



**SİĞİR KEMİK ATIKLARINDAN GÖZENEKLİ
HİDROKSİAPATİT İSKELENİN KEMİK İYİLEŞTİRME
ETKİNLİĞİ**

Neslihan YERİÇER

**2022
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ**

**Tez Danışmanları
Dr. Öğr. Üyesi Ammar ALSHEMARY
Prof. Dr. Zafer EVİS**

**SIĞIR KEMİK ATIKLARINDAN GÖZENEKLİ HİDROKSİAPATİT
İSKELENİN KEMİK İYİLEŞTİRME ETKİNLİĞİ**

Neslihan YERİÇER

**T.C.
Karabük Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Bölümünde
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**Tez Danışmanları
Dr. Öğr. Üyesi Ammar ALSHEMARY
Prof. Dr. Zafer EVİS**

KARABÜK

Ağustos 2022

Neslihan YERİÇER tarafından hazırlanan “SIĞIR KEMİK ATIKLARINDAN GÖZENEKLİ HİDROKSİAPATİT İSKELENİN KEMİK İYİLEŞTİRME ETKİNLİĞİ” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Ammar ALSHEMARY

Tez Danışmanı, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Zafer EVİS

İkinci Tez Danışmanı, Mühendislik Bilimleri Bölümü

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyomedikal Mühendisliği Bölümünde Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 15/08/2022

Unvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Ali Deniz DALGIÇ (İBÜN)

Çevrimiçi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ammar ALSHEMARY (KBÜ)

.....

Üye : Prof. Dr. Zafer EVİS (ODTÜ)

.....

Üye : Doç. Dr. Erkan KOÇ (KBÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hacı Mehmet KAYILI (KBÜ)

.....

KBÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Hasan SOLMAZ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Neslihan YERİÇER

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SIĞIR KEMİK ATIKLARINDAN GÖZENEKLİ HİDROKSİAPATİT İSKELENİN KEMİK İYİLEŞTİRME ETKİNLİĞİ

Neslihan YERİÇER

Karabük Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanları:

Dr. Öğr. Üyesi Ammar ALSHEMARY

Prof. Dr. Zafer EVİS

Ağustos 2022, 60 sayfa

Bu çalışmada sığır kemiğinden elde edilen tozlardan üç boyutlu yapı iskelesi elde edilmiş ve sinterleme yapılarak saf hidroksiapatit çıkartılmıştır. Çalışmanın temel amacı, doğal dokudan hidroksiapatit sentezleyerek gözenekli yapı iskeleleri oluşturup, oluşan yapının kemik doku yerine kullanma kabiliyetini belirlemektir.

Hidroksiapatit kemik yapısının inorganik temelini oluşturan bir biyoseramik türüdür. Biyoaktifliğin ve biyobozunurluğun en önemli etkeni olan gözenekli yapı şeklinde hazırlanabilir.

Çalışmada öncelikle kemik dokusundan organik malzemeler uzaklaştırılmıştır. Ardından organik yapısı uzaklaştırılmış kemiğe parçalama ve eleme işlemleri yapılarak toz hale getirilmiştir. Kemik tozları otomatik pres yardımıyla silindir

şeklinde üç boyutlu yapı iskeleleri haline getirilmiştir. İskeleler 1000 ve 1200 °C sıcaklıklarda 2 saat bekletilerek sinterlenmiştir. Sinterlenen yapılar üzerine kemik doku benzerliğini ölçmek için testler ve analizler gerçekleştirilmiştir. Yapıya TGA, XRD, FTIR, XPS ve SEM analizi yapılmıştır. İskelenin karakterizasyonu için PBS içerisinde bekletilerek *in vitro* biyobozunma testi, porozite oranı ve yoğunluk ölçümü yapılmıştır. Mekanik özelliği belirlenmesi için ise diyametral mukavemet ölçümü yapılmıştır. Son olarak ilaç salım sistemlerinde kullanılabilirliğini ölçmek için yapı üzerine ilaç yüklemesi ve salımı uygulanmıştır.

Yapılan test ve analiz sonuçlarına göre sinterleme sıcaklığı arttıkça gözeneklilik oranının azaldığı görülmüştür. Mekanik dayanımın artan sinterleme ile arttığı görülmüştür. Diğer analiz sonuçlarına göre 1000 °C’de işlem görmüş iskelelerin HA yapısına daha çok benzediği ve bunun sonucunda kemik taklidinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Son olarak ilaç yükleme ve salım test sonuçlarına bakıldığında 1000 °C’de işlem görmüş grubun kontrollü ilaç salım uygulamalarında kullanılabilirliği diğere gruba göre daha yüksek çıkmıştır. Bunun sebebi 1000 °C’de işlem görmüş grubun gözeneklilik oranı daha yüksektir.

Anahtar Sözcükler : Kemik, Hidroksiapatit, Gözenekli Yapı İskelesi

Bilim Kodu : 92504

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

BONE HEALING EFFICACY OF POROUS HYDROXYAPATITE SCAFFOLD FROM BOVINE BONE WASTE

Neslihan YERİÇER

**Karabük University
Institute of Graduate Programs
Department of Biomedical Engineering**

Thesis Advisors:

Assist. Prof. Dr. Ammar ALSHEMARY

Prof. Dr. Zafer EVİS

Agust 2022, 60 pages

Hydroxyapatite is a type of bioceramic that forms the inorganic basis of bone structure. Scaffolds with a porous structure can be prepared from hydroxyapatites with calcium phosphate components, and this porosity is also the most important factor affecting bioactivity and biodegradability. This study aimed at extracting hydroxyapatite from bovine bone by sintering to form porous scaffolds, provide natural tissue replacement and determine the ability of the material to replace bone tissue. The first step to obtain the scaffolds was removing organic materials from the bone tissue. Afterwards, the bone was crushed and sieved to obtain a powder form. Powders were pressed in cylindrical three-dimensional molds by automatic press. The scaffolds were sintered at 1000 and 1200 °C for 2 hours. TGA, XRD, FTIR, XPS and SEM analyses were performed for characterization. *In vitro* biodegradation test, porosity ratio and density measurement were performed by keeping the samples in PBS. Diametral strength test

was done for mechanical characterization. Drug loading and release tests were performed to measure the scaffold's usability in drug delivery systems. The results showed that the porosity ratio decreased as the sintering temperature increased. It was observed that the mechanical strength increased with sintering temperature. The scaffolds treated at 1000 °C were similar to the HA structure, and as a result, the bone mimicry was higher than the samples treated at 1200 °C. According to the drug loading and release results, the group treated at 1000 °C gave the best results in terms of usability, since the porosity was high.

Key Words : Bone, Hydroxyapatite, Porous Scaffolding

Science Code : 92504

TEŞEKKÜR

Bu tez alıőmasının hazırlanmasında ilgi ve desteğini esirgemeyen sayın danıőmanım Dr. Öğr. Üyesi Ammar ALSHEMARY'a ve sayın yardımcı danıőmanım Prof. Dr. Zafer EVİS'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Tez alıőması süresince hiçbir sorumu cevapsız bırakmayan Hossein Jodati ve İdil Uysal'a ve eğitim hayatım boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen, benimle ilgilenerek bu günlere gelmemde katkıda bulunan sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Tez alıőması KBÜBAP-22-YL-082 numaralı proje kapsamında, Karabük Üniversitesi Bilimsel Araőtma Projeleri Koordinatörlüęü tarafından desteklenmiőtir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL.....	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	2
BİYOMALZEMELER.....	2
2.1 BİYOMALZEMELERDEN BEKLENEN TEMEL ÖZELLİKLER	3
2.1.1 Biyoyumluluk	3
2.1.2 Biyoaktivite.....	5
2.1.3 Korozyon Direnci.....	6
2.1.4 Mekanik Özellikleri	6
2.2 BİYOMALZEME ÇEŞİTLERİ.....	6
2.2.1 Metalik Biyomalzemeler.....	7
2.2.1.1 Paslanmaz Çelikler.....	10
2.2.1.2 Titanyum ve Alaşımları	10
2.2.1.3 Kobalt Krom Alaşımlar.....	11
2.2.2 Polimerik Biyomalzemeler	11

	<u>Sayfa</u>
2.2.3 Kompozit Biyomalzemeler	13
2.2.4 Seramik Biyomalzemeler	13
BÖLÜM 3	16
HİDROKSİAPATİT	16
3.1 HİDROKSİAPATİTİN KİMYASAL YAPISI.....	17
3.2 HİDROKSİAPATİTİN MEKANİK ÖZELLİKLERİ	19
3.3 HİDROKSİAPATİT SENTEZ YÖNTEMLERİ	21
3.3.1 Doğal Kaynaklardan Hidroksiapatit Sentezi.....	22
BÖLÜM 4	25
DENEYSEL ÇALIŞMALAR	25
4.1 KULLANILAN MALZEMELER	25
4.1.1 Dana Kemiği	25
4.1.2 Aseton	25
4.1.3 Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS)	25
4.1.4 Cephalexin Hydrate	26
4.2 KULLANILAN CİHAZLAR	26
4.2.1 Sinterleme Fırını	26
4.2.2 Soğuk Pres Makinesi.....	27
4.2.3 Hassas Terazî	28
4.2.4 UV Spektroskopi.....	28
4.3 KEMİK TOZU ÜRETİMİ.....	28
4.4 KEMİK TOZU KARAKTERİZASYONU	30
4.4.1 TGA Analizi.....	30
4.4.2 XRD Analizi	30
4.4.3 FTIR Analizi	30
4.4.4 XPS Analizi	30
4.4.5 FE-SEM Analizi.....	30
4.5 ÜRETİLEN KEMİK TOZLARINDAN YAPI İSKELESİ YAPIMI.....	31
4.6 YAPI İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU	32
4.6.1 Mekanik Diyametral Mukavemeti	32

	<u>Sayfa</u>
4.6.2 <i>In vitro</i> Biyobozunma Testi	33
4.6.3 Yoğunluk Testi.....	33
4.6.4 Gözeneklilik Oranı (Porozite %) ve Su Emme (%)	35
4.6.5 İlaç Salım Testi	35
BÖLÜM 5	36
DENEY SONUÇLARI	36
5.1 SİNTERLENMİŞ KEMİK TOZU KARAKTERİZASYON TESTLERİ..	36
5.1.1 TGA Analiz Sonuçları	36
5.1.2 XRD Analiz Sonuçları	37
5.1.3 FTIR Analiz Sonuçları	40
5.1.4 XPS Analiz Sonuçları	41
5.1.5 FE-SEM Analiz Sonuçları	43
5.2 ÜÇ BOYUTLU YAPI İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU.....	44
5.2.1 <i>In vitro</i> Biyobozunma Sonuçları.....	44
5.2.2 Yoğunluk Testi Sonuçları	45
5.2.3 Porozite ve Su Emme Testi Sonuçları	46
5.3 MEKANİK DİYAMETRAL MUKAVEMETİ SONUÇLARI.....	46
5.4 İlaç Salımı Test Sonuçları.....	47
BÖLÜM 6	50
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	50
6.1 SONUÇLAR.....	50
6.2 ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Biyomalzemelerin vücutta kullanım alanları.....	4
Şekil 2. 2 Metalik malzemeden üretilen diz implantı [12].....	9
Şekil 2. 3 Ti6Al4V alaşımlı implant [17].	11
Şekil 2. 4 PCL kemik vidası [24].	12
Şekil 3. 1 Hidroksiapatitin kristal yapısı.....	18
Şekil 3. 2 Hidroksiapatit şematik gösterimi.	18
Şekil 4. 1 Cephalexin Hydrate kimyasal yapısı.	26
Şekil 4. 2 Sinterleme fırını.	27
Şekil 4. 3 Otomatik pelet presi.....	27
Şekil 4. 4 UV spektroskopisi.	28
Şekil 4. 5 Aseton içerisinde bekletilen kemik.....	29
Şekil 4. 6 a) Kemikleri parçalara ayırma, b) Eleme işlemi.	29
Şekil 4. 7 Kemik tozlarının sıkıştırma işlemi sonrası görünümü.	31
Şekil 4. 8 Kemik tozlarından sinterlenerek elde edilmiş diskler.....	32
Şekil 4. 9 Mekanik test diyagramı.....	32
Şekil 4. 10 Arşimet ilkesi düzeneği.....	34
Şekil 5. 1 TGA Analizi, ısıtma işlemi görmemiş ham kemik.	37
Şekil 5. 2 XRD analizi, a) standart HA, b) ısıtma işlemi görmemiş kemik tozu, c) 1000°C, d) 1200°C ısıtma işlemi görmüş kemik tozu.....	38
Şekil 5. 3 FTIR analizi a) ısıtma işlemi görmemiş kemik tozu, b) 1000°C, c) 1200°C ısıtma işlemi görmüş kemik tozu.	41
Şekil 5. 4 XPS Analizi, a) 1000 °C, b)1200 °C ısıtma işlemi görmüş grup.....	42
Şekil 5. 5 SEM görüntüsü, a) 1000 °C, b) 1200 °C ısıtma işlemi görmüş grup.....	43
Şekil 5. 6 Sinterleme sıcaklığına göre iskelelerin farklı günlerdeki biyobozunma oranları.	44
Şekil 5. 7 Stok solüsyon ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi.....	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2. 1 Biyomalzemelerin çeşitlerine göre uygulama örnekleri [8].....	7
Çizelge 2. 2 Metalik biyomalzemelerin kullanım alanları [11].	8
Çizelge 2. 3 Metalik biyomalzemelerin özelliklerinin karşılaştırılması [13].....	9
Çizelge 2. 4 Biyoseramiklerin doku cevabına göre sınıflandırılması [31].....	15
Çizelge 3. 1 Yoğun HA'nın (porozite< 5 (vol%), gözenek boyutu< 1 µm çap, tane büyüklüğü> 0.2 µm) seramik uygulamaları [32].	17
Çizelge 3. 2 HA'nın mekanik özellikleri [7].....	19
Çizelge 3. 3 Diş minesini, kortikal kemik ve HA'nın kimyasal, kristalografik ve mekanik özellikleri [32].	20
Çizelge 5. 1 Grupların kristallik boyutu ve faz yüzdeleri.	39
Çizelge 5. 2 Isıl işlem görmüş grupların atomik yüzdeleri.	42
Çizelge 5. 3 Farklı sinterleme sıcaklıklarında disklerin yoğunluk değerleri.	45
Çizelge 5. 4 Sinterleme sıcaklığına göre disklerin porozite ve su emme değerleri. ..	46
Çizelge 5. 5 Diyametral mukavemetin farklı sinterleme sıcaklığındaki değerleri.	47
Çizelge 5. 6 Stok solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon ve absorban değerleri.	48
Çizelge 5. 7 İskelelerin ilaç yükleme miktarı.....	49
Çizelge 5. 8 İskelelerin ilaç salım değerleri.	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

- μ : mikro
% : yüzde
°C : derece
 π : pi sayısı
 σ : sigma

KISALTMALAR

HA	: Hidroksiapatit
TCP	: Trikalsiyum fosfat
Ca/P	: Kalsiyum/Fosfor Oranı
Dk	: Dakika
ml	: mililitre
μm	: mikrometre
XRD	: X Işını Difraktometresi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
TGA	: Termogravimetrik Analiz
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
UV	: Ultraviyole
max	: Maksimum
MPa	: Mega Pascal
GPa	: Giga Pascal
PVC	: Polivinil Klorür
PMMA	: Polimetil Metakrilat
PET	: Polietilen Tereftalat

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Biyoseramikler, vücudun zarar görmüş kısımlarının değişmesi ve yeniden yapılandırılması için kullanılan seramik malzemelere denir. Yapısında hidroksiapatit bulunduran seramikler vücudun kemik ve diş minesine yüksek oranda benzerlik gösterirler. Hidroksiapatitlerin biyoaktiflik ve biyouyumluluk gibi çeşitli avantajlarından dolayı geniş kullanım alanları mevcuttur. Bu alanlardan birisi olan kemik doku mühendisliği günümüzde artarak devam eden kemik hastalıklarına veya çeşitli sebeplerden zarar görmüş kemik dokunun onarılması ve yenilenmesi gibi sorunlara çözüm aramaktadır. Sorunlu kemik dokunun onarımı ve fonksiyonel hale getirilmesi için kemik doku yerine geçen malzemelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tez çalışmasında, doğal doku olan sığır kemikleri, yüksek ısıya tabi tutularak organik maddelerinin uzaklaştırılması sağlanmış ve ardından toz haline getirilmiştir. Toz haldeki kemikler ilk olarak 1000 ve 1200 °C’de sinterlenmiş ve TGA, XRD ve FTIR analizleri kullanılarak kimyasal yapısı hakkında bilgi elde edilmiştir. Ardından organik yapısı uzaklaştırılmış toz haldeki kemikler yüksek basınç altında silindirik şeklindeki kalıp içerisinde soğuk presleme ile üç boyutlu gözenekli iskele şekline getirilmiştir. İskeleleri iki gruba ayırarak birinci gruba 1000 °C, ikinci gruba 1200 °C sinterleme işlemi uygulanmış ve sonucunda hidroksiapatitin saf fazı çıkarılmıştır. Farklı ısılarda sinterlenmiş iki grup iskelelerin kemik iyileştirme etkinliği yapılan testler ile değerlendirilmiştir. Kemik doku taklidi yaparak zarar görmüş kemik dokusunun onarımında kullanılma kabiliyetlerini değerlendirmek için *in vitro* bozunma testi, gözenek oranı, yoğunluk testi ve mekanik diyametral mukavemeti test sonuçları kullanılmıştır. Ayrıca ilaç salım sistemlerinde kullanılabilirliğini ölçmek için, ilaç yüklemesi ve ilaç salımı ölçülmüştür.

BÖLÜM 2

BİYOMALZEMELER

Biyomalzeme, esasta biyolojik bir yapıyla sürekli veya belli aralıklarla etkileşim içerisinde olan malzemedir. İnsan vücudunda bir doku veya organın, hasar görmesi veya eksikliğinde o bölgenin işlevini yerine getirmek veya desteklemek için kullanılmaktadır. Biyomalzemeler doğal dokudan veya sentetik olarak üretilirler. Benzer bir açıklama olarak D.F. Williams [1] biyomalzemeyi şu şekilde tanımlar: “Vücudun herhangi bir organ, doku veya fonksiyonuyla yer değiştiren, tedavi eden ya da güçlendiren bir sistemin herhangi bir parçası ya da tümü olarak belli bir zaman periyodu boyunca kullanılan doğal ya da sentetik kökenli madde (ilaçlardan farklı olarak) veya maddelerin birleşimidir.” Biyomalzeme biliminin son 50 yıldır aktif rol almasına karşın çok eski tarihlerde karşımıza çıktığı görülmektedir. Mısır mumyalarında bulunan yapay göz, altının çok eskiden beri diş hekimliğinde kullanılması veya bakır kemik implantları buna örnek gösterilebilir.

Biyomalzeme bilimi malzemenin fiziksel ve biyolojik çalışmalarını ve onların biyolojik ortamdaki etkileşimlerini inceleyen disiplinlerarası bir dilim dalıdır. Çeşitli bilim dallarının yardımıyla, biyomalzeme sentezlenmesi, optimizasyonu, karakterizasyonu, test metodları ve doku-malzeme etkileşimini incelemektedir [2]. Günümüzde artarak devam eden tıp alanındaki gereksinimler ve araştırmalar, biyomalzeme alanında yapılan çalışmaları da sürekli artarak devam ettirmektedir.

Biyomalzemenin kullanım alanları belirli amaçlar doğrultusunda belirlenir. Bunlar [3]:

- Zarar görmüş veya tamamen kullanılamaz hale gelmiş doku veya organları tamir etmek ya da yenilemek (örnek: yapay dokular-organlar-dişler, implantlar, protezler, kemik ve diş dolguları, kalp kapakçıkları)
- Tedavi sürecinin bir parçası olarak (örnek: ameliyat ipliği, vidalar, teller, santlar, kateterler, serum şişeleri, kan torbaları)

- Hastalık teşhis çalışmalarında (örnek: biyoalgılayıcılar, endoskop, kolonoskop, enjektörler)
- Vücut fonksiyonelliğini arttırabilmek (örnek: kontakt lensler, işitme cihazları, kalp pilleri)
- Vücuttan beklenen işlevlerde görülen aksamaların giderilmesi (örnek: omurga sabitleştiriciler)
- Arzu edilen estetik görünümün sağlanabilmesi (örnek: kontakt lensler, göğüs implantları, diş telleri, porselen dişler, deri implantasyonu, yüz-çene cerrahisi)
- Vücut içerisinde ilaç dağıtımı/salımı yapan kapsüller ve mekanizmalar gibi ileri teknoloji ürünleri (biyotüpler, makro ve mikro kapsüller, akıslı cihazlar)

Biyomalzemelerin insan vücudundaki kullanım yerleri Şekil 2.1' de gösterilmiştir.

2.1 BİYOMALZEMELERDEN BEKLENEN TEMEL ÖZELLİKLER

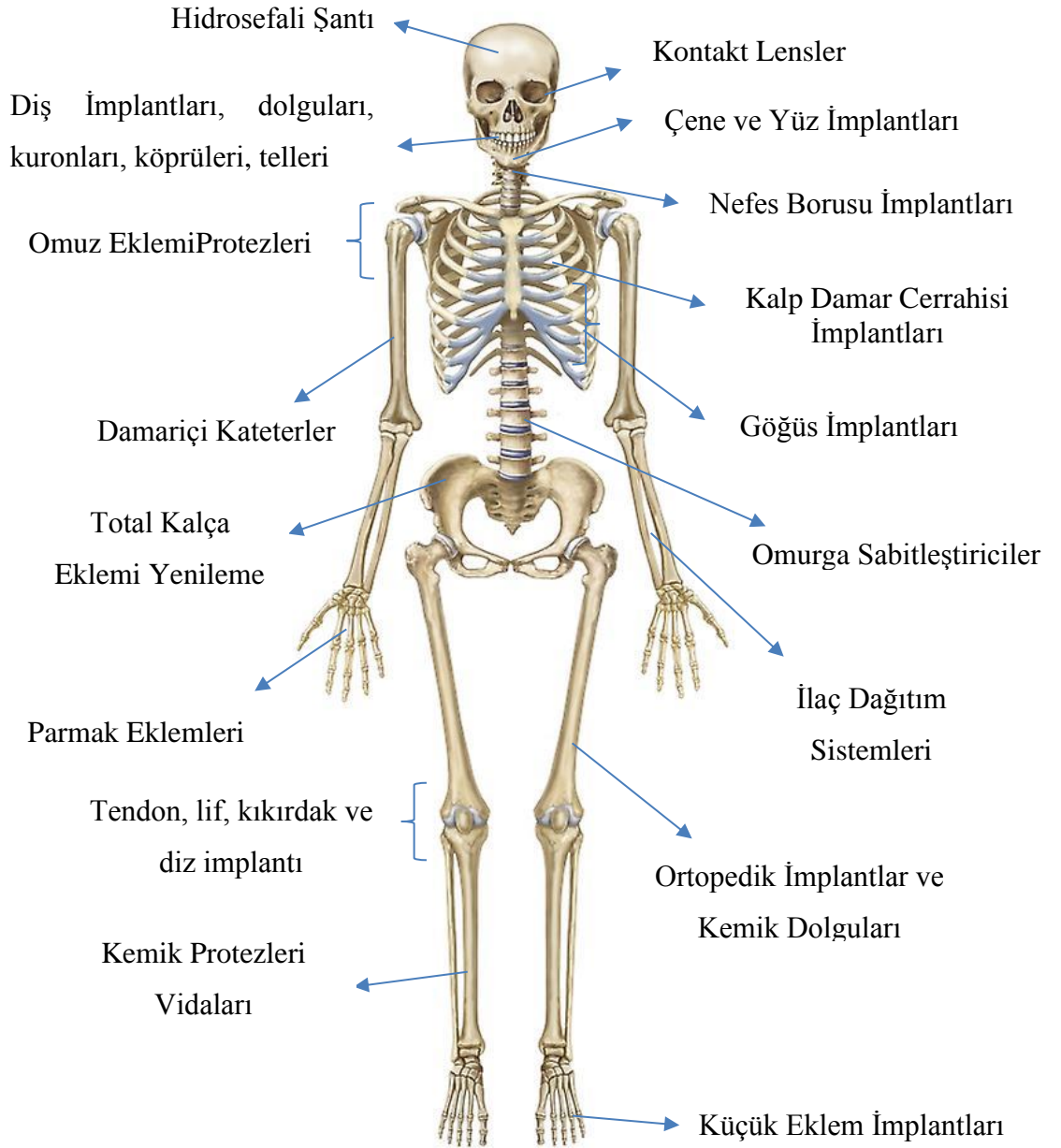
İnsan vücudunun karmaşık ve sürekli hareketli bir yapısı vardır. Biyomalzemeler de çok değişkenli ve sürekli tekrarlanan dokuların ve organların hareketlerine maruz kalmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda doku-malzeme etkileşimleri üzerine yoğunlaşmış ve malzemenin tüm vücut şartlarına uyum sağlayabilmesi amaçlanmaktadır. Her koşula uyum sağlayabilen bir biyomalzeme belli özelliklere sahiptir.

2.1.1 Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal, biyolojik uyumu ve vücudun mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur. Yani biyouyumluluk, malzeme ilgili noktada iken vücuda sağladığı maksimum uyum ve vücuda karşı en uygun cevap verebilmesidir. Bu durumda bir malzeme biyouyumlu olduğu taktirde biyomalzeme olabilir [4]. Biyouyumlu malzeme etrafı ile etkileşim halinde iken iltihaplanma veya pıhtılaşma gibi olumsuz durumlara neden olmamalıdır. Günümüzden uzun yıllar önce biyomalzeme olarak birçok alternatif malzeme kullanılmaktaydı ve bunlara önceden vücudun tepkisi bilinmiyordu. Bu gibi durumlarda bazen vücut malzemeyi kabul ederken, bazen etmemekteydi. Ancak son

yıllarda artan doku ve malzeme etkileşimi araştırmaları, vücudun biyomalzemeye vereceği tepkiyi ölçmekte ve dokunun malzemeye vereceği cevap hakkında önemli bilgiler vermektedir.

Yeni biyomalzemeler piyasaya çıkmadan önce, vücut içerisinde istenilmeyen bir etkiye neden olmamaları amacıyla detaylı biyolojik testlere tabi tutulmaktadır. İlk iş



Şekil 2.1 Biyomalzemelerin vücutta kullanım alanları.

olarak vücut dışında daha sonra da vücut içerisindeki testler yapılmalı, bunu takiben klinik denemelerle malzemenin biyolojik güvenilirliği ve performansı tespit edilmelidir [3]. Çünkü bir malzemenin biyouyumluluğu zarar görmüş doku veya organın tedavisinde önemli rol oynar.

Bir biyomalzeme için en önemli şey, etrafındaki dokuya zarar vermeden dokuya fizyolojik veya fonksiyonel destek sağlamak veya dokunun işlevini yerine getirmektir. Bunun için de en gerekli özellik biyouyumluluktur çünkü bir malzeme doku ile temasta istenilen cevabı veremezse birçok istenmeyen durum ile karşılaşılabilir. Bu durumlar pıhtılaşma, iltihaplanma gibi sıralanabilir. Buradan anlaşılacağı gibi biyouyumlu malzemeler biyomalzemelerdir.

2.1.2 Biyoaktivite

Biyomalzemelerden beklenen önemli malzeme davranışlarından biri olan biyoaktivite, biyomalzemenin doku ile ara yüzeyinde kuvvetli fiziksel bağ oluşturması ve bütünleşmesi durumudur. Doku ile biyomalzeme arasında oluşan biyolojik tepkime sonucu olumlu etkileşim ve birleşim sağlayan malzemeler biyoaktif malzeme olarak adlandırılır. Biyoaktif malzemelerin etkileşimi ve birleşimi sonucunda bağlandığı yüzeye biyoaktif yüzey denmektedir.

Biyoaktif malzemeler, kullanıldığı alan ve malzeme türüne göre hücre üretimi ve yayılımı sağlamalıdır. Biyoaktif malzemeler etki edilen dokuyu yenileyip iyileştirebilecek özelliğe sahip olmasının yanı sıra organ işlevlerini yerine getirme amacı ile biyoaktif molekül salınımı yapmaktadır. Uygun biyoaktif malzemenin üretilen implant uygulamasında, implant ile kemik arasında çabuk ve kuvvetli bir bağ oluşmalıdır. Biyomalzeme çeşitlerinden biyoseramik grubunun yaygın karakteristik özelliklerinden biri olan biyoaktiflik sayesinde gerekli tıbbi uygulamalarda kemik dokusu ile bağ kurulur. Kemik doku implantlarında, doku ile etkileşim için implantlar, biyoseramik sınıfına ait hidroksiapatit (HA) ile kaplanmaktadır [5]. Ara yüzey olarak HA kullanılmasının sebebi kemik dokusu benzerliği ve biyoaktivitedir.

2.1.3 Korozyon Direnci

Biyomalzemelerin bir türü olan metalik biyomalzemeler insan vücudunda kullanılan en önemli malzeme grubudur. Bu malzemelerin kullanım ömrünü yüksek mekanik ve aşınma özellikleri ile korozyon dirençleri belirler. Metal veya metal alaşımlarının oksitlenme veya diğer kimyasal etkilerle aşınma durumuna korozyon denir. Vücut içerisinde kan veya diğer vücut sıvıları ile sürekli etkileşim içerisinde olan malzemelerin fonksiyonlarını yürütebilmeleri ve biyolojik uyumluluklarının bozulmaması açısından korozyon davranışlarının tespit edilmesi önemlidir. Bu sebeple korozyon direnci yüksekliği biyoyuumluluğu olumlu yönde etkilemektedir. Bir alaşımın korozyon direncini oksijen tabakasının kalınlığı ve yoğunluğu belirler [6].

2.1.4 Mekanik Özellikleri

Vücudumuzun her bölgesi çeşitli özellikler taşımaktadır. Biyomalzemelerin mekanik özellikleri de kullanılacak bölgeye göre çeşitlilik gösterir. Örneğin günlük yaşantıda sürekli tekrarlanarak yapılan temel aktiviteler (yürüme, oturma, ayakta durma gibi) kemik dokusunu ortalama 4 MPa gerilime maruz bıraktığı, kalça kemiğinde ise bu durumun vücut ağırlığının yaklaşık üç katına kadar çıktığı görülmektedir [7]. Bu bölge için seçilen malzemenin de mekanik dayanımı kemiğe uygun olmalıdır. Bir malzemenin mekanik özellikleri; akma dayanımı, elastiklik modülü, çekme dayanımı, tokluğu, sünekliği ve kopma mukavemetine bağlıdır. Bu mekanik özellikleri çekme, basma ve eğme deneyleri kullanılarak belirlenebilmektedir. Tüm bu özelliklerin yanı sıra bir biyomalzeme de bulunması gereken diğer özellikler, toksik olmamalı, kanserojen olmamalı, alerjik olmamalı, kullanım ömrü uzun olmalı, kullanım yeri ve çeşidine göre steril edilebilir olmalı ve kullanım ömrü boyunca fonksiyonelliğini yitirmemeli olarak sıralanabilir.

2.2 BİYOMALZEME ÇEŞİTLERİ

Biyomalzemeler, kendi içerisinde metalik, seramik, polimerik ve kompozit malzemeler olmak üzere 4 temel sınıfta incelenir. Biyomalzemelerin çeşitlerine göre insan vücudundaki kullanım alanları Çizelge 2.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 1 Biyomalzemelerin çeşitlerine göre uygulama örnekleri [8].

Kardiyovasküler implantlar	Kalp ve kalp kapakçıkları Vasküler greftler Kalp pilleri, Stentler	Poliüretan Paslanmaz çelik Polietilen teratalat, Teflon
Plastik ve rekonstrüktif İmplantlar	Göğüs büyütme Çene implantları	
Ortopedik protezler	Diz ve kalça eklemleri Kırık tedavileri	Titanyum Alaşımları
Optik sistemler	Kontakt lensler Göz içi lensler	Silikon akrilat, hidrojel, PMMA
Diş implantları		Titanyum, alümina, kalsiyum fosfat
Sinirsel implantlar	Hidrocefali şantlar Koklear implantlar	
Vücut dışı	Oksieneratörler Diyalizatörler Plazmaferezler	PVC, PMMA
Kataterler		Silikon kauçuk, teflon poliüretan
Kontrollü İlaç salınımı için sistemler	Tablet ya da kapsüller için kaplama	
Genel cerrahi	Dikişler, Zımbalar Yapıştırıcılar	Polipropilen PET
Teşhis	Endoskopi için fiber optikler	

2.2.1 Metalik Biyomalzemeler

Metalik malzemeler, güçlü metalik bağları ve kristal yapıları nedeniyle üstün mekanik özelliklere sahiptir. Vücudumuzun kas- iskelet sisteminin mekanik gereksinimlerine en iyi cevabı metalik biyomalzemeler verir. Metalik biyomalzemeler belirli sınırlarda, ağır, uzun süreli, değişken ve ani yüklemelere karşı özelliklerini kaybetmeden dayanabilmeleri nedeniyle tercih edilmektedirler [9]. İnsanlarda kullanılmak için geliştirilen ilk metal alaşımı olan vanadyum çeliği kırık kemiklerin tedavisinde vida ve plaka olarak kullanılmıştır. Ayrıca, demir (Fe), krom (Cr), kobalt (Co), nikel (Ni), titanyum (Ti), tantalum (Ta), niyobyum (Nb), molibden (Mo) ve tungsten (W) den

imal edilmiş olan alaşımları vücut içerisinde belli bir süre kullanımı uygun görülmüştür [10].

Ortopedik uygulamalar, yüz-çene cerrahisi, diş implantları, kalp damar cerrahisinde yapay kalp parçaları, katater ve kalp kapakçığı olarak da kullanılabilir. Çizelge 2.2’ de bazı metalik biyomalzemelerin insan vücudunda kullanım alanları gösterilmektedir.

Çizelge 2. 2 Metalik biyomalzemelerin kullanım alanları [11].

Metaller ve Alaşımlar	Kullanım Alanı
Paslanma Çelikler	Kırık klişeleri, vidalar, kalça çivileri (geçici)
Co-Cr alaşımları	Kalça eklem protez gövdeleri
Titanyum ve alaşımları	Kalça implantları, klişeler, Vidalar
Dental Metaller (Cu, Ag, Sb, Hg, Au)	Doldu ve Kaplamalar
Tantal	Dikiş teli, radyo-izotop (mesane tümörleri için)
Platin grubu (Pt, Pd, Rh, Ir, Ru ve Os)	Kalp pili elektrotları
Silisyum	BioMEM, biyoçip

İnsan vücudunun yüksek korozif ortamı metallerin bu çok değişkenli ortamda etrafıyla etkileşerek oksijen, hidroksit gibi bileşikler çıkararak bozunmaktadır. Bu sebepten korozyona uğramaları, düşük biyouyumlulukları, dokulara göre sert olmaları, metal iyon salınımı ile alerjik reaksiyonlara neden olmaları gibi dezavantajlarına sahiptirler. Tüm bunların yanı sıra yüksek mekanik özelliği ve kristal yapılarıyla biyomalzeme grubunun önemli bir bölümünü oluştururlar. Şekil 2.2’de metal malzemeden üretilen bir diz implantı görülmektedir.



Şekil 2. 2 Metalik malzemeden üretilen diz implantı [12].

Biyomalzeme olarak kullanılabilen metaller, saf metal veya alaşım elemanlarına göre sınıflandırılırlar. Aşağıda sınılandırılmış metalik biyomalzemelerin özelliklerine yer verilmiştir ve Çizelge 2.3’ de implant olarak kullanılan biyomalzemelerin karşılaştırılması yapılmıştır.

Çizelge 2. 3 Metalik biyomalzemelerin özelliklerinin karşılaştırılması [13].

Özellikler	Paslanmaz Çelik	Titanyum ve Alaşımları	Kobalt Krom Alaşımları
Sertlik	Yüksek	Düşük	Orta
Dayanım	Orta	Yüksek	Orta
Biyouyumluluk	Düşük	Yüksek	Orta
Korozyon Dayanımı	Düşük	Yüksek	Orta

2.2.1.1 Paslanmaz Çelikler

Biyomedikal uygulamalarda kullanılan paslanmaz çelikler Fe-Cr-Ni alaşımlarıdır. Krom hem korozyon direncini artırır hem de ısı direnci kazandırır. Genellikle implant malzeme olarak kullanılan 316L alaşımı paslanmaz çelik olarak bilinen ASTM 316 çeliğinin içerisindeki karbon oranı düşürülerek oluşturulmuştur. Karbon oranı azaltılarak korozyon direnci iyileştirilmiştir [13]. Paslanmaz çelikler, titanyum ve diğer alaşımlara göre daha az çekme dayanımı ve yorulma dayanımı gösterirler ama yüksek sünekliğe sahiptirler [13].

2.2.1.2 Titanyum ve Alaşımları

Metalik biyomalzeme olarak kullanılan titanyum ve alaşımları; paslanmaz çelik ve CoCrMo alaşımına göre daha hafif olması, titanyumun inert özellikte olması, nontoksik yapısı, antimagnetik özelliği, hafif olması, mekanik özelliklerinin iyi olması, rahatlıkla küçük boyutlu numunelerin üretilebilmesi, biyouyumluluğunun yüksek olması, korozyona karşı dirençli olması, elastiklik modülünün kemik değerlerine yakın olması, titanyumun biyomalzeme olarak tercih edilmesini sağlamaktadır [14]. Titanyum alaşımlarının biyofonksiyonellikleri diğer alaşımlara göre yüksektir. Bunun sebebi düşük elastisite modülüne sahip olması ile ilgilidir [13]. Birçok biyomedikal uygulamalarda saf titanyum ve Ti6Al4V alaşımı kullanılmaktadır. Çekme dayanımı 240-740 MPa arasındaki değerlere sahip olan saf titanyum genellikle dental implantlarda ve ortopedik uygulamalarda kullanılmaktadır [15-16]. Titanyumun biyomalzeme olarak kullanılan Ti6Al4V alaşımı diğer alaşımlara göre en yüksek oranda kullanma kapasitesiyle önemini korumaktadır. Ti6Al4V alaşımının bu kadar oranda tercih edilmesinde, yüksek korozyon direnci, statik ve dinamik dayanımının yüksek olması ve ısı ile işlemle özelliklerinin iyileştirilebilir olmasından kaynaklanmaktadır [4]. Şekil 2.3' te Ti6Al4V alaşımından yapılmış bir implant görülmektedir.



Şekil 2. 3 Ti6Al4V alaşımlı implant [17].

2.2.1.3 Kobalt Krom Alaşımlar

Kobalt-krom alaşımları CoCrMo ve CoNiCrMo olmak üzere genellikle iki şekilde biyomalzeme olarak kullanılmaktadır. Kobalt-krom-molibden alaşımı, diş uygulamaları ve son zamanlarda yapay eklemlerin üretiminde kullanılmaktadır. Kobalt-nikel krom-molibden alaşımı ise fazla yük altındaki eklemlerde (diz ve kalça gibi) ve protezler de kullanılmaktadır. Bu tür alaşımlar, temel olarak ağırlıkça % 65 kobalt ve geri kalanı kromdan oluşuyor.

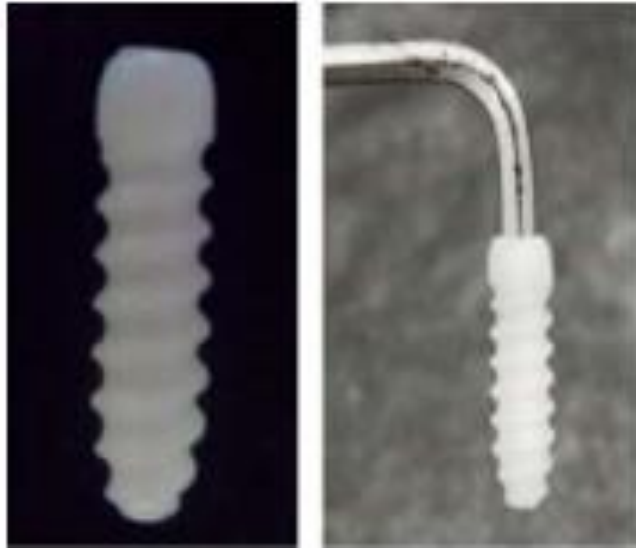
2.2.2 Polimerik Biyomalzemeler

Polimerler, monomer adı verilen küçük moleküllerden oluşan, büyük moleküllerin yapısında bulunan doğal veya sentetik bir maddedir [19]. Düşük molekül ağırlığına sahip monomerlerin kimyasal yolla birleştirilmesiyle oluşmaktadır.

Polimerik biyomalzemeler geleneksel metalik implantların kullanımına göre biyolojik olarak emilebilme gibi birkaç avantaja sahiptir [20]. Biyolojik emilebilme veya biyobozunur implantlar ile metalik implantı çıkarmak için gerekli olabilecek ameliyat durumları ortadan kalkmış olur. Makromoleküler bileşiklerin birçoğu biyolojik olarak emilebilirdir ancak sadece birkaçı iç kemik cihazları için gerekli özelliklere sahiptir

[21]. Polilaktid (PLA), PGA Poliglikolid (PGA) ve Polidioksanon (PDS) bu tür amaçlar için en yaygın kullanılanlardır [22]. Ultra yüksek moleküler ağırlıklı polietilen (UHMWPE) tıp alanında uygulanan ilk polimerik malzemedir ve omurga implantları gibi ortopedik uygulamalarda günümüzde de devam ederek kullanılmaktadır. Polieter eterketon (PEEK), polietilen (PE), poliüretan (PU), politetrafloroetilen (PTFE) kullanılan diğer polimerik biyomalzemelerdir [23]. Şekil 2.4' de Polikaprolakton (PCL)'dan üretilmiş kemik vidası görülmektedir.

Ortopedik uygulamaların yanı sıra genetik mühendisliği alanında son yıllarda yaşanan gelişmeler polimerlerin biyomalzeme olarak kullanılmasına sebep olmuştur [20]. DNA'yı yeniden yapılandırma çalışmalarında bilim adamlarının polimerlerin kullanımına daha çok önem vermesini sağlamıştır.



Şekil 2. 4 PCL kemik vidası [24].

Bir diğer polimerik malzemelerin uygulama alanı diş hekimliği ve kozmetik sektörüdür. Dental polimerler diş kaplamaları, diş dolguları gibi alanlarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde kullanılan en yaygın polimerik malzeme olarak PMMA kullanılmaktadır. PMMA ayrıca, katarakt tedavisinde orijinal lens çıkarıldığında göz içi lensler ve sert kontakt lensler için kullanılır [23]. Dental uygulamalarda kullanılan aletlerin yapımında da genellikle Polisülfon (PSF) kullanılmaktadır [25]. Şekilde polimerden üretilen çeşitli malzemeler görülmektedir.

2.2.3 Kompozit Biyomalzemeler

Ortopedik ve diş implantları metalik biyomalzemelerden ve biyoseramiklerden yapılırken, kalp-damar sistemi ve genel plastik cerrahi malzemeleri polimerlerden yapılmaktadır. Metaller; dayanımlı, kolay şekil verilebilir, aşınmaya dayanıklı olmalarının yanında biyouyumluluklarının düşük olması, vücut sıvılarında korozyona uğramaları, dokulara göre çok sert olmaları, yoğunluklarının yüksek olması ve alerjik doku reaksiyonlarına sebep olmaları gibi dezavantajları vardır. Seramikler, biyouyumlulukları yüksek ve korozyona dayanıklı olmalarının yanında sert, kırılğan olmaları, zor işlenen, mekanik özellikleri düşük ve yoğunluğu yüksek malzemelerdir. Polimerler bazı uygulamalar için mekanik dayanımları zayıf olup, sıvıları yapısına alarak şişebilir ya da istenmeyen zehirli bileşenler salgılayabilirler. Sterilizasyon uygulamaları (otoklavlama, etilen oksit, Co radyasyonu) polimer özelliklerini olumsuz etkileyebilir. Metalik, seramik ve polimerik biyomalzemelerin çeşitli dezavantajlarına sahip olmaları, alternatif malzeme üretimi gereğini oluşturmuştur. Farklı yapıdaki malzemelerin her birinin kendine ait avantajlarını, beraber kullanmak için, kompozit malzemeler üretilmektedir. Yani kompozit malzeme birden farklı malzemenin özelliklerini koruyarak oluşturduğu yeni bir malzemeyi ifade eder. Oluşturulan kompozit biyomalzemeler, ortopedik ve diş hekimliği alanında, yumuşak doku implantlarında kullanılmaktadır [26]. Farklı bir kompozit biyomalzeme uygulaması olan dolgu maddeleri için genellikle biyofiberler kullanılır. Doğal biyofiberlerden yapılan biyokompozitler yenilenebilir, hafif, biyobozunabilir ve çevre dostudur [27].

2.2.4 Seramik Biyomalzemeler

Seramiklerin kullanımı çok uzun yıllar öncesine kadar dayanmaktadır. İnsanlık tarihinde ateşin keşfedilmesiyle, kile yüksek ısı uygulanarak seramik çömlerler üretilmiş ve ardından yapılan seramik malzemeler ile günlük yaşantıda büyük kolaylık sağlanmıştır. Seramikler çok çeşitli kullanım alanlarına sahiptir. Son 50 yıldır insan vücudu içinde tasarlanabilmektedir ve bu malzemelere biyoseramik malzemeler denir. Biyoseramik malzemeler, vücudun zarar görmüş parçalarının değişimi, yeniden yapılandırılması, onarımı ve gerekli durumlarda yerini alması için kullanılan seramik

malzemelere denir. Biyoseramiklerin biyomedikal uygulamalarda sıklıkla tercih edilmesinin nedenleri şu şekilde sıralanabilir:

- Biyoaktiflik,
- Yüksek biyouyumluluk,
- Kimyasal inertlik,
- Yüksek korozyon direnci,
- Yüksek sıcaklığa karşı dayanım,
- Elektrik yalıtkanlığı
- Yüksek erime sıcaklığı,
- Metallere göre hafiflik ve hammadde kolaylığı.

İnorganik yapılı bu malzeme grubu oldukça çeşitli bir ürün yelpazesine ve çeşitli uygulama alanlarına sahiptir [28]. Örneğin, sert doku implantı olarak iskeletteki bağ dokusunun onarımı veya yenilenmesinde, dişçilik alanında dolgu malzemesi olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadırlar [5]. Aynı zamanda vücut içerisinde adsorban malzeme olarak kontrollü salınım, zararlı malzemelerin uzaklaştırılması ve benzeri işlemlerde de rahatlıkla kullanılabilir [29]. Vücut içindeki uygulamaları haricinde gözlük camları, teşhis cihazları, termometreler ve endoskopide kullanılan fiber optikler gibi sağlık sektöründe çeşitli birçok uygulamalarda tercih edilir. Biyoseramikler polikristalin (alümina ve hidroksiapatit) yapılı seramik, biyoaktif cam seramikler ve biyoaktif kompozitler (polietilen hidroksiapatit) olarak hazırlanabilmektedirler.

Biyoseramik malzemeler, kemik dokusu uygulaması sırasında kemiğin malzemeye karşı “biyoaktif, biyoinert ve biyobozunur” şeklinde verdiği üç farklı cevaba göre sınıflandırılabilirler.

Biyoaktiflik, genel olarak vücut içerisine yerleştirilen malzemenin, kemik doku ile kimyasal bağ yapması olarak tanımlanabilir. Yani kemiğe bağlanmasıdır. Hidroksiapatit ve cam seramikler bu gruba örnektir ve gözenekli veya granül şeklinde üretilebilirler. Kemik dolgu malzemesi olarak kullanılan bu malzemelerin en büyük dezavantajları kırılma yapıya sahip olmalarıdır [30].

Biyoinertlik, malzeme ile doku arasında kimyasal bağın oluşmaması durumudur. Alümina ve zirkonyum bu gruba dahildir. Alümina vücut içerisinde yüksek dayanım ve iyi biyouyumluluk gösterdiği ve yüksek yoğunluğa sahip olduğu için kalça protezleri ve çeşitli diş uygulamalarında tercih edilmektedir. Zirkonyum yüksek kimyasal kararlılık ve aşınma direnci gösterir. Yüksek çatlama ve bükülme dayanımı gösterdikleri için uyluk kemiği implantlarında kullanılmaktadır [4].

Biyobozunurluk, dokunun malzemeyi zamanla emmesidir. Malzeme ve doku arasında oluşan arayüzeyin özelliği zamanla doğal doku halini alır ve değişir. Böylece implant doku ile zamanla yer değiştirir. Gözenekli halde bulunan trikalsiyum fosfat bileşikleri bu gruba örnektir.

Genel olarak biyoseramiklerin kesin bir sınıflandırılması yoktur. Örneğin bir biyoaktif seramik olan hidroksiapatitin gözenekli hali, aynı zamanda biyobozunur seramik sınıfına da dahil olur. Çizelge 2.4’ te seramik biyomalzemelerin doku cevabına göre sınıflandırılmalarına örnekler verilmiştir.

Çizelge 2. 4 Biyoseramiklerin doku cevabına göre sınıflandırılması [31].

İmplant Türü	Doku Cevabı	Örnek
Gözeneksiz yoğun ve inert seramikler	Çok ince fibroz doku oluşumu (morfolojik sabitleme)	Alümina, zirkonyum
Gözenekli inert seramikler	Gözenek içerisinde doku büyümesi (biyolojik sabitleme)	HA
HA ile kaplanmış metaller, biyoaktif seramikler	Doku implant ara yüzey bağlanması (biyoaktif sabitleme)	Biyoaktif cam, cam seramik, HA
Resorbe edilebilir seramikler	Emilme	Trikalsiyum fosfatlar, biyoaktif camlar

BÖLÜM 3

HİDROKSİAPATİT

Kemik, organik ve inorganik bileşenlerden oluşan canlı bir kompozit malzemedir. Vücut içerisindeki temel görevi olan iskelet sistemini oluşturmanın yanı sıra kalsiyum ve fosfat minerallerinin deposudur. Kemikteki mineral, temel olarak hidroksiapatitin kristal yapısına benzeyen bir çeşit kalsiyum ve fosfat apatitidir. Kemik ana bileşen olarak kollojenden oluşan organik kısmı yumuşak bir yapıya sahip olup kemiğe sertliğini veren HA bileşenidir [12].

Tanım olarak baktığımızda, HA'lar fosfat mineral grubu olan apatitlerin en tanınmış üyesidir. HA'lar kalsiyum ve fosfattan oluşmakta olup kimyasal formülü $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ 'dir.

Yüksek biyoaktiflik gösteren HA'lar blok, tanecik ve gözenekli formda üretilebilmektedir. Blok ve parçacık formuna ait bazı uygulamalara Çizelge 3.1' de yer verilmiştir. Gözenekli yapı olarak üretilen HA'lar diğerlerine göre daha çok avantaja sahiptirler. Gözenekleri sayesinde doku büyümesi, gelişmesi veya çoğalması için uygun ortam oluştururlar. Kemik ve implant arasında kuvvetli bağlar oluşturabilir ve bu sayede kemiğin yüzeyde büyümesini hızlandırır ve gelişmesini sağlarlar. Gerekli minimum gözenek boyutu ~100 mm'dir. Bir kemik grefti ikamesi olarak kullanıldığında, gözenekli HA kemiğin çerçevesini (veya stromal bileşenini) taklit etmelidir. Kortikal kemiğin rejenerasyonu için ideal mikro yapı, 190 ila 230 mm arasında değişen gözenek boyutları ile %65'lik birbirine bağlı bir gözenekliliktir. Süngerimsi kemik için ideal greft ikamesi, birbirine bağlı büyük gözeneklerden (500-600 mm) oluşan ince bir çerçeveden oluşmalıdır [32]. Osteoblastların yani genç kemik hücrelerinin HA üzerindeki davranışına bakıldığında diğer biyoseramiklere göre kemiğe yapışması ve çoğalması çok daha iyidir.

Çizelge 3. 1 Yoğun HA'nın (porozite < 5 (vol%), gözenek boyutu < 1 µm çap, tane büyüklüğü > 0.2 µm) seramik uygulamaları [32].

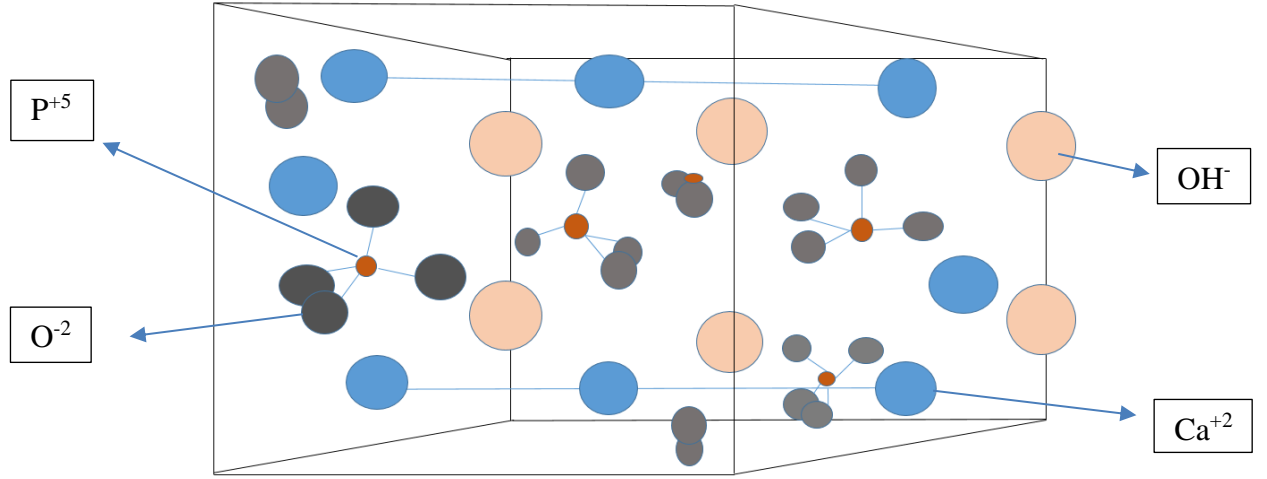
Uygulama	Formu
Protezin daha iyi oturması için diş yuvası çıkıntısının büyütülmesi	Blok
Ortopedik Cerrahi	Blok
İyon püskürtmeli kaplamalar için hedef malzemeler	Blok
Kemik kusurlarında dolgu (diş ve ortopedik cerrahi)	Parçacık
Metal implantlar üzerinde plazma püskürtmeli kaplamalar	Parçacık
Kompozitlerde ve çimentolarda dolgu maddesi	Parçacık

Yapılan çalışmalarda mikron boyutundaki tanelere sahip malzemelere göre nano yapıdaki malzemeler üzerindeki osteoblast hareketlerinin daha hızlı ve fazla olduğu görülmüştür [33].

Seramik HA kristallerinin çözünmesi; çözeltilerin türüne, pH'na, çözeltinin doygunluk derecesine, derişimine, bileşimine, kristallitesine ve katı/çözelti oranına bağlıdır. Bununla birlikte HA kristallerinin çözünmesi konuma bağlı değildir, çözünme hem kristal yapı içerisinde hem de yüzeyinde görülür. Biyolojik apatit kristallerinin çözünmesi ise konuma özeldir [34].

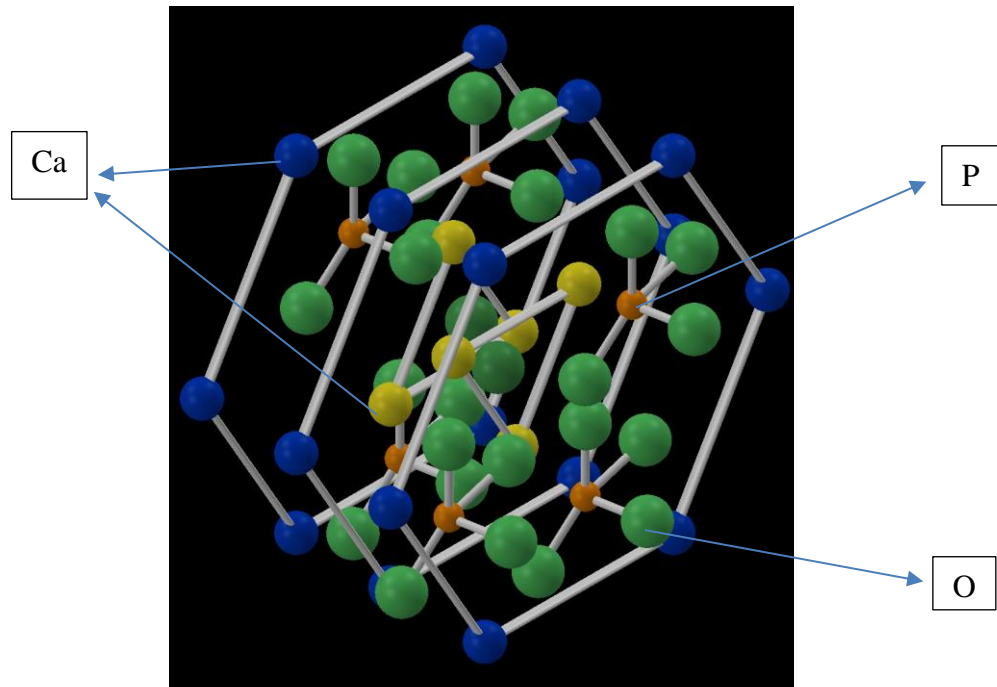
3.1 HİDROKSİAPATİTİN KİMYASAL YAPISI

HA'nın temel yapısında, kalsiyum (Ca^{+2}) iyonları, fosfat (PO_4^{-3}) ve hidroksit (OH^-) iyonları ile sarılmıştır. HA, hegzagonal ve monoklinik olmak üzere iki farklı kristal yapıya sahip olabilir. Hegzagonal HA, P63/m uzay grubuna dahildir [32]. Şekil 3.1' de hegzagonal kafes yapısı ve Şekil 3.2' de HA'nın şematik gösterimine yer verilmiştir.



Şekil 3. 1 Hidroksiapatitin kristal yapısı.

Hegzagonal kafes parametreleri birim hücre boyutları $a=b=9.4225 \text{ \AA}$ ve $c=6.8850 \text{ \AA}$ boyutlarındadır. İdeal HA için Ca/P oranı 1.67, yoğunluğu ise 3.219 gr/cm^3 'tür. HA bileşimine baktığımızda ağırlıkça kalsiyum yüzdesi 39.84, fosfor yüzdesi ise 18.52 olarak belirlenmiştir. Yetişkin bir bireyin kemik yapısına baktığımızda kalsiyum yüzdesinin 34.8, fosfor yüzdesinin de 15.2 olduğu görülmektedir. Bu durum, kemiğe yoğunluğunu ve mukavemetini sağlayan kalsiyum ile fosfor kaynağının, hidroksiapatit olduğuna işaret etmektedir [29].



Şekil 3. 2 Hidroksiapatit şematik gösterimi.

3.2 HİDROKSİAPATİTİN MEKANİK ÖZELLİKLERİ

Kemik dokusunun kalsiyum fosfat esaslı inorganik bileşeni HA, yüksek biyouyumluluğu sayesinde tıp ve diş uygulamalarında tercih edilen bir seramik biyomalzemedir. Yapay kemik malzemesi veya çatlak ve kırıkların kemiklerin onarımı gibi çeşitli uygulamaları mevcuttur. Seramik malzemelerin kırılma tokluğunun düşük olması gibi zayıf mekanik dayanımlarından dolayı metalik malzemelerin kaplanması gibi kompozit malzeme üretiminde de kullanılabilir. Çizelge 3.2’ de HA’nın mekanik özellikleri hakkında bilgi verilmektedir.

Çizelge 3. 2 HA’nın mekanik özellikleri [7].

Elastisite Modülü	4.0-217 GPa
Basma Dayanımı	294 MPa
Eğilme Dayanımı	147 MPa
Sertlik (Vickers)	3.43 GPa
Poisson Oranı	0.27
Yoğunluk (teorik)	3.16 g/cm ³

İnsan kemiklerinin kortikal ve trabeküler kısımlarının matrisleri iki fazdan oluşmaktadır, bunlar; Kalsiyum HA ve Trikalsiyum fosfat (TCP: Ca₃(PO₄)²). Asıl faz olan doğal kalsiyum HA, kortikal kemiklerde %50’den az olmamak üzere gözenekli bir yapı oluşturur. Diğer yandan, trabeküler kemikler ise %75’in üzerinde gözeneklilikte bir kafese sahiptirler. İnsan kemiklerindeki gözeneklerin boyutları, 100 ile 500 µm aralığında değişmekte olup gözenekler doğal kemik iliği ile doldurulmuşlardır [33]. Çizelge 3.3’ de kortikal kemik, diş minesi ve HA’nın çeşitli birçok özelliklerinin karşılaştırılmasına yer verilmiştir.

Çizelge 3. 3 Diş minesini, kortikal kemik ve HA'nın kimyasal, kristalografik ve mekanik özellikleri [32].

	Diş Minesi	Kortikal Kemik	HA
Bileşen (wt%)			
Kalsiyum (Ca ²⁺)	36.0	24.5	39.6
Fosfor (P)	17.7	11.5	18.5
Ca/P (molar)	1.62	1.65	1.67
Sodyum (Na ⁺)	0.5	0.7	Eser miktarda
Potasyum (K ⁺)	0.08	0.03	Eser miktarda
Magnezyum (Mg ²⁺)	0.44	0.55	Eser miktarda
Karbonat (CO ₃ ²⁻)	3.2	5.8	-
Flor (F ⁻)	0.01	0.02	-
Klor (Cl ⁻)	0.3	0.1	-
Toplam organik	1	25	-
Su Emme	1.5	9.7	-
Kafes Parametreleri			
a eksen	9.441	9.419	9.422
c eksen	6.882	6.880	6.880
Kristallik eksen	70-75	33-37	100
Kristalit boyutu (nm)	1300x300	250x25-50	-
Sinterleme sonrası ürünler (>800 °C)	HA+TCP	HA+CaO	HA
Mekanik Özellikleri			
Elastik Modülü (GPa)	14	20	10
Çekme Mukavemeti (MPa)	70	150	100

3.3 HİDROKSİAPATİT SENTEZ YÖNTEMLERİ

Hidroksiapatitin kimyasal sentezi uzun yıllar öncesine dayanırken son yıllarda çeşitli biyomedikal uygulamalarda kemik destek malzemesi veya onarım ihtiyaçları için sentetik yöntemler geliştirilmiştir. Geleneksel yöntem olan ıslak kimyasal yollarla veya katı hal reaksiyonları ile hazırlanan HA'lar mikro boyutta tozların üretilmesini sağlamıştır. Daha sonra uygulanan hidrotermal yöntem ile boyut olarak nano malzeme üretimi gerçekleşmiştir. Nano boyuttaki HA'lar vücut ile daha yüksek biyouyumluluk gösterir [7]. HA'nın üretim yöntemleri; çöktürme, sol-jel, hidrotermal ve doğal malzemelerden sentezdir [12].

Çöktürme işlemi için asitli ortamda çöktürme, kalsiyum asetat yöntemi ve metathesis olmak üzere üç yöntem kullanılır. Üçünde de hazırlanan ilgili solüsyonlara eklenen bileşikler sayesinde HA bileşikleri çöker. Çöken bileşikler solüsyondan uzaklaştırılıp yıkama işlemine tabi tutulur ve kullanıma hazır hale getirilir.

Çöktürme işleminin kimyasal reaksiyonu Denklem 3.1' deki gibidir:



Sol- jel yöntemi, kimyasal bir üretim yolu olup uygun bileşiklerle çözeltiyi jelleştirme işlemidir. HA sentezi için devamındaki gerekli adımlar kurutma, kalsinasyon ve toz haline getirmedir. Bu yöntem sayesinde düşük sıcaklıklarda yüksek saflıkta HA üretilmektedir [12]. Yöntemin kimyasal reaksiyonu Denklem 3.2'deki gibidir:



Hidrotermal ile üretilen HA tozlarının morfolojisi diğer yöntemlere karşın kontrol edilebilirdir. Hidrotermal yöntemle HA tozlarının üretiminde istenilen şekilde üretilen tozun morfolojisinde, pH ve uygulanan sıcaklık önemli parametrelerdir [35].

Hidrotermal sentezin kimyasal reaksiyonu Denklem 3.3' de verilmiştir.



3.3.1 Doğal Kaynaklardan Hidroksiapatit Sentezi

Vücudumuzun çeşitli sert dokusunun yapısında bulunan HA'nın bir mineral olması biyolojik öneme sahiptir.

Doğada doğal bir şekilde oluşmuş ve sık bir biçimde görülen fosfor içerikli minerallerin bir grubunda HA'lardır. Hidroksiapatit sentezi için sentetik yöntemlerin yanında bu doğada bulunan yapılardan sentez yapılabilmektedir. Başlıca kullanılan kemik ve diş gibi doğal dokuların yanı sıra son yıllarda çeşitli kalsiyum fosfat grubu içeren doğal yapılar incelenmektedir. Bu yapılara yumurta kabuğu, midye kabuğu, salyangoz kabuğu, geyik boynuzu ve denizkestanesi örnek verilebilir.

Doğal kalsiyum fosfat minerallerinin oluşumu değişken ortam koşullarından oldukça etkilenmektedir ve bunun sonucunda çeşitli bileşimde ve niteliklerde oluşabilirler. HA'nın yapı bileşimi, morfolojisi, mekanik özelliği insan kemiğinin mineral bileşimi ile hemen hemen aynıdır [54].

Kemik dokusu, yaygın olarak karbonatlı kalsiyum hidroksiapatitten (CHA) oluşan ve mineral matrisi olan karmaşık bir kompozit malzemedir [55]. Hidroksiapatit, insan kemiğine bağlanma yeteneğine sahiptir. Aynı zamanda, kemik doku yenilenmesini teşvik etme ve ara bağ dokusu olmaksızın diğer materyallerden daha hızlı bir oranda rejenere kemiğe doğrudan bağlanma özelliği vardır [56]. Kemik dokusu yerine kullanılabilir malzemelerde ağırlıkça sentetik HA kullanılırken doğal dokudan sentezlenen HA çalışmaları da yürütülmektedir. HA yapısı gereği kemik dokusu ve diş dokusundan elde edilebilmektedir.

Kemik doku hasarları için standart tedavi yöntemleri olarak kullanılan otogreft ve allogreft işlemleri devamında alıcı vücudun kabul etmemesi, patojen transferi, uygun eşleşme bulunamaması gibi problemler takip eder. Güncel bir tıbbi uygulama olan ksenojen tedavi ile sığır kemikleri kullanılarak kemik doku hasarı düzeltilmektedir. Sığır kemiğinin tercih edilmesinin bir nedeni de düşük maliyet ile kolay tedarik edilmesi olmuştur [57]. Gözenekli formda üretilen HA yapısının kemiğin içe

büyümesini sağlayacak ortamı oluşturması, kolay işlenebilirliği ve hemen hemen suda çözülemeyeceği tespit edilmiştir [58].

Sığır kemik tozundan HA sentezi sinterleme üretim yöntemi ile yapılabilmektedir ve uygulama ısısı ve şekli değişikçe, HA'nın yoğunluk değeri, mekanik davranışı, morfolojisi, kimyasal ve fiziksel özelliği değişiklik gösterir [56].

Yapılan bir çalışmada, doğal dokudan sentez için farklı hayvan türlerinden bir kemik segmenti olan sentetik biyomalzeme veya ksenograft kullanılması gereklidir. Ksenojen kemik kullanmanın yararı, yapı ve morfolojide insan kemiğine çok benzer olmasıdır. Sığır, koyun, domuz veya balık kemikleri gibi ksenograftlar, büyük tedarikte kolayca bulunabilen ve işlenmesi düşük maliyetli ve yeterli miktarda faydalı iyon içermesi gibi faydalar sağlar. Ksenojen kemikten kalsiyum fosfat bileşeni çıkarmak için ilk önce bir deproteinasyon işlemine tabi tutulur ve ardından yüksek sıcaklıklarda kalsinasyon yapılır. Kalsinasyon işlemi, organik bileşenleri tamamen çıkarmak ve patojenleri yok etmek için gerçekleştirilir; kalan kül, kemiğin mineral bileşenini içerir [36].

Yapılan bir diğer çalışmada, insan dişi minerallerinden biyoseramik çeşidi olan hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat sentezi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda diş minerallerinden sentezlenen biyoseramik yapının XRD analiz sonuçları ile bileşimindeki kristal yapılar (HA, FA, TCP) belirlenmiştir. FTIR sonuçları değerlendirildiğinde biyoseramik yapının, bileşimindeki fonksiyonel grupların varlığı ile örtüştüğü görülmüştür. EDS analiziyle de sentezlenen biyoseramiğin sahip olduğu Ca ve P elementleri ile miktarları tespit edilerek stokiyometrik mol oranına göre HA, FA, TCP kristal yapılarının ait olduğu tespit edilmiştir [36].

Yapılan başka bir çalışma göstermiştir ki; sığır kemiğinden bir kalsiyum fosfat çeşidi olan HA'ya dönüşümü, 1,6 kg kortikal kemikten 1 kg kadar HA şeklinde olmuştur [37].

Yapılan bir çalışmada, sığır, keçi ve tavukların atık kemiklerinden sinterleme ile hidroksiapatit üretimi sağlanmış ve yapısı incelenmiştir. Çalışmada organik

yapılarından temizlenen kemikler 600 °C ile 1000 °C arasında farklı sıcaklıklarda işleme maruz bırakılmıştır. Sonucunda sığır kemiğinden üretilen HA iyi termal stabilite gösterdiği, keçi ve tavuk kemiğinin ise 700 °C'den sonra görülen TCP ile faz kararsızlığı göstermiştir. Sığır ve keçiden üretilen HA'ların insan kortikal kemiği ile karşılaştırılabilir sertlik değerinde olduğu, tavuk kemiğinin ise yüksek gözenekliliğinden kaynaklı düşük sertlik gösterdiği ölçülmüştür [59].

Doğal kemik dokusundan HA sentezi için belirli birkaç aşama kullanılmaktadır. Öncelikle sentezin yapılacağı kemik dokusundan ilik gibi tüm organik yapılar uzaklaştırılır. Ardından belirlenmiş kimyasallar ile kemik yağından temizlenir ve kalsinasyon işlemine hazır hale getirilir. İnorganik kısmı kalmış kemiklere, farklı sıcaklıklar uygulanıp kalsine edilerek HA sentezi gerçekleştirilir [38].

Sığır kemiğinden sentezlenen HA'nın avantajları aşağıda sıralanmıştır:

- Sert dokularla mükemmel biyouyumluluğu,
- Düşük bozunma hızına rağmen biyoaktivitesi,
- Yüksek osteokondüktivitesi,
- Sentetik malzemelerle karşılaştırıldıklarında toksik olmaması,
- İnflamatuvar olmayan davranışı,
- İmmünojenik olmayan özellikler.

Yukarıda bahsedilen avantajlara bakıldığında doğal kaynaklardan (sığır kemikleri, mercanlar, boynuz ve fildişi, midye ve salyangoz kabuğu, yumurta kabuğu) HA sentezi, kemik yenilenmesi ve onarımı için kullanılacak malzemelerin arasında tercih edilebilir ve bunun için çeşitli birçok çalışma yapılmaktadır.

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1 KULLANILAN MALZEMELER

Bu bölümde deneysel çalışma süresince kullanılan malzemeler ve çözeltilere yer verilmiştir.

4.1.1 Dana Kemigi

Bu tezde kasaptan tedarik edilen ilikleri çıkartılmış ve küçük parçalara ayrılmış dana kemikleri kullanılmıştır.

4.1.2 Aseton

Kaynamış kemikler, 2 gün (48 saat) boyunca, oda sıcaklığında Aseton (C_3H_6O) içerisinde bekletilmiştir.

4.1.3 Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS)

Doğal biyolojik ortamı taklit etmesi için çalışmada çözelti olarak fosfat tampon çözeltisi kullanılmıştır. Bu çözelti su molekülleri ve Na^+ , Cl^- , K^+ , HPO_4^- iyonlarından oluşur. PBS laboratuvar ortamında hazırlanmış olup, pH derecesi 7,4 olarak ayarlanmıştır.

PBS için kullanılan bileşikler; 8 gr NaCl,
0.2 gr KCl,

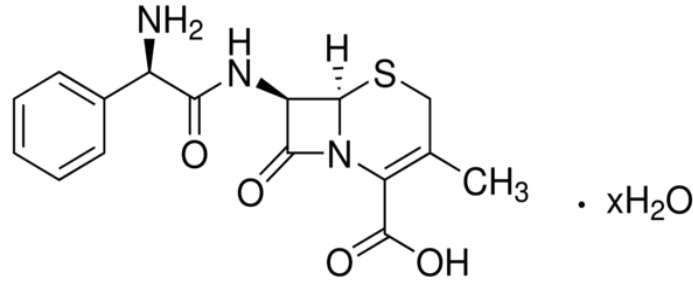
1.44 gr Na₂HPO₄,

0.24 gr KH₂PO₄

800 ml saf su içerisine yukarıda bahsedilen miktarlarda bileşikler atıldı ve manyetik karıştırıcı ile çözünmesi sağlandı. Üzerine 200 ml saf su eklenerek bir litreye tamamlandı. pH metre ile kontrolü yapılarak, pH 7.4 olarak ayarlanmıştır.

4.1.4 Cephalexin Hydrate

Cephalexin Hydrate (C₁₆H₁₇N₃O₄S · xH₂O) sigma firmasından, ilaç salınım testinde kullanılmak amacıyla temin edilmiştir. 1960'lardan beri kullanımda olan birinci nesil sefalosporin antibiyotiktir. Şekil 4.1'de kimyasal yapısı gösterilmektedir. Sefaleksinin, insanlarda ve küçük hayvanlarda üst solunum yolu hastalıkları, idrar yolu enfeksiyonları ve piyoderma tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaçtır. Hızlı bakterisittir yani bakterilere karşı çabuk harekete geçer. Streptokok ve Stafilokok gibi gram pozitif organizmaları, anaerobik bakterileri ve özellikle E. coli, Proteus ve Klebsiella Pneumoniae içeren bazı gram negatif organizmaları olmak üzere geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir [49].



Şekil 4. 1 Cephalexin Hydrate kimyasal yapısı.

4.2 KULLANILAN CİHAZLAR

Bu bölümde deneysel çalışma süresince kullanılan cihazlar hakkında bilgi verilmiştir.

4.2.1 Sinterleme Fırını

Deneysel çalışmada Alserteknik Protherm PLF 140/5 marka sinterleme fırını (Şekil 4.2) kullanılmıştır. Kaynamış ve asetonda bekletilmiş kemikler sinterleme yoluyla

belirlenmiş sürede kalarak dokudan hidroksiapatit fazı çıkartılması amacıyla kullanılmıştır.



Şekil 4. 2 Sinterleme fırını.

4.2.2 Soğuk Pres Makinesi

Deneysel çalışmada Carver marka otomatik pelet pres makinesi (Şekil 4.3), tozlardan üç boyutlu gözenekli yapı iskelesi üretmek için kullanılmıştır.



Şekil 4. 3 Otomatik pelet presi.

4.2.3 Hassas Terazi

Deneysel çalışmada katı malzemelerin ağırlık ölçümleri için Precisa LX marka hassas terazi kullanılmıştır.

4.2.4 UV Spektroskopi

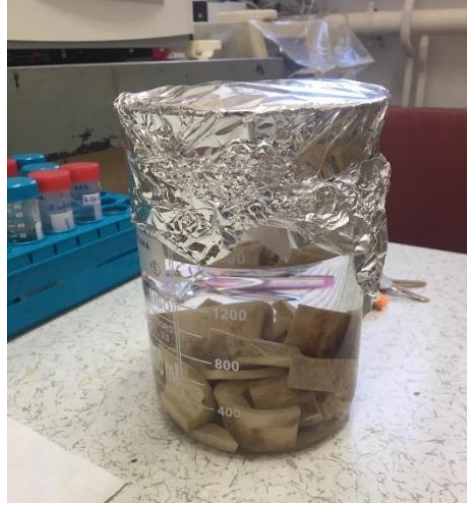
Deneysel çalışmada ilaç salınım analizi için Molecular Devices marka SpectraMax iD3 model UV cihazı (Şekil 4.4) kullanılmıştır. İlaç salım deneyi için 290 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır.



Şekil 4. 4 UV spektroskopi.

4.3 KEMİK TOZU ÜRETİMİ

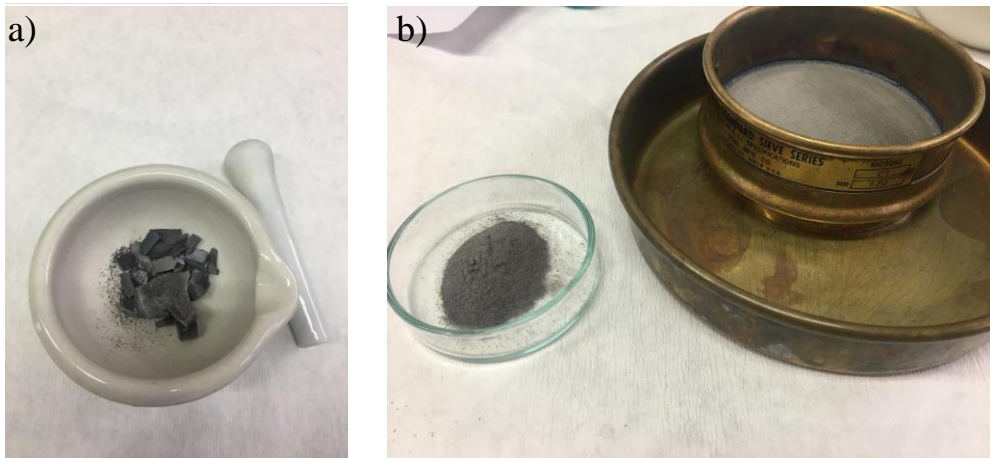
Sentez için ilk adım olarak kemikler yeterince yıkandıktan sonra bir saat boyunca kaynama işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra Şekil 4.5' de gösterildiği gibi, kemikler 48 saat (2 gün) boyunca saf aseton içerisinde oda sıcaklığında bekletilmiştir.



Şekil 4. 5 Aseton içerisinde bekletilen kemik.

Kalsiyum fosfat bileşik tozlarının elde edilmişinde Ooi v.d. [39] tarafından kullanılan yöntem uygulanmıştır. Öncelikle iki gün asetonda bekletilen kemikler saf suda yeterince yıkanıp kurutulmuştur. Sonra 600 °C'ye ayarlı sinterleme fırınında iki saat boyunca kalmıştır. Isıl işlem sonucunda kemik, 600 °C'de koyu gri rengini almıştır. Isıl işlem sonrası kemikler, Şekil 4.6.a' da gösterildiği gibi küçük parçalara ayrılıp, Şekil 4.6.b' de gösterilen elekten tanecik boyutu 212 µm'den küçük olacak şekilde geçirilerek toz haline getirilmiştir.

Karakterizasyon testi için belirlenen 1000 °C ve 1200 °C sinterleme sıcaklıklarında aynı işlem tekrarlanmıştır.



Şekil 4. 6 a) Kemikleri parçalara ayırma, b) Eleme işlemi.

4.4 KEMİK TOZU KARAKTERİZASYONU

4.4.1 TGA Analizi

Artan sıcaklığa bağlı olarak kütlede meydana gelen değişimi ölçmek için, TA Instruments SDT 650 marka TermoGravimetrik Analiz (TGA) cihazı kullanılmıştır. TermoGravimetrik analiz sadece kaynatılmış ve ardından iki gün boyunca asetonda bekletilmiş kemik için yapılmıştır. Artan sıcaklığa bağlı olarak kütle değişimini 0-max °C sıcaklık aralığında değerlendirilmiştir. Ölçüm aot atmosferi altında yapılmış ve 20 °C/dk ısıtma değeriinde 15 dakikada tamamlanmıştır.

4.4.2 XRD Analizi

Numunelerin kristal yapı analizi için Rigaku Ultima-IV marka X-Işını Kırınımı (XRD) cihazı ile ölçüm alınmıştır. Ölçüm 10°-80° aralığında, 0.1 adım boyutu ile 1°/dakika tarama hızında yapılmıştır.

4.4.3 FTIR Analizi

Parçacıkların molekül yapısında bulunan bağların titreşim frekanslarının ölçümünü yaparak yapıda bulunan fonksiyonel grupların tespiti için Bruker IFS 66/S, Hyperian 1000 marka Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) cihazı kullanılmıştır. FTIR cihazının spektrum aralığı 4000-400 cm⁻¹ olarak belirlenmiştir.

4.4.4 XPS Analizi

Üretilen kemik tozlarının yüzeyinin ana bileşenlerinin element analizi için PHI 500 Versaprobe marka X-Ray Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) kullanılmıştır.

4.4.5 FE-SEM Analizi

Üretilen kemik tozlarının, bileşiklerin yüzey morfolojisini gözlemlemek için, Quata 400F marka Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopu (FE-SEM) cihazı

kullanılmıştır. SEM cihazı yardımıyla yüzey görüntüleri elde edilmiş ve tane boyutları ölçülmüştür.

4.5 ÜRETİLEN KEMİK TOZLARINDAN YAPI İSKELESİ YAPIMI

Üretilen kemik tozlardan, basma kalıplama yöntemi ile yapı iskeleleri üretilmiştir. İlk olarak her iskele için belirlenen miktarda toz tartılmıştır. Ardından çelik kalıpta tek taraflı basınç uygulanarak sıkıştırılmış ve Şekil 4.7' deki halini almıştır. Sıkıştırma işlemi, 350 MPa basınç altında 3 dakika sürmüştür.



Şekil 4. 7 Kemik tozlarının sıkıştırma işlemi sonrası görünümü.

Eser miktarda üretilen iskeleler 2 saat boyunca 1000 °C ve 1200 °C' de sinterlenmiştir. Bu işlem sonrası koyu gri renkteki iskeleler beyaz rengini almıştır (Şekil 4.8). Bu durum kemikteki organik yapıların yanarak uzaklaştığını [31] göstermektedir.

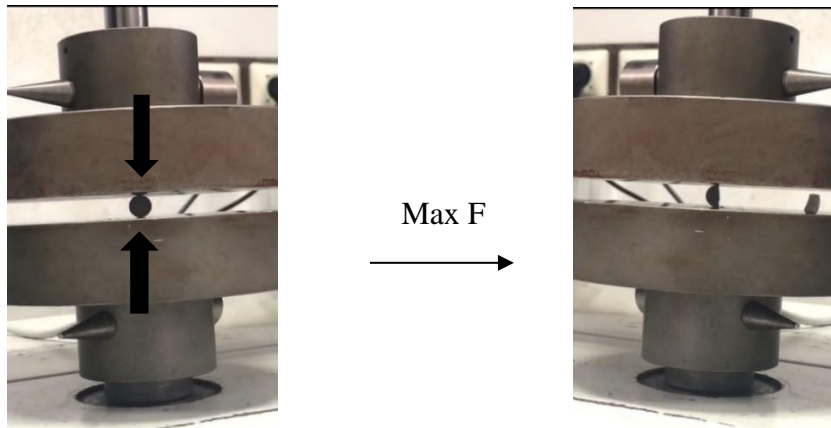


Şekil 4. 8 Kemik tozlarından sinterlenerek elde edilmiş diskler.

4.6 YAPI İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU

4.6.1 Mekanik Diyametral Mukavemeti

İskelelerin mekanik özelliklerini ölçmek için, diyametral dayanımı Carver marka test cihazı kullanılarak belirlenmiştir. 20 kN'luk bir sıkıştırma kuvveti ve 0.5mm/sn'lik hız kullanılarak, %10 gerinim elde edilene kadar iki paralel plaka arasında dik bir şekilde yerleştirilerek sıkıştırılmıştır (Şekil 4.9). Veriler test cihazının kendi programı kullanılarak kaydedilmiştir. İskelelerin diyametral mukavemeti, gerilim gerinim eğrisinin tepe noktası kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 9 Mekanik test diyagramı.

Kaydedilen maksimum kuvvet (F) kullanılarak diyametral mukavemeti (MPa) Denklem (4.1)' e göre hesaplanmıştır [40].

$$S=2 F/(\pi t D) \quad (4.1)$$

Denklem (4)'e göre S= diyametral mukavemeti (MPa), F= test sırasında uygulanan maksimum kuvvet, t= numunenin kalınlığı (mm), D= numunenin çapını (mm) belirtir. Ölçümler sekiz aynı özellikte iskele üzerinde yapılmıştır.

4.6.2 *In vitro* Biyobozunma Testi

Bozunma testi için fosfat tampon çözeltisi (PBS) kullanılmıştır. Öncelikle iskelelerin kuru ağırlığı ölçülüp ardından 14 mL PBS (pH 7.4) içerisinde 1 gün, 3 gün, 7 gün, 14 gün olarak 4 farklı süre zarfında su banyosunda (37 °C, 100 rpm' de) sallanmıştır. Her periyodun sonunda, PBS içerisinden çıkarılan iskeleler, 90 °C'de 24 saat bekletilmiştir. Bu işlem iskele içerisinde kalan suyu uzaklaştırmak için yapılmıştır. Ardından kuruyan iskeleler tartılmış ve yeni PBS içerisine konulup diğer periyodu için hazır hale getirilmiştir. Her dönemden sonra, iskelelerin ağırlık değişimleri (%) Denklem (4.2) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ağırlık Kaybı (\%)} = \left(\frac{M_i - M_f}{M_i} \right) \times 100 \quad (4.2)$$

Denkleme göre farklı periyotlarda iskelelerin ilk ve son kuru ağırlıkları kaydedilmiştir. M_i ilk ağırlık, M_f son ağırlıktır.

Ölçümler beş aynı özellikte iskele üzerinde yapılmıştır.

4.6.3 Yoğunluk Testi

Yoğunluk testi çalışması Arşimet ilkesi prensibine göre yapılmıştır. Yoğunluk testi için hazırlanan düzenek Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4. 10 Arşimet ilkesi düzeneği.

İskelelerin yoğunluk ölçümü Denklem (4.3) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$d=m/V \quad (4.3)$$

Denklem (4.3)' de d, m ve V sırasıyla yoğunluk, kütle ve hacimdir. Buradaki hacim Denklem (4.4)' ye [41,42] göre hesaplanmıştır.

$$V= \text{kuru ağırlık} - \text{ıslak ağırlık} \quad (4.4)$$

Denklem (4.4)'de bahsedilen ıslak ağırlık, dH₂O'ya daldırılan iskelenin ağırlığıdır. Son olarak belirlenen V ve m değerleri Denklem (4.3)' de yerine koyularak Denklem (4.5) oluşturulmuş ve yoğunluk hesabı yapılmıştır.

$$d= \frac{\text{kuru ağırlık}}{\text{kuru ağırlık} - \text{ıslak ağırlık}} \quad (4.5)$$

Ölçümler beş aynı özellikte iskele üzerinde yapılmıştır.

Bağıl yoğunluk için denklem (4.6) kullanılmıştır. Farklı derecelerde sinterlenmiş iskelelerin bağıl yoğunlukları saf HA'nın teorik yoğunluğu olan 3.156 g/cm³'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Bağıl yoğunluk} = (\text{Ölçülen yoğunluk/Saf HA'nın yoğunluğu}) \times 100 \quad (4.6)$$

4.6.4 Gözeneklilik Oranı (Porozite %) ve Su Emme (%)

İskelelerin gözeneklilik oranını belirlemede Arşimet ilkesi düzeneği (Şekil 4.10) kullanılmıştır. Ölçüm için Denklem (4.7) [43] kullanılmıştır.

$$\text{Gözeneklilik (\%)} = \left(\frac{W_w - W_d}{W_w - W_s} \right) \times 100 \quad (4.7)$$

Denklem 10'a göre malzemenin W_d kuru ağırlığı, W_s , su içerisinde asılıyken olan ağırlığı ve W_w sudan çıktıktan sonraki ıslak ağırlığı kullanılacaktır.

Su emme miktarını belirlemek için Denklem (4.8) kullanılmıştır ve W_i ilk kuru ağırlığı temsil eder.

$$\text{Su Emme (\%)} = \left(\frac{W_w - W_i}{W_i} \right) \times 100 \quad (4.8)$$

Ölçümler beş aynı özellikte iskele üzerinde yapılmıştır.

4.6.5 İlaç Salım Testi

Bu çalışma farklı sıcaklıklarda sinterlenerek üretilen yapı iskelelerin, kontrollü ilaç taşıma ve salım sistemlerinde kullanılabilirliğini ölçmek için yapılmıştır. Ölçüm için kullanılan ilaç birinci nesil antibiyotik olan Cephalexin Hydrate'dır. Çözücü olarak saf su kullanılmıştır. Test için kullanılacak stok çözelti oranı 400/200 mg/L olarak belirlenmiştir. Hazırlanan çözeltilerde farklı sıcaklıkta sinterlenmiş yapı iskeleleri, 10 ml stok çözelti içerisinde 24 saat boyunca su banyosu içerisinde bekletilmiştir. Bekleyen iskelelerin çözeltilerinden alınan örnekler ile UV spektroskopi yardımıyla disklerin ne kadar ilaç absorbladığı hesaplanmıştır. Çözeltiden çıkarılan diskler 24 saat boyunca oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra diskler 10 ml saf su içerisinde 24 saat boyunca su banyosunda bekletilip ardından alınan sıvı örneklerinden iskelelerin ilaç salımı ölçülmüştür.

BÖLÜM 5

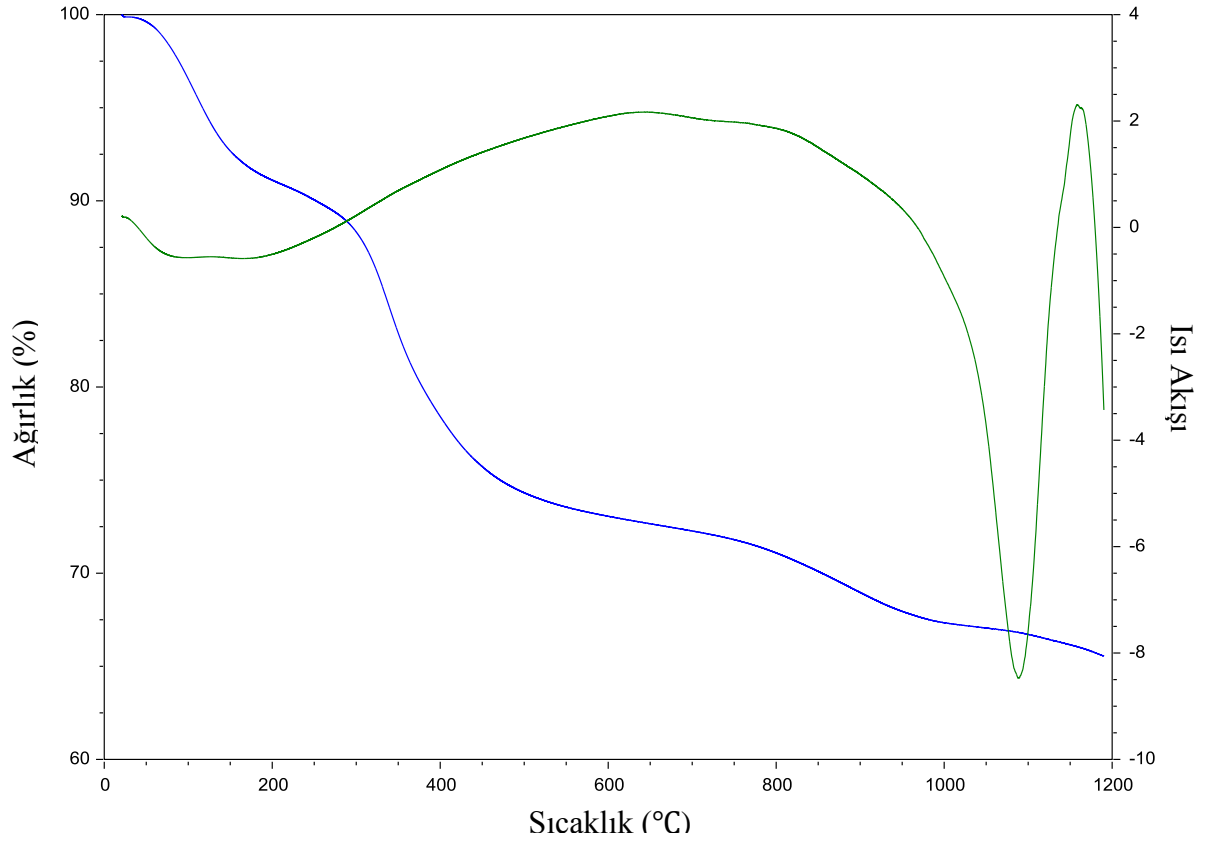
DENEY SONUÇLARI

Bu bölümde yapılmış tüm testlerin sonuçları incelenmiştir.

5.1 SİNERLENMİŞ KEMİK TOZU KARAKTERİZASYON TESTLERİ

5.1.1 TGA Analiz Sonuçları

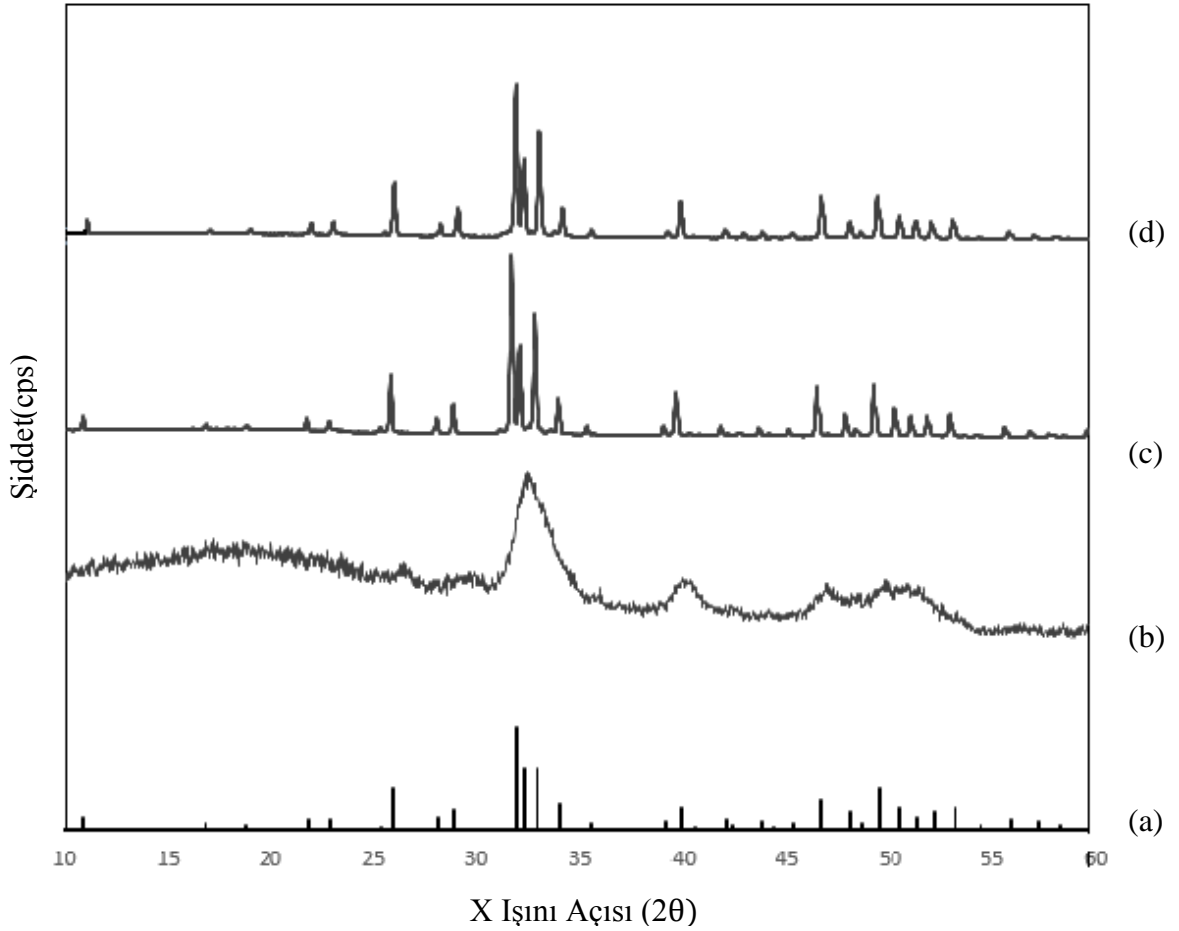
Şekil 5.1’ de ısıl işlem görmemiş kemik parçalarının TGA analizinde 0-1200 °C sıcaklıkları arasında yüzdece ağırlık kaybı verilmiştir. Grafikten anlaşılacağı gibi temelde üç aşamada ağırlık kaybı yaşanmıştır. İlki 0-200 °C arası, ikinci 200-600 °C arası ve üçüncü 800 °C üstündedir. Bu durum Adolfsson vd.[44] tarafından açıklanan HA’nın ayrışma dizisi ile uyumludur. İlk aşamada organik maddelerin, yağların ve kolojen yapının bozulduğu söylenebilir [60,61]. İkinci aşamadaki kayıba kemik içerisindeki tüm suyun uzaklaşması neden olmuştur. Kayıp oranı 200 ile 400 °C arasında belirgin bir şekilde artar, bu su ve gazların yanında belli bir miktara kadar karbonun uzaklaştırıldığını gösterir [60]. Gözlemlenen başka bir karakteristik değer yoktur. 800 °C’den sonra görülebilen küçük kayıplar, düşük oranda karbonat bozulmasıyla ilişkilendirilebilir [61].



Şekil 5. 1 TGA Analizi, ısı işlem görmemiş ham kemik.

5.1.2 XRD Analiz Sonuçları

XRD analizi ile ısı işlem görmemiş sığır kemik tozu ve 1000 °C ile 1200 °C sıcaklıklarda kalsine edilmiş kemik tozlarının mevcut faz yapıları ve kafes parametreleri hesaplanmıştır. Faz analizi 10-60° arasında gerçekleştirilmiş ve Şekil 5.2' de grupların XRD analiz sonuçlarına yer verilmiştir. Bu grupların XRD değerleri standart HA'nın (JCPDS card 01-072-1243) karakteristik pikleri ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda sinterlenmiş kemik tozlarının sentetik HA ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği ve doğal doku içerisinde bulunan atomların varlığından kaynaklı az miktarda sağ tarafa kayma gözlemlenmiştir.



Şekil 5. 2 XRD analizi, a) standart HA, b) ısıtılmış işlem görmemiş kemik tozu, c) 1000°C, d) 1200°C ısıtılmış işlem görmüş kemik tozu.

Sinterleme sıcaklığındaki artış, HA matrisindeki fonksiyonel grup olan OH'yi ortadan kaldırma eğilimine sahiptir ve bu durum HA fazının α -trikalsiyum fosfat (α -TCP), β -trikalsiyum fosfat (β -TCP) ve tetrakalsiyum fosfat (TTCP) gibi diğer fazlara dönüşümüne neden olur [51]. Çizelge 5.1' de yer verilen faz yüzdeleri incelendiğinde, kemik tozlarının bir diğer fazı olan tri kalsiyum fosfat (β -TCP) fazının da artan sinterleme sıcaklığı ile artışı gözlemlenmiştir. Faz oranları yazılım (HighScore Plus) kullanılarak hesaplanmıştır.

Şekil 5.2'de görüldüğü üzere, sıcaklık arttıkça numunelerdeki kristalinite ve β -TCP miktarları artmıştır. Bu sonuçlar Ramesh ve ark.'nın [59] sonuçları ile uyumludur. Piklerin daha geniş yapıldı halden sivri (iğnemi) hale dönüşmesi kemik içerisinde

kalan organik kısımların sinterleme sonucunda sistemden uzaklaşması ile açıklanabilir [59]. İnek kemiğinin sinterlenmesi ile yüksek sıcaklıkta HA'dan β -TCP'ye dönüşüm artmaktadır. Bundan dolayı da 700-750°C'nin üzerindeki sinterleme sıcaklığı ve süresindeki artış bu dönüşümü hızlandırmaktadır [59, 72]. Ancak, başka bir çalışmada ise, 1400°C'ye kadar inek kemiğine ait HA'nın hidroksil miktarında azalma görüldüğü ama herhangi bir bozunmanın tespit edilmediği değerlendirilmiştir [56]. Ayrıca, Niakan ve ark. ise 750°C'nin optimum sinterleme sıcaklığı olduğunu beyan etmişlerdir [62]. Sinterleme sonucunda HA fazına ait 74-566 nolu JCPDS kart numarası elde edilmiştir [62]. Başka bir çalışmada ise HA'ya ait 09-0432 nolu JCPDS kart numarası elde edilmiştir [73].

Çizelge 5. 1 Grupların kristallik boyutu ve faz yüzdeleri.

Gruplar	Kristallik Boyutu (nm)	Faz Yüzdeleri (%)	
		HA	β -TCP
Isıl işlem görmemiş kemik	5.14	-	-
1000 °C	71.03	95.7	4.3
1200 °C	55.23	92	5.8

XRD verilerine göre grupların kristallit boyutu Denklem 5.1'e [50] göre hesaplanmıştır.

$$D = k \lambda / \beta \cos\theta \quad (5.1)$$

Hesaplama sonuçlarına Çizelge 5.1'de ısıl işlem görmemiş kemiğin kristallit boyutu 1000 °C ve 1200 °C'de ısıl işlem görerek sinterlenmiş kemiğe göre oldukça düşüktür. 1000 °C'de işlem görmüş grup 1200 °C'ye göre daha yüksektir. Bu duruma göre sinterleme sıcaklığı arttıkça kristallik azalır.

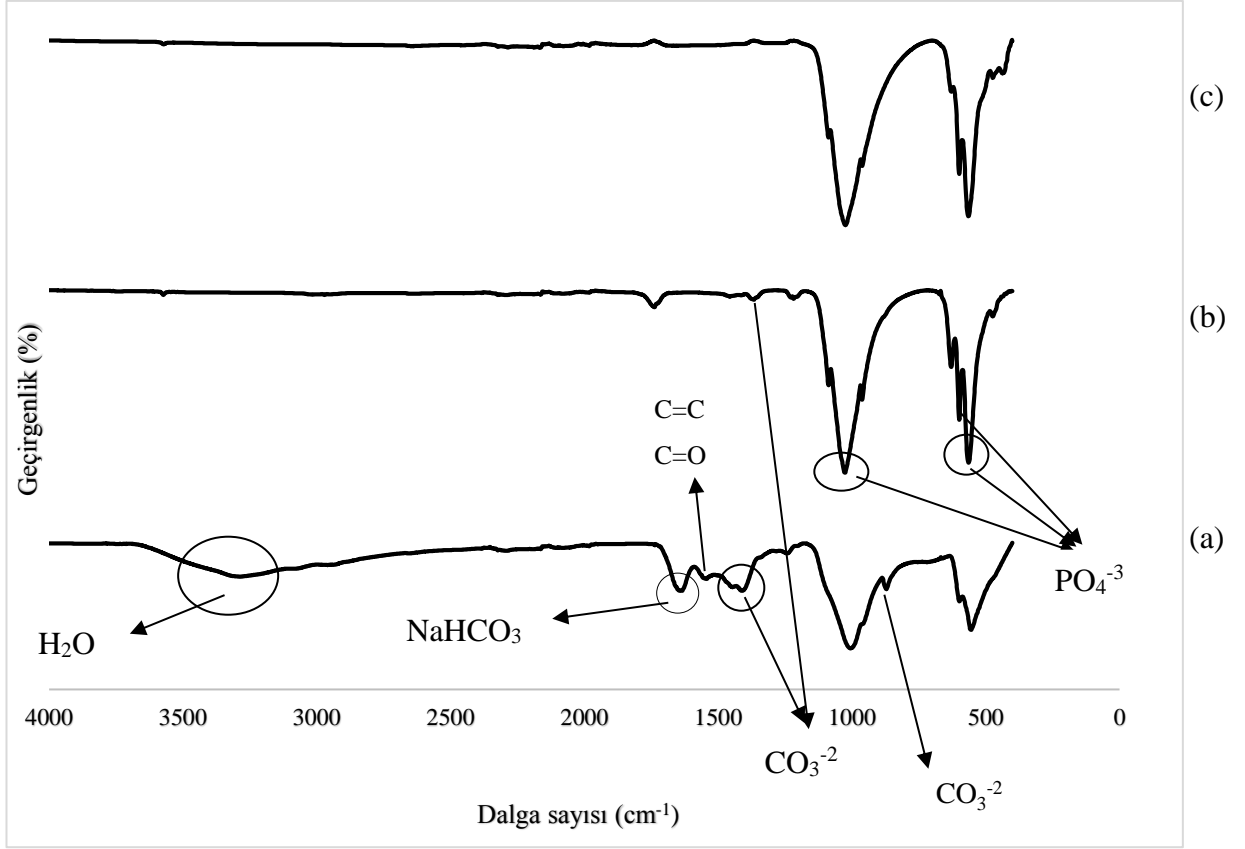
1000°C'de sinterlenmiş inek kemiğinin HA'ya ilaveten ağırlıkça %3 CaNaPO₄ içerdiği XRD sonucunun Ritveld analizi ile gösterilmiştir [72]. Başka bir çalışmada

ise, 1000°C ve üzerindeki sıcaklıklarda 3-saat sinterlenmiş inek kemiğinin HA'ya ilaveten β -TCP'de içerdiği gözlemlenmiştir [56]. Bu çalışmaya ilaveten, HA ve β -TCP'ye ilaveten, CaCO₃, Ca₄O(PO₄)₂ ve NaCaPO₄'ün elde edilmiş olması, sinterleme sıcaklığı ve süresi ile ilgili olarak inek kemiğinden elde edilen fazlarda literatürde net bir konsensüs olmadığı değerlendirilmiştir [58].

Farklı konsantrasyonlardaki Na₂P₂O₇ ile kaplama işlemi uygulanmış süngerimsi inek kemiğinde, Na₂P₂O₇ konsantrasyonu arttıkça, 1300°C'deki sinterleme sonucunda, β -TCP oluşumunun arttığı gözlemlenmiştir [63].

5.1.3 FTIR Analiz Sonuçları

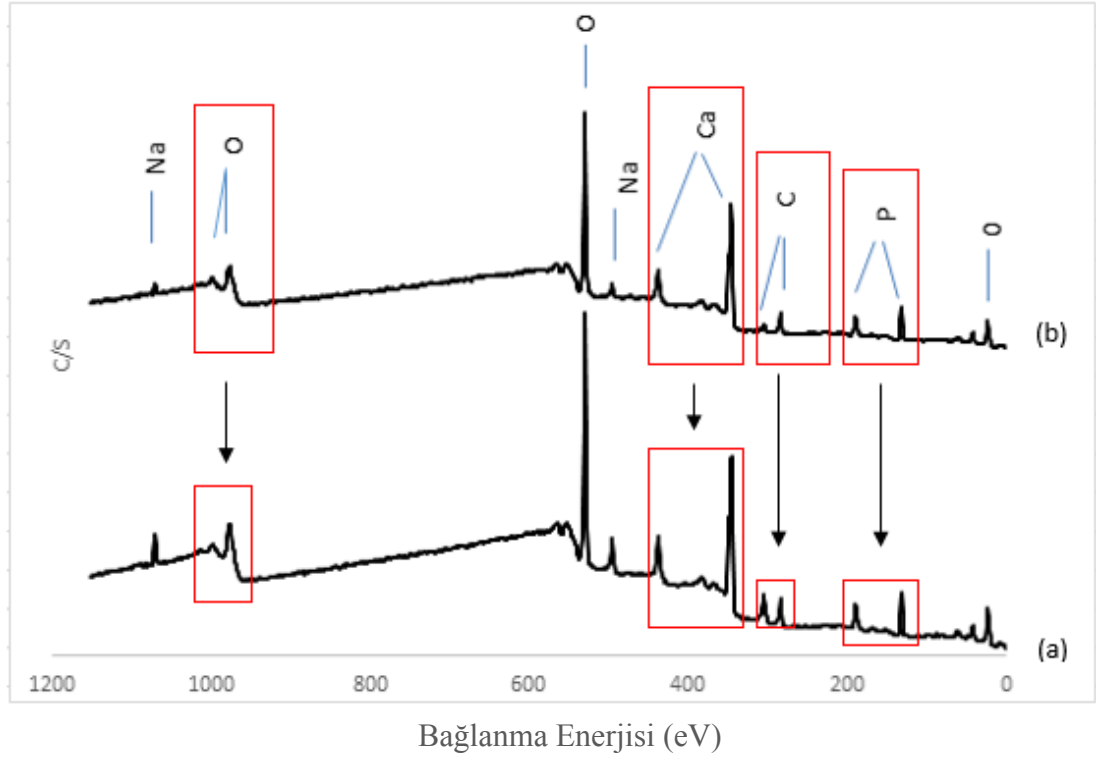
Sinterlenmiş inek kemiği içerisinde bulunan amorf yapıların ve minimal oranlardada olsa sistem içerisinde olan seramik bileşikleri FTIR yöntemi ile gözlemlenebilmektedir [58]. Isıl işlem görmemiş kemik dokusunun ve 1000 ile 1200 °C' de sinterleme yapılan grupların FTIR analizi Şekil 5.3' de verilmiştir. Analiz fonksiyonel grupları belirlemek için kullanılmıştır. Isıl işlem görmemiş kemiğin 3400 cm⁻¹ civarında gözlenen geniş bant, sıcaklık artışı nedeniyle azalan yüzey suyu moleküllerinin varlığına bağlanabilir [58]. 1500 cm⁻¹ ile 1600 cm⁻¹' deki CO (protein) ve CC (kollajen) bantları, kemik dokusunun organik bileşiklerine karşılık gelen çift bağ pikleridir [64]. Bu tepe noktaları sinterlenmiş gruplarda kaybolur bu durum ısıl işlem sırasında kemik dokusundan organik yapıların ayrıldığını gösterir. 1023 cm⁻¹ ve 564 cm⁻¹ bandında görülen en yoğun pikler tüm gruplarda ana tepe noktası olarak gözlemlenmiş ve PO₄⁻³ bağı olarak belirlenmiştir [45]. 1400 cm⁻¹ civarı ve 887 cm⁻¹ bandında CO₃⁻² belirgin bir şekilde görülmektedir [65]. Ayrıca kemik dokusunun 1635 cm⁻¹ bandında NaHCO₃ gözlemlenirken [46], sinterleme işleminden sonraki gruplarda gözlemlenememiştir. 3620 cm⁻¹ ile 3640 cm⁻¹ bantları civarında OH⁻ grubu gözlemlenmiştir [66].



Şekil 5. 3 FTIR analizi a) ısıtılmamış kemik tozu, b) 1000°C, c) 1200°C ısıtılmış kemik tozu.

5.1.4 XPS Analiz Sonuçları

Farklı sinterleme sıcaklıkları kullanılarak üretilen kemik tozlarının bağlanma yapısının daha iyi anlaşılabilmesi için XPS analizi yapılmıştır. Grupların XPS spektrumları şekilde gösterilmektedir. Analizin geniş tarama spektrumu ile HA yapısını oluşturan elementleri ve ilgili elemente karşılık gelen bağlanma enerjileri belirgin olarak görülmektedir. Şekil 5.4' de görülen elementlerin spektrumlarının çift tepe noktaları ortaya çıkardığı gözlemlenmiştir. Bu durum HA'nın kristal birim hücrelerinde beklendiği gibi iki varlık içerdiğine işaret eden çift tepe noktaları ile ilişkilendirilmiştir [71].



Şekil 5. 4 XPS Analizi, a) 1000 °C, b)1200 °C ısıtılmış grup.

XPS analizi ile grupların atomik yüzdelere ulaşılmıştır ve Çizelge 5.2’de yer verilmiştir.

Çizelge 5. 2 Isıtılmış grupların atomik yüzdeleri.

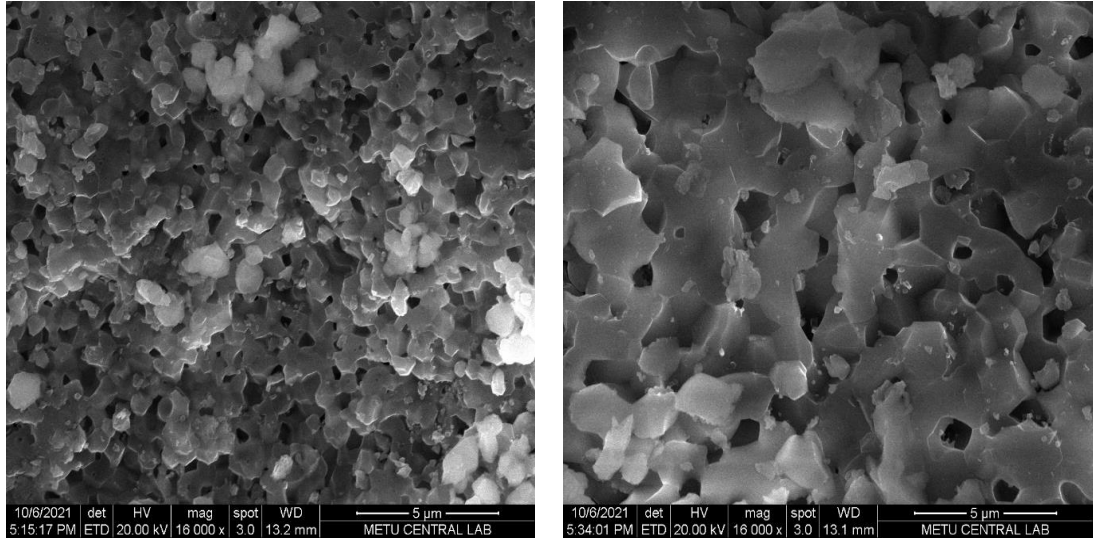
Sinterleme Grupları	Atomik (%)					
	O	C	Ca	P	Na	Mg
1000 °C	54	14.6	15.9	11	3.9	0.6
1200 °C	54.3	16	15.6	12	2.2	<.1

Tabloya baktığımızda, üretilen kemik tozlarının yapısında kalsiyum, fosfor ve oksijenin çoğunluk miktarda bulunduğu gözlemlenmiştir. Bu durum HA’nın yapısındaki ana element bileşenlerinin Ca, P ve O olması ile örtüşmektedir. Sentetik

üretilen HA'dan farklı olarak doğal kaynaktan sentez edilen HA'nın yapısında ana elementlerin yanında Na ve Mg gibi az miktarda farklı elementlerde tespit edilmiştir. Yaşam için faydalı olan bu elementlerin yapıda bulunması çeşitli uygulamalar için fayda sağlayacaktır.

5.1.5 FE-SEM Analiz Sonuçları

Farklı derecelerde sıcaklığa maruz bırakılan kemik parçalarının yüzey morfolojisi SEM ile görüntülenmiştir. Şekil 5.5' de 16 KX büyütme oranıyla kemik tozlarının yapısı verilmektedir. Baktığımızda sıcaklık arttıkça yüzeydeki değişim belirgin şekilde gözlemlenebilmektedir. 1000 °C'de işlem görmüş grup 1200 °C'ye göre daha kristal ve gözenekli yapıdadır. Sinterleme sıcaklığı arttıkça yapıdaki bileşiklerin bağlanması artmakta ve bununla birlikte gözeneklilik azalmaktadır. Bu sebeple 1200 °C' de yapı daha kompakt yani daha sıkı ve yoğun şekilde gözlemlenmiştir. Bu durum mekanik davranış değerini de etkilemektedir.

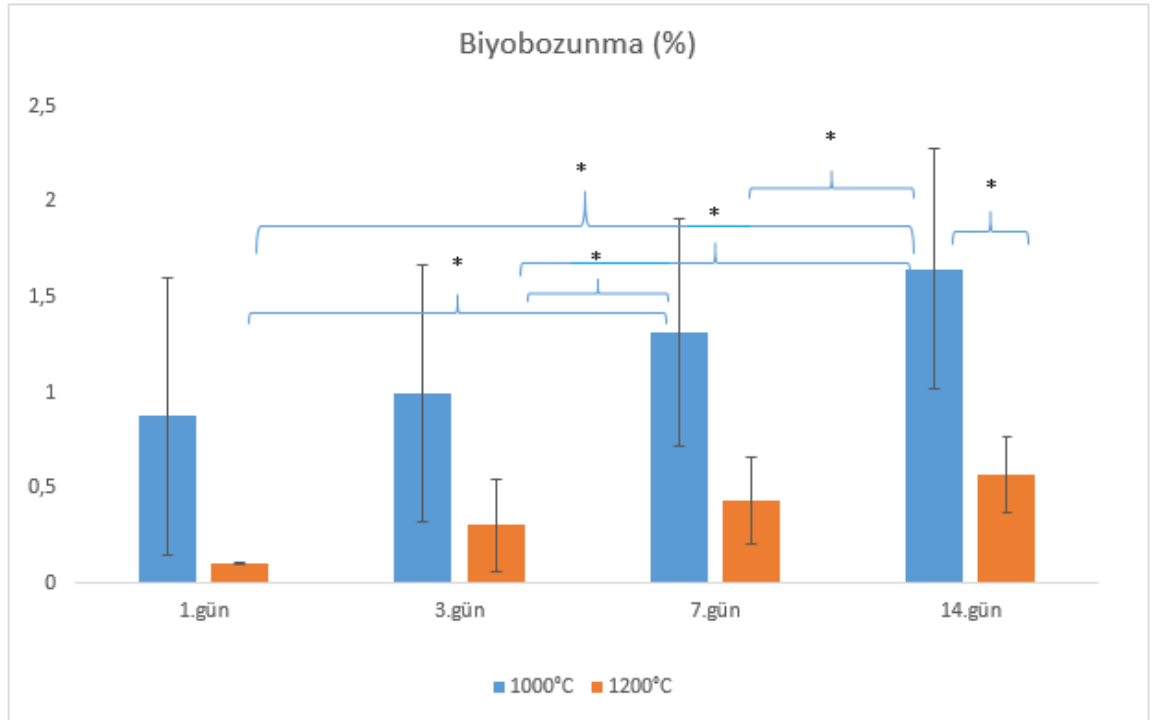


Şekil 5. 5 SEM görüntüsü, a) 1000 °C, b) 1200 °C ısıtılmış işlem görmüş grup.

5.2 ÜÇ BOYUTLU YAPI İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU

5.2.1 *In vitro* Biyobozunma Sonuçları

Gözenekli HA yapı iskeleleri biyobozunmaya uğrayarak zamanla yerlerini kemik dokusuna bırakırlar. Biyobozunmanın oranı senede %1-2 seviyesindedir [52]. Şekil 5.6' e baktığımızda iki haftalık periyotta iskelenin yapısal bütünlüğü ve ağırlığında büyük bir değişiklik olmamıştır. Sinterleme sıcaklığı yükseldikçe, malzeme içerisinde yapısal değişiklikler artmaktadır. Artan sıcaklık ile yapı içerisinde, amorf fazdan ziyade kristal faz artar. Amorf malzemenin biyolojik olarak parçalanabilirliğinin kristal malzemeye göre daha yüksek olduğu bilinmektedir [67]. Buna ek olarak artan sinterleme sıcaklığı ile porozite azalmaktadır. Bu nedenle, sinterleme sıcaklığı ne kadar yüksekse, seramik malzemelerin çözünme için katı ve sıvı arasındaki etkin temas alanı daha az olacaktır [67]. Bu bağlamda test sonucuna baktığımızda artan sinterleme sıcaklığı ile biyobozunma oranı azalmıştır.



Şekil 5. 6 Sinterleme sıcaklığına göre iskelelerin farklı günlerdeki biyobozunma oranları.

* $p < 0.05$

5.2.2 Yoğunluk Testi Sonuçları

Çizelge 5.3’ de farklı sinterleme sıcaklığında, yoğunluk ve bağıl yoğunluk değerleri gösterilmektedir. Sonuçlar saf HA’nın teorik yoğunluğundan düşüktür ve sinterleme sıcaklığının artmasıyla yoğunluk değeri artmıştır. Yoğunluk 1000 °C’de 2,76 g/cm³ iken 1200 °C’de 3,01 g/cm³ olarak gözlemlenmiştir. Artan sinterleme sıcaklığı ile bağıl yoğunluğunun da doğrusal olarak arttığı görülmüştür.

Literatürde katkısız HA’nın en yüksek yoğunluk değerine 1200 °C’de ulaşıldığı söylenmektedir [53]. Literatürde; Liu ve Chin, ilavesiz HA ile yaptıkları çalışmada 1200 °C sıcaklık için yoğunluğu 3,11 gr/cm³ olarak, Aizawa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada en yüksek yoğunluk değeri 3,05 gr/cm³ olarak ölçülmüştür [68,69]. Santos ve arkadaşları farklı oranlarda cam ilaveli HA ile yaptıkları çalışmada 1200 °C’de en yüksek yoğunluk değerini 2,85 gr/cm³ olarak hesaplanmış ve sıcaklık arttıkça yoğunluğun artmaya devam ettiğini gözlemlemiş devamında 1300 °C’ de 3,03 gr/cm³ ile maksimum değere ulaşılmıştır [70]. Bu artış sıcaklık değerinin artmasıyla gözenekliliğin azalması ile ilişkilendirilebilir [62].

Yoğunluk testi sonuçları literatür ile uyumluluk göstermiştir ve sinterleme sıcaklığı arttıkça teorik bağıl yoğunluğa benzerlik de artmıştır.

Çizelge 5. 3 Farklı sinterleme sıcaklıklarında disklerin yoğunluk değerleri.

Sinterleme Sıcaklığı (°C)	Yoğunluk (g/cm ³)	Bağıl Yoğunluk (%)
1000 °C	2,76± 0,14	87,55± 4,32
1200 °C	3,01± 0,1	95,34± 2,54

5.2.3 Porozite ve Su Emme Testi Sonuçları

Porozite seramik biyomalzemeler için önemli bir özelliktir. Çizelge 5.4' de sinterleme sıcaklığına göre porozite ve su emme oranlarının değişimi gösterilmektedir. Çizelgeye göre porozite 1000 °C' de %27,47, 1200 °C' de %9,8 olarak hesaplanmıştır. Su emme oranının gözeneklilik ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir ve artan sıcaklık ile porozitedeki azalma su emme oranını da azaltmıştır.

Sinterleme sıcaklığının artmasıyla yoğunluk değerinin arttığı yoğunluk testinde gözlemlenmiştir. Yoğunluk değerindeki azalma porozitenin yani gözeneklilik oranında azalmasında etkili olmaktadır. Porozitenin azalması aynı şekilde su emme oranında etkiler ve bunun sonucunda sinterleme derecesi arttıkça porozite azaldığı için su emme oranı azalır. Porozitedeki artış genelde malzemenin mekanik dayanımını negatif etkiler ve az gözenekliliğe göre daha kırılğan bir yapı haline getirir.

Sinterleme sıcaklığının porozite üzerindeki etkisini, Şekil 5.5' deki SEM görüntüleri de desteklenmektedir.

Çizelge 5. 4 Sinterleme sıcaklığına göre disklerin porozite ve su emme değerleri.

Sinterleme Sıcaklığı (°C)	Porozite (%)	Su Emme (%)
1000 °C	27,47±0,48	12,39±0,22
1200 °C	9,8±0,22	3,72±0,04

5.3 MEKANİK DİYAMETRAL MUKAVEMETİ SONUÇLARI

Çizelge 5.5' de iskelelerin farklı sinterleme sıcaklıklarındaki mekanik test sonuçları görülmektedir. HA'nın diyametral mukavemeti 1-35 MPa arasında değişmekte ve diyametral mukavemet; çapa ve kalınlığa, deneydeki temas alanına veya numunenin porozitesine göre değişebilmektedir [40]. Mekanik mukavemet 1000 °C' de 4,48 MPa,

1200 °C’ de 7,59 MPa olarak hesaplanmıştır. Literatürde seramik malzemelerin mekanik davranışını malzemenin porozite oranının etkilediği bilinmektedir.

Yine yapılan araştırmalarla görülmüştür ki mekanik dayanım ve malzemenin sertliği sinterleme sıcaklığı ile ilişkilidir ve tablodan anlaşılacağı üzere artan sıcaklıkla beraber mukavemet de artmaktadır. Bu durum bize malzemenin poroziteden etkilendiğini göstermektedir [40]. Artan sinterleme sıcaklığındaki porozite oranındaki düşüş, iskelenin diyametral mukavemetini arttırmaktadır.

Çizelge 5. 5 Diyametral mukavemetin farklı sinterleme sıcaklığındaki değerleri.

Sıcaklık (°C)	σ_D (MPa)
1000 °C	4.48±0.5
1200°C	7.59±1.3

5.4 İLAÇ SALIMI TEST SONUÇLARI

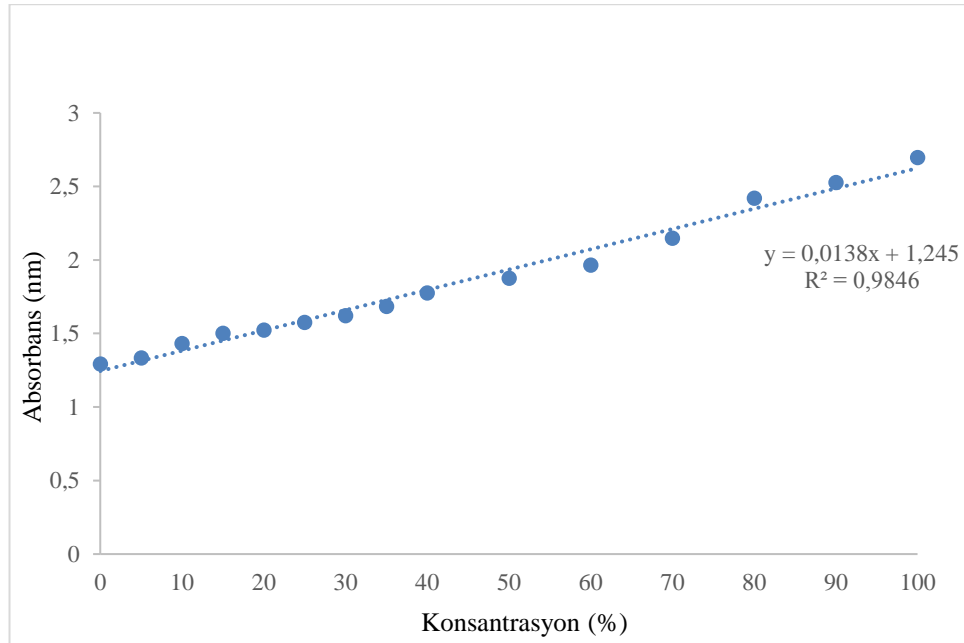
Stok çözelti olarak hazırlanan solüsyonun kalibrasyon eğrisi çizdirmek için 10 ml falkonlara sırasıyla 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ml stok solüsyon eklenmiş ve 10 ml’ye saf su ile tamamlanmıştır. Referans olarak saf su kullanılmış ve 290 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Konsantrasyon değerlerine göre alınan absorbanslar Çizelge 5.6’ da, değerlere göre çizdirilen kalibrasyon eğrisi Şekil 5.7’ de gösterilmiştir.

Grafikten anlaşılacağı gibi kalibrasyon eğrinin doğru denklemi, Denklem 5.2’ye göre hesaplanmıştır.

$$y= 0,0138x+ 1,245 (R^2= 0,9846) \quad (5.2)$$

Çizelge 5. 6 Stok solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon ve absorbans değerleri.

Konsantrasyon (mg/L)	Absorbans (290 nm)
0	1.305
0.5	1.334
1	1.431
1.5	1.5
2	1.523
2.5	1.574
3	1.62
3.5	1.684
4	1.776
5	1.876
6	1.965
7	2.147
8	2.419
9	2.526
10	2.696



Şekil 5. 7 Stok solüsyon ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi.

Deney sonuçları için referans olarak saf suda beklemiş disklerin absorbanans değerleri kullanılmıştır. 1000 °C ve 1200 °C’de hazırlanmış disklerin, ayrı ayrı saf suda bekletilen absorbanans değerleri, stok solüsyonda bekletilen absorbanans değerlerinden çıkarılmıştır.

$$y (Abs_{stok} - Abs_{saf,su}) = 0,0138x + 1,245 \quad (5.3)$$

Hazırlanan iskelelerinin ilaç yükleme işleminden sonra UV spektroskopi ölçümlerinden elde edilen absorbanans değerleri kullanılarak, Denklem 5.3’ de yerine koyulup konsantrasyonu belirlenmiştir ve sonuçlar Çizelge 5.7’ da gösterilmektedir. Çizelgeye göre 1000 °C’ de işlem görmüş iskelenin ilaç yükleme oranı 1200 °C’ ye göre daha yüksek oranda ölçülmüştür. Bu durum porozite ile ilişkilendirilir. Yani yüksek gözeneklilik durumunda olan 1000 °C grubunda yükleme daha yüksektir.

Çizelge 5. 7 İskelelerin ilaç yükleme miktarı.

Sinterleme Sıc. (°C)	Absorbans	Konsantrasyon (%)
1000	1.85± 0.069	43.84
1200	1.446± 0.061	14.56

İlaç yükleme işleminden sonra yüklenen ilacın ne kadar salım yaptığı Çizelge 5.8’ de gösterilmektedir. Yükleme yapılan diskler 24 saat boyunca saf su içerisinde salım yapmış ve salım olan sudan ölçüm alınmıştır. Ölçüm sonuçları ilaç yükleme ile paralellik göstermiştir. Porozitenin düşük olduğu 1200 °C’de salım daha düşüktür.

Çizelge 5. 8 İskelelerin ilaç salım değerleri.

Sinterleme Sıc. (°C)	Absorbans	Konsantrasyon (%)
1000	1.37± 0.041	9.06
1200	1.312± 0.023	4.86

BÖLÜM 6

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1 SONUÇLAR

Literatürde doğal doku kaynaklı HA sentezi için çeşitli dokular ve üretim yolları denenmiştir. Çalışmalar sonucunda üretilen malzemenin biyouyumluluğunun mekanik davranışından daha ön planda olduğu anlaşılmıştır. Çalışmamızda kullanılan ürünün vücut sağlığına herhangi bir zararının olmadığı bilinmektedir.

Yapılan tez çalışmasının temel amacı, kemik dokusunun gelişimsel veya sonradan kazanılmış hastalıklar nedeniyle bozulan formlarını düzeltmek, kemik yapısının fonksiyonunu yeniden kazandırmak ve en önemlisi hastalıkların tekrarlanmasını engellemek için kullanılabilir bir biyoseramik malzeme üretmektir. Tasarlanan projede kullanılacak olan hidroksiapatitin temel bileşeni kalsiyum fosfat bileşiğidir ve kemik doku yapısına benzerliğinden dolayı tercih edilmiştir. Kullanılacak hidroksiapatitin doğal dokudan sentezi yapılmıştır. Doğal HA kaynağına ulaşımın kolaylığı, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin üretim şeklindeki sinterleme ısısına göre değişiklik göstermesi gibi avantajlı özelliklerinin yanı sıra kemik ikame malzemesi olarak kullanılacak iskeleler oldukça ekonomik üretilmiştir.

Çalışma doğrultusunda sığır kemikleri yüksek ısıya maruz bırakılarak organik yapıları uzaklaştırılmış ve kemik tozu elde edilmiştir. İlk olarak sinterlenmemiş kemiğin TGA analizi yapılmıştır ve ardından üretilen kemik tozları 1000 °C ve 1200 °C'de sinterlenmiş ve karakterizasyon analizi için XRD ve FTIR analizi yapılmıştır. Organik yapılarından uzaklaştırılmış kemik tozları soğuk presleme metoduyla silindirik gözenekli iskele formuna getirilmiştir. İskeleler 1000 °C ve 1200 °C'de sinterlenerek içerisindeki HA fazı çıkartılmıştır. *In vitro* biyobozunma testi, yoğunluk ölçümü,

porozite ve su emme testi ve diyametral mekanik mukavemeti ile kemik dolgu malzemesi olarak kullanılma kabiliyeti ölçülmüştür. Son olarak ilaç salım testi yapılmıştır.

XRD grafiği incelendiğinde sinterlenmiş HA yapı iskelelerinin referans HA pikleri ile uyumlu oldukları görülmüştür. Aynı zamanda faz yapıları hakkında bilgi edinilmiştir. 800 °C üzerindeki sıcaklıklarda TCP'nin oluşacağı ve HA'nın kısmen bozunacağı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir [53]. Isıl işlem görmemiş kemik dokusunda gözlemlenen kalsiyum karbonat grubu, 1000 °C ve 1200 °C sinterleme işlemlerinden sonra kaybolmuştur. Büyük bir kısmı HA olan yapı iskelelerinin faz yapısına baktığımızda artan sinterleme sıcaklığı ile yapıda görülen TCP oranı artmıştır. Çift fazlı kompozitin yapısında β -TCP gibi biyoaktif bir fazın bulunması kemiğe tutunmayı hızlandırır. Çift fazlı HA/ β -TCP yapısı kemik ve diş boşluklarının doldurulması gibi uygulamalarda saf HA'ya göre daha fazla değerlendirilmektedir [53].

Grupların fonksiyonel bileşenlerini belirlemek için FTIR analizi yapılmıştır. Isıl işlem görmemiş kemik ile sinterlenmiş kemik tozları karşılaştırılmıştır. Farklı derecelerde sinterlenmiş kemik tozlarının FT-IR analizinden elde edilen pikler birbirine benzemektedir. Grafikte CO_3^{2-} , OH^- , PO_4^{3-} pikleri oldukça belirgin olduğu görülmüştür.

Gözenekli HA yapı iskeleleri biyobozunarak zamanla kemik dokusunun yerini almaktadır. Literatüre göre HA yapısının bozunma oranı senede %1-2 seviyesindedir [52]. Numunelerin, iki hafta içerisinde farklı periyotlarda yapılan biyobozunma testinde büyük bir değişim gözlemlenmemiştir.

Sıcaklık arttıkça taneler arasında bağlanmaya daha iyi imkan sağlandığı için numunelerde sinterleme sıcaklığı arttıkça hacimce küçülme gözlemlenmiştir. Bu durum yoğunluk ile doğrudan ilişkili olmakla birlikte bağıl yoğunluğu da etkilemektedir. Numuneler incelendiğinde sinterleme sıcaklığı arttıkça yoğunluklarında artış gözlemlenmiştir. Artan sinterleme süresi ve sıcaklıkla beraber sertlik değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir ve bu davranış bağıl yoğunluk artışıyla uyum

teşkil etmektedir [53]. Çalışmamızda da artan sıcaklık ile beraber bağıl yoğunluk belli oranda yükselmiştir.

Sinterleme sıcaklığı arttıkça malzeme içerisindeki yapıların birbirine bağlanmasının artışı gözeneklilik ile doğrudan ilişkilidir. Numunelere baktığımızda, sinterleme sıcaklığı arttıkça malzemede gözeneklilik yani porozite azalmaktadır. Sıcaklık artışıyla beraber porozitede azalma, yoğunlukta olan artış ile de açıklanabilir. Porozite de azalma su emme oranını da düşürmektedir. Dolayısıyla 1200 °C' de işlem görmüş iskelede su emme oranı 1000 °C' ye göre belirgin şekilde düşüktür.

İskelenin gözenekli yapısı doku ile mekanik bağlanmayı güçlendirmektedir. Gözenekler içerisinde dokunun büyümesi sayesinde HA yapı iskelesinin implant dayanımı artmaktadır. Ancak gözenek oranı ve boyutu yapı iskelesinin dayanımını düşürmektedir. Bu yüzden gözenekli HAp implantlar ağır yük taşıyamazlar. Sadece kemiklerde çeşitli nedenlerle oluşan eksilmelerin doldurulmasında kullanılabilirler [52, 34]. Numunelerin mekanik karakterizasyonu için yapılan diyametral mukavemet testi sonuçları, 1000 °C'de sinterlenmiş iskeleler için 4.48 MPa, 1200 °C'de sinterlenmiş iskeleler için 7.59 MPa olarak ölçülmüştür. Sinterleme sıcaklığındaki artış iskele üzerinde malzemenin gözenek oranını azalttığı için bu bağı olarak mekanik mukavemetinin artmasına neden olmuştur.

Kontrollü ilaç salımı için ideal sayılan adsorbanın en önemli özelliği vücut tarafından kabul edilebilirliğinin yüksek olmasıdır. Kalsiyum esaslı hidroksiapatitler, kemik dokusuna benzer bileşimleri ile biyomalzeme olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Gözenekli HA yapı iskelelerinin biyoyumlulukları, kemiksi geçirgenliği, toksik olmamaları gibi çeşitli özellikleri nedeniyle farmakolojik moleküllerin dağıtımında ilaç taşıyıcısı olarak incelenebilmektedir. Bu çalışmada üretilen yapı iskelelerinin ilaç yükleme ve ilaç salım değerleri incelendiğinde 1000 °C'de sinterlenmiş grubun absorbans ve salım değerleri 1200 °C'de işlem görmüş gruba göre daha yüksek çıkmıştır. Bu durum sinterleme sıcaklığının azalması ile azalma eğiliminde olan gözeneklilik oranı ile ilişkilendirilebilir.

Genel olarak sonuçlara göre üretilen HA'nın dokularla biyomineral benzerlik gösterdiği ve kemik doku mühendisliği uygulamalarında büyük fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Doğal malzemeler, oluşumları sırasında nano boyutta bileşimler teşkil ettiği için, kolaylıkla nano parçacıklar elde edilebilmektedir. Farklı biyolojik bileşenlere ve yapılarla sahip olduğu için sentetik üretim yöntemlerine nazaran daha farklı boyut ve şekillerde sentezlenebilmektedir. Küçük boyutlarda biyoseramik toz üretiminde uyguladığımız yöntem oldukça basit bir düzeneğe dayandığından, hızlı sonuç alınabilen, güvenli ve ekonomik bir yöntemdir. Yapılan teze göre, tasarlanan bir yapı iskelesinin biyomalzeme olarak kullanıma elverişliliği birçok test ile ölçülebilir. Karakterizasyon belirleme çalışmaları göz önüne alındığında sinterleme sıcaklığındaki farklılık, gözenekli yapı iskelelerinin fiziksel ve yapısal tüm işlevleri ile doğrudan ilişkilidir.

Bu çalışmanın literatürde yapılan çalışmalara göre farklılığı, doğal dokudan sentezlenmiş katkısız HA'nın farklı sinterleme sıcaklığının fiziksel özelliklerine etkisi ve yapı iskelelerinin ilaç salım sistemlerinde kullanılabilirliğinin ölçülmesidir.

6.2 ÖNERİLER

Çalışmada sadece sinterlenerek üretilen kemik tozları kullanılmıştır. Tozlara çeşitli ilaveler yapılarak, benzer testler yapıp davranışları ölçülebilir.

Üretilen tozların in vivo davranışlarını belirlemek adına hayvanlar üzerinde doku uyumu davranışı ölçülebilir.

Sinterleme sıcaklığına alternatif birkaç derece eklenebilir veya sinterleme süresi uzatılarak oluşturulan yapı iskelelerin davranışları ölçülüp karşılaştırılabilir.

Yapı iskelelerinin korozyon direnci veya aşınmaya maruz kaldığı durumlardaki davranışını belirlemek adına, iskeleler üzerine aşınma deneyleri yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Williams, D. F., “Tissue-biomaterial interactions”, *Journal of Materials Science*, 22 (10): 3421-3445 (1987).
2. Ratner, B., Hoffman, A.S., Schoen, F.J. and Lemon, E.J., “Biomaterials science, an introduction to materials in medicine”, *Elsevier Academic Press*, New York (2004).
3. Yelten, A., “Sol-jel yöntemi ile üretilmiş alümina-bovina hidroksiapatit (bha) kompozitlerinin özellikleri ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü*, İstanbul (2010).
4. Güven, Ş., “Biyoyumluluk ve biyomalzemelerin seçimi”, *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 2.3: 303-311 (2014).
5. Pasinli A., “Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler”, *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4.4: 25-34 (2004).
6. Yılmaz Y., Avcı B. and Demirören H., “Biyomalzeme sektöründe kullanılan Titanyum ve Alaşımları”, *ISAS Winter*, Samsun, 22-24 Kasım 2019.
7. Kel, D., “Doğal kaynaklardan (yerli deniz kestanesi, yumurta kabuğu, salyangoz kabuğu) nanoseramik üretimi ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2012).
8. Peppas, N.A. and Langer, R., “New challenges in biomaterial”, *Science*, 263.5154: 1715-1720 (1994).
9. Gür, A.K., “Şekil hafıza özelliğine sahip ni-ti alaşımının biyoyumluluğu”, Yüksek Lisans Semineri, *Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Elazığ (2003).
10. Niinomi, M., “Recent metallic materials for biomedical applications”, *Metalurgical and Materials Transactions*, 33.3: 477-486 (2002).
11. Sionkowska, A., “Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: review.” *Progress in Polymer Science*, 36: 1254-1276 (2011).
12. Bulut B., “Ticari inert cam katkılı hidroksiapatit-alümina ve hidroksiapatit-zirkonya kompozitlerin üretimi ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul (2014).

13. Güven Ş., Delikanlı K., “Metalik biyomalzemelerde son gelişmeler”, *Tasarım İmalat Analiz Kongresi*, Balıkesir, 26-28 Nisan 2006.
14. Bilgili, H., “Kedi ve köpeklerin ekleme yakın ekstremite kemikleri kırıklarında osteosentez amacıyla mini-titanyum plakların kullanımı”, *Türk Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26: 1289-1295 (2002).
15. Gür, A. K. and Taşkın, M., “Metalik biyomalzemeler ve biyoyum”, *Fırat Üniversitesi Doğu Araştırmaları Dergisi* 2.2: 106-113 (2004).
16. Niinomi, M., “Mechanical properties of biomedical titanium alloys”, *Materials Science And Engineering: A* 243 (1-2): 231-236 (1998).
17. Tang, H. P., Zhao, P., Xiang, C. S., Liu, N., and Jia, L., “Ti-6Al-4V orthopedic implants made by selective electron beam melting”, *In Titanium in medical and dental applications*, Woodhead Publishing 239-249 (2018).
18. Mutlu, B. and Kurt, M., “Kırık kemik tedavilerinde kullanılan fiksatorlerin mekanik özellikleri ve üç değişik malzemeden yapılmış halka tipi fiksatorlerin mekanik testleri”, *Mühendis ve Makina*, 46 (543): 29-38 (2005).
19. Glazer, B., “Restoration of endodontically treated teeth with carbon fibre posts-a prospective study”, *Journal of the Canadian Dental Association*, 66.11: 613-618 (2000).
20. Sabir, M. I., Xu, X. and Li, L., “A review on biodegradable polymeric materials for bone tissue engineering applications”, *Journal of Materials Science*, 44 (21): 5713-5724 (2009).
21. Niinomi, M., “Fatigue characteristics of metallic biomaterials”, *International Journal of Fatigue*, 29.6: 992-1000 (2007).
22. Ramakrishna, S., Meyer, J., Wintermantel, E. and Leong, K.W., “Biomedical applications of polymer-composite materials: A review”, *Composites Science and Technology*, 61 (9): 1189-1224 (2001).
23. Akça, H., İyibilgin, O., and Gepek, E., “Biyomalzemeler ile implant üretimi sürecinin biyotriboloji yönünden değerlendirilmesi”, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8: 667-692 (2020).
24. Suryavanshi, A., Khanna, K., Sindhu, K.R., Bellare, J. and Srivastava, R., “Development of bone screw using novel biodegradable composite orthopedic biomaterial: From material design to in vitro biomechanical and in vivo biocompatibility evaluation”, *Biomedical Materials*, 14.4: 045020 (2019).
25. Kırık, D., Karabulut, B., Öztürk, K. and Kalkanlı, Taş S., “Dental uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler”, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8.2: 145-153 (2019).

26. Güven Ş., “Ortopedik malzemelerin biyouyumlulukları ve mekanik özelliklerine göre seçimi”, *Tasarım İmalat Analiz Kongresi*, Balıkesir, 11-12 Kasım 2010.
27. Pérez, R.A., Won J.E., Knowles, J.C. and Kim, H.W., “Naturally and synthetic smart composite biomaterials for tissue regeneration”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65.4: 471-496 (2013).
28. Gümüşderelioğlu, M., “Tıbbın Geleceği Biyomalzemeler”, *Bilim ve Teknik*, 2-11 (2002).
29. Erdem H., “Hidroksiapatit sentezi, karakterizasyonu ve absorban özelliğinin incelenmesi”, Yüksek lisans tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2010).
30. Nakamura T., “Bioceramics in Orthopedic Surgery”, *Bioceramics*, 9: 31–34 (1996).
31. Demir, N., “Magnezyum florür katkılı sığır hidroksiapatit esaslı kompozit üretim ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2014).
32. Carter, C. Barry, and M. Grant Norton. “Ceramic materials: Science and Engineering”, Vol. 716. *New York: Springer*, 2007.
33. Evis Z., “Çeşitli iyonlar eklenmiş nano-hidroksiapatitler: üretim yöntemleri, iç yapı, mekanik ve biyouyumluluk özellikleri yönlerinden incelenmesi”, *International Journal of Engineering Research and Development* 3.1: 55-65 (2011).
34. Hench L.L., and Wilson J., “An Introduction to bioceramics”, *World Scientific Publishing Co.*, Singapur, Vol. 1: 65-73 (1993).
35. Liu, J., Ye, X., Wang, H., Zhu, M., Wang, B. and Yan, H., “The influence of pH and temperature on morphology of hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method”, *Ceramics International*, 29: 629-633 (2003).
36. Buluş, E., Mansuroğlu, D.S., Ismık D., Şahin, Y.M., Oktar, F.N., Gündüz, O., and Gökçe, H., “Bioceramic synthesis and characterization to be used in major tissue engineering applications”, 2018 Electric Electronics, *Computer Science, Biomedical Engineerings' Meeting (EBBT) IEEE*, (2018) 1-4.
37. Bahrololooma, ME, Javidı, M, and Javadpoura, S, Ma J., “Characterisation of natural hydroxyapatite extracted from bovine cortical bone ash”, *Journal of Ceramic Processing Research*, 10: 129-138 (2009).
38. İpekoğlu, M., Gören, Ş., İpek, M., Gümüşpala, S., and Altıntaş, S., “Hidroksiapatit üretiminde farklı yöntemlerin karşılaştırılması”, *Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı*, (2004).

39. Ooi, C. Y., Hamdi M. and Ramesh, S., “Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone”, *Ceramics international*, 33.7: 1171-1177 (2007).
40. Evis, Z., and Öztürk, F., “Investigation of tensile strength of hydroxyapatite with various porosities by diametral strength test”, *Materials Science and Technology*, 24: 474–478 (2008).
41. Fuh, L. J., Huang, Y. J., Chen, W. C. and Lin, D. J. “Preparation of micro-porous bioceramic containing silicon-substituted hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate”, *Materials Science and Engineering*, C 75: 798–806 (2017).
42. Hing, K.A., Best, S.M. and Bonfield, W., “Characterization of porous hydroxyapatite”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 10: 135–145 (1999).
43. Mazón, P., and De Aza, P.N., “Porous scaffold prepared from α 'L-Dicalcium silicate doped with phosphorus for bone grafts”, *Ceramics International*, 44: 537–545 (2018).
44. Adolfsson E., Mats N., and Leif H., “Decomposition mechanisms in aluminum oxide–apatite systems”, *Journal of the American Ceramic Society*, 82: 2909–2912 (1999).
45. Alshemary, A. Z., Pazarçeviren, A. E., Keskin, D., Tezcaner, A., Hussain, R., and Evis, Z., “Porous clinoptilolite- nano biphasic calcium phosphate scaffolds loaded with human dental pulp stem cells for load bearing orthopedic applications”, *Biomedical Materials*, 14. (5): 055010 (2019).
46. Rehman, I., and Bonfield, W., “Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 8. (1): 1-4 (1997).
47. Pazarçeviren, A. E., Erdemli Ö, Keskin D and Tezcaner A., “Clinoptilolite/PCL–PEG–PCL composite scaffolds for bone tissue engineering applications”, *Journal of Biomaterials Applications*, 31: 1148-1168 (2017).
48. Yedekçi B., “Kemik doku mühendisliği için Pcl-Peg-Pcl/Stronsiyum ve magnezyum iyonları ilave edilmiş bor katkılı hidroksiapatit ile 3 boyutlu gözenekli kompozit iskele üretimi”, Doktora Tezi, *Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri*, Ankara, (2021).
49. Davis, J. L., Salmon, J. H., and Papich, M. G., “Pharmacokinetics and tissue fluid distribution of cephalexin in the horse after oral and iv administration”, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28. (5): 425-431 (2005).
50. Monshi, A., Foroughi, M. R., and Monshi, M. R., “Modified Scherrer equation to estimate more accurately nano-crystallite size using XRD”. *World Journal of Nano Science and Engineering*, 2: 154-160 (2012).

51. Muralithran, G., and S. Ramesh., “The effects of sintering temperature on the properties of hydroxyapatite”, *Ceramics International*. 26.2: 221-230 (2000).
52. Suchanek, W., and Yoshimura, M. “Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants”, *Journal of Materials Research*, 13. (1): 94-117 (1998).
53. Avcı Ş., “Hidroksiapatitin özelliklerine sodyum fosfat esaslı ilavelerin etkisi”, Doktora Tezi, *Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya (2010).
54. Rogers, K. D., and Daniels P., “An X-ray diffraction study of the effects of heat treatment on bone mineral microstructure”, *Biomaterials* 23. (12): 2577-2585 (2002).
55. Bigi, A., Cojazzi G., Panzavolta S., Ripamonti, A., Roveri N., Romanello M. and Moro L., “Chemical and structural characterization of the mineral phase from cortical and trabecular bone”, *Journal of Inorganic Biochemistry* 68.1: 45-51 (1997).
56. Kusrini, E., and Sontang, M., “Characterization of x-ray diffraction and electron spin resonance: Effects of sintering time and temperature on bovine hydroxyapatite”, *Radiation Physics and Chemistry* 81.2: 118-125 (2012).
57. Gao, Y., Cao, W. L., Wang, X. Y., Gong, Y. D., Tian, J. M., Zhao, N. M., and Zhang, X. F., “Characterization and osteoblast-like cell compatibility of porous scaffolds: bovine hydroxyapatite and novel hydroxyapatite artificial bone”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17.9: 815-823 (2006).
58. Joschek, S., Nies, B., Krotz, R., and Goepferich, A., “Chemical and physicochemical characterization of porous hydroxyapatite ceramics made of natural bone”, *Biomaterials*, 21.16: 1645-1658 (2000).
59. Ramesh, S., Loo, Z. Z., Tan, C. Y., Chew W. K., Ching, Y. C., Tarlochan, F. and Sarhan, A. A., “Characterization of biogenic hydroxyapatite derived from animal bones for biomedical applications”, *Ceramics International* 44.9: 10525-10530 (2018).
60. Abdel-Fattah, W. I., Ghazy, T. M. and Selim, M. M. “The effect of thermal treatment on some characteristics of animal carbon”, *Thermochimica Acta* 51.2-3: 287-296 (1981).
61. Figueiredo, M. J. D. F. M. D., Fernando A., Martins G., Freitas J., Judas F. and Figueiredo H., “Effect of the calcination temperature on the composition and microstructure of hydroxyapatite derived from human and animal bone”, *Ceramics International*, 36.8: 2383-2393 (2010).
62. Niakan A., Ramesh S., Ganesan P., Tan C. Y., Purbolaksono J., Chandran H. and Teng W. D., “Sintering behaviour of natural porous hydroxyapatite derived from bovine bone”, *Ceramics International*, 41.2: 3024-3029 (2015).

63. Lin F.H., Liao C.J., Chen K.S. and Sun J.S., "Preparation of a biphasic porous bioceramic by heating bovine cancellous bone with $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ addition", *Biomaterials*, 20: 475-484 (1999).
64. Rojas-Mayorga, C. K., Bonilla-Petriciolet, A., Aguayo-Villarreal, I. A., Hernandez-Montoya, V., Moreno-Virgen, M. R., Tovar-Gómez R. and Montes-Morán M. A., "Optimization of pyrolysis conditions and adsorption properties of bone char for fluoride removal from water", *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 104: 10-18 (2013).
65. Figueiredo, M. M., Gamelas, J. A. F. and Martins, A. G., "Characterization of bone and bone-based graft materials using FTIR spectroscopy", *Infrared Spectroscopy-Life and Biomedical Sciences*, 315-338 (2012).
66. Jensen, S. S., Aaboe, M., Pinholt, E. M., Hjørtning-Hansen, E., Melsen, F. and Ruyter I., "Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes", *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 11.1: (1996).
67. Nayak, J. P. and Bera, J., "Effect of sintering temperature on mechanical behaviour and bioactivity of sol-gel synthesized bioglass-ceramics using rice husk ash as a silica source", *Applied Surface Science*, 257.2: 458-462 (2010).
68. Liu, H. S. and Chin, T. S., "Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method" *Ceramic International*, 23: 19-25, (1997).
69. Aizawa, M., Hanazawa, T., Itatani, K., Howell, F. S. and Kishioka, A., "Characterization of hydroxyapatite powders prepared by ultrasonic spray-pyrolysis technique.", *Journal of Materials Science*, 34: 2865 – 2873, (1999).
70. Santos, J.D., Knowles, J.C., Reis, R.L., Monteiro, F.J. and Hasting, G.W., "Microstructural Characterization of Glass-Reinforced Hydroxyapatite Composites", *Biomaterials*, 15 (1): (1994).
71. Akindoyo, J. O., Ghazali, S., Beg, M. D. and Jeyaratnam, N., "Characterization and elemental quantification of natural hydroxyapatite produced from cow bone." *Chemical Engineering & Technology* 42 (9): 1805-1815, (2019).
72. Greiner, M., Rodríguez-Navarro, A., Heinig, M. F., Mayer, K., Kocsis, B., Göhring, A. and Schmahl, W. W. "Bone incineration: An experimental study on mineral structure, colour and crystalline state", *Journal of Archaeological Science: Reports*, 25: 507-518 (2019).
73. Lee, D. S. and Pai, Y., Chang, S., "Physicochemical characterization of InterOss® and Bio-Oss® anorganic bovine bone grafting material for oral surgery—A comparative study", *Materials Chemistry and Physics*, 146 (1-2): 99-104 (2014).

ÖZGEÇMİŞ

Neslihan YERİÇER ilköğrenimini Ankara'da tamamladı. 2015 yılında Abdullah Mürşide Özünenek Anadolu Lisesi'nden mezun oldu ve aynı yıl Erciyes Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'nde lisans öğrenime başladı. 2019 yılında 2.94 ortalama ile lisans derecesinden mezun oldu. 2020 yılında Karabük Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'nde lisansüstü eğitim programına kaydolun.