



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



HİDROKSİAPATİT ESASLI DOKU
İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE
KARAKTERİZASYONU

Sümeyye GÜLEÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Ağustos-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Sümeyye GÜLEÇ tarafından hazırlanan “Hidroksiapatit Esaslı Doku İskelelerinin Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu” adlı tez çalışması 31/08/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ

Danışman

Doç. Dr. Gülsüm AYDIN

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 21201090 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Sümeyye GÜLEÇ

31.08.2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİDROKSİAPATİT ESASLI DOKU İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

Sümeyye GÜLEÇ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Doç. Dr. Gülsüm AYDIN
İkinci Danışman: Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ

2023, 51 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Gülsüm AYDIN
Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

Bu çalışmada kemiğin yapısında doğal olarak bulunan inorganik ana bileşen olan hidroksiapatit (HA) seramiği ile yüksek mekanik özellikleri, iyi kimyasal ve aşınma dayanımı ile ön plana çıkan alümina seramiği kullanılarak yüksek gözenekliliğe sahip, tabakalı kompozit biyoseramik doku iskelelerinin tasarım, üretim ve karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Hidroksiapatit tozu sıgır kemiklerinden 900°C'de 3 saat kalsinasyon yoluyla sentezlenmiştir. Kalsinasyon sonrası X-ışını kırınım (XRD) yöntemiyle faz analizi gerçekleştirilmiş ve yapıda sadece hidroksiapatit fazının bulunduğu tespit edilmiştir. Doku iskelesi üretiminde kullanılmak üzere hidroksiapatit, alümina ve kaolen içeren 5 farklı bileşimde ince tabaka şeklinde yapılar aljinat kullanılarak sol-jel yöntemiyle ve iki farklı kalınlıkta hazırlanmıştır. Sinterlemeyi kolaylaştırmak amacıyla tüm tabakalarda sabit oranda kaolen kullanılmıştır. Bu tabakaların yaş formda birleştirilmesiyle de toplamda 5 tabakadan oluşan iki farklı tabakalı kompozit biyoseramik doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Şekillendirme sonrası ince ve kalın formdaki yaş bünyeler 10°C/dakika ısıtma hızı uygulanarak 1150°, 1200° ve 1250°C'de bir saat sinterlenmiştir. Sinterleme çalışmaları sonrası kompozitlerin taramalı elektron mikroskopuyla (SEM) içyapı ve XRD yöntemiyle ise faz analizleri gerçekleştirilmiştir. En düşük oranda hidroksiapatit içeren bileşimde (HA-A5) korundum fazının yanı sıra 1150°C'de, en düşük oranda alümina içeren bileşimde (HA-A1) ise 1200°C'de whitlockite fazının oluştuğu tespit edilmiştir. Sinterleme sıcaklığı 1250°C'ye çıkarıldığında HA-A5 numunesinde whitlockite fazının yapıda bulunmadığı ve bu sıcaklıkta korundum fazının yanı sıra anortit ve kalsiyum alüminyum silikat fazlarının oluştuğu tespit edilmiştir. En düşük oranda alümina içeren HA-A1 numunesinde ise 1200° ve 1250°C'de korundum fazının yanı sıra whitlockite ve gehlenit fazının oluştuğu tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen SEM incelemelerinde ince tabakalardan oluşan numunede tabakaların birbiriyle iyi bir şekilde bağlandığı ancak kalınlık arttırıldığında tabakaların bağlanma yerlerinde çatlakların oluşumunun kolaylaştığı belirlenmiştir. Tabaka içlerinde ise nispeten homojen ve gözenekli bir mikroyapı elde edildiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alümina, doku iskelesi, hidroksiapatit, kaolen, tabakalı kompozit.

ABSTRACT

MS THESIS

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF HYDROXYAPATITE-BASED SCAFFOLDS

Sümeyye GÜLEÇ

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY**

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Gülsüm AYDIN

Co-advisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşe KALEMTAŞ

2023, 51 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Gülsüm AYDIN

Assoc. Prof. Dr. Ayşe KALEMTAŞ

Asst. Prof. Dr. Pembegül UYAR ARPACI

In this study, design, production and characterization studies of layered composite bioceramic scaffolds with high porosity were carried out by using hydroxyapatite (HA) ceramic, which is the main inorganic component naturally found in the structure of bone, and alumina ceramic, which stands out with its high mechanical properties, good chemical and abrasion resistance. Hydroxyapatite powder was synthesized from bovine bones by calcination at 900°C for 3 hours. After calcination, phase analysis was performed by X-ray diffraction (XRD) method and it was determined that only hydroxyapatite phase was present in the structure. Thin-layer structures with 5 different compositions containing hydroxyapatite, alumina, alginate and kaolin were used to produce tissue scaffolds in two different thicknesses via sol-gel method. In order to facilitate sintering, a constant ratio of kaolin was used in all layers. By combining these layers in wet form, two different layered composite bioceramic scaffolds consisting of 5 layers in total were produced. After shaping, wet bodies in thin and thick forms were sintered for one hour at 1150°C, 1200°C and 1250°C by applying a heating rate of 10°C/min. After the sintering studies, the internal structure of the composites were evaluated via scanning electron microscopy (SEM) and phase analyzes were carried out by XRD method. It was determined that the whitlockite phase was formed at 1150°C in the composition containing the lowest amount of hydroxyapatite (HA-A5), as well as the corundum phase, and at 1200°C in the composition containing the lowest amount of alumina (HA-A1). When the sintering temperature was increased to 1250°C, it was determined that there was no whitlockite phase in the HA-A5 sample, and anorthite and calcium aluminum silicate phases were formed in addition to the corundum phase at this temperature. In the HA-A1 sample containing the lowest amount of alumina, corundum phase as well as whitlockite and gehlenite phases were detected at 1200°C and 1250°C. In the SEM examinations, it was determined that the layers were well bonded with each other in the sample consisting of thin layers, but when the thickness was increased, the formation of cracks in the bonding places of the layers became easier. It was determined that a relatively homogeneous and porous microstructure was obtained within the layers.

Keywords: Alumina, hydroxyapatite, kaolin, layered composite, scaffold.

ÖNSÖZ

Tez çalışmamı tamamlarken, başta danışmanım olmak üzere, bana destek olan herkese içten teşekkürlerimi sunmak istiyorum.

Öncelikle değerli danışmanım Doç. Dr. Gülsüm AYDIN'ın bilgeliği, özverisi ve rehberliği olmadan bu tezi tamamlamak mümkün olamazdı. Sorgulayıcı zihnimin önündeki engelleri aşmamda ve doğru yolu bulmamda bana kılavuzluk ettiğiniz, sabırla yönlendirdiğiniz, cesaret verdiğiniz ve eleştirel düşünce yeteneğimi geliştirmeme katkı sağladığınız için size teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bu tez çalışmam boyunca veri toplamam ve analiz etmemde yardımcı olan ikinci danışmanım olan Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ'a da teşekkür etmek istiyorum. Onların zamanlarını ayırarak benimle paylaştıkları bilgiler, bu çalışmanın temel taşı oldu.

Aileme gelince, hayatımın her aşamasında olduğu gibi, tez çalışmam boyunca da bana sonsuz destek oldunuz. Sizin varlığınız ve sevginiz sayesinde zorlu zamanlarda bile cesaretimi koruyabildim. Beni ilgiyle dinleyip, yönlendiren annem, babam ve kardeşlerim sürekli teşvikleriniz ve dualarınızla her zaman yanımda olduğunuz için size minnettarım.

Çalışmamız için maddi destek sağlayan Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tezimi tamamlamamda maddi ve manevi desteği ile yanımda olan tüm arkadaşlarıma teşekkür ediyorum. Sizler, benim için güçlü birer motivasyon kaynağı oldunuz ve bu yolda yalnız olmadığımı hissettirdiniz.

Bu tez çalışması, benim için akademik hayatımın önemli bir kilometre taşı olmuştur. Umarım çalışmam, bu alana ilgi duyan ve ileride benzer çalışmalara katkı sağlayacak diğer araştırmacılara da ilham verir.

Sevgi ve minnetle,

Sümeyye GÜLEÇ
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER.....	xi
ÇİZELGELER	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Doku Mühendisliği	3
2.2. Biyoseramikler	4
2.2.1. Alümina	5
2.2.2. Zirkonya.....	7
2.2.3. Hidroksiapatit.....	8
2.2.4. Trikalsiyum Fosfat	10
2.2.5. Kalsiyum Silikat	11
2.2.6. Biyoaktif Camlar.....	11
2.3. Doku İskelesiTasarımı	12
2.3.1. Biyoaktif-Biyoinert Doku İskeleleri	13
2.3.2. Tabakalı Doku İskelesi Tasarımı	15
2.3.3. Fonksiyonel Aşamalı Doku İskelesi Tasarımı	16
2.4. Gözenekli Seramik Doku İskelesi Tasarımı	17
2.4.1. Gözenekli Kalsiyum Fosfat Doku İskeleleri.....	18
2.4.2. Gözenekli Hidroksiapatit Doku iskeleleri.....	19
2.4.3. Gözenekli Alümina Doku İskeleleri	20
2.4.4. Gözenekli Seramik Doku İskelesi Karakterizasyon Yöntemleri	20
2.4.4.1. Taramalı elektron mikroskobu.....	20
2.4.4.2. X-Işın Kırınımı Yöntemi	21
2.4.4.3. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi.....	21
2.4.5. Gözenekli Doku İskele Mimarisinin Biyolojik Cevaba Etkileri.....	22
2.5. Tabakalı Seramik Doku İskelesi Üretimi.....	24
2.5.1. Polimerik Sünger Yöntemiyle Tabakalı Doku İskelesi Üretimi	25
2.5.2. Nişasta Konsolidasyon Yöntemiyle Tabakalı Doku İskelesi Üretimi	26
2.5.3. Şerit Döküm Yöntemiyle Tabakalı Doku İskelesi Üretimi	27
2.5.4. 3D Yazıcıyla Tabakalı Doku İskelesi Üretimi.....	27
2.5.5. Sol-jel Yöntemiyle Tabakalı doku İskelesi Üretimi	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30

3.1. Materyaller.....	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Hidroksiapatit Seramik Tozu Üretimi.....	30
3.2.2. Tabakalı Doku İskelesi Üretimi.....	30
3.2.3. Karakterizasyon Çalışmaları.....	32
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	33
4.1. Hidroksiapatit XRD Analizi Sonuçları.....	33
4.2. Hidroksiapatit FTIR Analizi Sonuçları.....	35
4.3. İskelelerin Üretim Sonuçları.....	35
4.4. İskelelerin İçyapı Analizi Sonuçları.....	36
4.5. İskelelerin Faz Analizi Sonuçları.....	40
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	43
5.1 Sonuçlar.....	43
5.2 Öneriler.....	44
KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

mm: Milimetre

nm: Nanometre

ml: Mililitre

μm : Mikrometre

g: Gram

g/cm^3 : Gram/Santimetre küp

dk: Dakika

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece

$^{\circ}\text{C/ dk}$: Derece/Dakika

Å: Angström

λ : Lamda

M: Molar

rpm: Devir/Dakika

MPa: Mega Paskal

GPa: Giga Paskal

HV: Vickers sertliği

Kısaltmalar

ECM: Hücre dışı matris

3D: Üç boyutlu

HA: Hidroksiapatit

SiHA: Silikatlı hidroksiapatit

HCA: Hidroksikarbonat apatit

Ca: Kalsiyum

Si: Silisyum

Ca-P: Kalsiyum fosfat

β -TCP: Beta trikalsiyum fosfat

PLA: Polilaktik asit

PGA: Poliglikolik asit

PLGA: Polilaktit-ko-glikolik asit

FDA: ABD Gıda ve İlaç İdaresi

FGM: Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş malzeme

SEM: Taramalı elektron mikroskobu

XRD: X-ışını kırınımı

IR: Kızılötesi

FTIR: Fourier dönüştürülmüş kızılötesi spektroskopisi

PBS: Fosfat tamponu çözeltisi

Al_2O_3 : Alümina

ZrO_2 : Zirkonya

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$: Trikalsiyum fosfat

TiO_2 : Titanyum dioksit

P_2O_5 : Fosfor pentaoksit

Cr_2O_3 : Krom (III) oksit

Fe_2O_3 : Demir (III) oksit

$\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6\text{PO}_3\text{OH}$: Whitlockit

Al_2O_3 : Korundum

$\text{Ca}_2\text{Al}(\text{AlSiO}_7)$: Gehlenit

$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$: Anortit

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.Üç farklı boyutta gözenek oranına sahip seramik yapı iskeleleri.....	18
Şekil 2.2.Gözenekli mimarilerin sistematik modüler tasarımı için kuramsal çerçeve ...	23
Şekil 2.3. Makro gözenekli seramik üretimi için tipik işleme yöntemleri	25
Şekil 2.4. Nişasta konsolidasyon yöntemiyle şekillendirmeye ait şematik gösterim	26
Şekil 2.5. Sol-jel yöntemiyle doku iskelesi üretimi aşamaları	29
Şekil 3.1. Hidroksiapatit esaslı tabakalı kompozit doku iskelesi üretimi akım şeması ..	31
Şekil 4.1. Sığır kemiklerinin atmosfer koşullarında kalsinasyonu ile sentezlenen faza ait XRD analiz sonucu	33
Şekil 4.2. Sığır kemiklerinin atmosfer koşullarında kalsinasyonu ile sentezlenen faza ait FTIR spektrumu	35
Şekil 4.3. Farklı film tabakalarının fiziksel olarak birleştirilmesiyle oluşturulan numuneler	36
Şekil 4.4. Sinterleme işlemi sonrası numuneler	36
Şekil 4.5. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1250°C’de 1 saat sinterlenen, ince tabakalardan (13 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü	37
Şekil 4.6. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1250°C’de 1 saat sinterlenen, kalın tabakalardan (20 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü	38
Şekil 4.7. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1200°C’de 1 saat sinterlenen, ince tabakalardan (13 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü	38
Şekil 4.8. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1200°C’de 1 saat sinterlenen, kalın tabakalardan (20 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü	39
Şekil 4.9. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1150°C’de 1 saat sinterlenen, ince tabakalardan (13 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü	39
Şekil 4.10. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1150°C’de 1 saat sinterlenen, kalın tabakalardan (20 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü	40
Şekil 4.11. 1150°C’de 1 saat sinterlenen a) HA-A1 ve b) HA-A5 numuneleri XRD sonuçları.....	41
Şekil 4.12. 1200°C’de 1 saat sinterlenen a) HA-A1 ve b) HA-A5 numuneleri XRD sonuçları.....	41
Şekil 4.13. 1250°C’de 1 saat sinterlenen a) HA-A1 ve b) HA-A5 numuneleri XRD sonuçları.....	42

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Biyomalzeme geliştirilmesine katkı sağlayan bilim alanları.....	5
Çizelge 2.2. Saf alüminanın mekanik özellikleri.....	6
Çizelge 2.3. Zirkonyanın mekanik özellikleri	7
Çizelge 3.1. Tasarlanan beş katmanlı doku iskelesinin tabakalarının içerikleri.....	32



1. GİRİŞ

Doku mühendisliği, hasarlı insan dokusunun onarımı ve yenilenmesi için mevcut tedavi stratejilerine alternatif bir yaklaşım sunmaktadır. Doku mühendisliği, yaralanma veya hastalık nedeniyle kayıp veya hasarın meydana geldiği canlı dokuyu yenilemek için fonksiyonel ikame materyallerin geliştirilmesi için biyoloji ve mühendislik biliminin ilkelerinden yararlanmaktadır. Ayrıca, *in situ* doku rejenerasyonu ve onarımı için stratejilerin geliştirilmesi, klinik ve ekonomik avantajlar sunmaktadır.

Kemik biyomalzemeleri üç farklı kategoriye ayrılabilir: Birinci nesil biyomalzemeler; titanyum, zirkonya, alümina ve polietilen biyoinert malzemelerdir, yani amaç, konağın bağışıklık sistemine yabancı cisim tepkisini tetiklemeden eksikliği telafi etmektir. İkinci nesil biyomalzemeler, hidroksiapatit veya biyoaktif camlar, ara yüzeyde belirli bir biyolojik reaksiyonu kabul ederek malzeme ve doku arasında güçlü bir bağ oluşturarak kemik büyümesini uyarır. En yeni üçüncü nesil biyomalzemeler, dokunun yenilenmesini uyaran moleküler düzeyde belirli hücresel reaksiyonları teşvik etmeyi amaçlayan biyoaktif ve emilebilir malzemelerdir. Biyoaktif seramikler implante edildiğinde doğrudan canlı dokulara bağlandıklarından dolayı oldukça popülerdir. Biyoaktif malzemeler son yıllarda biyomateriyal olarak, özellikle de doku ikamesi için geniş çapta araştırılmaktadır. Seramik malzemeler, dişçilik, ortopedi ve doku mühendisliği uygulamalarında başarıyla kullanılmaktadır. İdeal kemik ikamelerinden beklenen temel özellikler, mekanik özelliklerin insan kemiğine yakın olması ve zamanla vücutta eriyerek yerini vücudun kendi biyolojik dokularına bırakmasıdır (Srinath ve ark., 2020).

Doku mühendisliği için ideal yapı iskelesinin karmaşık gereksinimleri ancak karmaşık özelliklere sahip bir malzeme ile tamamen karşılanabilmektedir. Her yeni biyomalzeme, belirli bir klinik ihtiyacı karşılamak için tasarlanmakta veya geliştirilmektedir (Shirtliff ve Hench, 2003).

Bu tez çalışmasında, kaolen, alümina ve hidroksiapatit malzemeleri kullanılarak doku iskelelerinin üretilmesi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Doku mühendisliği çalışmalarında tasarlanan doku iskelelerinin performansı, doku iskele bileşenlerinin özellikleri ile belirlenmektedir. Yeni doku oluşumu gerçekleşirken iskelenin mekanik özellikteki kararlılığı sürdürülebilirliktir. Hidroksiapatitlerin düşük mekanik özelliğinin oluşturduğu dezavantajın, tabakalı doku iskelesi üretim yöntemi ile desteklenerek önüne geçilmesi bu tez çalışmasının ana hedeflerinden bir tanesidir. En önemli avantaj ise

iskele üretiminde kullanılan hidroksiapatitlerin gözeneklilik ve biyouyumluluk derecesinin diğer biyomalzemelerden çok daha yüksek olmasıdır.

Çalışma kapsamında, yüksek gözenekliliğe sahip, hidroksiapatit-alümina tabakalı kompozit doku iskeleleri tasarım, üretim ve karakterizasyon uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan hidroksiapatit sıgır kemiklerinden sentezlenmiştir. Alümina kimyasal ve aşınma dayanımı yüksek fakat biyoaktif olmayan bir malzeme olmasına rağmen hidroksiapatit biyoaktif fakat mekanik dayanımı düşük olan biyoseramik bir malzemedir. Çalışmanın sonunda, hidroksiapatit ve alüminanın üstün özellikleri bir araya getirilerek sol-jel sistemiyle aljinat kullanılarak farklı kimyasal bileşimlerde ve gözenek içeriğinde, değişen kalınlıklarda filmler üretilip bu filmlerin birbirine bağlanmasıyla biyoaktif ve mekanik özellikleri geliştirilmiş doku iskeleleri üretilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği, hasar görmüş olan doku fonksiyonlarının iyileştirilmesi ve onarımı için biyomalzemelerin, hücrelerin fizikokimyasal ve biyokimyasal faktörlerin geliştirilmesini amaçlayan çok disiplinli bir alandır (Top ve ark., 2019). Genetik, tıp, malzeme mühendisliği ve makine mühendisliği gibi bilim dalları doku mühendisliğinde karşılaşılan sorunların çözümü için entegre olmaktadır (Can ve Ersoy, 2014). Bununla birlikte doku mühendisliği son zamanlarda, kusurlu dokuları rejenere etmek için oldukça önemli bir alternatif olmuştur (Kavçak, 2020).

Hücreler normal ortamlarında, 3 boyutlu olan ve hücre-dışı matris (ECM) adıyla bilinen bir destek materyaliyle sarılmıştır. ECM, her organ ve dokuda bulunan ve hücreler aracılığıyla kendi ihtiyaçlarına göre üretilen ve dizayn edilen, protein yapısında olan biyolojik bir materyaldir. ECM hücrelere destek sağlamasının yanı sıra hücre-hücre reaksiyonlarını organize etmekte ve hücrelerin çoğalması, yapışması, matris birikimi ve farklılaşması için birçok biyofiziksel ve biyokimyasal uyartılar yapmaktadır. Kemik ECM'si incelendiğinde, hidroksiapatitin nanometrik kollajen lifleri arasında nano ölçekli plaka morfolojisinde yer aldığı görülmüştür. ECM'yi oluşturan protein yapılarının büyük bir kısmının kollajen fiberlerden meydana geldiği ve bu fiberler sayesinde dokuların esnek bir yapı kazandığı ortaya çıkmıştır (Çakmak, 2015).

Doku, oldukça düzenli bir şekilde organize olan hücreler aracılığıyla gizlenmiş ve birden çok hücre çeşidinden oluşan ECM bileşenleriyle birlikte özgün bir fonksiyonu yerine getirmektedir. ECM esas ağırlığın yaklaşık %60-65 oranında organik bileşenden ve inorganik minerallerden oluşmaktadır. Belirli bir dokunun fonksiyonu, ECM yapısı ile alakalı olduğundan, doku mühendisleri *in vitro* ortamlarda biyobenzetim yoluyla bu karmaşık yapıyı elde edebilmek için çalışmaktadırlar. Canlı dokuların mühendisliğinde; kültüre alınmış hücreler, bozunabilir, biyoaktif iskelelerde yetiştirilmektedir. Bu iskeleler, birleşerek üç boyutlu bir yapının oluşumu ve hücrelerin farklılaşmasını sağlayacak fiziksel ve kimyasal hedeflerin üretimine imkân tanımaktadır (Can ve Ersoy, 2014). Sonuç olarak, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan iskeleler, adeta ECM'yi kopyalayacak biçimde tasarlanan ve doğal, sentetik, seramik veya metal polimerler ya da bunların birleşimi ile meydana getirilen materyallerdir (Çakmak, 2015).

Doku mühendisliği yoluyla doku desteği ve hücre taşıyıcısı olarak kullanılacak ürünlerin hazırlanmasında, biyomalzeme olarak da bilinen seramikler, polimerler ve kompozitler kullanılmaktadır. Biyomalzemeler ve bunların oluşum teknolojileri doku mühendisliğinde hayati bir öneme sahiptirler. Doku mühendisliği uygulamaları için kullanılan malzemeler hücre ile belli bağlı etkileşimlere olanak sağlamalı ve böylelikle hücre çoğalması, tutunması, farklılaşması, ECM üretimi ve hepsinin düzenlenmesine imkân tanınalıdır. Bununla birlikte doku üretimi sırasında destek işlevini de yerine getirmesi gerekmektedir. Bu malzemelerin, iltihaba sebebiyet vermemesi, hücre zehirlenme riskinin olmaması, bağışıklık sistemini kötü etkilememesi ve kanserojen olmaması beklenmektedir (Can ve Ersoy, 2014).

2.2. Biyoseramikler

Biyoseramikler, vücudun bir bölümünü veya işlevini ekonomik, güvenilir ve fizyolojik olarak kabul edilebilir bir şekilde onarabilmek için kullanılan biyomalzemelerdir. Biyoseramikler kristal ve amorf formlarda üretilebilirler ve kimyasal bileşimlerine göre genel olarak altı gruba ayrılırlar; alümina (Al_2O_3), zirkonya (ZrO_2), hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat ($Ca_3(PO_4)_2$), kalsiyum silikatlar ve biyoaktif camlar (Thamaraiselvi ve Rajeswari, 2004).

Hastalık veya yaralanmaların tedavisinde çeşitli cihaz ve malzemeler kullanılmaktadır. Biyoseramikler, canlı bir sistemin bir parçasını değiştirmek veya canlı doku ile yakın temas halinde işlev görmek için kullanılan sentetik materyallerdir. İşitme cihazları ve giyilebilir yapay uzuvlar gibi cilt ile basitçe temas halinde olan yapay malzemeler, cilt ile dış dünya arasında bir bariyer görevi gördüğü için biyomalzeme tanımına dahil edilmemişlerdir (Barsoum, 2019).

Biyomalzemelerin geliştirilebilmesi ve kullanılabilmesi için geniş bir bilgi alanına sahip olunması veya farklı uzmanlıklarla iş birliği yapılması gerekmektedir (Çizelge 2.1). Biyomalzemelerin kullanım alanları, hastalık veya travma nedeniyle işlevini yitirmiş bir vücut parçasının değiştirilmesini, iyileşmeye yardımcı olmayı, işlevi iyileştirmeyi ve anomalileri düzeltmeyi içermektedir. Biyomalzeme üretimi biyoteknoloji ve bilimin birçok alanındaki gelişmelerden önemli ölçüde etkilenmektedir. Örneğin, antibiyotiklerin ortaya çıkmasıyla, bulaşıcı hastalıklar eski zamanlara göre daha az tehdit oluşturmakta, bu nedenle dejeneratif hastalık daha büyük bir önem kazanmaktadır. Ayrıca cerrahi teknik ve aletlerdeki gelişmeler,

biyomalzemelerin daha önce mümkün olmayan şekillerde kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Kingery ve ark., 1976).

Çizelge 2.1. Biyomalzeme geliştirilmesine katkı sağlayan bilim alanları (Kingery ve ark., 1976).

Bilim dalı	Örnekler
Bilim ve mühendislik	Malzeme bilimleri: metaller, seramikler, polimerler, kompozitler, dokular vb. dahil olmak üzere sentetik ve biyolojik malzemelerin yapı-özellik ilişkisini inceleyen, kimya, mekanik, inşaat, elektrik vb. bilim alanları
Biyoloji ve fizyoloji	Hücre ve moleküler biyoloji, anatomi, insan ve hayvan fizyolojisi, histopatoloji, deneysel cerrahi, immünoloji vb.
Klinik bilimler	Tüm klinik uzmanlıklar: diş hekimliği, maksillofasiyal, beyin cerrahisi, doğum ve jinekoloji, oftalmoloji, ortopedi, kulak burun boğaz, plastik ve rekonstrüktif cerrahi, göğüs ve kardiyovasküler cerrahi, veteriner hekimliği ve cerrahi vb.

2.2.1. Alümina

Alümina, neredeyse tüm durumlarda geleneksel toz şekillendirme yöntemi ile oluşturulmuş bir oksit seramiktir. Özünde, toz halindeki seramikten kuru veya ıslak bir şekil oluşturulur, ıslak şekillendirildiyse şekil kurutulur, bir bağlayıcı ile oluşturulmuşsa bağ çözündürülür, ardından bir fırında katı hal sinterleme ile yoğunlaştırılarak üretim gerçekleştirilir. Özel durumlarda alümina geleneksel olmayan toz şekillendirme veya toz olmayan şekillendirme yöntemleri ile de üretilabilmektedir (Thamaraiselvi ve Rajeswari, 2004). 1950’lerden önce bulunan alümina üretim yöntemlerinin yanı sıra şimdilerde alüminaya uyarlanan şerit döküm ve ekstrüzyon yöntemleri, alümina endüstrisinin temelini oluşturacağı bilinmektedir. Etkileyici mekanik (Çizelge 2.2), elektriksel ve kimyasal inertlik özelliklerinin yanı sıra, alüminanın ticari olarak büyük başarısının ana nedeni, bu kadar üstün özelliklere sahip biyoaktif bir malzeme için oldukça ucuza üretilbilmesidir (Akça, 2016).

Küresel gelişmiş seramik endüstrisinde alüminanın üstünlüğünün üç temel nedeni şunlardır:

1. Alüminanın endüstriyel açıdan çok değerli bir dizi özelliği vardır.
2. Yüksek kaliteli alümina hammaddesi bol ve üretim maliyeti düşüktür.
3. Alümina, havada tam yoğunluğa kadar basınçsız sinterlenebilir, bu durum seramikler arasında nadir bulunan bir özelliktir (Ruys, 2019).

Çizelge 2.2. Saf alüminanın mekanik özellikleri (Akça, 2016).

Özellik	Değer
Yoğunluk (g/cm^3)	3,96
Elastik Modül (GPa)	375
Eğme Mukavemeti (MPa)	410
Çekme Mukavemeti (MPa)	220
Kırılma Tokluğu (MPa)	4-5

Alümina seramiklerin şekillendirilmesi bir dizi yöntemle yapılabilmektedir. Aşınma karosu, musluk contası veya zırh karosu gibi tipik bir düşük teknoloji alümina seramiği, bir miktar bilyeli öğütme veya aşındırma öğütme işleminden sonra kalıp presleme gibi yöntemlerden geçmektedir. Aşınma bileşenleri, biyomedikal bileşenler veya yüksek saflıkta elektrikli bileşenler gibi daha gelişmiş alümina seramikler, püskürtülerek kurutulmuş tozlardan oluşturulmaktadır. En yüksek kalitede alümina tozları, kimyasal olarak sentezlenmiş nanotozlardır, püskürtülüp kurutularak mikroküre yığınlarına dönüştürülmektedir. Özel mikroelektronik alümina bileşenleri, gelişmiş sol-jel yöntemleriyle nanotozlardan yapılabilmektedir (Thamaraiselvi ve Rajeswari, 2004).

Alümina endüstrisinde, alümina tozunun üst düzey seramiğe dönüştürülmesinde önemli bir rolü bulunmaktadır. Bununla birlikte, aşırı saflık, ultra ince kristal boyutu veya diğer özel gereksinimlerin söz konusu olduğu bazı durumlarda, alümina tozları kullanılabilir. Bu, özellikle kimyasal olarak sentezlenmiş yüksek saflıkta kolloidal alüminanın kontrollü jelleşmesini içeren gelişmiş bir şekillendirme yaklaşımı olan alümina seramiklerin sol-jel şekillendirmesi için gereklidir. Sol-jel şekillendirme, yalnızca alümina için değil, birçok gelişmiş seramik için yaygın olarak uygulanmaktadır (Ruys, 2019).

Alümina, hammaddesi fazla olduğundan ve üretim maliyeti düşük olduğundan birçok mühendislik dalında olduğu gibi doku mühendisliği alanında da sıkça kullanılmaktadır. Doku mühendisliği alanında alüminanın tercih edilmesinin temel

nedeni mekanik özelliklerinin üstün olmasına dayanmaktadır. Bir doku iskelesinde bulunması istenilen dayanıklılık ve sertlik gibi özellikleri karşılayabildiğinden ayrıca farklı biyoseramiklerle birlikte kullanıma uygun olduğundan doku iskelesi üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Thamaraiselvi ve Rajeswari, 2004).

2.2.2. Zirkonya

Zirkonya, zirkonyumun kristalimsi bir dioksitidir. Mekanik özellikleri metallerinkine oldukça yakındır ve rengi kırık beyazdır. 1976'da araştırmacılar, zirkonyanın iyi mekanik özelliklerini (Çizelge 2.3) verimli hale getirebilmek için bir model önermişler ve bu sebeple zirkonya “seramik çelik” olarak adlandırılmıştır. Zirkonya kristalleri, monoklinik, kübik ve tetragonal olmak üzere üç farklı biçimde organize edilebilmektedir. Zirkonya, bazı genlerin ekspresyonlarını regüle edebilir, böylece zirkonya, hücre dışı matrisin dönüşümünü değiştirebilen, kendi kendini düzenleyen bir malzeme olarak kabul edilmektedir (Manicone ve ark., 2007).

Çizelge 2.3. Zirkonyanın mekanik özellikleri (Akça, 2016).

Özellik	Değer
Basma Dayanımı (MPa)	1700-2000
Elastik Modül (GPa)	195-210
Poisson oranı	0.27
Yoğunluk (g/cm ³)	5.5-6.5
Sertlik (HV)	1100-1200

Doku mühendisliğinin ilgilendiği zirkonya esaslı seramiklerin temel özellikleri şunlardır;

- Yüksek mukavemet,
- Yüksek sertlik,
- Aşınma direnci,
- İyi sürtünme davranışı,
- Elektrik yalıtımı,
- Düşük ısı iletkenliği,
- Asitlerde ve alkalilerde korozyon direnci,
- Çeliğe benzer esneklik modülü ve demire benzer termal genleşme katsayısı (Birkby ve Stevens, 1996).

Bu özellikleri sayesinde zirkonya birçok mühendislik alanında da oldukça kullanılır bir biyoseramik olmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde zirkonya katkılı doku iskelelerinin dayanıklılık açısından diğer seramiklere nazaran daha çok tercih edildiği görülmektedir (Birkby ve Stevens, 1996).

Diğer tüm mühendislik seramiklerinde olduğu gibi, yukarıdaki özelliklerin elde edilmesi büyük ölçüde hem başlangıç tozlarına hem de üretim tekniklerine bağlıdır. Kuru presleme, izostatik presleme, enjeksiyon kalıplama, ekstrüzyon ve şerit döküm dahil olmak üzere tüm yaygın seramik konsolidasyon teknikleri zirkonya seramiklerine uygulanmıştır. Tüm süreç aşamalarında kusurların ortadan kaldırılması, yalnızca yüksek mukavemet için değil, aynı zamanda güvenilirlik için de çok önemlidir (Birkby ve Stevens, 1996).

Zirkonyum oksitin tıbbi olarak kullanımına ilişkin ilk çalışma 1969 yılında yapılmış ve ortopedik uygulama ile ilgili olmuştur. Kalça protezi için titanyum veya alümina protezler yerine yeni bir malzeme olarak ZrO_2 önerilmiştir. ZrO_2 'yi bir maymunun kalça kemiğine yerleştirdikten sonraki reaksiyonunu değerlendirmişler ve hiçbir ters tepkinin ortaya çıkmadığı bildirilmiştir. Ortopedik araştırma, zirkonyanın mekanik davranışına, aşınmasına, kemik ve kasla bütünleşmesine odaklanmıştır. 1990 yılından bu yana zirkonyaya karşı hücresel davranış hakkında bilgi elde etmek için *in vitro* çalışmalar yapılmakta bu çalışmalar sonucunda ZrO_2 'nin sitotoksik olmadığı doğrulanmaktadır (Lawson, 1995).

2.2.3. Hidroksiapatit

“Apatit” terimi, yapısal olarak ilişkili bileşiklerin (HA, florapatit, klorapatit vb.) geniş bir ailesini ifade eder. Hidroksiapatit seramiği klinik kullanım için 3 formda mevcuttur;

- Dökme malzeme olarak,
- Granüler olarak veya
- Metal yüzeyler üzerinde ince bir kaplama olarak (Raksujarit ve ark., 2010).

Dökme malzemeler gözenekli ve yoğun formlarda mevcuttur. Gözenekli malzeme, kemiğin içe doğru büyümesine izin verir, ancak yoğun malzemeye kıyasla uygulanan mekanik yüke karşı daha az dirençlidir. Diş sağlığı bozuk olan hastalarda büyütme prosedürleri için gözenekli HA blokları başarıyla kullanılmıştır. Dökme

malzemelerin çok kırılğan olması nedeniyle dezavantajlı özellikleri de mevcuttur. Tamamen sıkıştırma kuvvetlerine karşı yüksek dirence sahiptirler, ancak nispeten düşük eğilme ve kesme mukavemetine sahiptirler (Siniscalco ve ark., 2019).

Kimyasal bileşimi kemiğin mineral kısmına yakındır, bu da kemik dokusu ile biyomateriyal arasında implantasyondan sonra güçlü bir ara yüzeye yol açan etkileşimleri indükler. Hidroksiapatit seramikler osteokondüktiftir, yani yüzeylerinde kemik büyümesine izin verirler, ancak sınırlı biyoaktiviteye sahiptirler. Bu alanda, silikonun kemik dokusunun gücünü, oluşumunu ve kalsifikasyonunu etkilediği bilinmektedir ve bu, silikon içeren biyomalzemelerin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu biyomalzemeler arasında biyolojik özellikleri halen araştırılmakta olan silikatlı hidroksiapatit (SiHA , $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$) seramiklerine özel önem verilmiştir (Joschek ve ark., 2000).

Hidroksiapatit, kemik içerisinde doğal olarak bulunan kemik yapısına katkı sağlayan, biyoaktif, biyouyumlu, iltihaba ve aşınmaya karşı dirençli, seramik esaslı kalsiyum fosfattır. Hidroksiapatit, mekanik mukavemetinin sağlanmasında, kemiğin mineral ölçüsünün korunmasında aktif olarak görev alan, hekzagonal rombik kafes yapıda bir inorganik malzemedir (Çakmak, 2015). Hidroksiapatit katkılı seramik biyomalzemeler ile kemik gibi gözenekli yapılar elde edilebildiğinden dolayı doku mühendisliği alanında da doku iskelesi üretimi amacıyla kullanılmaktadır. Hidroksiapatit seramik katkılı iskele yapıları, vücuda implant edildiklerinde doku gelişimini ve kemiğin bütünleşmesini sağlayacak biyoaktiviteye sahiptirler. Mercan veya kemik gibi doğal malzemelerden üretilen hidroksiapatit seramikler, gözenek yapısı gibi hammaddelerin bazı iyi özelliklerini taşıma avantajına sahiptir (Tutkun, 2010). Ancak HA düşük mekanik özellikler, yavaş bozunma değeri, düşük kırılma tokluğu ve fazla kırılğanlık gibi özellikleri nedeniyle de dezavantajlıdır. Bu gibi sorunları önlemek amacıyla polimer esaslı kompozit yapımı, iyon ilavesi ve lifli bileşenlerin kullanımı üzerine çalışılmaktadır (Kavçak, 2020).

Gelişmiş işleme proseslerinin yanı sıra, HA'nın mekanik özelliklerini iyileştirmek için farklı formlarda güçlendirici maddeler olarak biyoinert polimer veya seramik malzemeler kullanılmıştır. Yığılma etkilerinin üstesinden gelmek/azaltmak için yüksek enerjili bilyeli öğütme gibi bazı yöntemler denenmektedir. Apatit kompozitlerin nanokristal tozları, seramik numuneler halinde sinterlenebilir (Dorozhkin, 2015). Sinterlenmiş hidroksiapatitin neredeyse suda çözünmez olduğu bildirilmiş olmasına rağmen, yine de belirli bir oranda biyolojik olarak parçalanabilmektedir. Elde edilen

hidroksiapatit seramiklerin özellikleri için en önemlileri sinterleme sıcaklığı, sinterleme süresi ve doyurma malzemesidir (Joschek ve ark., 2000).

2.2.4. Trikalsiyum Fosfat

Bazı kalsiyum fosfat (Ca-P) malzemelerinin kemik ikamesi, büyütme ve onarımı için kullanımı ortopedi ve diş hekimliğinin birçok alanında klinik olarak kabul görmektedir. Tıbbi uygulamalar arasında kulak implantları, omurga füzyonu, kemik kusurlarının onarımı ve ortopedik metal implantlar için kaplamalar yer almaktadır (RZ, 1993).

Bazı araştırmacılar, kısmen emilebilir, gözenekli bir kalsiyum alüminat geliştirmiştir. Kemik matriks içinde büyüdükçe, seramiğin bir kısmı emilerek kalsiyum oksit ve alüminyum oksitten oluşan iki faz bıraktığı görülmüştür. 1920’de yapılan bir çalışmada, tavşanlarda cerrahi olarak oluşturulan kemik boşluklarına bir “üçlü kalsiyum fosfat” çözeltisi enjekte edilmiş, kontrollerle karşılaştırıldığında daha hızlı kemik büyümesi olduğunu gözlemlenmiştir (Metsger ve ark., 1982).

Sentetik kemik malzemeleri, otogreftler ve allogreftler için belirtilen eksikliklerden arındırılmış olarak hazırlanabilmektedir. Kalsiyum fosfat seramikler, doğal kemiğe fizikokimyasal ve biyolojik benzerlikleri nedeniyle, otojen ve allojen kemik greftlerine alternatif olarak ortopedik cerrahide başarıyla kullanılmaktadır. Bu seramiklerin en dikkat çekici özelliği direkt olarak kemiğe bağlanabilmesidir. Sentetik trikalsiyum fosfat ve hidroksiapatit veya bunların kombinasyonlarından yapılan seramikler, osteokondüktif özelliklerinden dolayı genellikle olumlu sonuçlar veren kemik ikame maddeleri olarak test edilmiştir. Yabancı cisim reaksiyonlarının, lokal inflamatuvar yanıtın veya sistemik toksisitenin olmaması en önemli avantajlarından (Koerten ve Van der Meulen, 1999).

Gözenekli beta trikalsiyum fosfat (β -TCP) seramiği esas olarak biyolojik olarak emilebilir bir kalsiyum fosfattır. Doku biyouyumluluğu mükemmeldir ve kemik rejenerasyonu ve iç büyümesine izin veren bir yapı iskelesi görevi görebilir. Emilebilir özelliği nedeniyle gözenekli trikalsiyum fosfatlar, kemik büyümesini ilerleterek bozunması gereken kemik ikameleri için ideal bir malzeme olarak kabul edilir. Bu nedenle, sentetik bir kemiğin gözenekli yapısı, değiştirilen doğal kemiğin morfolojisine benzemelidir (Koç ve ark., 2004).

2.2.5. Kalsiyum Silikatlar

Biyomedikal uygulamalar için kalsiyum (Ca) ve silisyum (Si) ikili sistemi hakkında Ca-P ikili sistemine kıyasla çok az çalışma rapor edilirken, Ca-Si sisteminin bileşikleri inşaat, tarım ve diğer metalürjik uygulamalar için kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Kalsiyum silikat bazlı seramiklerin, insanlarda kemik dokusuna yakın iyi biyolojik ve uygun mekanik özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Kalsiyum silikat bazlı seramiklerde iki önemli konuya odaklanılmalıdır;

1. Performansı iyileştirmek için yeni üretim prosedürlerinin geliştirilmesi,
2. Osteoindüktiviteyi artırmak için terapötik yeteneklere sahip yeni biyomoleküllerin kullanılması (Srinath ve ark., 2020).

Kemik ikame malzemeleri olarak kalsiyum silikat bazlı seramiklerin önemini anlayabilmek için, önce kalsiyum ve silisyum iyonlarının kemik metabolizmasındaki fizyolojik rolünün tam olarak anlaşılması gerekmektedir. Kalsiyum, toplam vücut ağırlığının %2'sini oluşturarak insan vücudunda en fazla bulunan mineral olup %98'i iskelette depolanmaktadır. Kalsiyum, doğal kemiğin aktif bölgesinde bulunur ve kan damarlarında ve kemik büyümesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca hücre dışı kalsiyum, katyon algılayan reseptörlerin uyarılmasıyla hormonlardan bağımsız olarak kemik restorasyonunun düzenlenmesinde biyolojik bir rol oynar (Pravina ve ark., 2013).

Silisyum genellikle bağ dokusunda geniş ölçüde yayılan metasilikat formunda emilir. Silisyum, kemik kalsifikasyonu ile ilişkili metabolik süreç için gereklidir ve kemik yoğunluğunu arttırmak ve osteoporozu inhibe etmek için uygundur. Spesifik olarak, kemik matris kalsifikasyonunun ilk döneminde, yeni kemikteki Si içerikleri belirli bir derecede osteogenez geliştirebilir. Sulu Si'nin, kemiğin inorganik fazının, yani hidroksiapatitin çökmesini indükleyebildiği saptanmıştır. Bazı raporlar, Si'nin ayrıca osteoblastların proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyarabildiğini ve kemikle ilgili gen ekspresyonunun aktivasyonunu düzenleyebildiğini ortaya koymuştur (Zhou ve ark., 2017).

2.2.6. Biyoaktif Camlar

Cam seramikler normalde iki adımda üretilmektedir. Bunlardan ilki, standart bir cam üretim süreciyle bir cam oluşturulması işlemidir. İkincisi, cam materyal, cam geçiş sıcaklığının üzerinde şekillendirilerek soğutulur sonra yeniden ısıtılarak oluşturulur.

İkinci adım bazen üçüncü adım olarak tekrarlanabilmektedir. Bu ısı işlemlerde materyal kısmen iç kısımda kristalleşmektedir. Çoğu durumda, çekirdeklenme sürecini hızlandırmak için temel cam bileşimine bağlayıcı maddeler (örneğin soy metaller, florürler, ZrO_2 , TiO_2 , P_2O_5 , Cr_2O_3 veya Fe_2O_3) eklenebilmektedir (Holand ve Beall, 2019).

Sinterlenmiş seramiklerin aksine, cam seramikler doğal olarak gözeneksizdir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, kristalleşmenin sonraki aşamalarında kabarcıklar veya gözenekler gelişebilir. Cam seramiğin prensip olarak birçok avantajı vardır:

- Herhangi bir cam şekillendirme tekniği ile seri üretilebilirler.
- Belirli bir uygulama için mikro veya nano yapılarını tasarlamak mümkündür.
- Düşük gözenekliliğe sahiptirler.
- İstenilen çeşitli özellikleri bir arada bulundurmaları mümkündür (Zanotto, 2010).

Bir biyoaktif cam, hücre proliferasyonunu, gen yanıtını ve canlı dokular ile malzeme arasında bir bağ oluşumunu uyaran, malzemenin arayüzünde belirli bir biyolojik reaksiyonu ortaya çıkaran biyomateryaldir. Biyoaktif camların ortak bir özelliği, yüzeylerinin kemik ve dişlere ve hatta bazen yumuşak dokuya bağlanan biyolojik olarak aktif bir hidroksikarbonat apatit (HCA) tabakası geliştirmesidir (Zanotto, 2010). Biyoaktif camlar üzerinde oluşan HCA fazı, kemiğin mineral fazına kimyasal ve yapısal olarak eşdeğerdir. Biyoaktif camlar granüler dolgu maddeleri, yapay omurlar, doku iskeleleri, orta kulak implantları ve diğer küçük kemik onarımı alanlarında kullanılmıştır (Montazerian ve Zanotto, 2017).

2.3. Doku İskelesi Tasarımı

Bir yaralanma veya başka bir hasardan kaynaklanan organ ve doku kaybı veya yetmezliği önemli bir insan sağlığı sorunudur. Doku veya organ nakli, bu hastaları tedavi etmek için standart bir tedavidir, ancak bu, donör eksikliği nedeniyle ciddi şekilde sınırlıdır. Sentetik protezler ve tıbbi cihazlar, zarar görmüş veya kaybolmuş bir organ veya dokunun tüm fonksiyonlarını yerine getiremez. Bu sorunları ve sınırlamaları ele alma çabaları, yeni biyomalzemelerin ve alternatif tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır (Yoshikawa ve Myoui, 2005).

Doku mühendisliği, mevcut tedavilerin sınırlamaları olmadan bir doku veya organın kaybını veya arızasını tedavi etmek için umut verici bir alternatif yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Doku mühendisliği, küçük bir biyopsiden alınan hücrelerin izole edilmesini ve ardından yeni organ veya doku oluşturmak için hücrelerin geçici üç boyutlu yapı iskelelerinde kültüre alınmasını içermektedir (Chen ve ark., 2002). Şu anda, doku mühendisliği teknikleri genellikle hem *in vitro* hem de *in vivo* ilk hücre tutunması ve ardından doku oluşumu için üç boyutlu bir destek görevi gören gözenekli bir yapı iskelesinin kullanılmasını gerektirmektedir (Hutmacher, 2000).

Gözenekli üç boyutlu geçici iskeleler, hücre fonksiyonunun manipüle edilmesinde ve yeni organ oluşumunun yönlendirilmesinde önemli bir rol oynar. İzole edilmiş hücreler, üç boyutta da geçici iskeleye yapışır, çoğalır ve biyolojik olarak parçalanarak yapı iskelesinin yerini alarak kendi hücre dışı matrislerini salgılar. İdeal olarak, doku mühendisliği iskeleleri birkaç tasarım kriterini karşılamalıdır;

1. Yüzey, hücre yapışmasına izin vermeli, hücre büyümesini desteklemeli ve farklılaşmış hücre fonksiyonlarının korunmasına izin vermelidir.
2. Yapı iskeleleri biyouyumlu olmalıdır; ne polimer ne de bozunma yan ürünleri *in vivo* enflamasyonu veya toksisiteyi tetiklememelidir.
3. İskele biyolojik olarak parçalanabilir olmalı ve sonunda ortadan kalkmalıdır.
4. Gözenek sayısı, hücre dışı matris rejenerasyonu ve minimum difüzyonel kısıtlamalar için yeterli alan sağlayacak kadar yüksek olmalıdır ve gözenek yapısı, homojen doku oluşumunu kolaylaştırmak için yapı iskelesi boyunca eşit uzaysal hücre dağılımına izin vermelidir.
5. Malzeme tekrar üretilebilir şekilde üç boyutlu yapıya dönüştürülebilir ve mekanik olarak güçlü olmalıdır (Hutmacher, 2000).

2.3.1. Biyoaktif – Biyoinert Doku İskelesi

Doku iskelesi üretiminde kullanılan yeni nesil biyomalzemelerden, doku rejenerasyonunun *in vivo* mekanizmalarını aktive edebilmesi için biyoaktif ve biyolojik olarak emilebilir özellikleri birleştirebilmesi, vücudun kendini iyileştirmesini sağlaması ve yenilenen doku ile yer değiştirebilmesi beklenmektedir. Trikalsiyum fosfat ve hidroksiapatit gibi belirli biyoaktif seramikler sert doku ile güçlü bağlar oluşturmak için fizyolojik sıvılarla reaksiyona girmektedirler. Bununla birlikte, bu biyoaktif malzemeler

nispeten serttir, kırılıgandır ve karmaşıık şekillere dönüştürölmesi zordur (Ehashi ve ark., 2014).

Biyoaktif malzemeler osteokondüktif olarak kabul edilirler çünkü osteoblastların yapışmasını ve çoğalmasını desteklemek için uygun yüzeyler sağlarlar. Ayrıca çok hızlı biyoaktif tepki gösteren birkaç seramik aynı zamanda osteoindüktiftir çünkü kemik büyümesini kolaylaştırmanın yanı sıra kemik oluşumunu da yönlendirmektedirler. Osteoindüktif seramikler hem sert hem de yumuşak dokulara bağlanır, bu da periodontal kusurların tedavisi gibi klinik uygulamalar açısından önemlidir (Juhasz ve Best, 2012).

Sentetik kökenli ve biyolojik olarak parçalanabilen polimerler, doku mühendisliğı iskelelerinin geliştirilmesi için en yaygın olarak kabul edilen malzemelerdir. Özellikle polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA) ve bunların kopolimerleri polilaktit-ko-glikolik asit (PLGA) gibi poliesterler oldukça yaygındır. PGA, PLA ve bunların kopolimerleri, ABD Gıda ve İlaç İdaresinden (FDA) onay almış olan tek sentetik ve biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerdir. Ayrıca, partikül veya lif formundaki HA katkılı biyobozunur polimer kompozitlerin, kemik doku mühendisliğı yapı iskeleleri olarak kullanımı giderek daha fazla çalışılmaktadır (Chen ve ark., 2008).

Biyoinert seramikler, insan ve hayvan vücutlarındaki uygulamalar için kullanılan ve konakta minimum bir yanıt ortaya çıkaran seramikler olarak tanımlanmışlardır (Piconi, 2017). Alümina, eski seramik öncülerinin birçok sınırlamasının üstesinden gelmeyi sağlayan alümina tozu piyasada yüksek oranda bulunması sayesinde, o zamana kadar en gelişmiş seramik malzemeydi. Bu öncüler alüminanın biyolojik ortamdaki inertliğı nedeniyle seçilmesine olanak sağlamıştır. Bununla birlikte, biyoinert seramik kavramı, alümina ve zirkonyayı biyoaktif veya biyoreaktif malzemelerden ayırmak için hala kullanılmaktadır (Antoniac, 2016). Zirkonya, 1980'lerin ikinci yarısında bir biyomateryal olarak tanıtılmıştır. Şimdiye kadar, kalça artroplastisinde standart yük taşıyan kompozitlerde, alümina ve zirkonya sinerjik bir şekilde kullanılmaktadır. Bioinert seramik kompozitler, son yıllarda bir dizi yenilikçi tıbbi cihazın tasarlanmasına ve gelecekte başka cihazların tasarlanmasına olanak sağlayan mekanik aşınma davranışı sergilemektedir (Piconi ve Porporati, 2016).

2.3.2. Tabakalı Doku İskelesi Tasarımı

Kıkırdığın içsel onarım kapasitesinden yoksun olması nedeniyle ve kıkırdak-subkondral kemik arayüzündeki kusurları iyileştirmek için klinik tedavilerin sınırlamalarının hala mevcut olduğu düşünüldüğünde, doku mühendisliği bu tür osteokondral kusurların onarımı için umut verici bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Doğal osteokondral dokuların içsel özelliklerini taklit edebilen iyileştirilmiş fiziksel, biyokimyasal ve biyomekanik özelliklere sahip bu tür karmaşık yapı iskelelerini geliştirmek için uygun yapı iskelesi malzemeleri ve üretim teknikleri gerekmektedir (Liu ve ark., 2013).

Tabakalı yapı iskeleleri, iyi biyoyumlulukları ve yüksek biyomimetik özellikleri sayesinde, hücresel dağılım, çoğalma ve farklılaşma için yeterli bir ortam oluşturmak üzere geliştirebilirler. Bununla birlikte, tasarlanmış dokunun mekanik ve fonksiyonel özelliklerine rakip olacak, hasarın boyutuna ve şekline uyacak ve çeşitli taşıma stresi altında stabil kalacak şekilde onarım ve rejenerasyon için ideal doku mühendisliği iskelesi çalışmaları yapılmaktadır (Liu ve ark., 2013).

Kıkırdak ve kemik dokularını taklit etmek için iki farklı fazı bir araya getiren tek yapılar, yani bifazik yapı iskeleleri, iki fazın yapıştırıcı veya dikişler gibi yapay bir bağlantı olmadan birbirine kaynaştırılmasıyla üretilmektedir. Bu yaklaşım ile kıkırdak ve subkondral kemik arasında, implantasyondan sonra başarısızlığa yol açabilecek kayma gerilmelerinin görülmesinin engellenmesi beklenmektedir (Nooeaid ve ark., 2015).

Kıkırdak, arayüzey ve kemik fazlarının özelliklerini ve yapılarını andıran malzeme fazlarının ve yapıların birleşimi, osteokondral hasar rejenerasyonu için umut verici bir yaklaşım olmaktadır. Yaklaşımın başarısı için uygun iskele malzemelerinin doğru seçimi çok önemlidir. Sentetik polimerler ve doğal polimerler dahil olmak üzere biyolojik olarak parçalanabilen polimerler, biyoyumlulukları, parçalanabilirlikleri ve elastikiyetleri nedeniyle kıkırdak iskeleleri oluşturmak için yaygın olarak kullanılır. Başarılı bir osteokondral doku mühendisliği stratejisinin, iki veya daha fazla farklı malzemenin, iki fazlı veya çok katmanlı doku iskeleleri oluşturan bir kompozit yapı içinde uygun bileşimi içermesi gerekmektedir (Liu ve ark., 2013).

2.3.3. Fonksiyonel Aşamalı Doku İskelesi Tasarımı

Biyomalzemeler aynı anda çeşitli gereksinimleri karşılamalı ve toksik olmama, mekanik dayanım ve biyouyumluluk gibi belirli özelliklere sahip olmalıdır. Doğal dokular genellikle, birden fazla gereksinimi karşılamalarını sağlayan fonksiyonel olarak derecelendirilmiş malzemelere (FGM) sahiptir (Zhou ve ark., 2015). Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş malzemeler, kompozisyonlarının, fazlarının ve gözenekliliğinin istenen özellikleri elde etmek için sistematik olarak kontrol edilebildiği kompozit malzemelerin bir kategorisidir. Polimerik malzemelerdeki gradyan fikri, FGM'lerin doğuşundan önceki 1980'lere kadar görülebilmektedir. Son zamanlarda, fonksiyonel olarak derecelendirilmiş polimerik malzemenin (FGPM) farklı biyomedikal uygulamalar için kullanıldığını bildiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Katkı maddelerinin dağılımının kontrol edilmesi, FGPM'de olumlu özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlayabilmesi açısından önem taşımaktadır. Örneğin, yüklenen ilacın polimerik matris içindeki dağılımı ve ilacın salım hızı tam olarak kontrol edilebilmektedir (Almasi ve ark., 2016).

FGM'ler, sentetik biyomateriyallerin esas olarak oluşturması gereken yapıyı sağlar. İnsan dokuları, çoklu işlevsel gereksinimlerine en iyi şekilde uyum sağlayacak şekilde evrimleşmiştir. Örneğin, yoğun, sert bir dış yapıya ve gözenekli bir iç yapıya sahip doğal kemiğe benzer dokunun tasarımı, biyolojik adaptasyon için fonksiyonel derecelendirmenin kullanıldığını gösterir. Genel olarak FGM'ler, malzeme özelliklerinde hacim üzerinde kademeli bir değişiklik ile karakterize edilir. Gradyan, bileşimde ve/veya mikro yapılarda olabilir. Yeni nesil FGM'ler, çeşitli biyomateriyallerin tasarım konseptine ve kemik dokusu onarımı için umut verici bir yaklaşıma ışık tutmaktadır (Zhou ve ark., 2015).

Son zamanlarda, FGM'ler mühendislik alanlarında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Kademeli veya katmanlı gözenekli yapılar sergileyen malzemeler, fonksiyonel olarak derecelendirilmiş malzemelerin özel bir durumudur ve birçok uygulama için alternatif sunmaktadır. FGM'ler ayrıca biyomalzemeler alanında da büyük ilgi görmüştür. Kemik, dış kortikal kemiğin yüzeyinden iç süngerimsi kemiğe doğru fonksiyonel dereceli bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, mümkün olduğunca kemiğin biyomodal yapısını (kompakt ve süngerimsi) taklit eden bir gözeneklilik gradyanına sahip gözenekli implant malzemelerinin tasarımı en önemli güçlüklerdendir (Hsu ve ark., 2007).

Bazı araştırmacılar, kemik dokusu morfolojisini simüle etmek için bir gözeneklilik gradyanı ile gözenekli HA üretmişlerdir. Üretilen numunenin, iyi ve hızlı kemik iç büyümesine izin veren yüksek gözenekli bir yanını ve erken fizyolojik mekanik strese dayanabilen düşük gözenekli bir yanını da keşfetmişlerdir. Yeni oluşan kemik çok kısa sürede seramikle direkt temas halinde büyümüştür (Tampieri ve ark., 2001). Bunun üzerine, kemik implantları olarak kullanılan HA seramiklerin mekanik mukavemetini artırmak ve hücrel penetrasyonu artırmak amacıyla fonksiyonel olarak gözenek dereceli malzemeler geliştirilmeye başlanmıştır. Dış katmanlardaki makro gözeneklerin, hücreye, kan damarlarına erişim sağladığını ve yeni kemik oluşumunu artırırken, içteki yoğun seramik yapının, implantların mekanik stabilitesini geliştirdiğini saptamışlardır (Werner ve ark., 2002).

2.4. Gözenekli Seramik Doku İskelesi Tasarımı

Gözeneklilik, kemiğin iç büyümesine, vaskülarizasyona ve besinlerin difüzyonuna izin vermek için birbirine bağlı olmalıdır. Yapı iskelesi, doku yapıları *in vitro* ve/veya *in vivo* olarak büyürken hücrelerin çoğalması ve yavaşça bozunması ve yeniden emilmesi için gerekli desteği sağlamalıdır. Geleneksel gözenekli yapı iskelesi üretim yöntemlerinde gözenek boyutunu, geometrisini ve uzaysal dağılımı tam olarak kontrol etmek, yapı iskelesi içinde vaskülarizasyon için iç kanallar oluşturmak ve gelişigüzel ve karmaşık 3 boyutlu anatomik şekillere sahip yapı iskeleleri üretmek oldukça zordur (Munch ve ark., 2008).

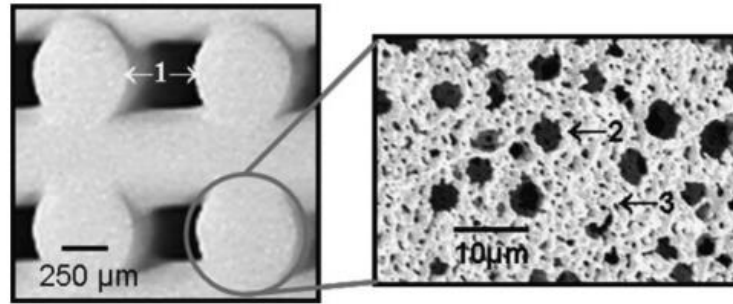
Gelişmiş gözenekli seramikler, toplumun karşı karşıya olduğu çeşitli çevresel, biyolojik ve ulaşım ile ilgili sorunları azaltmak için geniş bir uygulama yelpazesinde kullanılmaktadır. Seramik malzemeler, polimerler veya metaller gibi diğer malzemelere göre birçok farklı uygulama için gerekli olan avantajlar sunar, bunlar;

- Sertlik,
- Kimyasal inertlik,
- Termal şok direnci,
- Korozyon ve aşınma direnci,
- Düşük yoğunluk özellikleridir (Hammel ve ark., 2014).

Hastalık, yaralanma veya bozulma nedeniyle kusurlu olan kemiğin onarımını kolaylaştırmak için kemik dokusu mühendisliği uygulamalarında biyo-iskeleler kullanılabilir. İskeleler, kemik yapının onarım gerektiren bölgesine yerleştirilen geçici

destek malzemesi olarak kullanılır. Gözenekli iskele üzerine hücreler ekilebilir ve zamanla, iskelenin kendisi yeni kemik oluşumuna benzer bir oranda bozulurken, iskelede yeni doku büyür. Bu işlemin başarılı olabilmesi için iskelenin yapı ve özellikleri bakımından belirli gereksinimleri karşılaması gerekir (Hammel ve ark., 2014).

Yapı üç boyutlu olmalı ve besinleri ve oksijeni taşımak için bir yol sağlayarak ve dokuların ve kılcal damarların gelişmesine izin vererek hücre etkileşimini kolaylaştırmalıdır. Bunun olabilmesi için iskeledeki gözeneklerin tamamen birbiriyle bağlantılı olması ve yapının insan vücudunda yaygın olarak yaşanan yapısal yükleri de taşıyabilmesi gerekir. İskele, gerekli biyolojik ve mekanik yanıtı elde etmek için gerekli gözenek oluşumunu barındıracak biçimde özelleştirilebilir. Şekil 2.1, üç farklı boyutta gözenek oranı içerecek şekilde tasarlanmış bir yapı iskelesini göstermektedir. Bu boyutlar; (1) makro gözenekler, (2) mikro gözenekler ve (3) mikron altı gözeneklerdir (Hammel ve ark., 2014).



Şekil 2.1. Üç farklı boyutta gözenek oranına sahip seramik yapı iskeleleri (Hammel ve ark., 2014).

2.4.1. Gözenekli Kalsiyum Fosfat Doku İskeleleri

Otojen veya allojenik kemik nakil malzemelerinin kullanımı ve mevcudiyeti konusundaki endişeler, uygun sentetik kemik ikame maddelerini geliştirmeyi amaçlayan çalışmaları harekete geçirmiştir. Hem partikül hem de toplu formlar araştırılmıştır; öncelikle kemiğin iç büyümesine izin verecek şekilde tasarlanmış gözenekli yapılar olarak oluşturulmuştur. En sık çalışılan malzemeler arasında kalsiyum fosfatlar yer almaktadır. İdeal kemik ikame malzemesi, konakçı kemikle mümkün olduğu kadar hızlı entegrasyona izin vermek için osteokondüktif olmalı, sonunda yeni oluşan doğal kemikle yer değiştirebilmek için tercih edilen bir oranda biyolojik olarak parçalanabilir

ve en azından erken implantasyon sonrası dönemde gerekli yük taşıma işlevlerini yerine getirecek kadar güçlü olmalıdır (Pilliar ve ark., 2001).

Literatürde bu tür yoğunlaştırılmış kalsiyum fosfatların olası kullanımına ilişkin bazı raporlar bulunmaktadır. Kalsiyum polifosfata benzer bir bileşime sahip bir kalsiyum fosfat seramiğinin kullanımına ilişkin bildirilen ilk araştırma, mol olarak %55 CaO, mol olarak %45 P₂O₅ bileşimine sahip bir kalsiyum fosfatın ince kristalli çubuklarının sıçan femurlarına yerleştirilmesini içermektedir. İmplantlarla doğrudan temas halinde olgun kemik oluşumu, hiçbir olumsuz konak tepkisi olmadan 4 hafta boyunca gözlemlenmiş ve bu malzemenin beklenen biyouyumlu doğasını doğruladığı görülmüştür (Pilliar ve ark., 2001).

2.4.2. Gözenekli Hidroksiapatit Doku İskeleleri

Hidroksiapatit, kemiğin inorganik bileşeniyle yakından ilişkili bir osteokondüktif seramiktir ve kemik doku mühendisliği için de gözenekli inorganik yapı iskelelerinin imalatı için de önde gelen adaylardan biridir. Bununla birlikte, her iki teknoloji de farklı polimer ve seramik malzemeler kullanılarak yapı iskelelerinin imalatında kolayca yaygınlaştırılabilir (Saiz ve ark., 2007).

HA, diğer kemik ikamelerinin çoğuna göre konakçı doku ile büyük bir bağ oluşturma yeteneğine sahiptir. Kemik doku mühendisliğinin gereklerini yerine getirmek için gözenekli yapı iskelesini geliştirirken bazı kriterlerin sağlanması önemlidir. Bu kriterler şunlardır:

- Hücre büyümesini, yüzeye tutunmasını ve çoğalmasını sağlamalı, biyouyumlu olmalıdır,
- Malzeme, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon ile sonuçlanan güçlü kemik bağını indüklemelidir,
- Yeni doku oluşum hızı ve biyobozunurluk birbiriyle uyumlu olmalıdır,
- Yapı iskelelerinin mekanik mukavemeti, yeni dokunun yenilenmesinden önce yük taşıyan bölgelerde mekanik sabitlik sağlayacak kadar yeterli olmalıdır ve
- Hücre penetrasyonu, büyümekte olan doku ve vaskülarizasyon için 100 mm'den fazla gözenekli yapı ve gözenek boyutu oluşturmmalıdır (Tripathi ve Basu, 2012).

Yapılan bir çalışmada polimer çoğaltma yöntemi kullanılarak HA tabanlı gözenekli yapı iskelesinin geliştirilmesi denenmiştir. Hidroksiapatit gözenekli iskelelerin ve hidroksiapatit tozunun özellikleri, taramalı elektron mikroskobu, X-ışını

kırınımı, Fourier dönüştürülmüş kızılötesi spektroskopisi aracılığıyla değerlendirilmiştir. Biyouyumluluk özellikleri; hücre yapışması ve protein absorpsiyon çalışmaları yapılarak değerlendirilmiştir. Mevcut araştırmada, homojen gözenek dağılımına ve gözenek duvar kalınlığına sahip gözenekli iskele üretmenin mümkün olduğu sonucuna varılmıştır (Tripathi ve Basu, 2012).

2.4.3. Gözenekli Alümina Doku İskeleleri

Biyoseramik malzemeler son yıllarda bilim adamları, doktorlar ve mühendisler tarafından oldukça ilgi görmektedir. Genel olarak biyoseramik malzemeler, biyoinert (alümina, zirkonya vb.), biyolojik olarak emilebilir (trikalsiyum fosfat vb.) ve biyoaktif (HA, biyoaktif camlar vb.) olmak üzere üç geniş kategoride sınıflandırılmaktadır (Bose ve ark., 2002).

Yapılan bir çalışmada araştırmacılar, iskele malzemesi olarak alümina kullanmışlardır. 100-600 µm aralığındaki gözenek boyutlarına sahip implantların osteokondüktif olduğunu saptamışlardır. Gözenekli bir implant kullanmanın avantajları arasında, implant ile doku arasında cihazın doku içinde daha az hareket etmesiyle sonuçlanan artan arayüz alanı ve ayrıca bağ dokusuna kan temini sağlaması yer almaktadır. Araştırmacılar, gözenekli seramik yapı iskelelerini imal etmek için çeşitli işleme teknikleri kullanmıştır. Bu süreçlerin çoğu, çok çeşitli boyutlarda gözeneklere sahip yapıları oluşturmakta ve boyut, dağıtım ve bağlantı gibi gözenek mimarisini kontrol etmek için sınırlı esnekliğe sahiptir. Kopyalama tekniği, birbirine bağlı gözeneklere sahip mercanların gözenekli mikro yapılarını kopyalayarak inert, biyoaktif ve polimerik implantlar üretmek için kullanılmaktadır. Sonuç olarak araştırmacılar, gözenekli alümina seramikleri dolaylı erimiş biriktirme işlemi kullanılarak imal etmişlerdir. Gözeneklilik miktarı arttıkça gözenekli alümina seramiklerin mukavemetinin katlanarak azaldığını gözlemlemişlerdir (Bose ve ark., 2002).

2.4.4. Gözenekli Seramik Doku İskelesi Karakterizasyon Yöntemleri

2.4.4.1. Taramalı elektron mikroskobu

SEM, numunenin üzerinin 1 µm veya daha fazla kısmının yüzey topografyası, kristal yapı, kimyasal bileşim ve elektriksel davranışı hakkında bilgi verebilmektedir.

Gözenekli seramiklerde SEM analizi, gözenek boyutunu tahmin etmek, gözenek morfolojisini incelemek ve toz materyallerin topaklaşma durumunu gözlemlemek amacıyla yapılmaktadır (Mobasherpour ve ark., 2007). SEM'in avantajları arasında şunlar bulunmaktadır:

- SEM geniş bir alan derinliğinden yararlanır, bu nedenle yüzey pürüzlülüğü ne olursa olsun numune yüzeyinin çoğu aynı anda odaklıdır. Yüksek büyütmede çalışan optik mikroskoplar çok küçük bir alan derinliğine sahiptir, bu nedenle görüntü kalitesi yüzeyin pürüzsüz olmasına çok bağlıdır.
- 1 nm nihai çözünürlükle çok daha yüksek büyütme elde edilebilir. Bir optik mikroskopta maksimum yararlı büyütme 1000x civarındadır.
- Sadece yüzey topografyasından daha fazla bilgi edinme olasılığı, örneğin kristal yapı, kimyasal bileşim ve elektriksel özellikler. Farklı görüntüleme teknikleri arasında geçiş yapmak, bilgilerin güvenle çapraz ilişkili olmasını sağlar (Vernon-Parry, 2000).

2.4.4.2. X-Işın Kırınımı Yöntemi

X-ışını kırınım yöntemi, maddenin ince ölçekli yapısı hakkında çok çeşitli bilgiler sağlama yeteneğine sahiptir. Atomlardaki elektron dağılımı, kristal yapıdaki atomların dizilişi, atomlar arası mesafeler, bağ açıları ve termal titreşimlerin büyüklüğü, maddenin yapısı teorilerinde en çok ilgi gören konulardır (Warren, 1941). Gözenekli seramiklerde XRD analizi, seramik yapının hangi fazları içerdiğini ve mineral karakterizasyonu tespit etmek amacıyla yapılmaktadır (Ali ve ark., 2022). Büyük pratik önemi olan X-ışın kırınımının avantajlarına birkaç örnek aşağıda verilmiştir:

- Kristal malzemelerin tanımlanması,
- Tercih edilen yönelimin belirlenmesi,
- Parçacık boyutunun ölçülmesi,
- Gerinim çalışması ve
- Faz dışı denge diyagramlarının haritalanması (Warren, 1941).

2.4.4.3. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), tercih edilen kızılötesi (IR) spektroskopi yöntemi anlamına gelmektedir. IR spektroskopisinde, IR radyasyonu bir

numuneden geçirilir. IR radyasyonunun bir kısmı numune tarafından emilir ve bir kısmı içinden iletilir. Ortaya çıkan spektrum, numunenin moleküler bir parmak izini oluşturan moleküler absorpsiyon ve iletimi temsil eder. İki parmak izi asla eşleşmediği gibi, benzer şekilde iki benzersiz moleküler yapı da aynı IR spektrumunu üretmez. Bu, IR spektroskopisini çeşitli analiz türleri için kullanışlı hale getirir. IR spektroskopisi, 70 yılı aşkın bir süredir laboratuvarlarda malzeme analizi için kurtarıcı bir teknik olmuştur. Bir IR spektrumu, malzemeyi oluşturan atomların bağları arasındaki titreşimlerin frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon tepe noktaları ile bir numunenin parmak izini temsil eder (Vernon-Parry, 2000). Gözenekli seramiklerde FTIR analizi, seramik yapının yapısal gelişimini incelemek ve XRD analizi ile ayırt edilemeyen bazı fazları karakterize etmek amacıyla yapılmaktadır (Temiz, 2022). Ek olarak, spektrumdaki bir tepe noktasının boyutu, mevcut malzeme miktarının doğrudan bir göstergesidir.

FTIR spektroskopisi, çeşitli nedenlerle IR spektral analizinin dağılma veya filtre yöntemlerine göre tercih edilir:

- Tahribatsız bir tekniktir.
- Harici kalibrasyon gerektirmeyen hassas bir ölçüm yöntemi sağlar.
- Her saniye bir tarama toplayarak hızı artırabilir.
- Her saniye tarayabildiği için hassasiyeti artırabilir ve rastgele gürültüyü oranlamak için bunlar birbirine eklenebilir.
- Daha fazla optik verime sahiptir.
- Sadece bir hareketli parça ile mekanik olarak basittir (Vernon-Parry, 2000).

2.4.5. Gözenekli Doku İskele Mimarisinin Biyolojik Cevaba Etkileri

Seramik iskele mimarisi, kemik dokusu mühendisliği için optimize edilecek bir faktör olarak uzun süredir araştırılmaktadır. Mimarinin iskele performansını ve biyolojik tepkiyi etkilediği gösterilmiş olsa da, tek bir optimal iskele mimarisi mevcut değildir. Mekanik performans ve geçirgenlik gibi farklı fonksiyonel gereklilikler genellikle birbiriyle yarışan özellikler gerektirecektir. Ayrıca, doku mühendisliği yapılarına bir dizi görüntüleme tekniği uyarlanmış olsa da, iskele geometrilerinin tasarlanması ve karakterize edilmesi, imalat tekniklerinin sınırlamaları ve standartlaştırılmış karakterizasyon yöntemlerinin olmaması nedeniyle sistematik olarak zor olmaya devam etmektedir. Bu sınırlamalara rağmen araştırmacılar, mimarinin farklı

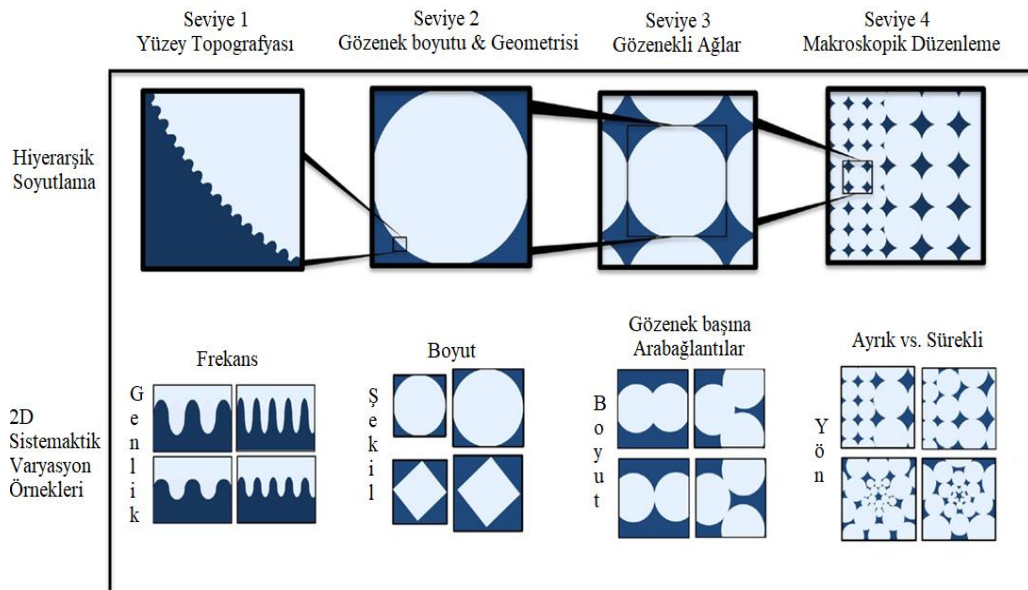
uzunluk ölçeklerindeki etkilerinin biyolojik yanıt üzerindeki kontrollü bir çalışmasının, hastanın gereksinimlerine ve belirli kusur bölgesine dayalı olarak iskele mimarisini optimize etmek için entegre bir model geliştirmeye imkan sağlayacağına inanmaktadırlar (Bohner e ark., 2011).

İskele mimarisinin biyolojik tepki üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar, geleneksel imalat tekniklerinin parametreleri bağımsız olarak değiştirememesi ve üretilen yapıların tutarlılığı ile ilgili sorunlar nedeniyle sınırlandırılmıştır. Katı serbest form imalatındaki son gelişmeler, hassas geometrilerin üretilmesine, mimari üzerindeki kontrolün artmasına ve daha önce erişilemeyen geometrilerin keşfedilmesine olanak sağlamıştır (Bohner ve ark., 2011).

İskele mimarisinin *in vitro* hücre agregasyonundan kaynaklanan tutarsızlıklar, bu alanda bir sorun olmuştur. Buna rağmen, diğer endüstriyel uygulamalar için eklemeli imalat teknolojilerinde hızlı gelişmeler meydana gelmekte, seramik ve diğer biyomalzemelerin bu sınırlamayı büyük ölçüde azaltması beklenmektedir (Gariboldi ve Best, 2015).

Gözenekli mimarinin biyolojik cevaba etkilerinin sistematik tasarımı ve değerlendirilmesi için mimarinin dört düzeyi dikkate alınır (Şekil 2.2);

1. Yüzey topografyası,
2. Gözenek boyutu ve geometrisi,
3. Gözenekli ağlar ve
4. Potansiyel makroskopik gözenek düzenlemesi (Gariboldi ve Best, 2015).



Şekil 2.2. Gözenekli mimarilerin modüler tasarımı için kuramsal çerçeve (Gariboldi ve Best, 2015).

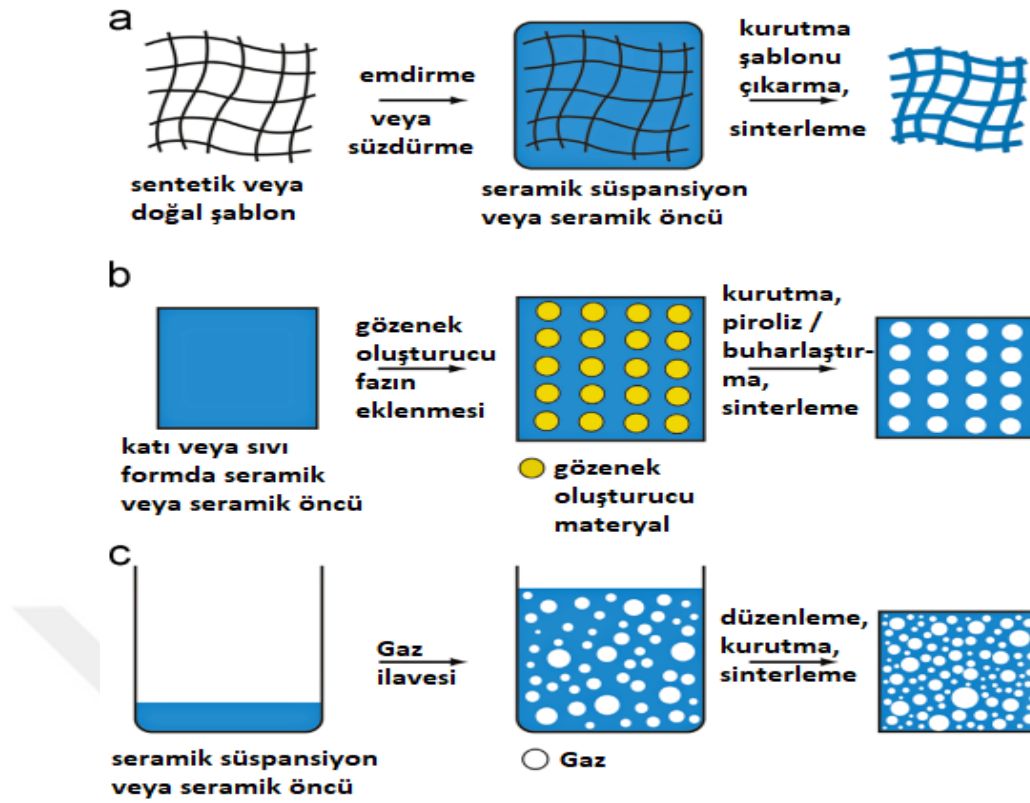
Doku rejenerasyonları için etkili olan biyomalzeme yapı iskelelerinin temel özellikleri belirsizdir, ancak çok sayıda araştırmacı çeşitli materyallere karşı *in vitro* ve *in vivo* biyolojik reaksiyonları araştırmaktadır. Hücre tepkileri yapı iskelesinin yapısından, fiziksel özelliklerinden ve kimyasal özelliklerinden etkilenmektedir. Tüm kimyasal biyoyumlu malzemelerin doku rejenerasyonu için yeterli olmadığı bilinmektedir (Gariboldi ve Best, 2015).

2.5. Tabakalı Seramik Doku İskelesi Üretimi

Doku mühendisliği stratejisinin ana ilkesi, osteoindüktif moleküller veya osteojenik hücrelerle kombinasyon halinde osteokondüktif gözenekli bir yapı iskelesi oluşturmaktır. Doku rejenerasyonunda bir iskele için gereksinimler şunlardır:

- Biyoyumluluk,
- Osteokondüktivite,
- Birbirine bağlı gözenekli yapı,
- Uygun mekanik dayanıklılık ve
- Biyolojik olarak parçalanabilirlik (Yoshikawa ve Myoui, 2005).

Gözenekler, pek çok işleme tekniğiyle seramiğin yapısına dahil edilebilir. Bir teknik, tam yoğunlaştırmayı engellemek için kaba tozları basitçe sinterlemek veya yeşil bir seramiği kısmen sinterlemektir. Gözenekli seramiklerin imalatı üç temel işleme tekniğine ayrılabilir. Aşağıda bulunan Şekil 2.3'te kopyalama, gözenek oluşturu materyal ilavesi ve doğrudan köpürtme yöntemleri verilmiştir. Kopyalama tekniği, seramik bir süspansiyonla sızan sentetik veya doğal bir şablon kullanır. Kuruduktan sonra şablon çıkarılır ve böylece orijinal şablon yapısının bir kopyası oluşturulur. Gözenek oluşturu ilave yöntemi, seramik tozu veya bulamacı içinde bir yer tutucu görevi görececek bir tür gözenek oluşturu malzeme içerir. Gövde oluşturulduktan sonra, gözenek oluşturu kaldırılarak geride boş gözenekler bırakılır. Belirli bir yöntem olan dondurarak döküm, seramik bir gövdede gözenekler oluşturmak için seramik bulamaçta büyüyen buz kristallerini kullanır. Doğrudan köpürtme, gaz kabarcıklarının bir seramik süspansiyona dahil edildiği bir işlemdir ve bulamaç sertleşip kuruduktan sonra seramik, ortaya çıkan küresel gözenekleri tutar (Hammel ve ark., 2014).



Şekil 2.3. Makro gözenekli seramik üretimi için tipik işleme yöntemleri: (a) kopyalama tekniği; (b) gözenek oluşturunca ilavesi ve (c) doğrudan köpürtme tekniği (Hammel ve ark., 2014).

Tabakalı seramik doku iskelesi üretebilmek için birçok metot kullanılmaktadır. Bazı yöntemler aşağıda açıklanmıştır.

2.5.1. Polimerik Sünger Yöntemiyle Tabakalı Doku İskelesi Üretimi

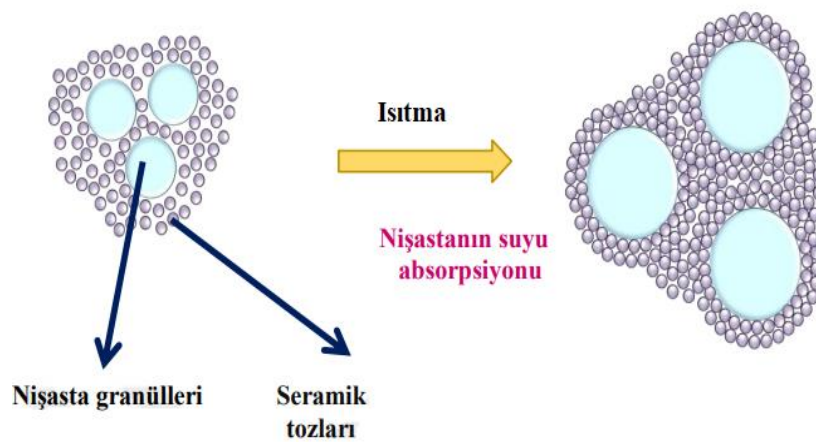
Gözenekli seramiklerin üretilmesi için en yaygın yöntem, gözenekli bir polimer substratın kopyalanmasıdır. Ağsı polimer substratlardan elde edilen gözenekli seramikler, farklı uygulamalar için kontrol edilebilir gözenek boyutu ve karmaşık seramik şekiller gibi bir dizi farklı özelliğe sahiptir. Polimerik sünger yöntemi, gözenekli selülozik substratların seramik bulamacıyla emprenye edilmesiyle gerçekleştirilir. Polimerik sünger yöntemiyle üretilen gözenekli yapının kontrol edilebilir bir gözenek boyutuna ve birbirine bağlı gözeneklere sahip olduğu, ancak yük taşıma uygulamaları için zayıf mekanik mukavemete sahip olduğu gösterilmiştir. Araştırmalar, osteokondüksiyonun gerektirdiği şekilde, polimerik sünger yönteminin uygun bir gözenek boyut dağılımı ile sonuçlandığını göstermektedir. Bu, yeterli

derecede ara bağlantıya sahip mikro/mezo/makro gözeneklerin varlığı ile karakterize edilmektedir (Sopyan ve Kaur, 2009).

2.5.2. Nişasta Konsolidasyon Yöntemiyle Tabakalı Doku İskelesi Üretimi

Gözenekli seramik materyaller çeşitli uygulama alanlarında kullanım potansiyeli bulunan önemli bir biyomalzeme grubunu oluşturmaktadır. Bu seramiklerin, malzeme özelliklerinin kontrol edilmesine olanak sağlayacak, seri üretime uyumlu ve ekonomik bir biçimde üretilebilmesi için çeşitli üretim metotlarına ihtiyaç duyulmuştur. Nişastanın gözenekli yapısal, elektronik ve biyoaktif seramikler gibi çeşitli uygulama alanlarında kullanılan seramiklerin üretilebilmesi için gözenek oluşturunca olarak kullanımı üzerine araştırmalar yapılmış daha sonra bu materyalin kullanımıyla nişastayla konsolidasyon yöntemi geliştirilmiştir (Kavçak, 2020).

Nişasta konsolidasyon yöntemi; gözenekli seramikler için kesin olarak gerçekleştirilebilen bir şekillendirme tekniği olarak ilgi çekmektedir. Yöntem, gözenekli olmayan (kompozit, polimer ya da metal) bir kalıba nişasta içeren yüksek oranda katı konsantrasyonuna sahip bir seramik süspansiyonun döküm işleminin yapılmasının ardından belli bir sıcaklıkta jelleştirildikten sonra kurutulması aşamalarına dayanmaktadır. Bu yöntem nişasta partiküllerinin içerisine yüksek oranda su alarak şişme yeteneğiyle yüksek sıcaklıklarda jelleşmesi prensibine dayanmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Nişasta konsolidasyon yöntemiyle şekillendirmeye ait şematik gösterim (Kavçak, 2020).

Nişasta granülleri suyla temasa ettiğinde ve gerekli sıcaklık koşullarına ulaştığında şişerek yapıda oldukça fazla yer kaplayabilmektedir. Nişastanın suyla şişmesinin ardından çamur içerisindeki su oranı hızla azalmakta ve seramik tanecikler

birbirine daha fazla yaklaşımaktadır. Bu mekanizmayla katı bir seramik yapı oluşumu sağlanmaktadır. Nişastanın cinsine bağlı olarak su çekme kabiliyeti de önemli ölçüde değişiklik göstermektedir. Uygulanacak olan ısıtma işlem sonrasında nişastanın bünyeden uzaklaştırılması ve seramik matrisin sinterlenmesinin ardından nişasta granüllerinin mevcut miktarına, boyutuna ve şekline uygun gözenekli biyoseramik malzeme elde edilmektedir. Böylece kontrollü gözenek dağılımına ve boyutuna sahip materyallerin üretimi kolay bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir (Kavçak, 2020).

2.5.3. Şerit Döküm Yöntemiyle Tabakalı Doku İskelesi Üretimi

Şerit döküm, 3 boyutlu gözenekli doku iskelelerinin 2 mm kalınlığa kadar hazırlanmasını sağlamaktadır. Bu teknik kullanılarak yüksek oranda gözenekli ve ortalama gözenek çapı 500 μm 'ye ulaşan gözenekli iskeleler üretilebilmektedir. Bu yöntemde; organik bir çözücüde çözünen polimer, inorganik tuz, şeker, parafin küreler gibi porojen parçacıklarla karıştırılır ve kalıba dökülür. Polimer-porojen miktarı, oluşan yapının gözeneklilik derecesiyle doğrudan bağlantılı olurken, kullanılan porojen granüllerin boyutu iskelenin gözenek büyüklüklerini etkilemektedir. Daha sonra çözücünün buharlaşması sağlanır ve porojen granüller temel işlem basamaklarını takiben yıkama ile uzaklaştırılmaktadır. Bu üretim metodunun en önemli avantajı, herhangi özel bir ekipmana gerek kalmadan üretimin kolay yoldan yapılabilmesidir. Fakat organik çözücülerin, doku iskelesi üzerine ekimi yapılan hücrelere olası bir hasarı önleyebilmek amacıyla tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir. Tekniğin dezavantajları ise, sadece düz levha veya şerit şeklinde yapıların oluşturulması, porojen parçacıkların iskeleden uzaklaştırılmasının oldukça zor olması nedeniyle hazırlık aşamasının zaman alıcı olması, polimer içinde toksik materyalin kalma olasılığı, polimere tutunan diğer proteinlerin ve moleküllerin çözücüler tarafından bozunma ihtimalinin olmasıdır (Can ve Ersoy, 2014).

2.5.4. 3D Yazıcıyla Tabakalı Doku İskelesi Üretimi

Yeni nesil hızlı prototipleme tekniklerinde, polimerler, metaller ve seramikler dahil olmak üzere çeşitli malzemelerin kullanılması karmaşık yapıların imalatında dikkat çekmektedir. Tabakalı üretim teknikleri açısından çeşitli varyasyonlar mevcut olsa da, temel prensip aynıdır. Üç boyutlu bir nesne, bir bilgisayar destekli tasarım

programında modellenir, model dilimlenir ve belirli bir tabakalı üretim makinesi tarafından bir katmanı bir öncekinin üzerine istifleyerek katman katman oluşturulur. Bu şekilde, gözenekli yapılar da dahil olmak üzere hemen hemen her geometride bir 3 boyutlu nesne oluşturulabilir (Hammel ve ark., 2014).

2.5.5. Sol-jel Yöntemiyle Tabakalı Doku İskelesi Üretimi

İnorganik seramik ve cam malzemelerin sol-jel ile işlenmesine olan ilgi 1900'lerin ortalarında Ebelmanl ve Graham'ın silika jeller üzerine yaptığı çalışmalarla başlamıştır. Sollar, bir sıvı içindeki koloidal parçacıkların dispersiyonlarıdır. Kolloidler, 1-100 nm çapındaki katı parçacıklardır. Bir jel, mikrometre altı boyutlardaki gözeneklere ve ortalama uzunluğu bir mikrometreden daha büyük olan polimerik zincirlere sahip, birbirine bağlı, sert bir ağıdır (Brinker ve Scherer, 2013).

Sol; sıvı içindeki katı malzemelerin oluşturduğu koloidal çözelti olarak bilinmektedir. Süspansiyon makroskopik boyutlara ulaştığında jel olarak isimlendirilir. Reaksiyon derecesi veya jelleşme noktası makromolekülü oluşturan bağın gerçekleştiği sıcaklıktır. Bu sebeple jel akışkan bir fazdaki katı form ihtivasi olarak bilinmektedir. Katı halin sürekliliği ise jele elastikiyet yeteneği kazandırır (Şir, 2014).

Sol-jel yöntemiyle sentez aşamaları Şekil 2.5'te gösterilmiştir. Üretimin ilk basamağını, hidroliz ve kondensasyon ile inorganik polimer elde edilmesi oluşturmaktadır. Hidroliz sol oluşumuna, bir sıvı içerisinde kolodial partiküllerin dispersiyonu ve jelin kondensasyonu sonucunda sıvı fazla kaplanan bağlantılı, gözenekli ve sert inorganik bağa yol açmaktadır. Bu transformasyona sol-jel geçişi denmektedir (Brinker ve Scherer, 2013).

Hiperkritik koşullar altında kurutma işlemi yapılmasının ardından arojeller üretilir. Jelin çevre koşulları altında gözenek sıvısının uzaklaştırılmasıyla, gözenekler küçülerek kserojelleri oluşturur. Sol-jel prosesinin en ilgi çekici özelliklerinden birisi de lifler, filmler, tek boyutlu tozlar gibi herhangi bir biçimde şekillendirilebilmesi ve sonradan ısı işlem uygulanarak biyoseramik bir malzemeye dönüştürülebilmesidir (Şir, 2014).



Şekil 2.5. Sol-jel yöntemiyle doku iskelesi üretimi aşamaları.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

Deneyler kapsamında kullanılan sodyum aljinat Katkı Dünyası'ndan, bitkisel gliserin Tito'dan, alümina ve kaolen (CC31) Esan Eczacıbaşı firmasından temin edilmiştir. Hidroksiapatit seramik tozu ise doğal yollarla sığır kemiklerinden kalsinasyon yöntemiyle sentezlenmiştir.

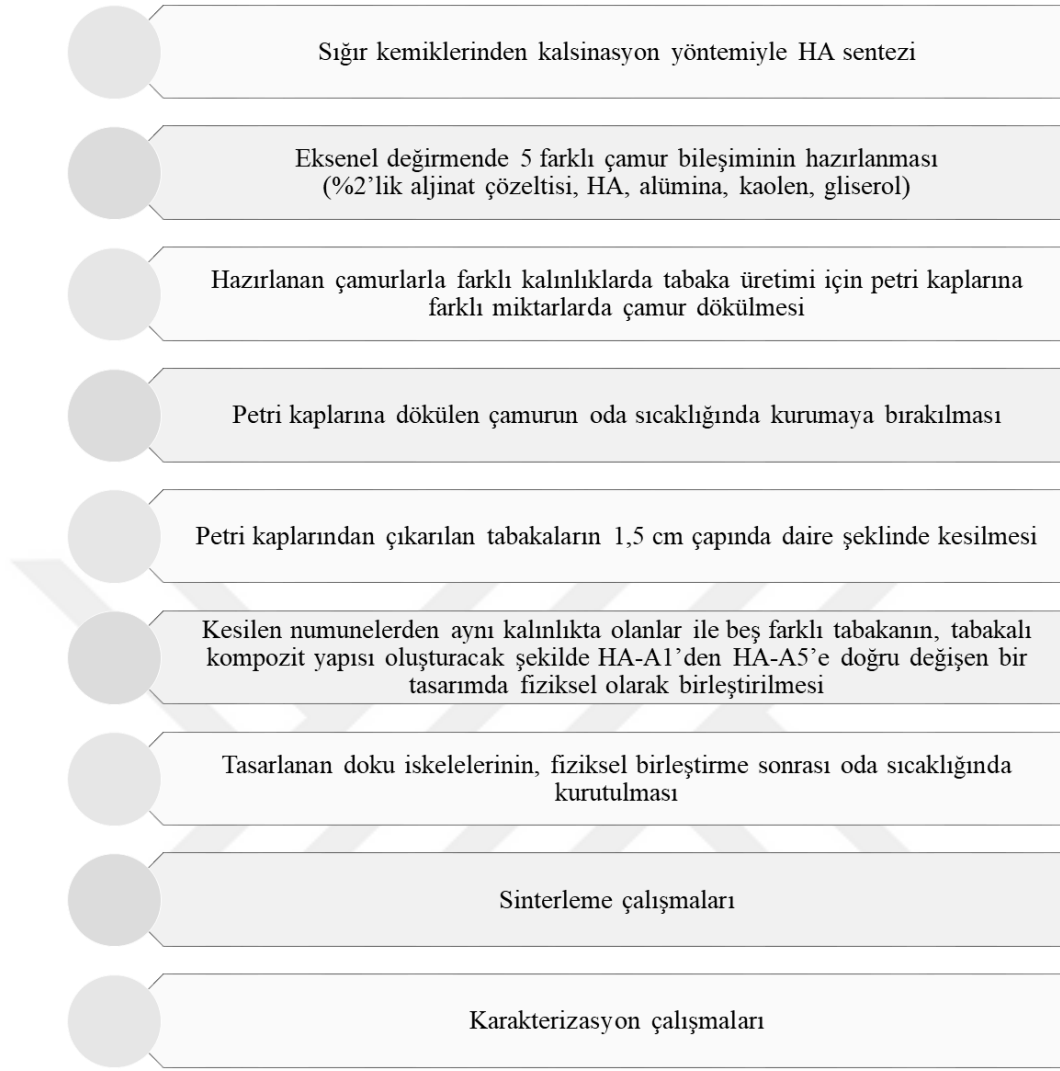
3.2. Yöntem

3.2.1. Hidroksiapatit Seramik Tozu Üretimi

Hidroksiapatit seramik tozları sığır kemiklerinden kalsinasyon yöntemiyle sentezlenmiştir. Temin edilen sığır kemikleri kaynatma ve mekanik temizleme süreçleri ile organik bileşenlerden olabildiğince temizlenmiştir. Gerçekleştirilen temizlik işlemleri sonrası sığır kemikleri etüvde 48 saat kurutulmuştur. Hidroksiapatit sığır kemiklerinin 900°C'de, 3 saat kalsine edilmesiyle elde edilmiştir. Kalsinasyon sürecinde 10°C/dk ısıtma ve soğutma hızı uygulanmıştır. Kalsinasyon yöntemiyle sentezlenen seramik tozlar doku iskelesi üretiminde kullanılmadan önce Fritsch marka Pulverisette 6 model eksenel değirmende 300 rpm hızla 45 dakika süreyle yaş öğütmeye tabi tutulmuştur. Öğütme sonrası 100°C'de 48 saat kurutma işlemi uygulanmıştır. Sığır kemiklerinin atmosfer koşullarında kalsinasyonu sonrasında elde edilen numuneler agat havan içerisinde öğütülerek faz bileşimini belirlemek üzere XRD numuneleri hazırlanmıştır.

3.2.2. Tabakalı Doku İskelesi Üretimi

Tabakalı doku iskelesi üretimi sığır kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit tozu, alümina ve kaolen kullanılarak sol-jel metoduyla üretilmiştir (Şekil 3.1). Sol-jel; kimyasal bir proses olup, jelleşebilen solüsyon veya süspansiyonlara dayalı bir yöntemdir. Bu yöntemde metal alkoksitler uygun bir çözücüde çözülüp, su ve katalizör yardımıyla hidroliz ve polimerizasyon reaksiyonların oluşturulmasına dayanmaktadır. Bu reaksiyonların kontrolü ile ürünler elde edilmektedir.



Şekil 3.1. Hidroksiapatit esaslı tabakalı kompozit doku iskelesi üretimi akım şeması.

Sol-jel yöntemi kullanılarak beş katmanlı doku iskelelerinin üretimi için %2'lik sodyum aljinat çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen aljinat çözeltisi üzerine deney setlerine uygun şekilde tartılmış olan kaolen, alümina, hidroksiapatit ve gliserol eklenerek bilyalı değirmende 300 rpm hızda 30 dk süre ile öğütme işlemi her bir tabaka için ayrı ayrı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Öğütme işleminin ardından çamur farklı miktarlarda (13, 15, 17, 20 ve 25 ml) olacak şekilde polimer petri kaplarına dökülmüş ve sonrasında oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Yaklaşık 18-24 saatlik kurutmanın ardından hafif nemli bir şekilde kaplardan çıkartıldıktan sonra 1,5 cm çapında daire şeklinde kesilerek ince birer tabaka formunda numuneler elde edilmiş ve aynı kalınlıktaki, 5 farklı bileşimdeki tabakalar HA-A1'den HA-A5'e doğru değişen bir tasarımda fiziksel olarak birleştirilmiştir. Tasarlanan

numunelere ait kodlar ve her bir tabakanın üretiminde kullanılan malzemeler ile miktarları Çizelge 3.1’de sunulmaktadır.

Çizelge 3.1. Tasarlanan beş katmanlı doku iskelesinin tabakalarının içerikleri.

Numune kodu	Sodyum aljinat çözeltisi (ml)	Kaolen (g)	Alümina (g)	HA (g)	Gliserol (ml)
HA-A1	125	6,250	11,250	45,000	6
HA-A2	125	6,250	19,688	36,563	6
HA-A3	125	6,250	28,125	28,125	6
HA-A4	125	6,250	36,563	19,688	6
HA-A5	125	6,250	45,000	11,250	6

Farklı bileşimlere sahip 5 tabakalı bir yapı şeklinde ve farklı kalınlıkta hazırlanmış olan doku iskelesi numuneleri 10°C/dk ısıtma ve soğutma hızı uygulanarak sırasıyla 1150°C, 1200°C ve 1250°C’de bir saat sinterleme işlemine tabi tutulmuştur.

3.2.3. Karakterizasyon Çalışmaları

Hazırlanan doku iskeleleri 1150°C, 1200°C ve 1250°C’de 1 saat sinterleme işlemine tabi tutulmuştur. Sinterlenen kompozitlerin SEM yöntemiyle içyapı ve XRD yöntemiyle ise faz analizleri gerçekleştirilmiştir.

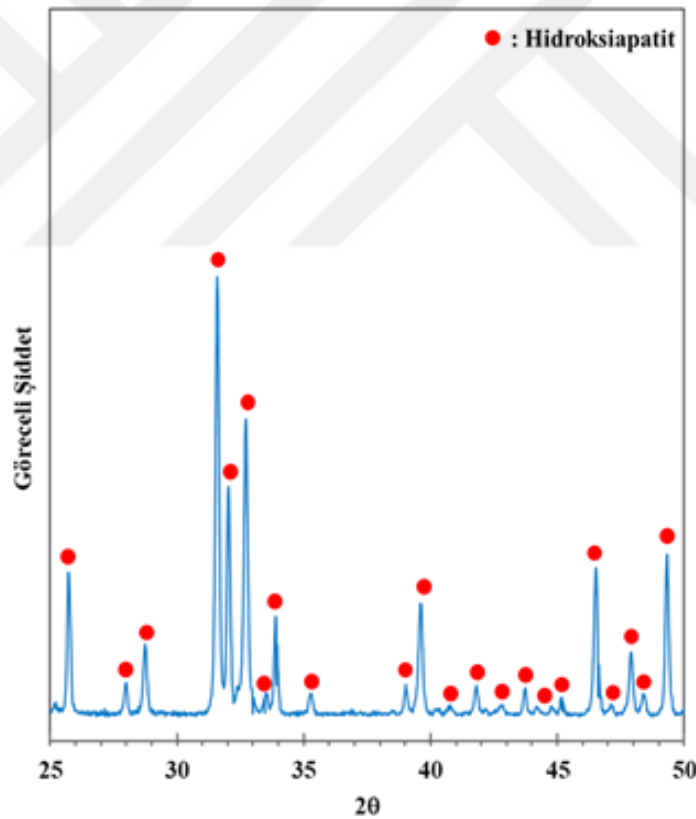
Hidroksiapatit seramiğinin ve sinterleme sonrası doku iskelesi tasarımında kullanılan her bir tabakaya ait numune agat havanda toz formuna getirdikten sonra ayrı ayrı faz analizi, Bruker marka D8 model XRD cihazı ile gerçekleştirilmiştir. X-ışını kaynağı olarak Cu tüpü ($\lambda=1,54 \text{ \AA}$) kullanılmıştır.

Üretilen doku iskelelerinin morfoloji ve gözenek karakteristiklerinin (gözenek boyut ve dağılımı, şekli) incelenmesi amacıyla Carl Zeiss/Gemini 300 taramalı elektron mikroskopu kullanılarak numunelerin kırık yüzeylerinden SEM analizleri yapılmıştır. Kırık yüzeyi incelenecek olan seramik numunelere iletkenlik özelliği sağlamak üzere numune yüzeyleri altın paladyum (Au-Pd) alaşımıyla kaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Hidroksiapatit XRD Analizi Sonuçları

Kalsiyum fosfat ailesinin bir üyesi olan HA esaslı biyoseramik malzemeler, dokunun kendini yenileme yeteneğini destekleyebildikleri için günümüzde doku iskelesi uygulamalarında tercih edilen malzemelerdir. HA'nın avantajları arasında biyoaktif olması, biyouyumlu olması ve aşındırıcı olmaması bulunmaktadır. İnsan kemik dokusundaki mineral kısmı çok yüksek oranda HA içeriğine sahip olduğundan, HA'nın insan kemik dokusunun yeniden yapılandırılmasında etkili olabileceği değerlendirilmektedir. Hidroksiapatit sentezlemek için sol-jel, sulu bir çözeltiden çökeltme, kalsinasyon ve katı hal reaksiyonları gibi çeşitli teknikler geliştirilmiştir (Sari ve ark., 2021).



Şekil 4.1. Sığır kemiklerinin kalsinasyonu ile sentezlenen faza ait XRD analiz sonucu.

Mevcut HA sentez yöntemleri değerlendirildiğinde kalsinasyon yöntemi HA sentezi için oldukça avantajlı bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Bunun temel nedeni kalsinasyon yönteminin herhangi bir organik çözücü gerektirmeyen, nispeten ekonomik ve kolay uygulanabilir bir yöntem olmasıdır. Bu sebeple bu tez çalışmasında

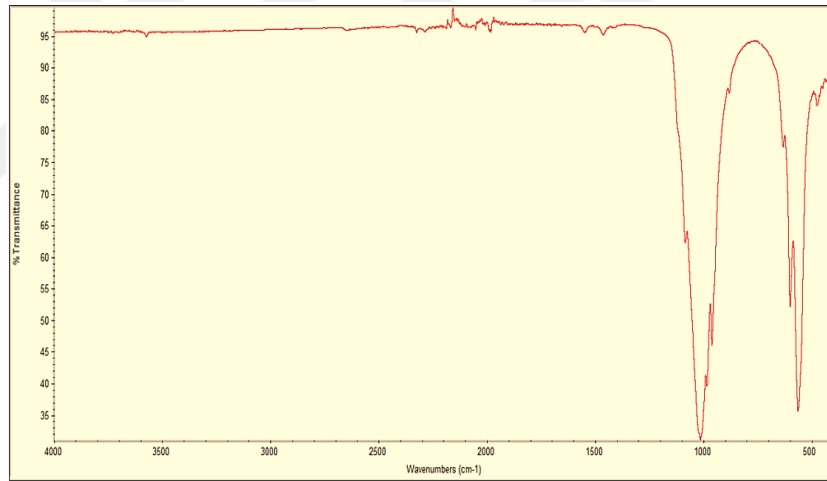
HA sentezlemek için kalsinasyon yöntemi seçilmiştir. Yerel bir işletmeden temin edilen sığır kemiklerinden kalsinasyon yoluyla sentez gerçekleştirilerek HA seramik tozu elde edilmiştir. Kalsinasyon sonrası XRD ile faz analizi neticesinde sentezlenen biyoseramik tozların yalnızca hidroksiapatit fazını (JCPDS 9-432) içerdiği belirlenmiştir (Şekil 4.1).

Literatürde sığır kemikleriyle gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür. Bazı araştırmacılar (Ramesh ve ark., 2018) sığır kemiklerini 2 saat süreyle 600-1000°C’de kalsine ettikten sonra gerçekleştirdikleri XRD analizi sonucunda yapıda sadece HA fazının görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada sığır kemiklerinden sentezlenen HA biyoseramik fazının araştırılan kalsinasyon sıcaklık aralığında kararlı yapıda olduğu bildirilmiştir. Yine bu çalışmada kalsinasyon sıcaklığının artışına bağlı olarak, özellikle de kalsinasyon sıcaklığı 600°C’den 750°C’ye çıkarıldığında yapıda oluşan kristallenme miktarının arttığı bildirilmiştir (Ramesh ve ark., 2018). Bir diğer çalışmada ise sığır kemikleri 3 saat atmosfer koşullarında 600-1000°C aralığında kalsine edildikten sonra yapıda yalnızca HA biyoseramik fazının oluştuğu belirlenmiştir (Bano ve ark., 2019).

Sığır kemikleri ve kalsinasyon yöntemi kullanılmadan gerçekleştirilen bir çalışmada ise araştırmacılar (Sari ve ark., 2021) denizkulağı midye kabuklarından (*Halioitis asinina*) çökeltme yöntemiyle HA sentezlemişlerdir. Araştırmacılar, önce denizkulağı midye kabuklarını kaynar suda 30 dakika süreyle temizlemişler ve daha sonra kabuklu et ve algler gibi yapışık maddeleri uzaklaştırmak için damıtılmış su ile yıkamışlardır. Yıkanan kabukları 100°C’de 6 saat etüvde kurutmuşlardır. Kabukları daha küçük parçacık boyutuna indirmek amacıyla bilyalı bir değirmen kullanmışlardır. Kabuklardan elde edilen tozu, karakterize ettikten sonra tartarak kalsiyum oksit tozu elde etmek için 1000°C sıcaklıkta 6 saat kalsine etmişlerdir. Elde edilen kalsiyum oksit içerisine farklı miktarlarda ve bileşimlerde solüsyonlar ekleyerek bir çözelti oluşturmuşlardır. Hidroksiapatit çökeltisini elde etmek için çözelti, 6 saat 100°C’de kurutulmuş son olarak saf HA’yı elde etmek için çökelti 1000°C’de 6 saat kalsine edilmiştir. Bu çalışma, deniz kulağı midye kabuklarına dayanan başarılı bir HA sentezi sunmaktadır (Sari ve ark., 2021). Kalsinasyon yöntemiyle sığır kemiklerinden HA sentezinin düşük tane boyutuna ve nispeten yüksek saflığa sahip HA tozlarının ekonomik ve kolay bir şekilde üretilmesine imkan sağlamasının yanı sıra atık bir malzeme olan sığır kemiklerinin yüksek katma değere sahip ürünlere dönüştürülmesine imkan sağladığı için ayrıca ekonomik ve ekolojik olarak da önemli avantajlar da sağladığı bilinmektedir.

4.2. Hidroksiapatit FTIR Analizi Sonuçları

Sığır kemiklerinin atmosfer koşullarında kalsinasyonu sonucunda elde edilen HA numunelerinin agat havanda öğütülmesinden sonra gerçekleştirilen FTIR analiz sonucu Şekil 4.2’de görülmektedir. Grafikte 3200–3500 cm^{-1} dalga boyları arasında görülen pik HA yapısında bulunan OH– grubuna aittir. $(\text{PO}_4)^{-3}$ grubunun en belirgin karakteristik genişleme piki 1085 ve 1015 cm^{-1} dalga boyları arasında bulunmaktadır. Ayrıca 561 cm^{-1} ve 598 cm^{-1} değerlerindeki pikler $(\text{PO}_4)^{-3}$ ’ün asimetrik bükülme pikidir. HA fazının 1400 cm^{-1} , 1456 cm^{-1} ve 2014 cm^{-1} dalga boyundaki pikleri $(\text{CO}_3)^{-2}$ grubuna ait olan asimetrik gerilme pikidir. Spektrumda 879 cm^{-1} değerinde gözlemlenen pik ise $(\text{CO}_3)^{-2}$ grubunun bükülme pikidir (Zyman ve ark., 1994). Sentezlenmiş HA için FTIR spektrum sonuçları, HA bazlı iskele imalat sürecinde hiçbir kimyasal ayrışmanın meydana gelmediğini göstermiştir.

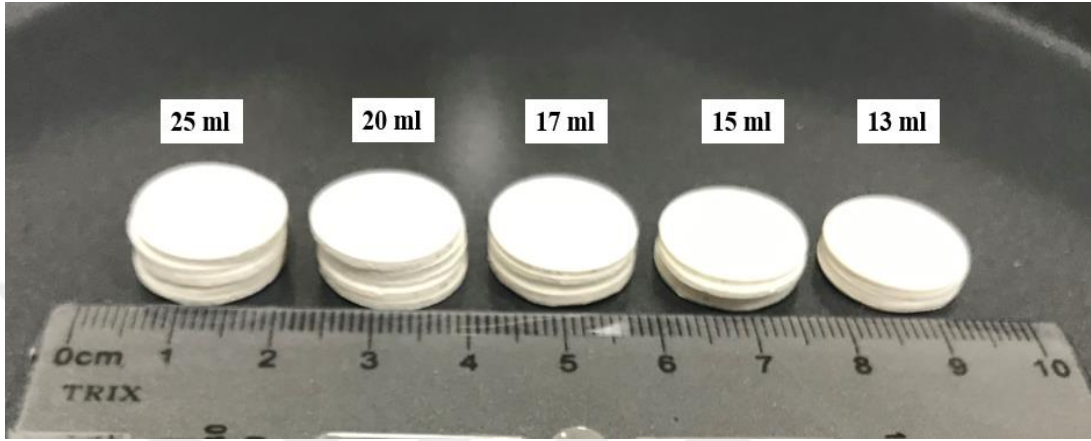


Şekil 4.2. Sığır kemiklerinin atmosfer koşullarında kalsinasyonu ile sentezlenen faza ait FTIR spektrumu.

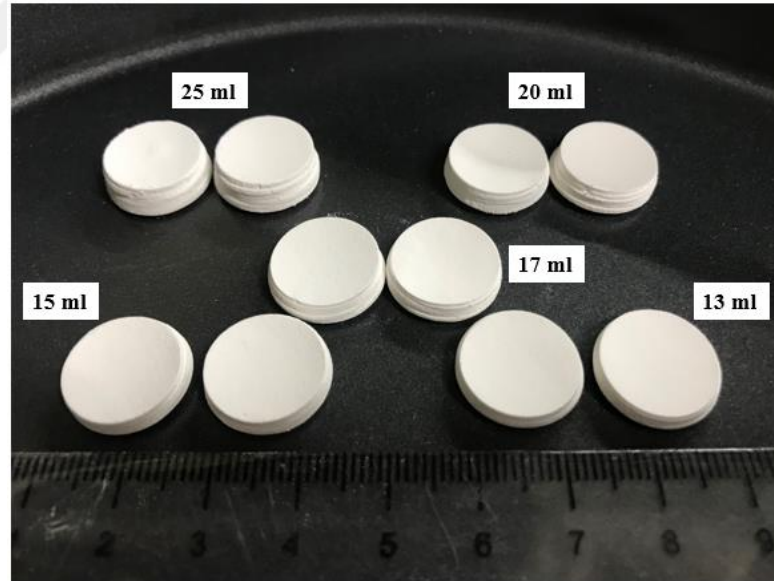
4.3. İskelelerin Üretim Sonuçları

Tüm numunelerin üretimi tamamlandıktan sonra her bir reçetede aynı kalınlıkta olan numuneler tabakalı bir kompozit yapısı oluşturulacak biçimde Şekil 4.3’teki gibi üst üste dizildi. Tabakalı doku iskelesi üretiminde ideal bir iskelede katmanlar arası bağlantının ilave gözenek içermemesi ve iki tabaka arasındaki temas yüzeylerinin mümkün olduğunca birbirleriyle temas halinde olması gerekmektedir.

Üst üste dizilen tabakalar fiziksel olarak birleştirildikten sonra sinterlenmiş ve numunelerin sinterleme işlemi sonrasındaki görüntüleri Şekil 4.4'te verilmiştir. Sinterleme işlemine tabi tutulan numunelerde belirgin bir düzeyde herhangi bir form bozukluğu, kırılma veya çatlama görülmemiştir. Sinterleme sonrasında numunelerde bir miktar çekme meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Farklı film tabakalarının fiziksel olarak birleştirilmesiyle oluşturulan numuneler.

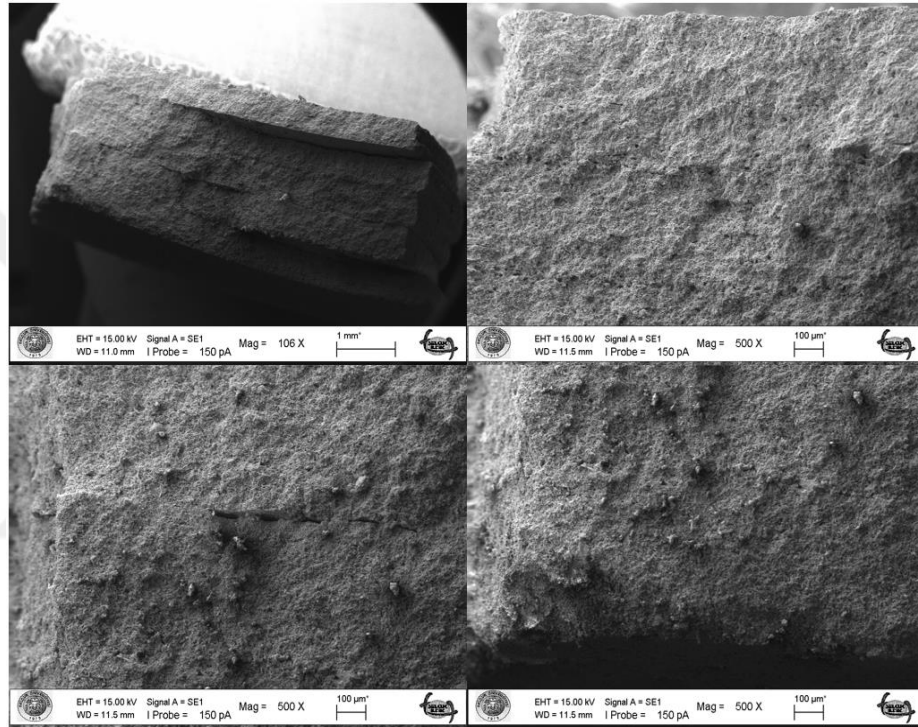


Şekil 4.4. Sinterleme işlemi sonrası numuneler.

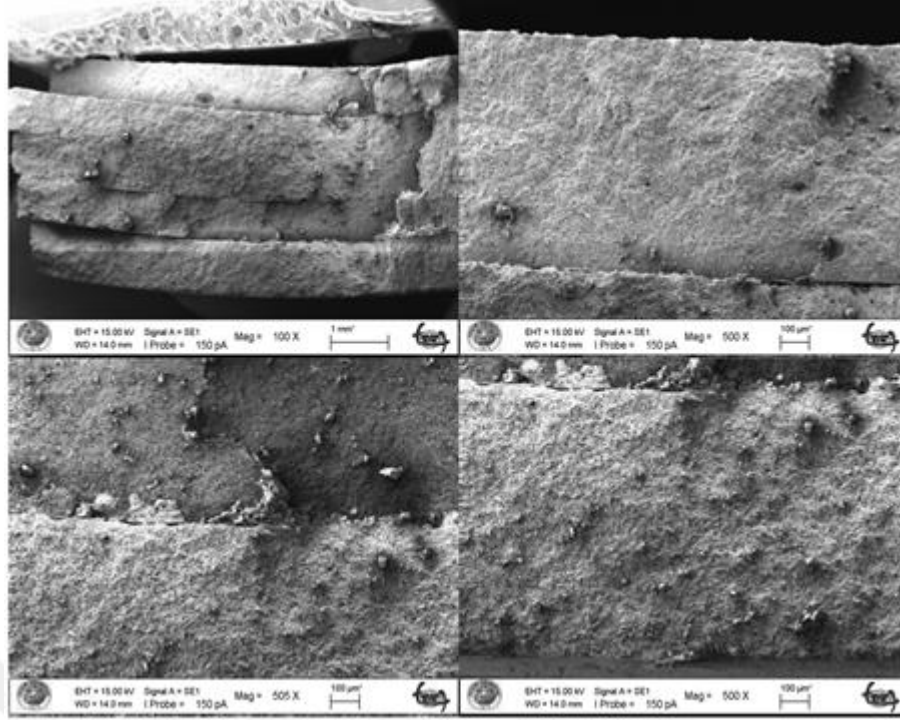
4.4. İskelelerin İy Yapı Analizi Sonuçları

Hazırlanan doku iskelelerinin oldukça homojen bir içyapıya sahip olduğu ve tane boyut dağılımının nispeten dar ($\sim 1-3 \mu\text{m}$) olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca ince tabakalardan oluşan numunelerin (Şekil 4.5, Şekil 4.7 ve Şekil 4.9) kalın tabakalardan

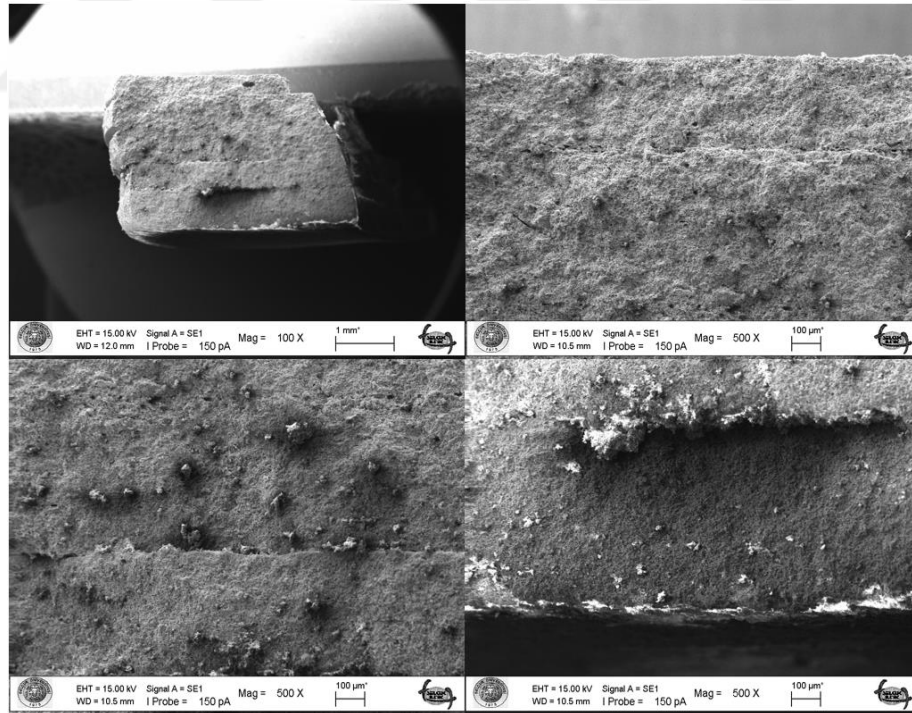
oluşan numunelere (Şekil 4.6, Şekil 4.8 ve Şekil 4.10) oranla, her bir katmanının birbiriyle daha iyi bir şekilde bağlandığı, tabaka içlerinde ise homojen bir mikroyapı elde edildiği belirlenmiştir. Üretilen doku iskelelerinde kullanılan tabaka kalınlığının artmasıyla tabakaların bağlanma arayüzlerinde çatlakların oluşabildiği saptanmıştır. Bu durumun temel nedeninin ise doku iskelesini oluşturan tabaka bileşimlerinde meydana gelen değişimlere bağlı olarak sinterleme sürecinde her bir tabakanın sinterleme çekmesinin farklı olmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir.



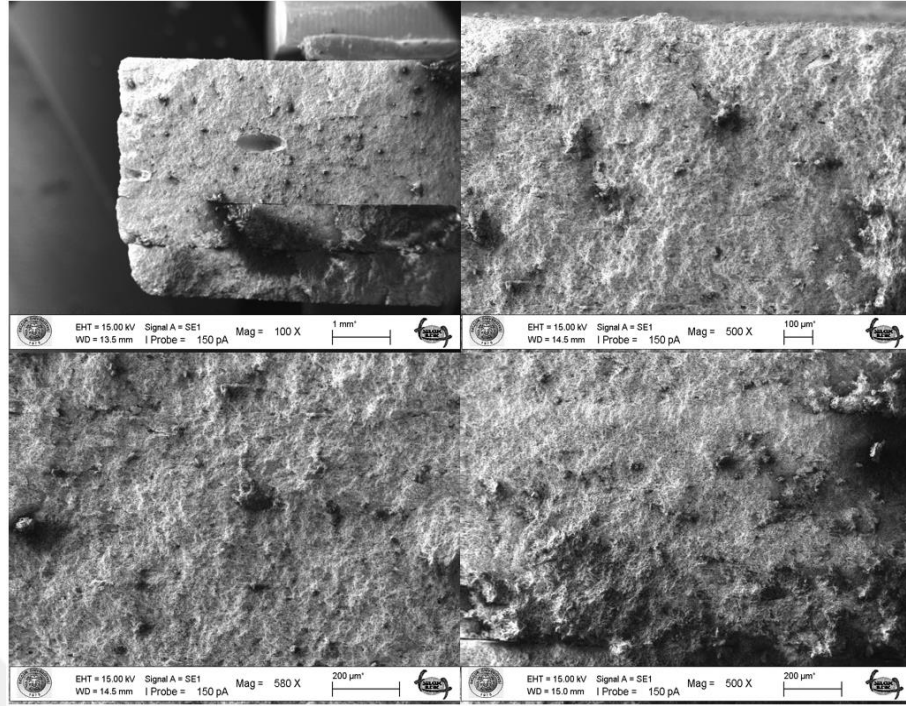
Şekil 4.5. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1250°C’de 1 saat sinterlenen, ince tabakalardan (13 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü.



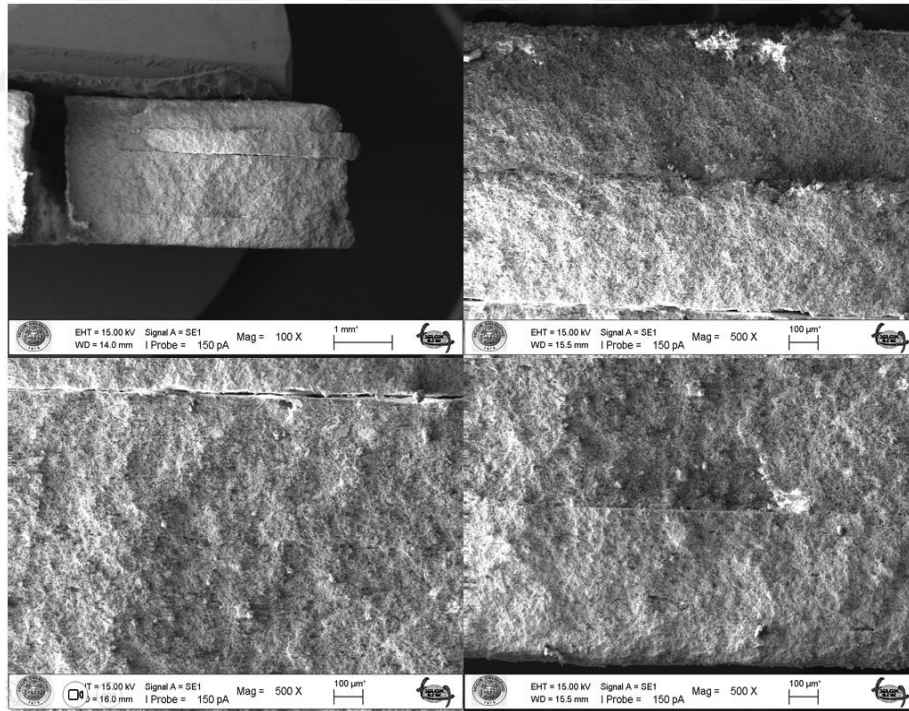
Şekil 4.6. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1250°C’de 1 saat sinterlenen, kalın tabakalardan (20 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü.



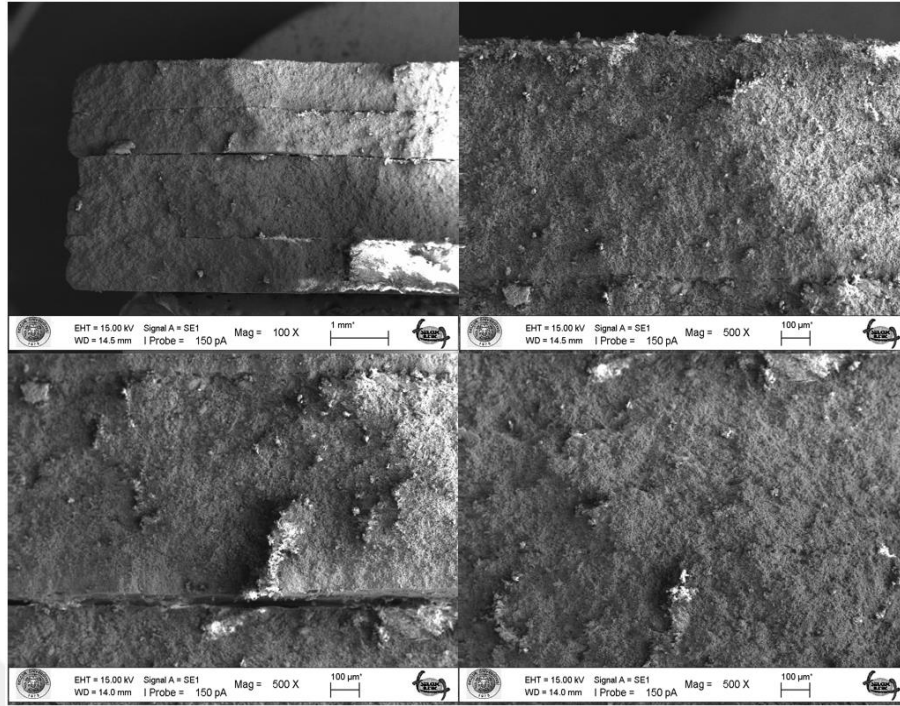
Şekil 4.7. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1200°C’de 1 saat sinterlenen, ince tabakalardan (13 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü.



Şekil 4.8. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1200°C’de 1 saat sinterlenen, kalın tabakalardan (20 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü.



Şekil 4.9. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1150°C’de 1 saat sinterlenen, ince tabakalardan (13 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü.



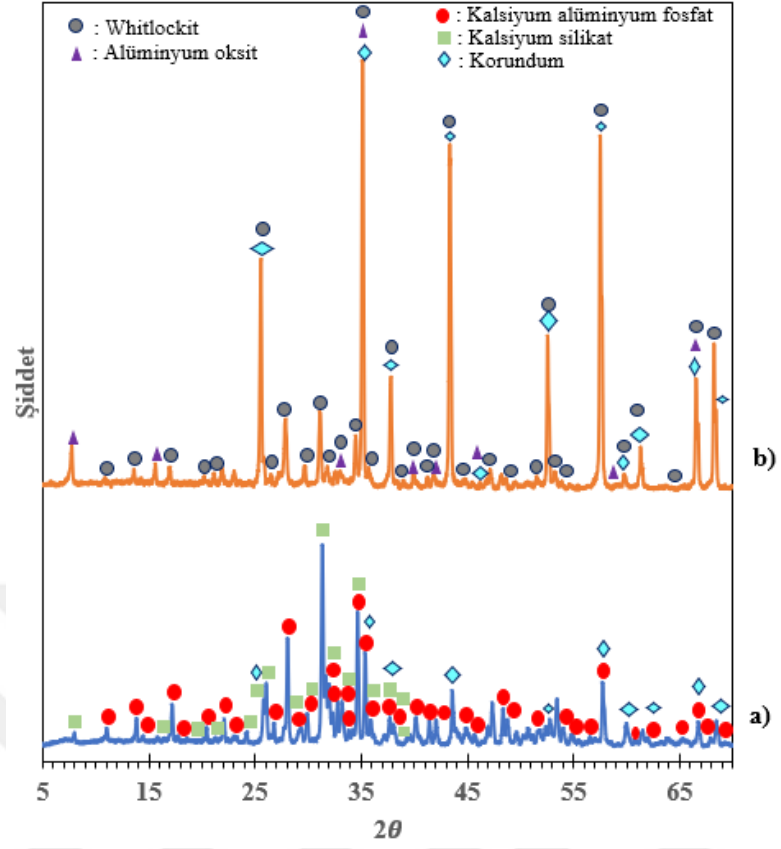
Şekil 4.10. 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı ile 1150°C’de 1 saat sinterlenen, kalın tabakalardan (20 mm) oluşan numunenin SEM görüntüsü.

4.5. İskelelerin Faz Analizi Sonuçları

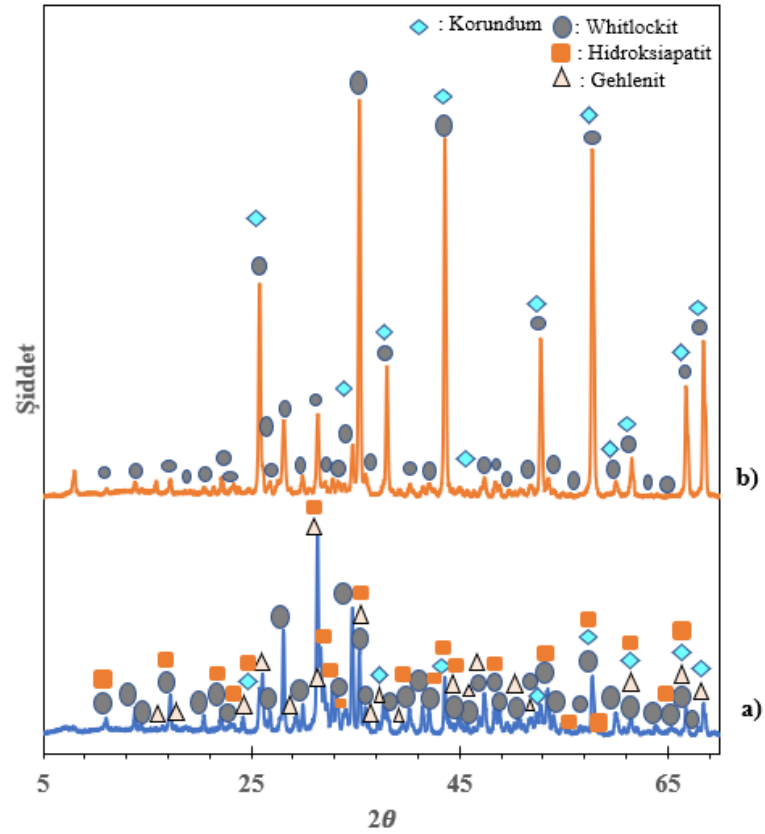
Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen XRD analizleri sonucunda en düşük oranda hidroksiapatit içeren bileşimde (HA-A5) korundum fazının yanı sıra 1150°C’de (Şekil 4.11), en düşük oranda alümina içeren bileşimde (HA-A1) ise 1200°C’de (Şekil 4.12) whitlockit fazının oluştuğu tespit edilmiştir.

Sinterleme sıcaklığı 1250°C’ye çıkarıldığında HA-A5 numunesinde whitlockit fazının yapıda bulunmadığı ve bu sıcaklıkta korundum fazının yanı sıra anortit ve kalsiyum alüminyum silikat fazlarının oluştuğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13).

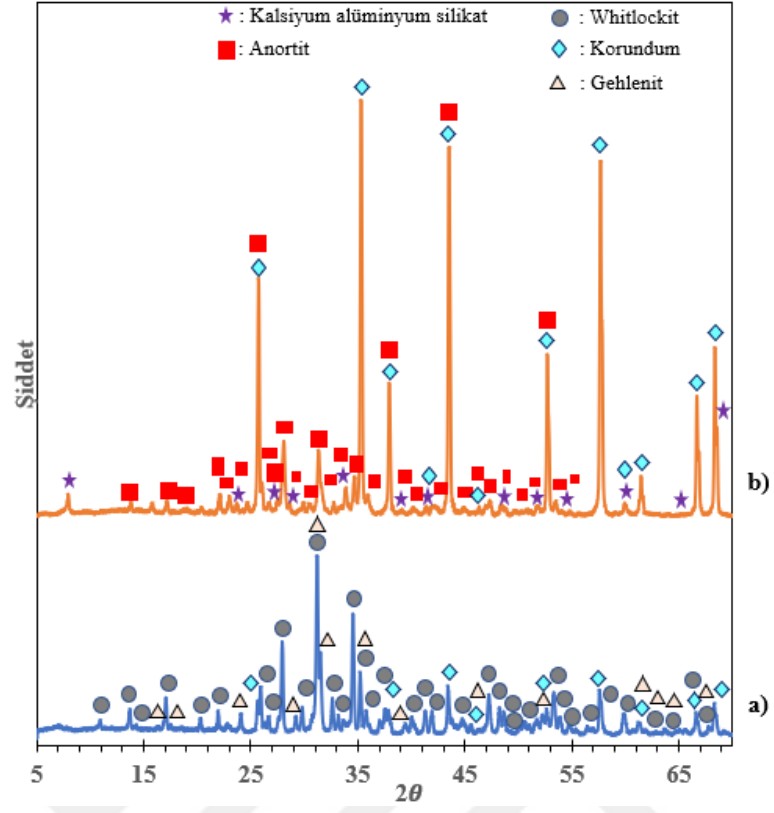
En düşük oranda alümina içeren HA-A1 numunesinde 1200° ve 1250°C’de korundum fazının yanı sıra whitlockit ve gehlenit fazının oluştuğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.11. 1150°C’de 1 saat sinterlenen a) HA-A1 ve b) HA-A5 numuneleri XRD sonuçları.



Şekil 4.12. 1200°C’de 1 saat sinterlenen a) HA-A1 ve b) HA-A5 numuneleri XRD sonuçları.



Şekil 4.13. 1250°C’de 1 saat sinterlenen a) HA-A1 ve b) HA-A5 numuneleri XRD sonuçları.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Doku mühendisliği, hasar görmüş olan doku fonksiyonlarının iyileştirilmesi ve onarımı için biyomalzemelerin geliştirilmesini amaçlayan bir alandır. Bu alanda başarılı sonuçların elde edilebilmesi için disiplinler arası bir çalışmaya ihtiyaç duyulmakta olup genetik, tıp, malzeme mühendisliği ve makine mühendisliği gibi bilim dallarında çalışmalar yapan bilim insanlarının doku mühendisliğinde karşılaşılan sorunların çözümü için ortak araştırmalar yapması gerektiği değerlendirilmektedir. Günümüzde doku iskelesi üretimi üzerine yapılan çalışmaların her geçen gün artış göstermekte olduğu gözlemlenmektedir. İnsan vücudunda bulunan hasarlı dokuyu onarabilmek için iskelelerin biyobozunur, biyouyumlu ve uygulama alanının isterlerine bağlı olarak uygun gözenekliliğe sahip olması gerekmektedir.

Dokuyu yeniden onarmaya yönelik çoğu strateji, hücre bağlanmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını desteklemek için üç boyutlu gözenekli doku iskelelerine bağlıdır. Doku mühendisliğindeki belki de en kritik zorluklardan biri, doğal biyolojik şablonları taklit edecek şekilde uyarlanmış ve çevreleyen dokuyla eşleşen, iyi mekanik özelliklere sahip ve özel olarak tasarlanmış doku iskeleleri geliştirmektir. Doku rejenerasyonu için ideal iskelenin, yeni hücrelerin çoğalmasına izin vererek ve teşvik ederek dokularla güvenli bir bağ oluşturacak gözenekli bir malzeme kullanılarak oluşturması gerekmektedir. Bu bağlamda iskeleyi oluşturan malzemeler seçilirken iskelede olması istenen birçok özelliği karşılamasına özen gösterilmelidir.

Gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında HA esaslı doku iskelelerinin tabakalı kompozit yaklaşımıyla üretimi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Aynı zamanda bu çalışma ile mutfaklarda, mezbahalarda ve kasaplarda atık olarak ortaya çıkan sığır kemiklerinin HA sentezinde kullanılmasıyla yüksek katma değerli bir ürüne dönüştürülmesi de amaçlanmaktadır. Bu çalışmada kemiğin yapısında doğal olarak bulunan inorganik ana bileşen olan HA seramiği sığır kemiklerinden kalsinasyon yöntemiyle üretilerek iskele yapımında kullanılmıştır. Hidroksiapatitin yanı sıra yüksek mekanik özellikleri, iyi kimyasal ve aşınma dayanımı ile ön plana çıkan alümina biyoseramiği de iskele üretiminde kompozit temel bileşeni olarak kullanılmıştır. Doku iskelelerin üretimi farklı bileşimlerde biyomalzeme kullanılarak 5 farklı kompozisyonda

ve farklı tabaka kalınlıklarında olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Üretilen katmanlar fiziksel olarak birleştirildikten sonra sinterlenerek karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda içerdiği ilik, yağ ve benzeri safsızlıklardan arındırılan sığır kemiklerine uygulanan kalsinasyon işlemi sonrasında yapıda sadece HA fazının bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca kalsinasyon sonrası elde edilen HA seramik tozunun tane boyutlarının literatürde yer alan diğer çalışmalarla benzer olduğu tespit edilmiştir.

Üretilen HA katkılı doku iskelelerinin sinterleme çalışmaları 1150, 1200 ve 1250°C’de 1 saat olacak şekilde başarılı bir biçimde gerçekleştirilmiş, iskele numunesinin sinterleme aşamasında herhangi bir çökme veya dikkate değer bir oranda form bozukluğu yaşanmamıştır.

Gerçekleştirilen XRD analizleri sonucunda sıcaklığa ve katman bileşimine bağlı olarak faz bileşiminin değiştiği belirlenmiştir. En düşük oranda hidroksiapatit içeren HA-A5 bileşiminde korundum fazının yanı sıra 1150°C’de ve en düşük oranda alümina içeren HA-A1 bileşiminde ise 1200°C’de whitlockite fazının oluştuğu tespit edilmiştir.

Sinterleme sıcaklığı 1250°C’ye çıkarıldığında HA-A5 numunesinde whitlockite fazının yapıda bulunmadığı ve bu sıcaklıkta korundum fazının yanı sıra anortit ve kalsiyum alüminyum silikat fazlarının oluştuğu tespit edilmiştir. En düşük oranda alümina içeren HA-A1 numunesinde 1200° ve 1250°C’de korundum fazının yanı sıra whitlockite ve gehlenit fazının oluştuğu tespit edilmiştir.

5.2. Öneriler

Seramik doku iskelelerini tasarlarken nihai amaç, doğal kemiğin yapısını ve özelliklerini mümkün olduğu kadar yakından taklit eden bir yapı elde etmektir. Doku mühendisliği alanında, yapı ve özelliklerine uygun olarak tasarlanan doku iskelelerinin, hücrelerin büyümesini ve çevre doku etrafında göçünü yönlendirmek ve desteklemek için önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Bu bağlamda üretilen iskelelerin içeriğinde bulunan alümina biyoseramiği yerine hidroksiapatitin fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirecek farklı malzeme katkıları kullanılarak yeni iskeleler geliştirilebilir. Bu katkıların, iskelelerin mekanik dayanıklılığını veya biyouyumluğu artırabilir türden olması avantaj sağlayacaktır.

Tasarlanan seramik doku iskelelerinin uygulama alanının isterlerine bağı olarak ihtiyaç duyulan oranda gözenekliliğe, belirli bir gözenek boyut ve dağılımına sahip olması gerekmektedir. Bunun yanı sıra yine uygulama alanının gereksinimlerine bağı olarak mukavemet ve tokluk gibi mekanik özelliklerinin de belirlenmesi gerekmektedir. Üretilen seramik doku iskelelerinin gözenek boyut ve dağılımı cıva porozimetresi ile analiz edilerek uygulama alanının isterlerini sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi gerekmektedir. Seramik doku iskelelerinin basma mukavemeti ve tokluğu ise evrensel test cihazı ile gerçekleştirilecek mekanik karakterizasyon neticesinde belirlenebilecektir.

Hidroksiapatit esaslı doku iskelelerinin klinik uygulama potansiyeli değerlendirilerek güvenlik konusunda detaylı çalışmalar yapılabilir. İskelelerin insanlar üzerindeki etkilerini simüle eden *in vitro* ve *in vivo* deneyler yapılarak, etkin veriler elde edilebilir. Bu, potansiyel klinik uygulamaların geliştirilmesi için önemli olacaktır.

Bu öneriler ışığında, yapılan çalışmanın gelecekteki araştırmalar için temel oluşturması, ileri zamanlardaki çalışmalarla, hidroksiapatit esaslı doku iskelelerinin biyomedikal alanda daha geniş bir kullanım alanı ve klinik uygulamalarda iyileştirilmiş sonuçlar elde edilmesinin mümkün olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmaya benzer araştırmaların devamında hücre testleri yapılarak elde edilen yapının ideal doku iskelelerinde istenilen özellikleri taşıyıp taşımadığı test edilebilir. Ek olarak, iskelelere simüle edilmiş vücut sıvısında ıslatma deneyi yapılarak oluşan iskelenin kabul edilebilir bir bozunma oranına ve *in vitro* olarak iyi bir biyoaktiviteye sahip olup olmadığını gösterecek deneyler de yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Akça, S. G. (2016). *Doğal hidroksiapatit toz üretimi, karakterizasyonu ve antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi* Sakarya Üniversitesi (Turkey)].
- Ali, A., Chiang, Y. W., & Santos, R. M. (2022). X-ray diffraction techniques for mineral characterization: A review for engineers of the fundamentals, applications, and research directions. *Minerals*, 12(2), 205.
- Almasi, D., Sadeghi, M., Lau, W. J., Roozbahani, F., & Iqbal, N. (2016). Functionally graded polymeric materials: A brief review of current fabrication methods and introduction of a novel fabrication method. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 64, 102-107. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.053>
- Antoniac, I. V. (2016). *Handbook of bioceramics and biocomposites* (Vol. 1). Springer Berlin, Germany:.
- Bano, N., Jikan, S. S., Basri, H., Adzila, S., & Zago, D. M. (2019). XRD and FTIR study of A&B type carbonated hydroxyapatite extracted from bovine bone. *AIP Conference Proceedings*,
- Barsoum, M. (2019). *Fundamentals of ceramics*. CRC press.
- Birkby, I., & Stevens, R. (1996). Applications of zirconia ceramics. *Key Engineering Materials*, 122, 527-552.
- Bohner, M., Loosli, Y., Baroud, G., & Lacroix, D. (2011). Commentary: deciphering the link between architecture and biological response of a bone graft substitute. *Acta biomaterialia*, 7(2), 478-484.
- Bose, S., Darsell, J., Hosick, H. L., Yang, L., Sarkar, D. K., & Bandyopadhyay, A. (2002). Processing and characterization of porous alumina scaffolds. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13, 23-28.
- Brinker, C. J., & Scherer, G. W. (2013). *Sol-gel science: the physics and chemistry of sol-gel processing*. Academic press.
- CAN, N., & ERSOY, M. S. (2014). NANOLİF YAPILI POLİMERİK DOKU İSKELELERİ. *Journal of Textiles & Engineers/Tekstil ve Mühendis*, 21(95).
- Chen, G., Ushida, T., & Tateishi, T. (2002). Scaffold design for tissue engineering. *Macromolecular Bioscience*, 2(2), 67-77.
- Chen, Q., Roether, J., & Boccaccini, A. (2008). Tissue engineering scaffolds from bioactive glass and composite materials. *Topics in tissue engineering*, 4(6), 1-27.
- Çakmak, S. (2015). Kemik Doku Onarımı İçin Hidroksiapatit Peptit Amfifil Bazlı Nanokompozit Doku İskelelerinin Geliştirilmesi.

- Dorozhkin, S. V. (2015). Calcium orthophosphate bioceramics. *Ceramics International*, 41(10), 13913-13966.
- Ehashi, T., Takemura, T., Hanagata, N., Minowa, T., Kobayashi, H., Ishihara, K., & Yamaoka, T. (2014). Comprehensive genetic analysis of early host body reactions to the bioactive and bio-inert porous scaffolds. *PloS one*, 9(1), e85132.
- Gariboldi, M. I., & Best, S. M. (2015). Effect of ceramic scaffold architectural parameters on biological response. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 3, 151.
- Hammel, E. C., Ighodaro, O.-R., & Okoli, O. I. (2014). Processing and properties of advanced porous ceramics: An application based review. *Ceramics International*, 40(10), 15351-15370.
- Holand, W., & Beall, G. H. (2019). *Glass-ceramic technology*. John Wiley & Sons.
- Hsu, Y., Turner, I., & Miles, A. (2007). Fabrication of porous bioceramics with porosity gradients similar to the bimodal structure of cortical and cancellous bone. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18, 2251-2256.
- Hutmacher, D. W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21(24), 2529-2543.
- Jiang, L., Li, Y., Wang, X., Zhang, L., Wen, J., & Gong, M. (2008). Preparation and properties of nano-hydroxyapatite/chitosan/carboxymethyl cellulose composite scaffold. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 680-684.
- Joschek, S., Nies, B., Krotz, R., & Göpferich, A. (2000). Chemical and physicochemical characterization of porous hydroxyapatite ceramics made of natural bone. *Biomaterials*, 21(16), 1645-1658.
- Juhasz, J. A., & Best, S. M. (2012). Bioactive ceramics: processing, structures and properties. *Journal of Materials Science*, 47, 610-624.
- Kavçak, Ö. (2020). *Nişasta konsolidasyon döküm yöntemi ile atık yumurta kabuğu kullanılarak gözenekli kalsiyum silikat üretimi* [Bursa Teknik Üniversitesi].
- Kingery, W. D., Bowen, H. K., & Uhlmann, D. R. (1976). *Introduction to ceramics* (Vol. 17). John Wiley & Sons.
- Koç, N., Timuçin, M., & Korkusuz, F. (2004). Fabrication and characterization of porous tricalcium phosphate ceramics. *Ceramics International*, 30(2), 205-211.
- Koerten, H., & Van der Meulen, J. (1999). Degradation of calcium phosphate ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials*, 44(1), 78-86.

- Lawson, S. (1995). Environmental degradation of zirconia ceramics. *Journal of the European ceramic society*, 15(6), 485-502.
- Liu, M., Yu, X., Huang, F., Cen, S., Zhong, G., & Xiang, Z. (2013). Tissue engineering stratified scaffolds for articular cartilage and subchondral bone defects repair. *Orthopedics*, 36(11), 868-873.
- Manicone, P. F., Iommetti, P. R., & Raffaelli, L. (2007). An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *Journal of dentistry*, 35(11), 819-826.
- Metsger, D. S., Driskell, T., & Paulsrud, J. (1982). Tricalcium phosphate ceramic--a resorbable bone implant: review and current status. *Journal of the American Dental Association* (1939), 105(6), 1035-1038.
- Mobasherpour, I., Heshajin, M. S., Kazemzadeh, A., & Zakeri, M. (2007). Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. *Journal of Alloys and Compounds*, 430(1-2), 330-333.
- Montazerian, M., & Zanotto, E. D. (2017). Bioactive and inert dental glass-ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 105(2), 619-639.
- Munch, E., Franco, J., Deville, S., Hunger, P., Saiz, E., & Tomsia, A. P. (2008). Porous ceramic scaffolds with complex architectures. *Jom*, 60, 54-58.
- Nooeaid, P., Schulze-Tanzil, G., & Boccaccini, A. R. (2015). Stratified scaffolds for osteochondral tissue engineering. *Cartilage Tissue Engineering: Methods and Protocols*, 191-200.
- Piconi, C. (2017). Bioinert ceramics: State-of-the-art. *Key Engineering Materials*, 758, 3-13.
- Piconi, C., & Porporati, A. A. (2016). Bioinert ceramics: Zirconia and alumina. In *Handbook of Bioceramics and Biocomposites* (pp. 59-89). Springer.
- Pilliar, R., Filiaggi, M., Wells, J., Gryn timer, M., & Kandel, R. (2001). Porous calcium polyphosphate scaffolds for bone substitute applications—in vitro characterization. *Biomaterials*, 22(9), 963-972.
- Pravina, P., Sayaji, D., & Avinash, M. (2013). Calcium and its role in human body. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 4(2), 659-668.
- Raksujarit, A., Pengpat, K., Rujijanagul, G., & Tunkasiri, T. (2010). Processing and properties of nanoporous hydroxyapatite ceramics. *Materials & Design*, 31(4), 1658-1660.
- Ramesh, S., Loo, Z. Z., Tan, C. Y., Chew, W. K., Ching, Y. C., Tarlochan, F., Chandran, H., Krishnasamy, S., Bang, L. T., & Sarhan, A. A. (2018).

- Characterization of biogenic hydroxyapatite derived from animal bones for biomedical applications. *Ceramics International*, 44(9), 10525-10530.
- Ramírez, J. A., Ospina, V., Rozo, A. A., Viana, M. I., Ocampo, S., Restrepo, S., Vásquez, N. A., Paucar, C., & García, C. (2019). Influence of geometry on cell proliferation of PLA and alumina scaffolds constructed by additive manufacturing. *Journal of Materials Research*, 34(22), 3757-3765.
- Ruys, A. (2019). Processing, structure, and properties of alumina ceramics. *Alumina Ceramics*, 71-121.
- RZ, L. (1993). Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics. *Clinic Mater*, 14, 65-88.
- Saiz, E., Gremillard, L., Menendez, G., Miranda, P., Gryn, K., & Tomsia, A. P. (2007). Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 27(3), 546-550.
- Sari, M., Hening, P., Ana, I. D., & Yusuf, Y. (2021). Bioceramic hydroxyapatite-based scaffold with a porous structure using honeycomb as a natural polymeric Porogen for bone tissue engineering. *Biomaterials research*, 25(1), 1-13.
- Shircliff, V., & Hench, L. (2003). Bioactive materials for tissue engineering, regeneration and repair. *Journal of materials science*, 38, 4697-4707.
- Siniscalco, D., Dutreilh-Colas, M., Hjezi, Z., Cornette, J., El Felss, N., Champion, E., & Damia, C. (2019). Functionalization of hydroxyapatite ceramics: Raman mapping investigation of silanization. *Ceramics*, 2(2), 372-384.
- Sopyan, I., & Kaur, J. (2009). Preparation and characterization of porous hydroxyapatite through polymeric sponge method. *Ceramics International*, 35(8), 3161-3168.
- Srinath, P., Abdul Azeem, P., & Venugopal Reddy, K. (2020). Review on calcium silicate-based bioceramics in bone tissue engineering. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 17(5), 2450-2464.
- Şir, N. E. (2014). Sol-jel yöntemiyle metal borat üretimi ve karakterizasyonu.
- Tampieri, A., Celotti, G., Sprio, S., Delcogliano, A., & Franzese, S. (2001). Porosity-graded hydroxyapatite ceramics to replace natural bone. *Biomaterials*, 22(11), 1365-1370.
- TEMİZ, A. (2022). GÖZENEKLİ VE BİYOBİYÖZÜNÜR MAGNEZYUM ALAŞIMLARININ İMPLANT MALZEMESİ OLARAK ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU
- Thamaraiselvi, T., & Rajeswari, S. (2004). Biological evaluation of bioceramic materials-a review. *Carbon*, 24(31), 172.

- TOP, N., ŞAHİN, İ., & Gökçe, H. (2019). DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE YAPAY KEMİK İSKELESİ TASARIMI. *Selcuk University Journal of Engineering Sciences*, 18(3), 209-228.
- Tripathi, G., & Basu, B. (2012). A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations. *Ceramics International*, 38(1), 341-349.
- Tutkun, L. (2010). *Biyobozunur Kompozit Kemik Doku İskeleleri: Polimerik Fiber/Malzeme Destekli Kriyojeller Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara].
- Vernon-Parry, K. D. (2000). Scanning electron microscopy: an introduction. *III-Vs review*, 13(4), 40-44.
- Warren, B. (1941). X-ray diffraction methods. *Journal of applied physics*, 12(5), 375-384.
- Werner, J., Linner-Krčmar, B., Friess, W., & Greil, P. (2002). Mechanical properties and in vitro cell compatibility of hydroxyapatite ceramics with graded pore structure. *Biomaterials*, 23(21), 4285-4294.
- Xiong, Y.-Z., Gao, R.-N., Zhang, H., Dong, L.-L., Li, J.-T., & Li, X. (2020). Rationally designed functionally graded porous Ti6Al4V scaffolds with high strength and toughness built via selective laser melting for load-bearing orthopedic applications. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 104, 103673.
- Yoshikawa, H., & Myoui, A. (2005). Bone tissue engineering with porous hydroxyapatite ceramics. *Journal of Artificial Organs*, 8, 131-136.
- Zanotto, E. D. (2010). Bright future for glass-ceramics. *American Ceramics Society Bulletin*, 89(8), 19-27.
- Zhou, C., Deng, C., Chen, X., Zhao, X., Chen, Y., Fan, Y., & Zhang, X. (2015). Mechanical and biological properties of the micro-/nano-grain functionally graded hydroxyapatite bioceramics for bone tissue engineering. *journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 48, 1-11.
- Zhou, X., Zhang, N., Mankoci, S., & Sahai, N. (2017). Silicates in orthopedics and bone tissue engineering materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 105(7), 2090-2102.
- Zyman, Z., Weng, J., Liu, X., Li, X., & Zhang, X. (1994). Phase and structural changes in hydroxyapatite coatings under heat treatment. *Biomaterials*, 15(2), 151-155.

