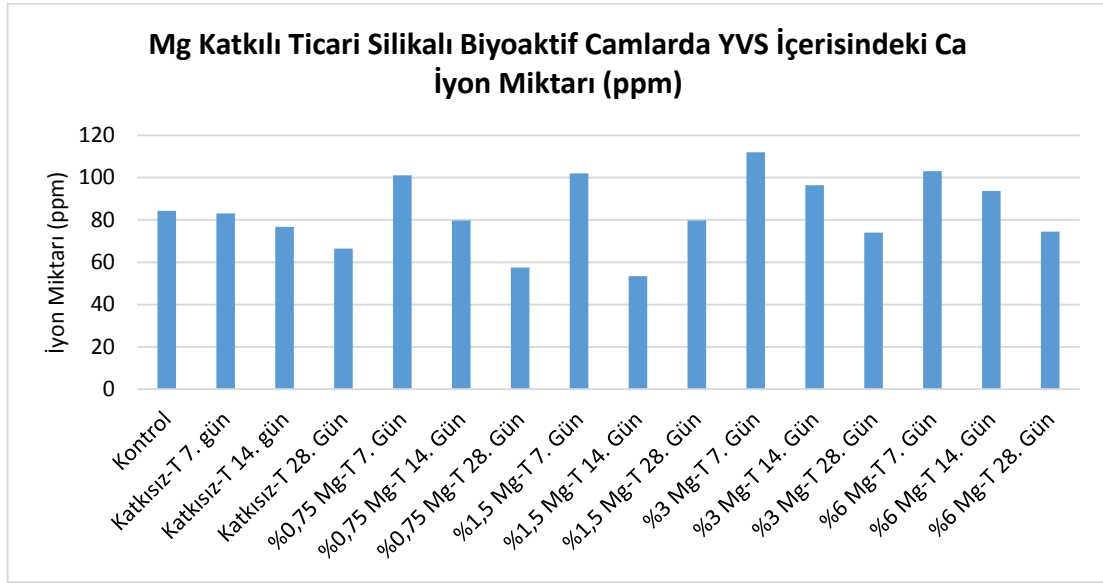


Şekil 5.29 Mg Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)

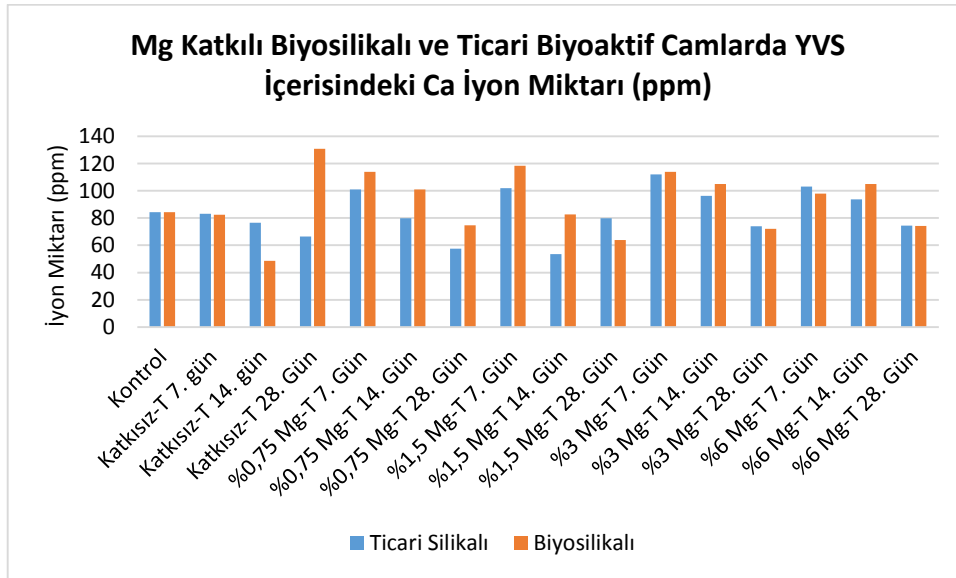


Şekil 5.30 Mg Katkılı Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)

Kalsiyum iyon miktarı incelendiğinde, katkısız biyoaktif camlarda tüm haftalarda Ca iyon miktarında azalmalar görülmektedir. Bu da HCA tabakasının oluşumunu göstermektedir. Katkılı camlarda ise 7. günde kalsiyum iyon miktarında artış sözkonusudur, 14. ve 28. günlerde kalsiyum miktarında azalmalar mevcuttur. 14. gün ve 28. günlerde %0,75 ve %1,5 Mg katkı camlarda daha önemli azalmaların olduğu saptanmıştır. Mg katkıli biyosilikalı ve ticari silikalı camları karşılaştırdığımızda ticari camlara nazaran biyosilikalı camlarda kalsiyum miktarları daha yüksek bulunmuştur (Şekil 5.31).

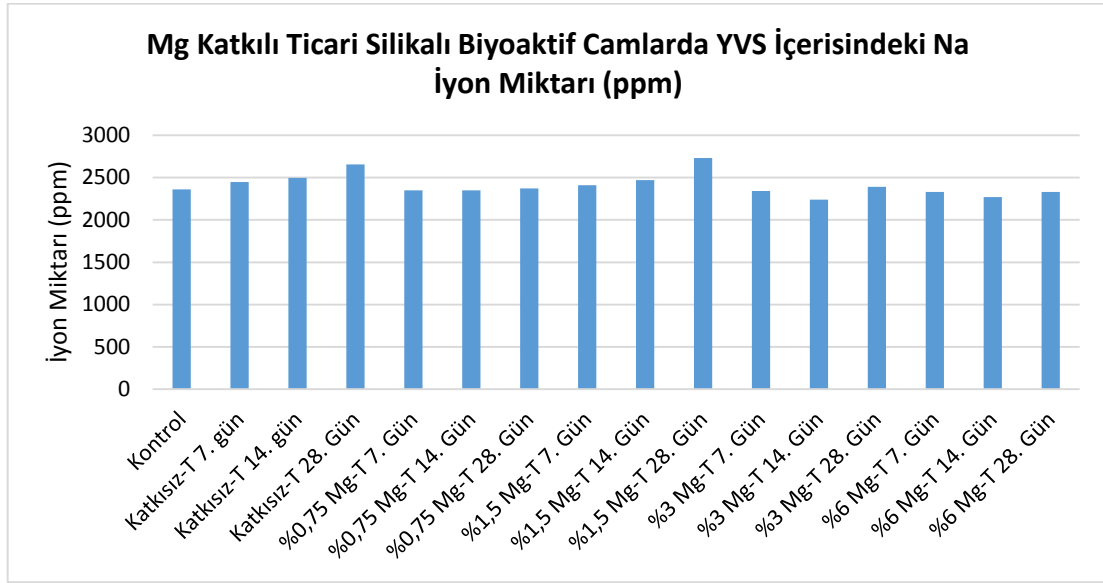


Şekil 5.31 Mg Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

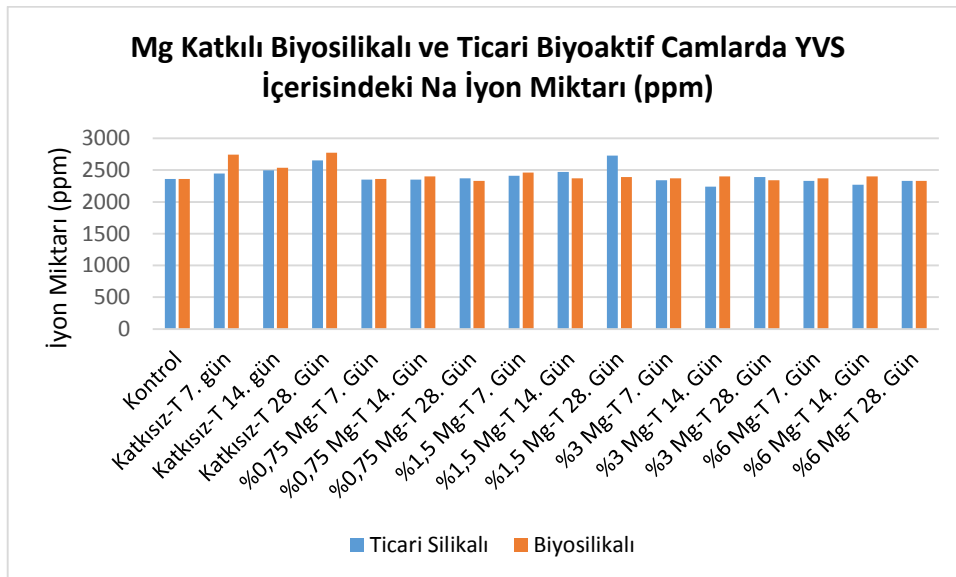


Şekil 5.32 Mg Katkılı Ticari silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

YVS içerisinde sodyum iyon miktarı en yüksek katkısız camlarda görülmüştür. Genel olarak sodyum iyon miktarı açısından ticari silikalı Mg katkılı camlarda Mg katkısının etkisi görülmemiştir. Sodyum miktarı hemen hemen birbirlerine yakın seviyelerdedir. Sadece % 1,5 Mg katkılı ticari silikalı camlarda sodyum iyon miktarları katkısız camlarla hemen hemen aynı seviyede görülmüştür. Mg katkılı biyosilikalı ve ticari silikalı biyoaktif camları karşılaştırdığımızda ise her ikisinde de sodyum iyon salımı açısından en olumlu sonucu % 1,5 Mg katkısının verdiği görülmüştür.

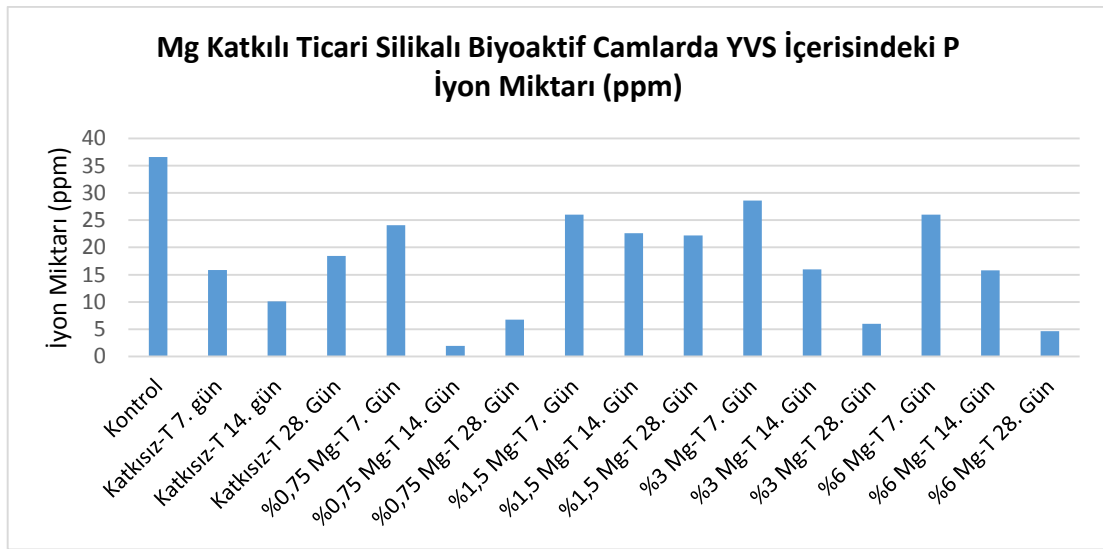


Şekil 5.33 Mg Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

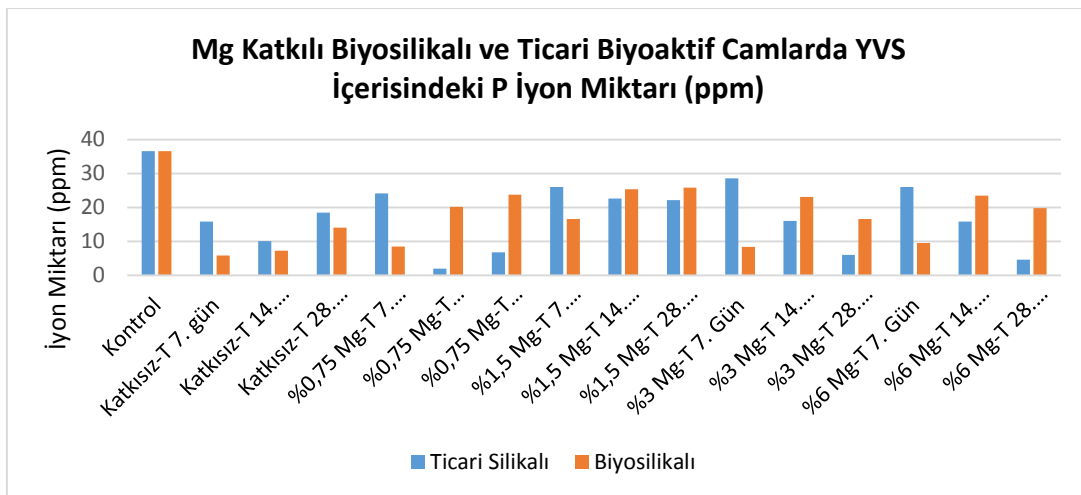


Şekil 5.34 Mg Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

Şekil 5.35 de verilen ticari silikalı camlarda fosfor iyon miktarları kontrol numunesine göre tüm haftalarda azalma göstermiştir. Katkısız biyoaktif camlarda 7. gündeki azalma katkılı camlara göre daha fazladır. Bu da HCA tabakasının 7. günde daha hızlı bir şekilde oluştuğunun bir göstergesidir. Katkılı camlarda 28. günün sonunda %0,75 %3 ve %6 Mg katkılı camlarda YVS içerisinde fosfor iyonunun önemli ölçüde azaldığı görülmektedir. Ticari ve biyosilikalı camları karşılaştırdığımızda biyosilikalı camlarda 7. günde fosfor miktarının daha düşük olduğu görülmektedir. Bu da apatit oluşumunun bir göstergesi olduğundan biyosilikalı katkılı camlarda ilk haftalarda daha hızlı apatit oluştuğu ancak sonraki günlerde apatit oluşumunun daha yavaş geliştiği söylenebilir.

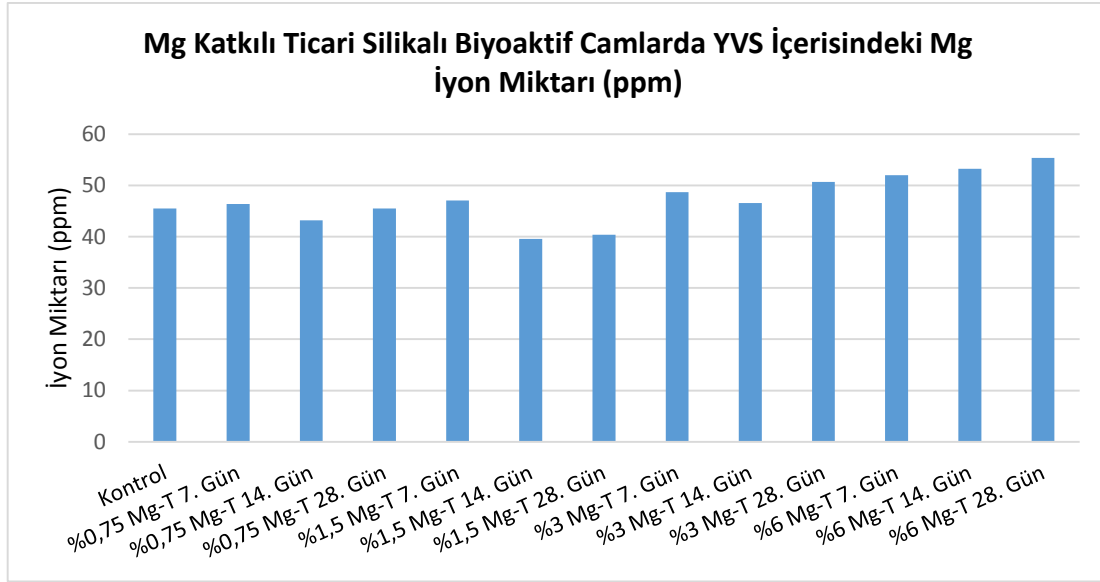


Şekil 5.35 Mg Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

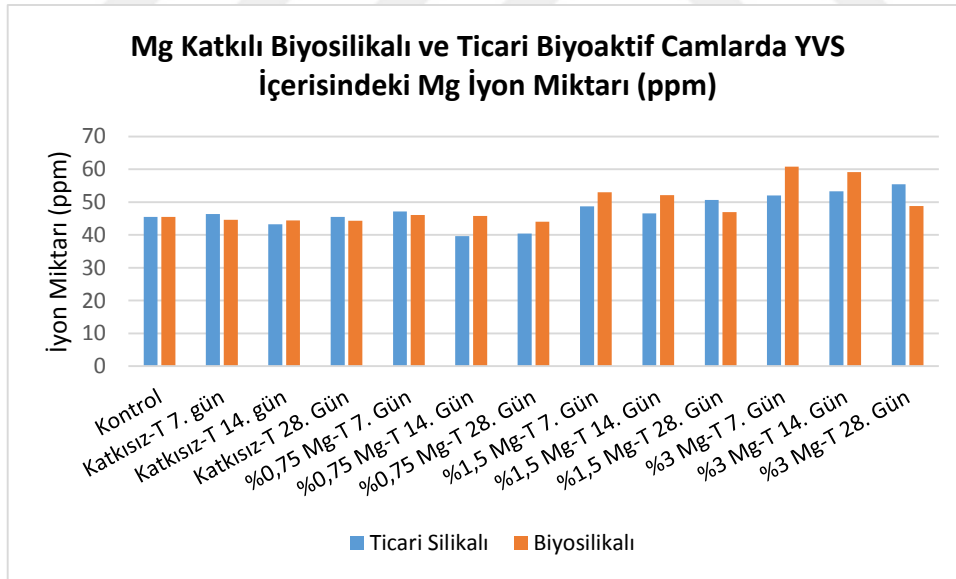


Şekil 5.36 Mg Katkılı Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

YVS içerisindeki magnezyum iyon miktarına bakıldığı zaman %0,75 Mg katkıli biyoaktif camda YVS içerisindeki Mg iyon miktarını değışmediğı gör÷lmektedir. %6 Mg katkıli camlarda 10 ppm lere varan bir artış söz konusudur. Bu da %3 ve %6 Mg katkıli camların daha fazla magnezyum içermesinden kaynaklanmaktadır.



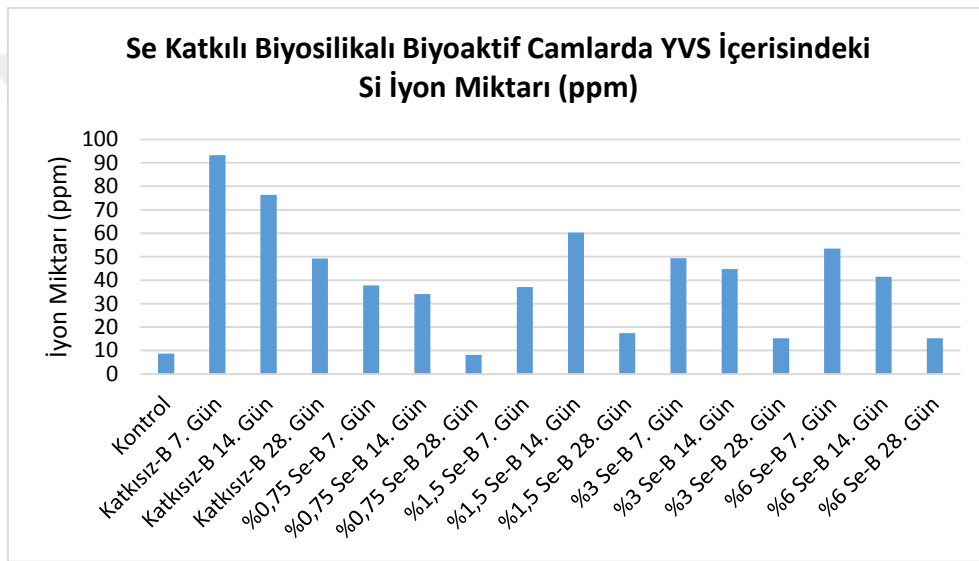
Şekil 5.37 Mg Katkıli Ticari Silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Mg İyon Miktarı (ppm)



Şekil 5.38 Mg Katkıli Biyosilikalı ve Ticari Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Mg İyon Miktarı (ppm)

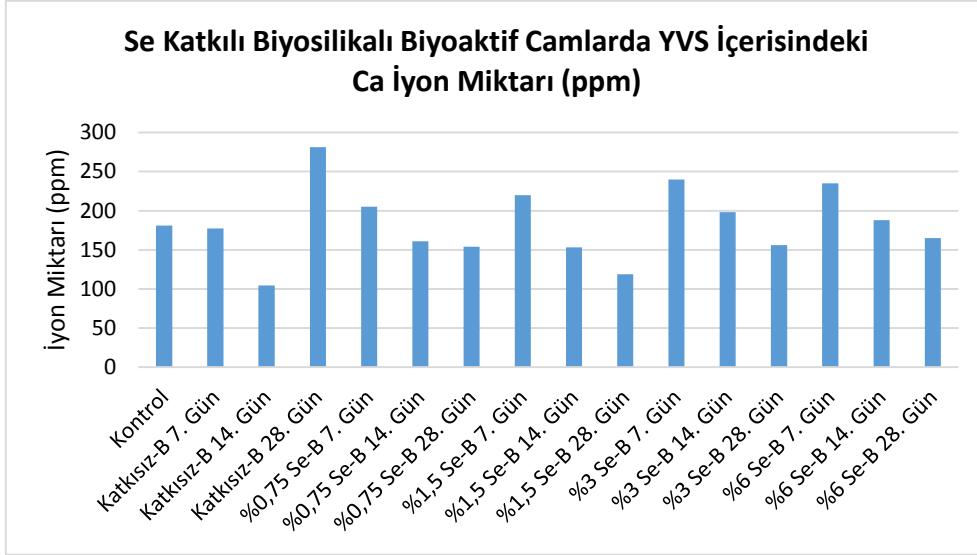
5.3.3 Se Katkılı Biyoaktif Camların İnkübasyon Sonrası Yapay Vücut Sıvısının ICP-OES Analizi

Selenyum katkılı biyosilikalı camların YVS içerisindeki silisyum iyon salımını incelendiğinde katkısız biyoaktif camlarda silisyum iyon salımının Se katkılı biyoaktif camlara göre daha fazla olduğu gözlenmektedir. İlerleyen haftalarda Si iyon salımı azalmıştır. Se katkısı Si iyon salımını azaltmıştır. Ancak Se katkı miktarının artışı ile iyon salımı doğru orantılı olarak değişmemektedir. 7. gün sonunda Se katkılı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Si iyon miktarlarını incelediğimizde en yüksek Si miktarının %3 ve %6 Se katkılı biyosilikalı biyoaktif camda olduğu görülmektedir.



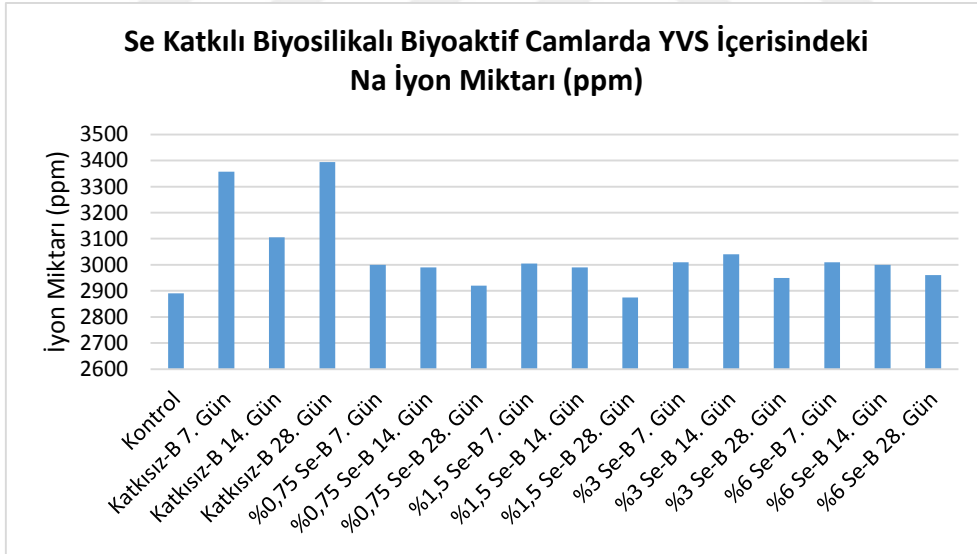
Şekil 5.39 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)

Kalsiyum iyon miktarlarına bakıldığında katkısız biyosilikalı camlarda kalsiyum miktarının 14. gün sonunda azaldığı daha sonra tekrar arttığı gözlenmiştir. Se katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda ise kalsiyum iyon salım miktarı düzenli bir şekilde haftalar ilerledikçe azalmıştır. Bu durum Se katkılı biyoaktif camlarda hidroksiapatit tabakası oluşumunun daha yavaş oluşumunun göstergesidir.



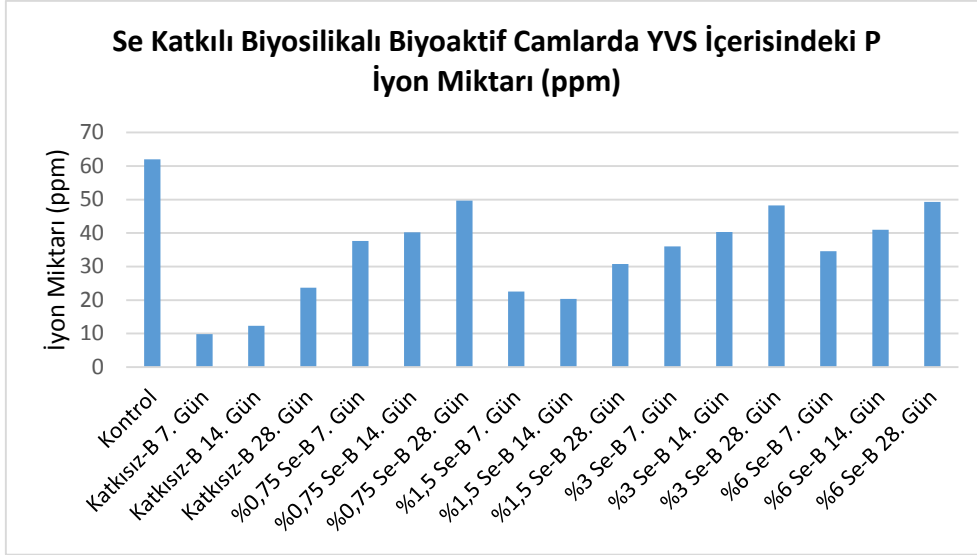
Şekil 5.40 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

Se katkılı ve katkısız biyosilikalı biyoaktif camlarda YVS içerisindeki Na miktarı beklenildiği gibi artmıştır. Katkısız camlarda salınan sodyum miktarı katkılılardan daha fazla olmuştur. Al ve Mg katkılı camlardaki Na salımı Se katkılı camlarla karşılaştırdığımızda Se katkılı camlarda Al ve Mg katkılarına nazaran daha yüksek Na iyon salımı gözlenmiştir.



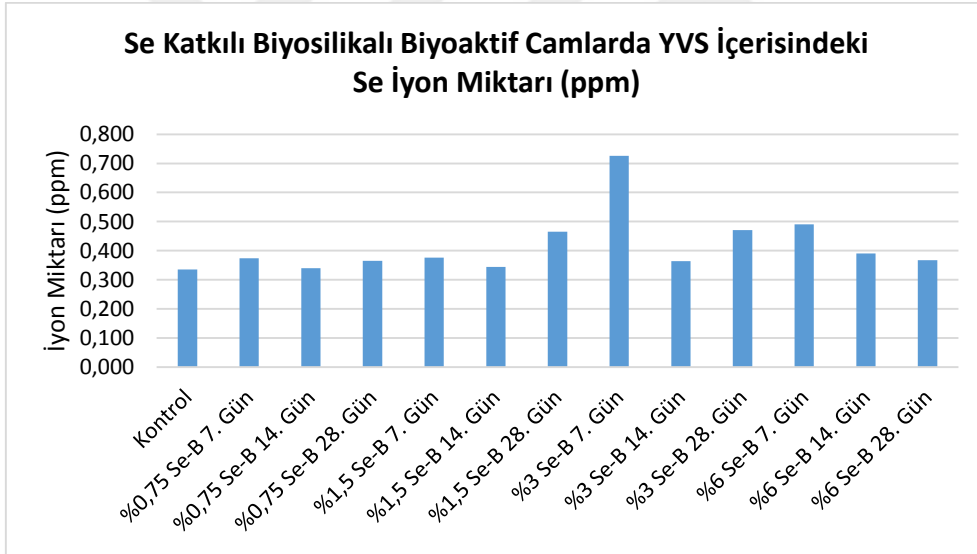
Şekil 5.41 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

Kalsiyum fosfat oluşurken YVS içerisindeki P iyonunun azalması beklenildiği üzere; P iyonu grafiklerine bakıldığında 7. günde bir azalma olduğu görülmektedir. Daha sonra iyon salımında bir artış meydana geldiği gözlenmektedir (Şekil 5.42). Sadece %1,5 Se katkılı camda 14. günde 7. güne yakın salım değeri görülmüş ve tüm katkılı camlar içerisinde de en düşük P iyon miktarına sahip katkılı cam olduğu belirlenmiştir.



Şekil 5.42 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

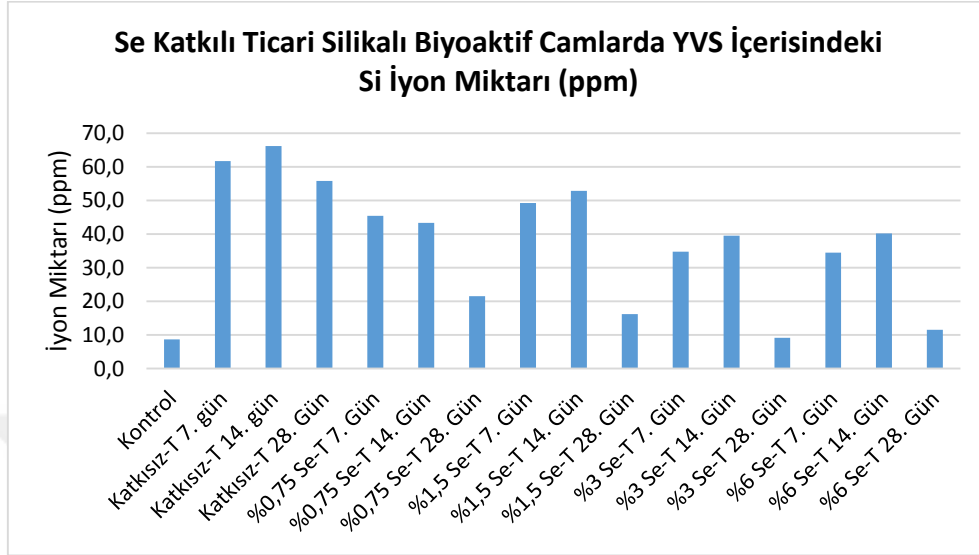
Bunun dışında %3 selenyum katkılı biyosilikalı biyoaktif camdaki salım miktarı diğerlerine göre daha fazladır.



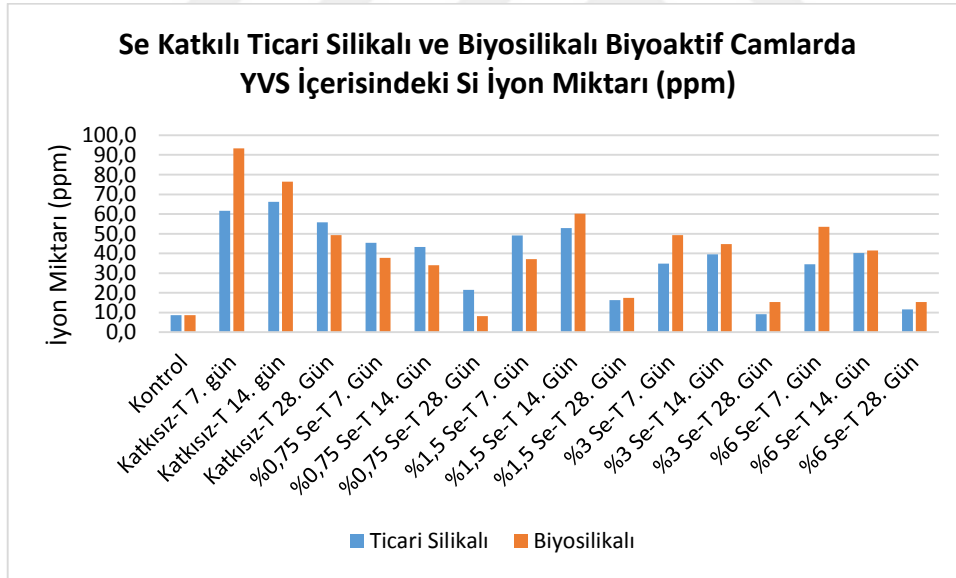
Şekil 5.43 Se Katkılı Biyosilikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

Ticari silikalı camları incelediğimizde silisyum iyonu açısından benzer sonuçlar görülmektedir. Ancak katkısız olan camlar incelendiğinde biyosilikalı camların Si iyonlarını 7. günde ticari silikalı olanlardan daha yüksek miktarda YVS içine saldıgı görülmüştür. Bu da biyosilikalı camların daha hızlı bir çözünme sağladığını göstermektedir. Selenyum katkılı olanlara bakıldığı zaman birbirine benzer sonuçlar görülmektedir. İlk hafta sonunda yapılan Si salımına baktığımızda %0,75 ve %1,5 Se katkılı ticari silikalı camların daha fazla salım yaptığı

görülmektedir. İlerleyen haftalarda Si salımının tüm Se katkılı camlar için giderek azaldığı saptanmıştır.



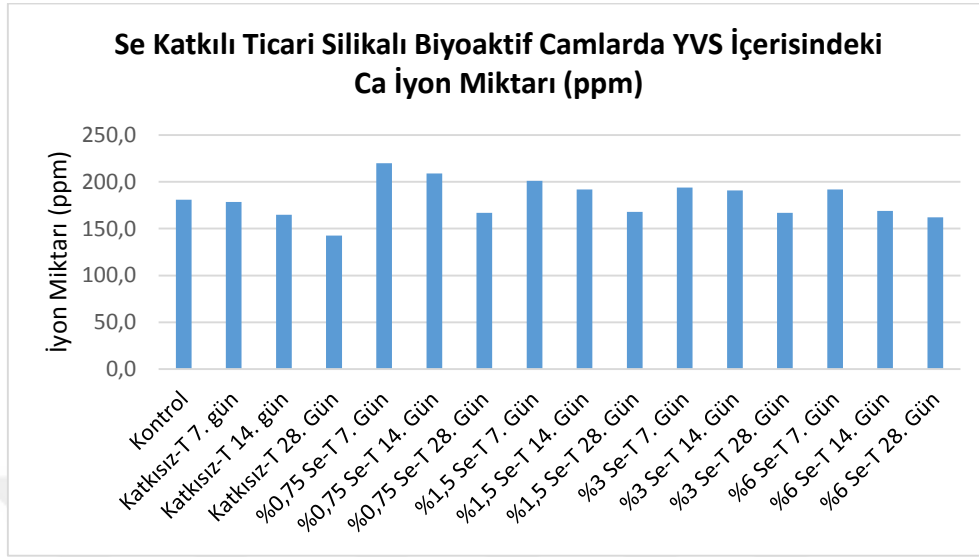
Şekil 5.44 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)



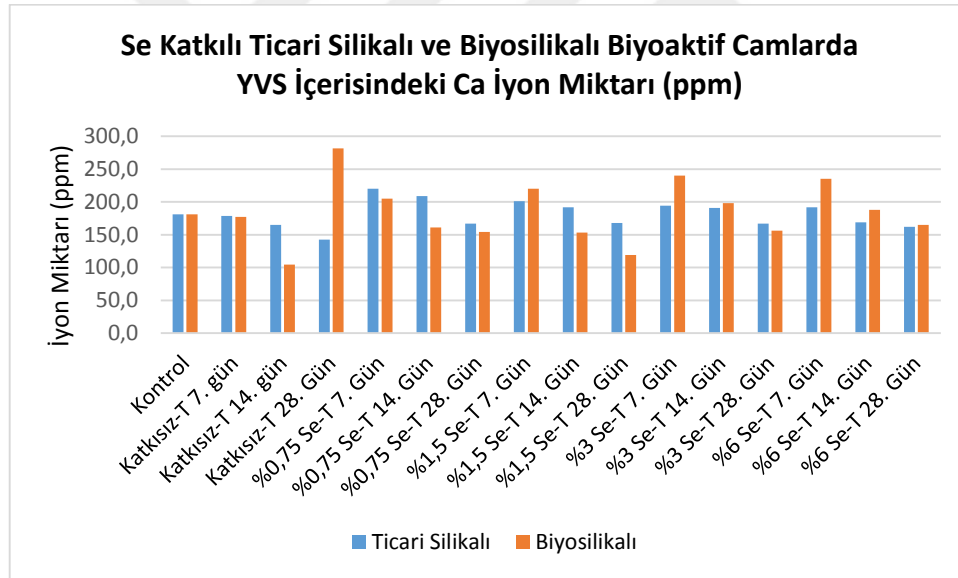
Şekil 5.45 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Si İyon Miktarı (ppm)

Kalsiyum sonuçlarına bakıldığında ise haftalar ilerledikçe ticari silikalı camlarda kalsiyum iyon azalmasının devam ettiği gözlenmektedir (Şekil 5.46). Katkısız biyosilikalı camlarda 14. gün sonunda kalsiyum miktarı minimum a inerken ticari silikalı katkısız camlarda devamlı bir azalış gözlenmektedir (Şekil 5.47). Bu durum kalsiyum fosfat tabakasının devamlı olarak ama yavaş bir şekilde oluşmasının sonucudur. Se katkısı ticari silikalı biyoaktif camların Ca iyon salımını

değiştirmedeği görülmektedir. Ancak biyosilikalı camlarda Ca iyon salımı değerlendirildiğinde Se katkısının Ca iyon salımındaki azalmayı geciktirdiği görülmektedir.

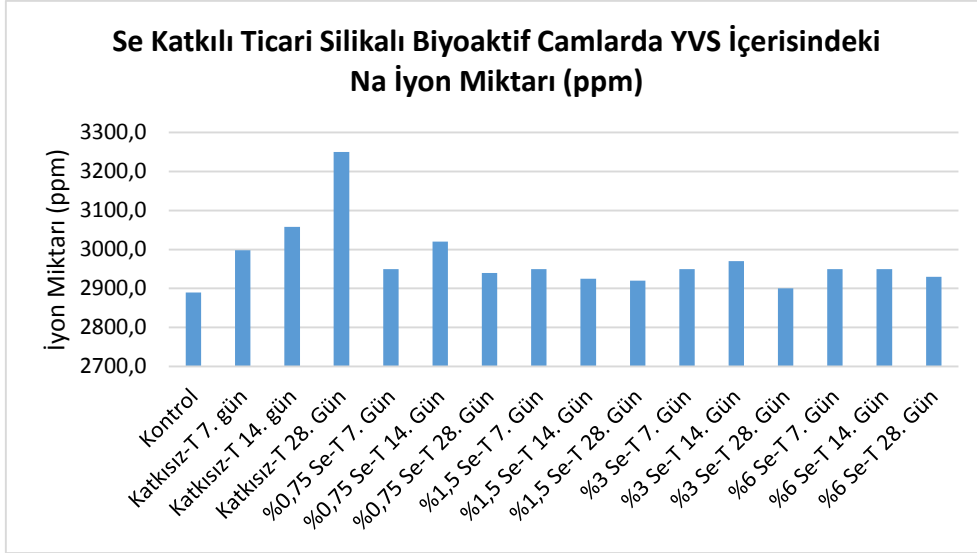


Şekil 5.46 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

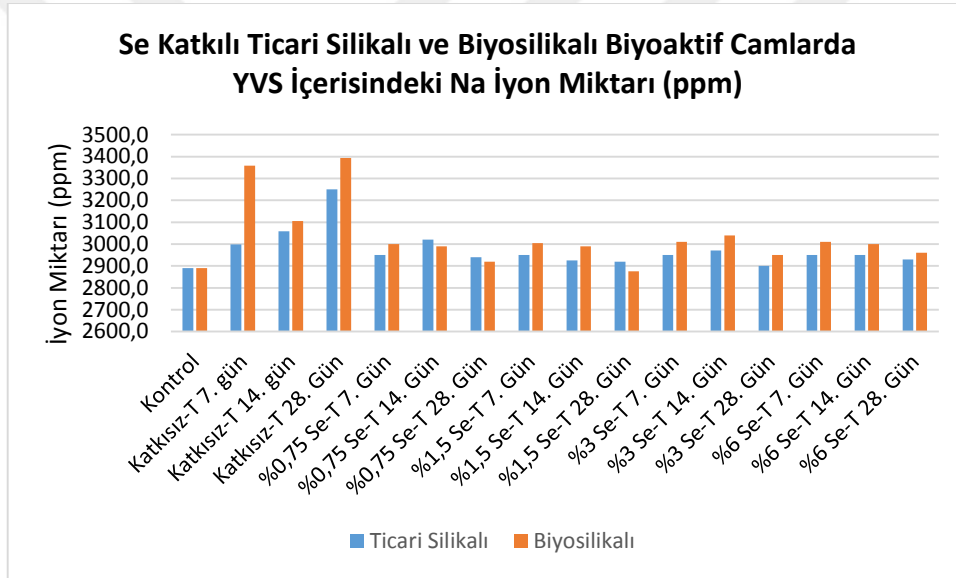


Şekil 5.47 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Ca İyon Miktarı (ppm)

Sodyum iyon grafikleri incelendiğinde sodyum iyonlarının beklenildiği gibi arttığı görülmüştür. Selenyum katkılı biyocamlarda sodyum iyon miktarının katkısız camlara göre daha düşük olduğu görülmüştür(Şekil 5.48 ve 5.49).

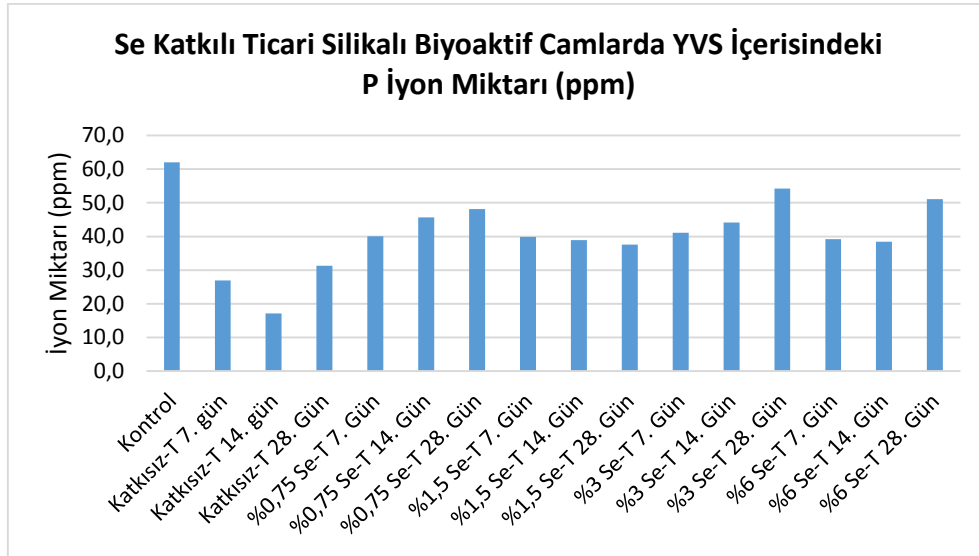


Şekil 5.48 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

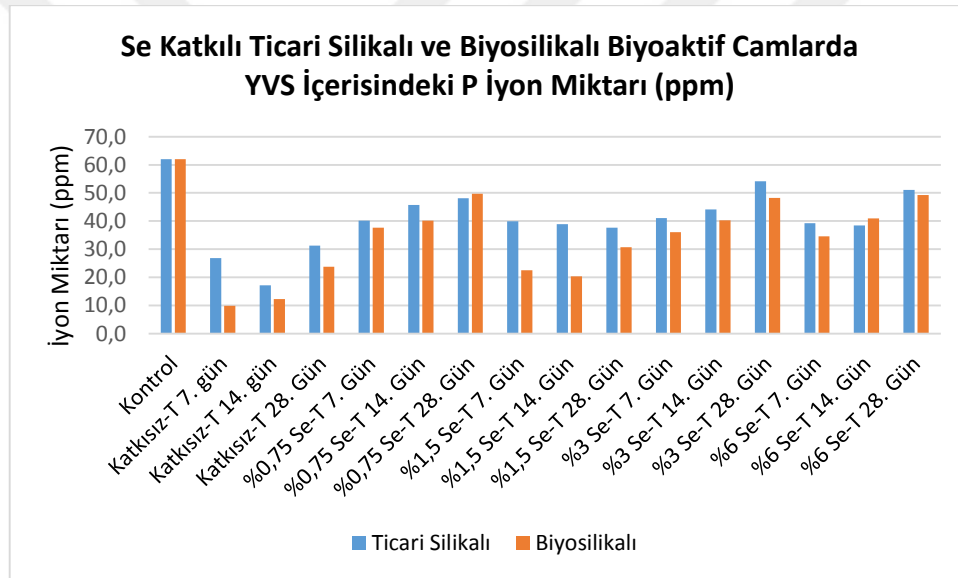


Şekil 5.49 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Na İyon Miktarı (ppm)

P iyonu salımına bakıldığında katkısız ticari biyocamda fosfat iyonu 14. günde en düşük değerine ulaşmıştır. Selenyum katkılı ticari camlarda ise fosfor iyonu en düşük değerine 7. günde ulaştığı görülmektedir. Ancak katkısız ticari biyocamdaki P iyon değerleri katkılı olanlara göre daha düşüktür. Ağ yapıcı iyonlara baktığımız zaman selenyum katkılı biyocamların iyon değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Se katkısının iyon salımını azaltırken, HCA tabakasının oluşumunu yavaşlattığı P iyon değerlerinden de anlaşılmaktadır.

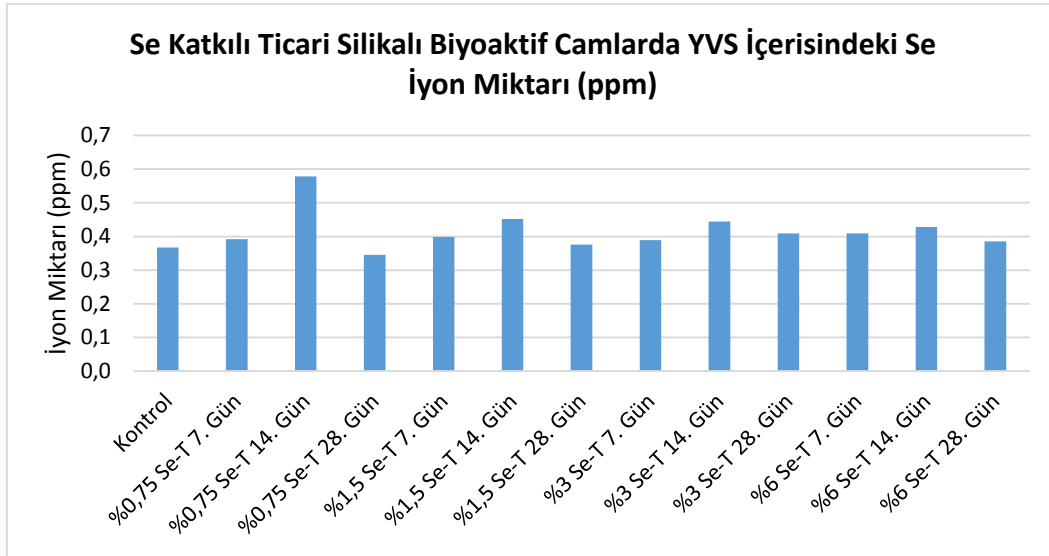


Şekil 5.50 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS içerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

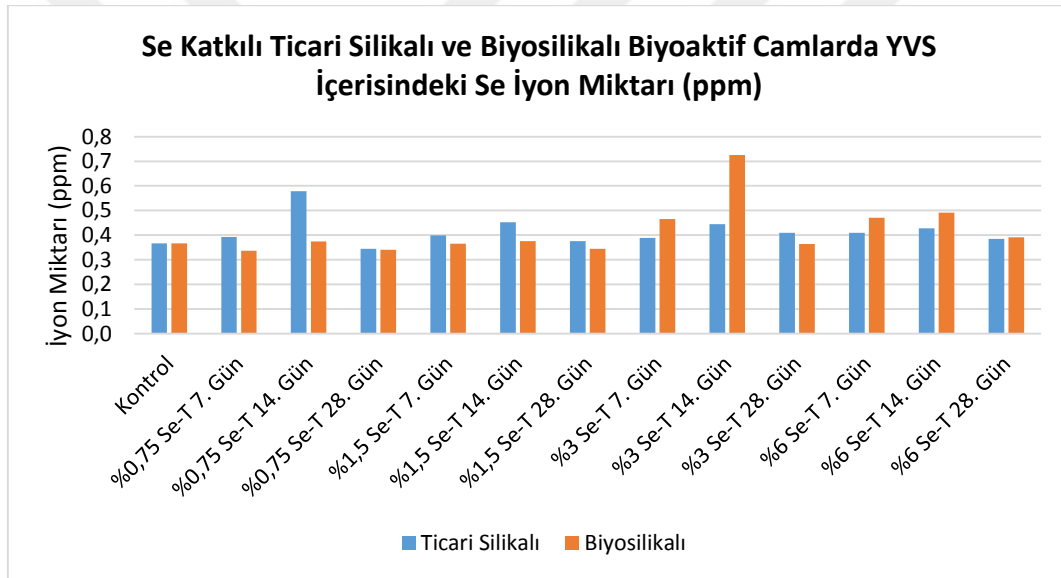


Şekil 5.51 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS içerisindeki P İyon Miktarı (ppm)

Ticari silikalı Se iyonu salımlarına baktığımızda biyosilikalı cam ile benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür. %0,75 Se katkılı ticari silikalı biyoaktif cam 14. günde daha yüksek selenyum salımı yapmıştır.



Şekil 5.52 Se Katkılı Ticari silikalı Biyoaktif camlarda YVS İçerisindeki Se İyon Miktarı (ppm)

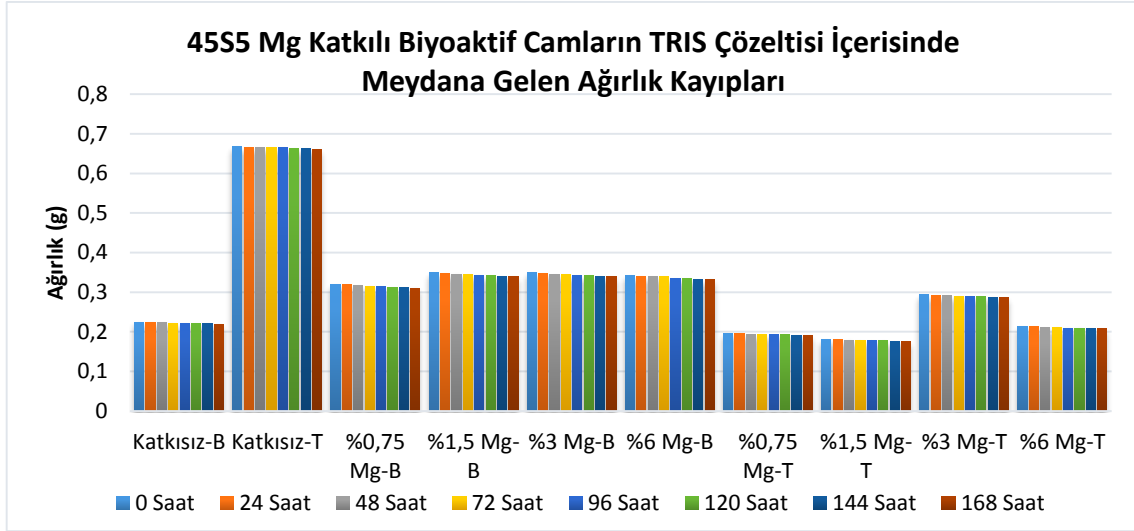


Şekil 5.53 Se Katkılı Ticari Silikalı ve Biyosilikalı Biyoaktif Camlarda YVS İçerisindeki Se İyon Miktarı (ppm)

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

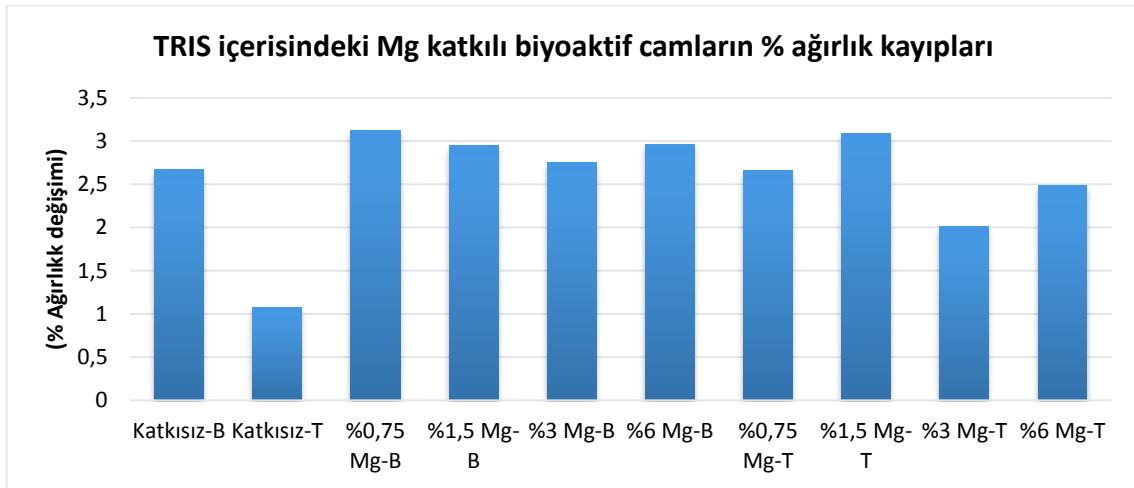
Biyoaktif camların sulu çözeltilerde bekletilmesi sonucunda iyon salımı gerçekleştirdikleri literatürde yer almaktadır. Bu iyon salımı sonucunda camların ağırlıklarında bir azalma meydana gelmektedir. Biyoaktif camlardan salınan sodyum kalsiyum ve fosfor iyonları pH değerinde artışa neden olmaktadır. Bu yüzden TRIS çözeltisine yerleştirilen biyoaktif camların ağırlık kayıpları ile çözeltinin pH değerindeki artış biyoaktif camların biyoaktiviteleri hakkında bilgi vermektedir. Üretilen biyoaktif cam numunelerinin *in vitro* bozunmalarının incelenmesi

için TRIS çözeltisi içerisinde 37°C sıcaklıkta, 7 gün boyunca inkübe edilerek; bu süre içerisinde biyoaktif cam numunelerinin zamana bağlı ağırlık değişimi ve TRIS çözeltisinin pH değişimi incelenmiştir.



Şekil 5.54 TRIS çözeltisi içerisindeki Mg katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları

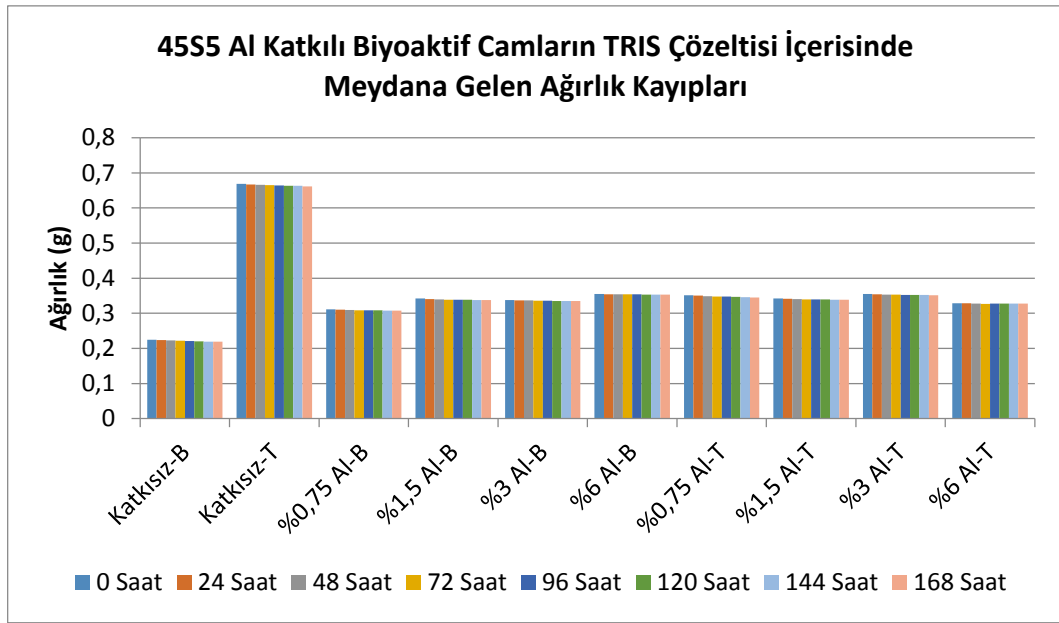
Biyosilikalı ve ticari silikalı Mg katkılı biyoaktif cam numuneleri için TRIS çözeltisi ile 7 günlük inkübasyonu süresince ağırlıklarında meydana gelen değişim Şekil 5.54’de verilmiştir. TRIS çözeltisi içerisinde bulunan Mg katkılı biyoaktif camların ağırlıkları bu süre içinde sürekli olarak azalmıştır. Şekil 5.55’te ise ağırlık azalmalarındaki % değerler verilmiştir.



Şekil 5.55 TRIS çözeltisi içerisindeki Mg katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları

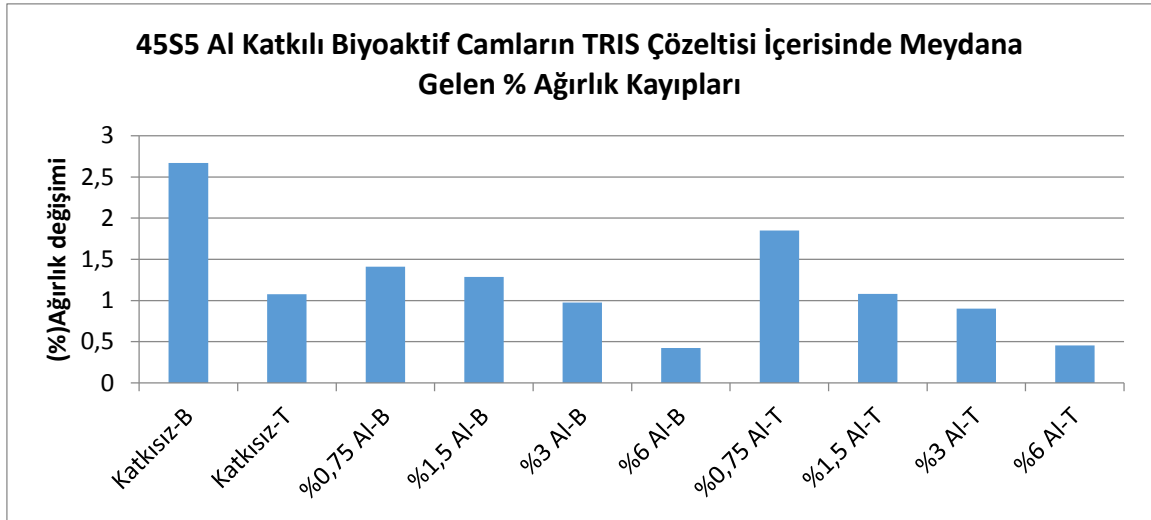
Şekil 5.55’te verilen katkısız biyosilikalı ve ticari silikalı camlara bakıldığında biyosilikalı camlarda ağırlık azalmasının katkısız ticari silikalı camdan daha fazla olduğu görülmektedir.

Biyosilikalı katkısız ve Mg katkılı biyoaktif camlar arasında 7. günün sonunda % ağırlık kayıpları genel olarak birbirinden az da olsa farklılık göstermektedir, katkısız biyosilikalı camda %2,7 iken katkılı biyoaktif camlarda bu değer %2,8 ve %3,1 arasında değişmektedir. Katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda çözünme hızları katkısız biyoaktif camlara kıyasla artmıştır. Ticari katkısız biyoaktif camlara göre ise ticari silikalı biyoaktif camlara eklenen Mg her oranında çözünme hızına olan etkisi biyosilikalı camlara kıyasla daha fazladır. Bu da magnezyumun ticari silikalı camların biyobozunurluluğunu arttırdığını göstermektedir.



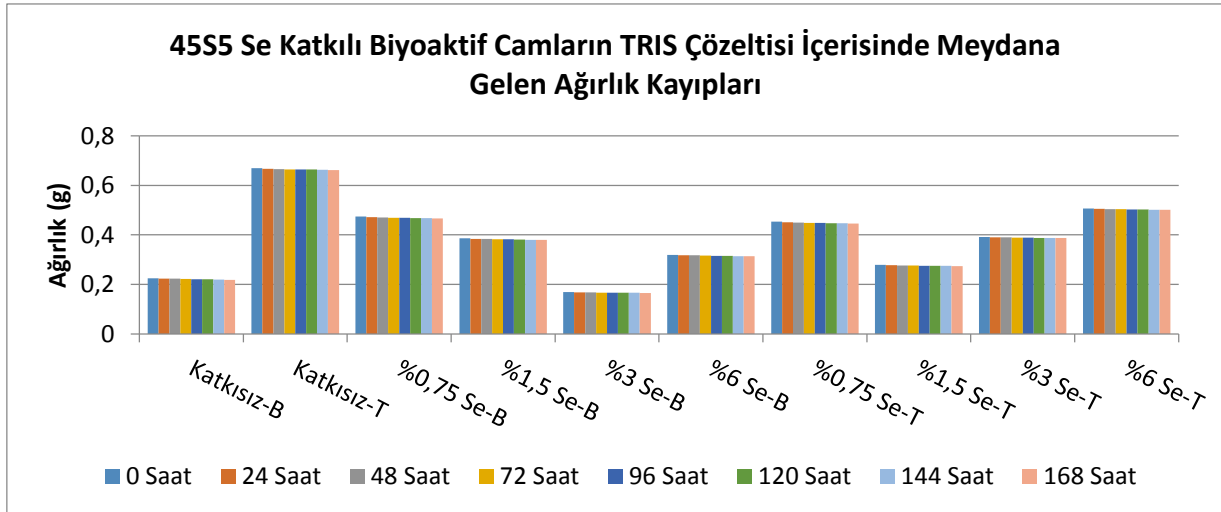
Şekil 5.56 TRIS çözeltisi içerisindeki Al katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları

Biyosilikalı ve ticari silikalı Al katkılı biyoaktif cam numuneleri için TRIS çözeltisi ile 7 günlük inkübasyonu süresince ağırlıklarında meydana gelen değişim Şekil 5.56'da verilmiştir. TRIS çözeltisi içerisinde bulunan Al katkılı biyoaktif camların ağırlıkları bu süre içinde sürekli olarak azalmıştır.



Şekil 5.57 TRIS çözeltisi içerisindeki Al katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları

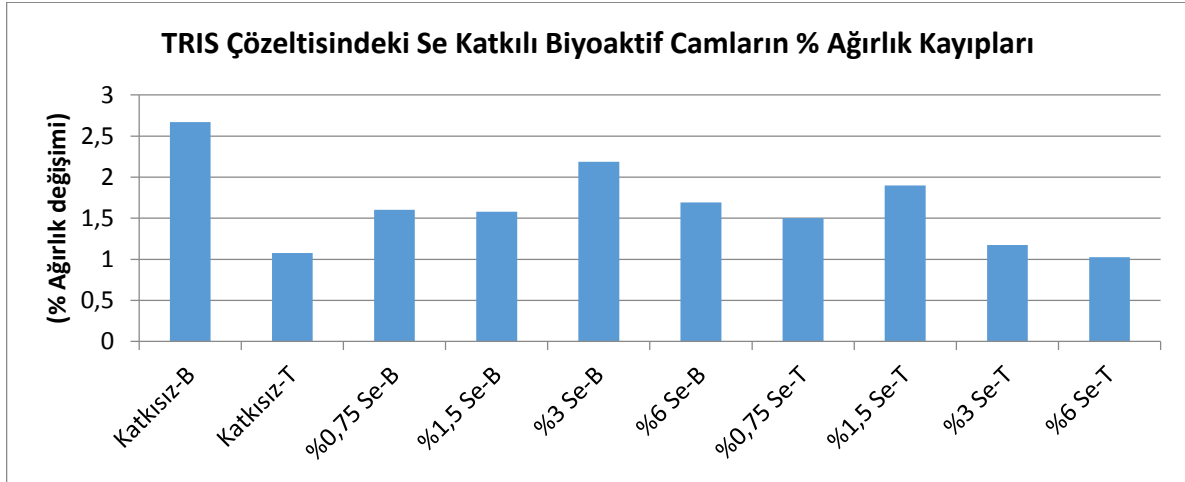
Şekil 5.57’de katkısız ve Al katkılı biyoaktif camlar arasında 7. günün sonunda % ağırlık kaybı en fazla olanın biyosilikalı katkısız biyoaktif cam olduğu görülmektedir. Al katkısının biyosilikalı camların çözünme hızını düşürdüğü net bir şekilde görülmektedir. Ticari silikalı camlarda ise Al katkısı %1,5 Al katkısına kadar ağırlık kayıplarını arttırmış iken %3 ve daha yüksek Al katkıları ağırlık kayıplarını düşürmüştür. Genel olarak Al katkısının artışı biyosilikalı ve ticari silikalı camlarda ağırlık kaybını azaltmıştır.



Şekil 5.58 TRIS çözeltisi içerisindeki Se katkılı biyoaktif camlarda 7 günlük sürede meydana gelen ağırlık azalmaları

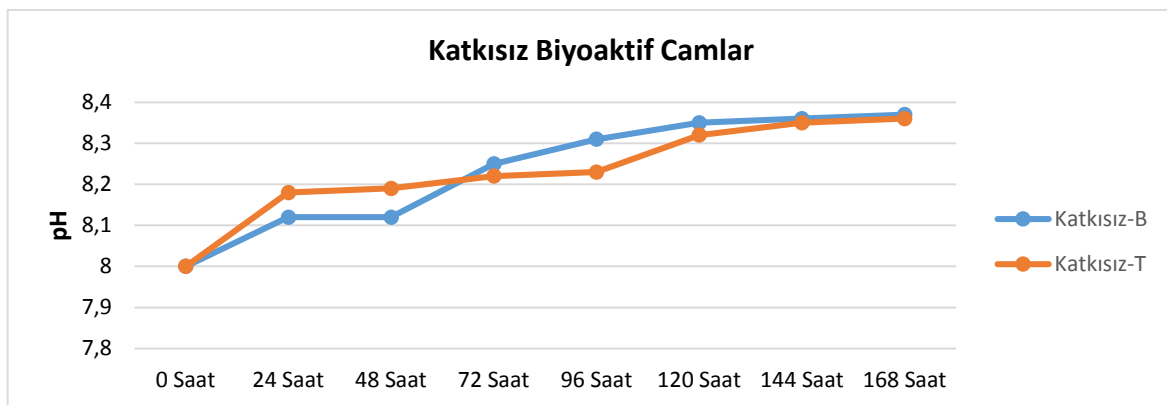
Biyosilikalı ve ticari silikalı Se katkılı biyoaktif cam numuneleri için TRIS çözeltisi ile 7 günlük inkübasyonu süresince ağırlıklarında meydana gelen değişim Şekil 5.59’da verilmiştir. TRIS

çözeltisi içerisinde bulunan Se katkılı biyoaktif camların ağırlıkları bu süre içinde sürekli olarak azalmıştır.



Şekil 5.59 TRIS çözeltisi içerisindeki Se katkılı biyoaktif camların 7 gün sonundaki % ağırlık kayıpları

Şekil 5.59’da katkısız ve Se katkılı biyoaktif camlar arasında 7. günün sonunda % ağırlık kaybı değerleri verilmiştir. Bu sonuçlar ışığında katkısız biyosilikalı biyoaktif camların ticari silikalı katkısız biyoaktif camlara göre daha fazla ağırlık kaybına uğradığı görülmektedir. Bundan dolayı katkısız biyosilikalı camların daha iyi çözündüğü sonucu çıkarılmaktadır. Se katkısı ise biyosilikalı camların ağırlık kayıplarını azaltmıştır. Ancak bu azalma Se katkısı arttıkça artmamıştır. %3 Se katkısını aşan değerlerde değer kaybı azalmıştır. Ticari silikalı biyocamların ağırlık kayıpları %1,5 Se katkısına kadar artmıştır(Şekil 5.59).

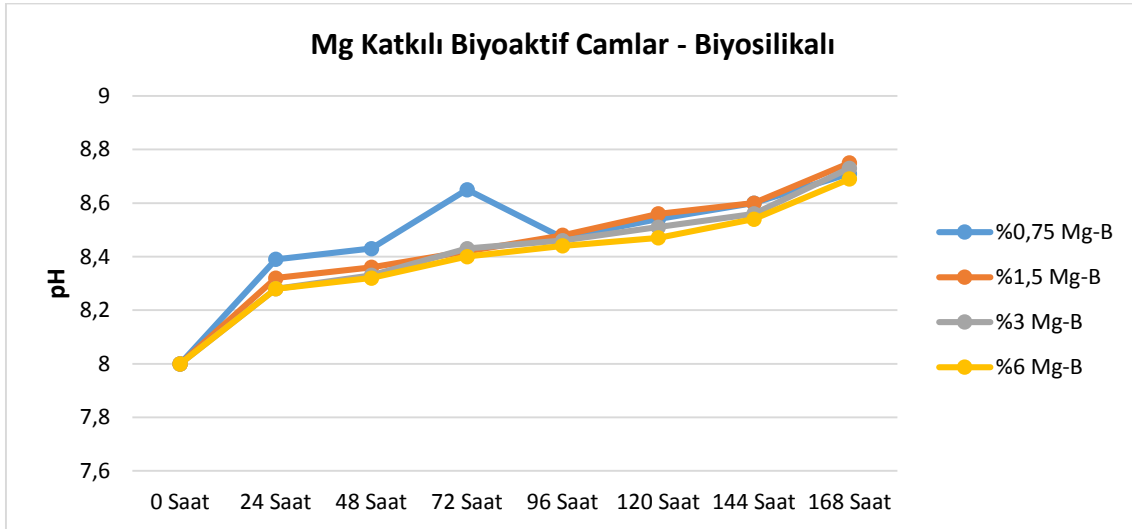


Şekil 5.60 Biyosilikalı ve ticari silikalı, katkısız biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 5.60’ta yer alan grafik incelendiğinde katkısız biyosilikalı ve katkısız ticari silikalı cam numumelerinin TRIS çözeltisi içerisinde bulunmaları ile meydana gelen pH değişimleri

verilmiştir. İlk 24 saat içerisinde ticari biyosilikalı biyoaktif cam numunesinde iyon salımının daha fazla olduğu fakat 168 saat sonunda her 2 biyoaktif cam numunesinin de aynı pH değerine ulaştığı gözlenmiştir. Katkısız ticari silikalı camlar için literatürde çözünme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar tezimizde olduğu gibi YVS ve TRIS çözeltileri kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda da katkısız biyoaktif camların çözeltiler içerisinde iyi şekilde çözündüğü gözlenmiştir. Elde edilen pH grafiği de tezimizdeki katkısız camların iyi çözündüğünün göstergesidir [64]. pH ölçümleri genel olarak biyoaktiviteyi ve dolayısıyla çözünmeyi incelemek için pek çok biyoaktif cam çalışmasında incelenmiştir. Bu çalışmalardan biri olan Renato Luiz Siqueira'nın çalışmasında YVS'nin pH değerinin kademeli olarak yükseldiğini tespit etmiştir. Bu pH değişiminin biyoaktif cam ın çözünmesiyle yer değiştiren Ca^{+2} ve H^{+} sayesinde olduğunu bunun da biyoaktif camın çözünmesinin bir kanıtı olduğunu düşünmüştür. Bunu kalsiyum iyonlarının ölçümü ile kanıtlamıştır. Kalsiyum iyonları 6. güne kadar azalırken aynı şekilde pH 8.1 e kadar yükselmiştir [65].

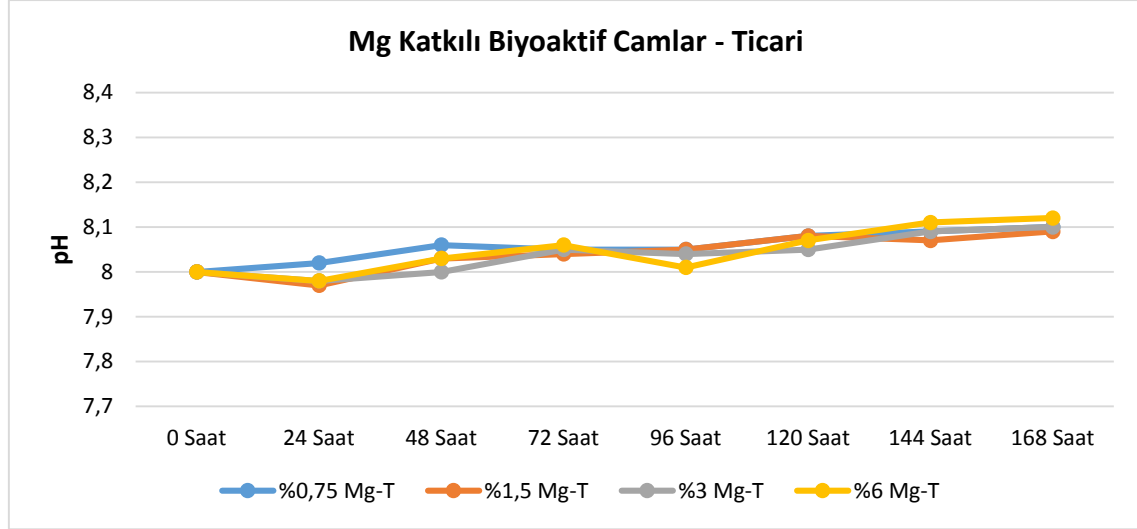
Benzer bir çalışmayı Brauer ve arkadaşları da yapmıştır. Ancak bu çalışmada flor içeren biyoaktif camlar kullanılmıştır. Brauer ve arkadaşları da tezimizde elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar elde etmişler. pH in 7.27 den 7.80 değerine yedinci günün sonunda ulaşıldığı görülmüştür [66].



Şekil 5.61 45S5 Mg katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 5.61 'de biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camların, TRIS çözeltisi içerisinde 7 günlük süre zarfında meydana getirdikleri pH değişimleri verilmiştir. 7. gün sonunda tüm biyoaktif camların aynı pH değerine ulaştıkları görülmüştür. %0,75 Mg katkılı biyoaktif camın ilk 72 saat içinde

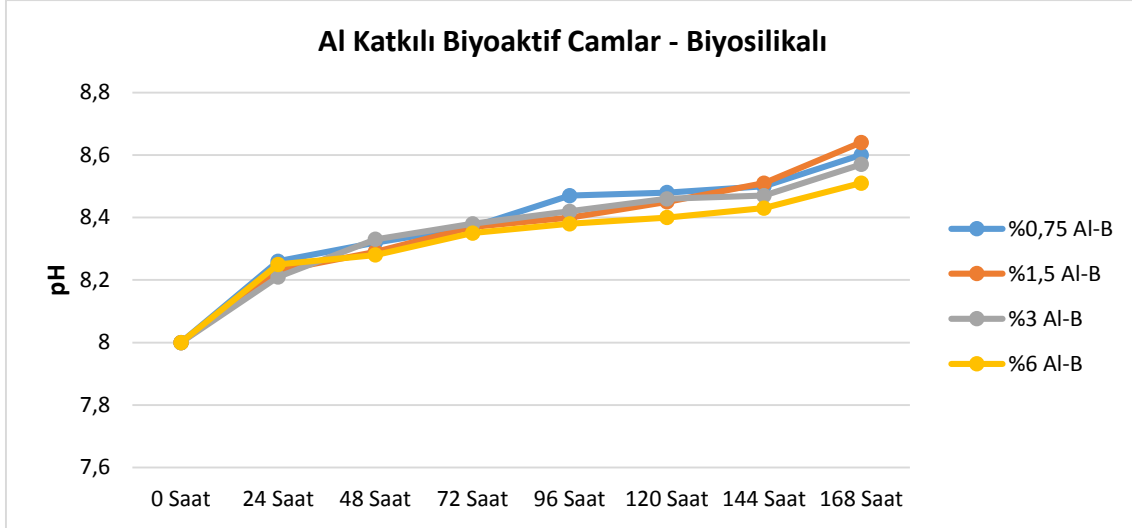
hızlı bir iyon salımı gerçekleştirdiği de yine grafikten anlaşılmaktadır. İlk 24 saate bakıldığında ise yine % 0,75 Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camın daha hızlı iyon salarak pH değerinde artışa neden olduğu, Mg katkısı arttıkça pH artışının azaldığı Şekil 5.61 de görülebilmektedir. Bir hafta sonunda ise %1,5 Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camın pH değeri diğer Mg katkılı camlardan daha yüksek seviyeye ulaşmıştır.



Şekil 5.62 45S5 Mg katkılı, ticari biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

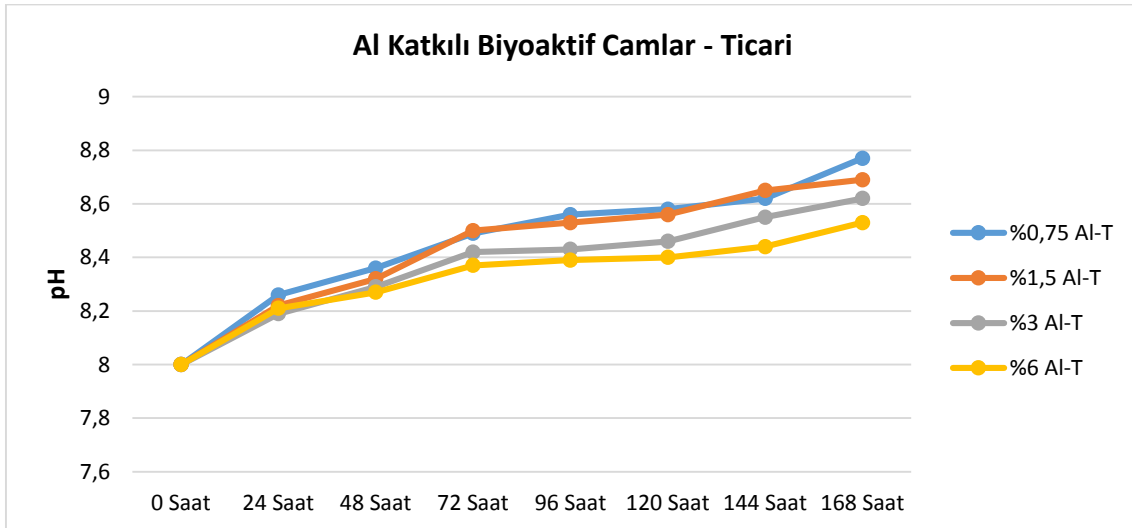
Şekil 5.62 da ticari silikalı Mg katkılı ticari silikalı biyoaktif camların pH değerlerindeki artışın biyosilikalı olanlara göre daha az olduğu görülmektedir. Şekil 5.61'deki biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlara kıyasla oldukça düşük iyon salımı gerçekleştirmiştir. 7 günün sonunda ise tüm ticari silikalı biyoaktif camlar hemen hemen aynı pH değerine ulaşmışlardır. İlk 24 saate bakıldığı zaman ticari silikalı %0,75 katkılı biyoaktif cam ın diğer Mg katkılı ticari silikalı camlara göre daha fazla pH değer artışına sahip olduğu görülmüştür. Ancak biyosilikalı %0,75 Mg katkılı cam ile karşılaştırdığımızda artış oldukça düşüktür(Şekil 5.61). Mg katkısının YVS pH değerlerine etkisini inceleyen bir çalışmada YVS'nin pH değerinin 0-400 saatleri arasında devamlı olarak arttığını gözlemlemiştir. Bunun dışında biyocamlardaki Mg içeriği arttıkça YVS pH değerinin de arttığını gözlemlemiştir. Buna neden olarak biyoaktif cam dan kalsiyum ve magnezyum salımının gerçekleştiğinin magnezyumun HCA tabakası oluşumunu inhibe ettiği için kalsiyumların çökmesinin gerçekleşmediğini bunun da ortamdaki iyonları arttırdığı ve pH artışına neden olduğu sonucuna varmışlardır [57]. Tez kapsamında üretilen Mg katkılı biyoaktif camlarda da literatüre benzer şekilde pH değerlerinin artışı saptanmıştır. Tezimizde yapılan pH ölçümleri TRIS çözeltisi içerisinde yapılmıştır. Bu yüzden artan pH değeri HCA

tabakasının oluşumunun inhibe edildiğinin göstergesi değildir. Mg katkısının arttıkça pH azalması ise literatürde belirtildiği gibi Mg iyonlarının biyoaktif cam ın çözünmesini baskılamasından kaynaklanabilir [67]. İlk 48 saat sonuçlarına bakıldığında TRIS pH değerleri daha az Mg katkılı biyocamlarda daha yüksek olduğu görülür. Bu da Mg katkısının çözünme hızını azalttığını gösterir.



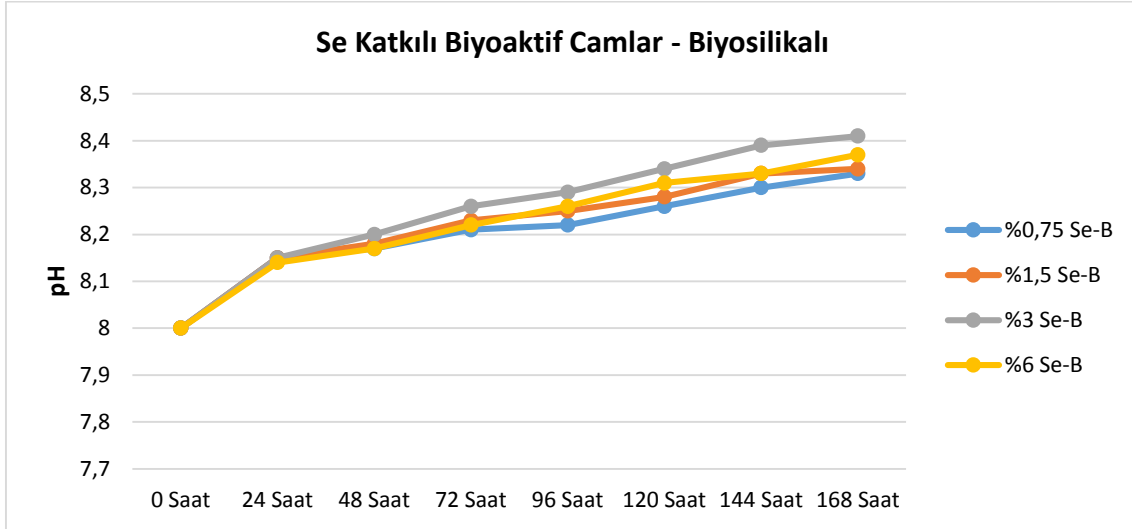
Şekil 5.63 45S5 Al katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 5.63 'te biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camların ilk 24 saatte hızlı bir iyon salımı gerçekleştirdiği daha sonra ise birbirleriyle paralel olarak artışa geçtikleri görülmektedir.

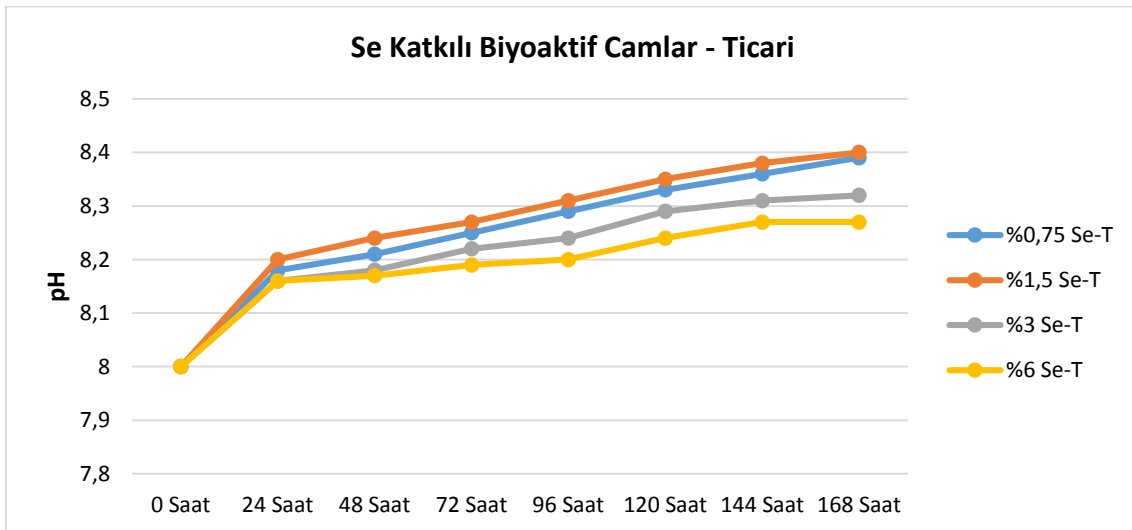


Şekil 5.64 45S5 Al katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 5.63 ve şekil 5.64 incelendiğinde ticari silikadan elde edilen Alüminyum katkılı biyoaktif camlardaki çözünmenin biyosilikalı olanlara göre daha az olduğu pH değerlerinden görülmektedir. Şekil 5.64'te ticari silikalı Al katkılı biyoaktif camların, pH değerlerindeki artışa en fazla %0.75 Al katkılı biyoaktif camın neden olurken, pH değerlerindeki artışın en az olduğu biyoaktif camın %6 Al katkılı biyoaktif cam olduğu görülmektedir.



Şekil 5.65 45S5 Se katkılı, biyosilikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri



Şekil 5.66 45S5 Se katkılı, ticari silikalı biyoaktif camların 7 günlük süre ile TRIS çözeltisi içerisindeki meydana gelen pH değişimleri

Şekil 5.65 ve Şekil 5.66 da biyosilikalı ve ticari silikalı Se katkılı biyoaktif camların TRIS çözeltisi içerisinde 7 gün boyunca meydana gelen pH değişim grafiği yer almaktadır. İlk 24 saatte iyon salımının daha hızlı gerçekleştiği ve daha sonrasında artışın devam ettiği görülmektedir. Ticari

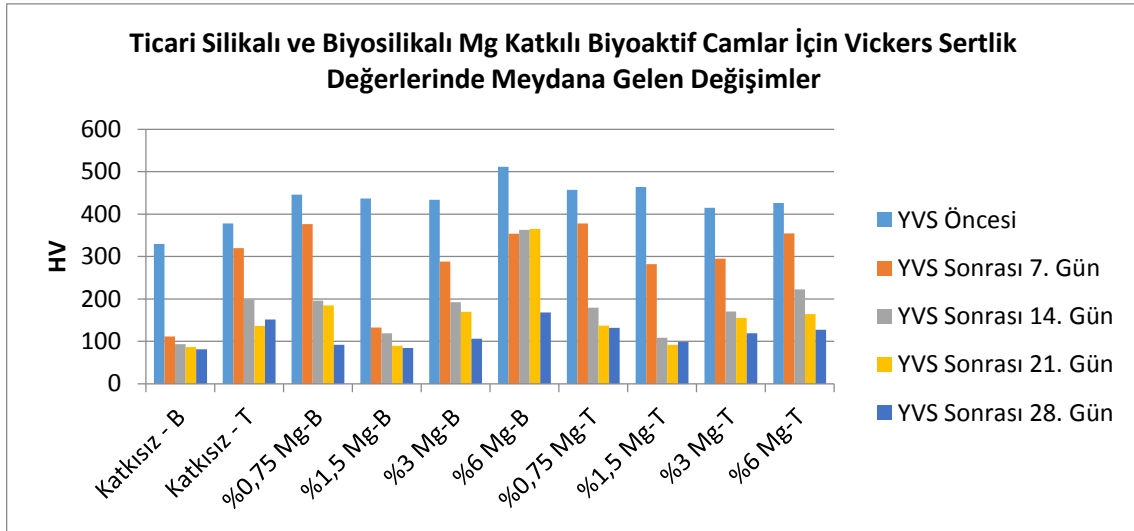
silikalı biyoaktif camda katkı oranı arttıkça pH değerlerindeki artışın da azaldığı Şekil 5.66'da görülmektedir.

5.5 Vickers Sertlik Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Yapılan ölçümlerde biyoaktif camların YVS içerisinde kalma süreleri arttıkça Vickers sertlik değerlerinin düştüğü belirlenmiştir. Bu düşüşün sebebi YVS içerisinde mevcut bulunan iyonların biyoaktif cam numunelerinden salınan Ca^{+2} ve Na^{+} iyonları ile YVS içerisindeki $(PO_4)^{-3}$ iyonlarının etkileşime geçmesi ve bunun sonucunda biyoaktif cam numunelerinin yüzeyine çöken hidroksiapatit tabakasıdır. Biyoaktif cam numunelerinin yüzeyinde oluşan hidroksiapatit tabakası arttıkça biyoaktif camın Vickers sertlik değeri bu duruma bağlı olarak azalmaktadır. Biyoaktif cam numunelerinin yüzeyinde oluşan hidroksiapatit tabakası biyoaktif camın biyoaktivitesi ile ilişkilendirilir. Bu sebeple Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim aynı zamanda biyoaktif camların biyoaktivitesi hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca literatürde belirtildiği üzere, YVS içerisinde biyoaktif camların inkübasyonu sırasında meydana gelen iyon salımı pH değerinde bir artışa neden olur[57]. pH değerinde meydana gelen bu artış biyoaktif cam ağında SiO_2 'nin $Si(OH)_4$ formunda çözeltiye geçmesini sağlar. SiO_2 'nin çözünmesi cam ağının zayıflamasına bunun sonucu olarak da Vickers sertlik değerinde azalmaya sebep olur. Çizelge 5.2 ile çizelge 5.13 ve Şekil 5.67 ile Şekil 5.69 arasında tüm biyoaktif camların ayrı ayrı YVS içerisinde 28 günlük süre ile inkübasyonları sonucunda haftalık periyotlarda alınan Vickers sertlik değerleri verilmiştir.

5.5.1 Mg Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri

Mg katkıli biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinde haftalık olarak meydana gelen değişiklikler Şekil 5.67'de verilmiştir.



Şekil 5.67 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

Çizelge 5.2 Mg katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri

	YVS Öncesi				
	Katkısız - B	%0,75 Mg-B	%1,5 Mg-B	%3 Mg-B	%6 Mg-B
HV* (kg/mm²)	329 (51,5) ^a	445 (26,8) ^{a,b}	437 (59,8) ^{a,b}	433 (92,0) ^{a,b}	511 (48,5) ^b

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

Mg katkısının biyosilika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Mg içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri çizelge 5.2’de verilmiştir. Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre çizelge 5.2’de verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir farklılaşma vardır. Yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde “% 6 Mg-B” ve “Katkısız-B” olarak adlandırılan biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu belirlendi. Buna göre, biyosilika içeren biyoaktif camlara ilave edilen Mg miktarı ancak % 6’ya çıkartıldığında biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerinde anlamlı bir artış meydana gelmiştir (çizelge 5.2). Biyosilikalı camlarda Mg katkısının %6 oranından sonra sertlik değerlerinde farklılık oluşturmaya başladığı görülmektedir. Mg katkısının ticari silika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Mg içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.3’te verilmiştir.

Çizelge 5.3 Mg katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri

	YVS Öncesi				
	Katkısız - T	%0,75 Mg-T	%1,5 Mg-T	%3 Mg-T	%6 Mg-T
HV* (kg/mm²)	378 (46,4) ^a	457 (53,1) ^a	464 (54,2) ^a	414 (47,5) ^a	426 (99,9) ^a

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

Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre çizelge 5.3'te verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark yoktur. Buna göre, Mg katkısının ticari silika içeren biyoaktif camların Vickers sertliği üzerine bir etkisi olmadığı söylenebilir. Biyosilika ile hazırlanan Mg katkılı ve katkısız biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.3' te verilmiştir. Mg katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers Sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda, YVS içerisinde 7 gün bekletilen biyosilika içeren Mg katkılı ve katkısız biyoaktif camlardan “%0,75 Mg-B” olarak adlandırılan biyoaktif cam dışındaki camların Vickers sertlik değerlerinin YVS öncesi Vickers sertlik değerlerinden % 95 güven düzeyinde istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür. “%0,75 Mg-B” olarak adlandırılan biyoaktif cam numunesinin Vickers sertik değerinde anlamlı azalma YVS içerisinde 14 gün bekletme sonrası görülmüştür. “% 6 Mg-B” numunesinin 7, 14 ve 21. gün Vickers sertlik değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı, 28. gün Vickers sertliğinde anlamlı bir düşüş olduğu görülmektedir. Katkısız ve diğer Mg katkılı biyosilika içerikli camların 14. gün Vickers sertlik değerleri ile 28. gün Vickers sertlik değerleri arasında %95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olmadığı genel olarak söylenebilir (Çizelge 5.4). İstatiksel sonuçlar bir bütün olarak değerlendirildiğinde 7. gün sonunda Mg katkısız, %1,5 ve %3 Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camlar diğerlerine göre daha hızlı bir şekilde HCA tabakası oluşturmuşlardır. %0,75 Mg katkılı biyoaktif cam 14. gün sonunda %6 Mg katkılı cam ise ancak 28. gün sonunda HCA tabakası oluşturabilmişlerdir. YVS içerisindeki ICP analizleri vickers sertlik değerleri ile birlikte değerlendirildiğinde sonuçların örtüştüğü görülmektedir. Biyosilikalı camlarda 7. günün sonunda fosfor iyon değerlerinde en düşük değer %3 Mg katkılı biyosilikalı numunede görülmüştür. Kalsiyum iyon değerleri açısından % 1,5 Mg katkılı biyosilikalı numune en düşük değerleri vermiştir. Bu da HCA tabakası oluşumunun bir göstergesidir.

Çizelge 5.4 Mg katkı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

	HV* (kg/mm ²)				
	Katkısız-B	%0,75 Mg-B	%1,5 Mg-B	%3 Mg-B	%6 Mg-B
YVS Öncesi	329 (51,5) ^a	445 (26,8) ^{b,c}	437 (59,8) ^{b,c}	433 (92,0) ^{b,c}	511 (48,5) ^c
YVS Sonrası 7. Gün	111 (36,8) ^{d,f}	376 (48,3) ^{a,b}	132 (16,4) ^d	288 (54,5) ^{a,g}	354 (13,6) ^{a,b}
YVS Sonrası 14. Gün	93 (29,3) ^{d,e}	196 (66,1) ^{e,g}	119 (11,3) ^{d,e}	192 (15,3) ^{e,f,g}	362 (28,2) ^{a,b}
YVS Sonrası 21. Gün	86 (11,9) ^d	184 (30,5) ^{d,e}	90 (8,2) ^{d,e}	169 (17,4) ^{d,e}	364 (29,2) ^{a,c}
YVS Sonrası 28. Gün	81 (17,1) ^d	91 (13,1) ^d	84 (17,4) ^d	106 (23,7) ^{d,e}	167 (35,5) ^{d,e}

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

Çizelge 5.5 Mg katkı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

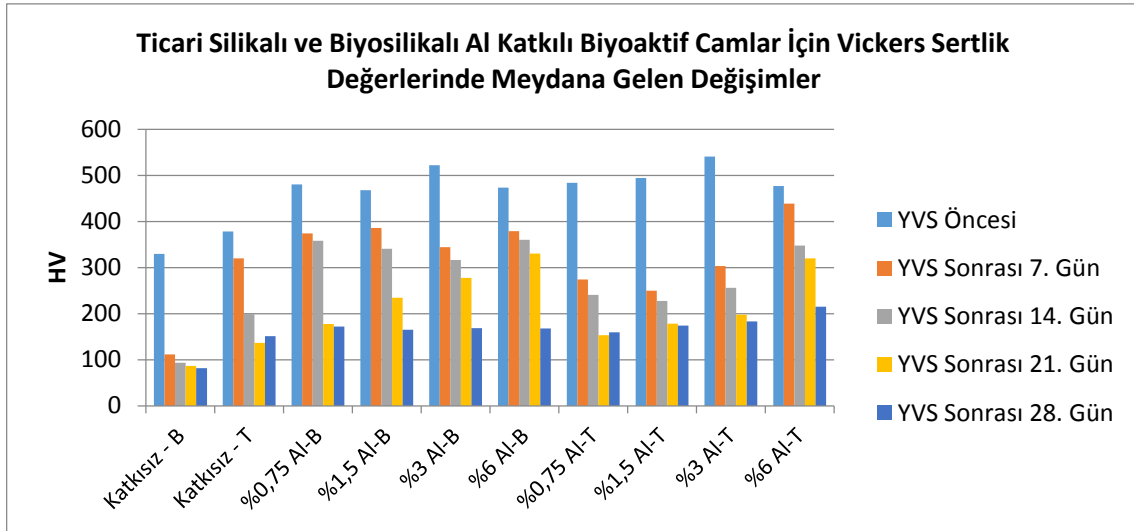
	HV* (kg/mm ²)				
	Katkısız-T	%0,75 Mg-T	%1,5 Mg-T	%3 Mg-T	%6 Mg-T
YVS Öncesi	378 (46,4) ^{a,b}	457 (53,1) ^{a,c}	464 (54,2) ^a	414 (47,5) ^{a,b}	426 (99,9) ^{a,b}
YVS Sonrası 7. Gün	319 (63,7) ^{a,b,d}	377 (44,9) ^{a,b}	282 (21,3) ^{b,d}	295 (28,8) ^{c,b,d}	354 (21,4) ^{a,b}
YVS Sonrası 14. Gün	198 (45,6) ^{d,e}	179 (28,2) ^{d,e}	108 (36,0) ^e	170 (32,1) ^{d,e}	222 (28,2) ^{d,e}
YVS Sonrası 21. Gün	136 (92,6) ^{d,e}	137 (82,3) ^{d,e}	92 (10,5) ^{d,e}	155 (24,4) ^{d,e}	164 (61,5) ^{d,e}
YVS Sonrası 28. Gün	151(75,5) ^{d,e}	131 (38,5) ^{d,e}	98 (10,7) ^{d,e}	119 (31,0) ^{d,e}	127 (24,3) ^{d,e}

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

Ticari silika ile hazırlanan Mg katkılı ve katkısız biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.5 'te verilmiştir. Mg katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers Sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda, YVS içerisinde 7 gün bekletilen Mg katkılı ve katkısız biyoaktif camlardan “%1,5 Mg-T” biyoaktif cam numunesi dışındaki camların Vickers sertliklerinin YVS öncesi Vickers sertliklerinden % 95 güven düzeyinde farklı olmadığı görülmüştür. Mg katkılı ve katkısız ticari silika içerikli biyoaktif camların Vickers sertlik değerinde anlamlı azalma YVS içerisinde 14 gün bekletme sonrası görülmüştür. 14, 21 ve 28. gün Vickers sertlik değerleri arasında %95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olmadığı genel olarak söylenebilir (Çizelge 5.5). Vickers sertlik değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda 7. gün sonunda en fazla HCA tabakasının “%1,5 Mg-T” biyoaktif cam numunesinde olduğu sonucuna varılmıştır. 7. günün sonunda % 1,5 Mg katkılı ticari silikalı biyoaktif cam katkısız ve diğer Mg katkılı ticari silikalı camlardan daha fazla HCA tabakası oluşturmuştur. Diğer camlar ancak 14. gün sonunda YVS öncesi sertlik değerinden farklı bir değere ulaşmışlardır. 14, 21, 28. gün sonundaki sertlik değerlerinin istatistiksel sonuçları değerlendirildiğinde ise 14. gün sonunda tüm numunelerin HCA tabakalarında anlamlı bir artış görülmemiştir. Vickers sertlik değerlerinin istatistiksel değerlendirmesinden çıkarılan sonuç %1,5 Mg katkılı ticari silikalı biyoaktif camın diğer katkılı ve katkısız ticari silikalı camlardan daha yüksek biyoaktiviteye sahip olduğudur. Bu sonuç YVS içerisindeki ICP analizlerine yakındır. %1,5 Mg katkılı ticari silikalı numune kalsiyum iyon miktarları açısından değerlendirildiğinde 14. gün sonunda en düşük kalsiyum miktarına ulaşmıştır. Diğer numunelerin en düşük kalsiyum miktar değerleri 28. gün sonunda oluşmuş ve %1,5 Mg katkılı numunenin değerinin üzerinde kalmıştır.

5.5.2 Al Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri

Al katkılı biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinde haftalık olarak meydana gelen değişiklikler Şekil 5.68’de verilmiştir.



Şekil 5.68 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

Al katkısının biyosilika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Al içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri çizelge 5.6’da verilmiştir.

Çizelge 5.6 Al katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri

	YVS Öncesi				
	Katkısız - B	%0,75 Al-B	%1,5 Al-B	%3 Al-B	%6 Al-B
HV* (kg/mm²)	329 (51,5) ^a	480 (69,2) ^b	467 (46,2) ^b	521 (57,7) ^b	473 (54,5) ^b

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

Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre çizelge 5.6’da verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir farklılaşma vardır. Yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde farklılığın “Katkısız B” olarak adlandırılan biyoaktif cam numuneden kaynaklandığı belirlendi. Buna göre, biyosilika içeren biyoaktif camlara Al ilavesi biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerini arttırmıştır. Biyoaktif cam yapısına ilave edilen Al miktarındaki artış ile biyosilika içeren biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerlerinin arasında % 95 güven düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (Çizelge 5.6). Al katkısının ticari silika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Al içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.7’de verilmiştir.

Çizelge 5.7 Al katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri

	YVS Öncesi				
	Katkısız - T	%0,75 Al-T	%1,5 Al-T	%3 Al-T	%6 Al-T
HV* (kg/mm ²)	378 (46,4) ^a	483 (69,2) ^{a,b}	494 (43,5) ^b	540 (52,0) ^b	476 (45,6) ^{a,b}

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

Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre Çizelge 5.6’da verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir farklılaşma vardır, Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde farklı gruplar da belirlenmiş ve tabloda farklı harfler ile belirtilmiştir. “%1,5 Al-T” ve “%3 Al-T” biyoaktif cam numune Vickers sertlik değerleri “Katkısız-T” biyoaktif cam Vickers sertlik değerlerinden farklı ve yüksektir. Buna göre, ticari silika ile hazırlanan biyoaktif camlara % 1,5 ve % 3 Al ilavesi ile Vickers sertlik değerinin arttığı görülmektedir (çizelge 5.7). Biyosilika ile hazırlanan Al katkılı ve katkısız biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.8’de verilmiştir. Al katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde farklı gruplar belirlendi (Çizelge 5.8).

Çizelge 5.8 Al katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

	HV* (kg/mm ²)				
	Katkısız-B	%0,75 Al-B	%1,5 Al-B	%3 Al-B	%6 Al-B
YVS Öncesi	329 (51,5) ^a	480 (69,2) ^{b,c}	467 (46,2) ^{b,c}	521 (57,7) ^c	473 (54,5) ^{b,c}
YVS Sonrası 7. Gün	111 (36,8) ^d	374 (42,7) ^{b,e}	386 (27,3) ^{a,b,c}	344 (58,9) ^{a,b}	379 (55,6) ^{a,b}
YVS Sonrası 14. Gün	93 (29,3) ^d	358 (75,8) ^{b,a}	341 (68,4) ^{a,b,f}	316 (40,5) ^{a,e}	360 (45,5) ^{a,e}
YVS Sonrası 21. Gün	86 (11,9) ^d	177 (18,5) ^{d,f}	234 (85,2) ^{a,f}	277 (44,9) ^{a,f}	330 (49,5) ^{a,e}
YVS Sonrası 28. Gün	81 (17,1) ^d	172 (14,4) ^{d,f}	165 (36,2) ^{d,f}	168 (35,6) ^{d,f}	167 (99,3) ^d

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

“Katkısız-B” ve “%3 Al-B” Vickers sertlik değerlerinde YVS içerisinde 7 gün bekletme sonrası % 95 güven düzeyinde anlamlı farklılaşma olduğu görülmektedir. “Katkısız-B” biyoaktif cam numunenin 7, 14, 21 ve 28. gün Vickers sertlik değerlerinde anlamlı bir fark olmamıştır. Bu da biyoaktivitenin bir ölçüsü olan HCA tabakasının ilk 7 gün içerisinde oluştuğunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. “%0,75 Al-B” ve “%1,5 Al-B” cam numunelerin Vickers sertlik değerlerinde anlamlı farklılaşma ancak YVS içerisindeki 21. günde meydana gelmiştir. “%6 Al-B” biyoaktif cam numunenin Vickers sertlik değerinde anlamlı farklılaşma YVS içerisinde 14. günde meydana gelmiştir. Al ilavesi ile biyosilika içeren biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri arttırılmıştır. Ancak, YVS içerisinde HCA tabakası oluşum süreci yavaşlatılmıştır.

Çizelge 5.9 Al katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

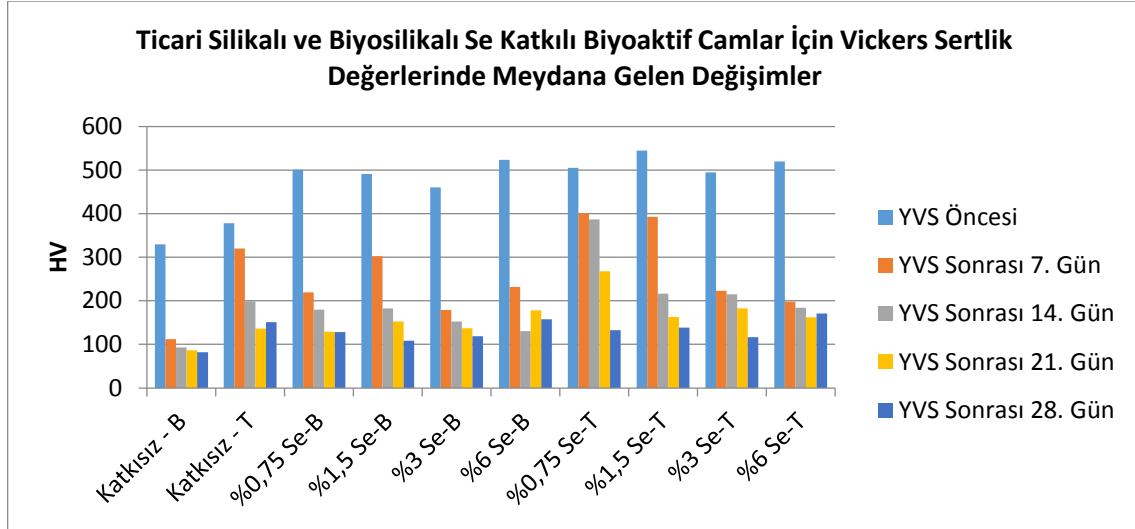
	HV* (kg/mm ²)				
	Katkısız-T	%0,75 Al-T	%1,5 Al-T	%3 Al-T	%6 Al-T
YVS Öncesi	378 (46,4) ^{a,c}	483 (69,2) ^{a,b}	494 (43,5) ^{a,b}	540 (52,0) ^b	476 (45,6) ^{a,b}
YVS Sonrası 7. Gün	319 (63,7) ^{c,d,e}	274 (56,5) ^{c,e,k}	249 (35,3) ^{c,e,g}	302 (26,9) ^{c,d,k}	438 (45,7) ^{a,b,d}
YVS Sonrası 14. Gün	198 (45,6) ^{e,g}	240 (25,5) ^{c,e,g}	227 (38,1) ^{e,f,g}	256(38,5) ^{c,e,g}	347 (33,3) ^{d,f,c}
YVS Sonrası 21. Gün	136 (92,6) ^g	153 (53,3) ^g	177 (32,2) ^{g,k}	197 (23,3) ^{g,h}	320 (82,4) ^{c,h}
YVS Sonrası 28. Gün	151(75,5) ^g	159 (20,0) ^g	174 (28,4) ^{g,k}	182 (38,3) ^{g,c}	215 (54,5) ^{g,c}

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

Ticari silika ile hazırlanan Al katkılı ve katkısız biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.9 'da verilmiştir. Al katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers Sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde farklı gruplar belirlendi (Çizelge 5.9). “Katkısız-T” ve “% 6 Al-T” biyoaktif cam numunelere ait YVS öncesi ve YVS sonrası 14. gün Vickers sertlik değerleri % 95 güven düzeyinde farklıdır. “% 0,75 Al-T”, “% 1,5 Al-T” ve “% 3 Al-T” biyoaktif cam numunelere ait YVS öncesi ve YVS sonrası 7. gün Vickers sertlik değerleri % 95 güven düzeyinde farklıdır. Buna göre, % 0,75, % 1,5 ve % 3 Al ilavesi biyoaktif cam yüzeyinde HCA tabakası oluşumunu ilk 7 günde oluşturduğu söylenebilir. YVS içerisindeki ICP analizleri ile karşılaştırıldığında %0,75 Al katkılı ticari silikanın fosfor iyonu açısından en düşük değere ulaştığı görülmektedir. Fosfor iyon değeri vickers sertlik değerlerinden elde edilen sonucu desteklemektedir. Ayrıca TRIS çözeltisinde en fazla ağırlık kaybının ve pH değişiminin meydana geldiği numune de %0,75 Al katkılı ticari silikalı camdır.

5.5.3 Se Katkılı Biyoaktif Camlar için Vickers Sertlik Değerleri

Se katkılı biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinde haftalık olarak meydana gelen değişiklikler Şekil 5.69’da verilmiştir.



Şekil 5.69 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

Se katkısının biyosilika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Se içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.10’da verilmiştir.

Çizelge 5.10 Se katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri

	YVS Öncesi				
	Katkısız - B	%0,75 Se-B	%1,5 Se-B	%3 Se-B	%6 Se-B
HV* (kg/mm²)	329 (51,5) ^a	500 (62,8) ^b	490 (49,0) ^b	460 (17,3) ^b	523 (29,2) ^b

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

Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre çizelge 5.10’da verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir farklılaşma vardır. Yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde farklılığın “Katkısız B” olarak adlandırılan biyoaktif cam numuneden kaynaklandığı belirlendi. Buna göre, biyosilika içeren biyoaktif camlara Se ilavesi biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerini arttırmıştır. Biyoaktif cam yapısına ilave edilen Se miktarındaki artış ile biyosilika içeren biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik

değerlerinin arasında % 95 güven düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (Çizelge 5.10).Se katkısının ticari silika içeren biyoaktif camların Vickers sertliğine olan etkisini belirlemek üzere farklı oranlarda Se içerecek şekilde hazırlanan biyoaktif camların Vickers sertlik değerleri Çizelge 5.11’de verilmiştir.

Çizelge 5.11 Se katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi Vickers sertlik değerleri

	YVS Öncesi				
	Katkısız - T	%0,75 Se-T	%1,5 Se-T	%3 Se-T	%6 Se-T
HV* (kg/mm²)	378 (46,4) ^a	504 (74,0) ^{a,b}	545 (64,0) ^b	495 (56,6) ^{a,b}	519 (57,2) ^b

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

Gerçekleştirilen Varyans Analizi (ANOVA) sonucuna göre çizelge 5.11’de verilen gruplar arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir farklılaşma vardır. Yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde “Katkısız T”, “% 1,5 Se-T” ve “% 6 Se-T” olarak adlandırılan biyoaktif cam numunelerden farklıdır. Buna göre, ticari silika içeren biyoaktif camlara Se ilavesi biyoaktif cam numunelerin Vickers sertlik değerini arttırmıştır. Ticari silika içeren biyoaktif camlara ilave edilen Se miktarına bağlı % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (Çizelge 5.11). Biyosilika ile hazırlanan Se katkılı biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri çizelge 5.12’de verilmiştir. Se katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir.

Çizelge 5.12 Se katkılı ve katkısız biyosilika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

	HV* (kg/mm ²)				
	Katkısız-B	%0,75 Se-B	%1,5 Se-B	%3 Se-B	%6 Se-B
YVS Öncesi	329 (51,6) ^{a,c}	500 (62,8) ^b	490 (49,0) ^b	460 (17,3) ^{a,b}	523 (29,2) ^b
YVS Sonrası 7. Gün	111 (36,8) ^{d,f}	219 (59,0) ^{c,d,f}	302 (69,9) ^{a,c,e}	179 (84,0) ^{d,e,f}	231 (56,6) ^{c,d}
YVS Sonrası 14. Gün	93 (29,3) ^f	179 (26,8) ^{d,e,f}	182 (41,7) ^{d,e,f}	152 (28,1) ^{d,f}	130 (62,8) ^{d,f}
YVS Sonrası 21. Gün	86 (11,9) ^f	128 (27,2) ^{d,f}	152 (39,5) ^{d,e,f}	136 (41,2) ^{d,f}	178 (83,0) ^{d,e,f}
YVS Sonrası 28. Gün	81 (17,1) ^{d,f}	128 (35,0) ^{d,f}	108 (30,6) ^{d,f}	118 (21,1) ^{d,f}	157 (24,8) ^{d,f}

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

Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda, YVS içerisinde 7, 14, 21 ve 28 gün bekletilen biyosilika içeren Se katkılı ve katkısız biyoaktif camların Vickers sertlik değerlerinin YVS öncesi Vickers sertlik değerlerinden % 95 güven düzeyinde istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 7, 14, 21 ve 28. günlerde ölçülen Vickers sertlik değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı çizelge 5.12’de görülmektedir. Bu durum, Se katkılı ve katkısız biyosilika içerikli biyoaktif cam numunelerin yüzeylerinde YVS içerisindeki 1. haftalarında biyoaktivitenin göstergesi olan HCA tabakasının oluşması ile açıklanabilir.

Ticari silika ile hazırlanan Se katkılı biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası Vickers sertlik değerleri çizelge 5.13’te verilmiştir. Se katkılı ve katkısız bu cam numunelerin Vickers sertlik değerleri arasında % 95 güven düzeyinde anlamlı bir fark olduğu yapılan ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda “Katkısız-T” numunesinin YVS öncesi ve YVS sonrası 14. gün Vickers sertlik değerlerinin % 95 güven düzeyinde farklı olduğu, “% 0,75 Se-T” numunesinin YVS öncesi ve YVS sonrası 21. gün Vickers sertlik değerlerinin % 95 güven düzeyinde farklı olduğu görülmektedir. “% 1,5 Se-T”, “% 3 Se-T” ve “% 6 Se-T” numunelerinin ise YVS öncesi ve YVS sonrası 7. gün Vickers sertlik değerlerinin % 95 güven düzeyinde farklı olduğu görülmektedir.

Çizelge 5.13 Se katkılı ve katkısız ticari silika içeren camların YVS öncesi ve sonrası Vickers sertlik değerleri

	HV* (kg/mm ²)				
	Katkısız-T	%0,75 Se-T	%1,5 Se-T	%3 Se-T	%6 Se-T
YVS Öncesi	378 (46,5) ^{a,c,f}	504 (74,0) ^{a,b}	545 (64,0) ^b	495 (56,6) ^{a,b,d}	519 (57,2) ^{b,d}
YVS Sonrası 7. Gün	319 (63,7) ^{c,e}	401 (33,0) ^{a,b,c}	392 (67,8) ^{a,c,d}	222 (51,2) ^{e,g}	198 (12,2) ^{e,g}
YVS Sonrası 14. Gün	198 (45,6) ^{e,g}	386 (52,9) ^{a,c}	216 (52,7) ^{e,g}	215 (55,1) ^{e,f,g}	184 (36,8) ^{e,g}
YVS Sonrası 21. Gün	136 (92,6) ^g	268 (51,0) ^{c,g}	162 (41,1) ^g	182 (45,3) ^g	162 (46,1) ^g
YVS Sonrası 28. Gün	151(75,5) ^g	132 (10,3) ^g	138 (7,4) ^g	116 (48,9) ^g	170 (21,9) ^{e,g}

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

5.6 FTIR Analizi Sonuçları

Şekil 5.70-şekil 5.77 de biyosilikalı veya ticari silikalı tüm biyoaktif camların YVS öncesi ve sonrası 14. gün FTIR analizleri verilmiştir. FTIR spektrumları incelendiğinde biyoaktif camların yapısında olması muhtemel Si-O-Si grupları 1020 cm⁻¹ dalga boylarında görülmektedir. 850 cm⁻¹ dalga boyunda görülen pik SiO₄ tetrahedron yapısında iki adet köprü yapmamış oksijen içeren Si-OH gruplarını göstermektedir. 1020 cm⁻¹ civarında ayrılmamış olan pik genel olarak 980 cm⁻¹'de görülen pik (PO₄)⁻³ gruplarını göstermektedir. 1648 cm⁻¹'de ve 3000 cm⁻¹ civarındaki pikler OH⁻ gruplarını temsil etmektedir.

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

Biyoaktif camların YVS öncesi ve YVS sonrası 2. hafta alınan FTIR spektrumları Şekil 5.70 ve Şekil 5.77 arasında ve ekler bölümünde Şekil A.1 ile Şekil A.17 arasında verilmiştir. FTIR analizinde HCA tabakasına ait $(\text{CO}_3)^{-2}$ ve $(\text{PO}_4)^{-3}$ gruplarındaki bağlarda meydana gelen titreşim veya gerilmelerin sonucu alınan spektrumların 2. Hafta şiddetlenmesi beklenmektedir. Tüm biyoaktif camlar için genel olarak karakteristik piklerin yerleri aşağıda verilen tabloda verilmiştir. 2. haftada alınan tüm FTIR spektrumlarında $(\text{CO}_3)^{-2}$ ve $(\text{PO}_4)^{-3}$ gruplarına ait pikler yer almaktadır. Bu da hidroksiapatit oluşumunu göstermektedir.

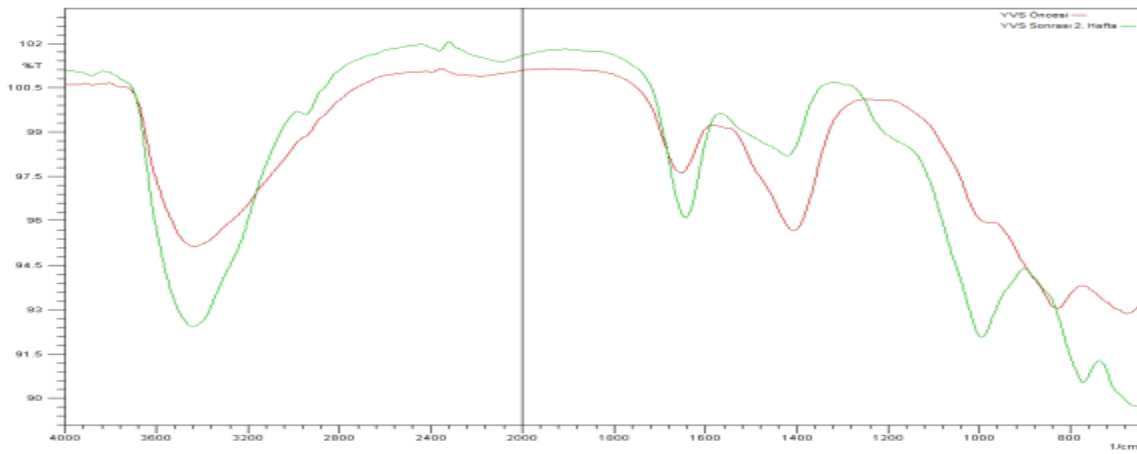
Çizelge 5.14 FTIR spektrumunda fonksiyonel grupların dalga boylarına bağlı olarak yorumlanması

BANT	DALGA BOYU	YORUM
(P-O-P)	600 cm^{-1}	P-O bandı genelde amorf kalsiyum fosfatlar için görülmektedir [68].
$\nu_4(\text{P-O-P})$	570 - 600 cm^{-1}	HA'da bulunan P-O-P bağlanma modu[69].
P-O	950-1000	V_3 phosphate [70].
CO_3^{-2}	712 cm^{-1}	Kalsit için karakteristiktir [71].
$\delta(\text{Si-O-Si})$	800 cm^{-1}	3 boyutlu silica yapı oluşumunu göstermektedir [68].
$\nu_2(\text{CO}_3^{-2})$	871 cm^{-1}	Karbonatlanmış apatitteki CO_3^{-2} için karakteristik banttır[68].
SiO_{NBO}	930 cm^{-1}	Piklerin yoğunlukları daha düşük ve bağlanmayan oksijen bandının düşük miktarının varlığını gösteren 950 cm^{-1} 'e daha yüksek frekansa kaydırılabilir [68].
$\nu_{\text{asym}}(\text{Si-O-Si})$	1020 cm^{-1}	Bu bölgede absorplanan P-O ve Si-O gruplarının çakışması yüzünden 900–1200 cm^{-1} 'deki geniş kompleks bantların analiz edilmesi zordur. Hidratasyonun bir sonucu olan YVS içine daldırıldıktan sonra bu geniş pik daha yüksek dalga sayısına kaydırılır[68],[69].
$\nu(\text{Si-O-Si})$	1210–1220 cm^{-1}	Si-OH gruplarının kondenzasyonu üzerine yeni Si-O-Si bağlarının oluşumunun göstergesidir [68],[72].
$\nu_3(\text{CO}_3^{-2})$	1430 -1500 cm^{-1}	Simetrik olarak koordine saf iyonik karbonat iyonları yüzeyde absorplanmıştır. Bu pikler, Ca^{+2} koordineli CO_3^{-2} veya apatitlere bağlanmış CO_3^{-2} 'a dayandırılabilir [68], [73], [69].
OH	1630	OH groups [74]

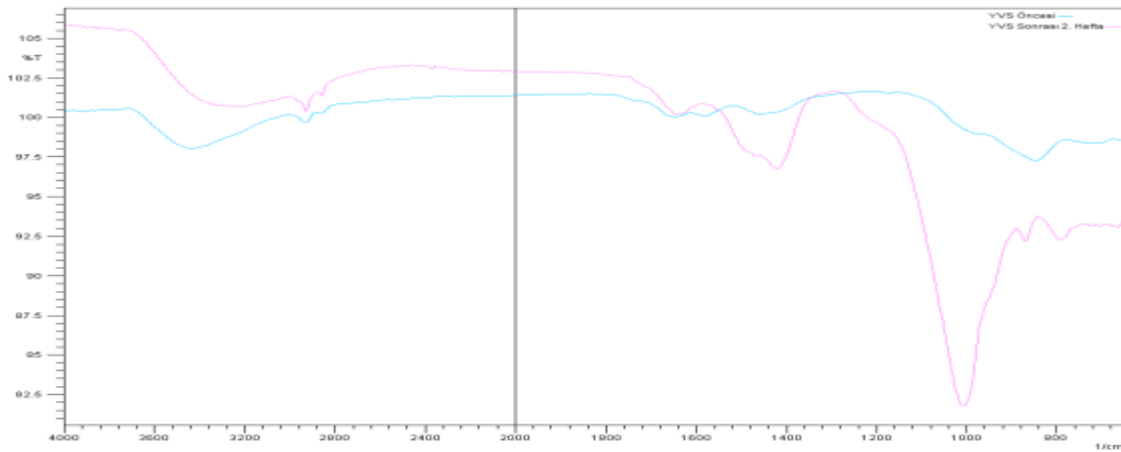
5.6.1 Katkısız Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri

Aşağıda yer alan FT-IR grafikleri incelendiğinde YVS sonrası FT-IR analizlerinde 1000 cm^{-1} civarında pikler net bir biçimde görülmektedir. FTIR spektrumlarında 1000 cm^{-1} civarında yer alan pikler HCA'e ait P-O bağı titreşimlerinden ileri gelmektedir YVS sonrası analizlerinden Biyosilikalı ve ticarisilikalı katkısız biyoaktif camlarda HCA tabakasının oluşumu görülmektedir.

Biyosilika için: 1600 cm^{-1} 'deki OH^- bağları YVS sonrası artmış, 1400 cm^{-1} civarındaki CO_3 bağları ise azalmıştır. Ticari silikalı da ise: 1600 cm^{-1} 'deki OH^- bağları görülmemiştir. 1400 cm^{-1} 'deki CO_3 bağları ise artmıştır.



Şekil 5.70 Biyosilikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

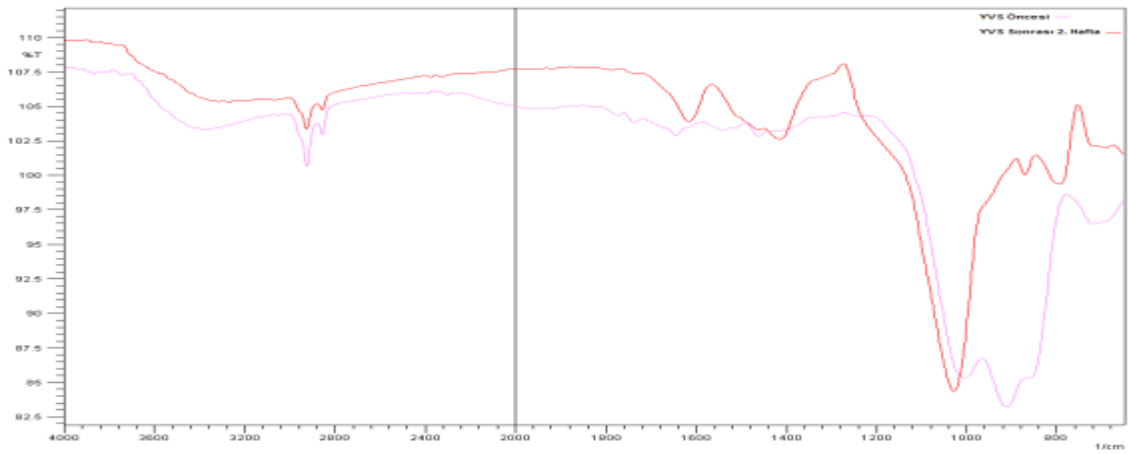


Şekil 5.71 Ticari silikalı katkısız biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

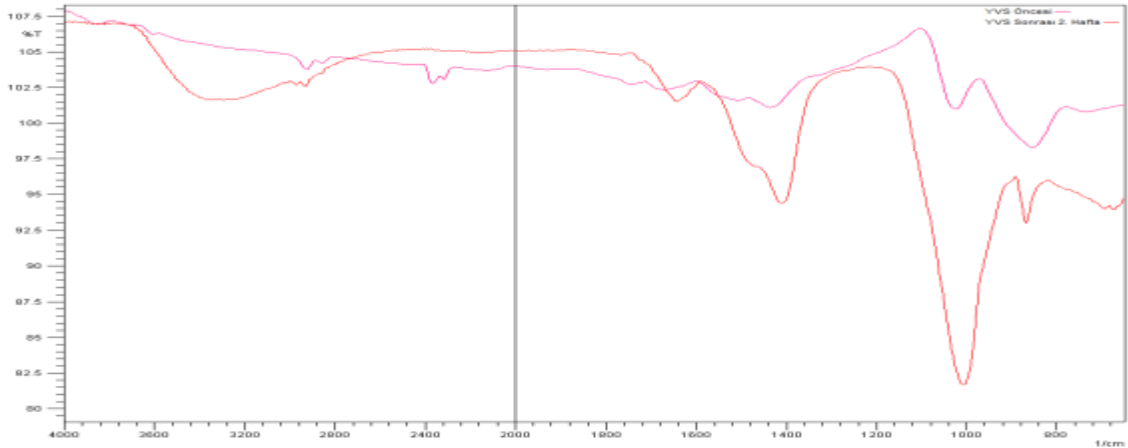
5.6.2 Mg Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri

Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camların FT-IR analizleri incelendiğinde katkısız biyosilikalı camda olduğu gibi 1600 cm^{-1} civarında OH^- bağlarını gösteren piklerde artış olmuş. 1000 cm^{-1}

civarında görülen HCA ya ait P-O bağlarını temsil eden pikler oluşmuş. Burada da HCA tabakasının oluşumu gözlenmiştir. 1400 cm^{-1} 'de gözlenen karbonat bağları burada da görülmüştür. Mg katkılı ticari silikalı biyoaktif cam ise biyosilikalı camdan farklı olarak 1600 cm^{-1} 'deki OH^- bağları pikleri çok az. Ancak 1400 cm^{-1} 'deki CO_3 pikinde daha fazla bir artış olmuştur. Ekler kısmında yer alan %1,5 Mg katkılı, %3 Mg katkılı, %6 Mg katkılı biyocamların FTIR analizinde de 1000 cm^{-1} civarında görülen HCA ya ait P-O bağlarını temsil eden pikler oluşmuştur.



Şekil 5.72 Biyosilikalı %0.75 Mg katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

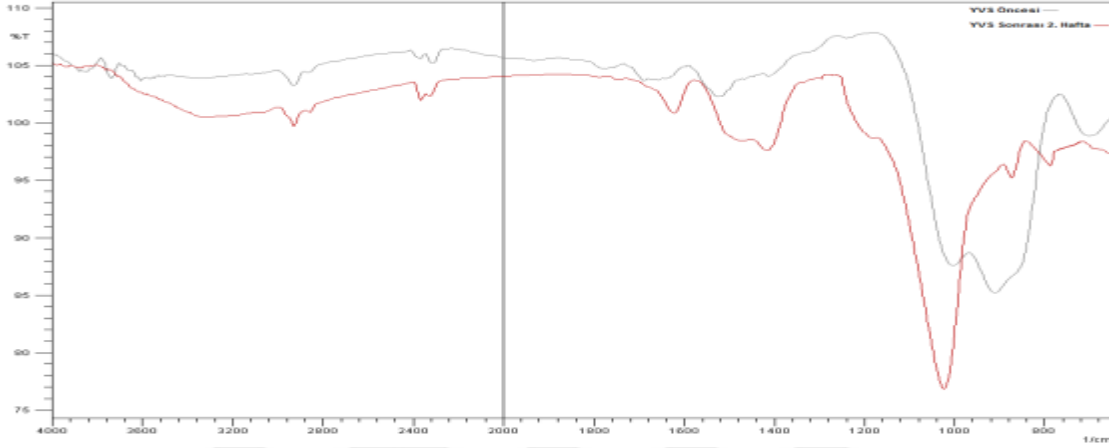


Şekil 5.73 Ticari silikalı %0.75 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

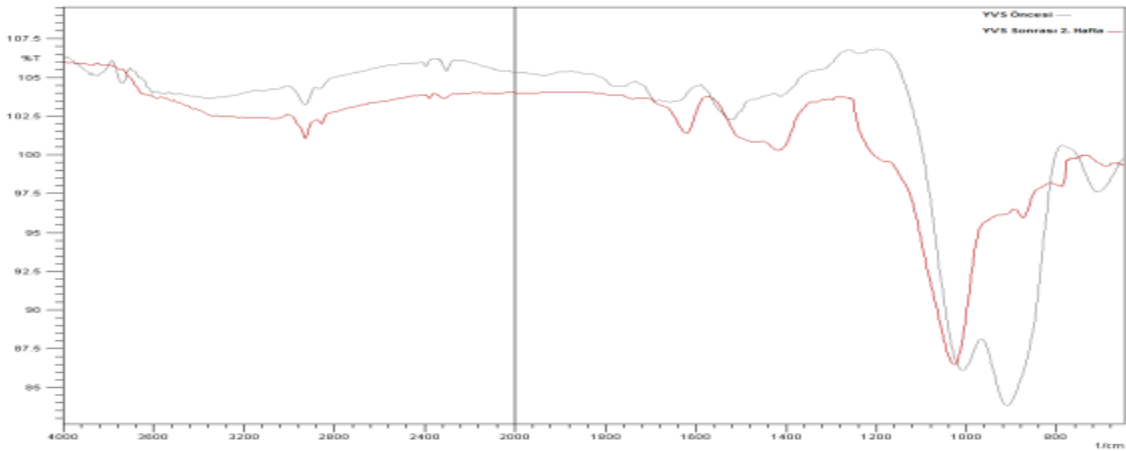
5.6.3 Al Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri

Al katkılı biyoaktif camların FT-IR analizleri diğer katkılı ve katkısız camlardan farklı olarak YVS öncesi 700-900 arasında bir pik oluşturmaktadır. Literatürdeki diğer çalışmalarda da bu pik

gözlenmiştir. 700-900 arası oluşan pik AlO_4 yapısının göstergesidir. YVS içerisinde alınan numunelerdeki AlO_4 yapısı H_2O ve OH etkisiyle AlO_6 yapısına dönüşmektedirler. AlO_6 yapısı ise HCA tabakasının numuneye daha kuvvetli bir biçimde tutunmasını sağlamaktadır. YVS sonrası 2. hafta yapılan FT-IR analizlerinde 700-900 arasında görülen pik yok olmuştur. Bu pikin yerini 600-700 arası oluşan AlO_6 oluşumunu gösteren pik almıştır(Şekil 5.74).



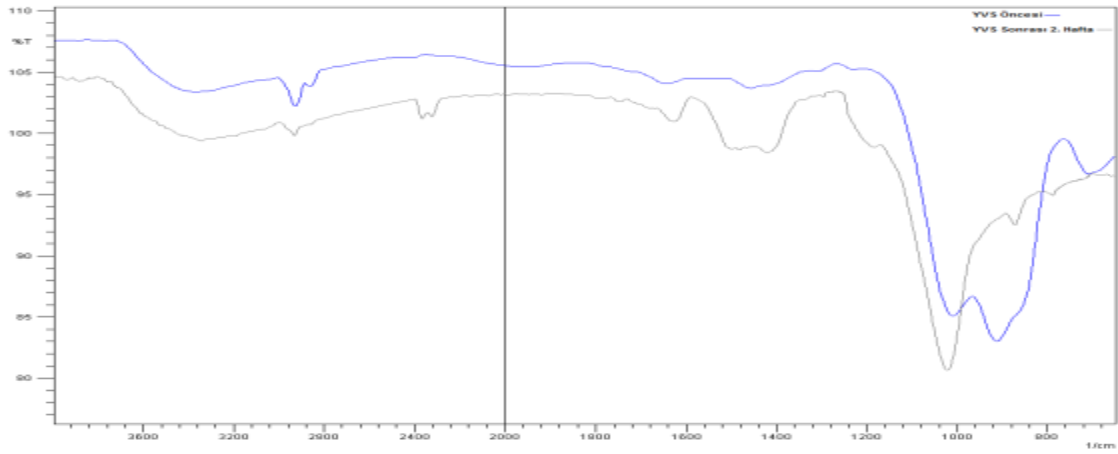
Şekil 5.74 Biyosilikalı %1.5 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



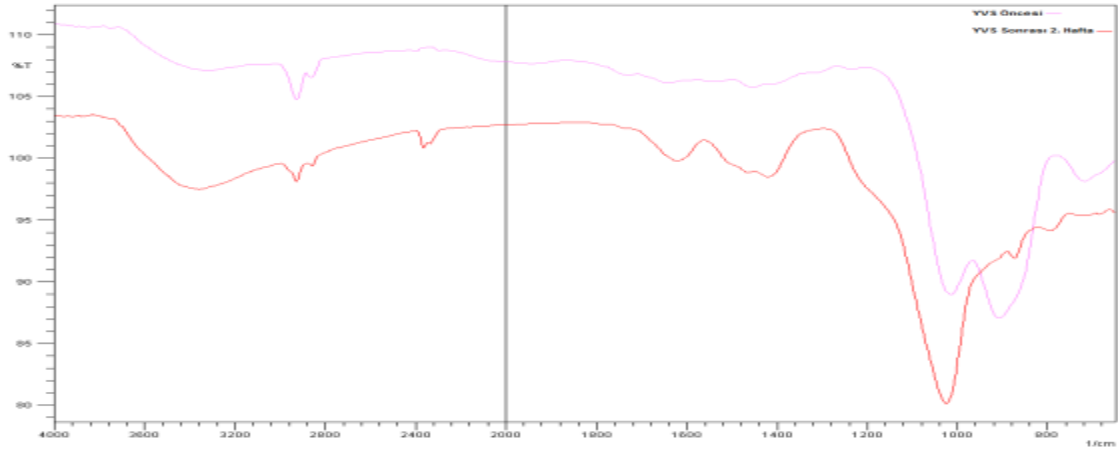
Şekil 5.75 Ticari silikalı %1.5 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

5.6.4 Se Katkılı Biyoaktif Camların YVS İçerisinde Bekleme Süresine Bağlı FT-IR Grafikleri

Se katkılı biyosilikalı ve ticari silikalı camlarda YVS sonrası 2. Hafta da HCA oluşumu FT-IR analizleri ile gözlenmiştir. 1000 cm^{-1} civarında görülen pikler HCA tabakası oluşumunun göstergesidir. Ekler kısmında yer alan %0,75 Se katkılı, %3 Se katkılı, %6 Se katkılı biyocamların FTIR analizinde de 1000 cm^{-1} civarında pikler görülmüştür.



Şekil 5.76 Biyosilikalı %1.5 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

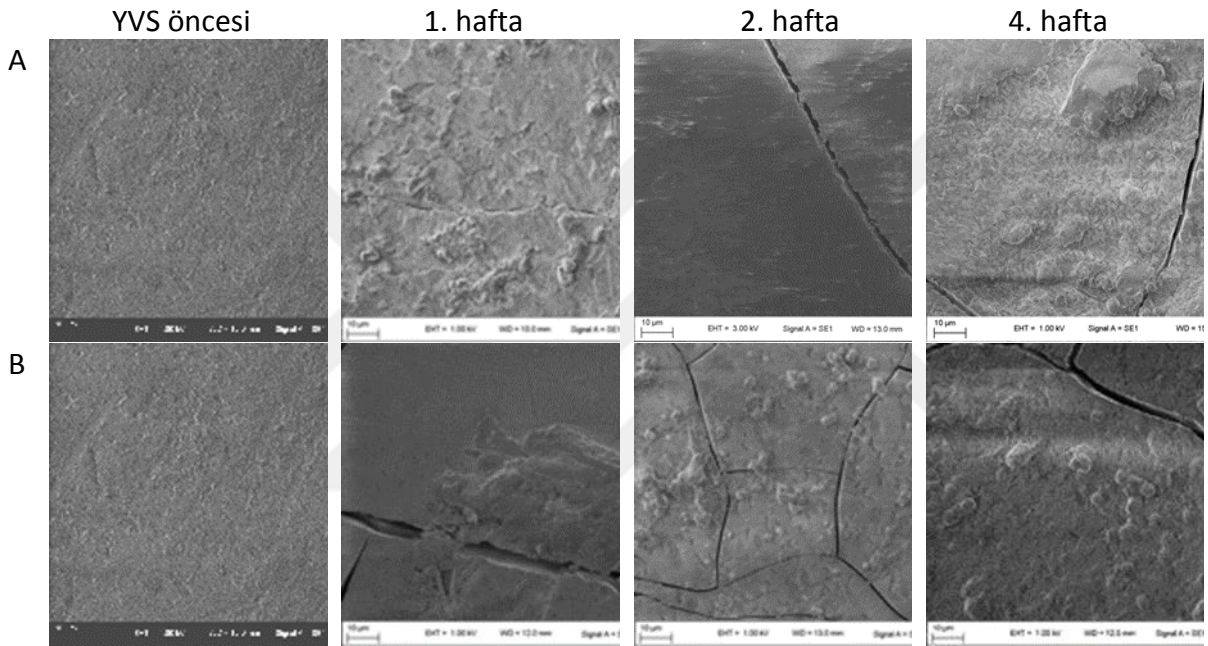


Şekil 5.77 Ticari silikalı %1.5 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

5.7 SEM Görüntüleri

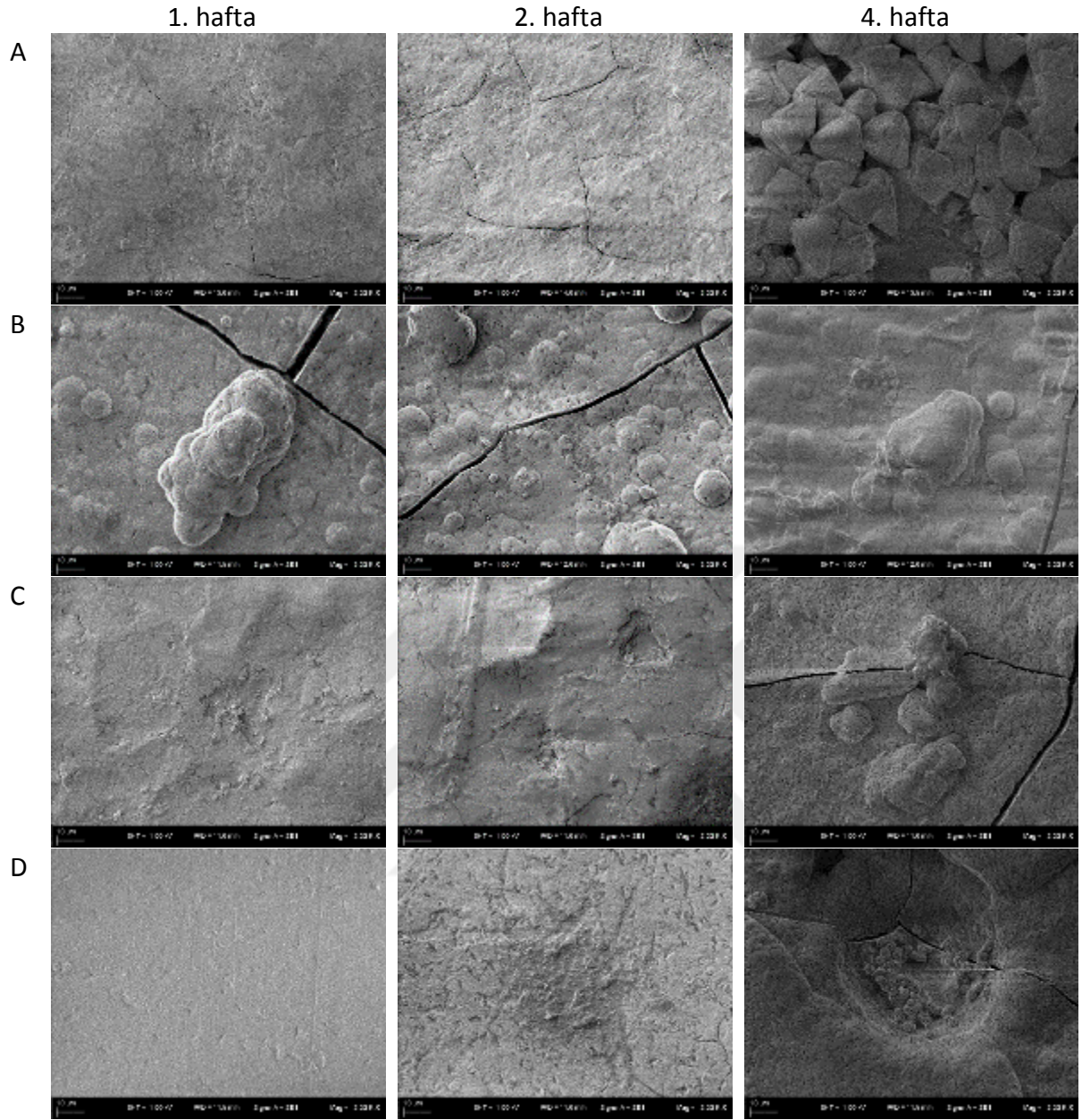
YVS içerisinde 37°C 'de inkübe edilen numunelerin dış yüzey morfolojilerinde meydana gelen değişiklikler SEM cihazı kullanılarak tayin edilmiştir. Katkısız biyoaktif camların YVS'na konulmadan önce ve bütün camların YVS sonrası 7, 14 ve 28. günlerde SEM görüntüleri alınmıştır. Şekil 5.78- Şekil 5.84 arasında sıralanan SEM görüntüleri incelendiğinde YVS öncesine ait olan görüntülerde biyoaktif cam yüzeyinde düz ve homojen bir yapı gözlemlenmektedir. YVS sonrası 7. güne ait görüntülerde tüm biyoaktif camlarda HCA tabakasına ait çökelmeler görülmektedir. 14. güne ait görüntülerde HCA tabakasının tüm yüzeyde kaplandığı ve yüzeyde iyon salımından meydana gelen çatlaklar oluşmaya başladığı görülmektedir. Verilen görüntülerde tüm biyoaktif camlar için 28. günde apatit tabakasının yoğunlaştığı görülmektedir. Biyoaktif camların 28 gün içerisinde yüzeyinde oluşan çatlaklar

biyobozunurluğuna ve yzeyinde oluşan HCA tabakası biyoaktivitesine işaret eder. İn vitro ortamda YVS içerisinde HCA oluşumu *in vivo* ortamda kemiğe sıkı bağlanma ile doğrudan ilişkilidir ve bu mekanizma hakkında önemli bilgiler vermektedir.



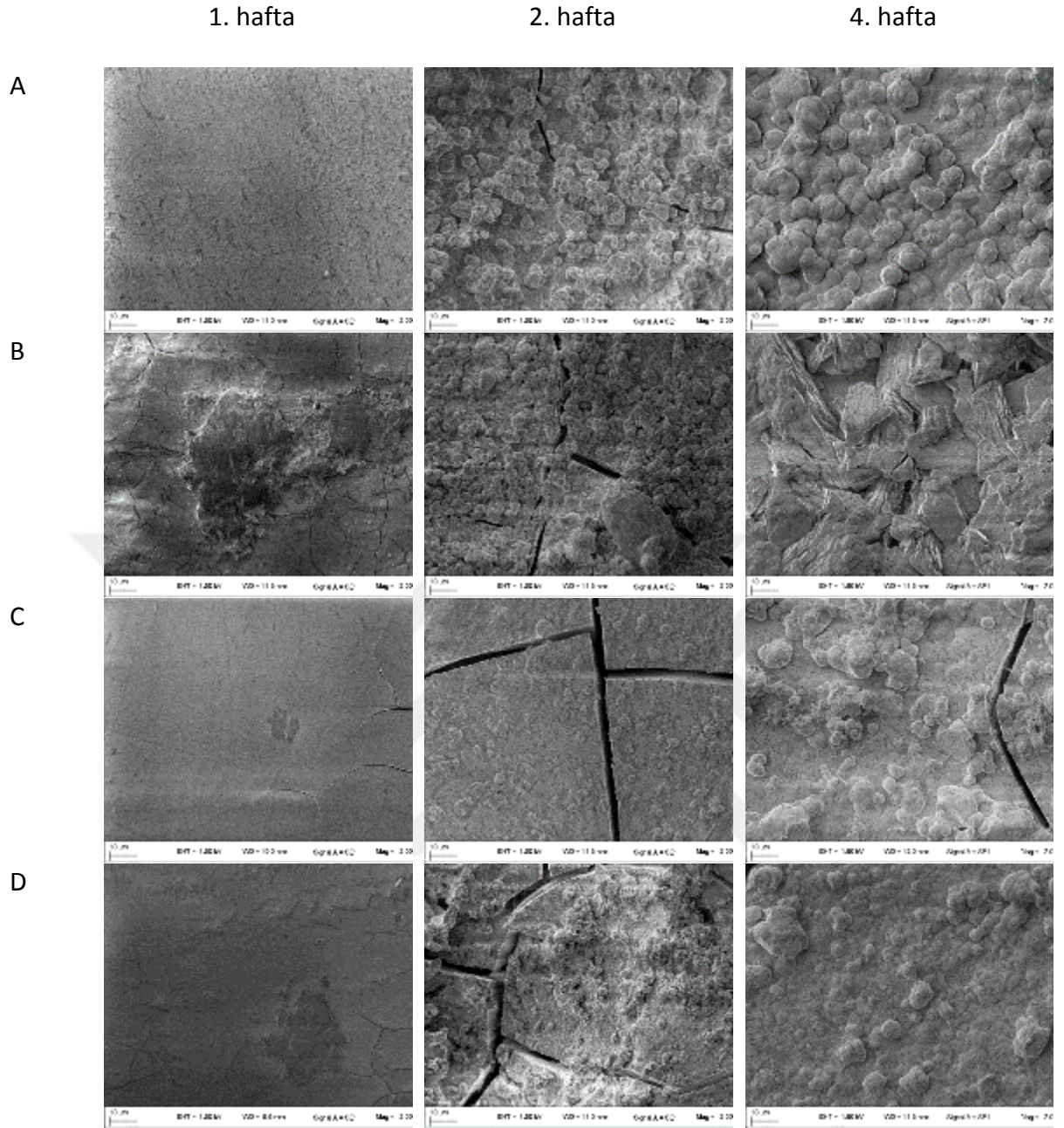
şekil 5.78 YVS içerisinde (A)katkırsız-B ve (B) katkırsız -T biyoaktif camlara ait SEM gęrüntüleri (2000 X)

SEM gęrüntüleri incelendiğinde katkırsız ticari silikalı ve biyosilikalı camlarda ilk haftada HCA tabakası oluşumu gęrölmektedir. Biyosilikalı camda bu daha küçük partiküller halinde oluşmuştur. Bu partiküller biyosilikalı camın ticari silikalıdan daha yüksek biyoaktivitesinin kanıtıdır.



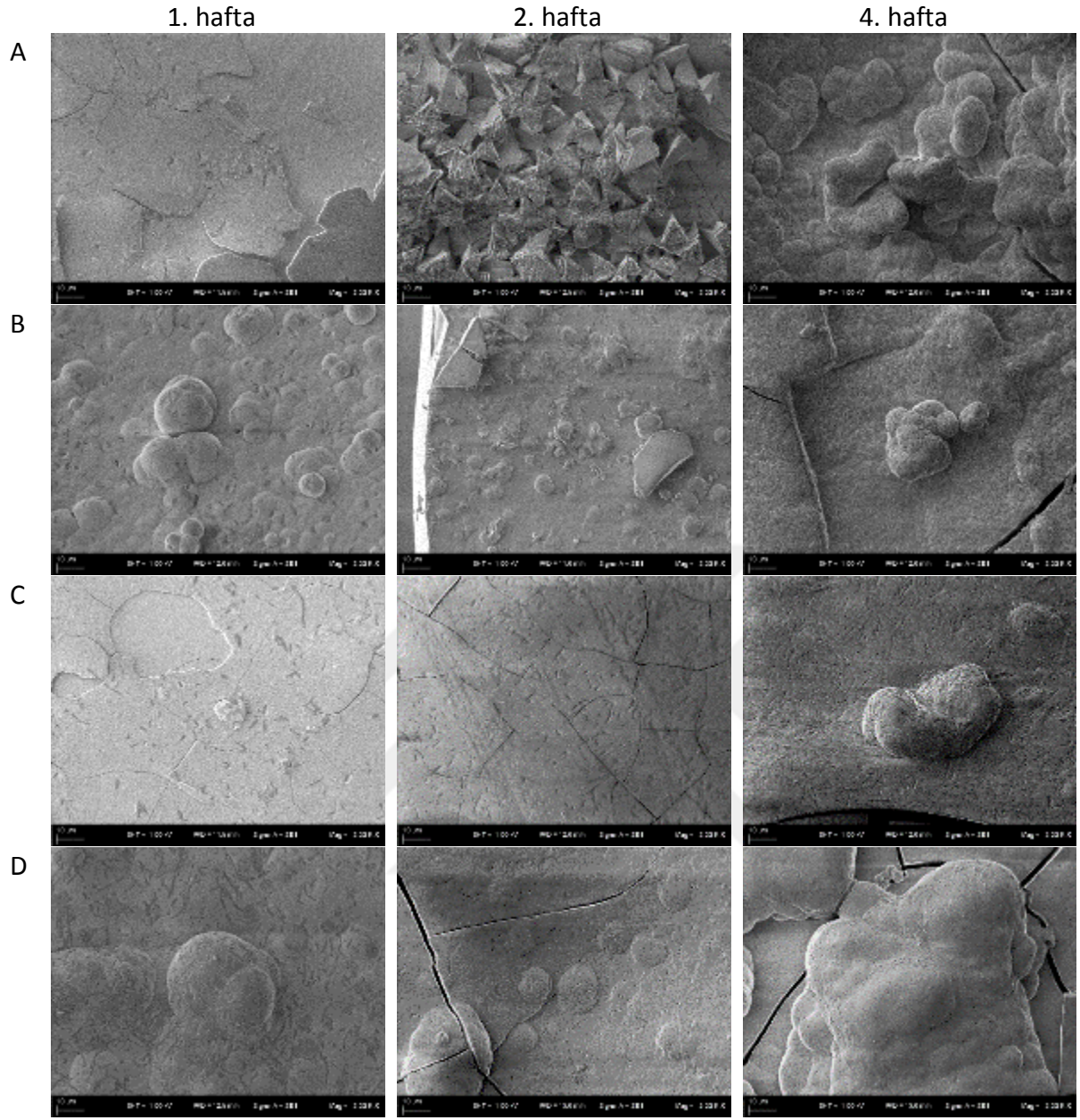
Şekil 5.79 YVS içerisinde Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)
(A)%0,75 Mg-B (B)%1,5 Mg-B, (C)%3 Mg-B ve (D)%6 Mg-B

SEM görüntüleri incelendiğinde Mg katkılı biyosilikalı camlarda birinci haftada en net oluşum %1,5 Mg-B numunesinde görülmektedir(Şekil 5.79). Vickers sertlik değerleri ve ICP kalsiyum iyon miktarı bu sonucu desteklemektedir. Dördüncü hafta sonunda ise bütün numunelerde HCA tabakası oluşmuştur.

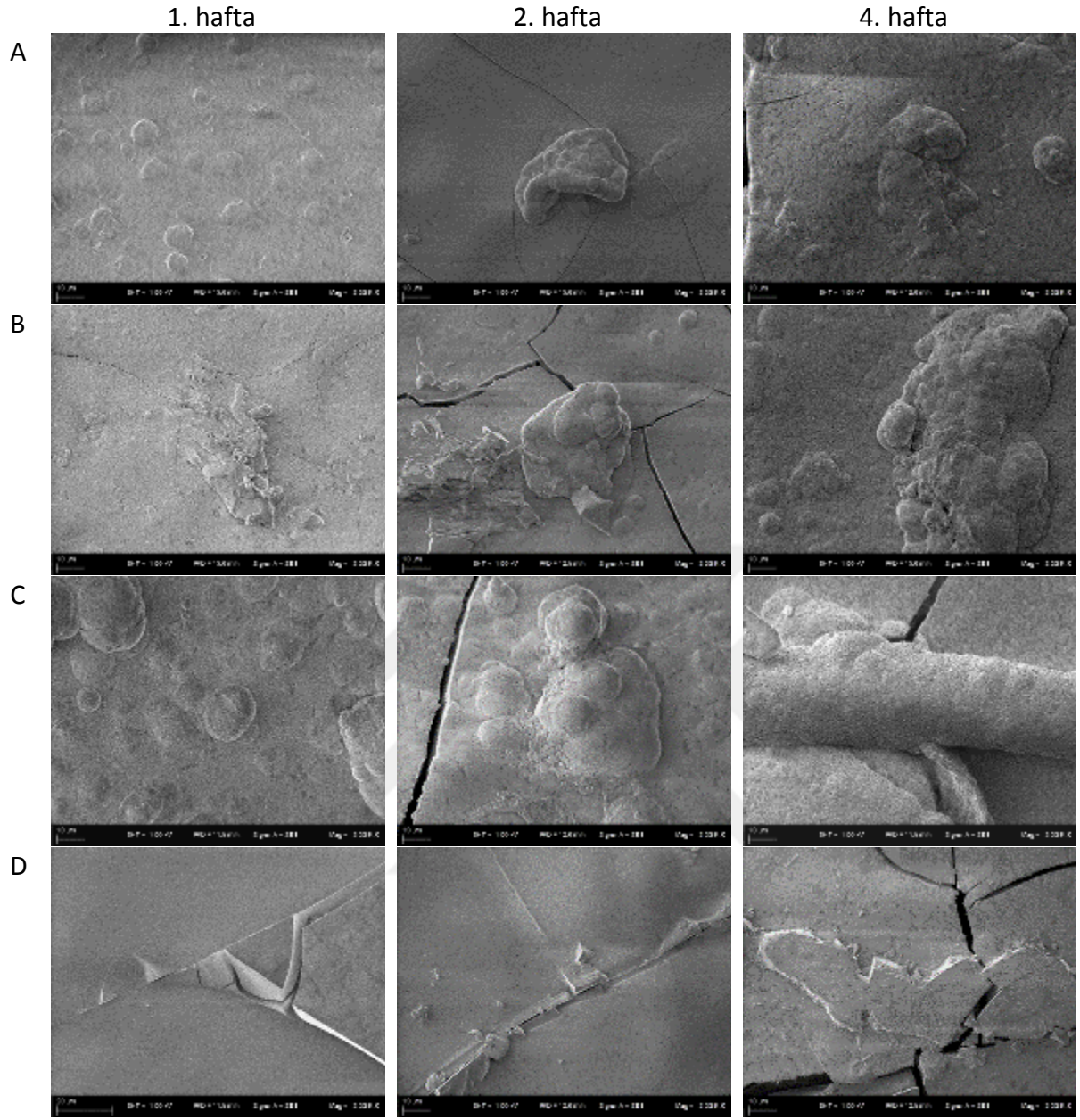


Şekil 5.80 YVS içerisinde Mg katkılı ticari silikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X) (A)%0,75 Mg-T (B)%1,5 Mg-T, (C)%3 Mg-T ve (D)%6 Mg-T

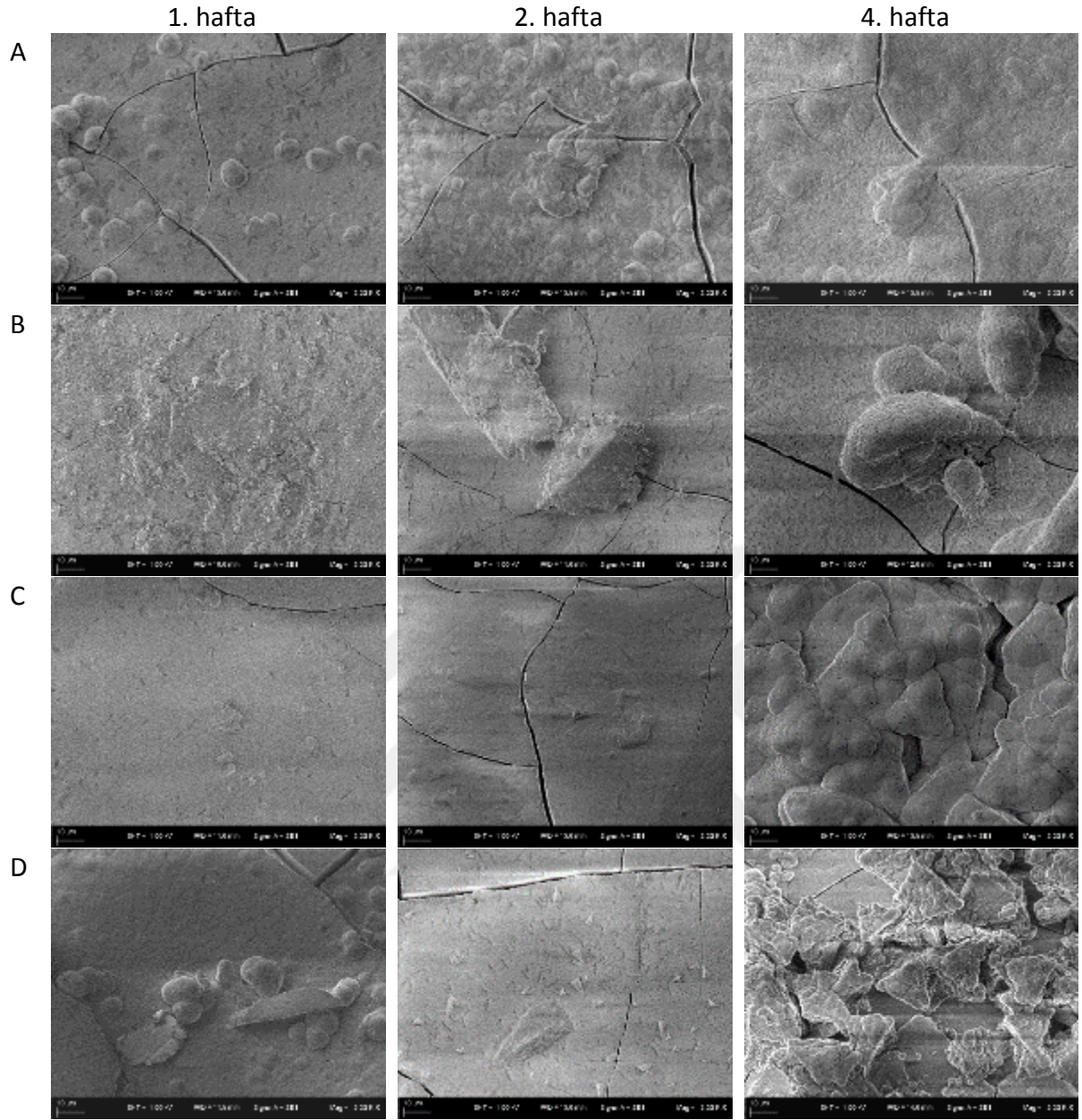
Birinci hafta SEM görüntüleri incelendiğinde Mg katkılı ticari silikalı camlarda en net oluşumun %1,5 Mg-T numunesinde olduğu görülmektedir. 2. Hafta sonunda bütün numunelerde iyon salımını gösteren çatlaklar oluşmuştur. 4. Hafta sonunda ise bütün numunelerde HCA tabakası oluşmuştur.



Şekil 5.81 YVS içerisinde Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)
(A)%0,75 Al-B (B)%1,5 Al-B, (C)%3 Al-B ve (D)%6 Al-B

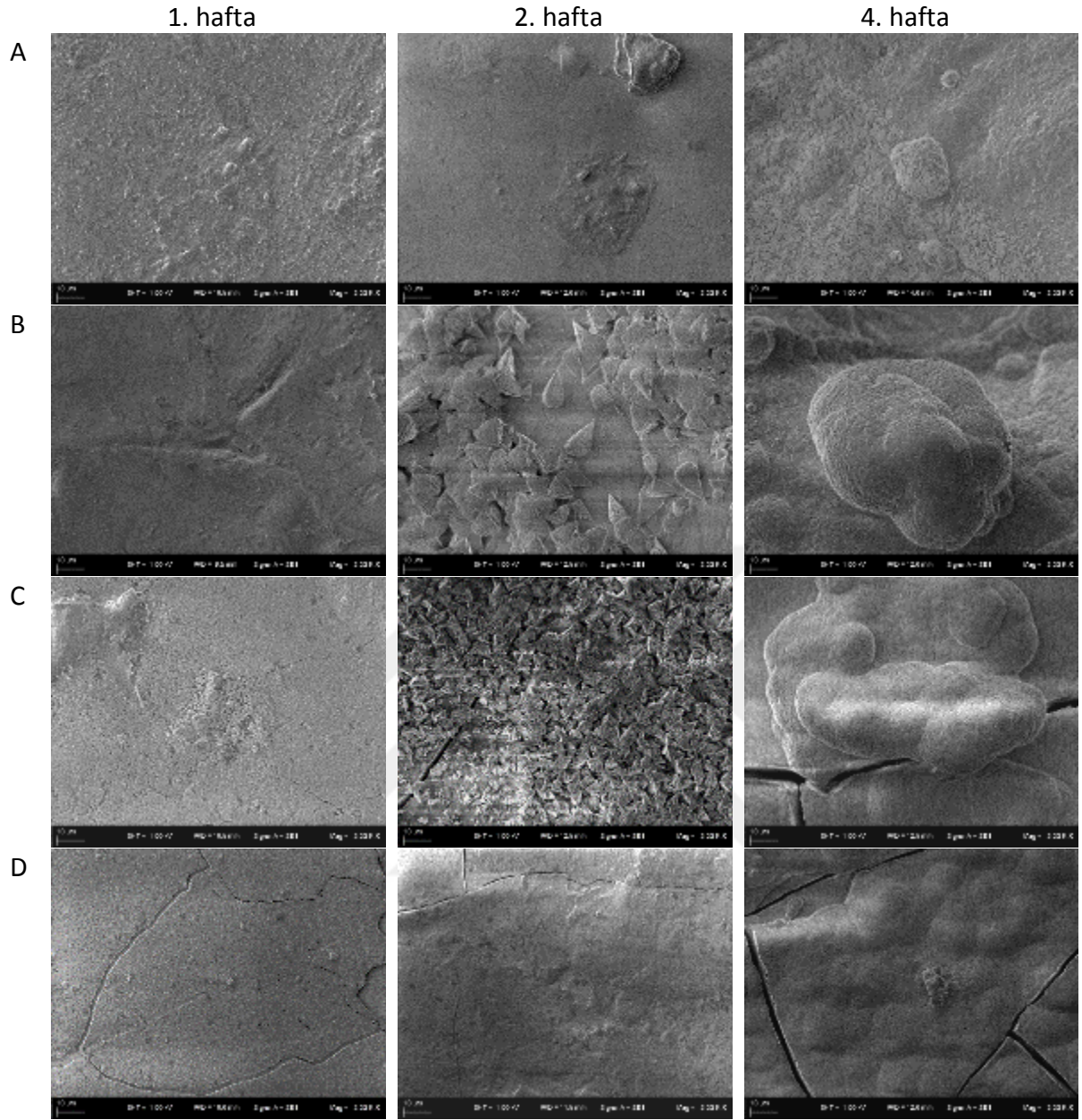


Şekil 5.82 YVS içerisinde Al katkılı ticari silikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)
(A)%0,75 Al-T (B)%1,5 Al-T, (C)%3 Al-T ve (D)%6 Al-T



Şekil 5.83 YVS içerisinde Se katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)
(A)%0,75 Se-B (B)%1,5 Se-B, (C)%3 Se-B ve (D)%6 Se-B

Birinci hafta sonundaki biyosilikalı Se katkılı camlara ait SEM görüntüleri incelendiğinde HCA oluşumu tüm katkılı camlarda görülmektedir. Vickers sertlik değerlerinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda çıkan ilk haftada Se katkılı camların hepsinde HCA tabakası oluşmuştur ifadesi ile SEM görüntüleri tutarlıdır.



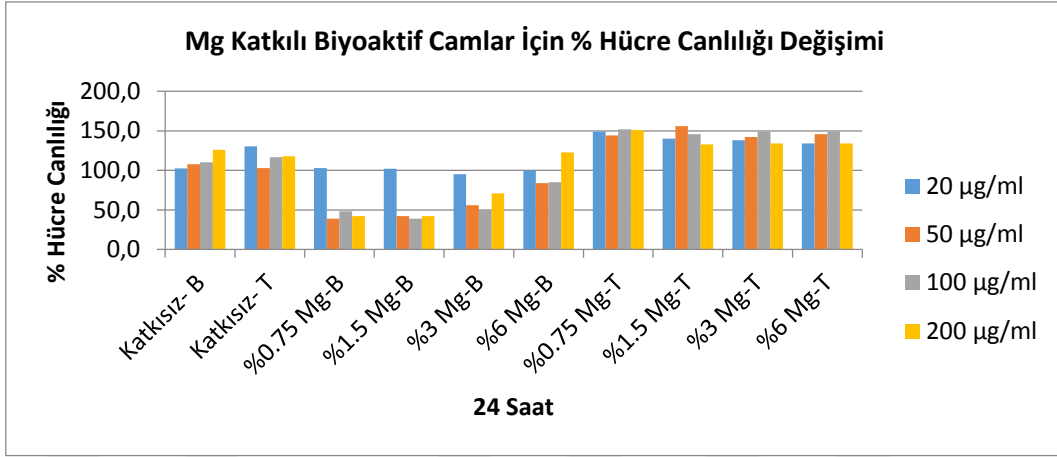
Şekil 5.84 YVS içerisinde Se katkılı ticari silikalı biyoaktif camlara ait SEM görüntüleri (2000 X)
(A)%0,75 Se-T (B)%1,5 Se-T, (C)%3 Se-T ve (D)%6 Se-T

5.8 Hücre Çalışmaları

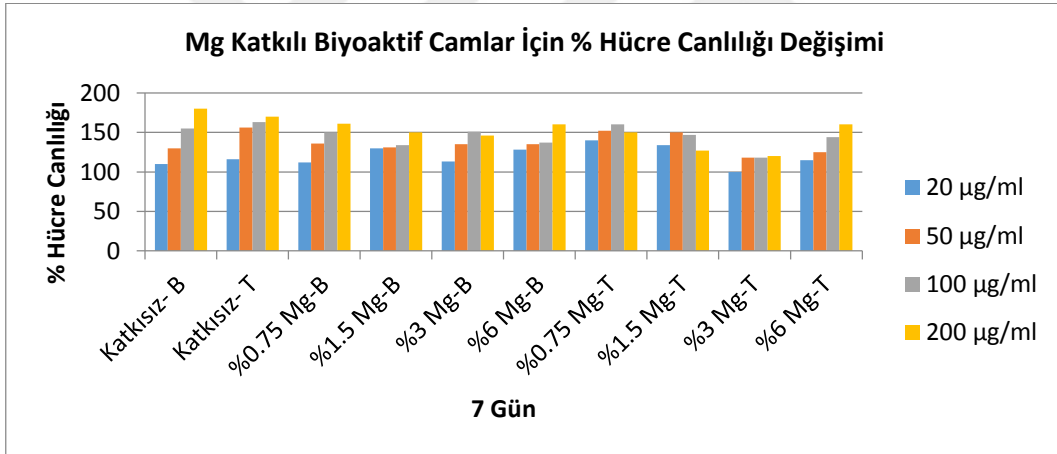
5.8.1 Hücre Kültürü, Hücre Canlılığı ve Sitotoksisite Sonuçları

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

üzerinde toksik bir etkisi olmadığı saptandı. Şekil 5.85 ile şekil 5.90 arasında farklı konsantrasyonlarda biyoaktif camlara maruz bırakılan hücrelerin hücre canlılığına etkisi verilmiştir.



Şekil 5.85 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi

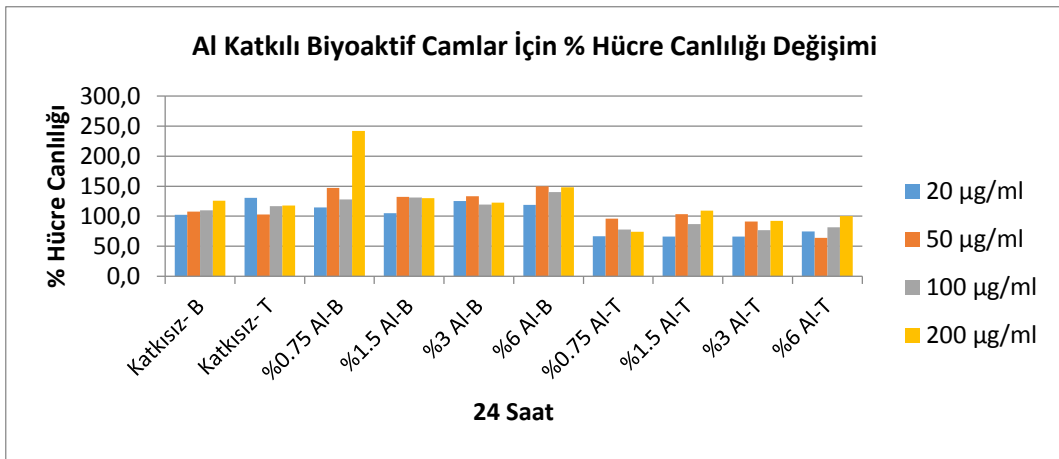


Şekil 5.86 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi

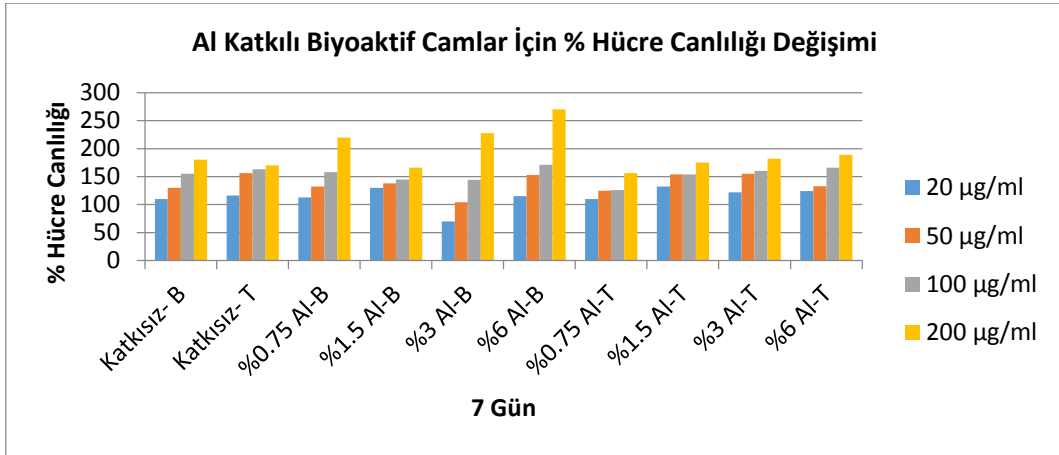
Şekil 5.85 incelendiğinde ilk 24 saatte Mg katkılı biyoaktif camlarda ticari silika ile üretilenlerin biyosilikalı biyoaktif camlara göre hücre canlılığını daha fazla arttırdığı görülmüştür. Şekil 5.86'da ise 7 gün sonrasında Mg katkılı ticari silikalı ve biyosilikalı biyoaktif camların hücre canlılığına etkisinin hemen hemen aynı olduğu görülmektedir. Sadece %3 ve %6 Mg katkılı ticari silikalı biyoaktif camların hücre canlılığına etkisi biraz düşük kalmıştır. Mg vücutta oldukça çok bulunan ve vücut sağlığı için önemli olan bir iyondur. Mg birçok enzimatik reaksiyonda görevlidir ve kemik gelişimini doğrudan etkilemektedir. Bu sebeple Mg katkılı birçok ticari biyomedikal ürün üretilmiştir. Üretilen ticari ürünler de hücre kültürü yöntemi ile

denendiği zaman bu ürünlerin kemik gelişimini hızlandırdığı ve kemik gelişimiyle ilgili olan genlerin ifadesini arttırdığı görülmüştür [44],[75]. Genel olarak bizim çalışmalarımızda da Mg katkılı biyoaktif camların hücre canlılığı üzerine olumlu etkileri olmuştur.

Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre; mesenkimal kök hücre kullanarak onların üzerine Mg, Zn ve Sr katkılı biyoaktif camları vererek hücre aktivitesini incelemişlerdir. Buna göre katkılı camlarla muamele edilen hücrelerde 24 saatten sonra hücre canlılığında biyoaktif cam kullanılmayan hücrelere göre büyük bir artış görülmüştür [60].



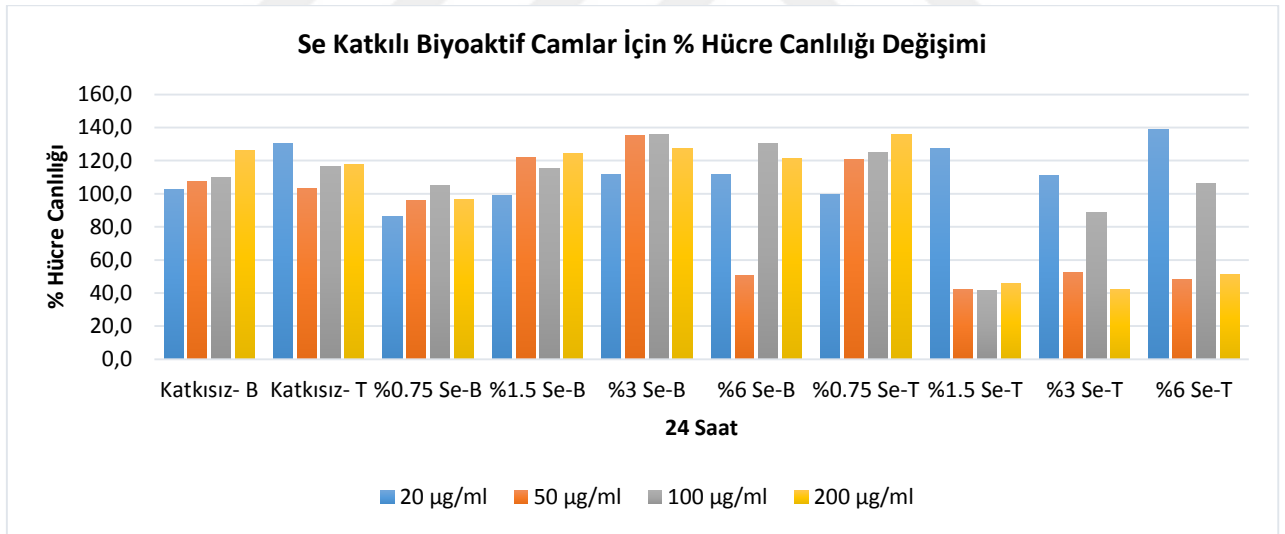
Şekil 5.87 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi



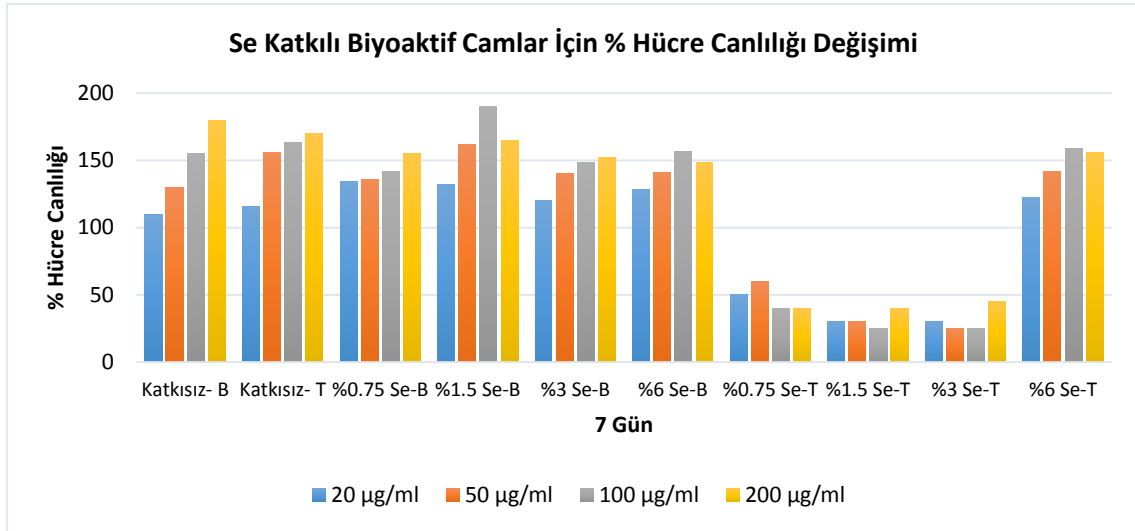
Şekil 5.88 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi

Şekil 5.87 incelendiğinde Al katkılı biyoaktif camlarda 24 saatte biyosilikalı biyoaktif camların ticari silikalı biyoaktif camlara kıyasla hücre canlılığını daha fazla etki gösterdiği görülmektedir. Özellikle %0.75 Mg katkılı biyosilikalı biyoaktif camın en yüksek oranda hücre büyümesini arttırdığı grafikten anlaşılmaktadır. Şekil 5.88’de 7 gün sonundaki hücre canlılıkları

incelendiğinde ise yine 24 saatteki sonuçlara benzer bir durum söz konusudur. %0.75 Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara ek olarak %3 ve %6 Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camların da hücre canlılığını oldukça yüksek oranlarda arttırdığı görülmektedir. Ticari silikalı biyoaktif camların Al ilavesinin hücre canlılığına çok da büyük bir etkisi olmamıştır, katkısız biyoaktif camlara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Al iyonunu aşırı miktarı toksik olmasına rağmen uygun dozu kemik gelişimini ve 14. günde ALP aktivitesini arttırmıştır. Yapılan çalışmalara göre Al iyonu Ca sinyal yolağı ile zıt çalıştığı için kemikte mineral depolamasını ve ilgili proteinlerin seviyelerini azalttığı görülmüştür. Aynı şekilde Al hücre büyümesini azalttığı da görülmüştür [76]. Bu yüzden Al konsantrasyonu biyoaktif camlarda uygun miktarda kullanılırsa toksik etki oluşturmaz ve biyoaktiviteyi destekler. Yukarıdaki Şekil 5.87 ve 5.88’de de görüldüğü üzere katkılı ticari biyoaktif camlarda büyüme oranları az görülmesine rağmen biyosilikalı 24 saat sonunda %0,75 Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda ve 7 gün sonunda %6 Al katkılı biyosilikalı camlarda diğerlerine göre hücre büyümesinin arttığı görülmüştür. Bu nedenle kullanılan katkı oranlarının uygun miktarlarda olduğu ve hücre için toksik bir etki yaratmadığı anlaşılmıştır.



Şekil 5.89 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için 24 saat sonundaki % hücre canlılığı değişimi



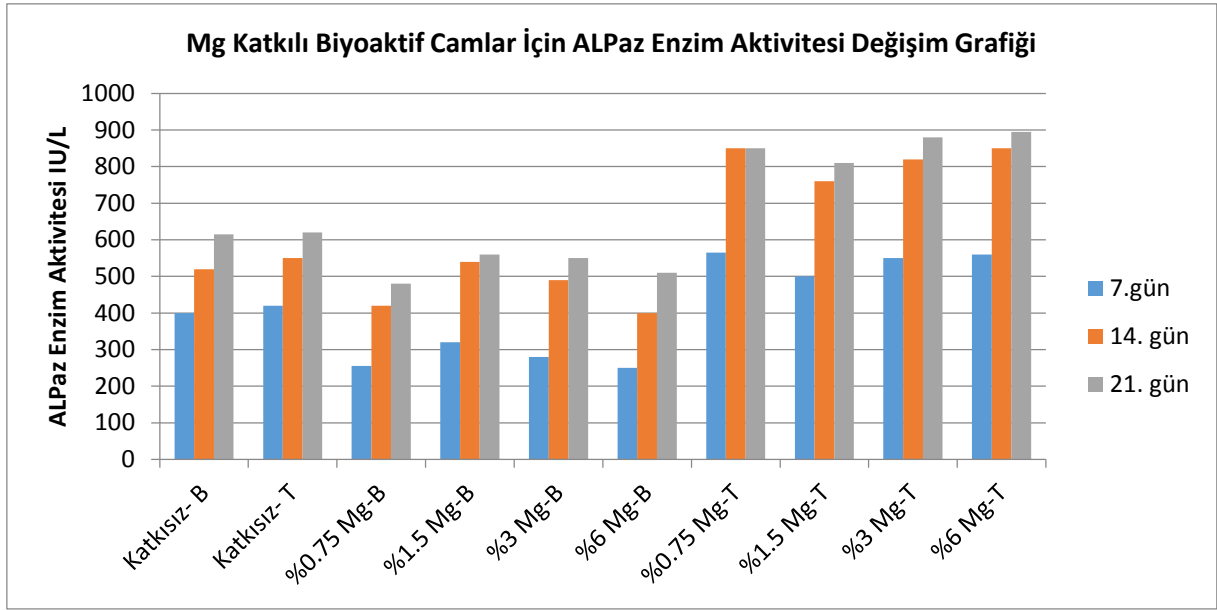
Şekil 5.90 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için 7 gün sonundaki % hücre canlılığı değişimi

Şekil 5.89 ve Şekil 5.90 incelendiğinde Se katkılı biyoaktif camlarda ticari silikalı olanların hem 24 saatte hem de 7 gün sonunda hücre büyümesini bazı konsantrasyonlarda azalttığı görülmüştür. Yine de ticari silikalı biyoaktif camlar içerisinde 24 saatlik inkübasyon sonunda %0.75 Se katkılı biyoaktif cam, 7 günlük inkübasyon sonunda ise %6 Se katkılı biyoaktif cam hücre canlılığını arttırmıştır. Hücre canlılığına en fazla katkısı olan biyoaktif camlar ise biyosilikalı %1.5 ve %3 Se katkılı biyoaktif camlar olmuştur. Biyosilikalı biyoaktif camlar için sonuçlar hem 24 saat hem de 7 günlük inkübasyon süreleri için de hemen hemen her konsantrasyonda birbirlerine oldukça yakındır. Yaptığımız çalışmada Se katkılı biyoaktif camlar bazı konsantrasyonların hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir. Aynı şekilde hücre canlılığını azaltan konsantrasyon miktarları ALP aktivitesinde de (Şekil 5.89) önemli bir farklılık oluşturmamıştır. Bunun yanında Se katkılı biyoaktif camların ilaç tutma kapasitelerinin ve ilaç salım kinetiklerinin yüksek olması Se katkılı biyoaktif camları önemli hale getirmektedir. Aynı şekilde hücre canlılığını da arttırarak kemik gelişiminde diğer biyoaktif camlar kadar olmasa da kullanılmaktadır[61]. Bir diğer özelliği de antioksidan olarak kullanılarak Ca metabolizmasındaki proteinlerin daha iyi çalışmasını sağlamaktadır [77],[76]. Bu tez çalışmasında hücrelerin büyümesini en çok arttıran biyosilikalı camlarda %1,5 ve %3 Se oranları iken ticari katkılı biyoaktif camlarda ise sadece % 6'lık Se katkılı camdır. Bu durumda Se katılma oranının hücre büyümesindeki etkisinin oldukça önemli olduğu görülmektedir.

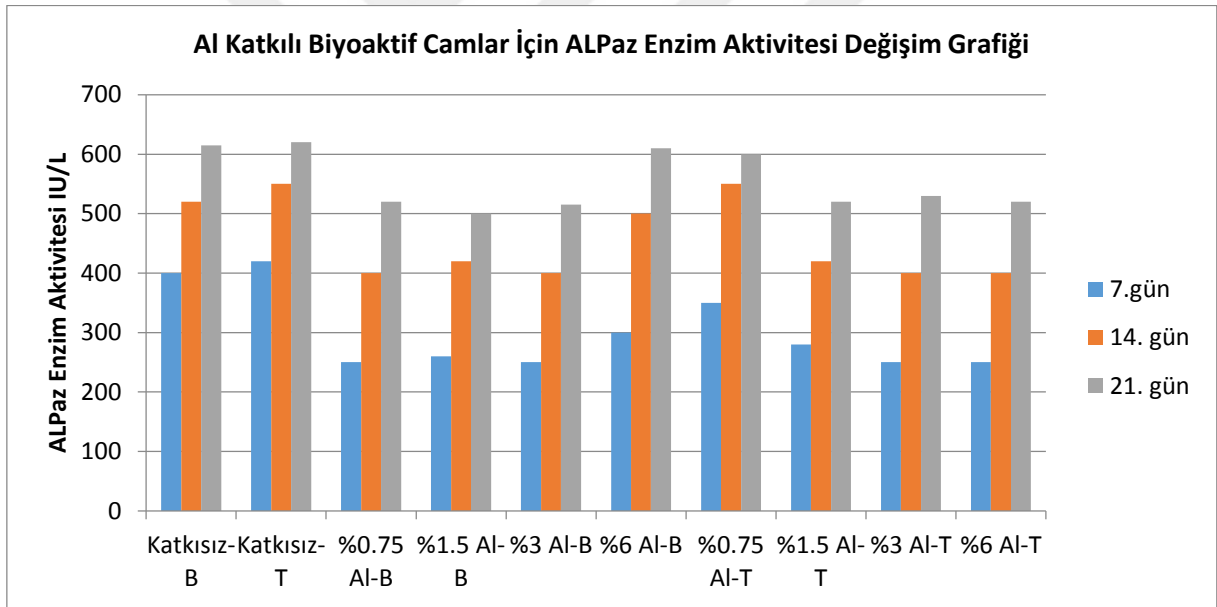
5.8.2 Mineralizasyon ve Alkalın Fosfataz Aktivitesi Sonuçları

Enzim aktivitelerine bakıldığında ALPaz enzimi aktivitesinin artışta olduğu görülmektedir. ALPaz enzimi yalnızca kemik oluşumu sırasında artan bir enzim olduğundan 21 günlük inkübasyon sonrası Mg ve Al katkılı biyoaktif camlar için hala kemik oluşumunun devam ettiğini söylemek mümkündür [78]. Kemik oluşumunun tamamlandığı zaman ise enzim aktivitesinin düştüğü andan itibaren olacaktır. Se katkılı biyoaktif camlar için ise 21 günlük inkübasyon sonrası ALPaz aktivitesinin düştüğü görüldü ve kemik oluşumunun tamamlandığı yorumu yapılabilir. Şekil 5.91-5.93 arasında tüm biyoaktif camlar için ALPaz enzim aktivitesi değerleri verilmiştir.

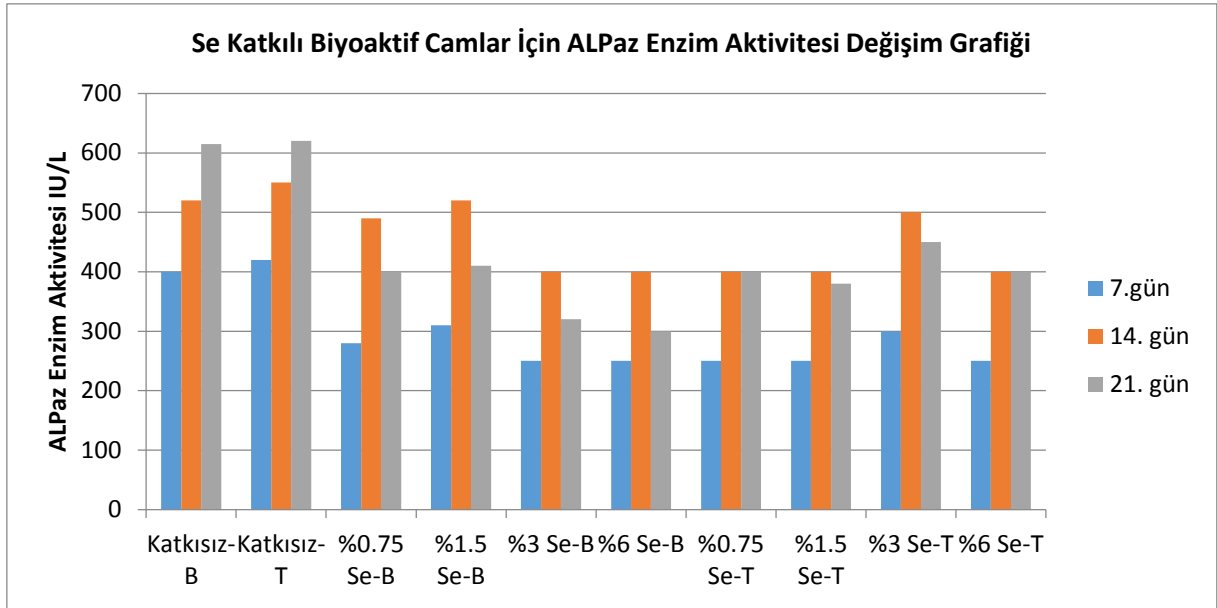
Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada daha önce de belirtildiği gibi mesenkimal kök hücreleri kullanılmış ve bu hücrelerde Mg, Zn ve Sr katkılı biyoaktif camların hücre aktivitesine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ALP aktivitesine bakıldığında 7. günden sonra aktivite artmaya başlamış ve 14. günde aktivitenin kontrole ve 7. güne göre çok fazla olduğu görülmüştür. Mg, Zn ve Sr katkılı camlar karşılaştırıldığında da en iyi biyoaktivite Mg ve Sr katkılı camlarda görülmüştür [60]. Bu tezde yapılan çalışmada da ticari silikalı Mg katkılı biyoaktif camların 24 saatten itibaren hücre canlılığını arttırdığı ve 21. günde de ALP aktivitesinin oldukça arttığı gözlemlenmiştir. Biyosilika kaynağı kullanılarak üretilen Mg katkılı biyoaktif camlarda ALP aktivitesinin ticari silika kaynaklı biyoaktif camlara göre daha düşük olduğu görülmüştür. Al ve Se katkısı ile üretilen biyoaktif camlarda ise kontrol olarak üretilen katkısız biyoaktif camlara kıyasla ALP aktivitesinin daha az olduğu, yani kemik oluşumunun daha yavaş olduğu görülmektedir.



Şekil 5.91 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camlar için, 7., 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi



Şekil 5.92 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camlar için, 7., 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi

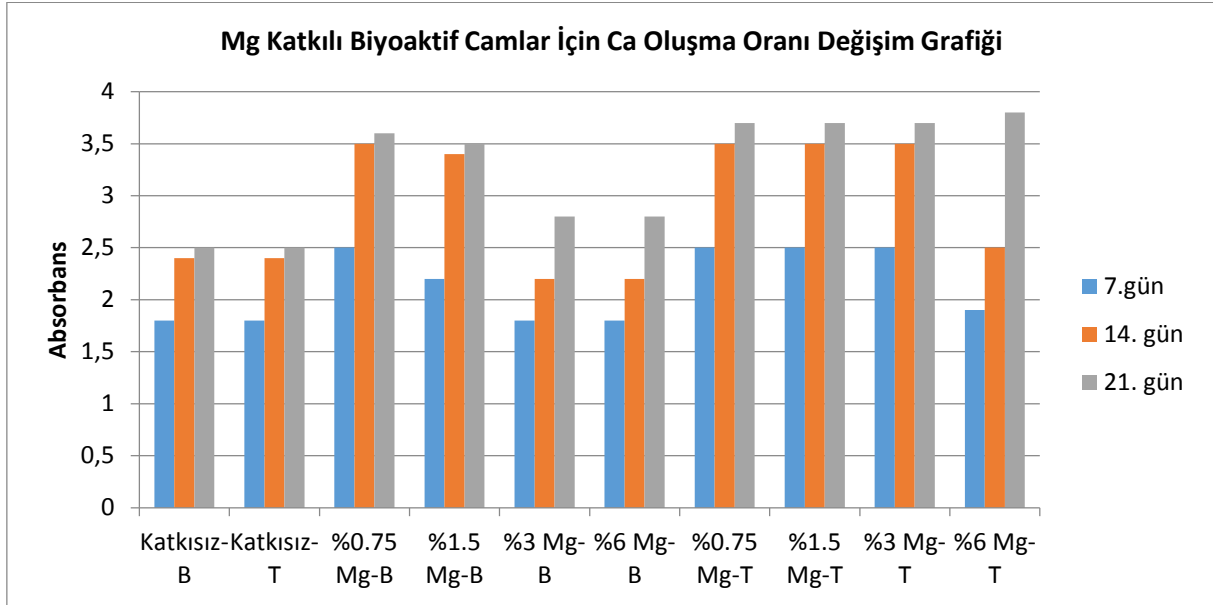


Şekil 5.93 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar için, 7., 14. ve 21. gün sonundaki ALPaz enzim aktivitesi

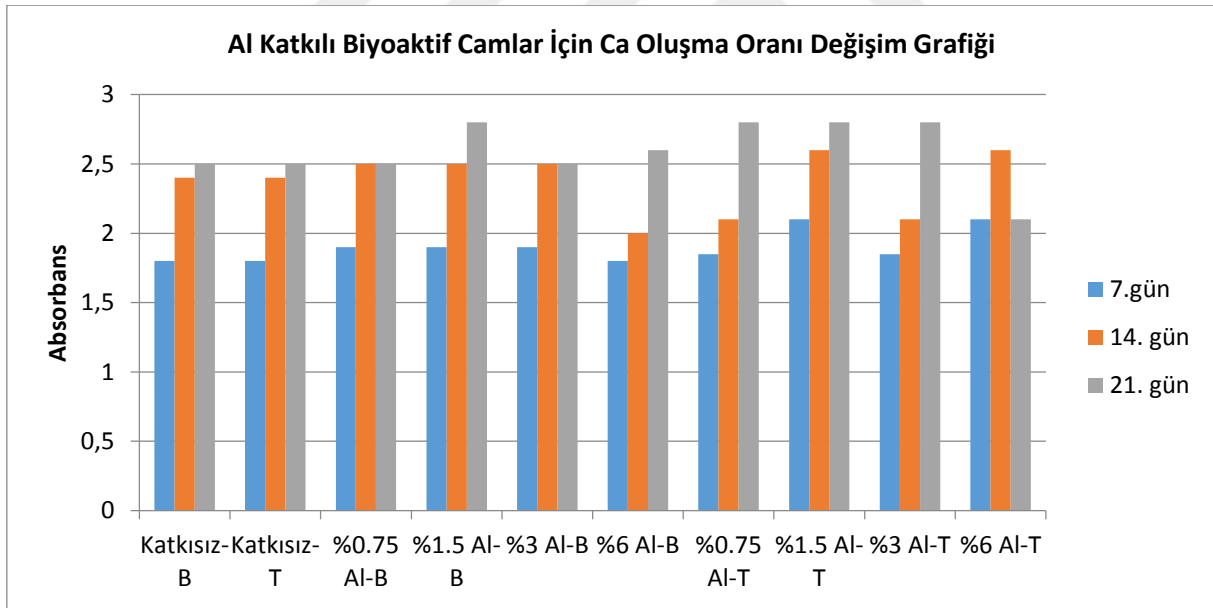
Mineralizasyon analizinde kalsiyum kristalleri oluşumunu görebilmek için hücre kültürleri Arsenoza-III ile boyanmış ve sonucu spektrofotometrik olarak saptanmıştır. %6 Al katkılı ticari silikalı biyoaktif camlar dışında 7, 14 ve 21. günde yapılan analizler sonucu absorbans değerlerinin arttığı görülmüştür. Absorbans değerlerinde meydana gelen bu artış kalsiyum kristalleri oluşumunun 21. gün sonunda hala artışta olduğunu göstermektedir. Şekil 5.94 ve Şekil 5.96 arasında verilen grafikler incelendiğinde katkısız biyosilikalı ve katkısız ticari silikalı biyoaktif camların absorbans değerlerinin aynı olduğu görülmektedir. Dolayısı ile her iki silika kaynağının da kalsiyum kristalleri oluşturma potansiyellerinin aynı olduğu söylenebilir. Aşağıdaki grafikler incelendiğinde Al katkılarının kalsiyum kristallerinin oluşumunda çok az etkisi olduğu görülmektedir. Biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camların ise katkısız biyoaktif camlara kıyasla daha az kalsiyum kristalleri oluşturduğu Şekil 5.96’da görülmektedir. Mg katkılı biyoaktif camların düşük oranda eklenmesi ile kalsiyum kristallerinin oluşumunun oldukça yüksek olduğu Şekil 5.94’te görülmektedir.

Hücre büyümesi ve ALPaz enzim aktivitesi sonuçlarına bakıldığında genel olarak hemen hemen her konsantrasyonda eklenen biyoaktif camların hücre büyümesini arttırdığı sadece Se katkılı camlarda bazı konsantrasyonların hücre büyümesini azalttığı görülmüştür. Tüm örnekler içerisinde hücre büyümesini en çok arttıranın %0,75 Al katkılı biyoaktif cam olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda mineralizasyon çalışmasında toksik olmayan uygun

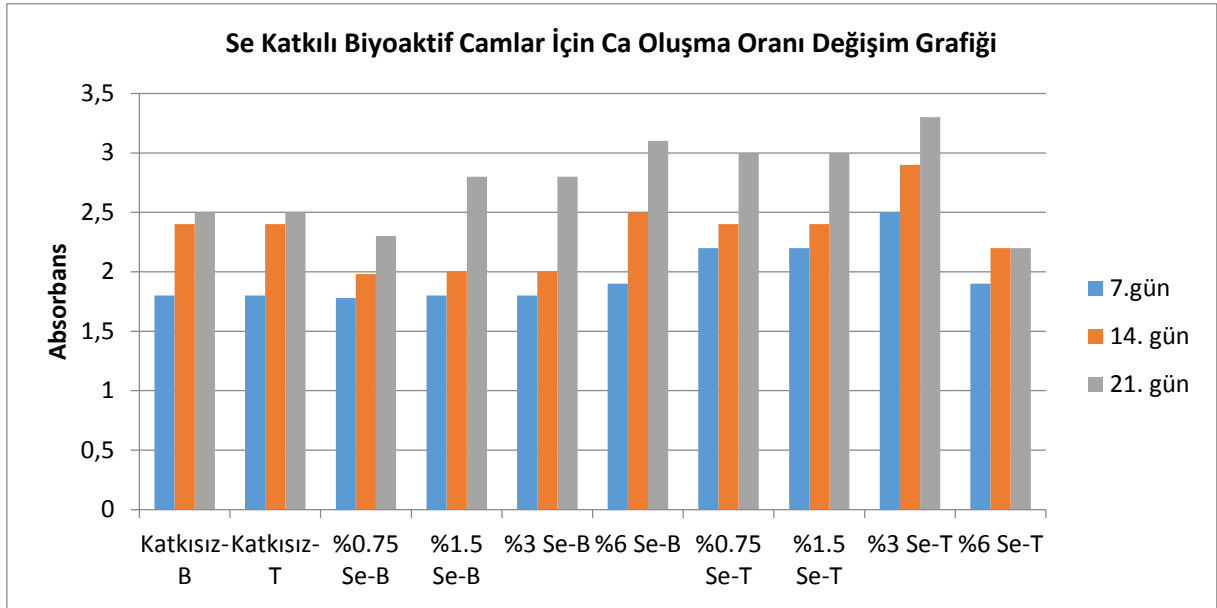
bir ortak konsantrasyon seçilmiştir. Ayrıca her bir hücre 100 µg/ml konsantrasyonla muamele edilip kalsiyum oluşumu incelenmiştir.



Şekil 5.94 Ticari silikalı ve biyosilikalı Mg katkılı biyoaktif camların mineralizasyon analizi

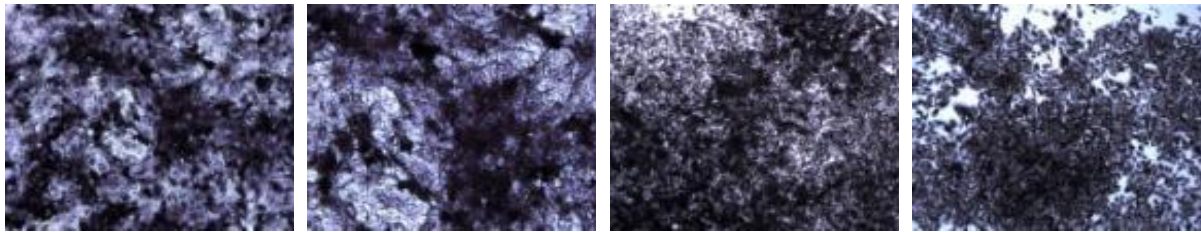


Şekil 5.95 Ticari silikalı ve biyosilikalı Al katkılı biyoaktif camların mineralizasyon analizi



Şekil 5.96 Ticari silikalı ve biyosilikalı Se katkılı biyoaktif camlar mineralizasyon analizi

Hücre kültürlerinde kalsiyum kristallerinin oluşumunun mikroskopik analizi Alarazin Red S boyaması ile yapılmıştır. Aşağıdaki mikroskop görüntülerinde tüm biyoaktif camların her katkı oranları için yapılan mineralizasyon analizinde meydana gelen kalsiyum oluşumları verilmiştir. Boyama sonucu oluşan siyah noktalar kalsiyum kristallerini göstermektedir. Bu durumda tüm biyoaktif camlarda kalsiyum oluşumu söz konusudur.

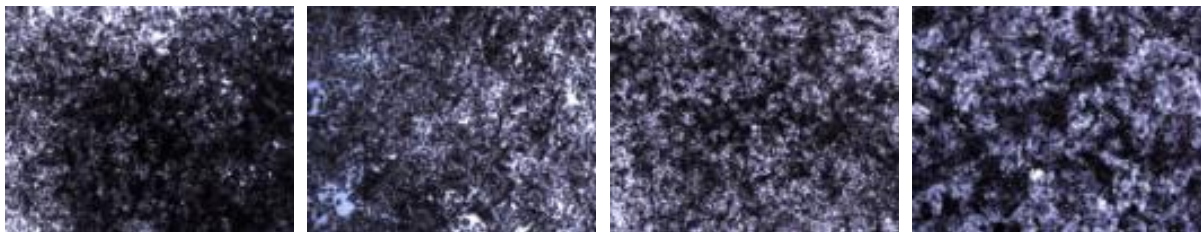


%0,75 Mg-B

%1,5 Mg-B

%3 Mg-B

%6 Mg-B

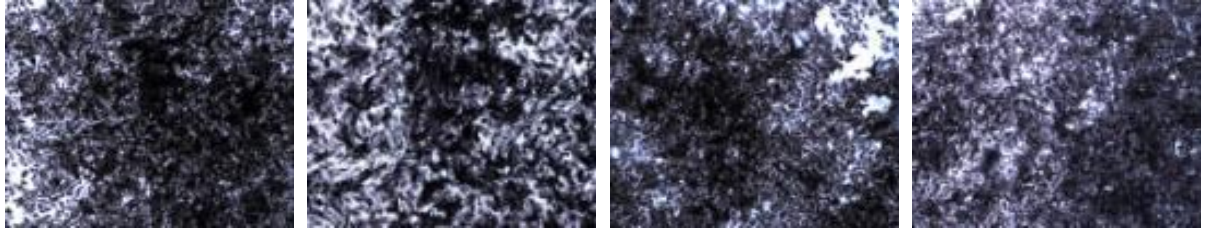


%0,75 Mg-T

%1,5 Mg-T

%3 Mg-T

%6 Mg-T

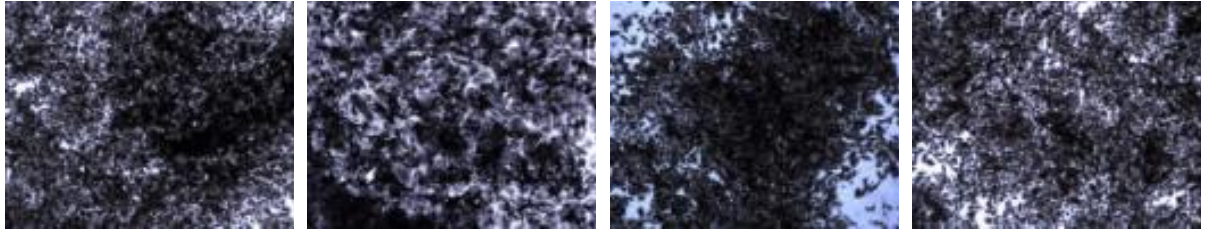


%0,75 Al-B

%1,5 Al-B

%3 Al-B

%6 Al-B

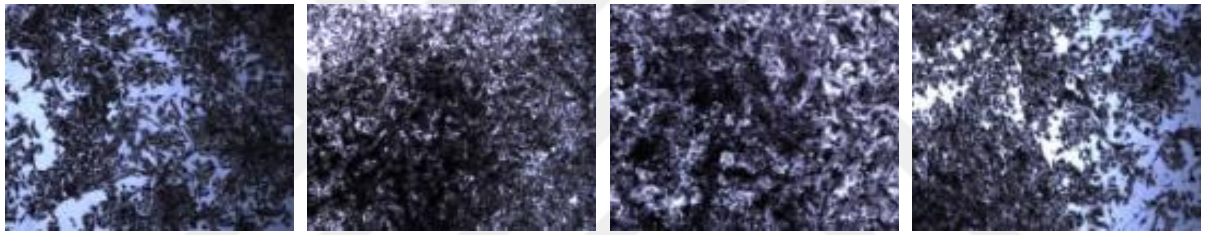


%0,75 Al-T

%1,5 Al-T

%3 Al-T

%6 Al-T



%0,75 Se-B

%1,5 Se-B

%3 Se-B

%6 Se-B



%0,75 Se-T

%1,5 Se-T

%3 Se-T

%6 Se-T

Şekil 5.97 Tüm biyoaktif camlar için mineralizasyon analizi mikroskopik görüntüleri

SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında 45S5 biyoaktif camların üretiminde 2 farklı silika kaynağı kullanılmıştır. Ticari silikaya alternatif olarak tarımsal bir atık olan silika yönünden zengin pirinç kabuğu külü silikası yani biyosilika kullanılarak biyoaktif camlar üretilmiş ve ticari silika kullanılarak üretilen biyoaktif camların biyoaktiviteleri karşılaştırılmıştır. Pirinç kabuğu külünün yüksek sıcaklık fırınında 600°C sıcaklıkta tekrar yakma işleminin ardından NaOH muamelesi ile alkali ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve sodyum silikat çözeltisi elde edilmiştir. Asit ilavesi ile silika jeller üretilmiş ve 80°C sıcaklıkta kurutularak silika tozları elde edilmiştir. Farklı silika kaynaklarına %0.75, %1.5, %3 ve %6 oranlarında Mg, Al ve Se katkıları ayrı ayrı eklenerek 45S5 biyoaktif camlar 1450°C sıcaklıkta ergitme işlemi ile elde edilmiştir. Biyosilikalı ve ticari silikalı üretilen biyoaktif camlar YVS içerisinde 4 hafta boyunca 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyondan önce ve sonra biyoaktif camların FTIR, SEM ve Vickers sertlik analizleri ile mekanik, yapısal ve yüzey özellikleri; YVS içerisindeki iyon salımları ICP-OES ile *in vitro* biyoaktiviteleri saptanmıştır. TRIS çözeltisi içerisinde 1 hafta boyunca ağırlık ve pH değişimleri takip edilerek biyobozunurlukları ve biyoaktiviteleri saptanmıştır. Ayrıca hücre çalışmaları da yapılarak hücre canlılığı ve mineralizasyon testleri gerçekleştirilmiştir.

Tüm bu çalışmalar neticesinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Biyoaktif camların YVS içerisindeki inkübasyonu sonucu salınan iyonların ICP-OES ile tayini yapılmıştır. Özellikle HCA tabakası oluşumunda yapıya katılan Ca^{+2} iyonları açısından incelendiğinde genel olarak tüm biyoaktif camlarda Ca^{+2} iyonu 28 gün boyunca haftalık olarak azalmıştır. Na^{+} iyonları ise devamlı salınmıştır. Ca^{+2} iyonlarının YVS içerisinde azalması HCA yapısına katıldığını gösterdiğinden bu sonuçlar ayrıca Vickers sertlik değerlerinden alınan

sonuçlar ile paralellik taşımaktadır. Özellikle %1,5 Mg katkılı hem biyosilikalı hem de ticari silikalı biyoaktif camlarda ve %3 Al katkılı biyosilikalı biyoaktif camlarda Ca^{+2} iyonlarının YVS içerisinde daha fazla oranda azaldığı görülmüştür.

2. TRIS içerisindeki 7 günlük inkübasyon sonucunda meydana gelen ağırlık azalmaları biyobozunurluğun bir göstergesidir. Sonuçlar katkısız biyosilikalı biyoaktif camların katkısız ticari silikalı biyoaktif camlara kıyasla daha fazla biyobozunur olduğunu göstermiştir.

3. Biyosilikalı biyoaktif camların 7 gün sonunda TRIS czeltisi içerisindeki inkübasyonu sonucu meydana gelen ağırlık kayıplarından Mg katkılı biyoaktif camların katkısız biyoaktif camlara kıyasla cznme hızını arttırdığı, Al ve Se katkılı biyoaktif camların ise cznme hızını azalttığı saptanmıştır. Özellikle Al katkısının artan oranlarında biyobozunurluluğu azalttığı görülmüştür.

4. Ticari silikalı biyoaktif camların 7 gün sonunda TRIS czeltisi içerisindeki inkübasyonu sonucu meydana gelen ağırlık kayıplarından, Al katkısının düşük oranlarında (%0.75, %1.5), Se ve Mg katkılarının ise tüm oranlarında cznme hızını arttırdığı saptanmıştır. Biyobozunma hızı kullanım alanına göre değişeceğinden uygun olan katkı ve oranı bu sonuçlar ışığında değerlendirilebilir.

5. TRIS czeltisindeki pH değişim grafikleri incelendiğinde katkılı ve katkısız biyoaktif camlarda pH değerlerinde artış görülmektedir. Bu artış kalsiyum ve sodyum iyon salımının bir göstergesidir.

6. Biyosilikalı ve ticari silikalı olarak her iki kaynaktan üretilen tüm katkılar biyoaktif camların tümünde, eklenen katkıların her oranında Vickers sertlik değerlerinde artış söz konusudur. Yani eklenen katkılar biyoaktif camların mekanik özelliklerinin artmasına neden olmuşlardır. Vickers değerinde meydana gelen en önemli artışlar sırasıyla Se, Al ve Mg katkılı camlarda görülmüştür.

7. Biyoaktif camların YVS içerisinde inkübasyonu sonrası oluşan hidroksiapatit tabakası Vickers sertlik değerlerinde meydana gelen azalma ile doğrulanabilir. Hidroksiapatitin oluşumu ise biyoaktivitenin bir ltdr. Biyosilikalı Mg ve Se katkılarının düşük oranlarında hem biyosilikalı hem de ticari biyoaktif camlarda 28 gün sonunda Vickers sertlik değişimlerinin %80 civarlarında ve daha fazla olduğu görülmüştür. Çıplak gözle bakıldığında da hidroksiapatit kaplanmanın bu biyoaktif camlarda daha belirgin bir şekilde olduğu tespit edilmiştir.

8. FTIR sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde tüm biyoaktif camlar için Si-O-Si pikinin 28 günlük inkübasyon süresi sonunda azaldığı ve Si-OH pikinin arttığı görülmüştür. Ayrıca HCA oluşumuna bağlı olarak $(\text{CO}_3)^{-2}$ ve $(\text{PO}_4)^{-3}$ gruplarına ait pik şiddetlerinin de arttığı görülmüştür. Al katkılı camlarda ise YVS öncesi $700\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen AlO_4 piki, YVS sonrası ikinci haftadaki FTIR sonuçlarında görülmemiştir. Bunun nedeni AlO_4 yapısının YVS ile etkileşime girerek AlO_6 yapısına dönüşmesidir.

9. YVS içerisinde inkübe edilen biyoaktif camların 7, 14 ve 28. günlerde alınan SEM görüntüleri incelendiğinde HCA tabakası oluşumu tüm biyoaktif camlar için net bir şekilde görülmektedir. Birinci hafta SEM görüntülerine bakıldığı zaman ise en fazla HCA tabakası %1,5 Mg katkılı biyosilikalı ve ticari silikalı biyoaktif camın SEM görüntülerinde görülmektedir.

10. Hücre çalışmaları sonucu özellikle biyosilikalı biyoaktif camlar için hiçbir katkının toksik etki yaratmaması bu katkıların biyoaktif camlarda klinik uygulamalarda kullanılması açısından çok önemlidir. Al katkısının diğer katkılara göre hücre canlılığını daha fazla arttırdığı görülmüştür. Se katkılı ticari silikalı biyoaktif camlarda hücre canlılığının Se katkılı biyosilikalı biyoaktif camlara kıyasla oldukça düşük olduğu görüldü.

11. Kemik oluşumunun bir göstergesi olan ALPaz enzim aktivitesi tüm biyoaktif camlar için 21 gün sonunda Mg ve Al katkılı biyoaktif camlar için hala artışta olduğu görüldü. Se katkılı biyoaktif camlar için ise 21. gün sonunda ALPaz enzim aktivitesinin azaldığı görüldü. ALPaz enzimi yalnızca kemik oluşumu sırasında artan bir enzim olduğundan Mg ve Al katkılı biyoaktif camlar için kemik oluşumunun devam ettiği, Se katkılı biyoaktif camlar için ise kemik oluşumu evresinin tamamlandığı yorumu yapılabilir.

12. Kalsiyum kristalleri oluşum oranları incelendiğinde, alınan absorbans değerlerine bakılarak Mg katkısının Al ve Se katkılarına kıyasla daha etkili olduğu görüldü.

Öneriler

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

2. Özellikle Al katkılı camlarda AlO_4 ve AlO_6 yapıda olup olmadığı incelenerek çözünürlük davranışına açıklık getirilmesi faydalı olacaktır.

3. Normal şartlarda kemik oluşum mekanizması 28-35 günde tamamlandığı gör÷lmektedir. Se katkısı için ise 21 günde tamamlanmıştır. Kemik oluşum metabolizması daha ayrıntılı şekilde incelenebilir.

4. Tez kapsamında *in vitro*, biyoaktivite ve biyobozunurluk şalışmaları yapılmıştır. *In vivo* şalışmalarının da yapılması da önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Hayes, W.C., ve Mow, V.C., (1991). Basic Orthopaedic Biomechanics, 2nd Edition, Raven Press., New York
- [2] Mescher, A., (2013). Junqueira's Basic Histology, 13th Edition, The McGraw-Hill Education Co., New York
- [3] Einhorn, T. A., ve Gerstenfeld, L. C., (2015). "Fracture healing: mechanisms and interventions", Nature Reviews Rheumatology, 11(1): 45-54.
- [4] Kokubo, T., (1990). "Surface chemistry of bioactive glass-ceramics", Journal of Non-Crystalline Solids, 120(1): 138-151.
- [5] Hoppe, A., Güldal, N. S. ve Boccaccini, A. R., (2011). " A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics", Biomaterials, 32(11): 2757-2774.
- [6] Hench, L. L. , (1996). Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5.
- [7] Williams, D. F., (1987). "Definitions in biomaterials", Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, March 3-5 1986 Chester.
- [8] Kokubo, T., ve Takadama, H., (2006). "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?", Biomaterials, 27(15):2907-2915.
- [9] Kokubo, T., Kushitani, H., Sakka, S., Kitsugi, T., ve Yamamuro, T., (1990). "Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W3", Journal of biomedical materials research, 24(6): 721-734
- [10] Ohura, K., Bohner, M., Hardouin, P., Lemaître, J., Pasquier, G., ve Flautre, B., (1996). "Resorption of, and bone formation from, new β -tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements: An *in vivo* study", Journal of Biomedical Materials Research, 30(2): 193-200.
- [11] Özalp, N. ve Özdemir, Y., "Biyomateryaller ve Biyouyumluluk", Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [12] Black, J., ve Hastings, G., (2013). "Handbook of Biomaterial Properties", Springer Science & Business Media.
- [13] Zenz, C. R., (2008). "Genomics and Bioinformatics", Conference on Biomaterials WS2008, 2008, Graz.

- [14] Patel, N.R., ve Gohil, P.P., (2012). "A Review on Biomaterials: Scope, Applications & Human Anatomy Significance", International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering, 2(4): 91-101.
- [15] Singh, R., ve Dahotre, N.B., (2007). "Corrosion Degradation and Prevention by Surface Modification of Biometallic Materials", Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 18(5): 725-751.
- [16] Okazaki, Y., ve Gotoh, E., (2005). "Comparison of Metal Release from Various Metallic biomaterials *in vitro*", Biomaterials, 26(1):11-21.
- [17] Ramsden, J.J., Allen, D.M., Stephenson, D.J., Alcock, J.R., Peggs, G.N., Fuller, G., ve Goch, G., (2007). "The Design and Manufacture of Biomedical Surfaces", CIRP Annals-Manufacturing Technology. 56(2):687-711.
- [18] Teoh, S.H., (2000). "Fatigue of Biomaterials: A Review", International Journal of Fatigue, 22(10):825-837.
- [19] Pasinli, A., (2004). "Biyomedikal Uygulamalarda Kullanılan Biyomalzemeler", Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi, (4):25-34.
- [20] Hench, L. L., Wilson J., ve Hilbert S. F., (1987). "High Tech Ceramics", Elsevier Science Pub B V , Amsterdam, 189-213.
- [21] Jordan, D.R., Mawn, L.A., Brownstein, S., McEachren, T.M., Gilberg, S.M., Hill, V., Grahovac, S.Z., ve Adenis, J.P., (2000). "The Bioceramic Orbital İmplant: A New Generation of Porous İmplants", Ophthal. Plast. Reconstr. Surg., 16(5):347-355.
- [22] Woodard, K. L., (1999). "Profiles in ceramics: Larry L. Hench-Bioactive Glass" American Ceramic Society Bulletin, 9(78):50-56.
- [23] Hench, L. L., (1991). "Bioceramics: From Concept to Clinic", Journal of the American Ceramic Society, 74(7):1487-1510.
- [24] Ceyhan, T., Gunay, V., Capoglu, A., Sayrak, H., ve Karaca, C., (2007). "Production and Characterization of A Glass-Ceramic Biomaterial and *in vitro* and *in vivo* Evaluation of its Biological Effects". Acta Orthopaedica Et Traumatologica Turcica, 41(4):307-313.
- [25] Taygun, M. E., Zheng, K. ve Boccaccini, A. R., (2013). "Nanoscale Bioactive Glasses in Biomedical Applications" International Journal of Applied Glass Science, 4(2): 136-148.
- [26] Alauddin, S. S., (2004). "*In vitro* Remineralization of Human Enamel with Bioactive Glass Containing Dentifrice Using Confocal Microscopy and Nanoindentation Analysis for Early Caries Defense", University of Florida, Florida.
- [27] Hench, L. L., ve Wilson, J., (1993). "An Introduction to Bioceramics", World Scientific Publishing, 1, Singapur.
- [28] Kulan, M., ve Ulukapı, I., (2011). "Dişhekimliğinde Biyoaktif Camlar/Bioactive Glasses In Dentistry", Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry, 45(1):65-70
- [29] Hench, L. L., (1998). "Bioactive glasses and glass-ceramics", In Materials Science Forum, 293,37-64.

- [30] Rahaman, M. N., Day, D. E., Bal, B. S., Fu, Q., Jung, S. B., Bonewald, L. F., ve Tomsia, A. P., (2011). "Bioactive Glass in Tissue Engineering", *Acta Biomaterialia*, 7(6):2355-2373.
- [31] Hench, L. L., ve Polak, J. M., (2002). "Third-Generation Biomedical Materials", *Science*, 295(5557): 1014-1017
- [32] Ducheyne, P., ve Qiu, Q., (1999). "Bioactive Ceramics: The Effect of Surface Reactivity on Bone Formation and Bone Cell Function", *Biomaterials*, 20(23):2287-2303.
- [33] Nicolodi, L., Sjölander, E., ve Olsson, K., (2004). "Biocompatible Ceramics-An Overview of Applications and Novel Materials", Course 2B1750-Smart Electronic Materials, KTH.
- [34] Lai, W., Garino, J., ve Ducheyne, P., (2002). "Silicon Excretion From Bioactive Glass Implanted in Rabbit Bone", *Biomaterials*, 23(1): 213-217.
- [35] Wheeler, D. L., Stokes, K. E., Hoellrich, R. G., Chamberland, D. L., ve McLoughlin, S. W., (1998). "Effect of Bioactive Glass Particle Size on Osseous Regeneration of Cancellous Defects", *Journal of Biomedical Materials Research*, 41(4):527-533.
- [36] Oonishi, H. L., Hench, L. L., Wilson, J., Sugihara, F., Tsuji, E., Kushitani, S., ve Iwaki, H., (1999). "Comparative Bone Growth Behavior in Granules of Bioceramic Materials of Various Sizes", *Journal of Biomedical Materials Research*, 44(1): 31-43.
- [37] Bi, L., Jung, S., Day, D., Neidig, K., Dusevich, V., Eick, D., ve Bonewald, L., (2012). "Evaluation of Bone Regeneration, Angiogenesis, and Hydroxyapatite Conversion in Critical-Sized Rat Calvarial Defects Implanted with Bioactive Glass Scaffolds", *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100(12):3267-3275.
- [38] Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D., Hench, L. L., ve Polak, J. M., (2001). "Gene-Expression Profiling of Human Osteoblasts Following Treatment with The Ionic Products of Bioglass® 45S5 Dissolution", *Journal of biomedical materials research*, 55(2):151-157.
- [39] Day, R. M., ve Boccaccini, A. R., (2005). "Effect Of Particulate Bioactive Glasses on Human Macrophages and Monocytes *in vitro*", *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 73(1):73-79.
- [40] Nielsen, F. H., (1990). "New essential trace elements for the life sciences", *Biological trace element research*, 26(1):599-611.
- [41] Cortizo, A. M., Molinuevo, M. S., Barrio, D. A., ve Bruzzone, L., (2006). "Osteogenic activity of vanadyl (IV)–ascorbate complex: Evaluation of its mechanism of action", *The international journal of biochemistry & cell biology*, 38(7): 1171-1180.
- [42] Yamaguchi, M., (1998). "Role of zinc in bone formation and bone resorption", *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 11(2-3):119-135.
- [43] Hoppe, A., Güldal, N. S., ve Boccaccini, A. R., (2011). "A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics", *Biomaterials*, 32(11): 2757-2774.
- [44] Sun, Z. L., Wataha, J. C., ve Hanks, C. T., (1997). "Effects of metal ions on osteoblast-like cell metabolism and differentiation", *J Biomed Mater Res*, 34(1):29-37.

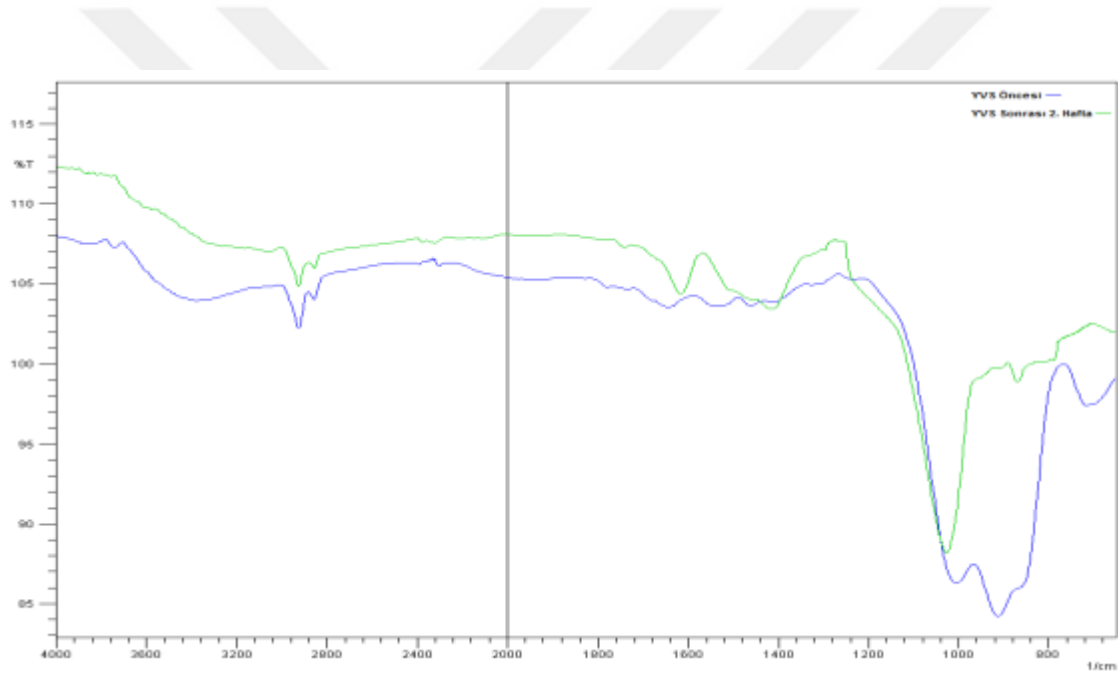
- [45] Maeno, S., Niki, Y., Matsumoto, H., Morioka, H., Yatabe, T., Funayama, A., ve Tanaka, J. ,(2005). "The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture", *Biomaterials*, 26(23): 4847-4855.
- [46] Marie, P. J., (2010). "The calcium-sensing receptor in bone cells: a potential therapeutic target in osteoporosis", *Bone*, 46(3):571-576.
- [47] Yamaguchi, M., (1998). "Role of zinc in bone formation and bone resorption", *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 11(2-3):119-135.
- [48] Gérard, C., Bordeleau, L. J., Barralet, J., ve Doillon, C. J., (2010). "The stimulation of angiogenesis and collagen deposition by copper", *Biomaterials*, 31(5):824-831.
- [49] Oudadesse, H. ve Lucas-Girot, A., (2004). "Determination of Ca, P, Sr and Mg in the synthetic biomaterial aragonite by NAA", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 262,479-483.
- [50] Dietrich, E. , Oudadesse, H., Lucas-Girot, A., (2009). "*In vitro* bioactivity of melt-derived glass 46S6 doped with magnesium". *Journal of Biomedical Materials Research*, 88(4):1087-1096.
- [51] Anast, C.S., Mohs, J.M., Kaplan, S.L., ve Burns, T.W., (1972). "Evidence for parathyroid failure in magnesium deficiency", *Science*, 4049(177):606-608.
- [52] Gronowicz, G., ve McCarty, A.B., (2005). "Response of human osteoblasts to implant materials: Integrin-mediated adhesion". *Journal of Orthopaedic Research*, 14(6):878-888.
- [53] Depan, D., Kumar, A. P., ve Singh, R.P., (2009). "Cell proliferation and controlled drug release studies of nanohybrids based on chitosan-g-lactic acid and montmorillonite", *Acta Biomaterialia*, 5(1):93-100.
- [54] Massera, J., ve Lupa, L., (2009). "Influence of the partial substitution of CaO with MgO on the thermal properties and *in vitro* reactivity of the bioactive glass S53P4", *Journal of Non-Crystalline Solids* , 358(19):2701-2702.
- [55] Kristoffersen, J., ve Zielenkiewicz, W, (1990). "The effect of magnesium ions on the precipitation of calcium phosphates", *Journal of Crystal Growth* , 106(3):355-356.
- [56] Li, X., ve Ji, J., (2008). "Synthesis and characterization of mesoporous CaO–MO–SiO₂–P₂O₅ (M = Mg, Zn, Cu) bioactive glasses/composites", *Journal of Materials Chemistry*, 18(3):4103-4109
- [57] Souza, M.T., Crovace, D., ve Edgar D.,(2013). "Effect of magnesium ion incorporation on the thermal stability, dissolution behavior and bioactivity in bioglass-derived glasses", *Journal of Non-Crystalline Solids*, 382(3):57-65.
- [58] Moya, J., ve Tomsia, A., (1994). "*In vitro* formation of hydroxylapatite layer in a MgO-containing glass", *Journal of Material Sciences*, 5(8):529-532.
- [59] Mohini, J., ve Baskaran, A., (2013). "Studies on influence of aluminium ions on the bioactivity of B₂O₃–SiO₂–P₂O₅–Na₂O–CaO glass system by means of spectroscopic studies", *Applied Surface Sciences*, 287:46-53.

- [60] Quante, M., Tu, S. P., Tomita, H., Gonda, T., Wang, S. S., ve Takashi, S., (2011). "Bone marrow-derived myofibroblasts contribute to the mesenchymal stem cell niche and promote tumor growth", *Cancer cell*, 19(2): 257-272.
- [61] Wang, X., Zhang, Y., Ma, Y., Chen, D., Yang, H., ve Li, M., (2016). "Selenium-containing mesoporous bioactive glass particles: Physicochemical and drug delivery properties", *Ceramics International*, 42(2): 3609-3617.
- [62] Oliveira, J. M., Correia, R. N., ve Fernandes, M. H., (1995). "Surface modifications of a glass and a glass-ceramic of the $MgO-3CaO \cdot P_2O_5-SiO_2$ system in a simulated body fluid", *Biomaterials*, 16(11): 849-854.
- [63] Elalmış, Y., (2015), Dental Kompozitlerde Pirinç Kabuğu Külünden Üretilen Silika Tozlarının Kullanılması, Doktora Tezi, YTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü (yayımlanmamış).
- [64] Rohanová, D., Boccaccini, A., ve Yunos., D., (2011). "TRIS buffer in simulated body fluid distorts the assessment of glass-ceramic scaffold bioactivity", *Acta biomaterialia*, 7(8):2623-2630.
- [65] Siqueira, R., Peitl, O., ve Zanolto., E., (2011). "Gel-derived $SiO_2-CaO-Na_2O-P_2O_5$ bioactive powders: synthesis and *in vitro* bioactivity", *Materials Science and Engineering*, 31(5):983-991.
- [66] Brauer, D. S., Mneimne, M., ve Hill, R. G., (2011). "Fluoride-containing bioactive glasses: Fluoride loss during melting and ion release in tris buffer solution", *Journal of Non-Crystalline Solids*, 357(18):3328-3333.
- [67] Driessens, F. C., ve Verbeeck, R. K., (1990). *Biominerals*. CRC Press.
- [68] Cerruti, M., Greenspan, D., ve Powers, K., (2005). "Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass® 45S5", *Biomaterials*, 26(14): 1665-1674.
- [69] Koutsopoulos, S., (2002). "Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: a review study on the analytical methods", *Journal of Biomedical Materials Research*, 62(4): 600-612.
- [70] Gadaleta, S. J., Landis, W. J., Boskey, A. L., ve Mendelsohn, R., (1996). "Polarized FT-IR microscopy of calcified turkey leg tendon", *Connective tissue research*, 34(3): 203-211.
- [71] Du, H., Williams, C. T., Ebner, A. D., ve Ritter, J. A., (2010). "In situ FTIR spectroscopic analysis of carbonate transformations during adsorption and desorption of CO_2 in K-promoted HTlc", *Chemistry of Materials*, 22(11): 3519-3526
- [72] Sepulveda, P., Jones, J. R., ve Hench, L. L., (2001). "Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses", *Journal of biomedical materials research*, 58(6): 734-740.
- [73] Cerruti, M., Morterra, C., ve Ugliengo, P., (2004). "Surface features of P-doped silica: a comparison between IR spectroscopy and theoretical modelling", *Journal of Materials Chemistry*, 14(22): 3364-3369.
- [74] Zaki, M. I., Hasan, M. A., Al-Sagheer, F. A., ve Pasupulety, L., (2001). "In situ FTIR spectra of pyridine adsorbed on $SiO_2-Al_2O_3, TiO_2, ZrO_2$ and CeO_2 : general considerations for the identification of acid sites on surfaces of finely divided metal

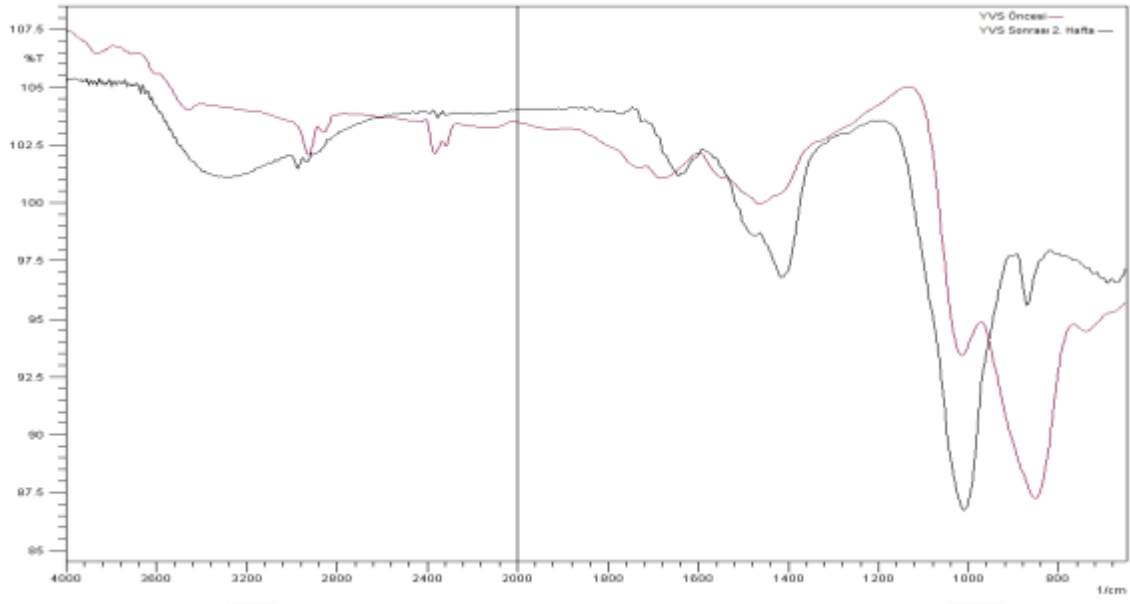
oxides", Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 190(3): 261-274.

- [75] Sipkins, D. A., Wei, X., Wu, J. W., Runnels, J. M., Côté, D., ve Means, T. K., (2005). "*In vivo* imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment", Nature, 435(7044): 969-973.
- [76] Dermience, M., Lognay, G., Mathieu, F., ve Goyens, P., (2015). "Effects of thirty elements on bone metabolism", Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 32, 86-106.
- [77] Hill, K. E., Zhou, J., McMahan, W. J., Motley, A. K., Atkins, J. F., Gesteland, R. F., ve Burk, R. F., (2003). "Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the Mouse", Journal of Biological Chemistry, 278(16): 13640-13646.
- [78] Estrov, Z., Kurzrock, R., Wetzler, M., ve Talpaz, M., (1994). "The Use of Growth Factor Receptor Inhibitors in Human Neoplasms", In Hemopoietic Growth Factors, Oncogenes and Cytokines in Clinical Hematology, 1:178-195

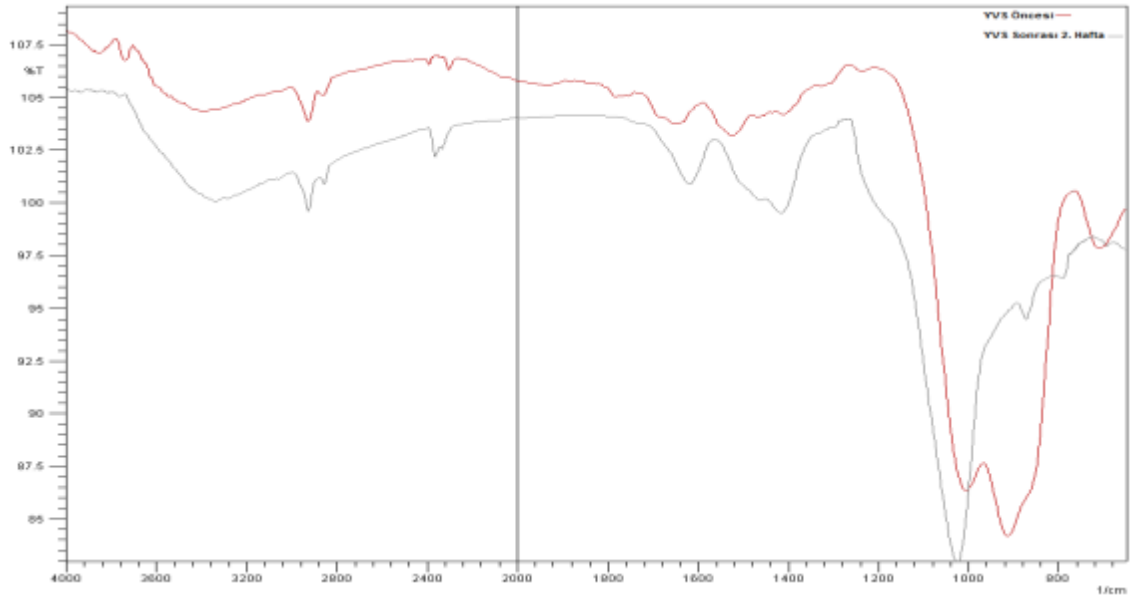
FTIR SONUÇLARI



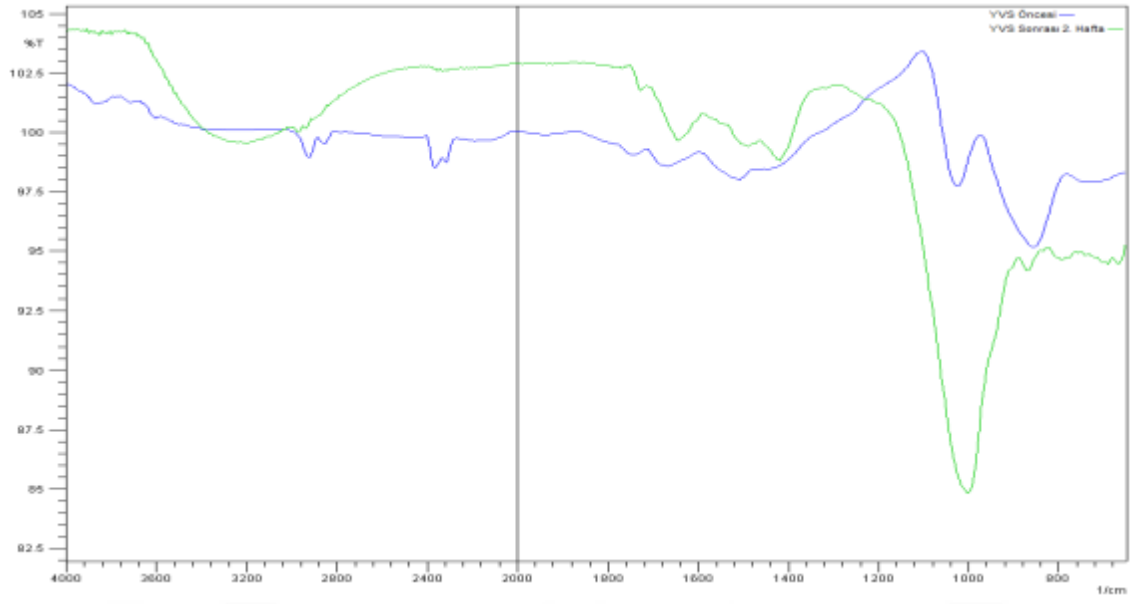
Şekil A.1 Biyosilikalı %1.5 Mg katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



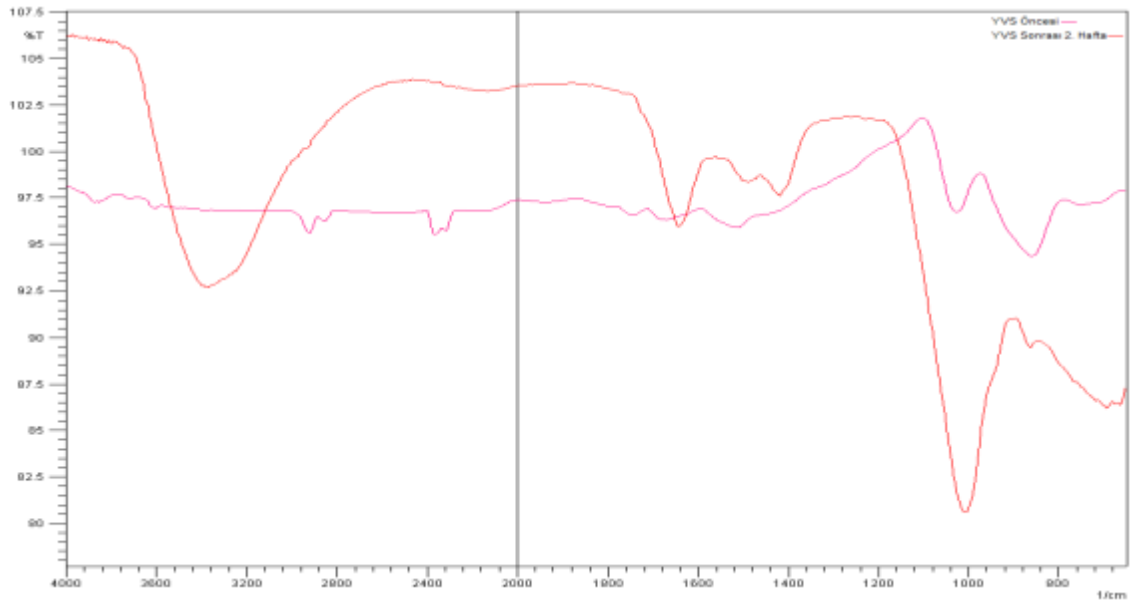
Şekil A.2 Ticari silikalı %1.5 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



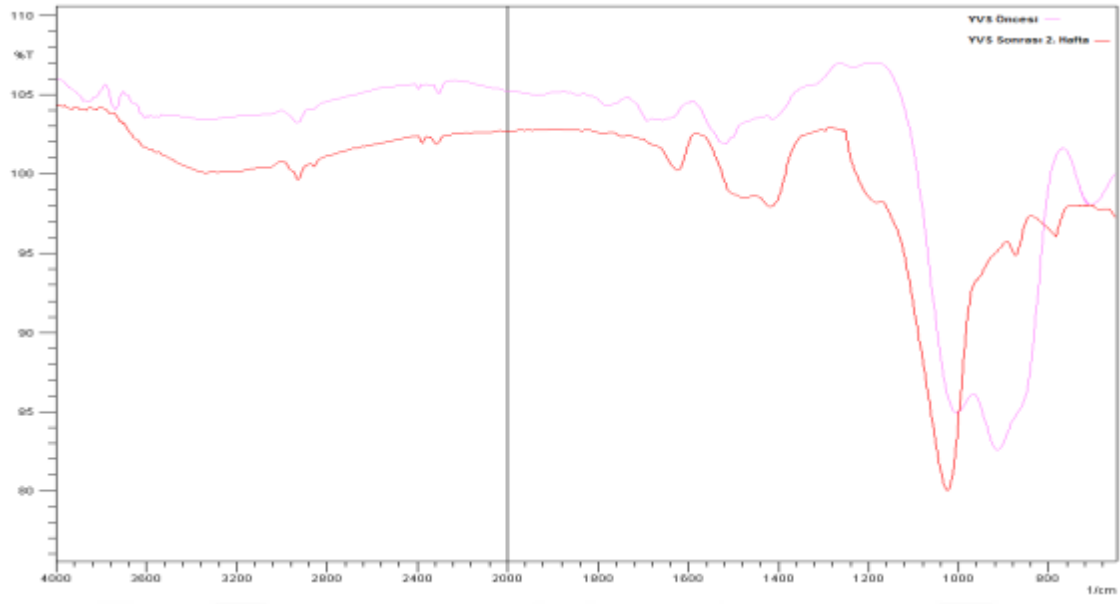
Şekil A.3 Biyosilikalı %3 Mg katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



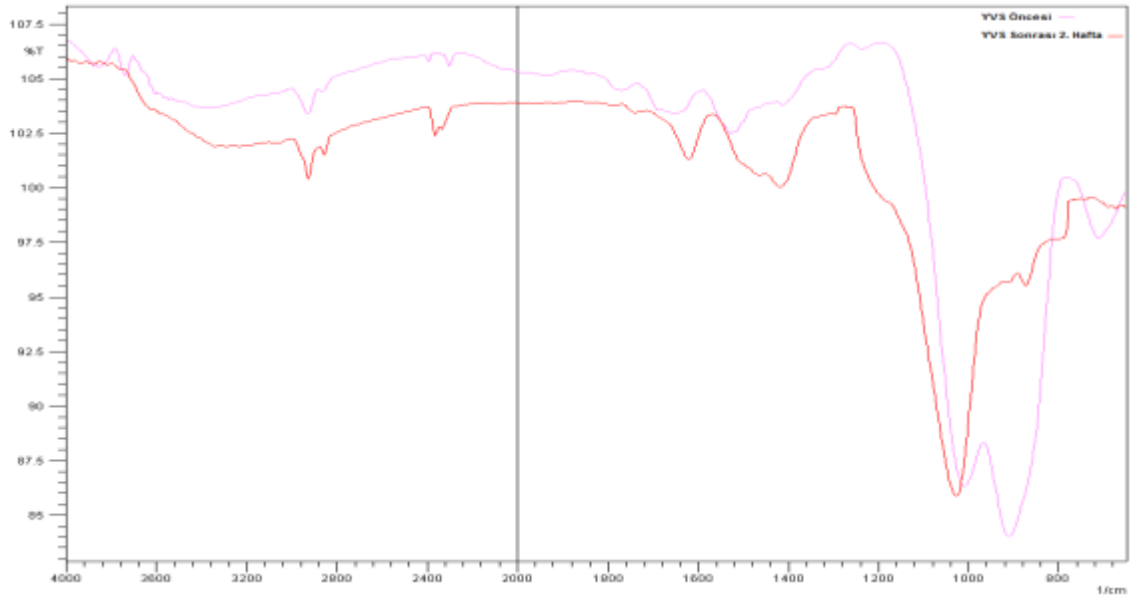
Şekil A.4 Ticari silikalı %3 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



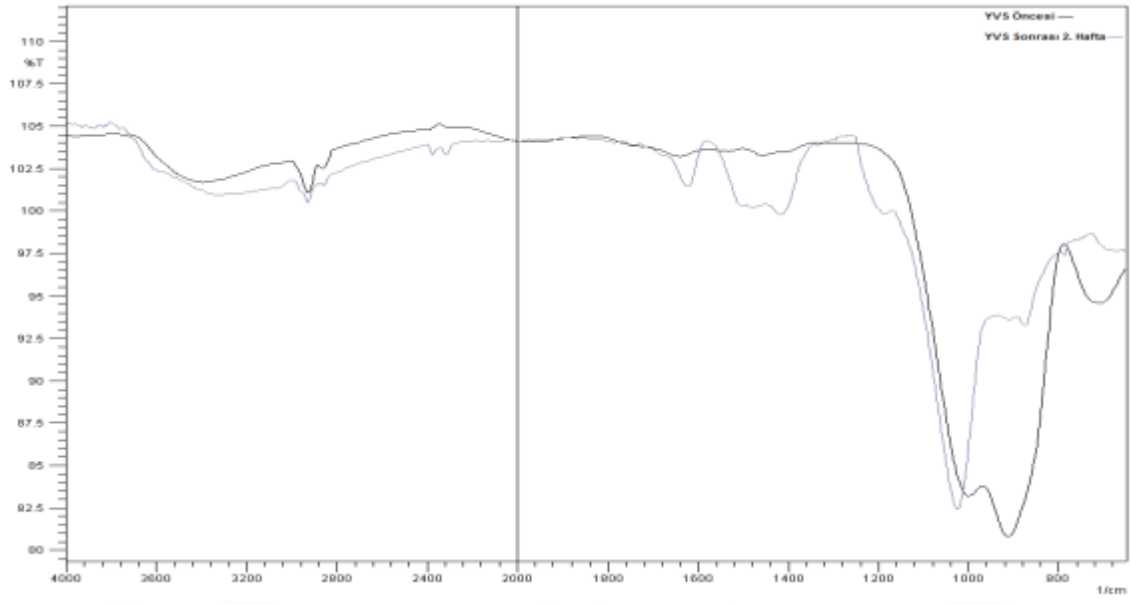
Şekil A.5 Ticari silikalı %6 Mg Katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



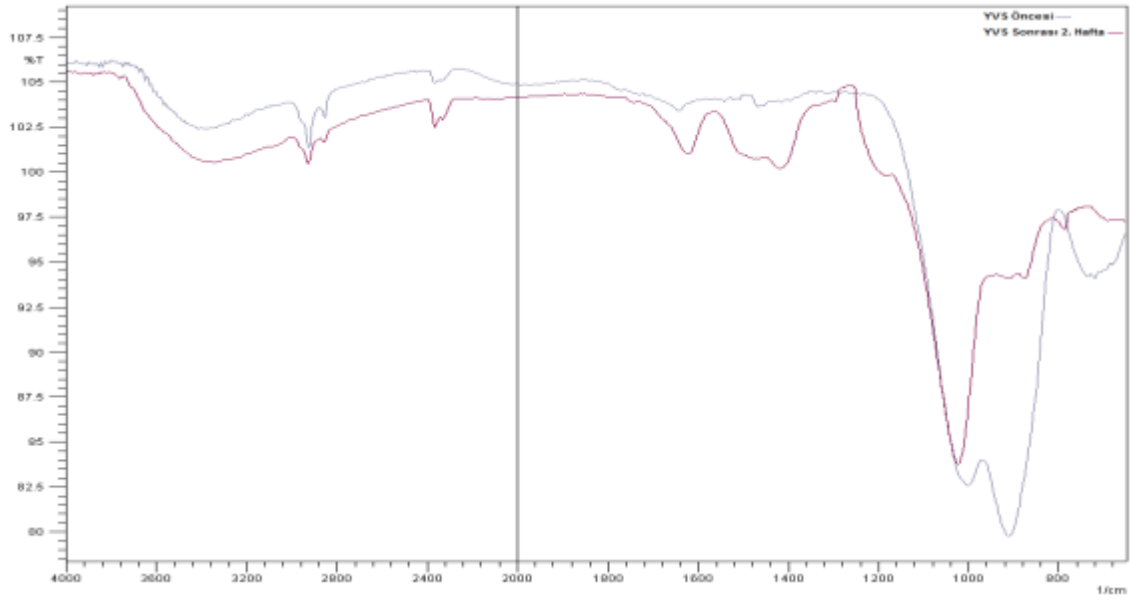
Şekil A.6 Biyosilikalı %0.75 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



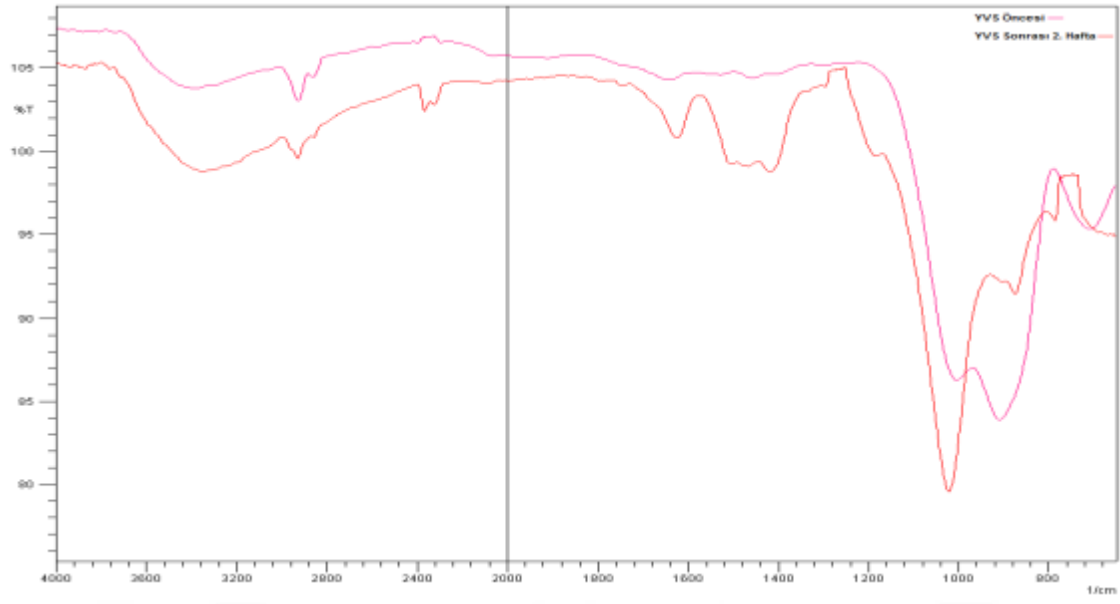
Şekil A.7 Ticari silikalı %0.75 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



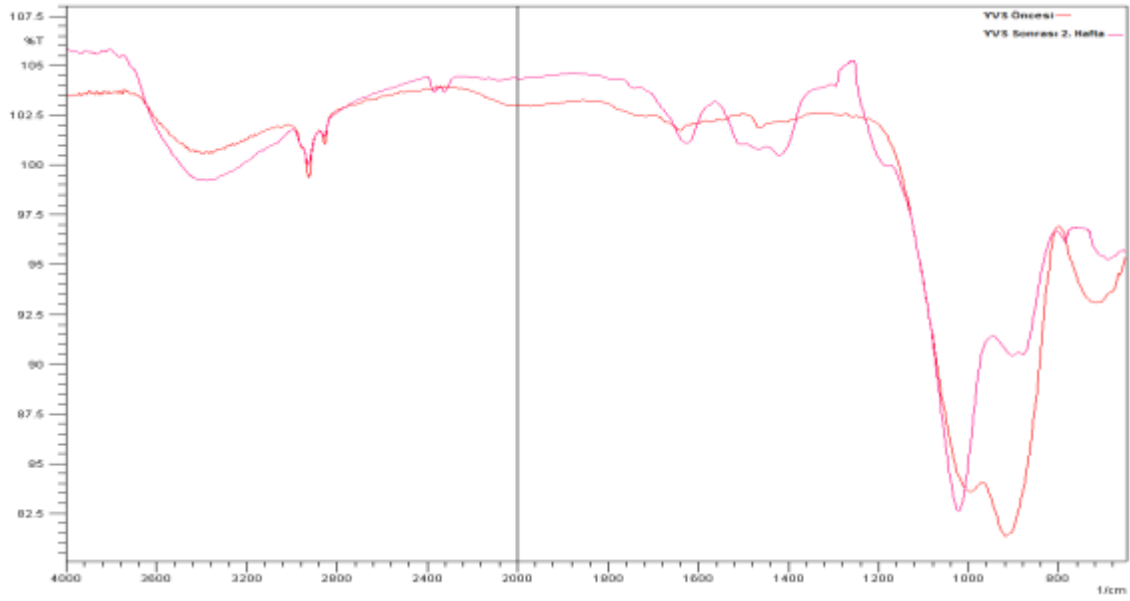
Şekil A.8 Biyosilikalı %3 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



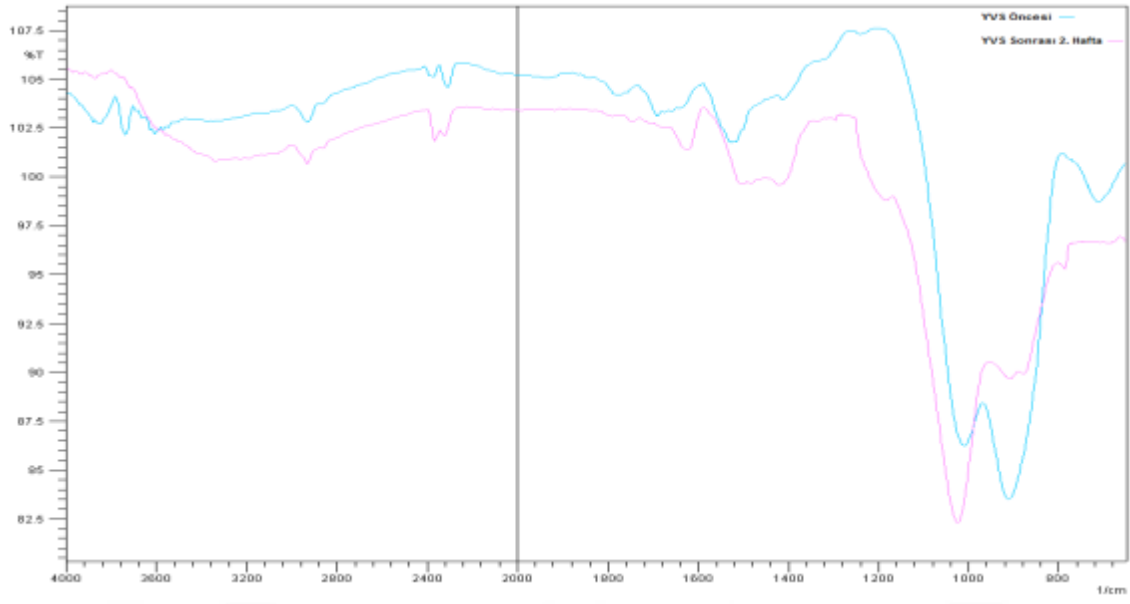
Şekil A.9 Ticari silikalı %3 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



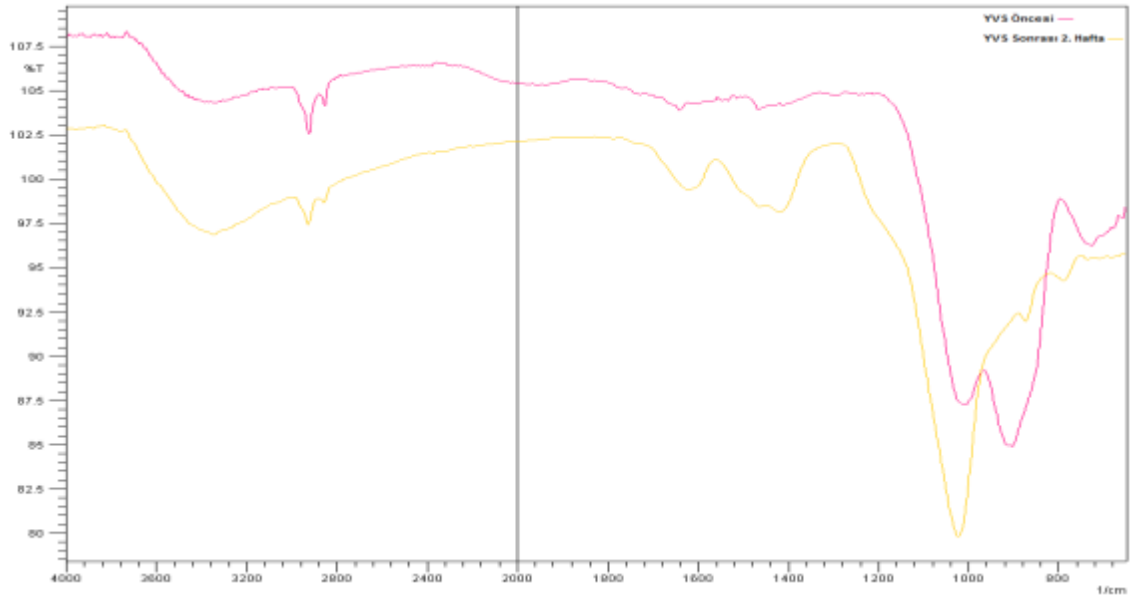
Şekil A.10 Biyosilikalı %6 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



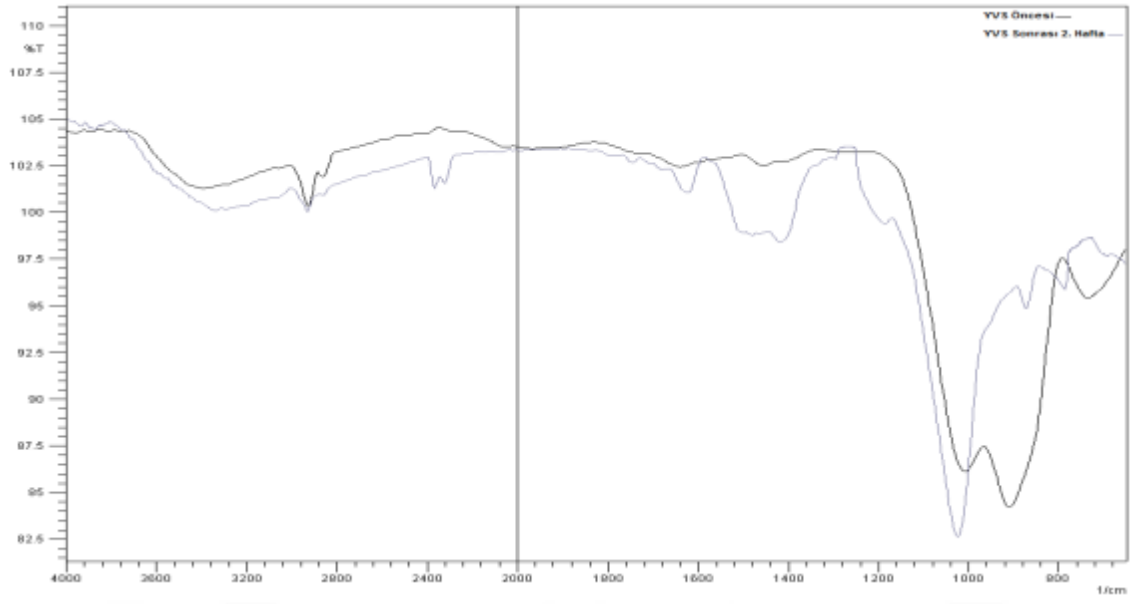
Şekil A.11 Ticari silikalı %6 Al katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



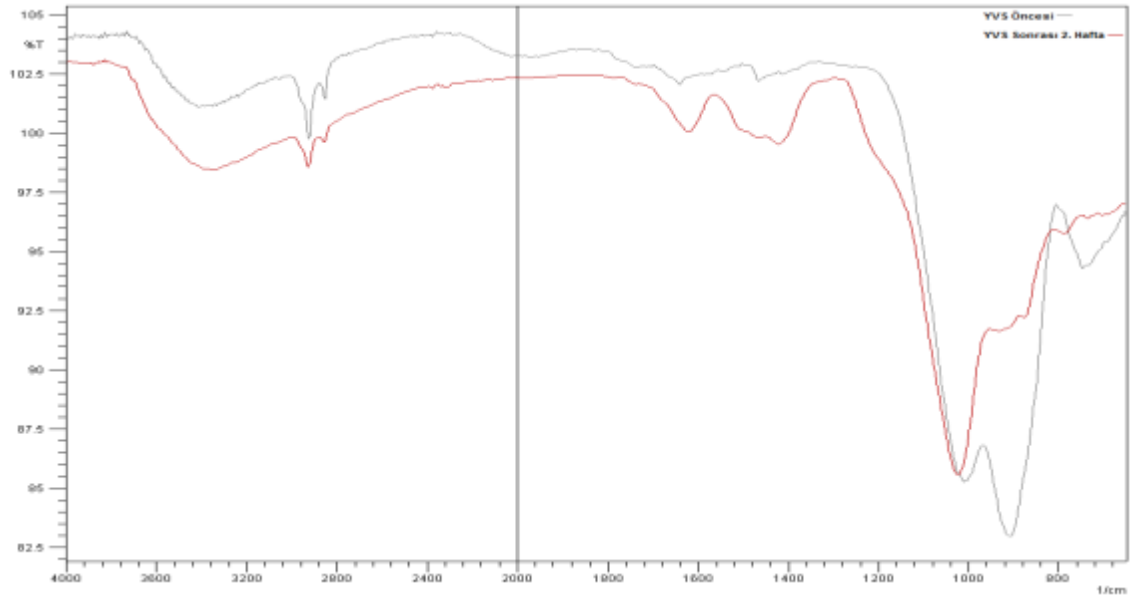
Şekil A.12 Biyosilikalı %0.75 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



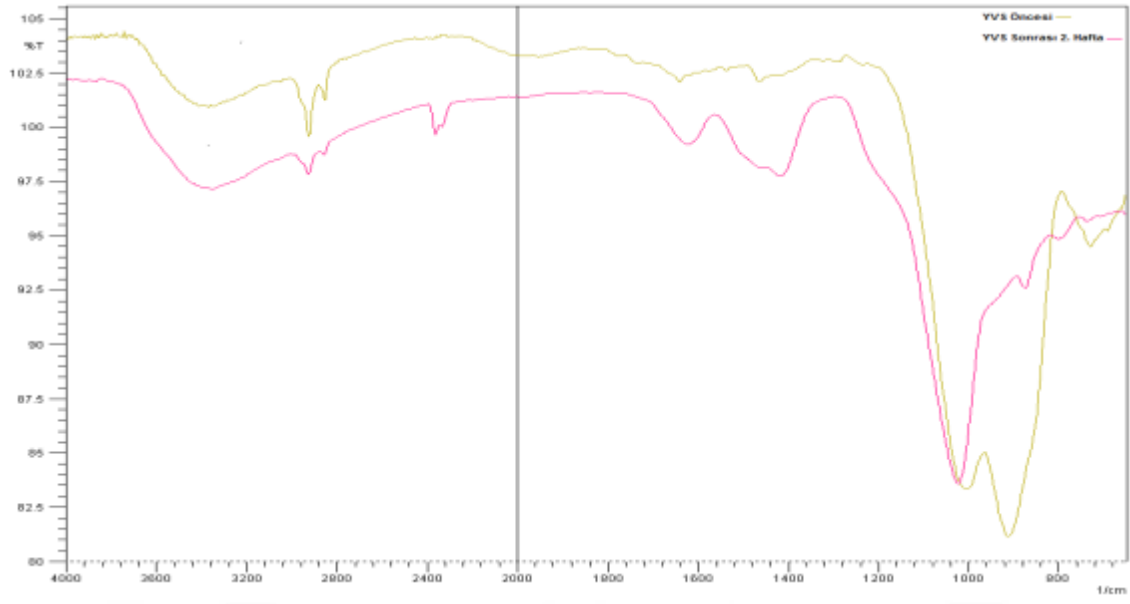
Şekil A.13 Ticari silikalı %0.75 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



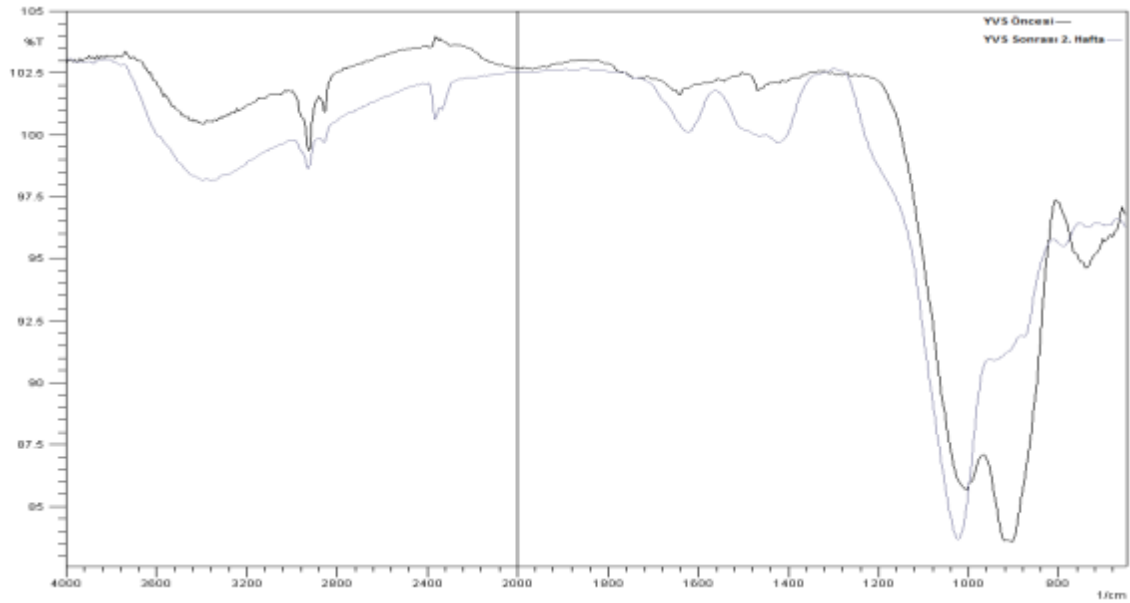
Şekil A.14 Biyosilikalı %3 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



Şekil A.15 Ticari silikalı %3 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



Şekil A.16 Biyosilikalı %6 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta



Şekil A.17 Ticari silikalı %6 Se katkılı biyoaktif cam FT-IR grafiği, YVS öncesi ve YVS sonrası 2. Hafta

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İsa RAHMANLAR
Doğum Tarihi ve Yeri : 1981 İstanbul
Yabancı Dili : İngilizce, Almanca
E-posta : isarahmanlar@yahoo.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2010
Lisans	Kimya Mühendisliği	Boğaziçi Üniversitesi	2004

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2015	Gübretaş	Dış Ticaret Müdürü
2010	TSE	Kimya Mühendisi
2004	Rahmanlar Ltd Şti	Üretim Müdürü

YAYINLARI

Makale

1. Rahmanlar I, Yucel S., Ozçimen D., The Production of methyl esters from waste frying oil by microwave method, Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering, (2011)

Bildiri

1. Rahmanlar, İ., Karakuzu, B., Yücel, S., Biyosilika bazlı Mg ilaveli 45S5 Biyoaktif Camların Üretimi ve Biyoaktivitesinin İncelenmesi,. Seramik Kongresi, İstanbul (2014)

