

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI**

**BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN ERBİYUM (Er^{3+}) VE
TERBİYUM (Tb^{3+}) İÇEREN LÜMİNESANS ÖZELLİKLİ BİYOAKTİF
CAMLARIN SENTEZİ**

Begüm RAHMAN

**Danışman
Prof. Dr. Aylin M. DELİORMANLI**



MANİSA-2021

Begüm
RAHMAN

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN ERBİYUM (Er^{3+}) VE TERBİYUM (Tb^{3+}) İÇEREN
LÜMİNESANS ÖZELLİKLİ BİYOAKTİF CAMLARIN SENTEZİ

2021

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Begüm RAHMAN



İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
TABLO DİZİNİ	VIII
TEŞEKKÜR.....	IX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Doku Mühendisliği.....	4
2.1.1.Kemik Doku Mühendisliği	6
2.2.Biyomalzemeler.....	9
2.2.1.Biyoaktif Camlar.....	13
2.2.1.1.Silika Bazlı Biyoaktif Camlar	13
2.2.1.2.Bor Bazlı Biyoaktif Camlar	18
2.3.Biyoaktif Cam Sentez Yöntemleri	20
2.3.1.Ergitme.....	20
2.3.2.Sol-Jel	21
2.3.3.Elektroegirme.....	23
2.4.Lüminesansın Temel Prensipleri	24
2.4.1.Lüminesant Malzemeler ve Biyomedikal Uygulamaları	28
2.4.2.Nadir Toprak Elementi Katkılı Lüminesant Biyomalzeme ve Biyoaktif Camlar	29
3.DENEYSEL ÇALIŞMALAR	36
3.1.Materyal.....	36
3.2.Yöntem	36
3.2.1.Sol-Jel Yöntemi ile Biyoaktif Cam Tozu Sentezi.....	37
3.2.2.Elektroegirme Yöntemi ile Biyoaktif Cam Nanolif Sentezi.....	39
3.2.3.Biyoaktif Cam Doku İskelesi Hazırlama	40
3.3.Karakterizasyonlar.....	41
3.3.1.Morfolojik Karakterizasyonlar	42
3.3.1.1.SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Analizleri.....	43
3.3.2.Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri.....	43
3.3.3.X Işını Kırınımı (XRD) Analizleri.....	44
3.3.4.Fotolüminesans Analizleri	45

3.3.5.İn Vitro Biyoaktivite	47
3.3.6.İn Vitro Hücre Kültürü	49
3.3.6.1.MTT Analizi.....	50
3.3.6.2.Hücre Morfolojisi.....	51
3.3.7.İlaç Salım Deneyleri	51
3.3.8.İstatistiksel Analiz.....	54
4.BULGULAR VE TARTIŞMA	55
4.1.Morfolojik Özellikler	55
4.2.Yapısal Özellikler.....	66
4.3.Fotoluminesans Özellikler.....	71
4.3.1.Zamana Bağlı Olmayan Floresans Özellikler.....	71
4.3.2.Bozunma Süresi Analizi	77
4.4.In Vitro Biyoaktivite	82
4.5.In Vitro Hücre Kültürü Çalışmaları.....	99
4.6.İlaç Salım Deneyleri.....	110
4.6.1.Gentamisin Sülfat Salımı	110
4.6.2.Amoksisilin trihidrat Salımı.....	116
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	123
KAYNAKLAR	126
ÖZGEÇMİŞ	136

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

3B	3 Boyutlu
BCP	Bifazik Kalsiyum Fosfat
BG	Biyoaktif Cam
BMP	Kemik Morfogenetik Proteinler
CaP	Kalsiyum Fosfat
CRISPR	Kümelenmiş Düzenli Aralıklı Kısa Polindromik Tekrarlar
ECM	Ekstraselüler Matriks
Er	Erbiyum
FDA	Food And Drug Administration (Amerika Gıda ve İlaç Dairesi)
FTIR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
GAG	Glikozaminoglikanlar
HA	Hidroksiapatit
HCA	Karbonat Hidroksiapatit
iPSC	İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücrelet
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromit
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline)
PGA	Poliglikolid
PL	Fotoluminesans
PLA	Polilaktik Asit
PLGA	Poli(Laktik-Ko-Glikolik Asit)
SBF	Yapay Vücut Sıvısı (Simulated Body Fluid)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
Tb	Terbiyum
TCP	β -Trikalsiyum Fosfat
UV	Ultraviyole
XRD	X-Işını Kırınımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Doku mühendisliği uygulamasını gösteren şematik; (a) hastadan izole edilen kaynak hücre, (b) hücrelerin <i>in vitro</i> ortamda çoğaltılması, (c) hücrelerin skafold üzerine ekilmesi, (d) <i>in vitro</i> kültür ortamıyla dokunun büyümesi, (e) hastaya implantasyon [21].....	5
Şekil 2.2. Kemik hücrelerinde zamanla meydana gelen değişimi gösteren şematik [30].	7
Şekil 2.3. Kemik bağlanması için gerekli kompozisyon diyagramı [58].....	14
Şekil 2.4. Alkali silikat camın ağ yapısı [59].....	15
Şekil 2.5. Fizyolojik sıvılar ile temas eden biyoaktif cam yüzeyinde zamanla gerçekleşen değişimler [58].	16
Şekil 2.6. Elektromanyetik dalga spektrumunu gösteren şematik [87].	24
Şekil 2.7. Fotoluminesans bir sistem için Jablonski enerji-düzey diyagramı [90]. ...	27
Şekil 3.1. Jelleşme işlemi tamamlanan Er^{3+} içeren 13-93 örneklerin görüntüleri.	38
Şekil 3.2. 60 °C’de yaşlandırma işlemine tabi tutulan örneklerin görüntüleri.....	38
Şekil 3.3. 120 °C’de kurutma işlemi yapılan örneklerin görüntüleri.....	38
Şekil 3.4. Örneklerin agat havan içerisinde öğütülme işlemi.	39
Şekil 3.5. Tez çalışması kapsamında kullanılan elektroğirme cihazını ve yapılan elektroğirme işlemi gösteren fotoğraflar.	39
Şekil 3.6. Tez kapsamında sentezlenen biyoaktif cam tozları ve nanoliflerden doku iskelesi hazırlamak için 690 °C’de yapılan sinterleme öncesi, örneklerin fırın içindeki görüntüleri (a) biyoaktif cam toz ve (b) biyoaktif cam nanolifler; (c) sinterleme sonrası kalıptan çıkarılan nanoliflerden hazırlanmış doku iskelesi; (d) tozlar ile hazırlanan biyoaktif cam doku iskelesi; (e) sterilizasyon için etil alkol içerisinde bekletilen doku iskeleleri.	41
Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan floresans spektrofotometrenin görüntüsü [122].....	45
Şekil 3.8. Floresans spektrofotometreye ait şematik gösterim	46
Şekil 4.1. Er^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım grafikleri (a) 1Er/13-93, (b) 3Er/13-93, (c) 5Er/13-93, (d) 13-93.	56
Şekil 4.2. Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım grafikleri (a) 1Tb/13-93, (b) 3Tb/13-93, (c) 5Tb/13-93 (d) 13-93.....	56
Şekil 4.3. Proje kapsamında sol-jel yöntemi ile sentezlenen (a) 13-93, (b) 5Er/13-93, (c) 5Tb/13-93 biyoaktif cam tozlarının SEM mikrografları (ölçek:400 nm).....	57
Şekil 4.4. Kalsinasyon öncesi (a) 1Tb/13-93 ve (b) 13-93 nanoliflerin dijital görüntüleri.....	58
Şekil 4.5. Proje kapsamında sentezi yapılan biyoaktif cam nanoliflerin kalsinasyon sonrası görüntüleri (a), (b), (c).	58
Şekil 4.6. Çalışmada hazırlanan cam nanoliflerin kalsinasyon öncesinde (a) 13-93, (b) 5Er/13-93, (c) 5Tb/13-93 lif çapı dağılımını gösteren grafikler.	59
Şekil 4.7. Er^{3+} içeren biyoaktif cam nanoliflerin (kalsinasyon öncesi) düşük (5000x, ölçek: 4 µm) ve yüksek (25000x, ölçek: 1 µm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri (a),(b) 13-93; (c),(d) 1Er/13-93; (e),(f) 3Er/13-93; (g),(h) 5Er/13-93.....	60
Şekil 4.8. Tb^{3+} içeren 13-93 liflerin (kalsinasyon öncesi) düşük (5000x, ölçek:4 µm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 µm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri (a),(b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93; (e),(f)5Tb/13-93.	61
Şekil 4.9. Er^{3+} içeren 13-93 liflerin (625 °C’de kalsinasyon sonrası) düşük (5000x, ölçek:4 µm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 µm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a),(b) 1Er/13-93, (c),(d) 3Er/13-93, (e),(f) 5Er/13-93.....	62

Şekil 4.10. Tb ³⁺ içeren 13-93 liflerin (625 °C’de kalsinasyon sonrası) düşük (5000x, ölçek:4 µm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 µm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri (a),(b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93, (e),(f) 5Tb/13-93.	63
Şekil 4.11. Proje kapsamında sentezlenen (a) biyoaktif cam tozlarından ve (b) kısa nanoliflerden oluşturulan disk şeklindeki doku iskelelerinin dijital görüntüleri.	64
Şekil 4.12. Sentezlenen (a),(b) biyoaktif cam tozlarından ve (c),(d) kısa nanoliflerden oluşturulan disk şeklindeki doku iskelelerinin optik mikroskop görüntüleri.....	64
Şekil 4.13. Er ³⁺ ve Tb ³⁺ katkılı biyoaktif cam (a)nanolif ve (b)tozlarından hazırlanan skafoldların porozite değerlerini gösteren grafikler.	65
Şekil 4.14. (a)Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren biyoaktif cam tozlarının kalsinasyon sonrası FTIR spektrumları.	67
Şekil 4.15. Elektroeğirme yöntemi ile üretilen (a) Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin kalsinasyon sonrasındaki FTIR spektrumları.	68
Şekil 4.16. Sol-jel yöntemi ile üretilen (a) Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren biyoaktif cam tozlarının kalsinasyon sonrası XRD diyagramları.	69
Şekil 4.17. Elektroeğirme yöntemi ile üretilen (a) Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin kalsinasyon sonrasındaki XRD diyagramları.	70
Şekil 4.18. Katkısız ve Er ³⁺ katkılı (a) toz ve (b) nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin eksitasyon (Ex:374 nm) ve emisyon spektrumları.	73
Şekil 4.19. Katkısız ve Tb ³⁺ katkılı (a) toz ve (b) nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin eksitasyon (Ex:374 nm) ve emisyon spektrumu.	75
Şekil 4.20. Katkısız, Er ³⁺ ve Tb ³⁺ katkılı (a) toz, (b) nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin eksitasyon (Ex:374 nm) ve emisyon spektrumu.	76
Şekil 4.21. SBF içinde (a) 7 gün, (b) 14 gün bekletilen Er ³⁺ ve Tb ³⁺ içeren biyoaktif cam tozlarının ağırlık kayıplarını gösteren grafikler.....	83
Şekil 4.22. SBF içinde (a) 7 gün ve (b) 14 gün bekletilen Er ³⁺ ve Tb ³⁺ içeren biyoaktif cam liflerinin ağırlık kayıplarını gösteren grafikler.	84
Şekil 4.23. SBF içinde 7 gün bekletilmiş (a) Er ³⁺ , (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının FTIR spektrumları.....	86
Şekil 4.24. SBF içinde 7 gün bekletilmiş (a) Er ³⁺ , (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin FTIR spektrumları.	87
Şekil 4.25. SBF içinde 14 gün bekletilmiş (a) Er ³⁺ , (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının FTIR spektrumları.....	88
Şekil 4.26. SBF içinde 14 gün bekletilmiş (a) Er ³⁺ , (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam liflerinin FTIR spektrumları.	89
Şekil 4.27. SBF içinde 30 gün bekletilmiş (a) Er ³⁺ , (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının FTIR spektrumları.....	90
Şekil 4.28. SBF içinde 30 gün bekletilmiş (a) Er ³⁺ , (b) Tb ³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin FTIR spektrumları.	91
Şekil 4.29. SBF içinde 7 gün beklemiş Er ³⁺ içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek:2 µm) ve yüksek (50000x, ölçek:400 nm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a),(b) 1Er/13-93; (c),(d) 3Er/13-93; (e),(f) 5Er/13-93.	93
Şekil 4.30. SBF içinde 7 gün beklemiş Er ³⁺ içeren 13-93 liflerin (5000x, ölçek:4 µm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 µm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a), (b)13-93; (c), (d) 1Er/13-93; (e), (f) 3Er/13-93; (g), (h) 5Er/13-93.	94
Şekil 4.31. SBF içinde 7 gün beklemiş Tb ³⁺ içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek:2 µm) ve yüksek (50000x, ölçek:400 nm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a)(b) 13-93; (c)(d) 1Tb/13-93; (e)(f) 3Tb/13-93; (g)(h) 5Tb/13-93.	95

Şekil 4.32. SBF içinde 7 gün beklemiş Tb^{3+} içeren 13-93 liflerin (5000x, ölçek:4 μm),(25000x, ölçek:1 μm) ve (ölçek:100 nm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri (a), (b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93, (e),(f) 5Tb/13-93.	96
Şekil 4.33. SBF içinde 30 gün beklemiş Er^{3+} içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek:2 μm) ve yüksek (50000x, ölçek:400nm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a),(b) 13-93; (c),(d) 1Er/13-93; (e),(f) 3Er/13-93; (g),(h) 5Er/13-93.	97
Şekil 4.34. SBF içinde 30 gün beklemiş Er^{3+} içeren 13-93 liflerin (ölçek:1 μm) büyütmedeki SEM görüntüleri, (a) 13-93; (b) 1Er/13-93; (c) 3Er/13-93; (d) 5Er/13-93.	98
Şekil 4.35. SBF içinde 30 gün beklemiş Tb^{3+} içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek:2 μm) ve yüksek (50000x, ölçek:400 nm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a), (b) 1Tb/13-93; (c), (d) 3Tb/13-93; (e), (f) 5Tb/13-93.....	98
Şekil 4.36. SBF içinde 30 gün beklemiş Tb^{3+} içeren 13-93 liflerin (25.000x, ölçek:1 μm) büyütmedeki SEM görüntüleri, (a) 13-93; (b) 1Tb/13-93; (c) 3Tb/13-93; (d) 5Tb/13-93.....	99
Şekil 4.37. Proje kapsamında sentezlenen Er^{+3} ve Tb^{+3} ilaveli 13-93 biyoaktif cam (a) tozları ve (b) liflerinden hazırlanan skafoldlarla <i>in vitro</i> hücre canlılığını belirlemek amacıyla yapılan MTT test sırasında formazan oluşumunu gösteren fotoğraflar....	100
Şekil 4.38. MC3T3-E1 hücreleri ile yapılan MTT test sonuçlarını gösteren grafikler (a) Er^{3+} içeren (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarından hazırlanan örnekler.	102
Şekil 4.39. MC3T3-E1 hücreleri ile yapılan MTT test sonuçlarını gösteren grafikler (a) Er^{3+} içeren (b) Tb^{3+} içeren, elektroğirilmiş 13-93 biyoaktif cam nanoliflerinden hazırlanan örnekler.....	103
Şekil 4.40. Hücre kültürü deneyleri sonunda (72 saat) Er^{3+} içeren biyoaktif cam tozları ile hazırlanan doku iskeleleri üzerindeki hücre morfolojilerini gösteren (1000x, ölçek:20 μm), (2500x, ölçek:10 μm) ve (10000x, ölçek:2 μm) büyütmelelerdeki SEM mikrografları (a),(b) 13-93; (c),(d) 1Er/13-93; (e),(f) 3Er/13-93; (g),(h) 5Er/13-93.	105
Şekil 4.41. Hücre kültürü deneyleri sonunda (72 saat) Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları ile hazırlanan doku iskeleleri üzerindeki hücre morfolojilerini gösteren (1000x, ölçek:20 μm),(2500x, ölçek:10 μm) ve (30000x, ölçek:1 μm) büyütmelelerdeki SEM mikrografları (a),(b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93; (e) 5Tb/13-93.....	106
Şekil 4.42. Hücre kültürü deneyleri sonunda (72 saat) Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam nanolifler ile hazırlanan örnekler üzerindeki hücre morfolojilerini gösteren (2500x, ölçek:10 μm) ve yüksek (5000x, ölçek:4 μm) büyütmelelerdeki SEM mikrografları (a),(b) 5Er/13-93; (c),(d) 5Tb/13-93.....	107
Şekil 4.43. Er^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saat kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri; (a) 13-93, (b) 1Er/13-93, (c) 3Er/13-93, (d) 5Er/13-93 (büyütme x100).	108
Şekil 4.44. Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saatlik kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri; (a) 13-93, (b) 1Tb/13-93, (c) 3Tb/13-93, (d) 5Tb/13-93 (büyütme x100).	109
Şekil 4.45. Er^{3+} içeren biyoaktif cam nanolifleri kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saatlik kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri; (a)1Er/13-93, (b) 3Er/13-93, (c) 5Er/13-93 (büyütme x100).	109

Şekil 4.46. Tb ³⁺ içeren biyoaktif cam nanolifleri kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saatlik kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri. (a) 13-93, (b) 1Tb/13-93, (c) 3Tb/13-93, (d) 5Tb/13-93 (büyütme x100).	110
Şekil 4.47. (a) PBS içinde gentamisin sülfatın kalibrasyon eğrisini gösteren grafik (256 nm'de), (b) gentamisin sülfatın kimyasal yapısını gösteren şematik.	111
Şekil 4.48. (a) Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine gentamisin sülfat salım yüzdelerini gösteren grafikler (Absorbans: 256 nm).	113
Şekil 4.49. (a) Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren, elektroğirme ile üretilen biyoaktif cam naolifler kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine gentamisin sülfat salım yüzdelerini gösteren grafikler (Absorbans: 256 nm).	115
Şekil 4.50. (a) PBS içinde amoksisilin trihidrat kalibrasyon eğrisini gösteren grafik (247 nm'de), (b) amoksisilin trihidrat kimyasal yapısını gösteren şematik.	117
Şekil 4.51. (a) Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine amoksisilin trihidrat salım yüzdelerini gösteren grafikler (Absorbans: 247 nm).	118
Şekil 4.52. (a) Er ³⁺ ve (b) Tb ³⁺ içeren, elektroğirme ile üretilen biyoaktif cam naolifler kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine amoksisilin trihidrat salım yüzdelerini gösteren grafikler (Absorbans: 247 nm).	120

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1. Farklı kompozisyonlara sahip biyoaktif camların bileşimleri [72].....	18
Tablo 2.2. Er^{3+} ve Tb^{3+} elementlerinin biyoışlevselliğini özetleyen tablo [112].	30
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan biyoaktif camların bileşimi (ağırlıkça%).....	37
Tablo 3.2. Kan plazmasının iyonik konsantrasyonları (mM) [142] ve SBF [141]....	47
Tablo 3.3. Yapay vücut sıvısı (SBF) reçetesi (1 litre için).....	48
Tablo 3.4. PBS hazırlamak için (1 litre) gerekli malzemeler ve miktarları	52
Tablo 4.1. Proje kapsamında sol-jel yöntemi ile sentezlenen biyoaktif cam tozlarının d_{10} , d_{50} ve d_{90} değerleri.....	57
Tablo 4.2. Katkısız ve Er^{3+} katkılı biyoaktif cam tozlarının mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.....	78
Tablo 4.3. Katkısız ve Er^{3+} katkılı biyoaktif cam nanoliflerin mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.....	79
Tablo 4.4. Katkısız ve Tb^{3+} katkılı biyoaktif cam tozlarının mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.....	79
Tablo 4.5. Katkısız ve Tb^{3+} katkılı biyoaktif cam nanoliflerin mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.....	80
Tablo 4.6. Gentamisin sülfat yüklü, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam partikül bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri	116
Tablo 4.7. Gentamisin sülfat yüklü, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam lif bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri	116
Tablo 4.8. Amoksisilin trihidrat yüklü, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam toz bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri	121
Tablo 4.9. Amoksisilin trihidrat yüklü, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam nanolif bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri	122

TEŞEKKÜR

Çalışmamın ve lisansüstü öğrenim hayatımın her aşamasında bana destek ve yardımcı olan, tecrübeleri ile beni aydınlatan ve desteğini hiç eksik etmeyen, kendisini tanımaktan büyük onur duyduğum sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. Aylin M. DELİORMANLI' ya sonsuz teşekkür ederim.

Hücre kültürü deneylerinin yapılmasını sağlayan başta Sayın Doç. Dr. Harika ATMACA İLHAN olmak üzere tüm Manisa Celal Bayar Üniversitesi, DEFAM personeline teşekkürü bir borç bilirim. Lüminesans özelliklerin analizinde yardımcı olan Öğretim Görevlisi Dr. Sibel OĞUZLAR'a ve değerli yorumları için Sayın Prof. Dr. Kadriye ERTEKİN'e şükranlarımı sunarım.

Hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen, bana her zaman inanan ve hep yanımda olan çok sevgili annem Kezban, babam Niyazi ve ablam Hazal ÇELİKER'e yürekten teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve beni her konuda destekleyen hayat arkadaşım Dr. Fatih RAHMAN'a gösterdiği sabır ve yardımları için teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenen 119M934 nolu bilimsel araştırma projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Begüm RAHMAN
Manisa, 2021

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Biyomedikal Uygulamalar için Erbiyum (Er^{3+}) ve Terbiyum (Tb^{3+}) içeren Lüminesans Özellikli Biyoaktif Camların Sentezi

Begüm RAHMAN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aylin M. DELİORMANLI

Biyoaktif camlar, doku mühendisliği uygulamaları için gelecek vaad eden malzemelerdir. Bu çalışmada, kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere, erbiyum (Er^{3+}) ve terbiyum (Tb^{3+}) (1, 3, 5 ağırlık%) içeren silika bazlı, 13-93 biyoaktif camlar partikül ve nanolif formlarında sırasıyla sol-jel ve elektroegirme yöntemleri ile sentezlenmiştir. Hazırlanan biyoaktif camların, yapısal ve morfolojik özellikleri, x-ışını kırınımı (XRD), Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri ile incelenmiştir. Ayrıca, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif camların, lüminesans özellikleri, fotolüminesans (PL) spektroskopisi kullanılarak araştırılmıştır. Biyoaktif camların *in vitro* hidroksiapatit oluşturma yeteneği yapay vücut sıvısı (SBF) içerisinde zamanın fonksiyonu olarak değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında sentezlenen biyoaktif camların sitotoksitesisi, *in vitro* ortamda MC3T3-E1 hücre hattı kullanılarak MTT yöntemi ile test edilmiştir. Sentezlenen biyoaktif camlara gentamisin sülfat ve amoksisilin trihidrat yüklenerek fosfat tamponlu salin (PBS) içerisindeki salım davranışları incelenmiştir. Sonuçlar, Er^{3+} ve Tb^{3+} ilavelerinin biyoaktif camda kristalizasyona neden olmadığını ve belirtilen nadir toprak element iyonlarının biyoaktif camlara floresans özellik kazandırdığını göstermiştir. Sentezlenen biyoaktif cam tozlarının medyan tane boyutunun $\sim 2.5\text{-}3.5\ \mu\text{m}$ ve nanoliflerin ortalama çaplarının 275-665 nm aralığında olduğu görülmüştür. Silika bazlı 13-93 biyoaktif camlar için aktivatör iyonlarının optimum konsantrasyonunun, ışıltama yoğunluğu açısından ağırlıkça %1 Er^{3+} ve ağırlıkça %5 Tb^{3+} olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca cam ağında Er^{3+} ve Tb^{3+} iyonlarının varlığı floresans bozunma sürelerinde bir artışa neden olmuş ve katkı konsantrasyonu arttıkça daha uzun bozunma süreleri elde edilmiştir. Sol-jel yöntemi ile üretilen biyoaktif cam partiküller daha güçlü emisyon şiddeti sergilerken, elektroegirme yöntemi ile üretilen nanolif formundaki örnekler daha uzun bozunma süreleri göstermiştir. Yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilen $\text{Er}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ katkılı ve katkısız 13-93 biyoaktif camların yüzeyinde 7 günden itibaren hidroksiapatit oluştuğu, camlara eklenen Er^{3+} ve Tb^{3+} 'nin HA oluşumunu hızlandırdığı anlaşılmıştır. *In vitro* sitotoksitesite tayini bulgularına göre 72 saat hücre kültürü sonunda Er^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan doku iskeleleri, 1% Er^{3+} 'den daha büyük konsantrasyonlarda sitotoksik etkiye neden olmuştur. Diğer yandan, Tb^{3+} içeren örneklerde konsantrasyon artışına bağlı olarak hücre canlılığında önemli bir azalma gözlenmemiştir. Benzer şekilde, nanolif bazlı örneklerde artan Er^{3+} ve Tb^{3+} konsantrasyonlarında hücre canlılık değerlerinde azalma gerçekleşmemiştir. Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren toz ve nanolifler kullanılarak hazırlanan biyoaktif cam doku iskelelerine

yüklenen gentamisin sülfat PBS içerisinde ani salım yaparken, aynı koşullar altında amoksisilin trihidrat salım hızının daha yavaş olduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında, Er^{+3} ve Tb^{+3} içeren, sol-jel ve elektroçirne yöntemleri ile üretilmiş, lüminesans özellikli 13-93 biyoaktif camların kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyoaktif cam, Erbiyum, Terbiyum, Sol-jel, Elektroçirne, Lüminesans, Kemik doku mühendisliği.

2021, 135 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Synthesis of Luminescent Bioactive Glasses Containing Erbium (Er^{3+}) and Terbium (Tb^{3+}) for Biomedical Applications

Begüm RAHMAN

Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Metallurgical and Materials Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Aylin M. DELİORMANLI

Bioactive glasses are promising materials for tissue engineering applications. In this study, silicate-based 13-93 bioactive glasses containing erbium (Er^{3+}) and terbium (Tb^{3+}) (1, 3, 5 wt%) were synthesized to be used in bone tissue engineering applications, in the form of particle and nanofiber by sol-gel and electrospinning methods, respectively. The structural and morphological properties of the prepared bioactive glasses were examined by x-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and scanning electron microscope (SEM) analyzes. In addition, the luminescence properties of bioactive glasses containing Er^{3+} and Tb^{3+} were investigated using photoluminescence (PL) spectroscopy. The ability of bioactive glasses to form hydroxyapatite *in vitro* was evaluated as a function of time in simulated body fluid (SBF). The cytotoxicity of the bioactive glasses synthesized within the scope of the study was tested *in vitro* by the MTT method using the MC3T3-E1 cell line. Gentamicin sulfate and amoxicillin trihydrate were loaded into the synthesized bioactive glasses and their release behavior in phosphate buffered saline (PBS) was investigated. The results showed that the additions of Er^{3+} and Tb^{3+} did not cause crystallization in bioactive glasses and mentioned rare earth element ions induced fluorescence properties. The median particle size and average diameter of the prepared glass powders and fibers were in the range of $\sim 2.5\text{-}3.5\ \mu\text{m}$ and 280-660 nm, respectively. Optimum concentration of the activator ions for the silicate-based 13-93 bioactive glasses were 1 wt% Er^{3+} and 5 wt% Tb^{3+} . Additionally, presence of Er^{3+} and Tb^{3+} ions in the glass network, extended the fluorescence decay times and longer decay times were obtained as the dopant concentration was increased. The sol-gel derived bioactive glass particles exhibited stronger emission intensities whereas electrospun nanofibers showed extended decay times. It has been observed that hydroxyapatite deposited on the surface of the bare as well as the Er^{3+} and Tb^{3+} -containing 13-93 bioactive glasses which were kept in simulated body fluid for 7 days and the addition of the Er^{3+} and Tb^{3+} accelerated the HA formation. According to the findings of the *in vitro* cytotoxicity experiments after 72 hours of cell culture, Er^{3+} -containing bioactive glass powder- based scaffolds showed a cytotoxic effect at concentrations greater than 1% Er^{3+} . On the other hand, no significant decrease in cell viability was observed in samples containing Tb^{3+} as the concentration was increased. Similarly, a decrease in cell viability was not observed in Er^{3+} and Tb^{3+} containing bioactive glass nanofiber-based samples Er^{3+} and Tb^{3+} as a function of rare earth element concentration. Gentamicin sulfate-loaded bioactive glass scaffolds prepared using powder and nanofibers containing Er^{3+} and Tb^{3+} showed burst release in PBS, however the release

rate of amoxicillin trihydrate was lower under the same conditions. It was concluded that Er^{+3} and Tb^{+3} -containing luminescent 13-93 bioactive glasses, produced by sol-gel and electrospinning methods, can be utilized in bone tissue engineering applications.

Keywords: Bioactive glass, Erbium, Terbium, Sol-gel, Electrospinning, Luminescence, Bone tissue engineering.

2021, 135 pages



1. GİRİŞ

Doku mühendisliği travma, yaralanma, hastalık veya yaşlanma sonucu kaybolan veya hasar gören doku ve organların onarımı ve rejenerasyonu ile ilgilenen bir bilim dalıdır [1]. Kemik doku mühendisliğinin ürünü olan biyolojik olarak parçalanabilir biyomalzemelerden elde edilen yapı iskelelerinin implantasyonunu ve implantasyon sonrasında hasarlı kemik dokusuna işlevini geri kazandırmayı amaçlamaktadır. Kemik yenilenmesi amacı ile kullanılan biyomalzemeler arasında biyouyumluluğu, biyoaktivitesi, osteokondüktifliği ve kemik üretkenliği sebebiyle en çok ilgi çeken malzeme, biyoaktif camlar olmuştur [2] [3]. Biyoaktif camlar, kimyasal bileşimleri sert dokular ile benzerlik gösterdiği için temel inorganik biyomalzemeler olarak kabul edilmektedir [4]. Travma, enfeksiyon ve kötü huylu tümörün neden olduğu kemik kusurlarını gidermek amacıyla implantasyonu sağlandığında biyoaktif camın yüzeyinde inorganik kemik bileşenlerinin bileşimiyle kimyasal olarak aynı olan hidroksiapatit (HA) tabakası oluşmakta ve daha sonra oluşan bu tabaka canlı doku ile bütünleşmektedir. [5].

Hench tarafından 1971 yılında geliştirilen ilk silika bazlı biyoaktif cam olan 45S5, 46.1 mol% SiO_2 , 24.4 mol%, Na_2O , 26.9 mol% CaO , 2.6 mol% P_2O_5 kompozisyonuna sahip olup aktif olarak klinik uygulamalarda kullanılmaktadır [6]. Biyoaktif camın vücut sıvısı ile teması sonrası yüzeyinde meydana gelen reaksiyonlar, kritik konsantrasyonlarda çözünebilir Si, Ca, P ve Na iyonlarının salınmasına neden olmaktadır. Bu iyonların salınmasına verilen olumlu hücre içi ve hücre dışı tepkiler, biyoaktif camların hızlı kemik oluşumunu desteklediğini göstermektedir. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan bir başka silika bazlı biyoaktif cam olan 13-93 (ağırlık%) 53 SiO_2 , 6 Na_2O , 12 K_2O , 5 MgO , 20 CaO ve 4 P_2O_5 içeriğine sahiptir [7]. Hem 45S5 hem de 13-93 biyoaktif camlar FDA (ABD Gıda ve İlaç İdaresi) tarafından *in vivo* kullanım için onaylanmaktadır. Biyoaktif camlar, diş hekimliği ve ortopedi alanında, doku mühendisliğinde, ilaç ve gen dağıtımında ve diğer birçok biyomedikal alanda önemli bir rol oynamaktadır [8].

Fiziksel, kimyasal, mekanik, biyouyumluluk ve biyoaktivite gibi temel özellikler yönünden çok daha efektif ürünler geliştirebilmek için teröpatik elementler

biyomalzemelere eklenebilmekte ve istenilen özellikler bu elementler sayesinde malzemeye kazandırılmaktadır. Biyomalzemelere bu şekilde kazandırılan özelliklerden birisi lüminesans yani ısısında bir değişme olmaksızın elektromanyetik ışıyım yaymasıdır [9]. Görünür bölgede bir ışıık olarak tanımlanan lüminesans, malzemeye gönderilen enerjinin temel haldeki atom veya molekülü uyarması sonucu oluşan elektromanyetik radyasyon için kullanılan genel bir terimdir [10]. Bir malzemeye nadir toprak elementleri veya lantanit grubu metalleri eklenerek malzemenin lüminesans özellik göstermesi sağlanmaktadır. Son yıllarda biyomedikal uygulama alanlarında, lüminesans görüntüleme, özellikle yakın kızılötesi (NIR) spektrum bölgesinde önemli bir araç haline gelmekte ve kullanımı oldukça yaygınlaşmaktadır [11].

Xue ve ark. tarafından yapılan çalışmada Eu^{3+} katkılı fotolüminesant biyoaktif cam nanopartiküllerinin (BGN-Eu) ilaç salımı ve hücre görüntülemesi için kullanımı ayrıca BGN-Eu'nun biyoaktivitesi, kontrollü ilaç (teofilin) yükleme yeteneği ve salım davranışı araştırılmıştır [12].

Baranowska ve ark. tarafından yapılan çalışmada samaryum iyonlarının katkısının 45S5 biyoaktif camın spektroskopik ve biyolojik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Sonuçlar, Sm^{3+} iyonlarının sadece biyoaktif camların lüminesant özelliklerini etkilemediğini, aynı zamanda hidroksikarbonapatit (HCA) tabakasını oluşturma kabiliyetlerini de arttırdığını göstermiştir [13].

Li ve ark. tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışma, $\text{Er}^{3+} / \text{Yb}^{3+}$ katkısının biyoaktif camlara lüminesant özellik kazandırdığını göstermektedir [14]. Kalaivani ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışma, biyoaktif camlara ilave edilen $\text{Tb}^{3+} / \text{Yb}^{3+}$ nadir toprak elementlerinin katkısı ile lüminesant özellikli çok bileşenli bir biyoaktif cam geliştirmeyi amaçlamaktadır [15].

Deliormanlı ve ark. yaptıkları bir çalışmada biyomedikal uygulamalar için farklı konsantrasyonlarda seryum, galyum ve vanadyum oksitler içeren borat bazlı 13-93B3 camlarının fotolüminesans ve bozunma özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada hazırlanan biyoaktif cam partiküllerin katkı konsantrasyonuna bağlı olarak dikkate

değer bir fotolüminesans gösterdiği ve biyogörüntüleme uygulamalarında kullanım potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır [16].

Biyoaktif camların gelişmiş biyolojik özelliklere, yüksek biyoaktiviteye, hidroksiapatit oluşturma yeteneğine ve yeni kemik oluşumunu destekleyici özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Erbiyum (Er^{3+}) ya da terbiyum (Tb^{3+}) katkısının, biyoaktif camın yapay vücut sıvısı (SBF) içindeki *in vitro* hidroksiapatit (HA) oluşturma yeteneğini arttırmasının yanında silikat bazlı 13-93 biyoaktif camlara görünür ışık bölgesinde lüminesant özellik kazandıracağı da düşünülmüştür. Literatürde, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif camlara ilişkin yayınlanmış bir çalışma bulunmamaktadır. Lüminesant özellik kazandırılmış 13-93 biyoaktif camların *in vivo* rezorpsiyon/degradasyonunun biyomedikal görüntüleme cihazları sayesinde takip edilmesi ve ilaç yüklenen biyoaktif camların *in vivo* ilaç salım miktarının tespit edilmesinin mümkün olacağı öngörülmüştür.

Bu amaçla mevcut proje kapsamında Er^{3+} ve Tb^{3+} katkılı biyoaktif camlar sol-jel ve elektroegirme yöntemiyle sırasıyla toz ve lif formunda sentezlenmiştir. Hazırlanan biyoaktif camların yapısal ve morfolojik özellikleri x-ışını kırınımı (XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve tarama elektron mikroskopisi (SEM) ile incelenmiştir. Partikül ve nanolif olmak üzere 2 farklı morfolojide hazırlanan örneklerin fotolüminesans özellikleri araştırılmıştır. Ayrıca, biyoaktif camlar belirli zaman aralıklarında yapay vücut sıvısı (SBF) içerisinde bekletilerek *in vitro* biyoaktiviteleri incelenmiş ve biyouyumlulukları osteoblastik MC3T3-E1 hücre hattı kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında sentezi yapılan biyoaktif camlara gentamisin sülfat ve amoksisilin trihidrat yüklemesi yapılarak ilaç salım davranışları incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Doku Mühendisliği

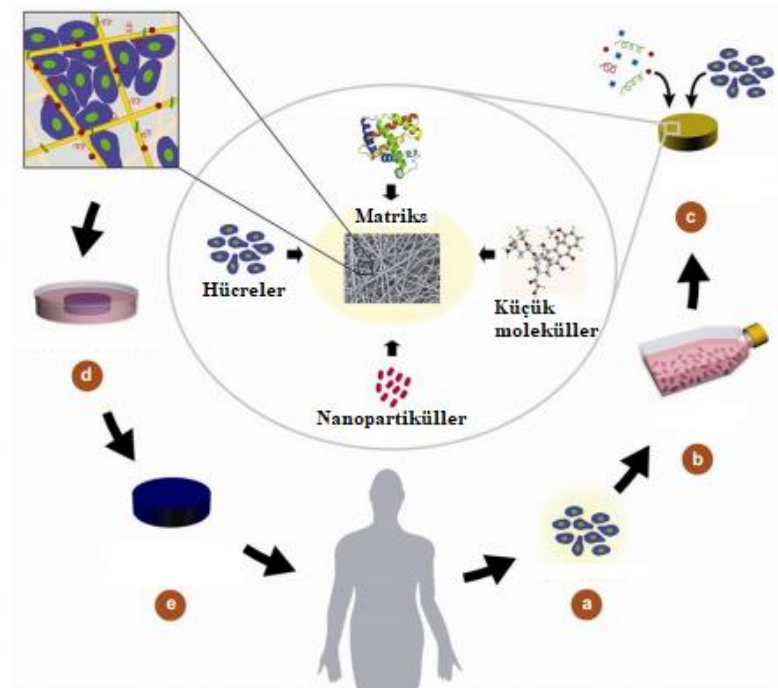
Hastalık, yaralanma ve gelişimsel kusurların sebep olduğu doku ve organ yetmezliği, insan sağlığı açısından yıkıcı ve maliyetli bir sorundur. Organ ihtiyacı olan kişi sayısındaki artış, yaşlanan nüfusun artışı ve en önemlisi doku ve organ bağışındaki eksiklik, doku ve organ kaybı tedavisini zorlaştırmaktadır. Öyle ki 2019 yılı verilerine göre, yalnızca Amerika Birleşik Devletleri’nde, ulusal nakil bekleme listesinde aktif bekleyen 113.000 kişi, 5 yıldan uzun süredir bekleyen yaklaşık 17.000 kişi vardır [17]. Doku ve organ tedarikindeki eksiklik, uyum sorunları, lojistik kısıtlama vb. sebepler ile transplantasyon için gerekli sayıya ulaşamamakta ve gecikmelere sebebiyet verilmektedir. Bu gecikmeler ise hastalığın ilerlemesine ve mortaliteye yol açmaktadır. Bu hayati düzeydeki tıbbi ihtiyacı karşılamak için, doku mühendisliği umut verici bir seçenek haline gelmiştir.

Doku mühendisliği; biyoloji, kimya, mühendislik, tıp, ilaç ve malzeme bilimi gibi farklı alanlardaki bilgi ve teknolojileri birleştirerek, işlevini kaybetmiş hasarlı doku ve organlara işlev kazandıran, bu işlevi kazandırma sürecindeki değişim, tasarım veya yeniden üretim proseslerini kapsayan tedavilerin ve ürünlerin geliştirilmesinden sorumlu multidisipliner bir alandır [18].

Doku Mühendisliği kavramı ilk olarak Langer ve Vacanti tarafından 1993 yılında, işlevini kaybetmiş veya hasar almış dokulara işlevini geri kazandıran, sürdürülebilir kılan ve yeniden modellemeyi hedefleyen, 3 ana unsurdan meydana gelen multidisipliner bir alan olarak açıklanmıştır. Bahsedilen bu ana unsurlar, hasarlı doku işlevinin değiştirilmesi, onarımı, bakımı veya geliştirilmesini amaçlayan terapötik stratejiler üzerinde önemli rol oynamaktadır. Stratejiler geliştirilirken, dokunun karmaşık yapısını üretmek yerine, mevcut dokunun işlevini yeniden kazandırmayı hedefleyerek hücrelerin tutanabileceği ve doku oluşumunu teşvik edeceği bir ortam yaratmayı amaçlamaktadır [18].

Hücre transplantasyonu ile yeni doku ve organların oluşturulma süreci, biyoyumlu 3 boyutlu (3B) kültür ortamını oluşturan biyomalzemelerden elde edilen

bir doku iskelesi üzerine ekilmekte, çoğalma ve farklılaşmanın burada meydana gelmesi sağlanmaktadır. Büyüme faktörleri gibi sinyal molekülleri ile desteklenerek şekillenmekte ve *in vitro* ortamda mineralize doku elde edilmektedir. Hazırlanan dokunun, hasarlı bölgeye nakledilmesi ile son bulmaktadır (Şekil 2.1) [20].



5

Doku ve organlardaki hücreler tarafından salgılanan kolajen, elastik lifler, glikoaminoglikanlar (GAG), proteo-glikanlar ve glikoproteinler gibi çok çeşitli moleküller ekstrasellüler matrik (ECM) yapısını meydana getirmektedir. Dokulardaki hücreler için karmaşık ve dinamik bir yapısal iskele olan ECM, hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Hücreler ve ECM arasında meydana gelen etkileşimler arasında; göç, proliferasyon, farklılaşma, gen ekspresyonu, çeşitli hormonların salgılanması ve büyüme faktörleri gibi hücresel aktivitelerin modüle edilmesi bulunmaktadır. ECM'nin hücrelerle olan bu etkileşimleri değerlendirildiğinde, doku iskelesinin ECM benzerliği arttıkça *in vivo* ortamda başarısının o kadar arttığı görülmektedir [22].

Hücreler için 3-B bir mikro çevre oluşturarak fiziksel bir destek sağlamanın yanı sıra ECM'nin görevleri arasında, hücre-hücre ve hücre-materyal etkileşimlerini organize etmek de bulunmaktadır. Hücrelerin yapışmasını, göçünü, çoğalmasını, farklılaşmasını ve matris birikimini sağlayan çeşitli biyokimyasal ve biyofiziksel uyarıları yapmaktadır. Hücrelerin, ECM ile nasıl etkileşimde bulunacağını ve hücre dışı moleküller tarafından alınan bilgileri hücre içi bir olaya nasıl dönüştürebileceğini bilmesi gerekmektedir. ECM'nin dokuların yapısal desteğine sağladığı katkı düşünülerek, ECM tabanlı iskeleler geliştirmek için çalışmalar yapılmaktadır [23]. Bununla birlikte, vücuda implante edilen tüm materyallerde olduğu gibi, immün sistemin verdiği yanıt, doku iskelesinin konakçı ile bütünleşme ve fonksiyonel olarak etkileşim kurma yeteneğini önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle, konakçı bağışıklık tepkisini doğrudan kontrol edebilen malzemeler tasarlanmaktadır [24].

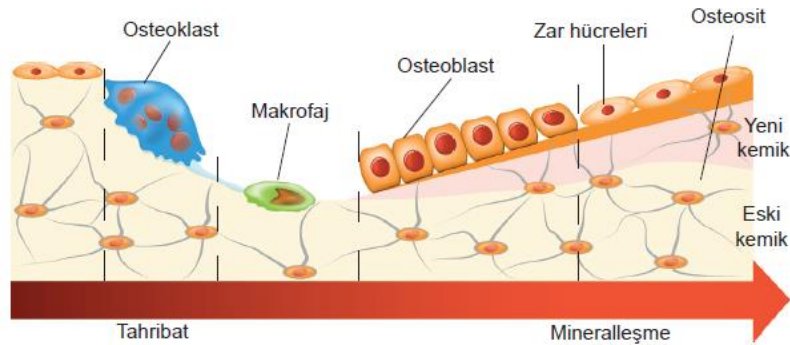
2.1.1. Kemik Doku Mühendisliği

Kemik, stres hattına bağlı olarak benzersiz iyileşme ve yeniden şekillenme kapasitesine sahip dinamik, yüksek derecede vaskülarize bir dokudur [25]. Mineralize bir doku olan kemiklerin, temel işlevi yükü taşımak olsa da iç organları korumak, vücut içindeki hareket sağlayıcı kaslar ve tendonların yapışmasını sağlamak da görevleri arasındadır. Doğuştan anomaliler, travma, metabolik hastalıklar, enfeksiyonlar ve tümörün çıkarılması gibi durumlar kemik kusurlarını meydana getirmektedir [26]. Kemik dokusu yaklaşık olarak ağırlıkça %70 kalsiyum fosfat, ağırlıkça %20 kolajen proteinleri, ağırlıkça %10 su ve kolajen olmayan proteinlerden

(proteoglikanlar ve glikoproteinler gibi) oluşmaktadır [27]. Diğer iskelet dokularının aksine, kemiğin kendi kendini tamir etmesi için kendine özgü bazı rejeneratif yetenekleri mevcuttur. Buna rağmen, çok sayıda kemik hasarı iyileşmemektedir. “Kritik boyutta kemik hasarı” olarak adlandırılan kusurlara cerrahi girişim gerekmektedir [28].

Kompleks, organize ve mineralize bir bağ dokusu olan kemik dokusu, kolajen temelli yapılardan, hidroksiapatit kristallerinden ve kemik hücrelerinden (osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar) meydana gelmektedir. Bu bileşenlerin farklı konumlanması ve yapılanması ile kortikal ve trabeküler adı verilen 2 ana türde kemik dokusu oluşmaktadır. Kortikal kemik olarak da bilinen kompakt kemik güçlü bir yapı olan, yüksek mukavemete sahip, yoğun ve sert dış katmanı oluşturmaktadır. Trabeküler kemik, kortikal kemikten daha hafif ve yoğunluğu daha az süngerimsi trabekül iç katman ağını meydana getirmektedir. Gözenekli destek yapısı sayesinde makroporları çevreleyen ağ görevi görmektedir [29].

Kemiklerimizdeki hücreler; kemik oluşumu, emilimi, bakımı ve (yeniden) modellemesinden sorumludur. Şekil 2.2’de görülen kemik doku hücreleri, kemik oluşumundan sorumlu mezenkimal temelli hücreler (osteoblast, osteosit) ve kemik yıkımından sorumlu hematopoitik hücreler (osteoklast) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır.



Şekil 2.2. Kemik hücrelerinde zamanla meydana gelen değişimi gösteren şematik [30].

Osteoblast hücreler, mezenkimal kök hücrelerden elde edilmektedir ve kemik matriks sentezinden ayrıca mineralizasyonundan sorumludur. Yetişkin iskeletinde,

oluşum veya rezorpsiyona uğramayan (yeniden modellenmeyen) kemik yüzeylerinin çoğu, kemik astar hücreleri ile kaplanmaktadır. Osteosit hücreler, yeni oluşan osteoide dahil olan ve sonunda kireçlenmiş kemik haline gelen olgunlaşmış osteoblastlardır. Kemik üzerindeki fiziksel kuvvetlerdeki değişikliklere yanıt vermek ve mesajları kemik yüzeyindeki hücrelere iletmek, onların oluşum veya emilim yanıtlarını başlatmaya yönlendirmek için ideal olarak yerleştirildikleri düşünülmektedir. Osteoklast hücreler, hematopoietik soydan türetilen makrofajlar gibi çok çekirdekli büyük hücrelerdir. Osteoklastlar, mineralize dokunun emilmesinde işlev görmek ve aktif kemik erimesi bölgelerinde kemik yüzeyine yapışık bulunmaktadır [31].

Kemik rejenerasyonu ve replasmanının temel tanımları olan osteokondüksiyon, osteoindüksiyon ve osteogenezi bilmek, kemik doku mühendisliğinin temelini oluşturmaya yardımcı olmaktadır.

Osteokondüksiyon, bir materyalin kemik oluşturan dokuyu periferden belirli bir kusura yönlendirme kapasitesi olarak tanımlanmaktadır. İskelet bölgelerinde, osteokondüktif malzemeler önemli kemik oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Osteokondüktif biyomalzemelerin örneği olarak hidroksiapatitler verilebilmektedir [32].

Osteoindüksiyon, alıcının kemik biçimindeki hücrelerini çekerek ve uyararak kemik oluşumunu tetikleme yeteneğidir. Osteoindüksiyona genellikle kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler) ve humoral faktörler aracılık etmektedir. Uygun biyomalzemeler kullanıldığında ve ortam uygunluğu sağlandığında, osteoindüktif yapılar heterotopik bölgelerde bile kemik oluşumunu indükleyebilmektedir [33].

Osteogenez, kemik dokusu oluşturma yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Osteoblastik hücreler, osteogenez için ön koşulu oluşturmaktadır. Konakçı hücrelerin implantı istila etmesi engellendiğinde bile osteojenik yapılar kemik oluşturmaktadır [34].

Kemik dolgu malzemesinin ideal olabilmesi için, osteokondüktif matrisin kemik hasarına doğru (içerisine) büyümesine olanak sağlanmasına, canlı ostejenik

hücreler sayesinde gerçekleşen osteogeneze ve buradaki hücrelerin uyarılması için gerekli osteoindüktif ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Doğal anamoli veya hastalıklar gibi sebeplerle meydana gelen kemik kusurlarının giderilmesi ve meydana gelecek veya gelmiş olan hasarın onarılmasını sağlamak amacıyla farklı mekanik, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip yapay kemik dolgu malzemeleri geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır [35].

2.2. Biyomalzemeler

Doku mühendisliğinin önemli bir parçasını oluşturan biyomalzemeler, hücre büyümesi ve doku yenilenmesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. İmplantasyonun odak noktası olan, hücre taşıyıcısı ve doku desteği sağlayan iskelenin *in vivo* davranışını bilmek ve değerlendirmek ancak iskeleyi oluşturan malzemenin bilinmesi ile mümkün olmaktadır. Doku mühendisliğindeki en temel amaç, dokuyu birebir taklit edecek olan iskelenin tasarlanmasıdır. Bu tasarım öncelikli olarak yapıyı oluşturacak biyomalzemenin seçilmesi ile başlamaktadır. Dokunun yenilenmesi ve onarılması için önemli olan seçimde yapılacak olan hata, *in vivo* ortamda istenmeyen durumlara sebebiyet verebilmekte, bu sebeple de malzeme seçimi önem kazanmaktadır [36].

Bir iskele yapısının; biyobozunur, biyouyumlu, gözenekli, hedeflenen doku veya organın mekanik özelliklerine uygun, toksik olmayan, mutajenik olmayan ve immunojenik olmayan ayrıca hücre tutunmasına ve farklılaşmasına uygun yüzey özelliklerine sahip olması gerekmektedir [37]. Laboratuvar ortamında hazırlanan doku iskelesi implantasyon sonrasında vücut tarafından reddedilmemeli, enflamatuvar etkiye sahip olarak vücutta iltihap ve enfeksiyon oluşturmamalı, vücut içerisinde toksik etki göstermemeli, bunun yanında hücrelerin gelişimini ve üremesini desteklemelidir. İmplantasyondan sonra, iskelenin vücuttan reddedilmesini önlemek için ihmal edilebilir düzeyde bağışıklık tepkisi oluşturabilmesi gerekmektedir. Doku iskeleleri biyobozunur yapılardır ve kalıcı implant olmadıkları için implantasyondan belli bir süre sonra vücut kendi ECM'sini oluştururken bozunma eğilimi göstermekte ayrıca hücre geçişlerine de izin vermektedir. Biyobozunur yapısı sayesinde, kendisi ve sitotoksik olmayan yan ürünleri bozunarak vücuttan kolayca atılmaktadır [38]. Ayrıca uygulanacak bölgeye uyumlu mekanik güce sahip biyomalzemeler tercih edilmelidir. Gerilme-gerinim ilişkilerinin, young modülünün ve diğer biyomekanik özelliklerin

ölçülmesi, iyileşme sürecindeki dokunun yapısal bütünlüğünün bozulmadan korunmasını sağlamaktadır. Doku iskelesinin bozunup yerini yeni dokuya bırakacağı zamana kadar mekanik özelliklerin muhafaza edilmesi gerekmektedir [39]. İskele içerisinde dokunun gelişmesini sağlayan besin maddelerinin girişine ve oluşan atık maddelerin çıkışına olanak verecek ayrıca buradaki vaskülarizasyon ile sinirlenmenin gelişimini sağlayacak ölçüde gözenek boyutuna (yaklaşık $>100\ \mu\text{m}$ 'den daha büyük çap boyutu) ve gözenekliliğe ihtiyaç duyulmaktadır. Öte yandan, yerini alacağı dokuyla mikro ve makro boyutlarda uyumlu, kemiğin sahip olduğu 3-B kompleks yapıya da sahip olması beklenmektedir [38].

Üç boyutlu doku desteklerinde hedef dokuya kolay bağlanabilmesi için osteoindüksiyon ve/ya osteokondüksiyon aranan özellikler arasındadır. Kemik doku mühendisliği kapsamında, hücre taşıyıcı destek yapısı olarak köpükler sıklıkla kullanılmaktadır. Son yıllarda 3 boyutlu fiber yapılar da hücre taşıyıcısı olarak kullanılmaya başlanmış ve önemi giderek artmaktadır [40]. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) veya Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) standartlarına göre ticari değere sahip olması da beklenmektedir.

Biyolojik sistemlerle etkileşime giren doğal veya sentetik, canlı veya cansız ve genellikle birden fazla bileşenden oluşan, hasarlı dokuyu veya biyolojik bir işlevi desteklemek, geliştirmek veya değiştirmek için tıbbi uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler; metaller, plastikler, seramikler ve camlar olarak sınıflandırılmaktadır [41].

İmplantasyon için geliştirilen ilk biyolojik malzemelerden biri olan metal malzemeler; yapay eklemler, yapay protezler, tıbbi aletlerin üretimi gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek mekanik mukavemet ve tokluk, yorulmaya karşı gösterdiği direnç, kolay şekillendirilebilirliği ve maliyetinin düşük olması nedeniyle kemik, diş ve yüksek yük taşımanın gerekli olduğu durumlarda metal malzemeler tercih edilmektedir [42]. Metalik implantların ve cihazların dezavantajları biyobozunur olmamalarıdır. Mekanik stres, elektrokimyasal veya hücrel reaksiyonlar metali aşındırarak partikül ve metal iyonlarının çevre dokulara salınmasına sebep olmaktadır. Salınan partiküllerin biyomoleküllerle reaksiyona girmesi, biyoaktif ve yıkıcı hale gelebilen toksisiteye yol açabilmektedir. Dolayısıyla

meydana gelen korozyon metal malzemelerin bir diğer dezavantajıdır. Metal implantların young modülü yükseldikçe mevcut hücrenin mekanik uyarılmasını engelleyen stres korumasına sebebiyet verme olasılığı yükselmektedir [43]. Son yıllardaki gelişmelerle birlikte biyobozunmayı ve osteoblast aktivitesinin artırılmasını sağlamak için implant olarak kullanılacak metal malzemelerin çoğu paslanmaz çelik, kobalt bazlı alaşım ve titanyum bazlı alaşım içeren kompozit malzemelerden seçilmektedir [44].

Polimerler, uzun, tekrar eden molekül zincirlerinden oluşan malzemelerdir. Kimyasal olarak biyolojik bir materyalden sentezlenebilen veya canlı organizmalar tarafından tamamen doğal kaynaklar kullanılarak biyolojik olarak sentezlenebilen polimerler; medikal, elektronik, tıbbi cihazlar, enerji, gıda ambalajı, vb. alanlarda kullanılmaktadır. Doğal polimerler, yenilenebilir kaynaklardan üretilmektedir ve çevrede bozunabilen yapıya sahiptir [45]. Birçok biyopolimer biyolojik olarak parçalanabilmekte ayrıca mikroorganizmaların enzimatik etkisiyle karbondioksit, metan, su, inorganik bileşikler veya biyokütleye ayrışabilmektedir [46]. Sentetik polimerler, uygulama alanına göre değişiklikleri kontrol edilebilir (bozunma süresi, gözeneklilik ve mekanik) özelliklere sahiptir. Polimerler iyi bir işlenebilirliğe, biyoyumlu bir yapıya, kimyasal olarak çok yönlülüğe ve vücut içerisinde bozunma özelliğine sahip oldukları için karakterize edilebilmektedir. Vücut içerisinde yüksek parçalanabilirliğe sahip polimerler, enfeksiyonu önlemek için terapötik ilaç salımı gerçekleştirmek ve vücutta bulunan büyüme faktörünü uyararak kemik büyümesini/oluşumunu hızlandırmak gibi farklı avantajlar sağlamaktadır [47].

Kristal yapıya sahip inorganik malzemeler olan seramikler, implantasyon işlemi için kullanılan bir diğer biyolojik uyumlu malzeme türüdür. Yüksek basma dayanımına ve düşük sünekliğe sahip olan seramiklerin deformasyon karşısında gösterdikleri yüksek direnç rağmen kırılgan yapıları onlara dezavantajlı kılmaktadır. Özellikle trabeküler kemiğin iskelet içerisindeki konumlanmasına göre, 20 MPa ila 2 GPa aralığında değişiklik gösteren basma değerleri seramiğin young modülü ile uymamaktadır. Mekanik açıdan oluşan bu uyumsuzluk, implantasyon bölgesinde ve çevresinde stres koruması gibi sonuçlara sebebiyet vermektedir. Ayrıca çok kırılgan bir yapıya sahip oldukları için sıkıştırma esnasında üst yükleme sınırlarının aşılması geçici iskeleyi görev dışı bırakmaktadır. Sahip oldukları bu kırılgan özellik, bazı

seramiklerin kullanımını onarım görevi için yük taşınmayan alanlara kaydırmaktadır [48].

Kemik rejenerasyonunda ve periodontolojide iskele olarak kalsiyum fosfatlar, kalsiyum sülfatlar tercih edilen seramiklerdir [49]. Bu malzemelerin, kemiğin inorganik bileşeni olan kalsiyum hidroksiapatitten oluşması, kemik doku mühendisliği ve periodontal kullanım için tercih edilme sebebidir. Oliveira ve ark. [50] tarafından yapılan bir çalışmada metil selüloz matris (hidroksipropil) ile kalsiyum fosfat cam-seramiği birleştirerek enjekte edilebilir bir kompozit oluşturulduğu bildirilmektedir. Bu kompozitin *in vivo* uygulanması ve ayrıca kalsiyumun kontrollü salımı sayesinde bir sıçan kondil kemik kusurunu ve vaskülarizasyonu iyileştirmeyi başardıkları raporlanmaktadır [50].

Kemik dokusu için en yaygın iskele malzemelerinden biri olan kalsiyum fosfat (CaP) seramikleri, farklı kimyasal bileşime (Ca / P oranı) ve formlara sahip olabilmektedir. Bifazik kalsiyum fosfat (BCP) gibi farklı bileşimlerde birleştirilebilmelerinin yanında hidroksiapatit (HAp) veya β -trikalsiyum fosfatta (TCP) olduğu gibi doğal oluşan mineral form olarak da kalabilmektedirler. Kalsiyum fosfat seramikler, bozunma hızı, stabilite ve işlenebilirlik gibi fiziksel özelliklere sahiptir [51]. Kemiğe yapıştırılıp doku oluşumunu iyileştirdiklerinde biyoaktifleşirler. Farklı yapı ve farklı Ca/P oranına sahip seramik türlerin kombinasyonu, doğal kemiğin yapısında bulunan mineral fazına benzetilmektedir. Bu benzetme sayesinde, biyoaktif malzeme olan biyoseramik, bağ kuracağı kemiğe bağlanma isteğinde bulunmaktadır. Bu bağlantıyı, kalsiyum ve fosfat iyonunu serbest bırakan bir mekanizma ile kurarak bağ osteogenezi oluşturmakta ve seramik yüzeyin üzerinde kemik yapısına benzer bir yapı olan HA biriktirmektedir [52]. Kemik yapısının büyümesini ve gelişimini tamamlayabilmesi için ideal ortamı oluşturma koşullarından biri, seramik iskelenin gözenekliliğinin gerçek boyuttaki süngerimsi kemiğe (300 ila 500 μ m aralığında) mümkün olduğunca yakın olmasıdır. Seramiklerin düşük kırılabilirliği ve mekanik mukavemetinden kaynaklanan temel dezavantajları göz önünde bulundurulduğunda, gözenekli tasarımı yeterli olsa bile yüksek yük dayanımı gerektiren yerlerde ağırlık taşıyan bileşen olarak kullanımı bulunmamaktadır. Hidroksiapatitler, osteokondüktif özellik gösterdiği halde osteoindüktif özelliğe sahip değildir [44].

2.2.1. Biyoaktif Camlar

Biyoaktif camlar *in-vivo* implantasyon sonrasında diğ er doku ve hücrelerle etkileşime girerek b t nle ebilen ayrıca uyumlu bir yapı oluşturabilen yüzey-reaktif malzemelerdir. Biyoaktif camlar, kemik yüzeyine kuvvetli bağlarla tutunmak için fizyolojik sıvılarla reaksiyona girerek kemik dokusunun ana inorganik bileşeni de olan hidroksiapatit tabakası oluşturmakta ve böylece sert dokular ile organik bağlarla b t nle ebilmektedir [53]. Biyoaktif camlar, düşük mekanik özelliklere sahip olması sebebiyle ağır yük uygulamalarında kullanılamamaktadır. Fakat düşük dayanım dezavantajına rağmen di  hekimliğinde ve ortopedide kullanılmaktadır. Biyoaktif camlar, di  hekimliğinde ve yüz kemiklerinin tedavisinde (göz çukurunu çevreleyen kemik gibi), implantasyon öncesinde kemik hacimlerini arttırmak için de kullanılmaktadır. Biyoaktif camlar, ilaç ve gen dağıtımında, doku tamiri ve rejenerasyonunda, sentetik kemik greft materyali olarak, dentin hipersensitivitesi tedavisinde, mine remineralizasyonunun arttırılmasında, yara iyileşmesinde, yanık tedavisinde ve kemik doku mühendisliğinde yapı iskelesi olarak kullanılmaktadır [54]. Biyoaktif camlar silikat (SiO_2) bazlı, bor (B_2O_3) bazlı ve fosfat (P_2O_5) bazlı olmak üzere 3 ana gruba ayrılabilir [7].

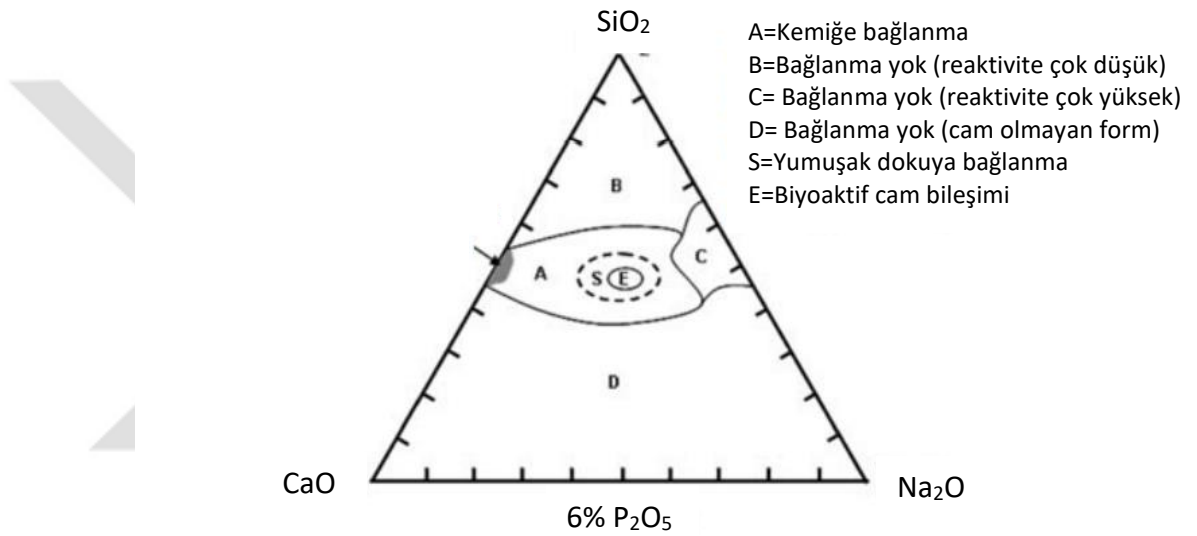
2.2.1.1. Silika Bazlı Biyoaktif Camlar

Hench tarafından 1971 yılında kemik ve di  gibi mineralize dokuların onarımı ve güçlendirilmesi için geliştirilen silika bazlı ilk biyoaktif cam olan 45S5 kompozisyonu, ağırlıkça 45 wt% SiO_2 , 24.5 wt% CaO , 24.5 wt% Na_2O , ve 6.0 wt% P_2O_5 içermektedir [55] ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı olduğu için aktif olarak klinik uygulamalarda kullanılmaktadır [56]. 45S5 biyoaktif camının ticari ismi Bioglass  olarak bilinmektedir ve 45S5 kodu malzemenin içerisinde bulunan SiO_2 'nin ağırlıkça %45 olmasından ve $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ oranının 5 olmasından gelmektedir [53].

SiO_2 içeriği biyoaktivite için kritik önem taşımaktadır. Bir kompozisyonda ağırlıkça $<60\%$ SiO_2 değeri, sınır kabul edilen değerdir. Biyoaktif camlarda bu sınırın altında kalan SiO_2 değerleri (yaklaşık olarak ağırlıkça %45-52) en hızlı bağlanmayı sağlamaktadır [7]. Kritik değere yakın (yaklaşık ağırlıkça %55-60) SiO_2 içeriği olan

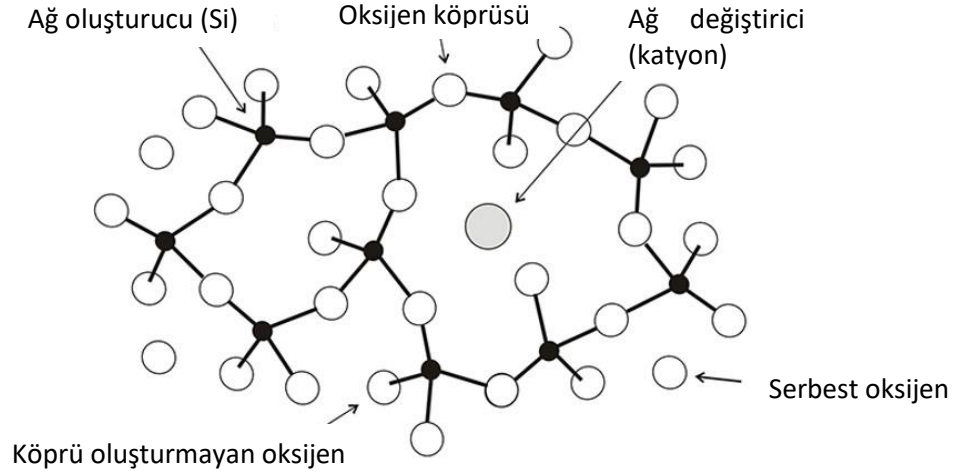
camlar daha yavaş reaksiyona girmekte fakat uzun süreli biyoaktivite göstermektedir [57].

Ağırlıkça %6 sabit P_2O_5 içeren biyoaktif camlar için üçlü diyagram şekilde gösterilmektedir. Düşük CaO bileşiminde reaktivitenin çok yüksek olduğu C bölgesi kemiğe bağlanmamaktadır. Düşük Na_2O bileşiminde reaktivitenin çok düşük olduğu B bölgesi de, kemiği bağlamamaktadır. Sınırlar, kinetik sınırları göstermektedir. Na_2O -CaO- SiO_2 diyagramının orta noktasında biyoaktivitesi yüksek ve kemiğe hızla bağlanabilme özelliğine sahip biyoaktif camlar bulunmaktadır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Kemik bağlanması için gerekli kompozisyon diyagramı [58].

Silika bazlı cam yapısında, Si atomlarını bir arada tutan köprü oksijen atomları, Si atomları ile düzenleyici atomlar arasında köprü olmayan oksijen atomları ve serbest oksijen atomları olmak üzere üç tip oksijen atomu bulunmaktadır. Camın biyoaktif özellik kazanmasını silisyum ve oksijen atomlarına bağlanmadan serbest halde bulunan Na^+ iyonları sağlamaktadır (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Alkali silikat camın ağ yapısı [59]

Biyoseramiklerden farklı olarak, 45S5 camının kemiğe bağlanması, vücut sıvısı ile temas halindeki camın yüzeyinde karbonat hidroksiapatit (HCA) tabakasının oluşumuyla başlamaktadır. Kemiğin mineral bileşeni ile benzer yapıya sahip olan HCA tabakası sayesinde biyoaktif cam kemik ve dokuya kuvvetli bir şekilde bağlanmaktadır. HCA katmanının kimyasal ve yapısal değişiklikler doğrultusunda biyoaktif cam implant yüzeyinde meydana gelen reaksiyonlar sonucunda olduğu Hench tarafından açıklanmaktadır [57]. İmplant yüzeyinin fizyolojik sıvı temasıyla beraber yüzeyde çözünme ile başlayan (camdan katyon salınımı) ve gidiş yolunda hızla meydana gelen kimyasal tepkimeler sonucunda biyoaktif camın kemiğe bağlanması gerçekleşmektedir [60].

Artan zaman

Aşama

Tepkime



11	Matrisin kristallenmesi
10	Matrisin oluşumu
9	Gövde hücrelerinin değişimi
8	Gövde hücrelerinin bağlanması
7	Makrofajların hareketi
6	Biyolojik partiküllerin (protein vs.) tutulması
5	Kalsiyum fosfatın HCA'ya çekirdeklenme ve kristallenmesi
4	Amorf kalsiyum fosfatın çökmesi
3	Yüzeydeki silikanın çözünmesi ve Si-O-Si bağlarının oluşması
1-2	Na ⁺ ve silanol (SiOH) iyonlarının oluşumu
0	Biyoaktif cam yüzeyi

Logt

Şekil 2.5. Fizyolojik sıvılar ile temas eden biyoaktif cam yüzeyinde zamanla gerçekleşen değişimler [58].

Tepkimelerin ilk 5 adımında, çözünebilen iyonların hızlı salınmasına ayrıca cam yüzeyinin üzerinde silika hidrat ve polikristalin hidroksikarbonat apatit (HCA) çift tabakanın oluşmasına öncülük eden reaksiyonlar bulunmaktadır [53]. İlk adım, cam yüzeyinde bulunan sodyum ve kalsiyum gibi alkali iyonları çevreleyen vücut sıvılarının hidrojen iyonları ile değiştirilmesidir. H⁺ iyonları ile ağ düzenleyiciler arasındaki iyon değişimi sırasında camda bulunan silika grupları hidrolize uğrayarak cam yüzeyinde Si-OH gruplarını oluşturmaktadır. Ortamdaki H⁺ iyonlarının azalması, çevrede bulunan vücut sıvılarının pH'ını arttırmaktadır. Aynı zamanda su molekülleri Si-OH gruplarını oluşturmak için Si-O-Si bağı ile de tepkimeye girmektedir. Camın yüzeyindeki artan OH konsantrasyonu ve sodyum kaybı ile birlikte silika bakımından zengin yüzey tabakasında Si(OH)₄ grupları oluşmaktadır [61]. Silika ve oksijen arasındaki bağlar kırılmaya devam ederek malzeme yüzeyinde silanoller meydana gelmektedir. Silanol grupları, biyoaktif camın yüzeyinde kalsiyum ve fosfatı çeken bir silika jel tabakası oluşturmak için yeniden polimerize olmaktadır. Silika açısından zengin, içerisinde çözülmüş CO₂, Ca²⁺ ve PO₄²⁻ iyonları bulunan bir tabaka oluşmaktadır. Kalsiyum ve fosfat iyonları, camın yüzeyinde amorf kalsiyum fosfat

tabakasının oluşmasını sağlamaktadır. Kalsiyum fosfat tabakası genellikle silika jel tabakasının üstünde yer almaktadır. Camın yüzeyindeki kalsiyum ve fosfat, çevresindeki vücut sıvılarıyla kristalleşmekte ve karbonatlı hidroksiapatiti (HCA) oluşturmaktadır. Biyoaktif camın yüzeyi, büyüme faktörlerini adsorbe etmeye veya ince bir film olarak tutmaya teşvik etmekte, bu da makrofajları harekete geçirerek yara iyileşmesini desteklemektedir [62]. Kemik kök hücreleri ve osteoprogenitör hücreler, biyoaktif camın yüzeyine toplanmakta ve yüzeyin hücre ile kaplanmasına neden olmaktadır. Doğal kemikte meydana geldiği gibi standart mineralizasyon, biyoaktif camın yüzeyinde de meydana gelerek söz konusu kemiği veya dokuyu bağlayan ve onaran yeni kemik dokusunu oluşturmaktadır. Bu reaksiyon devam ederken, cam tamamen kemik dokusuna dönüşmekte ve biyouyumlu hale gelmektedir. Bu tepkimeler, implantasyondan sonraki ilk 12-24 saat içinde meydana gelmektedir. İlk beş aşamada malzemenin arayüzeyinde meydana gelen tepkimeler tamamlanmaktadır. Dokulara bağlanma ise, altıncı aşamadan başlayarak devam eden süreçte meydana gelmektedir [63].

Birçok araştırmacı tarafından *in vivo* olarak tercih edilen ilk biyoaktif cam olan 45S5 Bioglass®'tan sonra, Anderson ve Karlson tarafından başka bir biyoaktif cam olan S53P4 geliştirilerek klinik uygulamalarda başarıyla kullanılmıştır [64]. Daha sonra, 13-93 [7] ve 1-98 de *in vivo* ortamda yüksek biyoaktivite gösterdiği saptanmıştır [65].

Brink ve ark. tarafından 45S5 biyoaktif cam (45SiO_2 , 24.5CaO , $24.5\text{Na}_2\text{O}$ ve $6.0\text{P}_2\text{O}_5$ (ağırlıkça%) modifiye edilerek yeni bir biyoaktif cam kompozisyonu olan 13-93 tasarlanmıştır [58]. 45S5'in aksine, 13-93 olarak adlandırılan biyoaktif cam kompozisyonu (53SiO_2 , 20CaO , $6\text{Na}_2\text{O}$, $4\text{P}_2\text{O}_5$, $12\text{K}_2\text{O}$, 5MgO (ağırlıkça%)), K_2O ve MgO gibi ek ağ değiştiricileri içermektedir. Ayrıca daha yüksek SiO_2 içeriğine ve daha düşük kristalleşme eğilimine sahiptir [66]. CaO ve MgO gibi kimyasallar, biyoaktif cam yüzey reaksiyon kinetiğini ve kemik hücresinin yapışmasını belirlemede, *in vitro* hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını sağlamada, *in vivo* doku infiltrasyonunu ve yeni kemik oluşumunu desteklemede önemli rol oynamaktadır [67].

Tablo 2.1. Farklı kompozisyonlara sahip biyoaktif camların bileşimleri [72]

bileşim (ağırlık%)	45S5	13-93	58S	70S30C	13-93B1	13-93B3
Na ₂ O	24.5	6.0	0	0	5.8	5.5
K ₂ O	0	12	0	0	11.7	11.1
MgO	0	5	0	0	4.9	4.6
CaO	24.5	20	32.6	28.6	19.5	18.5
SiO ₂	45	53	58.2	71.4	34.4	0
P ₂ O ₅	6	4	9.2	0	3.8	3.7
B ₂ O ₃	0	0	0	0	19.9	56.6

45S5 ve 13-93 cam diskler arasında *in vitro* hücre kültürü, osteoblastik MC3T3-E1 veya MLO-A5 hücrelerinin proliferasyonunda ve farklılaşmış fonksiyonunda belirgin bir fark göstermemiştir. Fakat, 13-93 kompozisyonu, 45S5 camdan daha yavaş bozunmakta ve daha kolay viskoz akış sinterleme davranışı yanında 3 boyutlu gözenekli skafold yapısında kristalleşme gözlenmeden yüksek yoğunlukta sinterleme gibi daha iyi işlenme özellikleri göstermektedir [53].

Brown ve ark. yaptıkları çalışmada ve skafoldların üzerinde osteoblastik hücrelerin büyümesi ve farklılaşmasını incelemişlerdir. MC3T3-E1 hücrelerinin 13-93 biyoaktif cam lifler ve skafoldlar ile 6 günlük inkübasyonu sırasında hücre yoğunluklarında sürekli bir artış gösterdiğini açıklamışlardır. 13-93 biyoaktif camların sitoksisitesinin belirlenmesi amacı ile MC3T3-E1 pre-osteoblast hücreleri kullanılarak MTT yöntemi ile *in vitro* hücre canlılığı testleri yapılmıştır. Sonuç olarak, 13-93 cam elyaf iskelelerinin osteoblastların büyümesi ve farklılaşması için uygun bir substrat olduğunu ve kemik dokusu mühendisliği ve kemik defektlerinin onarımı için umut verici bir materyal olduğunu göstermektedir [68].

2.2.1.2. Bor Bazlı Biyoaktif Camlar

Yapılan çalışmalar, diğer cam kompozisyonlarında olduğu gibi bor katkılı camların (borat cam) da biyoaktif olduğunu göstermektedir [69]. Bazı borat biyoaktif camlar silikat 45S5 veya 13-93 camlarla kıyaslandığında daha düşük kimyasal

dayanıklılık göstermesi nedeniyle daha hızlı bozunmaya uğramakta ve HA benzeri bir malzemeye daha fazla miktarda dönüşmektedir [70]. Bor katkılı biyoaktif cam HA'ya dönüşümü sırasında silika bazlı camın HA'ya dönüşümüne benzer süreçleri izlemekte fakat, içeriğinde bulundurmadığı için SiO_2 bakımından zengin bir tabaka oluşturmamaktadır. Borat biyoaktif camlar da 45S5 ve 13-93 gibi *in vitro* hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını ve ayrıca *in vivo* doku infiltrasyonunu desteklemektedir. Borat biyoaktif camlar da kemik enfeksiyonunun tedavisi için ilaç salım çalışmalarında kullanılmaktadır. Borat iyonları (B_2O_3) olarak vücut içerisine salınan borun toksisitesi endişe verici olabilmektedir. Silikat bazlı 13-93 cam bileşeninde bulunan SiO_2 'nin tamamının B_2O_3 ile değiştirilmesiyle elde edilen 13-93B3 borat biyoaktif cam iskelesinin *in vitro* fare MLO-A5 osteojenik hücreleri için toksik olduğu bildirilmektedir [71].

Gözenekli doku iskeleleri şeklindeki silikat biyoaktif camlar (45S5 veya 13-93), *in vitro* hücre kültüründe MC3T3-E1 hücreleri ve MLO-A5 hücreleri gibi osteoblastik hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşma fonksiyonunu desteklemektedir. Bu durumun aksine, 45S5B3 ve 13-93B3 (45S5 ve 13-93'ün borat eşdeğeri) gibi borat biyoaktif camlar, hücre çoğalmasını ve işlevini destekleme konusunda silikat bazlı biyoaktif camlar ile kıyaslandığında önemli ölçüde daha düşük bir yeteneğe sahip olduğu bildirilmektedir [72]. Bununla birlikte, silikat 13-93 cam ve borat 13-93B3 biyoaktif cam iskeleler, trabeküler kemik için bildirilen aralıkta (güç, 2–12 MPa; esneklik modülü, 0.1–5 GPa) yüksek basınç dayanımı ve elastik modülü değerlerine sahiptir [68].

Biyoaktif camın mekanik özelliklerini iyileştirmek, verimliliğini artırmak, biyoaktivitesini yükseltmek ayrıca antibakteriyel özelliklerini geliştirmek için farklı konsantrasyonlarda demir (Fe^{+3}), gümüş (Ag^+), magnezyum (Mg^{2+}), stronsiyum (Sr^{2+}) çinko (Zn^{2+}), bakır ($\text{Cu}^+ / \text{Cu}^{2+}$), alüminyum (Al^{3+}), potasyum (K^+), seryum (Ce^{3+}) ve galyum (Ga^{3+}) içeren elementler kullanılmaktadır [73].

Biyoaktif camlara az miktarda eklenen ve biyoaktif camların biyolojik özelliklerinin gelişmesini sağlayan elementlerin, vücut içerisindeki salınımı metabolizma üzerinde de olumlu etki göstermektedir. Yapılan *in vivo* çalışmalarda, anjiyogenez (kılcal damar oluşumu) üzerinde çok önemli etkiye sahip olan Cu

elementi eklenen 13-93B3 cam kompozisyonları ile farelerde kılcal damar oluşumunun önemli miktarda arttırıldığı açıklanmaktadır [74].

2.3. Biyoaktif Cam Sentez Yöntemleri

Biyoaktif camlar vücuda uygun biçimde hazırlanabilmesi ve istenilen fiziksel özelliklere sahip olabilmesi için ergitme, sol-jel, elektroegirme gibi birçok üretim yöntemine sahiptir. Sol-jel ve ergitme yönteminin, toz formunda kullanılacak biyoaktif camlar için en uygun üretim yöntemlerinden biridir. Elektroegirme yöntemi ise nanolif formunda kullanılacak biyoaktif camlar için en yaygın tekniklerden biridir.

2.3.1. Ergitme

Hench tarafından yapılan ilk biyoaktif cam olan 45S5, ergitme yöntemiyle sentezlenmiştir [58]. Bir camın sulu çözeltilerdeki reaktivitesi, büyük ölçüde camın bileşimine bağlı olmakta ve bu nedenle bileşim seçimi çok önem arz etmektedir. Sınırlı aralıkta biyoaktivite gösteren cam bileşimi, eritilebilecek ve mevcut yöntemlerle gerekli şekilleri oluşturmaya uygun olarak seçilmelidir. Hammaddeler rollerine göre, cam oluşturucu, fluks, değiştirici, renklendirici ve inceltici gibi beş farklı kategoriye ayrılmaktadır. Cam oluşturucular, cam yapının matrisini oluşturdukları için camın en önemli bileşenleridir. Silika (SiO_2), borik asit (B_2O_3) ve fosforik asit (P_2O_5) normalde oksit camda bulunan en yaygın cam oluşturucu türleridir. Bunlar arasında silika yaygın olarak kullanılmaktadır; bununla birlikte, silikanın erime sıcaklığı çok yüksektir ($1600\text{--}1725\text{ }^\circ\text{C}$) ve bu nedenle karışımın erime sıcaklığını azaltmak için Na_2O gibi farklı akış türleri kullanılmaktadır. Akı ilavesi bazen camın özelliklerini bozmakta ve bu da bor, sodyum, magnezyum, titanyum ve kalsiyum gibi farklı özellik değiştiricileri veya ara maddelerin eklenmesini gerektirmektedir. Hammaddelerin fırın içerisinde ergitilmesi sırasında birbirleriyle reaksiyona girerek karbondioksit ve su buharı emisyonu meydana gelmekte ve bu da kabarcıkların oluşmasına neden olmaktadır. Kabarcıkları eriyiğin üst yüzeyine çıkarmak için düşük viskozite korunmaktadır [75].

Ham maddelerin yüksek sıcaklıkta eritilmesine dayanan üretim yöntemi, basit, düşük maliyetli bir teknik olduğu ve tamamlanması fazla zaman almadığı için tercih

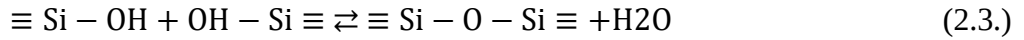
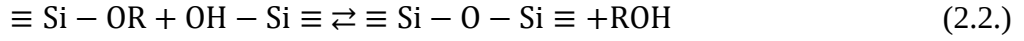
edilmektedir. Biyoaktif camların bu yöntem ile üretilmesi tipik olarak, homojen bir eriyik elde etmek için hammaddelerin seçilmesini, tartılmasını, bileşenlerin uygun oranda karıştırılmasını ve yüksek sıcaklıkta ergitildikten sonra ani soğutma işlemi uygulanmasını içermektedir [76]. 13-93 biyoaktif camları, ilgili komponentler 1100–1300 derecede platin kroze içinde ergitilip, soğuk demir plakalar arasında soğutularak üretilmektedir [62].

2.3.2. Sol-Jel

Biyoaktif camlar, geleneksel işleme yöntemlerinden çok daha düşük sıcaklıklarda solüsyon bazlı bir yöntem olan sol-jel ile üretilmektedir [77]. Son zamanlarda bilim insanları tarafından sol-jel yönteminin özellikle tercih edilme sebebi, camların spesifik yüzey alanını ve dolayısıyla malzemenin yüzey reaktivitesini ve bozunabilirliğini arttırmasıdır [78]. Homojenlik ve saflık üzerinde daha iyi kontrol sağlayan sol-jel prosesi bir solun hazırlanması, solun jelleşmesi ve çözücünün uzaklaştırılmasıyla sonlanan, inorganik malzemelerin kimyasal sentezi olarak açıklanmaktadır [79]. Sol, bir sıvı içindeki katı partiküllerin (çapı 1-100 nm olan) koloidal süspansiyonu; jel ise birbirine bağlı gözeneklerden oluşan sert bir kovalent bağlı silika ağı olarak tanımlanmaktadır [80]. Koloidal partiküllerin jelleşmesi, aşırı kritik kurutma veya öncüllerin kontrollü hidrolizi ve yoğunlaşmasının ardından ortam basıncında kurutma işlemleri sol-jel yöntemiyle malzeme üretimini oluşturan çok önemli basamaklardır [81]. Silika jeller genellikle, bir asit veya bir baz olabilen katalizörlerin etkisi altında alkoksit öncülerinin hidrolize edilmesiyle elde edilmektedir. Sol-jel işleme protokolünde, silikat kaynağı olan tetraetil ortosilikat ilk olarak silanol gruplarını oluşturmak için katalizörlerin varlığında hidrolize uğrar ve hidratlanmış silika, Si-O-Si bağları oluşturan bir yoğunlaşma reaksiyonuna girmektedir [79].

Hidroliz, reaksiyona göre OR grubunun OH grubu ile ikame edildiği bir nükleofilik saldırı olarak tanımlanırken kondenzasyon, siloksan bağlarının yanı sıra su veya alkollerin de oluşumuna yol açan bir reaksiyon olarak tanımlanmaktadır. Burada R, tetraetil ortosilikat (TEOS, $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$) içerisinde bulunan etil grubu (C_2H_5) gibi alkil grubudur. Sol-jel sentezinde yer alan hidroliz (denk. 2.1) ve polikondenzasyon

(denk. 2.2 ve 2.3) süreçlerini tanımlayan kimyasal reaksiyonlar aşağıda verildiği gibidir;



Denklem 2.2 alkol eliminasyonu ile kondenzasyon reaksiyonunu gösterirken, denklem 2.3 su eliminasyonu ile kondenzasyon reaksiyonunu göstermektedir. Hem hidrolizin hem de polikondenzasyon reaksiyon kinetiği, jelin nihai yapısının belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır [82].

Çözücünün konsantrasyonuna, öncül grubun doğasına ve hidroliz için kullanılan su miktarına bağlı olan jelleşme süreci başladığında çözeltinin viskozitesi keskin bir şekilde artmaktadır. Solün jelleşmesi sonrasında uygulanan yaşlandırma işlemi sırasında, jel ağının polikondenzasyon oluşturması ve yeniden çökmesi nedeniyle gözeneklilikte azalma ve mukavemette artış gözlemlenebilmektedir. Yaşlanma süreci aynı zamanda jelin gözenek hacmini, yüzey alanını ve yoğunluğunu da etkilemektedir. Kolloidal jeller kolaylıkla kurutulabilmektedir. Kurutulmuş jelin kimyasal stabilizasyonunu sağlamak, materyalin stabilitesini kontrol etmek için gereklidir. Islak jellere uygulanan farklı kurutma yöntemleri sayesinde çözücünün jelden uzaklaşması sağlanırken, kurutma gerilmesi, yüzey alanı, gözenek hacmi, gözenek boyutu, gözenek morfolojisi veya yığın yoğunluğu gibi farklı özelliklere sahip farklı malzemeler oluşmaktadır. Kurutma işlemine tabi tutulan ıslak jel içerisindeki su buharlaşarak kserojeli oluşturmaktadır. Silanol gruplarını yüzeyden desorbe etmek ve jeldeki 3-Si halkalarını ortadan kaldırmak için jel 500-900 ° C'de kalsinasyon işlemine tabi tutulmaktadır. Kalsinasyon işlemi aynı zamanda jelin yoğunluğunu, gücünü ve sertliğini arttırmaktadır [62].

2.3.3. Elektroğirme

Elektroğirme, biyobozunur polimerlerin hücre dışı matrisin lifli yapısını taklit eden yapı iskelelerini oluşturmak için geliştirilen, liflerin ve parçacıkların bir polimer çözeltisinden yapıldığı, voltajla çalışan bir yöntemdir [83]. Teknik ayrıca mikron altı veya nano ölçekli çaplara sahip liflerin ve biyoaktif camın nanolifli formunun üretilmesi amacıyla uygulanmaktadır. Elektroğirme ile üretilen lif formlar doku mühendisliği, ilaç salım çalışmaları, membranların filtrelenmesi, opto-elektronik cihazlar ve benzeri gibi uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Yüzey alanı-hacim oranı yüksek olan nanolifler yüksek hücre bağlanmasına sahiptir [83].

Elektroğirme işleminde; çözelti derişimi, polimer molekül ağırlığı, çözelti viskozitesi, yüzey gerilimi, çözücünün dielektrik katsayısı, uygulanan voltaj, toplayıcı türü, toplayıcı-iğne ucu uzaklığı, akış hızı gibi çözeltiye ve prosese bağlı parametreler sayesinde istenilen özellikte fiberler elde etmek mümkündür [84].

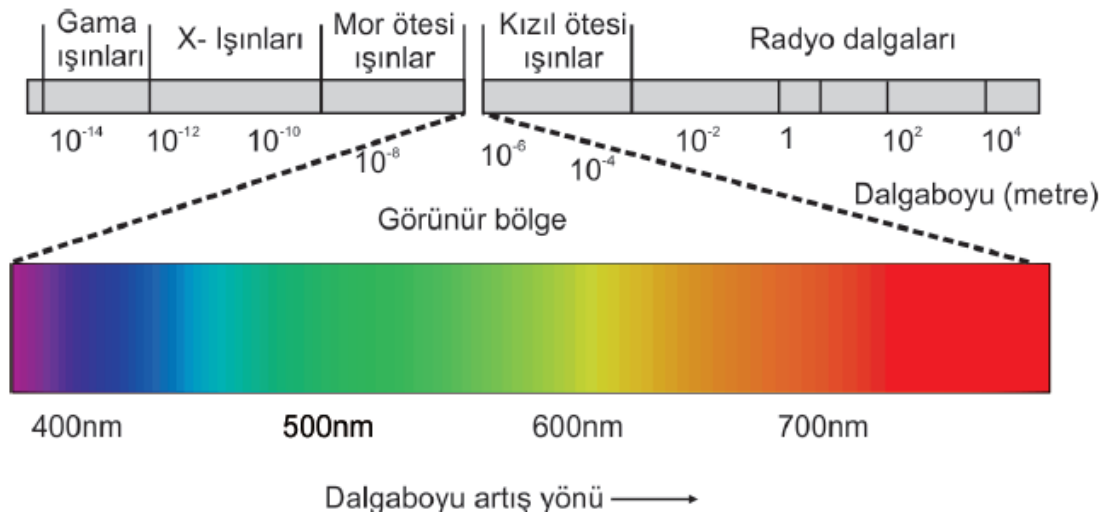
Elektroğirme için gerekli deney düzeneği; yüksek voltaj güç kaynağı, besleme ünitesi (şırınga, metal iğne vb.) ve toplayıcı (iletken plaka, silindir vb.) olmak üzere temel olarak üç önemli ana parçadan oluşmaktadır. Polimer çözeltisinin şırıngaya akış hızı, polimer çözeltisinin derişimi, iğne ucuna uygulanan voltaj ve toplayıcı plaka ile iğne ucu arasındaki çalışma mesafesi gibi parametreler eğirme ile elde edilen liflerin morfolojisini etkilemektedir [85].

Çözelti üzerindeki yüklerin birbirini itmesiyle polimer jetin gerilmesi ve uzaması elektroğirme işleminin ana prensibini oluşturmaktadır. Şırınganın içersine alınan başlangıç çözeltisi veya eriyiğe belirli bir kV (5-40 kV) değerinde yüksek voltaj uygulanarak elektrik alanı oluşturulmaktadır. Bir sıvı taneciğın küresel yapı oluşturma isteği yüzey gerilimi olarak tanımlanmaktadır. Düşük konsantrasyonlu solüsyonlar için, yüzey gerilimi önemli bir unsurdur. Kapılar uçta damlacık şeklinde duran çözeltiye yeterince yüksek bir voltaj uygulandığında gerilim yükselerek sıvının gövdesine yüklenmektedir. Elektrostatik itme yüzey gerilimine karşı koymakta ve damlacık gerilmeye başlamaktadır. Elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimini aştığı kritik noktada damlacıktan topraklanmış levhaya doğru hareketlenme meydana

gelmektedir. Bu hareketin başlama noktası ‘Taylor Konisi’ olarak bilinmektedir. Yüzey gerilimi sayesinde solüsyon damlacıklara ayrışıp hızlanır. Fiber şeklinde elde edilen jet bir akımdan oluşan fiberler toplayıcı levhada birikmektedir [86]. Taylor konisinin oluşmasını sağlayan, solüsyonun sahip olduğu elektrik iletkenliği ayrıca lif çap boyutunun değişmesini sağlar. Yüksek elektrik iletkenliğine sahip solüsyonlardan daha küçük çapta lifler üretilmektedir. Elektrik iletkenliği ile lif çapı arasında ters orantı vardır [85].

2.4. Lüminesansın Temel Prensipleri

Enerji alan bir maddenin atom ve molekülleri uyarılmakta ve kararsız hale geçiş yapmaktadır. Moleküller uyarılma ile kazandıkları fazla enerjiyi uzaklaştırarak temel hale dönme eğilimindedirler. Uyarılmış halden temel hale dönüş aşamasında soğuk ışık yayılması/emisyonu gözlenmektedir. Bu ışık yayılması olayı genel haliyle lüminesans olarak adlandırılmaktadır. Elektromanyetik radyasyon için kullanılan bir tanımlama olan lüminesans, görünür bölgede (Şekil 2.6) bir ışık yayılması olarak ifade edilebilmektedir. Elektromanyetik ışınlardan temel olarak ayrılmasının başlıca sebebi, atom veya molekülün ısısında bir değişiklik olmaksızın yayımlanabilmesidir. Lüminesans maddeler bu fark sayesinde soğuk ışık olarak da bilinmektedir [10].



Şekil 2.6. Elektromanyetik dalga spektrumunu gösteren şematik [87].

Herhangi bir sebeple radyasyona maruz kalan malzeme, gelen enerjinin belli bir kısmını soğurmakta geri yayarken daha uzun dalgaboylu bir ışık olarak yaymakta ve bu durum Stokes Kanunu ile açıklanmaktadır [88].

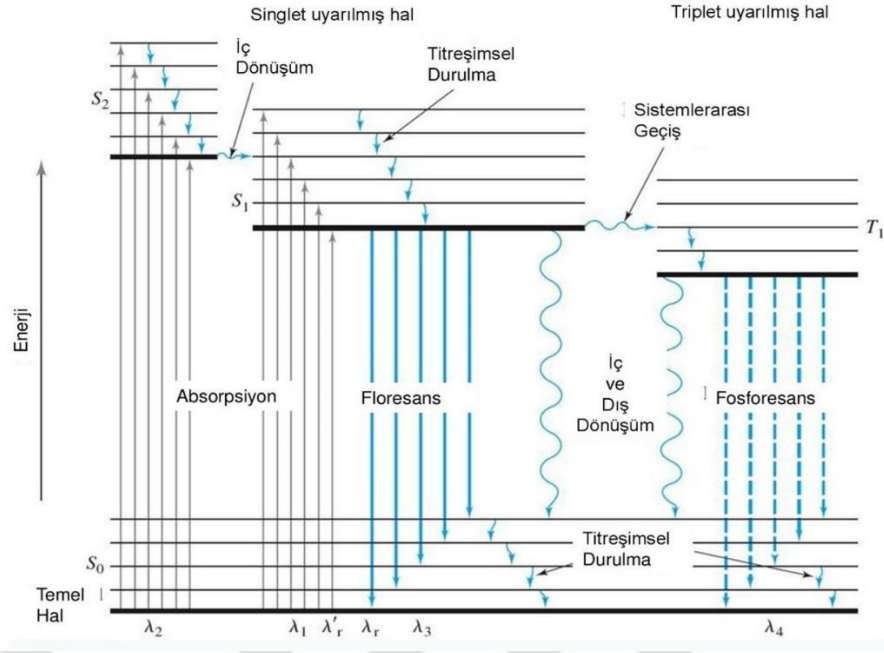
Malzemeye özgü olan yayınlanan ışığın dalgaboyu gelen radyasyona göre değişmemektedir. Kristaldeki elektronlar, radyasyon ile kristal örgüye aktarılan enerji sayesinde uyarılmakta ve tuzaklanma lüminesans merkezinde gerçekleşmektedir. Geçiş metal iyonları (Mn^{+2} , Cr^{+3} , Fe^{+3}), nadir toprak elementleri (Tb^{+3} , Eu^{+3}), ağır metaller (Pb^{+2} , Tl^{+}), elektron-boşluk merkezleri (S_2^{2-} , O_2^{2-} , F^- merkezleri), dislokasyonlar malzemelerde bulunabilecek olası lüminesans merkezleridir [89].

Lüminesans yayımlanma ömrüne göre floresans ve fosforesans olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Floresans, enerji aktarımının elektronun spininde bir değişiklik oluşturmaması ile fosforesanstan ayrılmaktadır. Fosforesans emisyonlarında ise elektron spininde meydana gelen değişim, ışıltanmanın bitmesinden sonra daha kolay tespit edilebilmekte, birkaç saniye hatta daha uzun süre devam edebilmektedir. Floresans malzemeler 10 milisaniyeden küçük bozunma süresine ve fosforesans malzemeler de 0.1 saniyeden büyük bozunma süresine sahiptir. Floresansta uyarılmış singlet halden temel singlet hale geçişler söz konusu olmaktadır. Bu geçişler daha hızlı olduğu için floresans olayı daha kısa sürmektedir ($\sim 10^{-5}$ s). Uyarıcı kaynak kesilince floresans da kesilmektedir. Fosforesansta ise uyarılmış singlet halden uyarılmış triplet hale geçiş söz konusudur. Bu olay çok daha az sıklıkla olan bir olaydır, yavaş ve uzun sürede gerçekleşmektedir. Uyarıcı kaynak kesildikten sonra saniyeler hatta dakikalarca fosforesans olayı devam edebilmektedir. Yüksek teknoloji malzemeleri olan ışıltar malzemeler; aydınlatma, reklam, LED teknolojisi, neon ışıklar, televizyon, fosforlu tabelalar, ışıltandırma tüpleri, x-ışını görüntüleyicileri, optik hafızalar, ürün kodlama, güvenlik, kaza önleme, diş hekimliği, x-ışını sensörleri, katot ışını tüpleri, lazerler, plazma (PDP), projeksiyon panelleri, düşük voltaj ekranları, fiber optik termometreleri gibi çok fazla alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [90].

Lüminesanslar, uyarılma enerji kaynağının farklılık göstermesine göre çeşitlendirilebilmektedir. Kaynak, kimyasal bir tepkimeden sağlanırsa kemilüminesansı, elektrot tepkimesinden sağlanırsa elektrolüminesansı, ısı transferi ile sağlanırsa termolüminesansı ve eğer fotonların absorblanması ile gerçekleştirilirse

de fotolüminesansı oluşturmaktadır [91, 92]. Fotolüminesans, bir molekülün görünür bölgedeki bir fotonu soğurmasıyla elektronlarından birini daha yüksek bir elektron uyarılmış duruma getirmesi ve ardından elektronun daha düşük bir enerji durumu olan temel haline dönerken bir foton yayması işlemidir. Geçici ışık absorpsiyonu ve ardından gelen ışık emisyonu fenomeni fotolüminesans olarak adlandırılmaktadır. Güneş ışığı, oda ışığını da kapsayan görünür ışık, ultraviyole ışık, X-ışınları, lazerler gibi enerji formlarından birinin fotonlarının absorblanması ile meydana gelen soğuk ışıma olarak da bilinmektedir [89].

Bir fotolüminesans molekülünün kısmi enerji seviyesi Şekil 2.7’de verilen Jablonski diyagramı ile açıklanmaktadır. S_0 ile gösterilen diyagramın en alt tabakasını oluşturan kısım singlet haldeki molekülün temel hal enerjisini göstermektedir. Bir çözelti içerisinde bulunan neredeyse bütün moleküller oda sıcaklığında bu temel hal enerjisini göstermektedir. Toplamda üç adet uyarılmış elektronik halin temel titreşim halleri için enerji seviyeleri bulunmaktadır. Soldaki iki çizgi, birinci (S_1) ve ikinci (S_2) elektronik singlet hallerini gösterirken sağdaki tek çizgi (T_1) birinci elektronik triplet halinin enerjisini göstermektedir. Daha ince yatay çizgilerle gösterilen çok sayıdaki titreşim enerji seviyeleri, dört elektronik halin her biri ile ilişkilendirilmektedir. Bu molekülün uyarılması, biri uzun dalga boyunda (S_0-S_1) ve ikincisi daha kısa dalga boyu (S_0-S_2) civarında merkezlenmiş iki ışın bandın absorpsiyonu ile meydana gelmektedir. Uyarılma işlemi, molekülün uyarılmış titreşim halinden herhangi birine dönüşü ile sonuçlanmaktadır. Triplet hale doğrudan uyarılma gösterilmemektedir. Çünkü bu işlem, multiplisitede bir değişmeyi gerektirmektedir. Bu tip olma olasılığı düşük geçiş ‘yasaklanmış’ olarak adlandırılmaktadır [90].



Şekil 2.7. Fotolüminesans bir sistem için Jablonski enerji-düzey diyagramı [90].

Jablonski diyagramında da görüldüğü gibi absorpsiyon, emisyon ile kıyaslandığında daha yüksek enerjiye sahiptir. Floresans ya da fosforesans, absorpsiyondan daha düşük enerji seviyesinde ya da absorpsiyona göre (λ_2 ve λ_1) daha yüksek dalga boyunda (λ_3 veya λ_4) meydana gelmektedir. Bu sebeple emisyon spektrumu, absorpsiyona göre daha yüksek bir dalga boyuna kaymaktadır. Elektronik geçişi aynı olmasına rağmen farklı enerji ve dalga boyunda meydana gelen absorpsiyon ve emisyon spektrumlarının maksimum oldukları noktalarda oluşan fark ‘Stokes Kayması’ olarak adlandırılmaktadır [93]. Floresans moleküllerinin neredeyse hepsi farklı büyüklüklerde de olsa Stokes Kayması göstermektedir.

Floresans ömrü, bir malzemenin uyarılmış durum davranışına ait olmakla beraber uyarılmış bir floroforun gevşemesi için geçen toplam süreyi ifade eden ölçülebilir bir miktardır. Temel halde bulunan bir molekül enerji alarak uyarılmış hal düzeyine geçtikten belli bir zaman sonra temel hal düzeyine geri dönmektedir. Bir bileşiğin floresans ömrü (τ), temel hale dönmeden önceki uyarılmış hal düzeyinde bulunduğu zaman biriminin ortalama ölçüsünü vermektedir [94]. Floresans ömrü, uyarılmış moleküllerin sayısına bağlı olmadığı gibi yayılan ışığın parlaklığından da bağımsız olmaktadır. Mikroskopi, görüntüleme ve sitometri alanlarında kullanılan yaygın organik floroforlar için ömür, genellikle 1 ile 30 nanosaniye arasında

değişmektedir. Bir bozunma oranı olan floresans ömrü, Denklem 2.1 ile temsil edilen floresans bozunma fonksiyonuna katkıda bulunmaktadır. Floresans ömrü, denklem 2.4'e göre, başlangıç floresans şiddeti 1/e değerine düştükten sonra elde edilebilir.

$$I(t) = Ae^{(-\frac{t}{\tau_1})} + Be^{(-\frac{t}{\tau_2})} \quad (2.4.)$$

$I(t)$ terimi zamana bağlı luminesans şiddetini temsil etmektedir. Diğer yandan A ve B sabitler olup, τ bozunma süresini (decay time) ifade etmektedir [95].

2.4.1. Lüminesant Malzemeler ve Biyomedikal Uygulamaları

Doku mühendisliği, cerrahi alan, doku restorasyonu ve organik floresan moleküllerin yardımıyla etiketleme sayesinde moleküllerin bulundukları bölgede incelenmesi için önem teşkil eden bir mekanizma olan fotolüminesans, birçok inorganik bileşene ve nanoparçacıklara kazandırılmak istenen bir özelliktir. Yüksek biyoyumluluğa ve ışıldayan/ fotolüminesans özelliğe sahip bir malzeme biyomedikal, implantasyon ve klinik uygulama gibi alanlarda kullanılmak için aranan malzeme olmaktadır [96].

Biyomedikal alanda, çoğunlukla floresan molekülleri (özellikle organik) ve yarı iletken nanomalzemeleri içeren ışıldayan malzemeler biyolojik boyama ve prognostikte kullanım için kapsamlı bir şekilde değerlendirilmektedir [97].

Biyomedikal uygulamalarda biyoyumlu ışıldayan/lüminesans malzemelerin büyük potansiyelleri bulunmaktadır. Işıldayan nanoparçacıklar ve nanomalzemeler dokuların ve hücre içi yapıların görüntülenmesinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, artan canlı hücre uygulamalarını geliştirmek için, görünür ışık altında görüntülenebilen yeni biyoyumlu nanomalzemelerin geliştirilmesi esastır [98]. Fotolüminesant malzemeler, belirli türleri büyük bir hassasiyet ve özgüllükle tespit etme kapasitelerinin bir sonucu olarak, kimyasal ve biyolojik araştırmalarda da önemli bir role sahiptir [99]. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan malzemelerin geliştirilmesi için, konfokal mikroskoplar veya manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile gözlemlenebilirliğin ayrıca floresan veya manyetik yeteneğin dışında belirli özelliklere (örneğin düşük toksisite seviyeleri) de sahip olması gerekmektedir [100].

Lüminesant özellikler gösteren nadir toprak katkılı hidroksiapatit ve biyoaktif camlar gibi alternatif malzemeler, doku mühendisliği, ilaç salımı ve biyolojik görüntülemedeki geniş uygulamaları nedeniyle dikkat çekmektedir [9].

2.4.2. Nadir Toprak Elementi Katkılı Lüminesant Biyomalzeme ve Biyoaktif Camlar

Biyoaktif camlara eklenen katkılar ile kazandırılmak istenen özelliklerden birisi fotolüminesans özelliğidir [9]. Malzemeye ilave edilen nadir toprak elementleri veya lantanit grubu metalleri ile malzemeye lüminesans özellik kazandırılabilir [101]. Biyo-teknolojik ve/veya elektronik araştırma alanlarındaki malzemelere fotolüminesant özellik kazandırmayı sağlamak için lantanit elementlerine önemli ölçüde odaklanılmaktadır. Lantanit iyonları, görünür ve yakın kızıl ötesi bölgelerdeki fotolüminesans özellikleri ile iyi bilinen elementlerdir.

Carl Axel Arrhenius tarafından 1787 yılında İsveç'in Ytterby köyünde ilk nadir toprak elementi keşfedilmiş, köyün isminden dolayı da siyah minerale itterbiyum adı verilmiştir [102]. Lantanitler olarak da bilinen nadir toprak elementleri grubu, itriyum ve lantanyumdan başlayarak rutenyum kadar devam eden 15 adet lantanit elementlerini içermektedir. Skandiyum, çoğu nadir toprak elementi yataklarında bulunmakta ve bazen nadir toprak elementi olarak sınıflandırılmaktadır. Periyodik tabloda atom numaraları 57 ile başlayıp 71'e kadar devam ederken gruba 39 ve 21 atom numarası ile itriyum ve skandiyum da dahil edilmektedir. Lantan, seryum, praseodim, neodimyum, prometyum ve samaryum hafif nadir toprak elementleri olarak kabul edilirken itriyum, evropiyum, gadolinyum, terbiyum, disprosyum, holmiyum, erbium, tulyum, itterbiyum ve lutesyumu ağır nadir toprak elementleri olarak kabul edilmektedir [103]. Benzer özelliklere sahip olan tüm lantanitler, paramanyetikler ve belli şartlar altında hem floresans hem de soğurma spektrumu vermektedirler.

Tablo 2.2. Er³⁺ ve Tb³⁺ elementlerinin biyoişlevselliğini özetleyen tablo [112].

Örnek	Örnek yapısı	Yükleme aralığı 100 (% olarak)	Biyo-İşlevsellik / Katkı Maddesinin Etkisi
Er ³⁺	Toz	2-10	Simüle edilmiş vücut sıvısı (SBF) içerisinde biyomimetik apatit büyümelerinin oluşumunu uyarır.
Tb ³⁺	Toz	2-17	MC3T3-E1 (25–100 µg mL ⁻¹ Tb-HA-NPs dozları) ve A549 (20–320 µg mL ⁻¹ Tb-HA-NPs dozları) hücre hatları ile <i>in vitro</i> sito uyumluluk sağlar.

Nadir toprak elementi katkılı malzemeler, fotostabiliteleri, düşük toksisiteleri, yüksek termal ve kimyasal kararlılıkları, keskin emisyon bantları ve yüksek lüminesans kuantum verimleri nedeniyle diğer mevcut fotolüminesant malzemelere göre önemli faydalar sunmaktadır [104].

Nadir toprak ailesinin temel bir üyesi olan terbiyum elementi, karmaşık optik, manyetik ve elektronik özellikler sunmasıyla; cam endüstrisi, istihbarat endüstrisi, polimerler, biyokimyasal sensörler ve güneş pillerindeki uygulamalar için uygun bir aday olmaktadır. Terbiyum, kapsamlı olarak gelişimi ve kullanımı nedeniyle çevrede, organizmalarda ve besin zincirlerinde kaçınılmaz olarak yer almaktadır. Terbiyum, nadir toprak metalleri arasında tabiatta en az bulunan elementtir [105].

Nadir toprak elementlerinin karakteristik özelliklerini sergileyen erbiyum, orta derecede reaktiftir. Hava ortamında oldukça kararludur ve hızlı bir oksitlenme eğilimine sahiptir. Pembe ve kırmızıya yakın renk tonuna sahip olan erbiyumun, diğer nadir toprak elementleri ile karşılaştırıldığında korozyon direnci yüksektir. Erbiyumun doğada az bulunuyor olması uygulamalarında kısıtlama getirmektedir. Fiber optik kablolar ve medikal lazerler en önemli ticari kullanım alanlarındandır. Erbiyum katkılı lifler içeren fiber optik kablolar lazer yükseltici olarak kullanılmakta olup ayrıca nötron emici kontrol çubukları içerisinde de nükleer teknoloji alanında yer almaktadır. Alaşım halinde çeşitli özellik kazanmaktadırlar. Örneğin, vanadyum ilavesi ile sertliğini kaybetmekte ve işlenebilir hale gelmektedir. Biyolojik bir rolü olmayan erbiyuma rağmen erbiyum tuzları metabolizmayı uyarabilmektedir. İnsanlar yılda ortalama 1 miligram erbiyum tüketmektedir. Kemikler insan vücudunda en yüksek

erbiyum konsantrasyonuna sahip olsalarda, insan böbreklerinde ve karaciğerinde de erbiyum bulunmaktadır (Tablo 2.2) [106].

Kemik doku mühendisliğinin temelini oluşturan hidroksiapatite lüminesant özellik kazandırmak için nadir toprak elementleri ile katkılandırılması yakın zamanda çalışılan konulardandır [107]. Sudip Mondal ve ark. tarafından 2020 yılında yapılan çalışmada, lüminesant özellik gösteren erbiyum katkılı hidroksiapatitin (Er-HAp) MG-63 osteoblast hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* biyoaktivite ve optik görüntüleme çalışmaları, sentezlenen nanomalzemelerin toksik etki göstermeden ışıldayan davranışa sahip olduğunu doğrulamaktadır [96].

Han ve ark. tarafından, 2010 yılında yapılan çalışmada, biyo-uyumlu, öropiyum katkılı inorganik hidroksiapatit (Eu-HA) nanopartikülleri kullanan bir hücre etiketleme yaklaşımı sunulmuştur. Eu-HA nanopartikülleri bir çökeltme yöntemiyle elde edilmiş ve Bel-7402 insan karaciğer kanseri hücreleri bir floresan prob olarak etiketlemede kullanılmıştır. Öropiyum katkılı hidroksiapatit nanopartiküller hücreler tarafından içselleştirilmektedir. Eu-HA nanopartikülleri, geçici olarak kararlı bir ışımaya sunabilmekte ve görünür alandaki dalga boyları tarafından uyarılabilmektedir. Sonuç olarak, Eu-HA nanopartiküllerinin biyolojik çalışmalarda biyo-uyumlu floresan etiketleme alanında kullanım için potansiyel bir materyali temsil ettiği açıklanmaktadır [108].

Di ve ark. tarafından eşzamanlı ilaç salımı ve hücre görüntülemeyi birleştiren lüminesant mezogözenekli lantanit oksit nanopartiküllerine dayanan çok işlevli bir biyomalzeme hakkında yapılan araştırmada, nanopartiküllerin mezogözenekli yapısı sayesinde malzemenin ilaç yükleme verimliliği arttırmış ve ilaçlara sürekli salım davranışı kazandırılmıştır. Doksorubisin yüklü gözenekli Gd_2O_3 nanopartiküller, kanser hücrelerinin tedavisinde, insan servikal karsinoma (HeLa) hücrelerini öldürmek için kullanılmaktadır. Gd_2O_3 'e eklenen Eu^{3+} sayesinde nanopartiküller optik görüntüleme işlevini kazanmaktadır. Sonuç olarak, ilaç salım aktivitesi, ilaçların hücreler üzerindeki etkisi, nanopartikülde eşzamanlı hücre görüntüleme ve antikanser ilaç dağıtımının çok işlevini gerçekleştirerek; nanopartiküllerin lüminesant özellikleri sayesinde etkili bir şekilde izlenebildiği raporlanmaktadır [109].

Xue ve ark. tarafından yapılan çalışmada Eu^{3+} katkılı fotolüminesant biyoaktif cam nanopartiküllerinin (BGN-Eu) ilaç salımı ve hücre görüntülemesi için kullanımını ayrıca BGN-Eu'nun biyoaktivitesini, kontrollü ilaç (teofilin) yükleme yeteneğini ve salım davranışı araştırılmıştır. Farklı miktarlardaki Eu^{3+} katkısı ile osteoblast (MC3T3-E1) büyümesindeki değişim gözlemlenmiştir. MC3T3-E1 hücrelerine BGN-Eu katkısı ile fotolüminesans özellik kazandırılması incelenmiş, Eu^{3+} katkılı camların; iyi biyomineralizasyon kabiliyeti, fotolüminesans özellik, ilaç dağıtımı ve yüksek hücre biyouyumluluğu sayesinde, kemik dokusu rejenerasyonu ve biyo-görüntüleme uygulamaları için kullanılabileceği belirtilmiştir [12].

Wu ve ark. tarafından 2016 yılında yapılan çalışmada, biyo-etiketleme ve kemik rejenerasyonu ile iki işlevli bir biyomalzeme elde etmek için Eu^{3+} katkılı mezogözenekli biyoaktif cam doku iskeleleri (Eu-MBG) hazırlanmıştır. Eu-MBG iskelelerinin *in vitro* bozunmasının lüminesans yoğunluğunun değişimi üzerinde fonksiyonel bir etkisi araştırılmıştır. Eu-MBG yapı iskeletlerinin, tek başına MBG iskelelerine kıyasla osteoporotik kemik kusurlarında yeni kemik oluşumunu önemli ölçüde uyardığı ve OVX sıçanlarında kemik yenilenmesinin hızlanmasında Eu^{3+} 'nın rol oynayabileceği gösterilmiştir. Oluşan yeni kemik dokusunu etiketlemek için Eu^{3+} iyonlarının salınmasının sonucu olarak derin kemik dokularında belirgin bir ışılda sinyalinin varlığını ayrıca Eu^{3+} 'nın dahil edilmesiyle biyo-iskelelerde kemik rejenerasyon kabiliyetinin arttığı raporlanmıştır [110].

Li ve ark. tarafından, kemik dokusu mühendisliği için öropiyum katkılı biyoaktif cam iskeleleri üzerine yapılan çalışmada, ROS17 / 2.8 hücreleri ile biyoaktif cam doku iskelelerine üç boyutlu hücre kültürü yapılmıştır. Sonuçlar, biyoaktif cam skafoldların hücre kültüründen önce ve sonra değişken lüminesans emisyonu, iskeledeki hücre büyümesinin hızlı ve tahribatsız bir şekilde tahmin edilebilmesinde kullanılabileceğini göstermiştir [111].

Zhu ve ark. tarafından 2019 yılında yapılan çalışmada, içi boş mezogözenekli biyoaktif cam iskelelerine Gd^{3+} katkısı yapılmıştır. Gd^{3+} 'nin biyoaktif cam doku iskelelerine dahil edilmesi, sadece insan kemik iliği kökenli kök hücrelerin çoğalmasını teşvik etmekle kalmayıp aynı zamanda osteoindüktiviteyi geliştiren bir unsur olduğu anlaşılmıştır. Gd^{3+} içeren biyoaktif camlar, sıçan kraniyal kusurlarının

tedavisi için implante edildiğinde, katkısız doku iskelelerine kıyasla kemik rejenerasyonunu önemli ölçüde artırdığı gözlenmiştir [112].

Baranowska ve ark. tarafından yapılan çalışmada samaryum iyonlarının katkısının 45S5 biyoaktif camın spektroskopik ve biyolojik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Sm^{3+} katkılı camların lüminesans spektrumları 405 nm görünür dalgaboyunda lazer uyarımı altında analiz edilmiş ve *in vitro* olarak biyoaktif camların apatit-oluşturma kabiliyeti test edilmiştir. SBF içerisinde 37 °C'de 3 gün inkübe edilen örneklerin iyon (Ca, Na, Si) salımının ölçümleri yapılmıştır. Biyoaktivite testi, Sm^{3+} iyonlarının sadece biyoaktif camların lüminesans özelliklerini etkilemediğini, aynı zamanda hidroksikarbonat-apatit (HCA) tabakasını oluşturma kabiliyetlerini de arttırdığını göstermiştir [13].

Biyoaktif camlara lüminesans özellikleri kazandırmak için, yakın tarihli bir diğer çalışmada, $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ katkılı biyoaktif camlar sentezlenmiştir. Elde edilen $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ katkılı biyoaktif camlar, 980 nm dalgaboyunda lazer uyarımında yeşil ve kırmızı yukarı dönüşümlü ışıltama göstermiştir. $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ katkılı biyoaktif camların MC3T3-E1 hücreleri için toksik olmadığı ve biyouyumlu olduğu raporlanmıştır [14].

Kalaivani ve ark. tarafından yapılan çalışmada, biyoaktif cam içerisine ilave edilen $\text{Tb}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ nadir toprak element katkısı ile lüminesans özellik kazandırılan çok bileşenli bir biyoaktif camın gelişimi amaçlanmıştır. $\text{Yb}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ ilaveli biyoaktif camın yukarı dönüşümlü lüminesans özellik gösterdiği ve biyoaktif olduğu raporlanmıştır. 976 nm dalgaboyu altında lazer uyarımı ile kaydedilen emisyon spektrumları, tipik Tb^{3+} emisyonunu göstermiştir [15].

Alshemary ve ark. tarafından yapılan çalışmada, Er^{3+} katkılı hidroksiapatitlerin *in vitro* rezorpsiyonunu incelemek için Er^{3+} elementinin fotolüminesans özelliklerinin kemik iyileşme sürecini denetlemek için uygulanabileceği raporlanmıştır. PL çalışması, spektrumlarda kırmızı ve yeşil emisyonun varlığını göstermiş ayrıca Er^{3+} konsantrasyonunun artması enerji band aralığının (Eg) maviye kaymasına neden olmuştur. SBF'de yapılan *in vitro* biyoaktivite çalışması, Er^{3+} iyonlarının HA yapısına dahil edilmesinin Er^{3+} ilaveli HA

doku iskelelerinin yüzeyinde apatit oluşumunun artmasına neden olduğunu göstermiştir [113].

Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada, çok düşük miktarda Tb^{3+} katkılı hidroksiapatit yüzeyinde bulunan Tb^{3+} iyonlarının HA'nın lüminesansını önemli ölçüde artırabileceği ve aynı zamanda hidroksiapatitin temel fizikokimyasal özelliklerini ve biyoaktivitesini koruyabileceği belirtilmektedir. Tb^{3+} içeren hidroksiapatit nanopartiküllerinin sabit bir ışıltama indükleyebileceği deneysel olarak kanıtlanmıştır. Nanopartiküllerin hücreler tarafından içselleştirilmesi ve sabit floresansı, Tb^{3+} iyon katkılı hidroksiapatitin, yüksek biyouyumluluğa sahip canlı hücreler için mükemmel bir inorganik probu temsil ettiğini göstermiştir. Tavşan kemik iliği mezenkimal kök hücreleri (MSC'ler) ile inkübasyondan sonra, ışıltayan hidroksiapatitlerin bir floresan mikroskobu altında açıkça görüldüğü raporlanmaktadır. Elde edilen terbiyum katkılı hidroksiapatit hücresel araştırmalar için ümit verici bir biyolojik probu temsil etmektedir [114].

Wei ve ark. tarafından HA-Tb'nin potansiyel biyomedikal alanda uygulamalarını değerlendirmek için MC3T3-E1 hücrelerinin farklı konsantrasyonlarda (25, 50 ve 100 $\mu g / mL$) Tb^{3+} katkılı hidroksiapatit (HA-Tb) nanorodları ile biyolojik reaksiyonu üzerine çalışmalar yapılmıştır. Hücre proliferasyonu ve sitotoksite analizi, incelenen dozlarda hücre morfolojisinde hiçbir değişiklik olmaksızın hücre canlılığını azaltmadığı gözlenmiştir. Tb^{3+} katkılı HA nanoçubukları MC3T3-E1 hücrelerinin sitoplazmalarına alınmış ve sitoplazmada bulunan HA'nın lüminesansı açıkça görülmüştür [115].

Wang ve ark. tarafından yapılan çalışmada, sol-jel yöntemiyle Tb^{3+} katkılı mezogözenekli biyoaktif cam (Tb^{3+} / MBG) nanopartiküller sentezlenmiştir. Üretilen Tb / MBG 'nin *in vitro* biyoaktivitesinin araştırılması için, 3 gün boyunca simüle edilmiş vücut sıvısında (SBF) bekletilmiş ve sonucunda MBG nanosferlerine Tb^{3+} iyonlarının dahil edilmesinin hidroksiapatit oluşum yeteneğini geliştirdiği kanıtlanmıştır [116].

Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada, Er^{3+} katkılı biyoaktif camların X-ışını kırınımı (XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), enerji dağıtıcı X-

Işını spektroskopisi (EDX) ayrıca taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile karakterizasyonu incelenmektedir. Hazırlanan camların lüminesansı bir Omni-3007 spektrometresi kullanılarak ölçülmektedir. *İn vitro* biyoaktivitesi SBF içerisinde bekletilerek incelemiş ve örneklerin biyoyumluluğu MC3T3-E1 hücre hattı kullanılarak test edilmiştir [14].



3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

Tez projesi kapsamında sentezlenen 13-93 biyoaktif camların bileşimi (% mol cinsinden): %54,6 SiO₂, %22,1 CaO, %7,9 K₂O, %7,7 MgO, %6,0 Na₂O ve %1,7 P₂O₅'tir. Biyoaktif cam sentezinde kullanılan kimyasallar; tetraetil ortosilikat (TEOS), trietil fosfat (TEP), kalsiyum nitrat tetrahidrat (Ca(NO₃)₂·4 H₂O), potasyum nitrat KNO₃, magnezyum nitrat heksahidrat (Mg(NO₃)₂·6H₂O), sodyum nitrat NaNO₃, erbiyum (III) nitrat pentahidrat (Er(NO₃)₃·5H₂O), terbiyum (III) nitrat pentahidrat (Tb(NO₃)₃·5H₂O) Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Elektroeğirme işlemi için ayrıca poli (vinil alkol) (PVA) (Mw: 88000-97000, %88 hidrolize, Alfa Aesar), etil alkol (Sigma-Aldrich), yüzey aktif madde (Surfynol SE, Air Products, USA) kullanılmıştır.

Biyoaktivite testlerinde kullanılan yapay vücut sıvısının (SBF) hazırlanmasında sodyum klorür (NaCl, M_w:58,44 g/mol, ≥%99), sodyum bikarbonat (NaHCO₃, M_w:84.01 g/mol), potasyum klorür (KCl, M_w:74,55 g/mol), potasyum fosfat dibazik (K₂HPO₄·3H₂O, ≥%99), magnezyum klorür heksahidrat (MgCl₂·6H₂O, ≥%99), kalsiyum klorür (CaCl₂, M_w: 110,98 g/mol, 36 susuz, ≥%96), sodyum sülfat (Na₂SO₄, ≥%99), Tris(hidroksimetil)aminometan ((CH₂OH)₃CNH₂, Sigma 7-9, ≥%99) ve hidroklorik asit (HCl, %36,5-38, M_w: 36,46 g/mol, d:1,2 g/ml) kullanılmış olup tüm kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

Çalışmada, sırası ile sol-jel ve elektroeğirme yöntemleri kullanılarak partikül ve nanolif formlarında 13-93 biyoaktif camlar sentezlenmiştir. Çalışmada sentezlenen biyoaktif camların nominal bileşimi, kodlarıyla birlikte Tablo 3.1'de gösterilmektedir. Er³⁺ ve Tb³⁺ katkıları ağırlıkça %1, 3 ve 5 olacak şekilde yapılmıştır.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan biyoaktif camların bileşimi (ağırlıkça%).

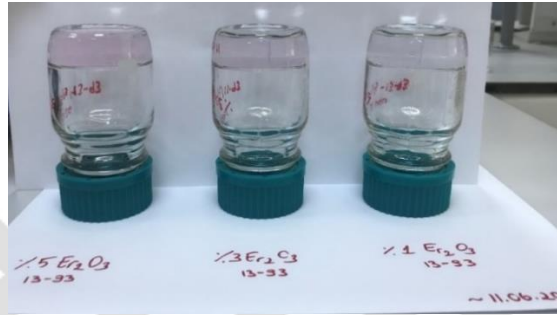
Cam	SiO ₂	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	MgO	P ₂ O ₅	Er ₂ O ₃	Tb ₂ O ₃
13-93	53	20	6	12	5	4	-	-
1Er/13-93	52	20	6	12	5	4	1	-
3Er/13-93	50	20	6	12	5	4	3	-
5Er/13-93	48	20	6	12	5	4	5	-
1Tb/13-93	52	20	6	12	5	4	-	1
3Tb/13-93	50	20	6	12	5	4	-	3
5Tb/13-93	48	20	6	12	5	4	-	5

3.2.1. Sol-Jel Yöntemi ile Biyoaktif Cam Tozu Sentezi

Çalışmada kullanılan sol-jel ile toz sentezi Deliormanlı [117] tarafından geliştirilen yöntemle göre yapılmıştır. Toz sentezi için önce belirtilen kimyasallar Tablo 1’de gösterilen stokiometrik oranlara göre tartılarak belirli bir sırada bir çözgen içinde çözülerek solüsyon haline getirilmiştir. 13-93 cam sentezi için 14.41 ml deiyonize suyun içine (cam şişede) 0.0998 ml 65% nitrik asit eklenmiş ve 15 dakika manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırılmıştır. Sonrasında 9.92 ml TEOS eklenerek 1 saat karıştırmaya bırakılmıştır. Solüsyon berrak hale geldiğinde sırası ile 0.475 ml TEP, 0.835 gr sodyum nitrat, 4.135 gr kalsiyum nitrat, 1.579 gr magnezyum nitrat ve 1.308 gr potasyum nitrat solüsyona birer saat ara ile ilave edilmiştir. Toplam solüsyon oda sıcaklığında 24 saat karıştırılmaya devam edilmiş ardından yine oda sıcaklığında ağzı kapalı vaziyette cam şişenin içinde jelleşme için bekletilmiştir. Örnekler jelleşme sonrasında yaşlandırma işlemi için 48 saat 60°C sıcaklıkta etüvde tutulmuş ardından şişenin ağzı açılarak önce 24 saat 60 °C sıcaklıkta ve sonra 24 saat 120 °C de tutularak kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kuruyarak toz haline gelen biyoaktif cam tozları agat havanda dövülerek ufalanmış ardından 625 °C’de 4 saat kalsine edilmiştir. Bu aşamada fırının ısınma hızı 5 °C/dakika olarak ayarlanmıştır.

Er³⁺ ve Tb³⁺ katkılı 13-93 biyoaktif cam tozlarının sentezi için izlenen yöntem: Erbiyum ve terbiyum katkısı, 1, 3, 5 ağırlıkça% olacak şekilde yapılmıştır (Tablo 1). İlave edilen madde miktarı kadar sistemdeki SiO₂’den eksiltme gerçekleştirilmiştir (6Na₂O, 12K₂O, 5MgO, 20CaO, 4P₂O₅, 53-xSiO₂; xEr₂O₃ veya

xTb₂O₃ ağırlıkça %). Başlangıç tuzlarının solusyona eklenme sırası yukarıda belirtildiği gibi olup erbiyum ya da terbiyum katkısı en son aşamada (potasyum nitrat ilavesinden sonra) gerçekleştirilmiştir. Sonrasında jelleşme, yaşlandırma işlemi ve ısıl işlem (kalsinasyon) basamakları önceki bölümde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 sırasıyla jelleşme ve yaşlandırma aşamalarındaki Er³⁺ içeren biyoaktif camlara ait görüntüleri verilmektedir. Ayrıca, Şekil 3.3 kurutma işlemi sonrasında ve Şekil 3.4 kurutulan örneklerin kalsinasyon öncesinde agat havanda öğütülmesi aşamalarındaki görüntüleri içermektedir.



Şekil 3.1. Jelleşme işlemi tamamlanan Er³⁺ içeren 13-93 örneklerin görüntüleri.



Şekil 3.2. 60 °C’de yaşlandırma işlemine tabi tutulan örneklerin görüntüleri.



Şekil 3.3. 120 °C’de kurutma işlemi yapılan örneklerin görüntüleri.



Şekil 3.4. Örneklerin agat havan içerisinde öğütölme işlemi.

625 °C’de 4 saat kalsine edilen örnekler 700 rpm’de, çapı <5 mm olan ZrO₂ bilyeler içeren bir planeter değirmen (The Planetary Micro Mill, Pulverisette 7, Premium Line, Fritsch, Almanya) kullanılarak 10 dakika öğütme işlemine tabi tutulmuştur. Son aşamada, öğütölün tozlar <53 µm paslanmaz çelikten yapılmış bir elek (Retch, Almanya) kullanılarak elenmiştir.

3.2.2. Elektroğirme Yöntemi ile Biyoaktif Cam Nanolif Sentezi

Proje kapsamında, Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam nanolifleri elektroğirme yöntemi ile sentezlenmiş ve bu amaçla daha önce geliştirilmiş bir yöntem kullanılmıştır [118]. Proje kapsamında, biyoaktif cam nanolifler, bir aydınlatıcı, bir egzoz, yüksek hassasiyetli bir mikro pompa, bir tambur stroğu ve bir dönen tambur içeren laboratuvar ölçekli bir nanospinner cihazı (NE-300, Inovenso, TR) kullanılarak üretilmiştir. Cihaza ait görseller şekil 3.5’de verilmiştir.



Şekil 3.5. Tez çalışması kapsamında kullanılan elektroğirme cihazını ve yapılan elektroğirme işlemini gösteren fotoğraflar.

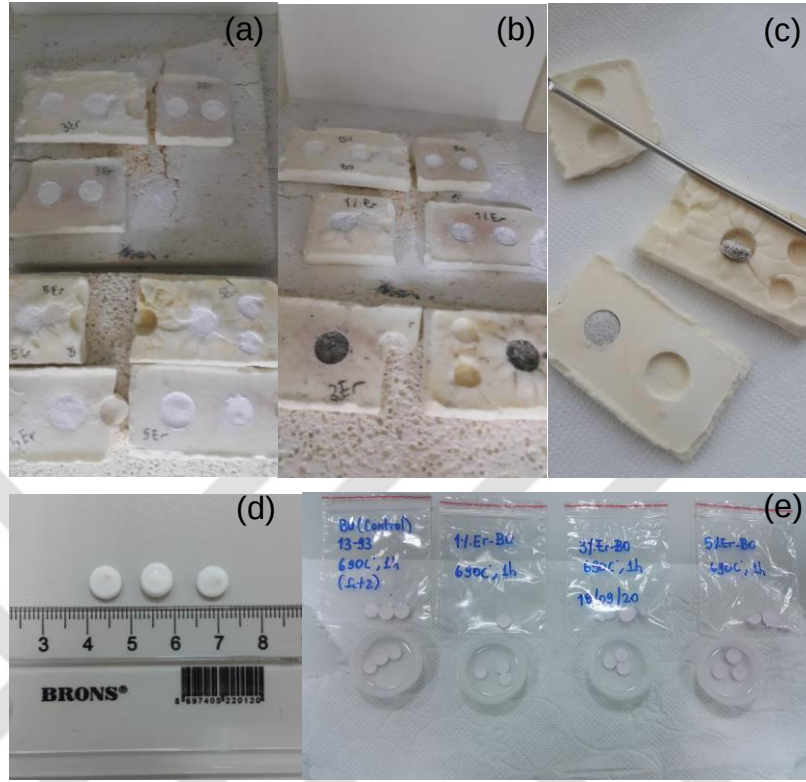
Elektroeğirme yöntemi ile lif üretimi için başlangıçta sol-jel yöntemi ile toz sentezi hazırlamada izlenen yöntem takip edilmiş, ancak cam solusyonu hazırlandıktan sonra jelleşmeye bırakılmadan 1/1 oranında 10% PVA ile karıştırılmıştır. Bu amaçla 10 ml biyoaktif cam solusyonuna, 10 ml PVA solusyonu (10% ağırlıkça) eklenmiştir. Bu karışıma 2 ml etil alkol ve 0.1% yüzey aktif madde ilavesi yapıldıktan sonra bir gece karışmaya bırakılmış sonrasında elde edilen sıvı karışım 20 ml hacimli plastik enjektöre yüklenerek elektro-eğirme işlemi yapılmıştır. Eğirme işlemi 20 kV elektrik potansiyeli uygulanarak gerçekleştirilmiş, enjektörden akış hızı 1 ml/saat olarak ayarlanarak dönen silindir üzerine eğirme işlemi yapılmıştır. Eğirme işleminde nozül ile hedef dönen tambur arası 8 cm olarak ayarlanmıştır. Eğirme işlemi sonlandırıldığında folyo üzerindeki lifler 24 saat kurumaya bırakılmış sonrasında cımbız yardımıyla folyodan ayrılmıştır.

Elde edilen lifler önce 60 °C'de sonrasında da 1 gün boyunca 120 °C'de kurutulmuştur. Kalsinasyon işlemi için lifler, 1°C/dak'lık bir ısıtma hızıyla önce 250 °C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 4 saat bekletilmiş ardından 5 °C/dak'lık bir ısıtma hızıyla 625 °C' ye çıkarılıp bu sıcaklıkta yine 4 saat tutularak içerisindeki nitratların ve diğer organik malzemelerin uzaklaştırılması sağlanmıştır.

3.2.3. Biyoaktif Cam Doku İskelesi Hazırlama

Tez projesi kapsamında, *in vitro* hücre kültürü ve ilaç salım çalışmalarında kullanılmak üzere, sentezlenen toz ve nanolif formunda katkısız, Er³⁺ ya da Tb³⁺ katkılı 13-93 biyoaktif camlardan disk şeklinde doku iskeleleri hazırlanmıştır. Bu amaçla, toz ve nanolifler ayrı ayrı alüminyum oksitten (Al₂O₃) hazırlanmış kalıpların (çapı 8mm ve derinliği yaklaşık 3 mm) içerisine doldurularak sıkıştırılma işlemi yapılmıştır. Alümina kalıp içerisindeki örnekler 690 °C'deki fırına doğrudan yerleştirilmiş ve bu sıcaklıkta 1 saat bekletilmiş ardından fırından çıkarılmıştır. Daha önce, konu hakkında yapılan çalışmalar 690 °C'de 1 saat olarak yapılan bu tür bir ısıtma işleminin hazırlanan biyoaktif cam skafoldlarda yapısal herhangi değişikliğe neden olmadığını ve kristal faz oluşturmadığını göstermiştir [118]. O nedenle, mevcut çalışmada doku iskelelenin sinterlenmesinde belirtilen sıcaklık şartları kullanılmıştır. Elde edilen disk şeklindeki doku iskeleleri *in vitro* hücre kültürü ve ilaç salım çalışmalarında kullanılmak üzere %70 etil alkol içerisinde 15 dakika bekletilerek

dezenfekte edilmiştir. Şekil 3.6, çalışma kapsamında hazırlanan doku iskelelerinin ısıtıl işlem öncesi ve sonrasındaki görüntülerini vermektedir.



Şekil 3.6. Tez kapsamında sentezlenen biyoaktif cam tozları ve nanoliflerden doku iskelesi hazırlamak için 690 °C’de yapılan sinterleme öncesi, örneklerin fırın içindeki görüntüleri (a) biyoaktif cam toz ve (b) biyoaktif cam nanolifler; (c) sinterleme sonrası kalıptan çıkarılan nanoliflerden hazırlanmış doku iskelesi; (d) tozlar ile hazırlanan biyoaktif cam doku iskelesi; (e) sterilizasyon için etil alkol içerisinde bekletilen doku iskeleleri.

3.3. Karakterizasyonlar

Biyoaktif cam tozlarının ve liflerinin morfolojik, yapısal, fotolüminesans özelliklerinin, *in vitro* biyoaktivite ile sitotoksitelerinin, ayrıca ilaç salım özelliklerinin incelenmesi için çeşitli karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Morfolojik Karakterizasyonlar

Sentezlenen tozların tane boyut analizi tane boyutu ölçüm cihazı (Malvern, Mastersizer 3000, UK) ile ölçülmüştür. Lazer difraksiyon tane boyutu analizörü olan cihaz, Mie teorisini kullanarak dağılmış tanecikli numuneden geçen lazer ışını olarak saçılan ışığın yoğunluğunu ölçmektedir. Ölçümler su içerisinde çok düşük konsantrasyonda biyoaktif cam tozlarının disperse edilmesiyle yapılmıştır.

Toz ve nanolif formunda biyoaktif camlar kullanılarak hazırlanan disk şeklindeki doku iskelelerinin poroziteleri Arşimet prensibine göre ölçülmüştür. Bu amaçla, biyoaktif cam peletler etanol içeren bir kap içerisine alınarak, kap ile tartılmıştır. Değerin not edilmesinin ardından etanol dolu kabın içerisine numune konularak 30 saniye beklenmiştir ve etanol dolu kapla tartılarak ağırlık not edilmiştir. Numune cımbız yardımıyla alınarak üzerindeki etanolün tamamının süzüldüğünden emin olduğunda kabın içerisinden çıkarılarak kap ile etanolün ağırlığı not edilmiştir. Bu işlemler her numune çeşidi için üçer kere tekrar edilerek değerlerin ortalaması alınmıştır. Elde edilen değerler denklem 3.1 'de yerine konularak porozite hesaplanmıştır.

$$porozite (\%) = \frac{(W_2 - W_3 - W_s)}{(W_1 - W_3/\rho_c) + (W_s/\rho_s)} \quad (3.1)$$

Ws: Numunenin kuru ağırlığı

W₁: Etanolle doldurulmuş kabın ağırlığı

W₂: Etanol ve numune bulunan kabın ağırlığı

W₃: İçerisinden numune çıkarılmış kabın ağırlığı

ρ_c : Etanolün yoğunluğu

ρ_s : Numunenin yoğunluğu

Hazırlanan biyoaktif cam partikül ve lif içerikli doku iskelelerinin, yüzey morfolojileri Nikon Eclipse LV 100 model optik mikroskop kullanılarak farklı büyütme seviyelerinde incelenmiştir.

3.3.1.1. SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Analizleri

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) numune yüzeyini odaklanmış bir elektron demeti ile tarayarak bu yüzeyin görüntülerini üretmektedir. Elektronlar, numune yüzeyinde bulunan farklı atomlarla etkileşime girerek numune yüzeyi morfolojisi ve bileşimi hakkında bilgi veren çeşitli sinyaller üretmektedir. Taramalı elektron mikroskobu, bu elektronları bir demet halinde odaklayan bir dizi yoğunlaştırıcı merceğe ve açıklığın üzerine yerleştirilmiş yüksek enerjili bir elektron kaynağına sahiptir [119]. Çeşitli yüzeylerin nanometre düzeyinde hem iki boyutlu topografik görüntülerinin elde edilmesi hem de yüzeydeki kimyasal kompozisyonun belirlenmesi için SEM analizleri kullanılmaktadır.

Çalışmada üretilen biyoaktif camların morfolojisi, 3 kV'luk bir hızlanma voltajında ve 10 mm'lik bir çalışma mesafesinde Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Deneysel Fen Bilimleri Araştırma Merkezi'nde taramalı elektron mikroskobu (Zeiss, Gemini 500) kullanılarak incelenmiştir. Öncesinde DEFAM bünyesindeki SEM örnek hazırlama laboratuvarında bulunan kaplama cihazı (Leica, EM ACE 200) ile örnekler Au-Pd kaplanarak elektriksel olarak iletken hale getirilmiştir.

Sentezlenen biyoaktif cam nanoliflerin ortalama çapları SEM görüntülerinden seçilen yaklaşık 40 adet lif çapının ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Bu amaçla ImageJ programı kullanılmıştır.

3.3.2. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri

Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), katı, sıvı ve gaz haldeki maddenin kızılötesi absorpsiyon, emisyon ve fotoiletkenlik spektrumunu elde etmek için kullanılan bir tekniktir. Ham verileri (interferogram) gerçek spektruma çevirmek için matematiksel süreci (Fourier dönüşümü) kullanmaktadır. Cihazın çalışma prensibi temel olarak kızılötesi ışığın numune tarafından soğurulmasına dayanmaktadır. Cihaz tarafından elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesinden moleküldeki bağların titreşimi ve dönüşleri için gerekli miktardaki dalga enerjisinin gönderilmesiyle soğurma gerçekleşmektedir. Çok çeşitli organik ve inorganik numunelerin kalitatif ve kantitatif analizi için kullanılmakta olan FTIR; moleküler yapı, kimyasal bağ ve

moleküler ortam hakkında bilgi edinilmesini sağlamaktadır. Bilinmeyen malzemeleri tanımlamada ve karakterize etmede, bir malzemedeki kirleticileri tespit etmede, katkı maddelerini bulmada ve ayrışmanın yanında oksidasyonu da belirlemede kullanılmaktadır [120].

Çalışmada ilgili analizler için Perkin Elmer, Spectrum 2 Spektrometre kullanılmıştır. Analizler ATR modülü kullanılarak $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında yapılmıştır.

3.3.3. X Işını Kırınımı (XRD) Analizleri

X-ışını kırınım analizi (XRD), bir malzemenin kristal mikroyapısının (kristalografik) belirlenmesi için kullanılan en yaygın yöntemdir. XRD analizi, malzeme bilimi, kimya, jeoloji, çevre bilimi, adli tıp ve ilaç endüstrisinde malzemelerin karakterizasyonu için çok çeşitli uygulamalara sahiptir. XRD, her bir kristal fazın kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanmaktadır. XRD, organik ve inorganik kristalin numuneler üzerinde X-ışını radyasyonunu kullanmaktadır. Işınlr, kristal bileşenlerinin konumu, düzeni ve boyutu tarafından belirlenen bir modelde kırılmaktadır. X-ışınları, kristal kafesi oluşturan atomlara ve bu atomların nasıl düzenlendiğine bağlı olarak her mineral tarafından farklı şekilde kırılım göstermektedir. Her bir kristal faz için bir nevi parmak izi gibi olan bu kırılım profilleri kristali tanımlamaktadır. Amorf malzemeler, bir XRD grafiğinde tepe noktalarının olmamasıyla kolayca tanınmaktadır. Bir X-ışını bir örneğe çarptığında ve kırınımına uğradığında, numuneyi oluşturan atomların düzlemleri arasındaki mesafeler, yoğunlukları ve saçılma açıları Bragg Yasası uygulayarak ölçülmektedir. X-ışını kırınım analiz metodu, analiz sırasında numuneyi tahrip etmez ve çok az miktardaki numunelerin dahi analizlerinin yapılmasını sağlamaktadır [121].

Analizler Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deneysel Fen Bilimleri Araştırma Merkezi'nde (DEFAM) bulunan XRD cihazı (Empyrean, Malvern Panalytica) ile Cu K α radyasyonu kullanılarak 2θ 10 ile 90° aralığında yapılmıştır.

3.3.4. Fotolüminesans Analizleri

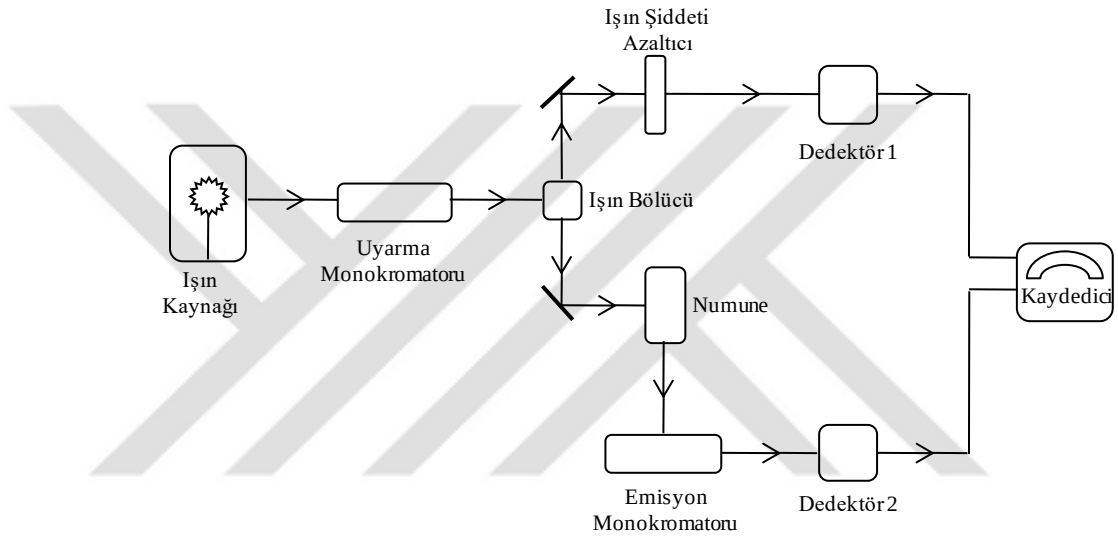
Sentezlenen biyoaktif cam tozlarının ve liflerin görünür bölge fotolüminesans spektrası (yayılım ve uyarım ölçümü, 400–900 nm) floresans spektrofotometresi (Edinburgh Instruments FLSP920 Fluorescence Spectrometer (Steady State, Lifetime, Phosphorescence)) kullanılarak Dokuz Eylül Üniversitesi, Elektronik Malzemeler Üretim ve Uygulama Merkezinde (EMUM) yapılmıştır (Şekil 3.7). Belirtilen cihaz, floresans veya fosforesans özellik gösteren organik ya da inorganik maddelerin eksitasyon, emisyon spektrum ölçümleri, nano ve mikro saniye düzeyindeki floresans ömrü (decay time) ölçümleri için kullanılmaktadır. Cihaz sayesinde numunenin absorpsiyon ve emisyon yaptığı dalga boyları belirlenebilmekte ve cihaz standart ölçümler için 200 – 900 nm aralığında çalışma imkanı sağlamaktadır. Tez kapsamında belli dalga boylarında (görünür bölge ve IR) pulslu lazer ışık kaynakları ile uyarma yapılarak nano saniye düzeyindeki floresan ömrü ve mikro saniye flaş lamba ile uyarılarak mikro saniye düzeyindeki floresans ömrü ölçümleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan floresans spektrofotometrenin görüntüsü [122].

Florimetrelerden farklı olarak bu tip cihazlarda 2 adet monokromator bulunur. Bunlar uyarma ve emisyon monokromatorlarıdır. Bu sayede hem uyarma hem de emisyon spektrumları elde edilir. Işık kaynağından gelen polikromatik ışıktan (birden fazla dalgaboyundaki ışık), tek bir dalgaboyunda olan ışık elde etmek için kullanılan düzeneğe monokromator denir. Uyarma ışımasını sınırlandırmak için uyarma monokromatoru kullanılır. Floresans için gerekli dalga boyundaki ışın geçerken diğer dalga boylarındaki ışınlar tutulur. Numuneden gelen ışımayı bileşenlerine ayırmak için emisyon monokromatoru kullanılır (Şekil 3.8). Emisyon (floresans) ışınının dalga

boyu genellikle uyarma ışınının dalga boyundan daha uzun olur yani daha düşük enerjili olur. Absorpsiyon şiddetine oranla floresans şiddeti oldukça düşüktür. Floresans çok zayıf bir ışımadır ve şiddeti, kendisini uyaran ışık şiddetinin ~%1'i civarındadır. Bu nedenle, örnek üzerine gönderilen ışın ile açığa çıkan floresans ışınını karşılaştırmak için cihazda ışın şiddeti azaltıcı kullanılır. Buna rağmen, floresans şiddetinin uyarıcı ışın şiddetine oranı başlangıçta bilinmediğinden, floresans ölçen cihazlarda sonuç standart bir maddeye karşı bağıl olarak okunur. Bu nedenle okunan değer birimsizdir (bağıl frekans şiddeti) [123].



Şekil 3.8. Floresans spektrofotometreye ait şematik gösterim

Çalışmada sentezlenen partikül ve nanolif formundaki biyoaktif camların fotoluminesans özellik analizleri, uyarma ve yayınlanma olmak üzere iki adımda yapılmıştır. Emisyon (floresans) ışınının dalga boyu genellikle uyarma ışınının dalga boyundan daha uzun olur yani daha düşük enerjili olmaktadır. Katkısız, Er^{3+} ve Tb^{3+} katkılı toz numuneler 374nm’de uyarılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada uyarma ve yayınlanma spektrumundan elde edilen veriler ışığında sentezlenen örneklerin Stoke’s kayma değerleri elde edilmiştir. Ayrıca, nanosaniye ve mikrosaniye rejimindeki bozunma süresi (decay time) darbeli lazer ve bir mikrosaniye flaş lambasının uyarılması altında ölçülmüştür. Nanosaniye rejim ölçümleri, 367.8 nm darbeli bir lazerle yapılmış ve darbe genişliği, cam numunelerin ortalama bozunma sürelerinden çok daha kısa (118,2 ps) olarak alınmıştır. Emisyon verileri, her bir numune türünün maksimum emisyon dalga boyunda elde edilmiş,

mikrosaniye ve milisaniye rejiminde yapılan bozunma süresi ölçümlerinde mikrosaniye flaş lambası kullanılmıştır. IRF (Instrument response functions), bir koloidal silika-su süspansiyonu (LUDOX %30, Sigma Aldrich) kullanılarak kaydedilmiştir.

3.3.5. *In Vitro* Biyoaktivite

Biyoaktif camların yüzeyinde biyoaktivitenin göstergesi olarak hidroksiapatit (HA) tabakasının oluşma sürecini gözlemlemek *in vitro* ortamda yapay vücut sıvısı (SBF) kullanılarak deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerde kullanılan yapay vücut sıvısı Kokubo ve ark. tarafından geliştirilen metoda göre hazırlanmıştır [124]. Kan plazmasında ve SBF’de yer alan iyon konsantrasyonları Tablo 3.2’de verilmektedir.

Tablo 3.2. Kan plazmasının iyonik konsantrasyonları (mM) [142] ve SBF [141]

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Kan Plazması	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	148.8	4.2	1.0	0

SBF hazırlamak için, içi su dolu geniş tabanlı bir kabın içerisine bir miktar su eklenerek karıştırıcının üzerine yerleştirilmiş ve sıcaklığı 37 °C olacak şekilde bir su banyosu elde edilmiştir. Su banyosunun sıcaklığı termometre ile kontrol altında tutulmuştur. 1000 ml hacimli ve içerisine 700 ml ultra saf su eklenen bir cam beher su banyosu içine yerleştirilerek, ısı dengeye gelmesi beklenmiştir. Beher içerisine sırasıyla Tablo 3.3’de verilen miktarlardaki malzemeler tek tek eklenmiş ve her ekledikten sonra 30 dakika karıştırılarak çözünme beklenmiştir. MgCl₂.6H₂O ilavesinden sonra sisteme 36 ml 1N HCl (toplam mikarın %90’ı) eklenmiştir. Bu aşamada, beherin üzeri saat camıyla örtülerek suyun buharlaşması önlenmiştir. Son malzeme de çözündüğünde solüsyonun pH değeri masa üstü pH metre (Hanna Instruments, HI 2211) kullanılarak ölçülmüştür. Solüsyonun pH değeri 7,4’e gelene kadar solüsyonun içerisine 1N-HCl eklenmiştir. pH değeri 7,4 olan solüsyon cam balon jojeye alınarak solüsyonun tamamı ultra saf su eklenerek 1 litreye tamamlanmıştır. 1 litre olan solüsyon bir süre oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra,

solüsyon polietilen bir şişe içerisinde buzdolabına alınarak +4 °C’de 15 gün süreyle muhafaza edilerek deneysel çalışmalarda kullanılmıştır.

Tablo 3.3. Yapay vücut sıvısı (SBF) reçetesi (1 litre için)

Sıra	Malzeme	Miktarı
1	NaCl	7.996 g
2	NaHCO ₃	0.350 g
3	KCl	0.224 g
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0.228 g
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0.305 g
6	1M-HCl	40 ml
7	CaCl ₂	0.278 g
8	Na ₂ SO ₄	0.071 g
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6.057 g

In vitro biyoaktivite çalışmalarında biyoaktif cam numuneleri (1, 3 ve 5% Er⁺³/Tb⁺³ katkılı ve katkısız 13-93) 3 farklı zaman aralığında (7, 14, 30 gün) SBF içerisinde, statik koşullar altında 37 °C’de tutulan bir inkübatörde (NÜVE, EN 400) bekletilmiştir. 50 ml’lik santrifüj tüplerinin içerisine konulan örnek numunelerin üzerlerine, 1 gram numune için 500 ml SBF oranına uygun şekilde, SBF eklenmiştir. Belirtilen sürelerin sonunda tüplerin içerisinden çıkarılan numuneler saf etanolle 3 defa yıkanmıştır ve 24 saat 60 °C’de kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örneklerin yüzeylerinde hidroksiapatit oluşumu taramalı elektron mikroskobu SEM (Zeiss, Gemini 500) ve Fourier transform infrared spektrofotometresi FTIR (Thermo Scientific, Nicolet, IS20) kullanılarak incelenmiştir.

3.3.6. *In Vitro* Hücre Kültürü

Çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, laboratuvar ortamında özel olarak tasarlanmış kaplarda, ısı, nem, besin gibi ortam şartlarının kontrol edilerek aseptik teknikler kapsamında kontaminasyondan uzak bir şekilde yaşatılmasına hücre kültürü denir. Sitotoksisite testleri, toksik etkisi bilinmeyen bir maddenin davranışı hakkında temel bilgiler vererek daha sonra yapılacak hayvan denemeleri veya klinik denemelere kaynak oluşturmaktadır [125]. Çalışma kapsamındaki hücre kültürü deneyleri, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Deneysel Fen Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEFAM), Hücre Kültürü Laboratuvarlarında yapılmıştır. Çalışmalarda, biyoaktif cam toz ve nanoliflerden hazırlanan disk şeklindeki doku iskeleleri kullanılmıştır. Deneyler, UV ışıkla sterilize edilebilen laminar hava akımlı kabinde (NuAire, USA) gerçekleştirilmiştir.

Biyoaktif cam toz ve liflerinden hazırlanmış Şekil 3.12’de gösterilen doku iskeleleri (7 mm çapında x 2 mm kalınlığında) hücre kültüründen önce %70’lik etanolde bekletilmiş, sonrasında fırında 350 °C’ de 15 saat bekletilerek sterilize edilmiştir. Çalışmalarda C57BL/6 fare pre-osteoblastik hücrelerinden oluşturulmuş MC3T3-E1 hücre hattı (CRL-2594, ATCC, Manassas, VA, USA) kullanılmıştır. Eksi 80 °C’de bekletilen hücreler hızlıca çözünmeleri için 37 °C’deki su banyosuna daldırılmıştır. Besiyeri olarak 100 U/ml penisilin, 100 µg/ml streptomisin ve %10 fetal sıgır serumu (FBS; GIBCO, Invitrogen Corporation, Grand Island, NY) içeren MEMα (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Çözünen hücreler kabin içerisinde, kültür besi ortamlarına eklenmiş hücre kültür kaplarına alınarak kültürlenmiştir. Tüm kültürler %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş bir atmosferde 37 °C 'de muhafaza edilmiştir. Ortam her 2 günde bir değiştirilmiştir. Hücre hatlarında meydana gelen canlılık, çoğalma ve enfeksiyon gibi durumların kontrolü ve denetlenmesi için inverted mikroskopta incelemeler yapılmıştır.

Hücre kültürü deneyleri için hücreleri kültür kaplarından başka ortama aktarırken, 4ml tripsin/EDTA (%0,05) kullanılarak ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Tripsin eklenen hücrelerin bulundukları ortama yapışmasını sağlayan proteinlerin aktivasyonu bozulduğu için hücreler yapıştıkları yerden ayrılmıştır. Hücrelere eklenen 4ml tripsin/EDTA (%0,05) ile beraber hücre kültür kabı 10 dk inkübatörde

bekletilmiştir. Yapıştıkları yüzeyden ayrılan hücrelerin çöktürülmesi için santrifüj işlemi uygulanmıştır. Bu sayede dibe çöken hücreler hücre sayımı için dipten toplanmıştır. Hücre sayımı işleminden önce hücreler 1:1 oranında tripan mavisini ile boyanmıştır. Hücrelerin canlılıkları, hücre zarlarından içeriye mavi renkli bu boyayı almalarına göre belirlenmektedir. Boya molekülleri, canlı hücrelerin zarlarından geçemediklerinden dolayı hücreleri boyayamaz ve canlı hücreler beyaz olarak görünürken, ölü hücrelerin zarlarından rahatlıkla geçebildiği için bu hücreleri maviye boyamaktadır ve ölü hücreler mavi olarak görünmektedir. Tripan mavisini ile boyanan hücrelerin sayımı için, lam ile lamel arasına yerleştirilen karışım otomatik hücre sayımı cihazına (Cellometer, Nexcelom, ABD) yerleştirilmiştir. Hücre yoğunluğunun mililitredeki canlı hücre sayısı olarak hesaplanması için canlı hücreler tespit edilmiştir.

Steril edilen biyoaktif cam doku iskeleleri 24 gözlü hücre kültürü kaplarına (NUNC; Thermo Fisher Scientific) yerleştirilmiştir. Her 100 µl'de 5×10^4 tane hücre olacak kadar hücre süspansiyonu yerleştirilen steril iskelelerin üzerine ekilmiştir. Hücre ekimi yapıldıktan sonra hücre kültür kapları 3 gün süre ile 37 ° C 'de %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş bir atmosferi bulunan inkübatör içerisinde bekletilmiştir. Biyoaktif cam skafoldların bulunduğu kültür ortamındaki hücre morfolojisi (72 saat sonunda) optik mikroskop kullanılarak incelenmiştir. Kültürlenen örneklerle sitotoksitesite tayini için MTT analizi uygulanmıştır.

3.3.6.1. MTT Analizi

Metabolik aktivite ölçümü için kullanılan testlerden biri olan MTT, hücrelerin tetrazolyum tuzlarını formazan boyasına çevrilebilmesine dayanmaktadır. Tetrazolyum tuzları canlı hücrelerde mitokondriyal enzimler vasıtasıyla renkli formazan boyasına çevrilmektedirler. Reaksiyon mitokondriyal bir enzim olan dehidrojenaz enziminin aktivitesine bağlıdır. Tetrazolyum halkasının parçalanması sonucunda soluk sarı renkli MTT boyası koyu mavi-mor formazan ürününe dönüşmektedir [126]. Hücre zar bütünlüğü bozulduğunda, bu tuzlar formazan boyasına çevrilememektedir. Hücre canlılık testi kapsamında (3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium solüsyonu hazırlanmıştır. Hücre kültüründen alınan hücrelere, hücre ekimi yapıldıktan sonra 3 gün süre 37 °C'de 5%CO₂ içeren inkübatörde bekletilen örneklerin üzerine MTT

solüsyonu ilave edilmiştir. Hücreler, 37 °C'de %5 CO₂ içeren nemli ortamda 4 saat daha inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında MTT tetrazolyum tuzu canlı hücreler tarafından suda çözülebilen formazon tuzuna çevrilmiştir. MTT inkübasyonundan sonra, mavi formazan kristalleri dimetil sülfoksit (Sigma-Aldrich, ABD) ilave edilerek çözündürülmüştür. Formazan ürününün miktarı ve oluşan mor renkli formazan ürününün parlaklığının artması kültürde yaşayabilen hücrelerin sayısı ile direkt orantılı olarak, 550 nm absorbansla ölçülmüştür. Absorbans değeri bir spektrofotometre cihazı (µQuant, BadFriedrichshall, Biotek) ile okunmuştur. MTT yöntemiyle bir hücre topluluğundaki canlılığını koruyabilen aktif metabolizması olan hücrelerin oranı kolorimetrik yöntem kullanılarak kantitatif olarak saptanabilmektedir.

3.3.6.2. Hücre Morfolojisi

72 saat inkübasyonda bekletilen doku iskeleleri, hücrelerin morfolojik değişimlerinin değerlendirilmesi için kültür ortamından çıkarılmıştır. Hücre kültüründen ayrılan skafoldlar üç kez PBS ile yıkanmıştır. SEM analizi öncesinde hücrelerin yüzeylere sabitlenmesi için skafold üzerindeki hücrelere %2,5 glutaraldehit çözeltisi (Sigma Aldrich, ABD) eklenmiştir. Hücreler 4 saat boyunca bu çözeltinin içerisinde bekletilmiş ve tamamen yüzeye sabitlenmiştir. Ardından skafoldlar PBS içerisinde +4 °C'de 15 saat boyunca bekletilmiştir. Dehidrasyon işlemine tabi tutabilmek için numuneler sırasıyla farklı konsantrasyonlardaki %50, %60, %70, %80, %90 ve %100 etanol-su solüsyonlarında 15 dakika süreyle bekletilmiştir. Örnekler dehidrasyon işlemine tabi tutulduktan sonra 5 dakika boyunca hexamethyldisilazane (HMDS) solüsyonunda bekletilmiştir. Skafoldlar oda sıcaklığında kurutulduktan sonra Au-Pd Kaplama cihazı (Leica, EM ACE 200) ile kaplanmış ve yüzeyleri, daha önce anlatılan koşullar altında SEM (Zeiss, Gemini 500) kullanılarak incelenmiştir.

3.3.7. İlaç Salım Deneyleri

Çalışmada, ilaç modeli olarak gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalara karşı bakterisid etkiye sahip osteomyelit tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerden olan gentamisin sülfat (Genta, Bilim İlaç) ve amoksisilin trihidrat (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Gentamisin sülfatın bakterisidal aktivitesinin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da, bakterilerin 30s

ribozomal alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe ettiği bilinmektedir [127]. Amoksisilin trihidrat diğer penisilin grubu antibiyotiklerde olduğu gibi bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe ederek bakterisid etki göstermektedir [128].

Biyoaktif cam tozları ve nanolifler kullanılarak hazırlanan disk şeklindeki doku iskeleleri üzerine belirli konsantrasyondaki amoksisilin trihidrat solusyonu (1 mg/ml) veya gentamisin sülfat (4 mg/ml) solüsyonu mikropipet yardımı ile doğrudan damlatılmış ve peletlerin yüzeyindeki ilaç solüsyonunun kuruması için örnekler oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. İlaç salım ortamı olarak kullanılan fosfat tampon salin çözeltisi (PBS) Tablo 3.4’de verilen malzemeler kullanılarak hazırlanmıştır.

Tablo 3.4. PBS hazırlamak için (1 litre) gerekli malzemeler ve miktarları

Malzeme	Miktar
NaCl	8 g
KCl	0.2 g
Na ₂ HPO ₄	1.44 g
KH ₂ PO ₄	0.24 g
H ₂ O	800 ml

1 litrelik PBS çözeltisi hazırlamak için, daha önce steril edilmiş cam behere 800 ml ultra saf su eklenmiştir. Her malzeme Tablo 3.5’de belirtilen sıra ile ve bir önceki eklenen malzeme, 20 dakika karıştırılıp tamamen homojen hale geldikten sonra sisteme ilave edilmiştir. En son aşamada çözeltinin pH’ı HCl kullanılarak 7.4’e ayarlanmıştır. Sonrasında çözelti 1 litrelik cam balon jöjeye alınarak ultra saf su ilavesiyle 1 litreye tamamlanmıştır. Solüsyon polietilen bir şişenin içerisine alınmış ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

Deneyisel çalışmalarda, ilaç salım ortamındaki ilaç konsantrasyonun belirlenmesi için UV-Vis spektrofotometre (Thermo Scientific, Evolution 201) kullanılmıştır. Bu amaçla absorbans ölçümleri, 3 ml solüsyon doldurulmuş kuvarz küvetler kullanılarak yapılmıştır. İlaç salım deneylerine başlamadan önce ilaç solüsyonlarına ait kalibrasyon grafiklerinin elde edilebilmesi için, PBS’in, ayrıca farklı konsantrasyonlardaki (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 ve 8 mg/ml) ilaç solüsyonlarının

absorbans değerleri gentamisin için 256 nm’de ve amoksisilin için 272 nm’de llmtr. Deneysel çalışmalarda gerçekleşen ilaç salım miktarları, bu şekilde oluşturulmuş olan kalibrasyon grafikleri kullanılarak hesaplanmıştır.

İlaç salım miktarının tespiti için ağırlığı ve yüklenen ilaç miktarı bilinen biyoaktif cam toz ve liflerden hazırlanan doku iskeleleri üzerine 5 ml fosfat tampon salin zeltisi (PBS) eklenerek 37 C’de inkübatörde bekletilmiştir. PBS ortamıyla ilaç yüklü skafoldlar arasındaki derişim farkının sabit tutulması amacıyla her ölçüm sonrasında PBS ortamından alınan 2 ml örnek yerine 2 ml taze PBS zeltisi eklenmiştir. Ani salım olup olmadığının gözlemlenebilmesi için örneklerin PBS içerisine yerleştirildiği gün absorbans lme işlemi saat başı gerçekleştirilmiştir. 7 gün boyunca UV-Vis spektrofotometre kullanılarak gentamisin için 256 nm’de ve amoksisilin trihidrat için 272 nm’de absorbans değerleri llmtr. 7 günün sonunda ölçülen absorbans değerleri kümülatif olarak grafik üzerinde değerlendirilmiştir. Zamana karşı ilaç salınım miktarı grafikleri çizilerek katkı eşidi (Er^{+3} / Tb^{+3}) ve miktarının (ağırlıka%1,3 ve 5) salınım davranışı üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Çalışmada ayrıca ilaç salım kinetiğini incelemek amacıyla Sıfır derece, Birinci derece ve Higuchi kinetik model denklemleri uygulanmıştır. İlaç salım kinetik model denklemleri aşağıda verilmektedir:

Sıfır derece modeli;

$$Q_0 - Q_t = K_0 \times t \quad (3.2)$$

denklemleri ile ifade edilmektedir. Paralanmayan ve salımın yavaş olduğu sistemler için kullanılan denklemde yer alan parametreler,

Q_t : t zamanında çözünen ilaç miktarı

Q_0 : Başlangıçta zeltide bulunan ilaç miktarı (genellikle, $Q_0=0$)

K_0 : Sıfır derece salım katsayısı (konsantrasyon/zaman)

Birinci derece modeli;

$$\log C = \log C_0 - Kt / 2,303 \quad (3.3)$$

denklemleri ile ifade edilmektedir. Bu kinetik modele uyan salım sistemlerinde salınan ilaç miktarı zamanla azalmaktadır. Denklemlerde yer alan parametreler,

C_0 : Başlangıç ilaç konsantrasyonu

K: Birinci derece hız sabiti (t-1)

t: Zaman

Kümülatif ilaç konsantrasyonu yüzdelerinin logaritma değerlerinin zamana karşı grafiğinin çizilmesi ile $-K/2,303$ eğimine sahip bir doğru elde edilmektedir.

Higuchi modeli;

$$f_t = Q = A \sqrt{D(2C - C_s)C_s} \cdot t \quad (3.4)$$

denklemleri ile ifade edilmektedir. Denklemlerde yer alan parametreler,

Q: t zamanında birim yüzey alanından salınan ilaç miktarı

A: İlaç taşıyıcı yüzey alanı

D: Matris içerisindeki ilaç difüzyon katsayısı

C_s : Matris içerisindeki ilaç çözünürlüğü

C: Matris içerisindeki başlangıç ilaç konsantrasyonu

Elde edilen veriler, kümülatif ilaç salım miktarına karşı zamanın karekökü olarak grafiklenmektedir. 3.4 nolu denklem basitleştirilmiş olarak, aşağıda verilmektedir (denklem 3.5). Higuchi modeli, ilaç salımını Fick yasasını temel alarak bir difüzyon işlemi olarak ele almaktadır. İlacın bir matris içinden yayıldığı durumlar için geçerlidir.

$$f_t = Q = KH \times t^{1/2} \quad (3.5)$$

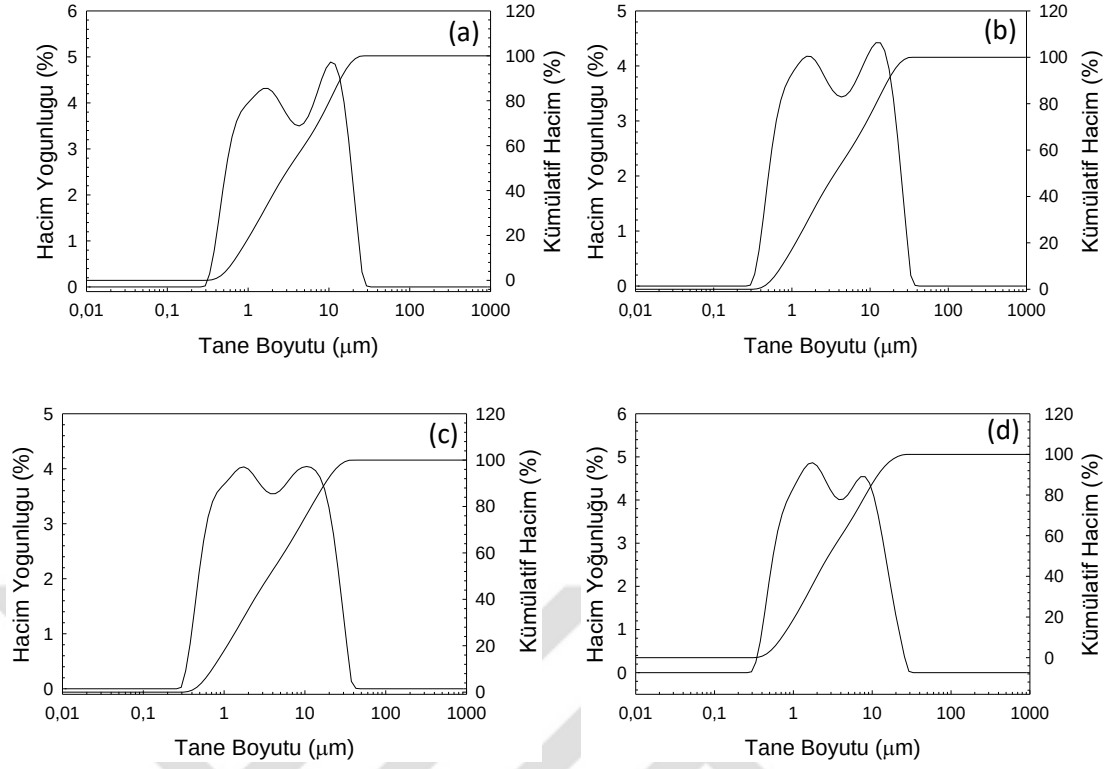
3.3.8. İstatistiksel Analiz

Hücre kültürü sonuçlarında elde edilen grafiklerin istatistiksel analizleri one-way ANOVA (Tukey's and Dunnett's Multiple Comparison Test) testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı fark $p \leq 0,05$ olarak belirlenmiştir ve bu değer üzerindeki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. Ayrıca $p \leq 0,05$ iken *, $p \leq 0,01$ iken **, $p \leq 0,001$ iken *** ve $p \leq 0,0001$ iken **** olarak gösterilmiştir ve yıldız sayısı arttıkça anlamlılık derecesi artmaktadır.

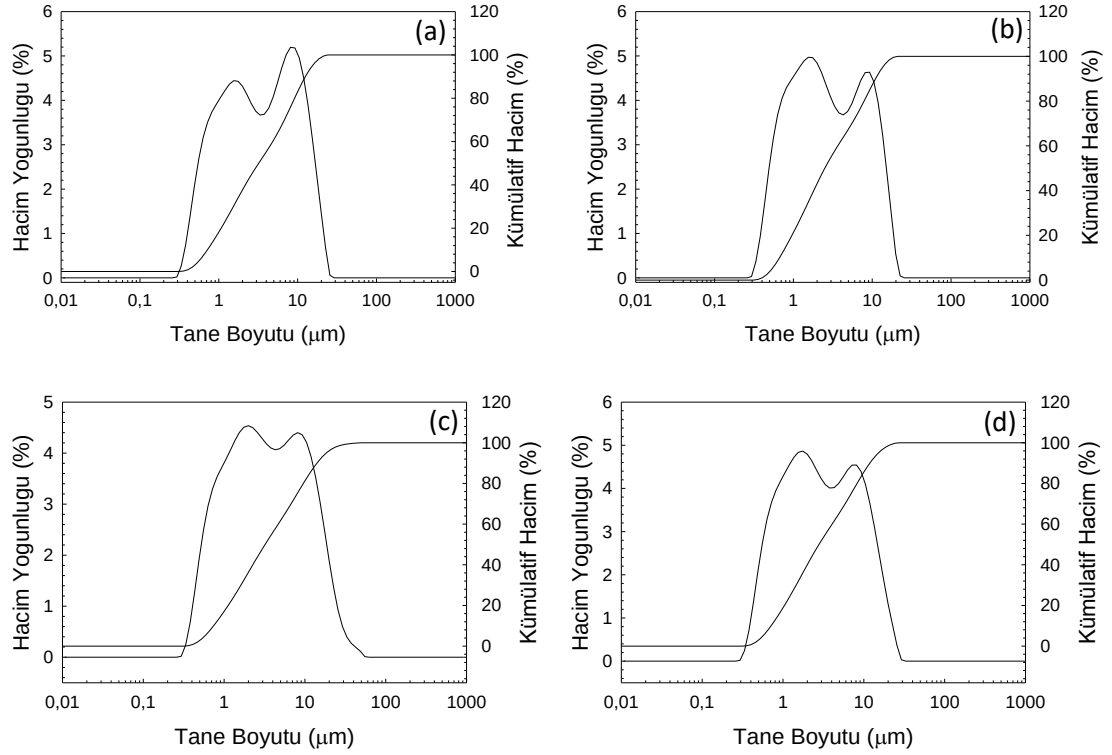
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Özellikler

Tez projesi kapsamında sentezlenen Er^{+3} ya da Tb^{+3} katkılı ve katkısız 13-93 biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım grafikleri sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmektedir. 13-93 biyoaktif cam tozlarının daha önceki aşamalarda meydana gelen aglomeratlarını ortadan kaldırmak için 53 μm 'lik paslanmaz çelik bir elekten elenmiştir. Tablo 4.1’de verilen sonuçlara göre katkısız 13-93 biyoaktif cam tozlarının medyan tane boyutu (d_{50}) 2.79 μm iken Er^{3+} katkılı biyoaktif cam tozlarının tane boyutu ~ 3.5 μm civarında ölçülmüştür. Benzer şekilde Tb^{3+} katkılı biyoaktif cam tozlarının tane boyutlarının ~ 3.4 μm civarında olduğu gözlenmiştir. Proje kapsamında sentezlenen tüm biyoaktif cam tozları bimodal partikül dağılımına sahiptir. Biyoaktif cam tozlarının boyutları vücut sıvıları içerisindeki degradasyon ve biyoaktivite davranışlarını etkilemektedir. Daha önce yapılan bir çalışmada [129] büyük tane boyutlu ($d_{50}=13-185$ μm) biyoaktif cam tozları, daha küçük tane boyutlu ($d_{50}=2.3$ μm) biyoaktif cam tozları ile kıyaslandığında, büyük tane boyutlarında daha az apatit tabakanın oluştuğu ve degradasyonun daha az olduğu bildirilmiştir [129]. Er^{3+} ya da Tb^{3+} ilavesi yapılmış 13-93 cam kompozisyonlarının tane boyutlarının katkısız 13-93 camı ile yakın değerlere sahip olması cam partiküllerin tane boyut özelliklerinin yapılan katkıyla önemli derecede etkilenmediğini göstermektedir.



Şekil 4.1. Er^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım grafikleri (a) 1Er/13-93, (b) 3Er/13-93, (c) 5Er/13-93, (d) 13-93.

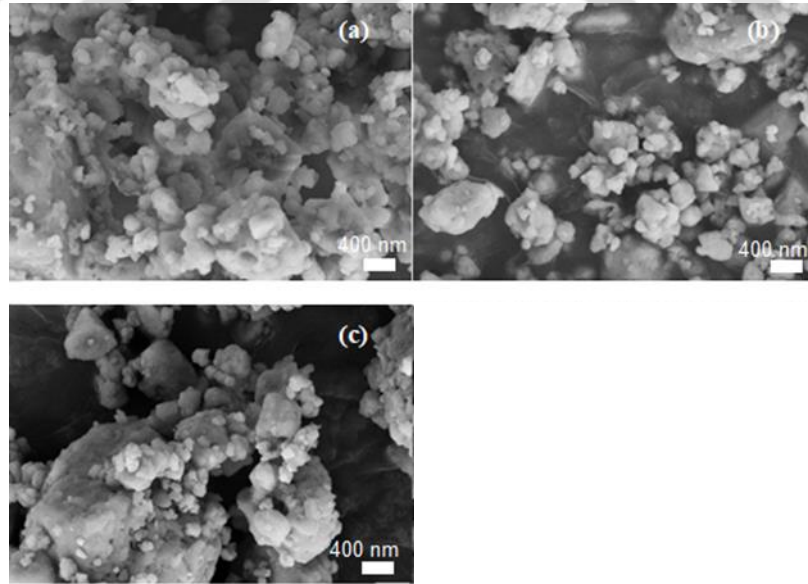


Şekil 4.2. Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının tane boyutu dağılım grafikleri (a) 1Tb/13-93, (b) 3Tb/13-93, (c) 5Tb/13-93 (d) 13-93.

Tablo 4.1. Proje kapsamında sol-jel yöntemi ile sentezlenen biyoaktif cam tozlarının d_{10} , d_{50} ve d_{90} değerleri.

Örnek Kodu	$d_{10}(\mu\text{m})$	$d_{50}(\mu\text{m})$	$d_{90}(\mu\text{m})$
13-93	0.713	2.79	11.90
1Er/13-93	0.707	3.21	14.10
3Er/13-93	0.741	3.57	17.00
5Er/13-93	0.714	3.59	17.81
1Tb/13-93	0.718	3.22	12.60
3Tb/13-93	0.669	3.51	11.00
5Tb/13-93	0.742	3.22	14.11

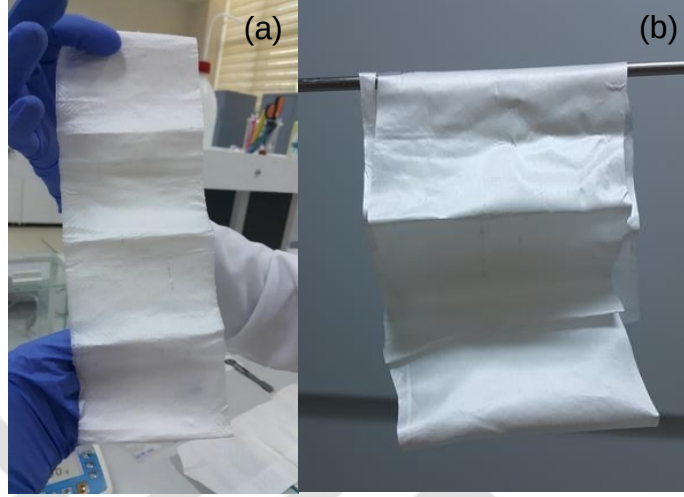
Tez projesi kapsamında sentezlenen biyoaktif cam tozlarının SEM görüntüleri Şekil 4.3’de verilmektedir. Sentezi yapılan cam partiküllerden bazıları düzensiz bir yapıya sahip partiküller içersede genel olarak yuvarlatılmış morfolojiye sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca kompozisyona Er^{3+} ya da Tb^{3+} eklenmesinin sentezlenen tozların morfolojik özelliklerinde önemli bir değişime neden olmadığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.3. Proje kapsamında sol-jel yöntemi ile sentezlenen (a) 13-93, (b) 5Er/13-93, (c) 5Tb/13-93 biyoaktif cam tozlarının SEM mikrografları (ölçek:400 nm).

Proje kapsamında elektroegirme yöntemi ile hazırlanan Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam nanoliflerin dijital görüntüleri Şekil 4.4’de gösterilmektedir.

Elektroegirme yöntemiyle 13-93 biyoaktif cam nanolif sentezi sırasında Er^{3+} ya da Tb^{3+} ilavesinin nanolif oluşumu üzerinde herhangi olumsuz bir etkisi görülmemiştir. Yönlenmiş nanoliflerin oluşturduğu film şeklindeki yapıların kalsinasyon öncesindeki görüntüleri Şekil 4.3 (a) ve (b)'de gösterilmektedir.



Şekil 4.4. Kalsinasyon öncesi (a) 1Tb/13-93 ve (b) 13-93 nanoliflerin dijital görüntüleri.

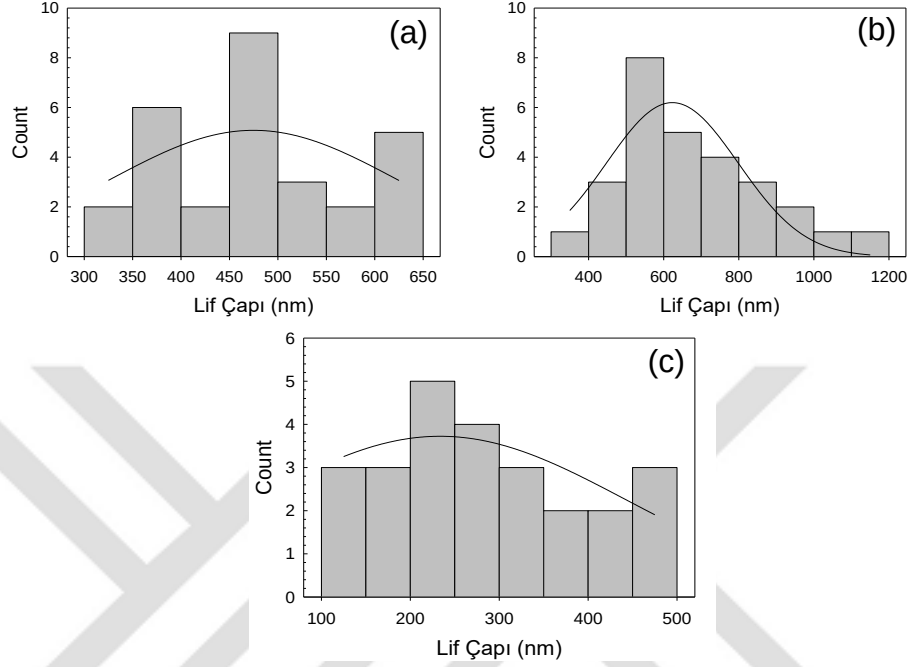
Çalışmada nanolifler sentezlenirken sisteme ilave edilen PVA, nanoliflere yüksek esneklik özelliği kazandırmaktadır. Hazırlanan nanoliflerin 625 °C'de kalsine edilmesiyle, nanolif yapılarıdaki esneklik kaybolarak yapı daha kırılkan hale gelmiştir. Kalsinasyon işlemi sonrasında elde edilen bu kırılkan yapıdaki liflerin havanda öğütülmesi ile kısa nano çubuk şeklinde morfolojiler elde edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Proje kapsamında sentezi yapılan biyoaktif cam nanoliflerin kalsinasyon sonrası görüntüleri (a), (b), (c).

Hazırlanan 13-93 nanoliflerin kalsinasyon öncesinde ortalama lif çapı ImageJ yazılımı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, MD, ABD) kullanılarak ~550 ile 600 nm

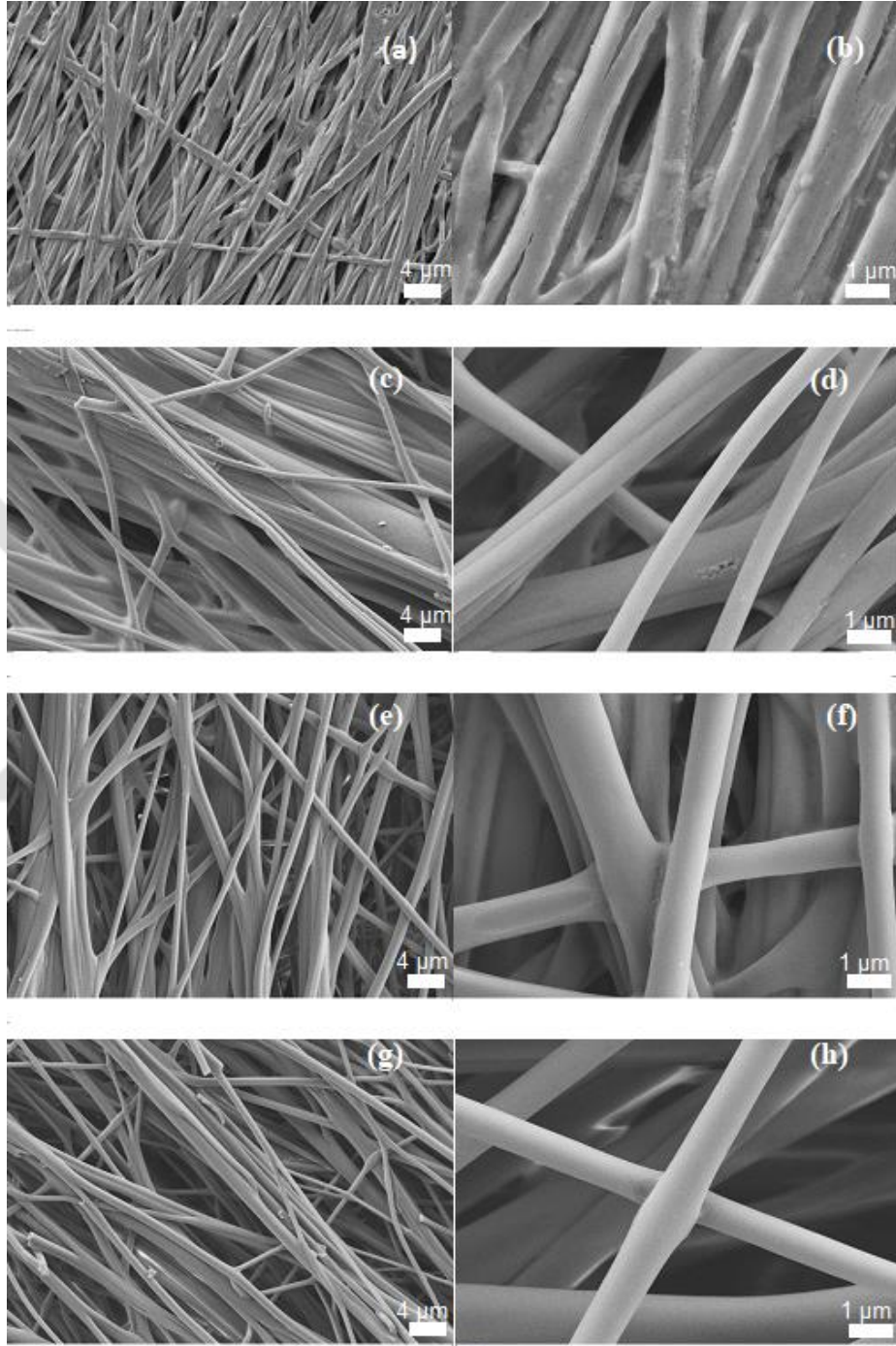
aralığında ölçülmüştür. Ayrıca 5Er^{3+} içeren örnekler için bu değer 665 nm ve 5Tb^{3+} içeren örnekler için 275 nm olarak bulunmuştur. Bu değer SEM mikrograflarında rastgele seçilen yaklaşık 40 adet lif çapının ortalaması alınarak elde edilmiştir.



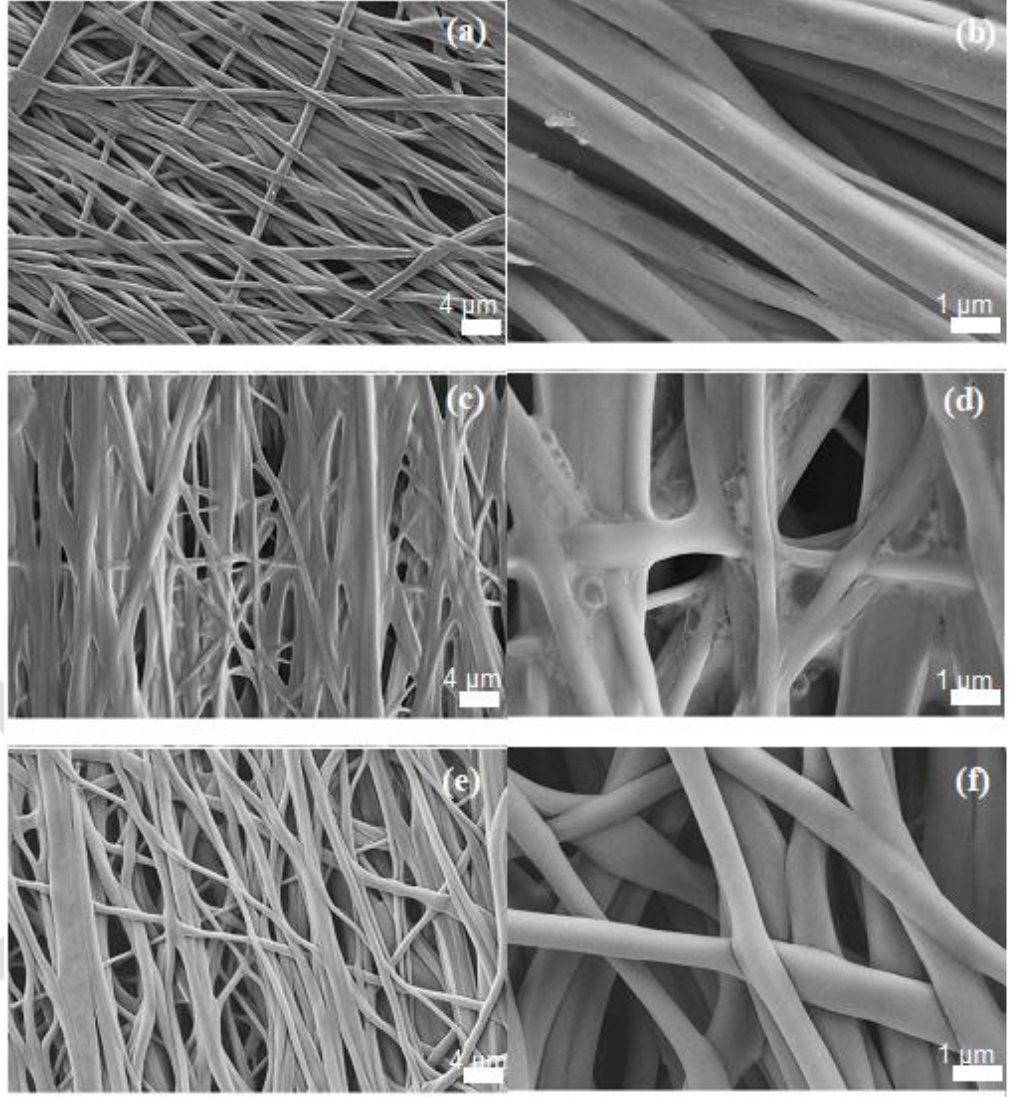
Şekil 4.6. Çalışmada hazırlanan cam nanoliflerin kalsinasyon öncesinde (a) 13-93, (b) 5Er/13-93, (c) 5Tb/13-93 lif çapı dağılımını gösteren grafikler.

Tez projesi kapsamında elektroegirme yöntemi ile sentezlenen Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 nanoliflerin kalsinasyon öncesindeki SEM mikrografları Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de gösterilmektedir. Hazırlanan nanoliflerin yönlenmiş olduğu ve bir miktar porozite içerdiği SEM görüntülerinden de anlaşılmaktadır. Er^{3+} ve Tb^{3+} konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak 13-93 biyoaktif cam liflerin morfolojik özelliklerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Er^{3+} ve Tb^{3+} katkılı biyoaktif cam liflerinin hepsinde kesiksiz lif yapısı ve pürüzsüz lif yüzeyi elde edilebilmiştir. Lifler, çatlak içermeyen pürüzsüz bir yüzeye sahiptir. Bu durum elektroegirme işlemi için doğru parametrelerin seçildiğini göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda çok düşük viskozitenin, sürekli ve pürüzsüz liflerin elde edilmesi için uygun olmadığı, diğer yandan çok yüksek viskozitenin de eğirme işlemini zorlaştırdığı için sürekli ve pürüzsüz liflerin elde edilmesi için uygun olmadığı raporlanmıştır [130]. Baranowska ve ark. yaptıkları çalışmada 13-93 biyoaktif cam liflerine ilave edilen Sm^{3+} katkısının

da lif yüzeyinde çatlak veya hasar oluşturmadığını, pürüzsüz bir yüzeye sahip lüminesant özellikli biyoaktif camlar sentezlediklerini bildirmişlerdir [131].



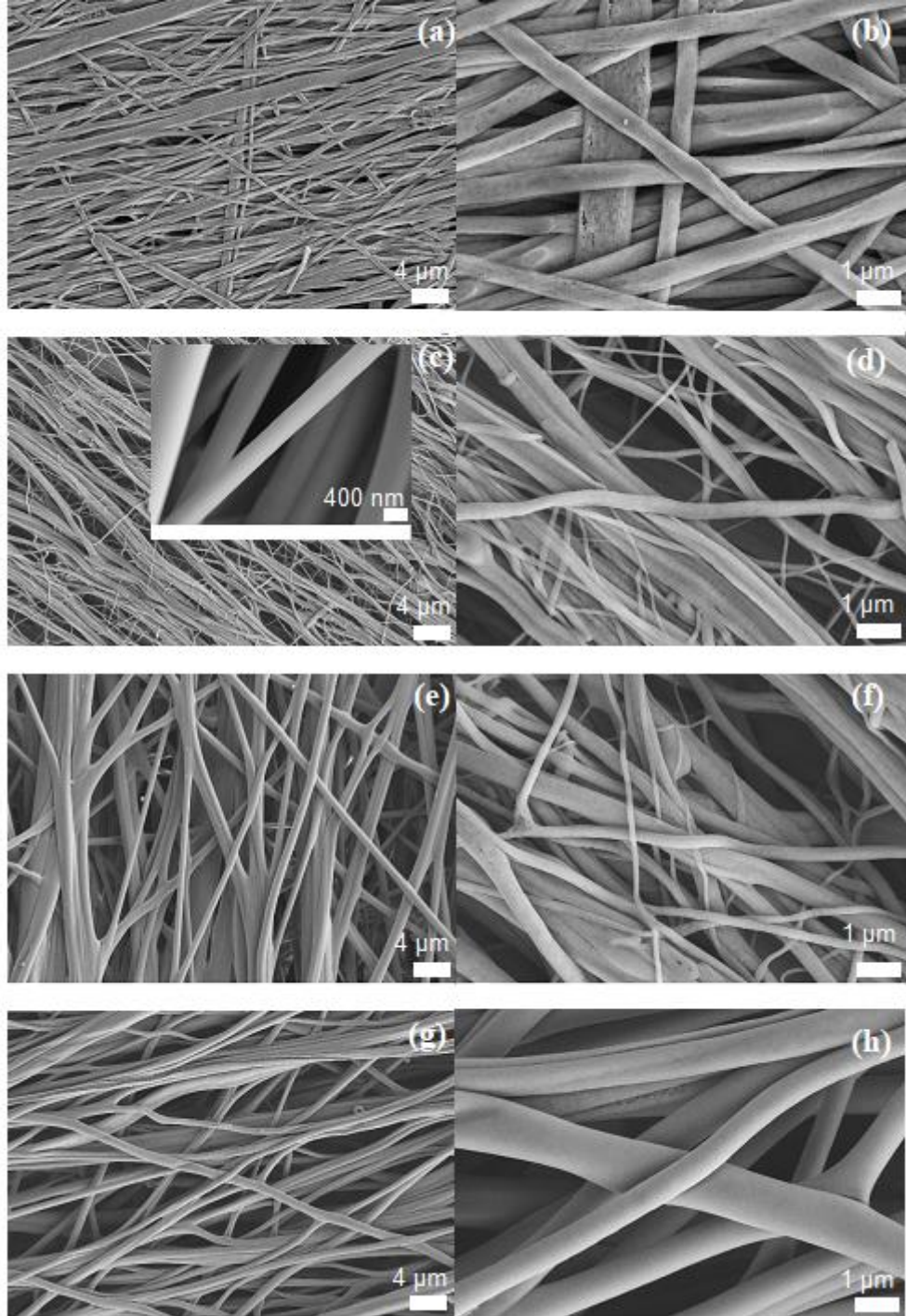
Şekil 4.7. Er^{3+} içeren biyoaktif cam nanoliflerin (kalsinasyon öncesi) düşük (5000x, ölçek: 4 μm) ve yüksek (25000x, ölçek: 1 μm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri (a),(b) 13-93; (c),(d) 1Er/13-93; (e),(f) 3Er/13-93; (g),(h) 5Er/13-93.



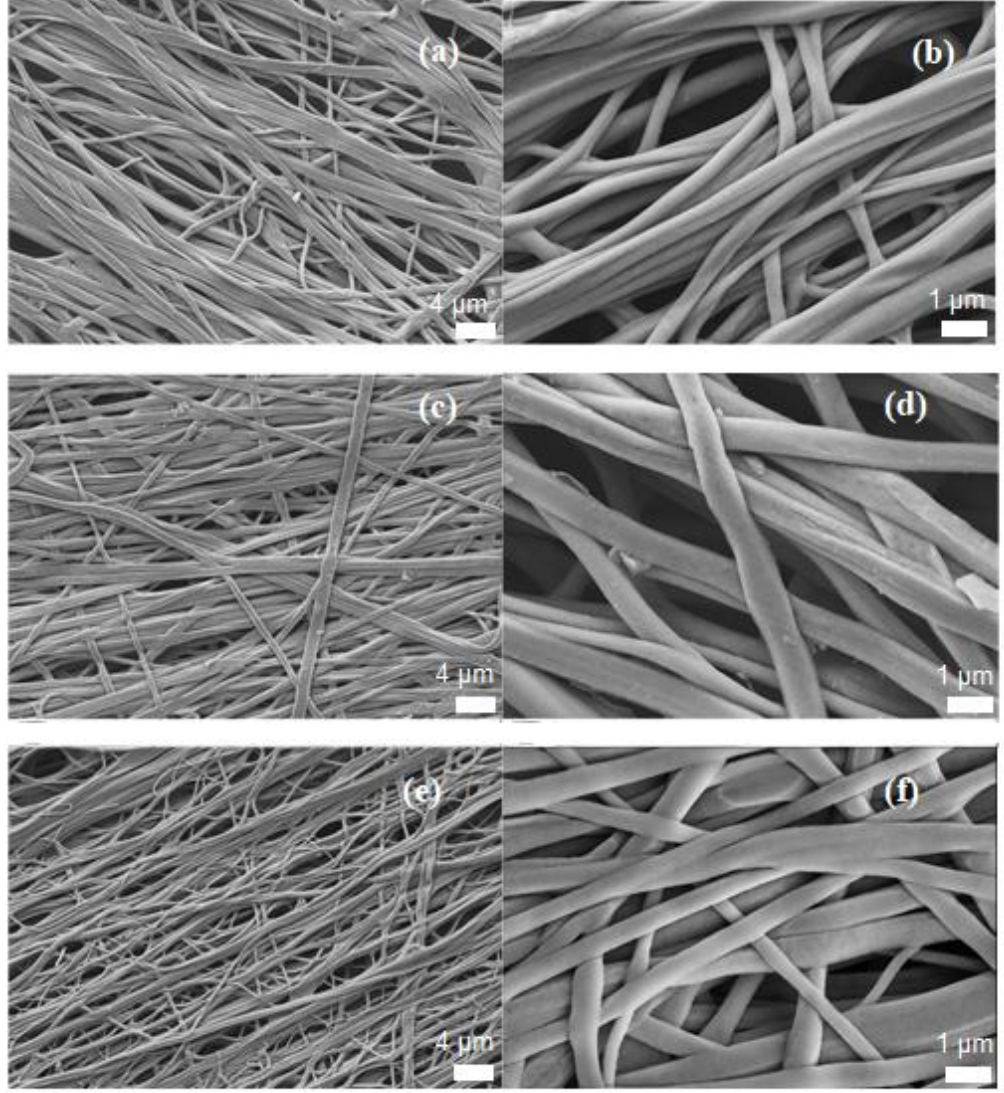
Şekil 4.8. Tb³⁺ içeren 13-93 liflerin (kalsinasyon öncesi) düşük (5000x, ölçek:4 μm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 μm) büyütmelerdeki SEM görüntüleri (a),(b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93; (e),(f)5Tb/13-93.

Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren biyoaktif cam nanoliflerin 625 °C’de yapılan kalsinasyon işlemi sonrasındaki SEM görüntüleri Şekil 4.9 ile Şekil 4.10 arasında gösterilmektedir. Uygulanan ısı işlemi nadir toprak element ilaveli biyoaktif camların ortalama lif çapının azalması dışında liflerin morfolojilerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Kalsinasyon işlemi öncesinde nanolif çapları ~550-600 nm arasındayken, kalsinasyon sonrasında ortalama lif çapı değerlerinin yaklaşık 420-450 nm aralığında olduğu belirlenmiş, nanolif çaplarının ısı işlem ile azaldığı anlaşılmıştır.

Benzer şekilde, Huang ve ark. [145] tarafından yapılan bir çalışmada Tb^{3+}/Eu^{3+} katkılı biyoaktif cam liflerinin 600 °C'lik ısıtım işlemi öncesinde 300 ile 400 nm arasında değişen çaplarının kalsinasyon sonrasında sürekli ve pürüzsüz lif yapısı korunurken, yaklaşık 100-120 nm'ye düştüğünü bildirmişlerdir [132].

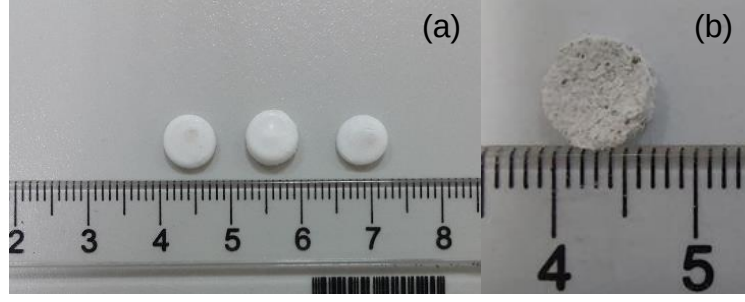


Şekil 4.9. Er^{3+} içeren 13-93 liflerin (625 °C'de kalsinasyon sonrası) düşük (5000x, ölçek:4 μm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 μm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a),(b) 1Er/13-93, (c),(d) 3Er/13-93, (e),(f) 5Er/13-93.

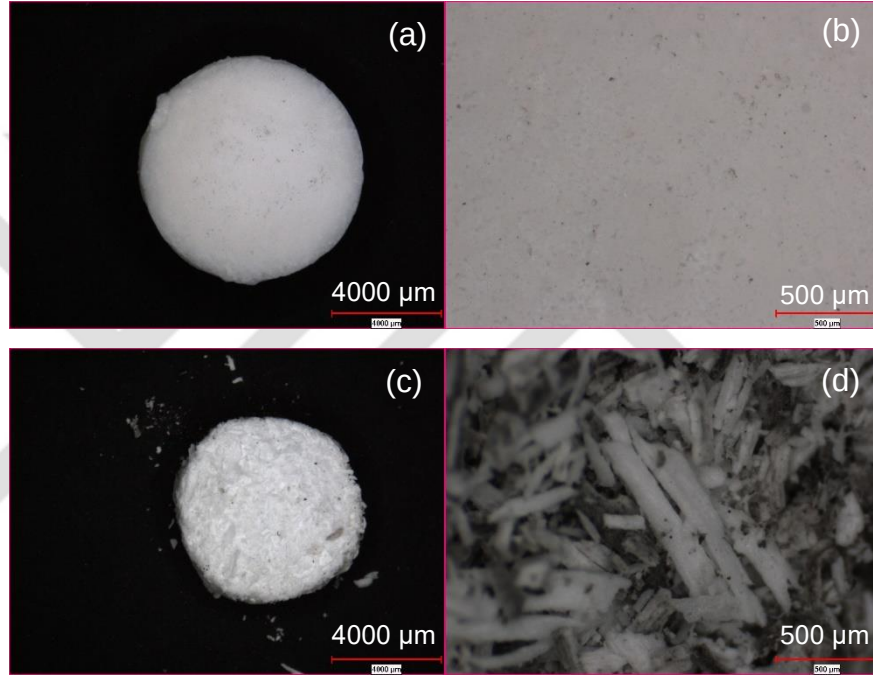


Şekil 4.10. Tb^{3+} içeren 13-93 liflerin (625 °C’de kalsinasyon sonrası) düşük (5000x, ölçek:4 μm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 μm) büyütmelerdeki SEM görüntüleri (a),(b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93, (e),(f) 5Tb/13-93.

Tez çalışması kapsamında hazırlanan doku iskelelerinin görüntüleri Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de verilmektedir. Buna göre, doku iskelesi hazırlanmasında toz ya da nanolif formunda örneklerin kullanılmasına bağlı olarak hazırlanan üç boyutlu yapıların morfolojik özelliklerinde farklılık olduğu gözlenmektedir.



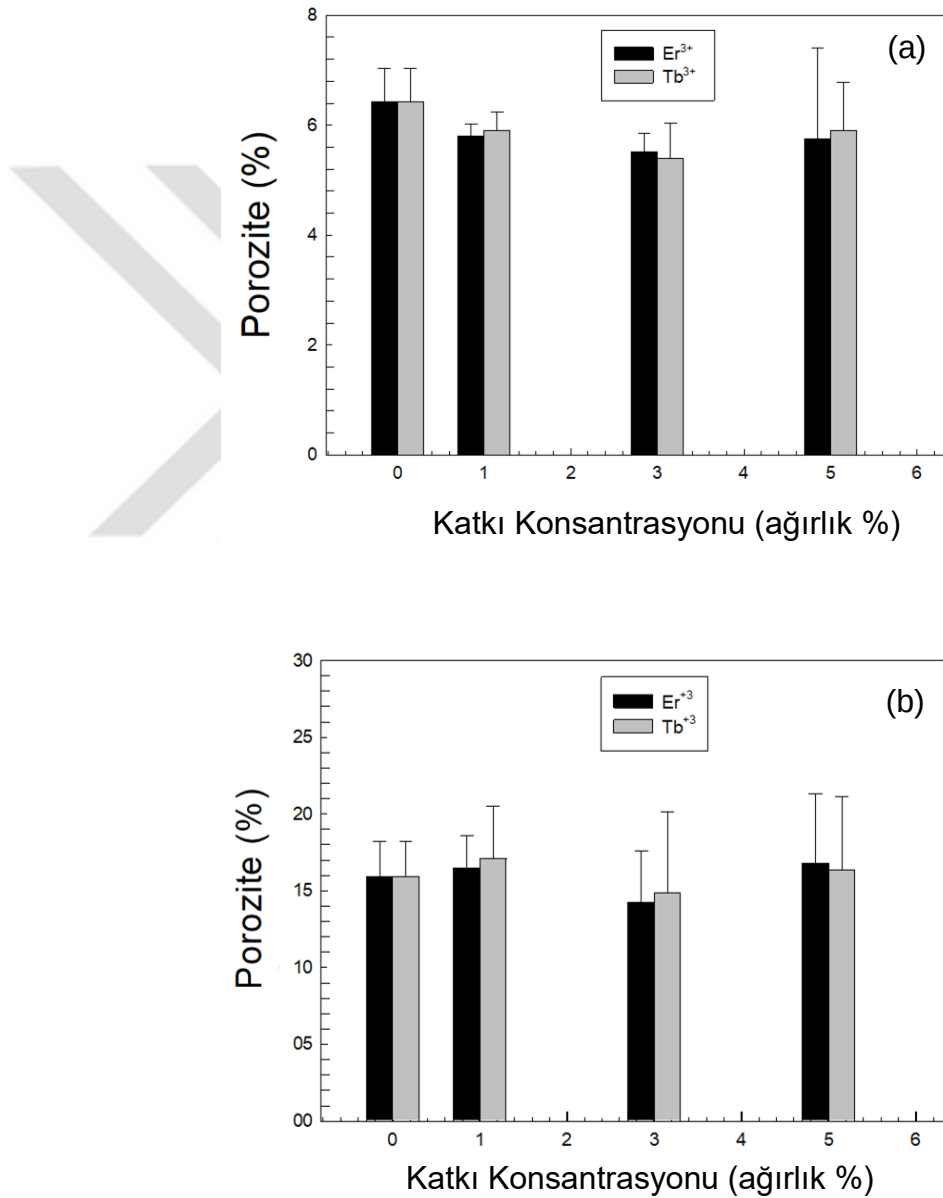
Şekil 4.11. Proje kapsamında sentezlenen (a) biyoaktif cam tozlarından ve (b) kısa nanoliflerden oluşturulan disk şeklindeki doku iskelelerinin dijital görüntüleri.



Şekil 4.12. Sentezlenen (a),(b) biyoaktif cam tozlarından ve (c),(d) kısa nanoliflerden oluşturulan disk şeklindeki doku iskelelerinin optik mikroskop görüntüleri.

Şekil 4.12’de görüntüsü verilen biyoaktif cam toz ve lifleri kullanılarak hazırlanan iskelelerin gözenekliliklerinin belirlenmesi amacıyla numunelere porozite ölçümü yapılmıştır. Bu amaçla Arşimet yöntemi kullanılmış ve her numune çeşidi için üç işlem tekrarı sonrası değerlerin ortalaması alınmıştır. Şekil 4.13’de verilen grafiklere göre erbiyum veya terbiyum katkısının porozite değeri üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır. Biyoaktif cam tozları ile oluşturulan doku iskelelerinin gözeneklilik değerlerinin, trabeküler kemik dokusunun içeriye doğru büyüme gösterebilmesi için gereken minimum %50 gözeneklilik değerinden [29] daha düşük (%15-%20

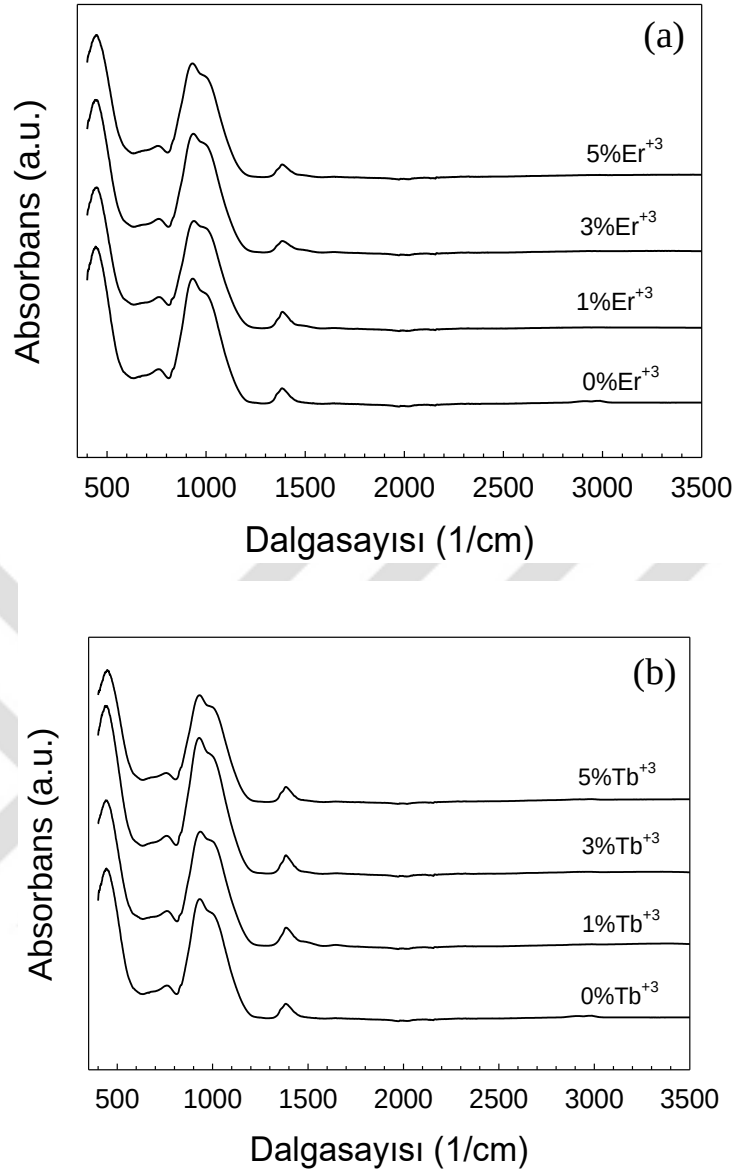
aralığında), nanolif ile oluşturulan örneklerin ise daha yüksek (%55-%65 aralığında) olduğu görülmüştür. Biyoaktif cam tozların paketlenme özelliğinin liflere göre yüksek olmasının, tozlardan hazırlanan doku iskele gözenekliliklerinin düşük olmasında etkili olduğu değerlendirilmektedir. Bunun dışında elektroegirme işleminde kullanılan PVA'nın, gözenekli yapının oluşumuna katkı sağlayabileceği düşünülmüştür [133]. Ayrıca toz formundaki biyoaktif camlardan hazırlanan doku iskelelerinin yüzeyinin nanoliflerden hazırlanan örneklerle göre daha pürüzsüz olduğu görülmektedir.



Şekil 4.13. Er³⁺ ve Tb³⁺ katkılı biyoaktif cam (a)nanolif ve (b)tozlarından hazırlanan skafoldların porozite değerlerini gösteren grafikler.

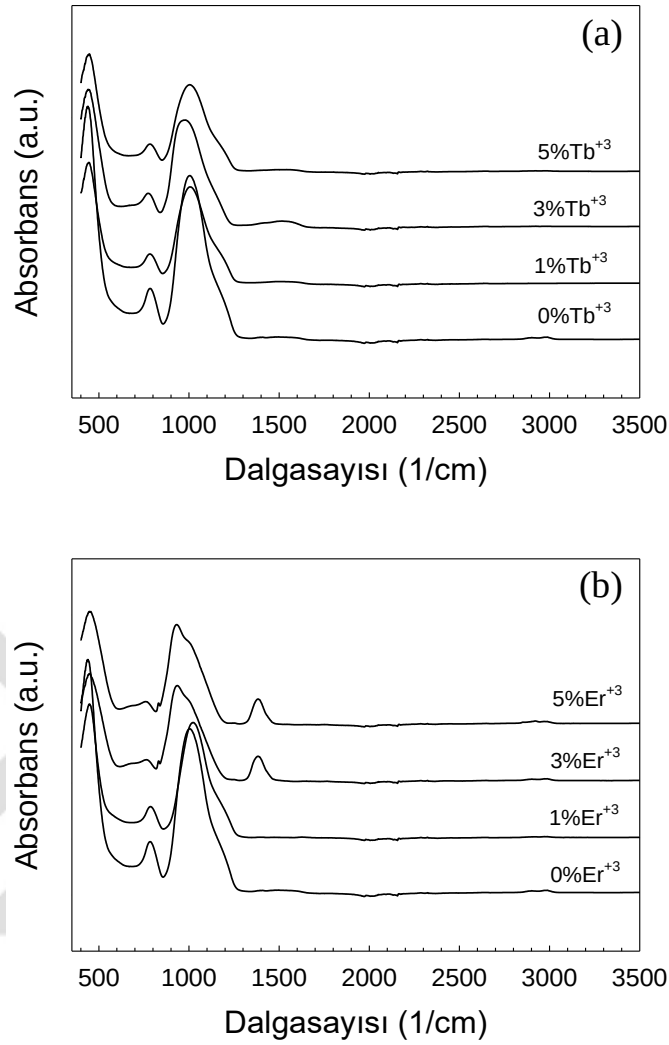
4.2. Yapısal Özellikler

Tez projesi kapsamında sentezlenen Er^{3+} ya da Tb^{3+} katkılı ve katkısız 13-93 biyoaktif cam tozlarının FTIR spektrumları Şekil 4.14’de verilmektedir. Bu spektrumlara göre, tüm biyoaktif cam numuneleri benzer spektrumlar gösterirken silikat ağının ana karakteristik özelliğini de içermektedir. Literatüre göre, amorf silikat esaslı cam bileşiklerinin FTIR’da verdikleri, 460 cm^{-1} ’de simetrik Si–O–Si eğilme ν_2^{as} ve ν_4^{as} piki ayrıca 926 ve 1024 cm^{-1} ’de asimetrik Si–O gerilme ν_1^{as} ve ν_3^{as} piki ana absorpsiyon bantlarına aittir [149]. Biyoaktif cam liflerinin FTIR spektrumları incelendiğinde, 439 cm^{-1} ’de meydana gelen spektrum, Si–O–Si simetrik bükülme modu ile ilişkili olduğu görülmektedir. 927 cm^{-1} ’de görülen bant, tetrahedraller arasında köprü oluşturmayan oksijen atomlarının Si–O–Si simetrik gerilmesine karşılık gelmektedir. Yaklaşık 1100 cm^{-1} ’deki ana bant Si–O–Si gerilmesine bağlanabilir. Ayrıca Si–O–Si eğilmesini gösteren 460 cm^{-1} de yer alan band bölgesinde, kompozisyona erbiyum ve terbiyum ilavesine ve bunların konsantrasyonuna bağlı kayma görülmemektedir. Bu durum, erbiyum ya da terbiyumun 13-93 biyoaktif camın yapısında ağ düzenleyici olarak görev yapmadığını göstermektedir. Ayrıca, Şekil 4.15’de verilen FTIR spektrumlarına göre kalsinasyon sonrası biyoaktif cam tozlarının yapısında herhangi bir H_2O ve $-\text{OH}$ piki yer almamaktadır.



Şekil 4.14. (a) Er^{3+} ve (b) Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozlarının kalsinasyon sonrası FTIR spektrumları.

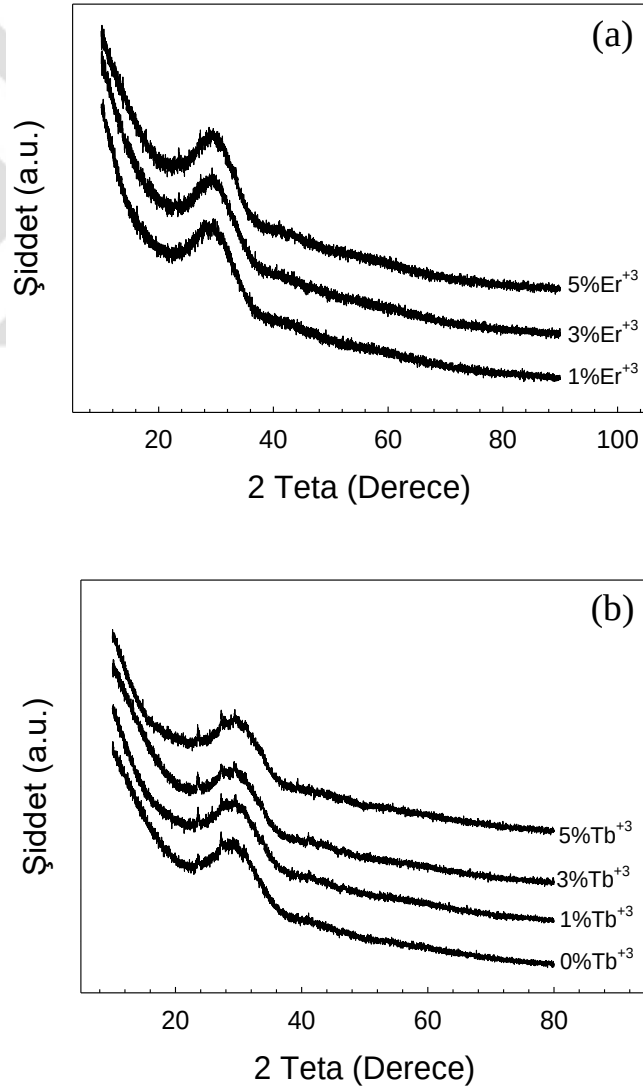
Tez projesi kapsamında sentezlenen Er^{3+} ve Tb^{3+} katkılı 13-93 biyoaktif cam nanoliflerinin FTIR spektrumları Şekil 4.15’de verilmektedir. Sonuçlar, elektroegirme işlemi sırasında 13-93 biyoaktif cam yapısına dahil edilen PVA’nın tamamen yapıdan uzaklaştığını göstermektedir. Sentezlenen Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam nanoliflerinin FTIR spektrumları ile sol-jel yöntemi ile hazırlanan cam tozlarının spektrumları karşılaştırıldığında spektrumların örtüştüğü gözlemlenmiştir.



Şekil 4.15. Elektroeğirme yöntemi ile üretilen (a) Er^{3+} ve (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin kalsinasyon sonrasındaki FTIR spektrumları.

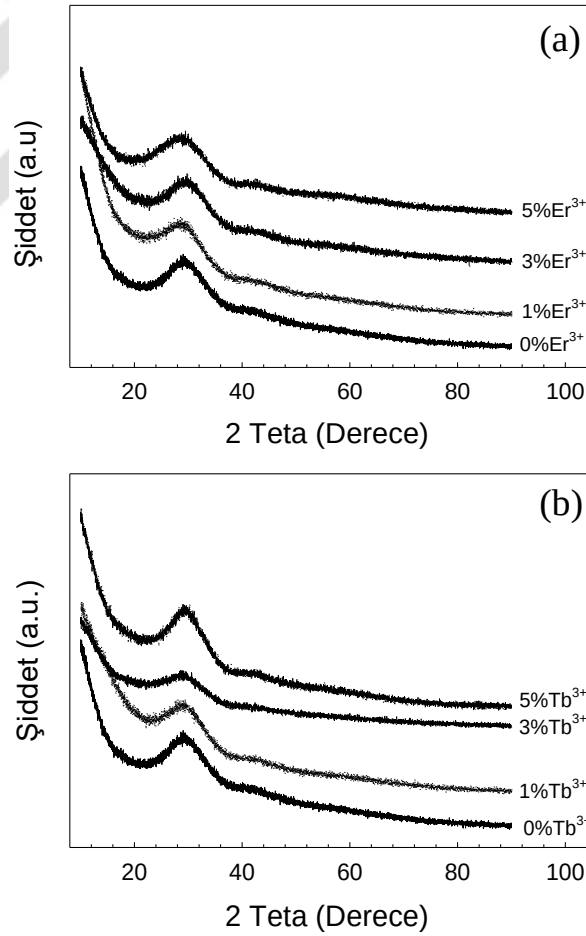
Sol-jel yöntemi ile sentezi yapılan cam numunelerde amorf yapı oluşumunun tespit edilebilmesi amacıyla XRD analizi yapılmıştır ve Şekil 4.16’da örneklerin X-ışını kırınım desenleri verilmektedir. Buna göre, erbiyum içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarında amorf SiO_2 yapıya özgü geniş piklere [134] rastlanmıştır ve $625\text{ }^\circ\text{C}$ ’de kalsinasyon işlemine tabi tutulmasına bağlı olarak tozlarda herhangi bir kristal faz oluşumu gözlenmemiştir. Difraksiyon piki yalnızca $2\theta=24^\circ\text{-}36^\circ$ aralığındaki geniş yansımada görüldüğü için, numunelerin amorf yapıda olduğu doğrulanmıştır [3]. Diğer yandan Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam örnekleri kalsinasyon sonrası difraksiyon diyagramları incelendiğinde ise örneklerin genelde amorf bir yapıya sahip olduğu fakat $2\theta=24^\circ$ ’de çok düşük şiddete sahip kristal piklerin oluştuğu görülmüştür. Tb^{3+} içeren örneklerde düşük şiddete sahip piklerin öncül malzemelerden kaynaklanan

sodyum nitrata ait pikler olduğu anlaşılmıştır ancak bunlar genel olarak camın amorf yapısını değişime uğratacak miktarda değildir [117]. Sonuç olarak erbiyum ve terbiyum içeren biyoaktif cam tozlarının sentezi sırasında uygulanan ısı işlemin başlangıç kimyasallarındaki büyük miktarının nitratların uzaklaşmasına yetecek yükseklikte olduğu ve ayrıca camın amorf yapısını koruyarak kristallenmesine neden olmadığı görülmektedir. Literatürde bulunan çalışmalara göre [135], amorf yapı doğal olan ve yapay olarak elde edilen vücut sıvısı içerisinde daha kolay çözünmektedir. Bu nedenle biyoaktif camlar, diğer kristalin yapıdaki biyomalzemelerle karşılaştırıldığında biyoaktivite özellikleri açısından üstünlük sağlamaktadır.



Şekil 4.16. Sol-jel yöntemi ile üretilen (a) Er³⁺ ve (b) Tb³⁺ içeren biyoaktif cam tozlarının kalsinasyon sonrası XRD diyagramları.

Proje kapsamında hazırlanan ve kalsine edilen katkısız ve $\text{Er}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ katkılı 13-93 biyoaktif cam nanoliflerinin X-Işını kırınım diyagramları Şekil 4.17’de gösterilmektedir. Sonuçlar, camların amorf yapıya sahip olduğunu ve uygulanan ısı işleme bağlı olarak herhangi bir kristal faz oluşmadığını göstermektedir. Diyagramlar başlangıç yapısında bulunan nitrat tuzlarının ısı işlem sonrasında biyoaktif cam yapısından tamamen uzaklaştırıldığını göstermektedir. Literatürde yer alan bir çalışmada 625 °C’de ısı işleme tabi tutulan 13-93 biyoaktif cam lif numunelerinde başlangıçtaki mevcut tüm nitratların bu sıcaklıkta yapıdan uzaklaştığını, bu sıcaklığın eğrilmiş liflerin yapısındaki nitratları elimine edecek kadar yüksek olduğunu ve camın kristalleşmesine neden olmadığını ortaya koymuştur [118]. 13-93 biyoaktif cam kompozisyonuna Er^{3+} ya da Tb^{3+} ilavesinin yapılması camın yapısında kristallenmeye sebep olmamıştır. Sonuçlar sol-jel yöntemi ile hazırlanan Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozlarına ait XRD diyagramları ile örtüşmektedir.



Şekil 4.17. Elektroeğirme yöntemi ile üretilen (a) Er^{3+} ve (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin kalsinasyon sonrasındaki XRD diyagramları.

4.3. Fotolüminesans Özellikler

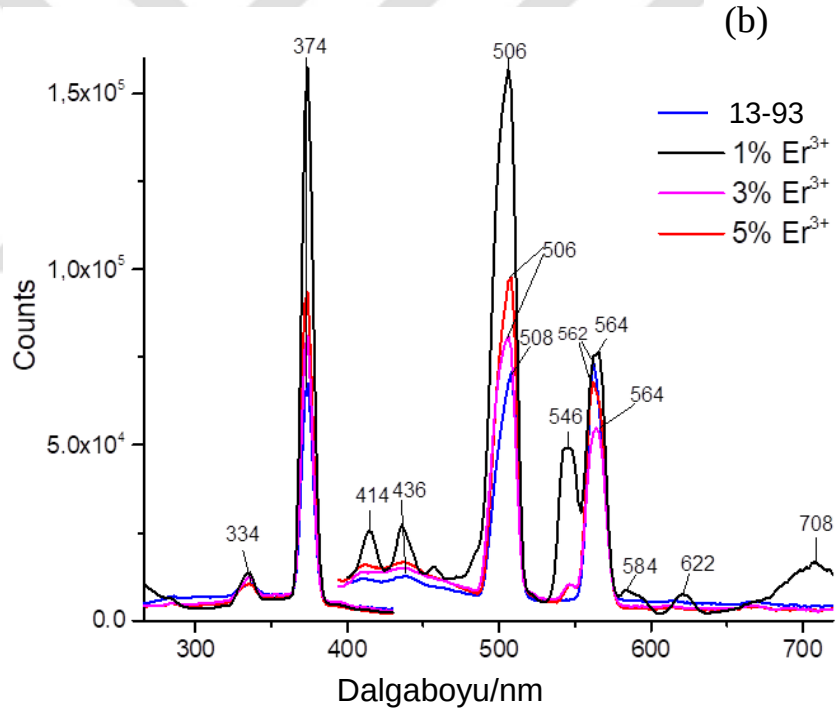
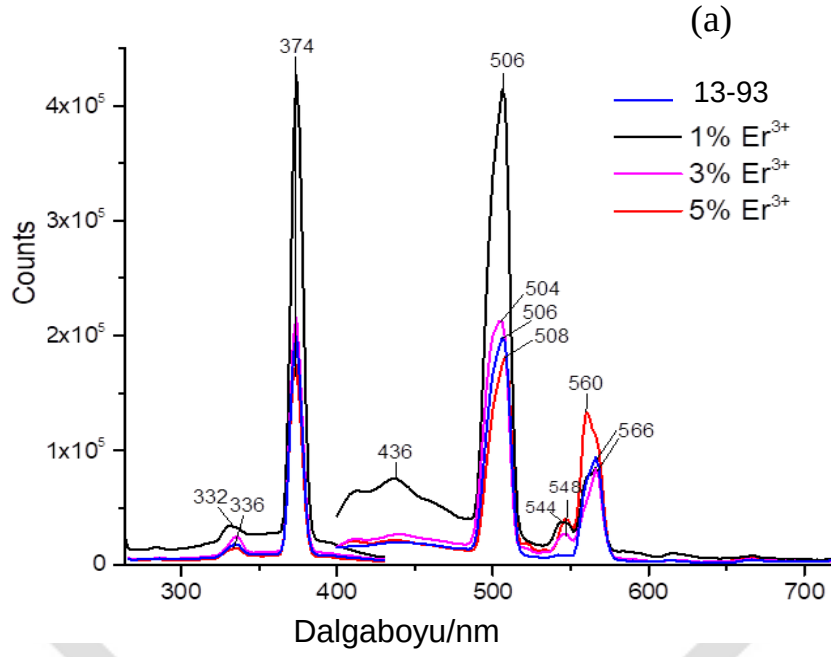
4.3.1. Zamana Bağlı Olmayan Floresans Özellikler

Tez projesi kapsamında Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren sol-jel yöntemi ile üretilen 13-93 biyoaktif cam partiküllerin ve elektroegirme ile üretilen nanoliflerin fotolüminesans (PL) spektrumları Şekil 4.18 ve Şekil 4.19’da verilmektedir. Buna göre Er^{3+} katkılı 13-93 biyoaktif cam örnekleri için, 374 nm’de uyarılan atomlar aynı miktarda enerji yayarak temel durumuna geri dönmüş ve yayılan bu enerji, bir elektromanyetik spektrum oluşumuna yol açmıştır. 374 nm’de yapılan eksitasyon sonrasında, Er^{3+} içeren cam partiküller, mavi (436 nm) ve yeşil (506, 546 ve 566 nm) dalga boylarına karşılık gelen emisyon bantları sergilemiştir. Hem katkısız hem de erbiyum katkılı 13-93 biyoaktif camlar, 374 nm’de uyarıma üzerine 566 nm’de yeşil emisyon bandında gözlenen emisyon, uyarılmış durumlardan erbiyumun temel durum $4\text{S}_{3/2} \rightarrow 4\text{I}_{15/2}$ geçişlerine atanırken, mavi bantla ilişkili emisyon $4\text{F}_{7/2} \rightarrow 4\text{I}_{15/2}$ geçişine atanmıştır [96]. 374 nm’de uyarılan erbiyum katkılı biyoaktif cam tozlarının 506 nm’de ve 566 nm’de olmak üzere yüksek şiddetli 2 emisyon piki verdiği saptanmıştır.

Diğer yandan Er^{3+} içeren 13-93 nanolifleri, 374 nm’de uyarıldıktan sonra 506, 546 ve 564 nm’de merkezlenmiş benzer bantlar sergilemiştir. Er^{3+} katkılı biyoaktif cam tozlarına ek olarak, %1 Er katkılı cam nanolifler, 414 nm ve 708 nm’de mor ve kırmızı emisyon karşılık gelen bazı zayıf şiddetli bantlar göstermektedir. 414 nm’de gözlenen mor emisyon karşılık gelen bant $4\text{F}_{3/2} \rightarrow 4\text{I}_{15/2}$ geçişine ve 708 nm’de gözlenen kırmızı emisyon karşılık gelen bant n-L kabuk elektronik geçişine atanmıştır [96].

Her iki tip cam numunesi için de en yüksek pik şiddeti 1% Er^{3+} içeren biyoaktif camlar için elde edilmiş ve artan katkı miktarına bağlı olarak emisyon pik şiddetinde azalma görülmüştür. Er^{3+} iyonlarının daha yüksek konsantrasyonda eklenmesi ışıltama söndürmeye yol açmıştır. Her iki cam içinde pik şiddetlerinde azalma gözlenmesi, düşük konsantrasyonda yapılan katkı maddesi nedeniyle ışıltasız bozunma işleminin de ötesindeki konsantrasyon söndürmeye atfedilmiştir. Er^{3+} konsantrasyonunun artması fotolüminesans bozunma hızına, söndürme ile etki etmektedir. Söndürme, floresan yoğunluğunu azaltan bir davranıştır. Konsantrasyona bağlı lüminesans söndürme, çoğunlukla komşu iyonlar arasındaki etkileşimden ve daha yüksek konsantrasyonlarda radyatif olmayan gevşemelerden kaynaklanmaktadır

[136]. Bu söndürme davranışı, yüksek Er^{3+} konsantrasyonunda uyarma göçünün bir sonucu olarak söndürme bölgelerine (uyarılmış erbiyum için söndürücü etki gösteren küçük miktarlardaki OH safsızlıkları gibi) bağlanmanın artmasından kaynaklanmaktadır [137]. Er^{3+} ile katkılanması sayesinde, yapıdaki alkali toprakların yerini alan nadir toprak iyonları, O^{2-} tarafından daha güçlü bir şekilde koordine edilmektedir. Ca^{2+} ve/veya Mg^{2+} ile Er^{3+} arasındaki potansiyel bir yük uyumsuzluğu, $5\text{D}_0 \rightarrow 7\text{F}_2$ 'lik elektrik dipol geçişlerinin aşırı duyarlılığı nedeniyle, %1 katkı konsantrasyonunda bile fotolüminesans yoğunluğunu arttırması ile sonuçlanabilir. Mevcut çalışmanın sonuçları ayrıca, sol-jel ile sentezlenmiş biyoaktif cam parçacıkların emisyon yoğunluklarının, elektroğirilmiş cam nanoliflere kıyasla daha güçlü olduğunu ortaya koymuştur. Er^{3+} katkılı numunelerin doğrudan uyarılması, Er^{3+} iyonunun ikinci uyarılmış halinin enerji seviyesi ile uyumlu olan 980 nm civarında yeşil emisyon elde edilebilmesine ve gelen fotonların erbiyum iyonları tarafından doğrudan absorbe edilebilmesine katkı sağlamaktadır. Bu nedenle, daha önce yayınlanmış çalışmaların çoğunda, Er^{3+} katkılı malzemelerin yukarı-dönüşümlü kırmızı ve yeşil lüminesansı incelenmiştir [138]. Araştırmacılar tarafından yapılan sayısız çabaya rağmen, bu tür yukarı-dönüşümlü malzemeler hala düşük emisyonlu kuantum verimliliğinden muzdariptir. Bu tez çalışmasında ise, Er^{3+} katkılı biyoaktif camlar, gelen fotonların doğrudan erbiyumun enerji seviyeleri ile rezonanta girmediği 374 nm'de uyarılmıştır. Bu nedenle potansiyel uyarma yolu, enerjinin Si nanoküpleri tarafından emilmesinin ardından erbiyum iyonlarına enerji transferi sağlamaktadır [138].



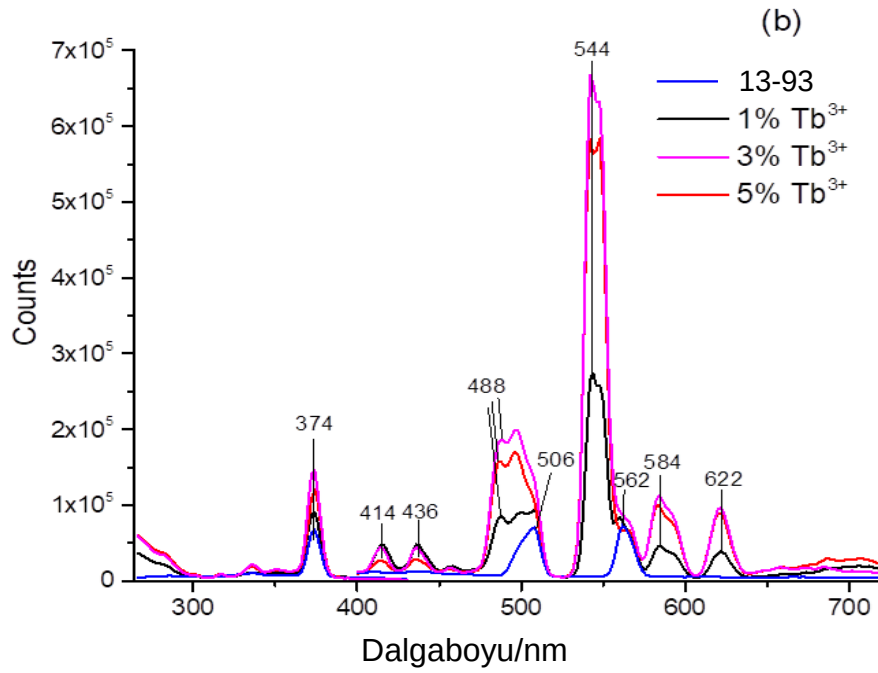
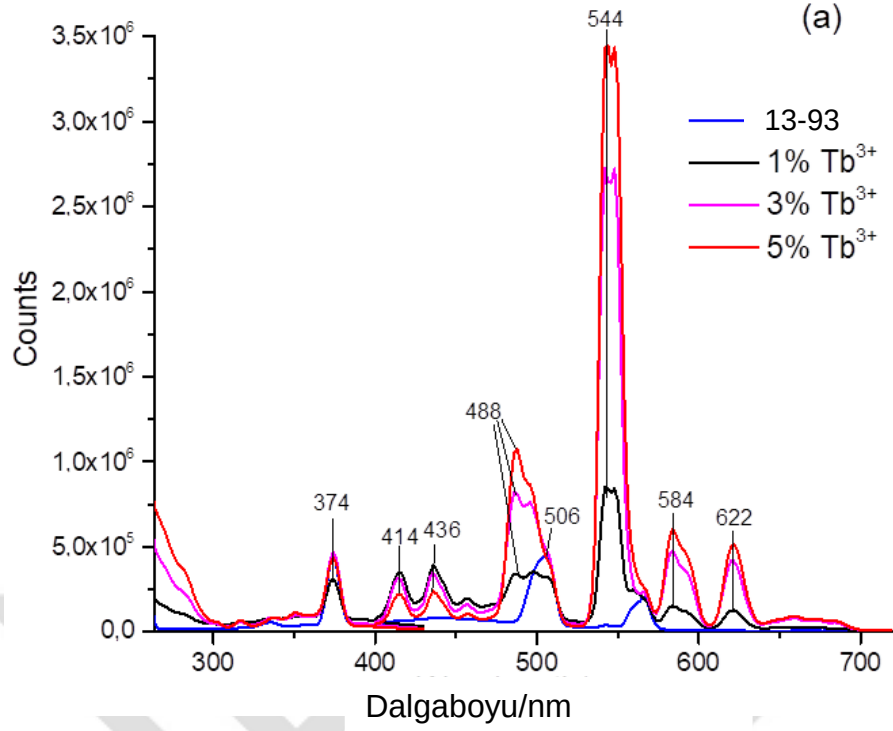
Şekil 4.18. Katkısız ve Er^{3+} katkılı (a) toz ve (b) nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin eksitasyon (Ex:374 nm) ve emisyon spektrumları.

Proje kapsamında sentezi yapılan katkısız ve Tb^{3+} katkılı 13-93 biyoaktif cam toz ve lif örneklerinin fotolüminesans (PL) spektrumları sırasıyla Şekil 4.19 (a) ve (b)'de verilmektedir. Biyoaktif cam toz örnekler 374 nm'de uyarıldıktan sonra, Tb^{3+} içeren biyoaktif cam partikülleri violet (416 nm), mavi (436 nm ve 488 nm), yeşil (544

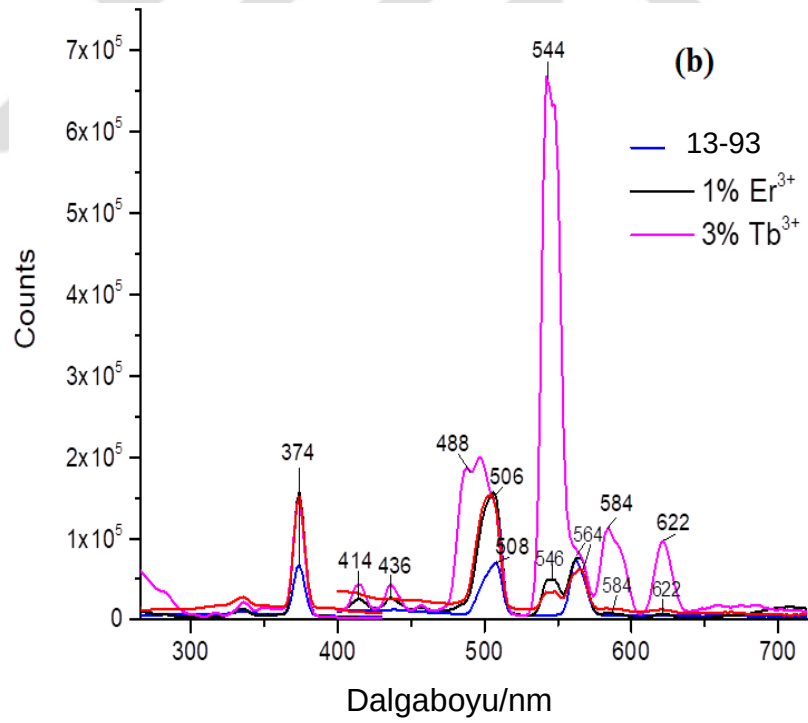
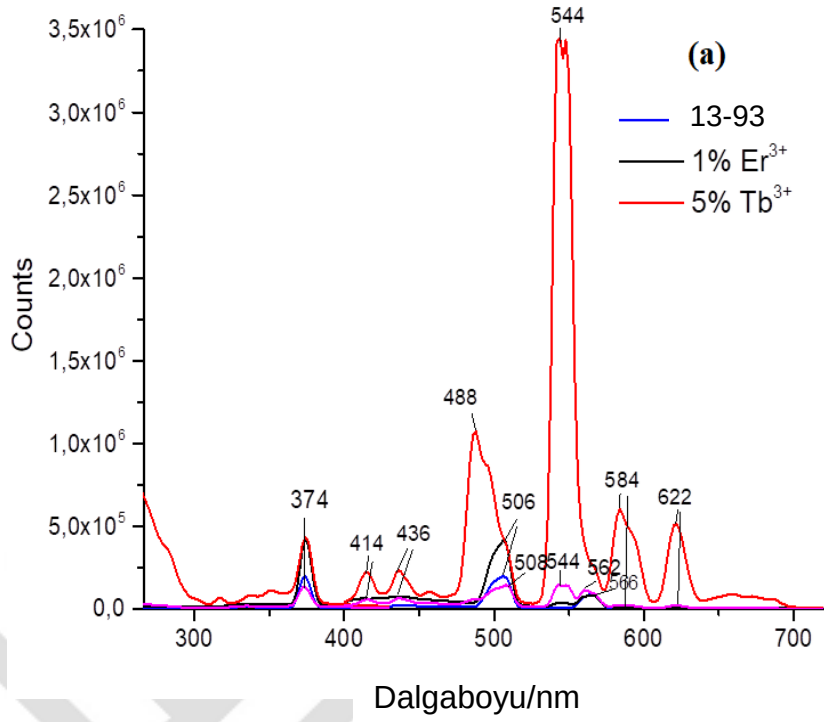
nm), sarı (584 nm) ve kırmızı (622 nm) ışık emisyon pikleri göstermiştir. 416 nm ve 436 nm'deki ilk emisyon grubu (mor ve mavi) $5D_3 \rightarrow 7F_5$, $7F_4$ geçişlerine atanmıştır [139]. 488, 544, 584 ve 622 nm'deki ikinci emisyon grubu sırasıyla $5D_4 \rightarrow 7F_6$, $7F_5$, $7F_4$ ve $7F_3$ geçişlerine karşılık gelmektedir [140]. Bunlar arasında $5D_4 \rightarrow 7F_5$ geçişi (544 nm) şiddeti en yüksek olan yeşil ışık emisyon pikine işaret etmektedir. Tb^{3+} içeren toz formundaki biyoaktif cam örnekler içinde en yüksek emisyon pik şiddeti %5 katkı oranında elde edilirken, nanolif formundaki örnekler için bu değer %3 olarak elde edilmiştir.

Huang ve ark. [145] tarafından yapılan bir çalışmada, 275 nm'de uyarılan Tb^{3+} katkılı biyoaktif cam liflerinin Tb^{3+} geçişine karşılık gelen 490 nm ve 544 nm'de yeşil emisyonun dominant olduğunu bildirmişlerdir [132]. Bununla birlikte, Tb^{3+} çapraz gevşeme süreçleri ($5D_3 \rightarrow 5D_4 \leftrightarrow 7F_6 \rightarrow 7F_0$), daha yüksek katkı konsantrasyonları tarafından desteklenmiş, Tb^{3+} iyonlarının daha fazla eklenmesi ışıldama sönümlmeye yol açmamış, artan konsantrasyon ile birlikte pik şiddetinde önemli oranda artış gözlenmiştir. Böylece biyoaktif cam tozlarının katkı miktarı (%1 ve %5 mol Tb^{3+}) karşılaştırıldığında, daha yüksek nadir toprak iyon konsantrasyonu ile daha güçlü ışıma yoğunluğunun elde edildiği görülmüştür. Terbiyum içeren biyoaktif cam nanolifler, 374 nm'de gerçekleşen uyarılma üzerine tam olarak aynı emisyon spektrumunu sergilemişlerdir.

Şekil 4.20, toz formunda ve nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin en yüksek floresans özellik gösterdiği Er^{3+} ve Tb^{3+} konsantrasyonlarını vermektedir. Sonuçlar, ayrıca genel olarak aynı konsantrasyonda nadir toprak elementi içeren biyoaktif cam nanolif örneklerin emisyon şiddetlerinin toz şeklindeki biyoaktif cam örneklerle göre daha düşük olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.19. Katkısız ve Tb^{3+} katkılı (a) toz ve (b) nanolip formundaki biyoaktif cam örneklerin eksitasyon (Ex:374 nm) ve emisyon spektrumu.



Şekil 4.20. Katkısız, Er³⁺ ve Tb³⁺ katkılı (a) toz, (b) nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin eksitasyon (Ex:374 nm) ve emisyon spektrumu.

4.3.2. Bozunma Süresi Analizi

Tez çalışması kapsamında sentezlenen Er^{3+} ve Tb^{3+} katkılı 13-93 biyoaktif cam tozlarına ve nanoliflerine ait nanosaniye ve mikrosaniye ölçekli bozunma süresi ölçüm sonuçları Tablo 4.2- Tablo 4.5 arasında verilmektedir. Çalışmada sentezlenen tüm biyoaktif cam numunelerinin bi-eksponensiyel bozunma davranışı gösterdiği anlaşılmıştır. Kaydedilen nanosaniye bozulma süreleri, serbest uyarımların foto-uyarılmasına ve bunların kristal olmayan camsı matristeki kusur bölgelerinde yakalandığını göstermektedir. Kaydedilen mikrosaniye ölçeğinde, bozunma ömrü, kapana kısılmış deliklerin varlığıyla ilişkilendirilebilir. Burada serbest yük taşıyıcılarının mevcudiyeti ve bunların amorf yapılardaki verimli göç ve rekombinasyonlarından dolayı nanosaniye ve mikrosaniye zaman ölçeğinde kısa ve uzun lüminesans bozunma süresi bileşenleri kaydedilmiştir [141]. Nadir toprak elementi içermeyen 13-93 cam partikülleri, 368 nm'de uyarıldığında iki katlı bozulma sergilemiştir. Nanosaniye zaman rejiminde, katkısız 13-93 biyoaktif cam tozlarının kısa ve uzun ömürlü bozunma süresi bileşenleri sırasıyla 1.85 ns ve 32.6 ns olarak ölçülmüştür. 367.8 nm darbeli lazer tarafından uyarıldığında, nanosaniye zaman ölçeğinde Er^{3+} içeren parçacıklar, 19.17 ns'lik ortalama bozunma süresine karşılık gelen 1.35 ns (%55) ve 41.10 ns (%45) çift üslü bozunmalar sergilemiştir. Her durumda, Er^{3+} ve Tb^{3+} iyonlarının aynı matris içinde bir arada bulunması ne bozunma zamanlarında ne de floresan yoğunluklarında önemli bir etki yapmamıştır. Bu sonuçlara göre Er^{3+} konsantrasyonunun artışına bağlı olarak 13-93 biyoaktif cam tozlarının bozunma süresinde de artış gözlenmiştir. %5 Er^{+3} içeren toz formunda biyoaktif cam örneklerin en yüksek sönüm süresine sahip olduğu belirlenmiştir. 5Er/13-93 cam kompozisyonu için bozunma sürelerinin kısa ve uzun bozunma süresi komponentleri 10.174 μs ve 26.635 ns olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre Er^{3+} konsantrasyonunun artışına bağlı olarak 13-93 biyoaktif cam liflerinin de bozunma süresinde artış gözlenmektedir. %5 Er^{+3} içeren nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin de en yüksek bozunma süresine sahip olduğu belirlenmiştir. 5Er/13-93 lif kompozisyonu için bozunma süresinin kısa ve uzun komponentleri 9.217 μs ve 27.962 ns olarak ölçülmüştür.

Benzer şekilde Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozlarında da artan katkı konsantrasyonu ile birlikte bozunma sürelerinde artış gözlenmiştir (Tablo 4.4). Buna

göre en yüksek bozunma süresi 21.90 ns olarak 5Tb/13-93 kompozisyonuna sahip cam tozlarına aittir. Benzer şekilde Tb³⁺ içeren biyoaktif cam nanoliflerinde de artan katkı konsantrasyonu ile birlikte bozunma sürelerinde artış olduğu görülmektedir (Tablo 4.5). Buna göre en yüksek sönüm süresi 29.487 ns olarak 3Tb/13-93 kompozisyonuna sahip cam liflerine aittir. Aynı miktarda nadir toprak element içeren biyoaktif cam tozlarının ve nanoliflerin bozunma süreleri arasında görülen farklılıkların, her iki grup örneğin morfolojilerinin farklı olmasından ve camların amorf yapısından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çalışmada yapılan lüminesans bozunma zamanı görüntüleme işlemi biyo-görüntüleme çalışmalarında alternatif bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Farklı floresan uyarılmış durum ömürleri genellikle aynı floroforun farklı fraksiyonlarının moleküler yapıdaki farklı durumlarda tanınması için için gereklidir. Bu, çoklu üstel bozulma özelliklerine sahip ışıldayan malzemelerin kullanımını gerektirebilir. Çalışmada tüm cam örnekleri, bu açıdan bir avantaj olarak değerlendirilebilecek bi-eksponensiyel bozunma davranışı göstermektedir [142].

Tablo 4.2. Katkısız ve Er³⁺ katkılı biyoaktif cam tozlarının mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.

Örnek	τ_0	Bozunma Süresi (μ s)	Std. Sapma. (μ s)	Rel. (%)	Bozunma Süresi (ns)	Std. Sapma (ns)	Rel. (%)
	τ_1	1.9975	0.06189	14.86	1.8499	0.03617	66.15
13-93	τ_2	11.0718	0.04201	85.14	32.6684	1.51875	33.85
	τ_{avr}	9.723			12.282		
	τ_1	1.9489	0.07419	12.73	1.3543	0.03135	55.19
1Er/13-93	τ_2	10.6736	0.04173	87.27	41.1082	1.72553	44.81
	τ_{avr}	9.847			19.168		
	τ_1	2.0440	0.10626	13.03	2.0971	0.09329	43.29
3Er/13-93	τ_2	11.3132	0.06191	86.97	35.4669	2.52064	56.71
	τ_{avr}	10.105			21.021		
	τ_1	1.5227	0.12783	6.56	2.1402	0.09013	44.82
5Er/13-93	τ_2	10.7810	0.04657	93.44	46.5302	3.84031	55.18
	τ_{avr}	10.174			26.635		

Tablo 4.3. Katkısız ve Er³⁺ katkılı biyoaktif cam nanoliflerin mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.

Örnek	τ_0	Bozunma Süresi (μs)	Std. Sapma. (μs)	Rel. (%)	Bozunma Süresi (ns)	Std. Sapma. (ns)	Rel. (%)
	τ_1	1.9550	0.04153	33.12	1.8820	0.04671	55.20
13-93	τ_2	10.1696	0.06881	66.88	42.1817	2.34407	44.80
	τ_{avr}	7.449			19.936		
	τ_1	2.7562	0.0809	24.29	2.2913	0.08999	44.47
1Er/13-93	τ_2	11.6546	0.07463	75.71	43.5012	2.58996	55.53
	τ_{avr}	9.493			25.176		
	τ_1	1.994	0.07445	17.19	2.1359	0.09142	47.58
3Er/13-93	τ_2	10.7969	0.05820	82.81	31.9668	2.15721	52.42
	τ_{avr}	9.284			17.879		
	τ_1	3.2021	0.16084	29.96	2.3124	0.07619	43.81
5Er/13-93	τ_2	11.7892	0.18041	70.04	47.9612	2.48781	56.19
	τ_{avr}	9.217			27.962		

Tablo 4.4. Katkısız ve Tb³⁺ katkılı biyoaktif cam tozlarının mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.

Örnek	τ_0	Bozunma Süresi (μs)	Std. sapma. (μs)	Rel. (%)	Bozunma Süresi (ns)	Std. sapma. (ns)	Rel. (%)
	τ_1	1.9975	0.06189	14.86	1.8499	0.03617	66.15
13-93	τ_2	11.0718	0.04201	85.14	32.6684	1.51875	33.85
	τ_{avr}	9.723			12.282		
	τ_1	1.4379	0.12707	6.10	2.0491	0.06130	58.14
1Tb/13-93	τ_2	10.7789	0.04708	93.90	26.3448	1.46488	41.86
	τ_{avr}	10.209			12.219		
	τ_1	1.9322	0.12227	8.56	2.0777	0.06259	52.44
3Tb/13-93	τ_2	11.1006	0.04895	91.44	27.8784	1.33059	47.56
	τ_{avr}	10.316			14.349		
	τ_1	1.1467	0.19842	2.98	2.9481	0.15228	41.52
5Tb/13-93	τ_2	10.7582	0.04988	97.02	35.3588	2.50912	58.48
	τ_{avr}	10.472			21.902		

Tablo 4.5. Katkısız ve Tb³⁺ katkılı biyoaktif cam nanoliflerin mikrosaniye ve nanosaniye rejiminde bozunma süresi ölçüm sonuçları.

Örnek	τ_0	Bozunma Süresi (μs)	Std. Spm. (μs)	Rel. (%)	Bozunma Süresi (ns)	Std. Spm. (ns)	Rel. (%)
	τ_1	1.9550	0.04153	33.12	1.8820	0.04671	55.20
13-93	τ_2	10.1696	0.06881	66.88	42.1817	2.34407	44.80
	τ_{avr}	7.449			19.936		
	τ_1	2.0858	0.08193	18.82	1.8682	0.05885	42.60
1Tb/13-93	τ_2	10.7085	0.06814	81.18	46.1953	2.09343	57.40
	τ_{avr}	9.086			27.312		
	τ_1	1.8026	0.17588	8.46	2.2930	0.25285	20.32
3Tb /13-93	τ_2	11.0224	0.08028	91.54	36.4224	2.31883	79.68
	τ_{avr}	10.668			29.487		
	τ_1	1.7573	0.09195	10.52	2.3646	0.1562	26.77
5Tb/13-93	τ_2	11.7185	0.05754	89.48	38.4658	1.94793	73.23
	τ_{avr}	10.671			28.802		

Sonuçlar, çalışmada sentezlenen biyoaktif cam tozları ile karşılaştırıldığında nanoliflerde genellikle bozunma süresinin yavaş bileşenin daha baskın olduğunu göstermektedir. Hızlı bileşenin uyarma spontan rekombinasyonu ile ilişkili olduğu rapor edilirken, daha yavaş bileşenin yakalama/tuzak mekanizmalarına atfedilebilir [141]. Mevcut çalışmanın bulguları ayrıca Er³⁺ ve Tb³⁺ katkılı biyoaktif cam numunelerinin lüminesans yoğunluğunun ve bozunma sürelerinin numune morfolojisine bağlı olduğunu göstermiştir. Proje kapsamında sentezlenen katkılı 13-93 biyoaktif camların tümünün floresans özellik gösterdiğini ve biyoaktif cam tozlarının nanosaniye ölçüm rejiminde daha yüksek bozunma süresine sahip olduğu ifade edilebilir. Nanolif formundaki biyoaktif cam numunelerin emisyon yoğunlukları ile partikül formundaki biyoaktif cam numunelerinin emisyon yoğunluğu kıyaslandığında, cam toz numunelerinin daha güçlü emisyon yoğunluğuna sahip olmasına rağmen, bozunma süresi analizi açısından nanolifler daha uzun ortalama bozunma süreleri sergileyerek daha iyi performans göstermiştir. PL yoğunluklarında gözlenen fark, numunelerin enerji yapısındaki farklılığın yanı sıra nanoliflerin boyutuna bağlı kusurlardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

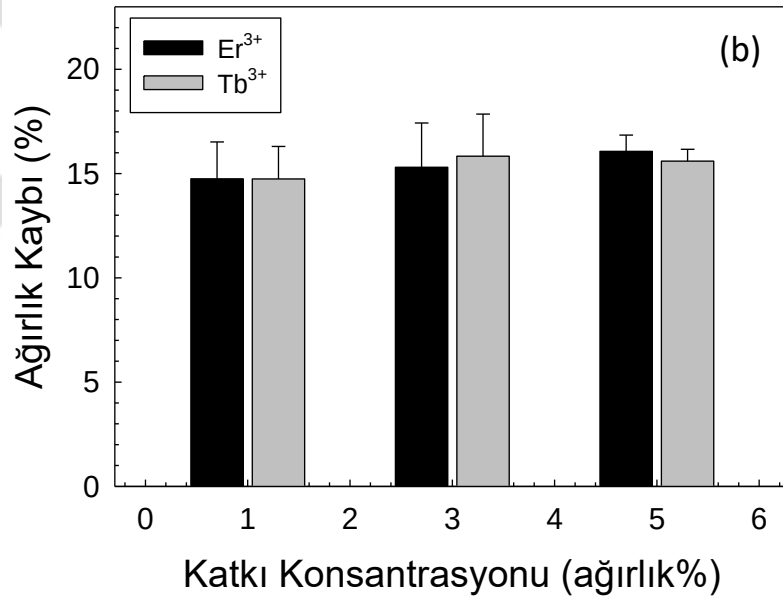
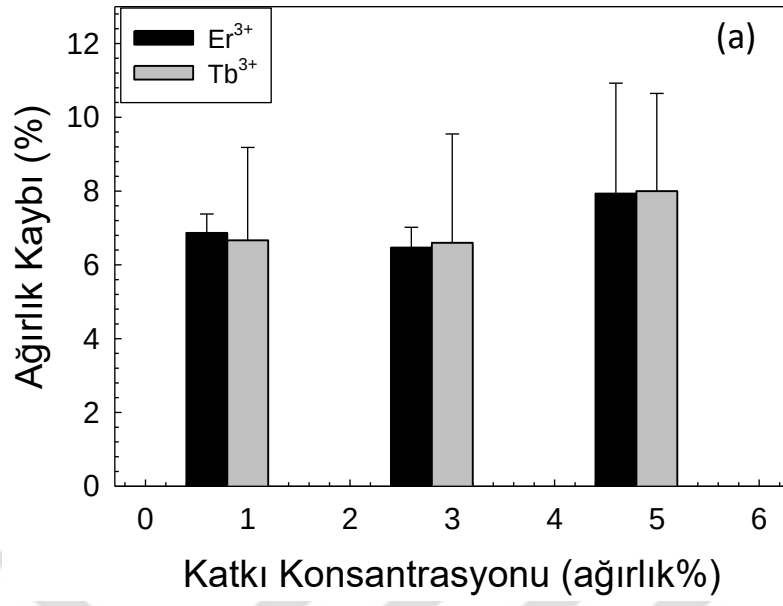
Biyoaktif cam nanolifleri, öğütme sonrasında aglomere kısa lifler oluşturmaya eğilimlidir. Çubuk benzeri kısa nanolif formdaki biyoaktif cam numuneleri ile

ortalama tane boyutu $\sim 1.5-3.5$ μm olan toz formdaki biyoaktif camlar karşılaştırıldığında, nanolif numunelerin daha küçük çapa ve daha büyük çubuk uzunluğuna sahip olduğu belirlenmiştir. Biyoaktif cam parçacık elektron yapısının, partikül boyutuna göre yüksek derecede hassasiyet gösterdiği raporlanmıştır [143]. Parçacık boyutunda meydana gelen değişiklik, cam parçacığın bant aralığının değişmesine neden olur. Bir parçacığın kütlesinden gelen lüminesans, periyodik potansiyel ile değerlendirilir, öte yandan foton üretimi ile ilgili yüzey, yüzeyin enerjisinden etkilenmektedir. Yüzeye yakın bölgenin boyutu kütlenin boyutuna yakın olduğunda, her ikisinden gelen fotonlar lüminesans özelliklerini etkiler. Ancak partikül boyutu toplu eksiton yarıçapına göre küçülürse, kuantum hapsi etkileri gözlemlenir. Bu nedenle, mevcut çalışmada, PL yoğunluklarında gözlenen fark, numunelerin enerji yapısındaki farklılığın yanı sıra nanoliflerin boyutuna bağlı kusurlardan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu duruma ek olarak, floresan ömrü, polarite ve floresans söndürücülerin varlığı gibi bazı faktörlerin yanı sıra florofor yapısından etkilenen içsel parametrelere de bağlı olabilir [144]. Ek olarak, floresans emisyonu ve ışınımsız süreçler nedeniyle zamanla fotolüminesans bozulduğundan [144], cam partiküller için daha kısa bozunma süreleri kaydediliyor olabilir. Ayrıca katkısız 13-93 biyoaktif cam tozlarına ait Stoke's kayma değerleri 132 ve 192 nm iken Tb^{3+} içeren biyoaktif camlarda emisyon değerleri daha yüksek dalga boylarına kaydığından daha büyük Stoke's kayma değerleri (210 nm, 248 nm) elde edilmiştir. Literatürde, elektron veya lazer radyasyonu tarafından uyarılan fotolüminesans ömrünün, parçacıkların boyutu ve morfolojisinin bir fonksiyonu olarak güçlü bir şekilde değiştiği raporlanmıştır [145].

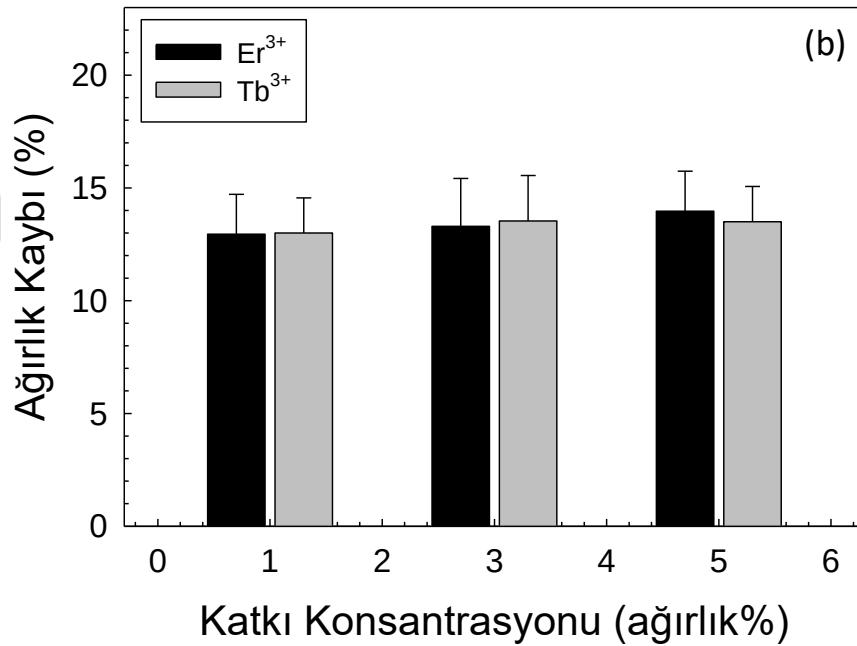
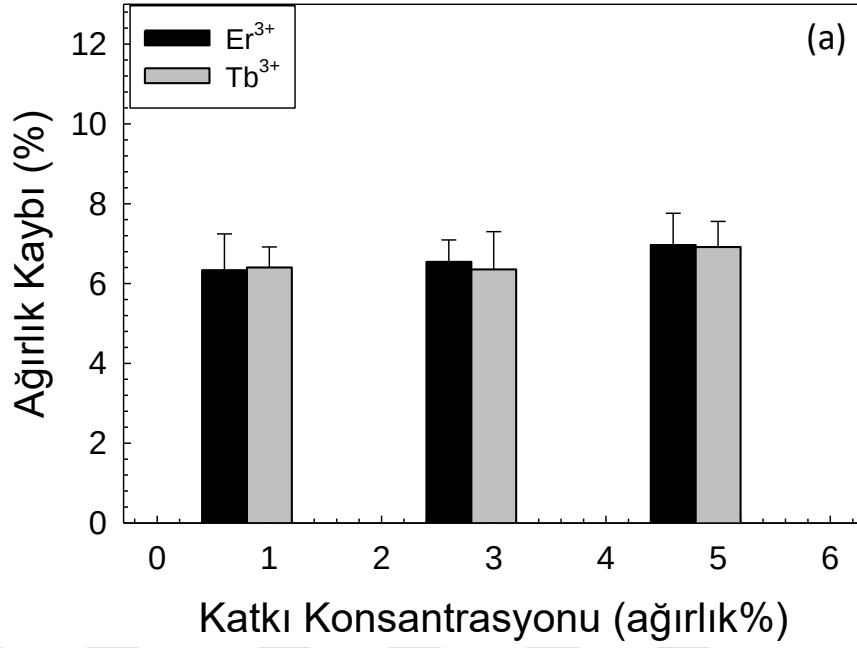
Silver ve ark. [146], tarafından yapılan bir çalışmada Er^{3+} ve Yb^{3+} ortak katkılı itriyum oksit fosforlarının yukarı dönüşüm lüminesans özellikleri üzerindeki kristalit boyutunun yanı sıra parçacık morfolojisinin etkisini araştırılmıştır. Sonuçlar, en şiddetli sarı-yeşil yukarı dönüşüm emisyonunun, daha büyük boyutlu parçacıklar kullanıldığında meydana geldiğini ve Er^{3+} iyonları arasındaki çapraz gevşeme işlemlerinin bu daha büyük parçacıklarda verimli yukarı dönüşümden sorumlu olduğunu ortaya koymuştur.

4.4. *In Vitro* Biyoaktivite

Tez çalışması kapsamında sentezlenen biyoaktif cam tozlarının ve liflerinin yüzeylerinde hidroksiapatit oluşturma davranışı yapay vücut sıvısı (SBF) içinde incelenmiştir. Bu amaçla Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları ve lifleri 7, 14 ve 30 gün SBF içinde 37 °C'de bekletilmiştir. Şekil 4.21 ve Şekil 22, SBF içerisinde 7 ve 14 gün bekletilen Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif camların ağırlık kayıp yüzdelerini göstermektedir. Katkılı ve katkısız 13-93 biyoaktif camların SBF çözeltilerine daldırıldıktan sonra anlamlı ağırlık kaybı gösterdiği gözlenmiştir. Katkı tipi ve miktarına bağlı olarak hazırlanan tozların ve liflerin SBF içindeki ağırlık kayıplarında belirgin bir fark görülmemektedir. 7 güne kadar olan tüm durumlarda ağırlık kaybı zamanla orantılı olarak artmaktadır. 7 gün SBF içinde bekleyen örneklerde ağırlık kaybı miktarının 7%-8% mertebesinde olduğu gözlenirken 14 gün bekleyen örneklerde bu değerin 15% civarına ulaştığı anlaşılmıştır. Yüksek çözünme oranına sahip olan biyoaktif camların % ağırlık kaybı daha fazladır. Biyoaktif cam yapı iskelelerine ait bozunma hızı ve HA benzeri bir malzemeye dönüşüm, mekanik tepki ve hücrelere tepki gibi *in vitro* özellikler, öncelikle iskelelerin sentez yöntemine, cam kompozisyona, bileşimindeki Si yüzdesine ve mikro ağ yapısına bağlı olarak degradasyon miktarı değişmektedir. Silika bazlı camların fizyolojik sıvılar içerisinde düşük çözünürlüğüne bağlı olarak başlangıçta 5-10% arasında bir ağırlık kaybına uğradığı bilinmektedir [53].



Şekil 4.21. SBF içinde (a) 7 gün, (b) 14 gün bekletilen Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren biyoaktif cam tozlarının ağırlık kayıplarını gösteren grafikler.



Şekil 4.22. SBF içinde (a) 7 gün ve (b) 14 gün bekletilen Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren biyoaktif cam liflerinin ağırlık kayıplarını gösteren grafikler.

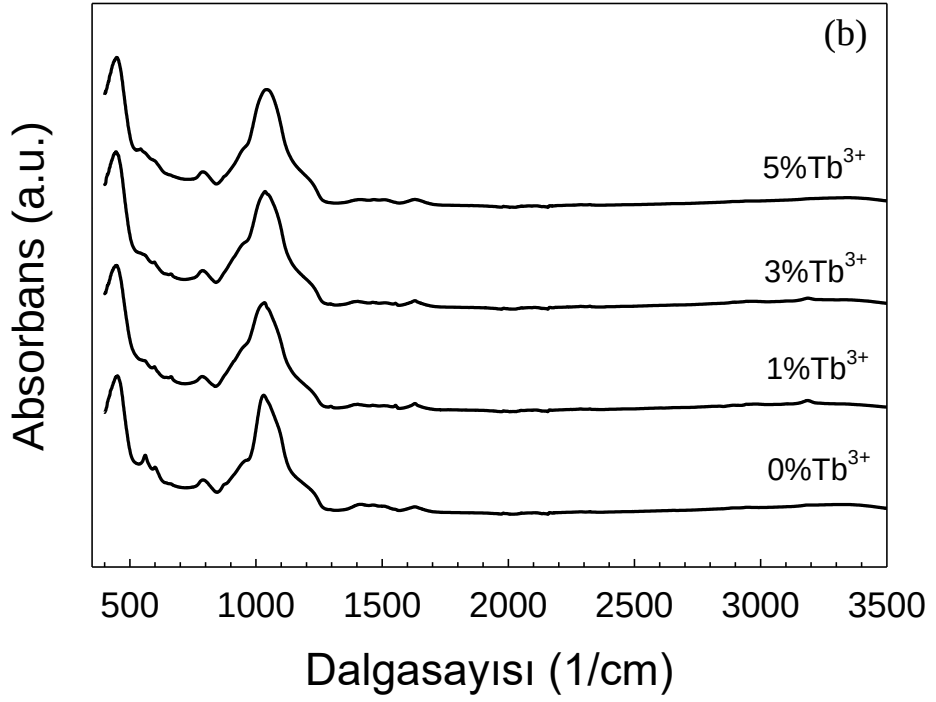
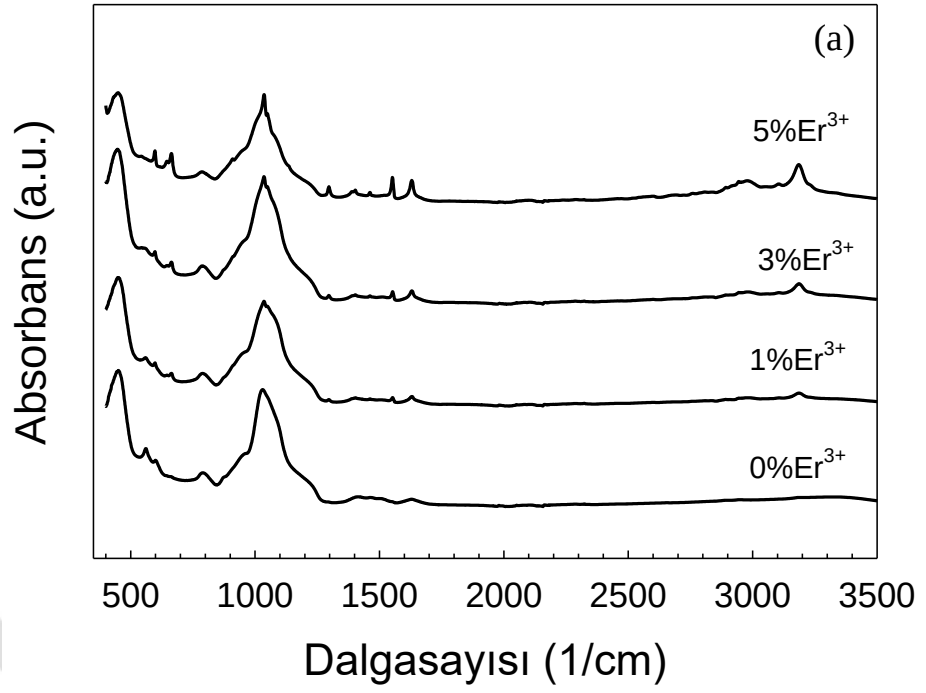
Tez projesi kapsamında sentezlenen katkısız ve Er³⁺ ya da Tb³⁺ katkılı 13-93 biyoaktif cam numunelerin 7,14 ve 30 gün süreyle SBF'ye daldırıldıktan sonraki FTIR spektrumları Şekil 4.23- Şekil 4.28 arasında gösterilmiştir. SBF'de 7 gün bekletilen toz formunda biyoaktif cam örneklerin spektrumunda yer alan 560 ve 604 cm⁻¹ civarında görülen pikler PO₄³⁻ v4 bükülme moduna aittir [147]. Diğer yandan, 460 cm⁻¹ ve 1020

cm^{-1} 'de görülen bantlar PO_4^{3-} gruplarının sırasıyla ν_2 moduna ve ν_3 bükülme moduna aittir. Bu pikler hidroksiapatite (HA) ait FTIR absorpsiyon bantları uyumludur ve yapıda HA oluştuğunu işaret etmektedir. SBF içinde 7 gün bekletilen erbiyum katkılı toz örneklerin FTIR spektrumlarında görülen 900 cm^{-1} 'de oluşan pik ve terbiyum katkılı örneklerde düşük şiddetli gözlenen yaygın pik ayrıca $1600\text{-}1700 \text{ cm}^{-1}$ arasında meydana gelen çift pik, CO_3^{2-} varlığını ve karbonat apatit oluşumunu göstermektedir. 7.günde erbiyum katkılı biyoaktif cam toz numunelerinde yaklaşık 3200 cm^{-1} de meydana gelen pik su moleküllerinin H-OH bükülme titreşimleriyle ilgilidir.

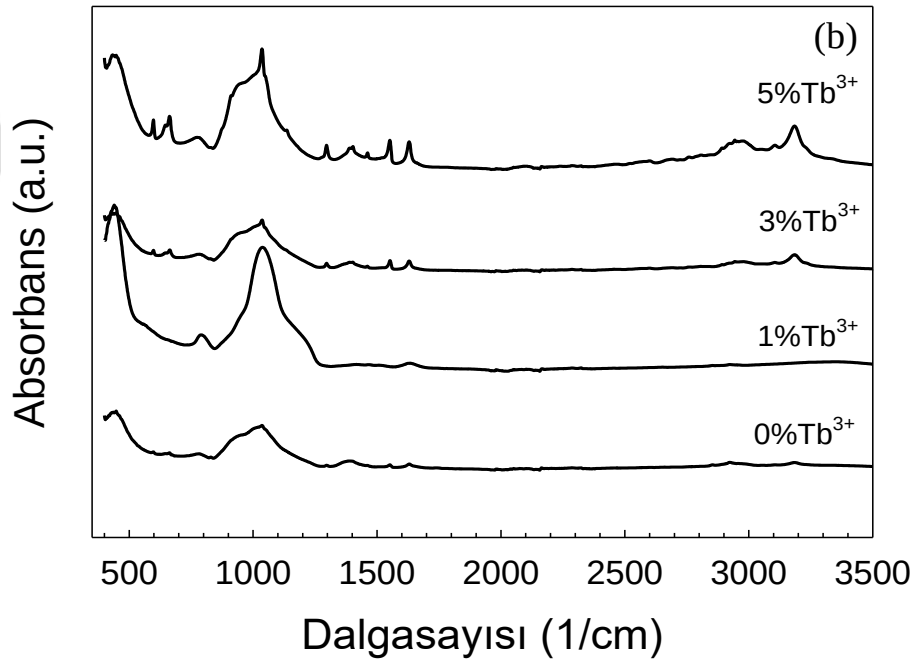
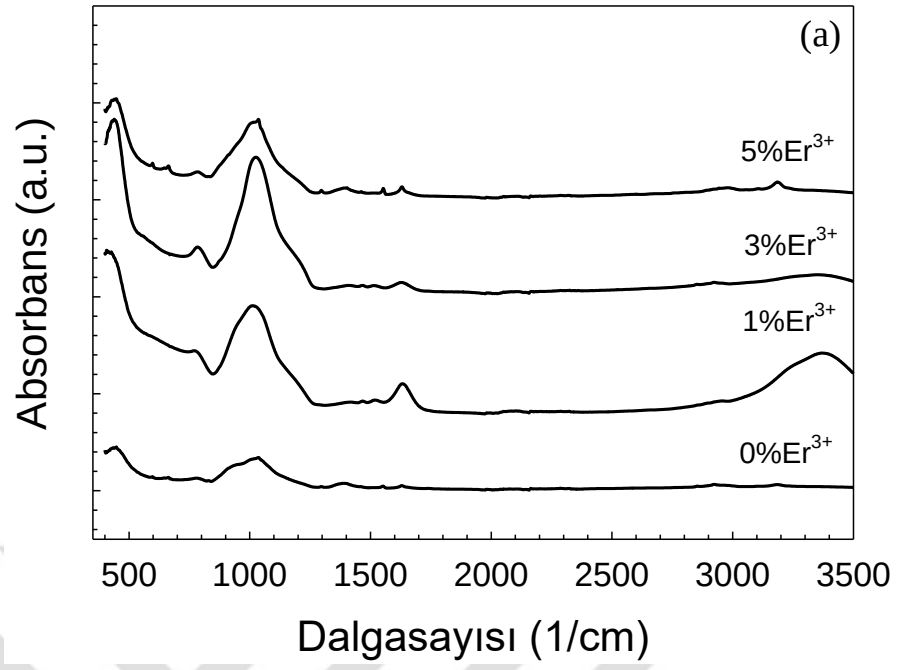
Aynı şartlar altında 7 gün SBF içinde bekletilen biyoaktif cam nanoliflerin FTIR spektrumlarında 560 ve 604 cm^{-1} civarında görülen PO_4^{3-} grubu ν_4 bükülme moduna ait piklerin oluşmadığı, $980\text{-}1120 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen PO_4^{3-} grubu ν_3 bükülme moduna ait bantın şiddetinin daha düşük olduğu görülmektedir.

14 gün SBF içinde bekletilen toz formundaki biyoaktif cam örneklerin FTIR absorpsiyon spektrumları incelendiğinde 560 ve 604 cm^{-1} civarında ve $980\text{-}1120 \text{ cm}^{-1}$ aralığında ortofosfat PO_4^{3-} grubuna ait piklerin şiddetinin arttığı anlaşılmaktadır. Er^{3+} ya da Tb^{3+} katkı miktarına bağlı olarak pik şiddetlerinde önemli bir farklılığın olmadığı da görülmektedir.

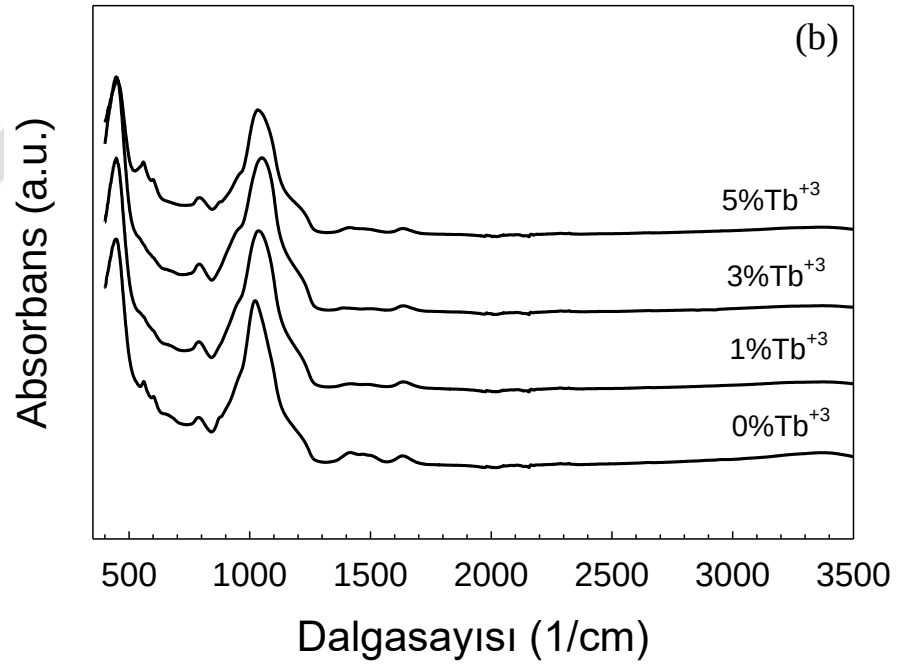
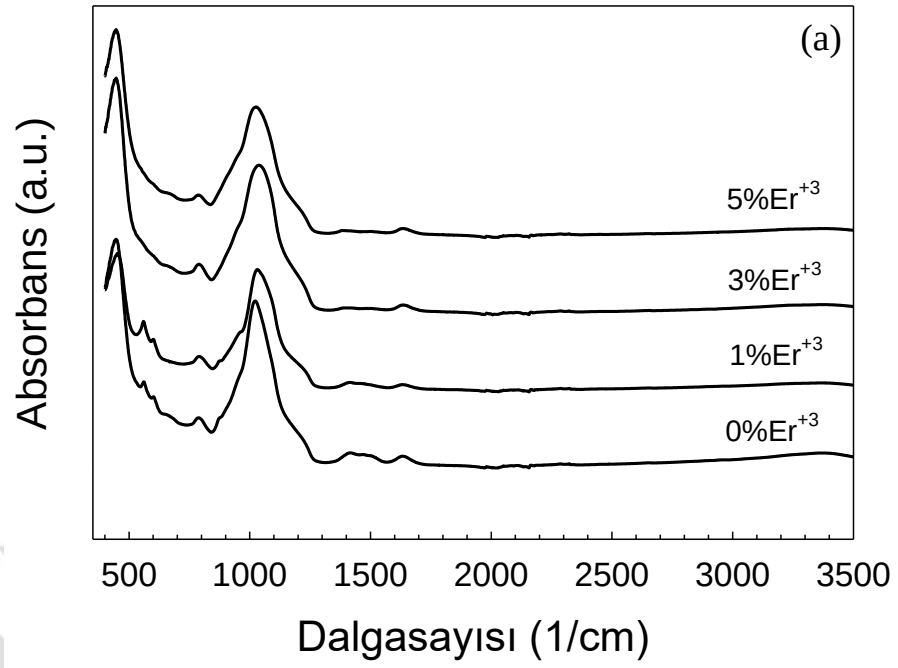
SBF içerisinde 30 gün bekletilen toz formundaki tüm biyoaktif cam örneklerde kristal fazda HA oluşumuna işaret eden, 560 ve 604 cm^{-1} civarında ve 1100 cm^{-1} 'de yer alan ortofosfat (PO_4^{3-}) pik şiddetinde de artış olduğu görülmektedir. SBF içerisinde bekleme süresinin artması ile artan pik şiddetleri, proje kapsamında sentezi yapılan cam tozlarının biyoaktivitelerinin yüksek olduğunu kanıtlamaktadır. Benzer şekilde, belirtilen konsantrasyonlarda yapılan Er^{3+} ve Tb^{3+} katkısının 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin HA oluşturma davranışının yanında biyoaktivitesi üzerinde olumlu bir etkiye neden olduğunu, katkısız cam nanolifler ile karşılaştırıldığında yüzeyde daha fazla miktarda kalsiyum fosfat ve hidroksiapatit oluşumuna neden olduğunu göstermektedir. Genel olarak karşılaştırıldığında 30 gün SBF içerisinde bekletilen nanolif formundaki cam örneklerin FTIR absorpsiyon spektrum pik şiddetlerinin toz formundaki örneklere göre daha düşük olduğu görülmekte ve bu durum, toz formundaki örneklerin HA oluşturma yeteneklerinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.



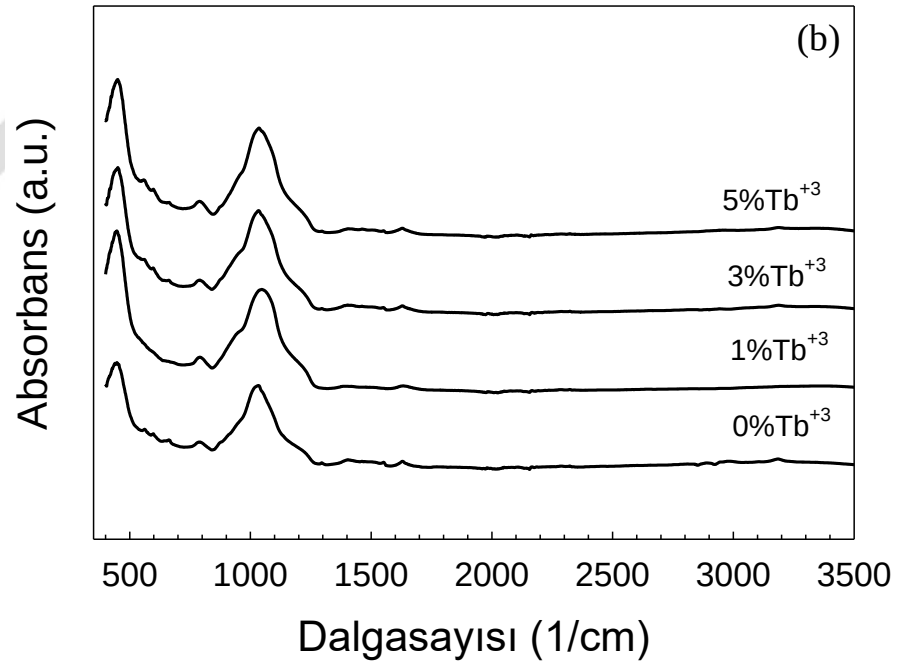
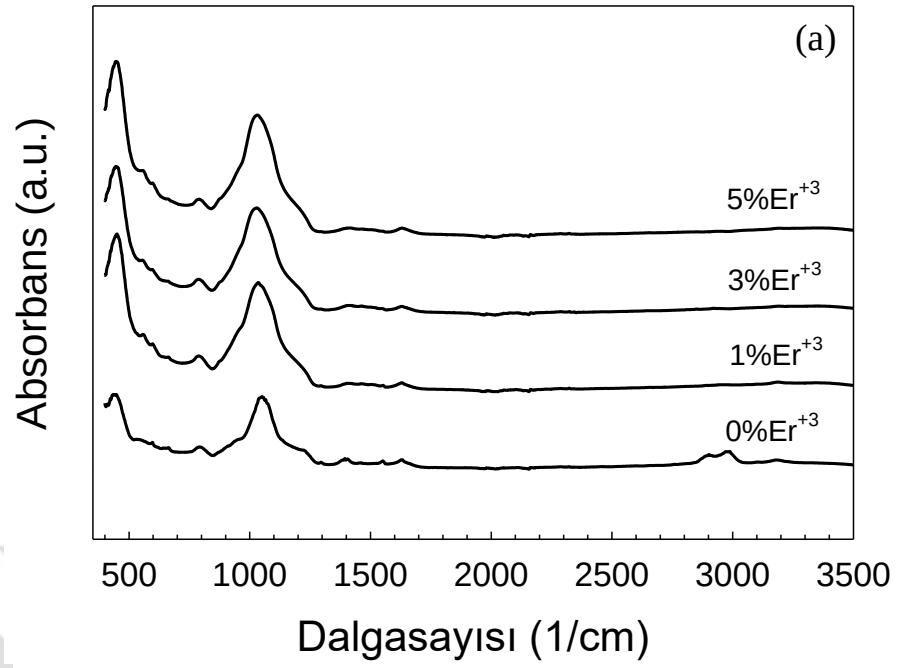
Şekil 4.23. SBF içinde 7 gün bekletilmiş (a) Er^{3+} , (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının FTIR spektrumları.



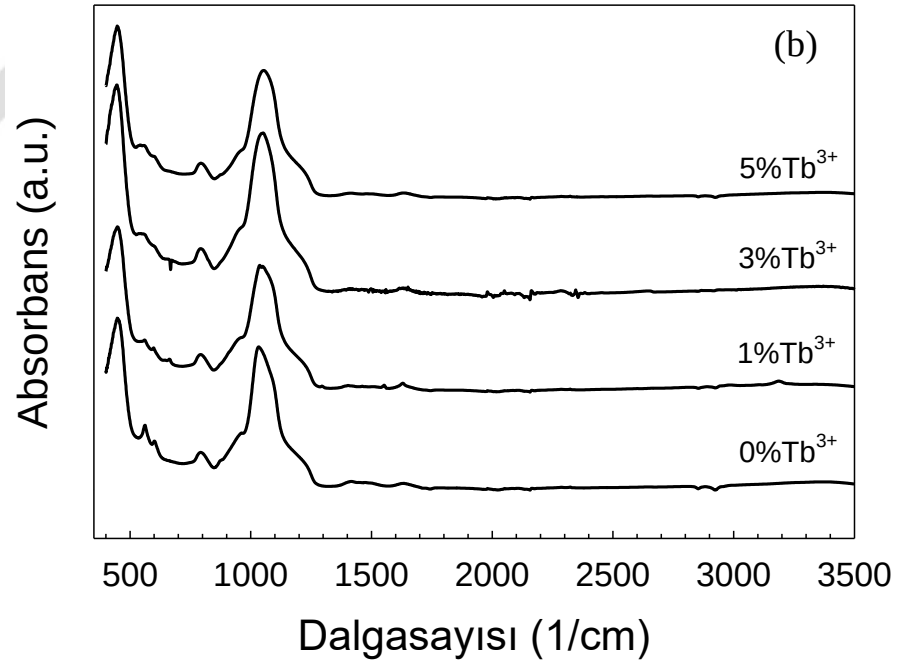
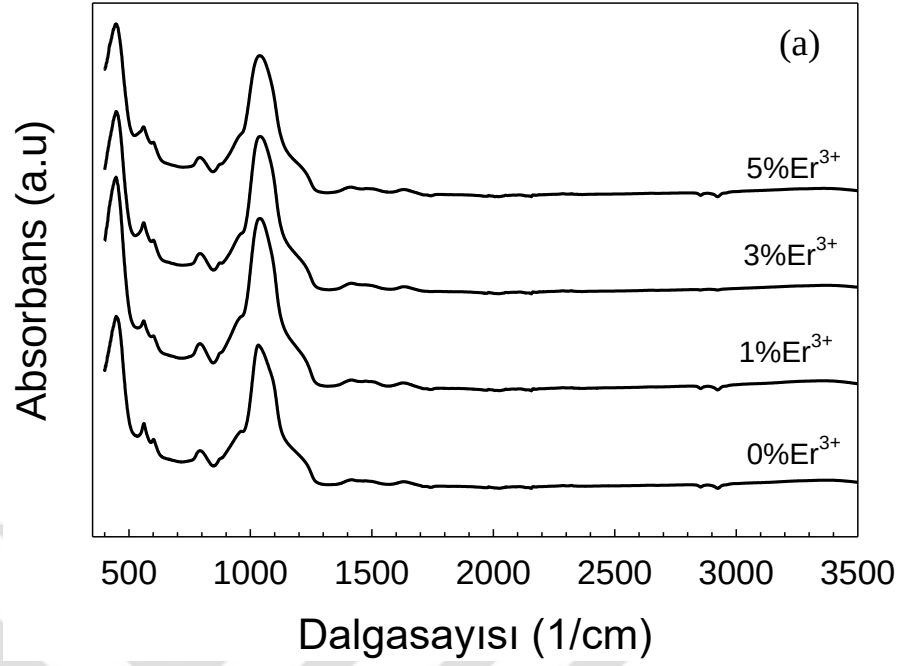
Şekil 4.24. SBF içinde 7 gün bekletilmiş (a) Er^{3+} , (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin FTIR spektrumları.



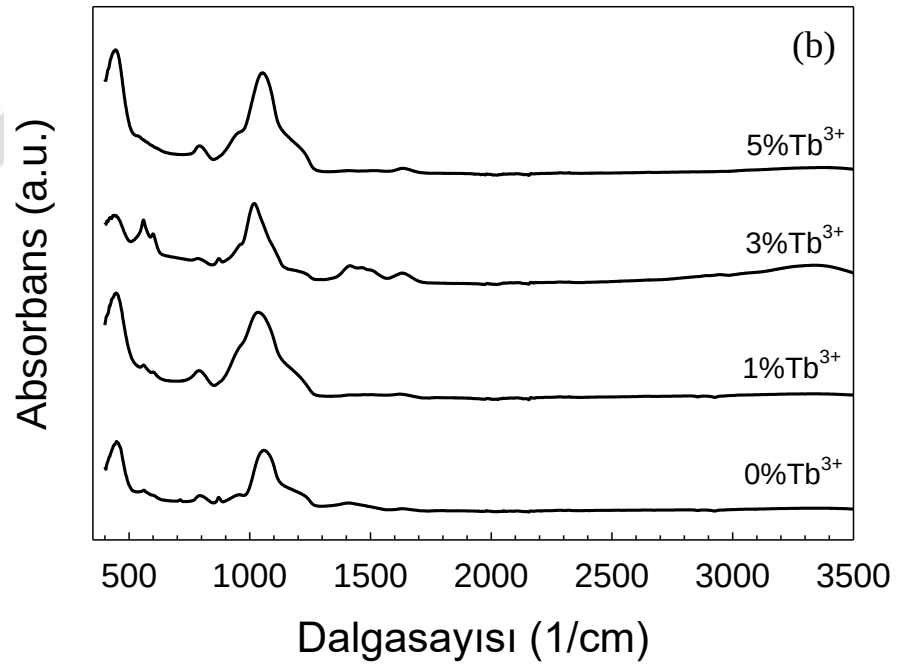
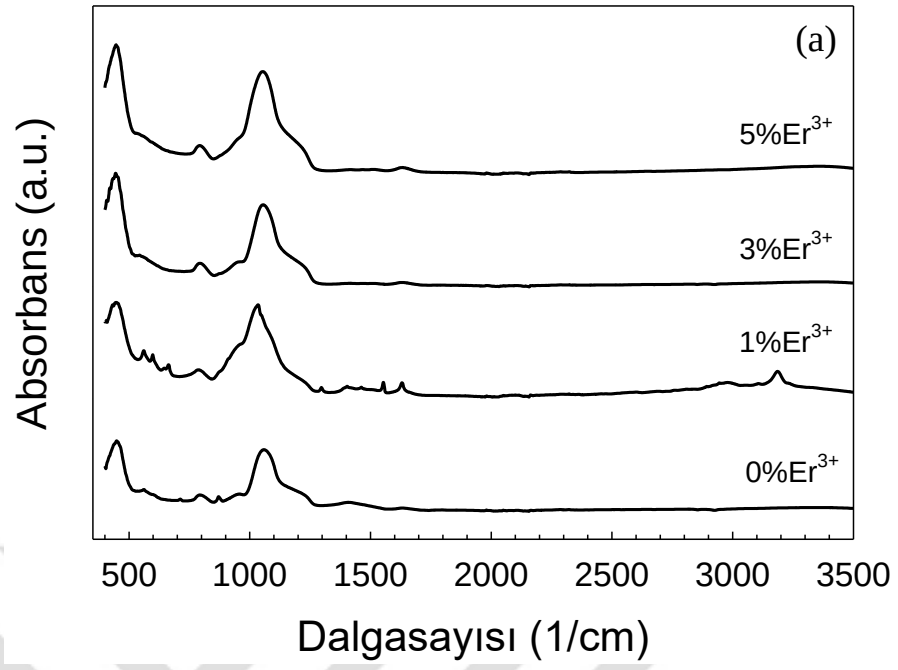
Şekil 4.25. SBF içinde 14 gün bekletilmiş (a) Er^{3+} , (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının FTIR spektrumları



Şekil 4.26. SBF içinde 14 gün bekletilmiş (a) Er^{3+} , (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam liflerinin FTIR spektrumları.



Şekil 4.27. SBF içinde 30 gün bekletilmiş (a) Er^{3+} , (b) Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarının FTIR spektrumları.

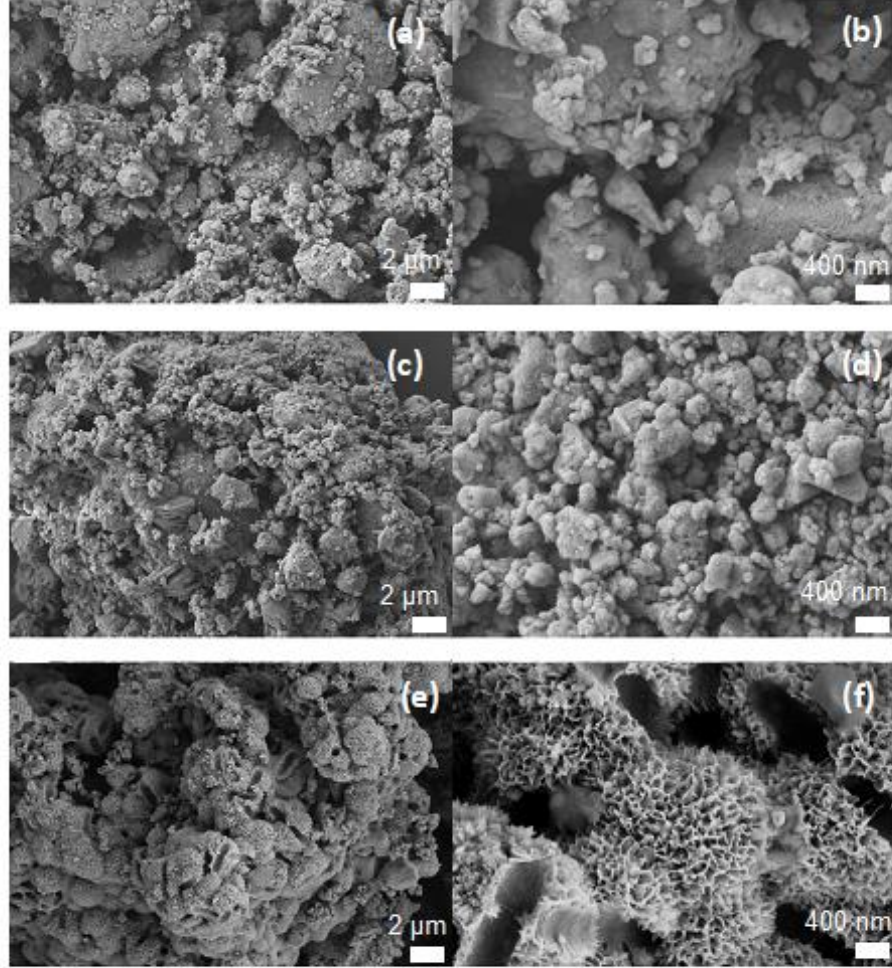


Şekil 4.28. SBF içinde 30 gün bekletilmiş (a) Er³⁺, (b) Tb³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam nanoliflerin FTIR spektrumları.

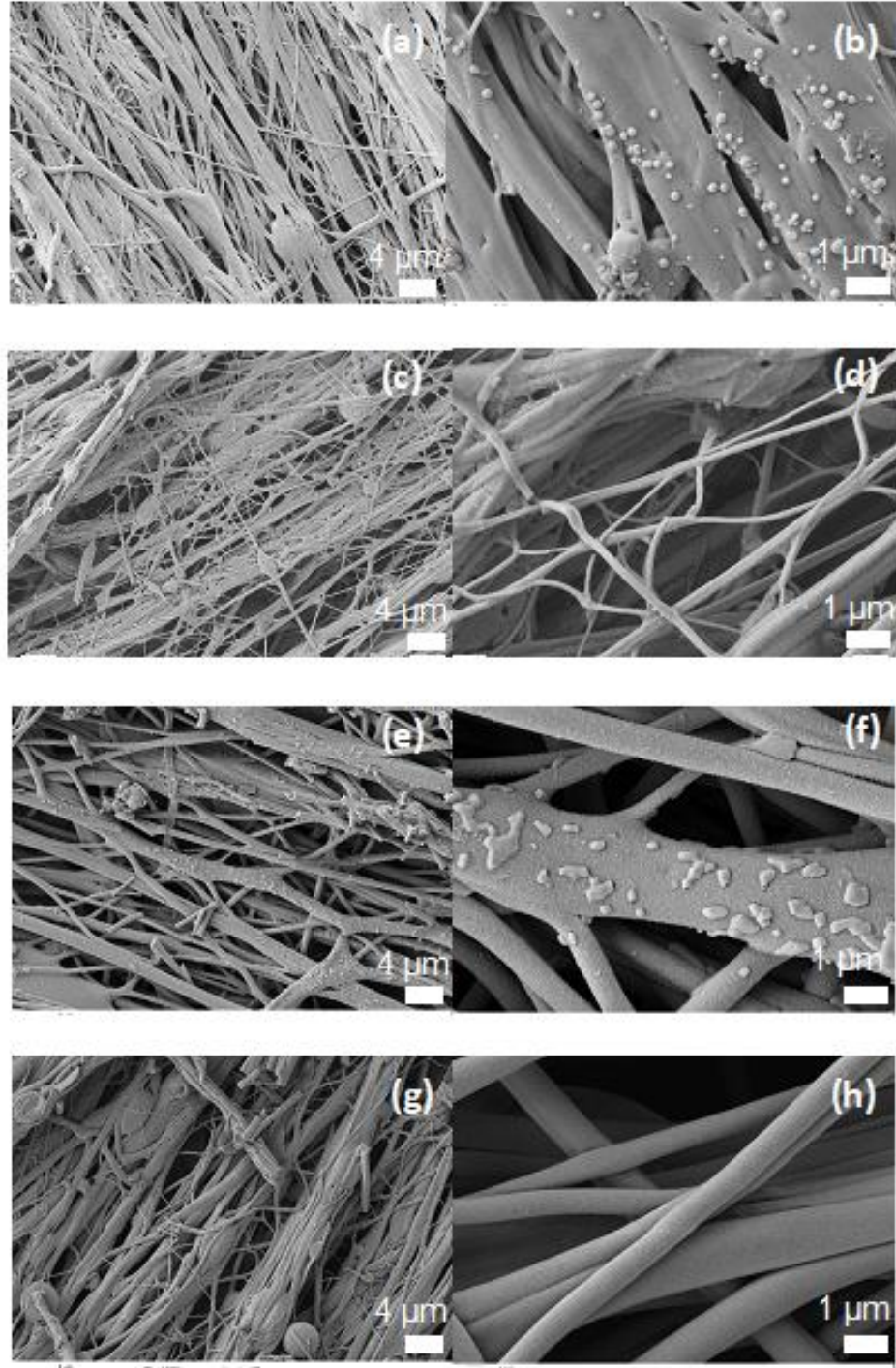
Tez projesi kapsamında sentezlenen katkılı ve katkısız 13-93 biyoaktif cam tozlarının ve liflerinin 7 ve 30 gün süreyle SBF içerisinde bekletildikten sonraki SEM mikrografları Şekil 4.29 ile Şekil 4.36 arasında verilmiştir. SEM mikrografları karşılaştırıldığında, bütün cam örneklerinin yüzeyinde morfolojik değişim gözlenmiştir. 7 gün SBF içinde bekletilmiş Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam toz ve lif örneklerin tümünün yüzeyinde 2. bir faz maddenin oluşumunu göstermektedir. Özellikle toz formundaki biyoaktif cam örneklerin yüzeyinde oluşan bu kristallerin (2. faz madde) hidroksikarbonapatit morfolojisi ile uyumlu olduğu görülmektedir [148]. Diğer yandan nanolif formundaki örneklerin yüzeyinde 2. faz madde çökelme oranının camın yapısına eklenen nadir toprak elementi çeşidi ve konsantrasyonuna bağlı olarak daha düşük olduğu gözlenmektedir. 7 gün SBF’de bekleyen toz ve nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerin SEM analizlerinin FTIR analiz sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, Fu ve ark. [149], 13-93 biyoaktif cam yapı iskelelerinin 37 °C’de SBF içerisinde 7 gün bekletilmesinin, örneklerin cam yüzeyinde nanoyapılı bir hidroksiapatit tabakasını oluşturduğunu gözlemleyerek *in vitro* biyoaktivitesini açıklamışlardır.

30 gün SBF’te bekletildikten sonra Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren örneklerin yüzeyinde yoğun plakalı yapıda, küresel aglomeratlar halinde kristal HA tabakasının oluştuğu gözlenmiştir. Genel olarak, tüm örneklerin HA oluşturma yeteneğinde azalma olmayıp, artan Er^{3+} ve Tb^{3+} konsantrasyonu ile birlikte oluşan HA küresel yapıların yoğunluk ve büyüklüklerinde artış elde edilmiştir. Wang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada da hidroksiapatit tozlarına Tb^{3+} ilavesinin biyoaktif camların HA oluşturma ve kanser tedavisi için ilaç (DOX) salım özelliğini geliştirdiğini göstermiştir [116]. Alshemary ve diğerleri tarafından 2015 yılında yapılan başka bir çalışmada ise HA’ya Er^{3+} ilavesinin *in vitro* biyoaktiviteyi geliştirdiği raporlanmıştır [113]. Li ve ark. daha önce yaptıkları çalışmada, Er^{3+} / Yb^{3+} ortak katkılı biyoaktif camların SBF içerisinde saf biyoaktif camlarla karşılaştırıldığında apatit oluşumunu indüklemek için aynı aktiviteye sahip olup olmadıklarını incelemişler, hazırlanan camların SBF’de hidroksiapatit oluşumunu indüklediğini göstermişlerdir [14]. Tane boyutu küçük olan cam örneklerinin yüzey alanının büyük olması nedeniyle temas ettiği SBF miktarı daha fazla olmaktadır ve böylece daha hızlı çözünerek, HA tabakasını daha hızlı oluşturmaktadır. Genel olarak, elektroeğirme ile hazırlanan tüm örneklerin HA oluşturma yeteneğine sahip olduğu görülmekle birlikte, oluşan HA miktarının sol-jel

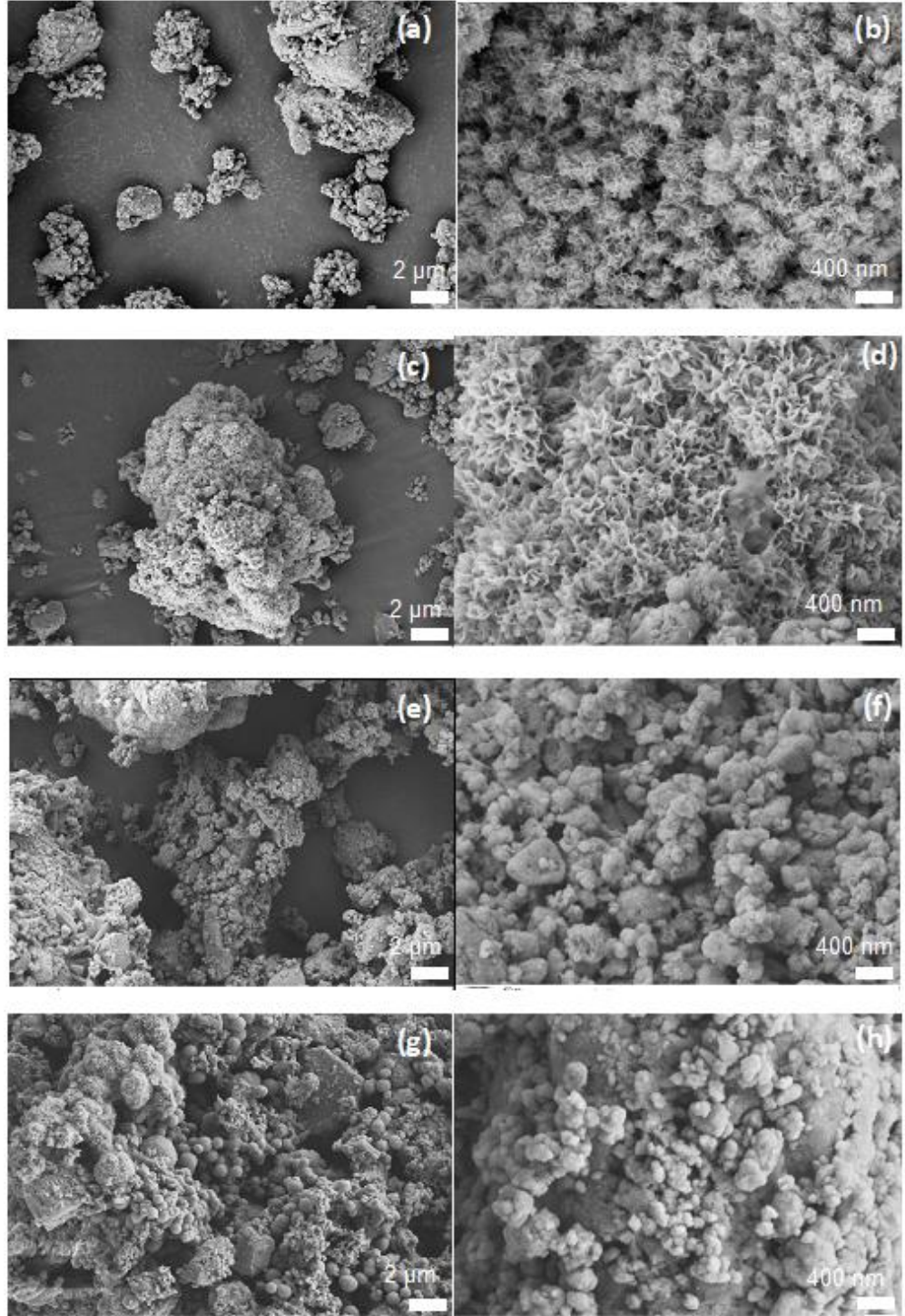
ile hazırlanan biyoaktif cam tozlarına göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum, hazırlanan nanoliflerin doğrudan 2 boyutlu halde, tozların ($d_{50}=2-3\mu\text{m}$) ise daha fazla yüzey alanına sahip durumunda SBF içerisinde bekletilmesi ile ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır.



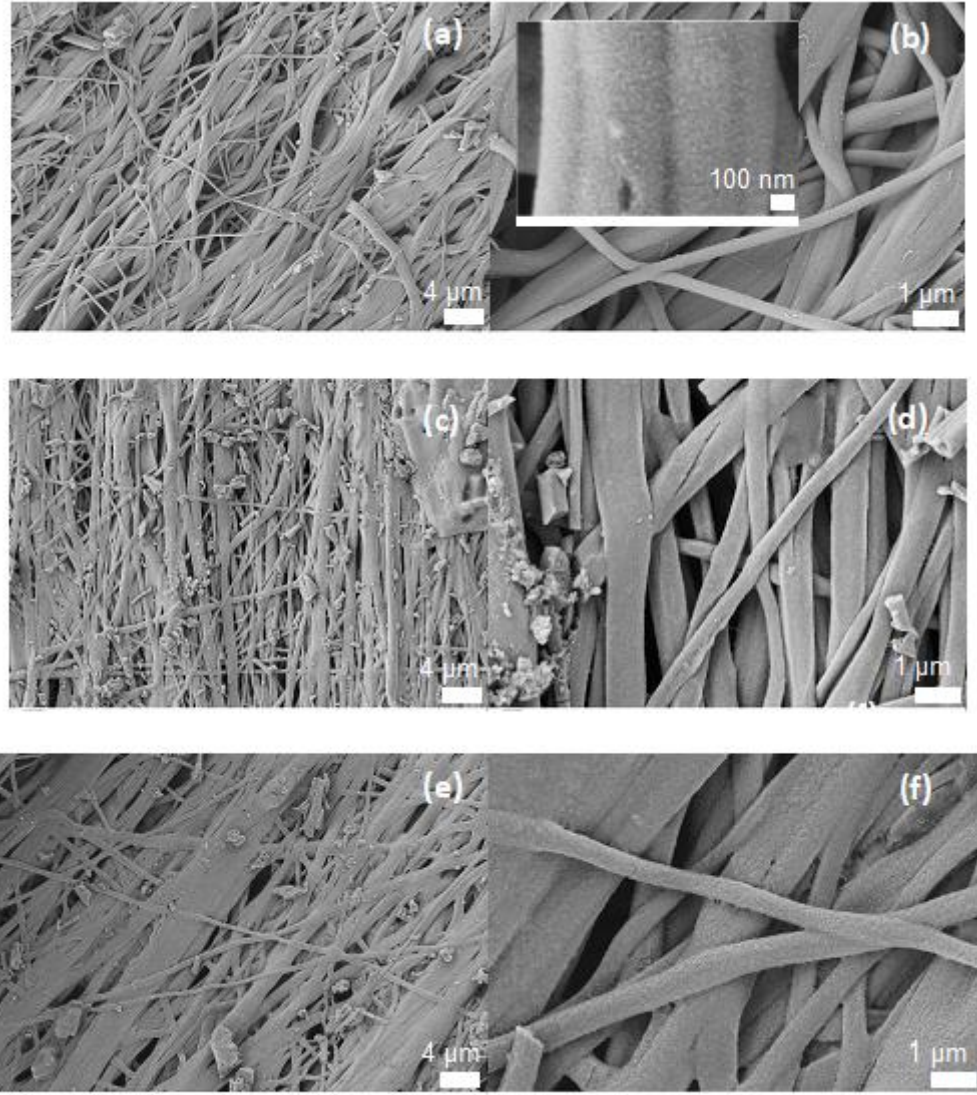
Şekil 4.29. SBF içinde 7 gün beklemiş Er^{3+} içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek: $2\mu\text{m}$) ve yüksek (50000x, ölçek: 400 nm) büyütmelerdeki SEM görüntüleri, (a),(b) 1Er/13-93; (c),(d) 3Er/13-93; (e),(f) 5Er/13-93.



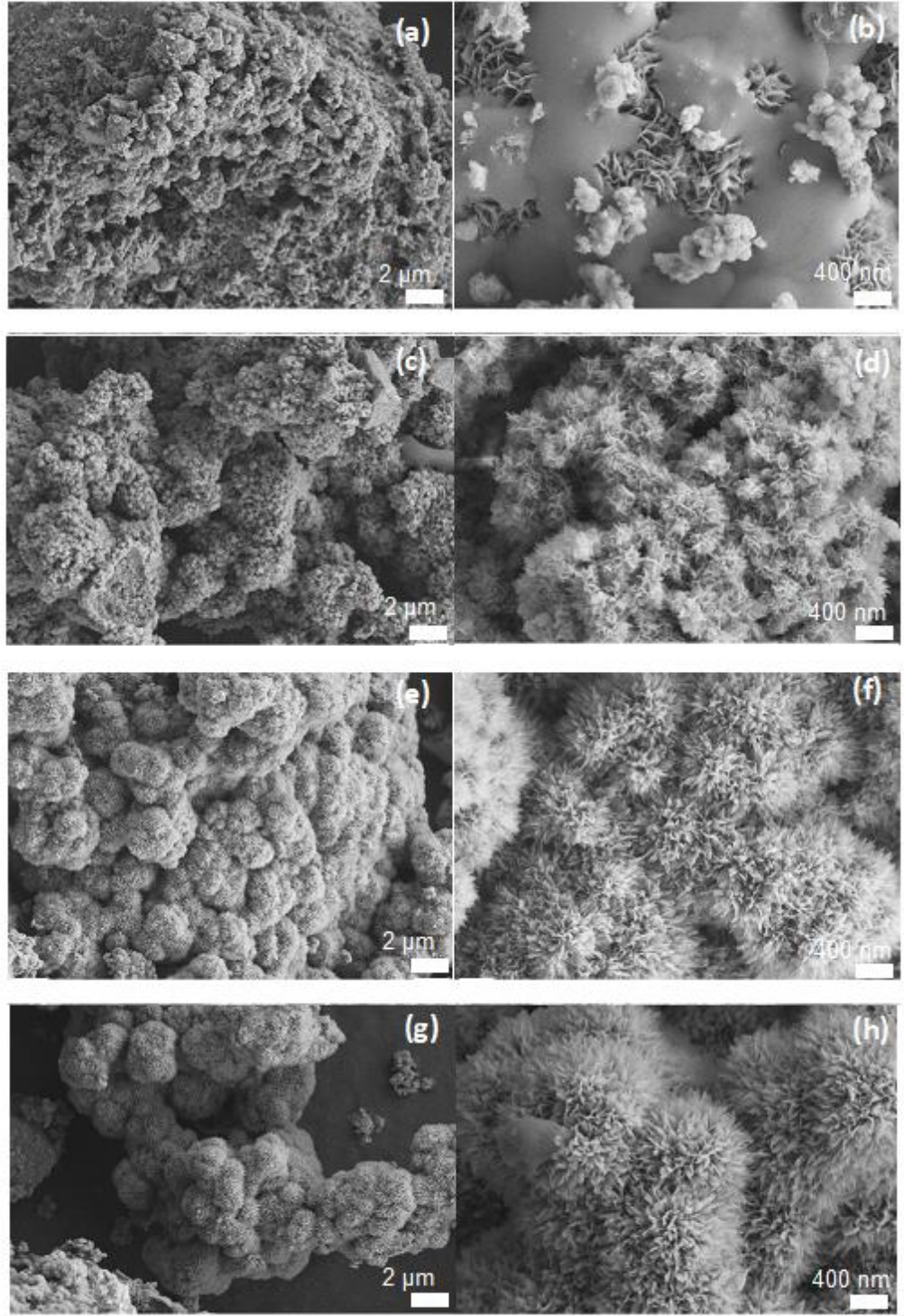
Şekil 4.30. SBF içinde 7 gün beklemiş Er^{3+} içeren 13-93 liflerin (5000x, ölçek:4 μm) ve yüksek (25000x, ölçek:1 μm) büyütmelelerdeki SEM görüntüleri, (a), (b)13-93; (c), (d) 1Er/13-93; (e), (f) 3Er/13-93; (g), (h) 5Er/13-93.



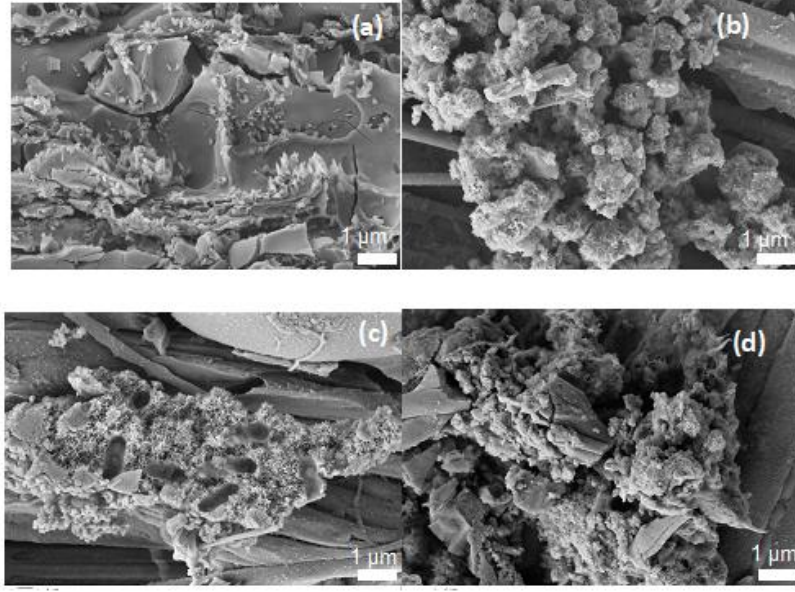
Şekil 4.31. SBF içinde 7 gün beklemiş Tb^{3+} içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek:2 μm) ve yüksek (50000x, ölçek:400 nm) büyütmelerdeki SEM görüntüleri, (a)(b) 13-93; (c)(d) 1Tb/13-93; (e)(f) 3Tb/13-93; (g)(h) 5Tb/13-93.



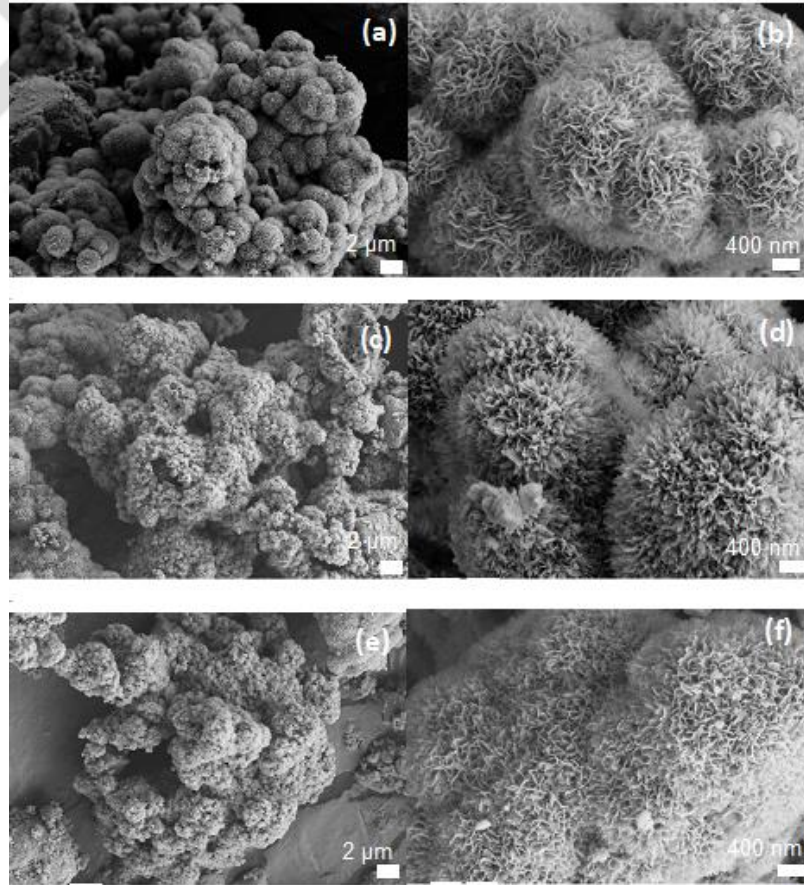
Şekil 4.32. SBF içinde 7 gün beklemiş Tb^{3+} içeren 13-93 liflerin (5000x, ölçek:4 μm),(25000x, ölçek:1 μm) ve (ölçek:100 nm) büyütmelerdeki SEM görüntüleri (a), (b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93, (e),(f) 5Tb/13-93.



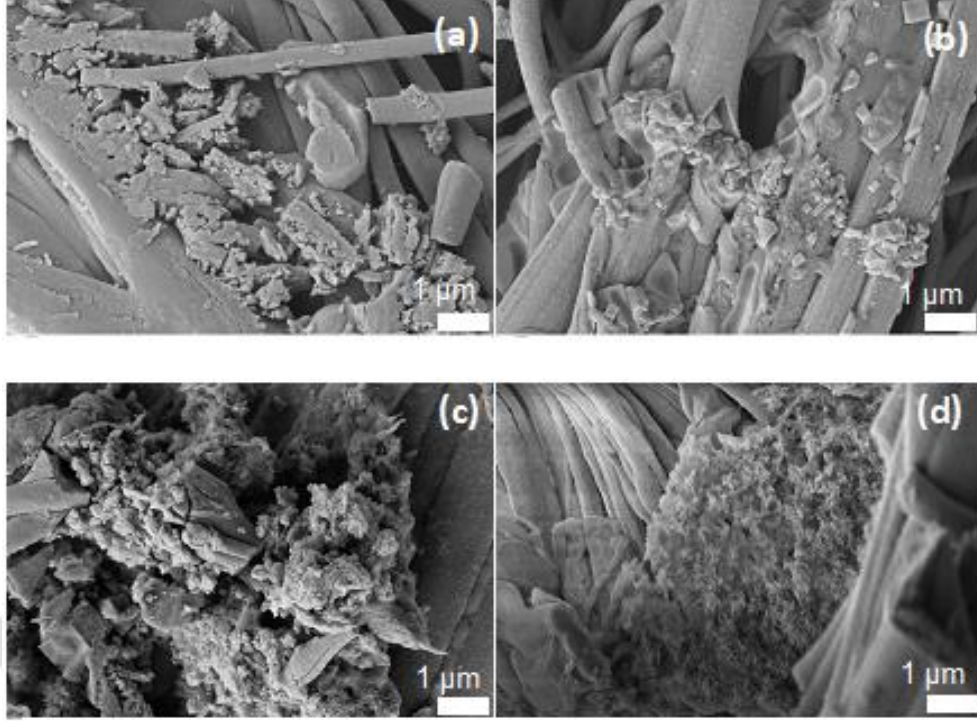
Şekil 4.33. SBF içinde 30 gün beklemiş Er^{3+} içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek:2 μm) ve yüksek (50000x, ölçek:400nm) büyütmelerdeki SEM görüntüleri, (a),(b) 13-93; (c),(d) 1Er/13-93; (e),(f) 3Er/13-93; (g),(h) 5Er/13-93.



Şekil 4.34. SBF içinde 30 gün beklemiş Er^{3+} içeren 13-93 liflerin (ölçek:1 μm) büyütmedeki SEM görüntüleri, (a) 13-93; (b) 1Er/13-93; (c) 3Er/13-93; (d) 5Er/13-93.



Şekil 4.35. SBF içinde 30 gün beklemiş Tb^{3+} içeren 13-93 tozlarının düşük (10000x, ölçek:2 μm) ve yüksek (50000x, ölçek:400 nm) büyütmelerdeki SEM görüntüleri, (a), (b) 1Tb/13-93; (c), (d) 3Tb/13-93; (e), (f) 5Tb/13-93.

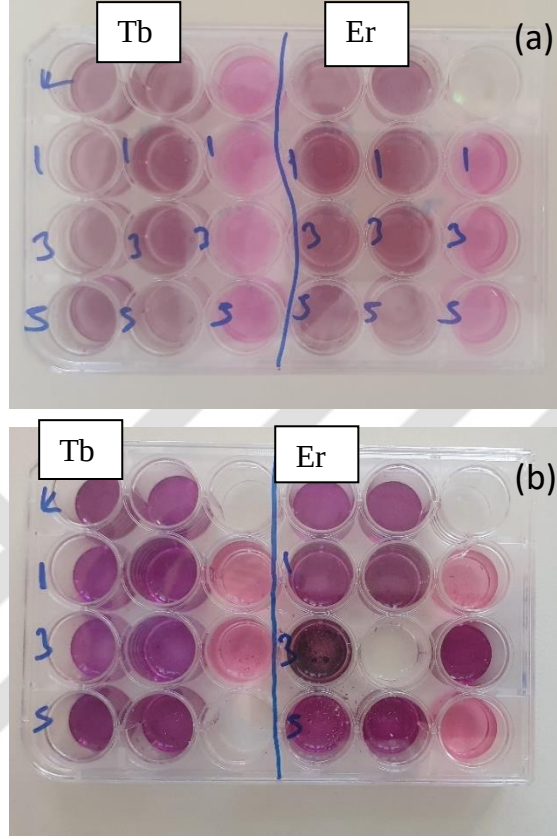


Şekil 4.36. SBF içinde 30 gün beklemiş Tb^{3+} içeren 13-93 liflerin (25.000x, ölçek:1 μm) büyütmedeki SEM görüntüleri, (a) 13-93; (b) 1Tb/13-93; (c) 3Tb/13-93; (d) 5Tb/13-93.

4.5. *In Vitro* Hücre Kültürü Çalışmaları

Proje kapsamında sentezlenen Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam toz ve nanoliflerin sitoksisitesinin belirlenmesi amacı ile MC3T3-E1 pre-osteoblast hücreleri kullanılarak MTT yöntemi ile *in vitro* hücre canlılığı testleri yapılmıştır. MTT testi hücre canlılığı veya metabolik aktiviteyi belirlemek için yaygın olarak uygulanan bir testtir. Metabolik olarak aktif hücrelerin mitokondriyal süksinat dehidrojenaz tarafından suda çözünür sarı bir boyayı[3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] çözünmeyen bir mavi-mor formazana dönüştürme yeteneğine dayandığı için formazan miktarının nicel olarak belirlenmesi, kapsüllerdeki hücre sayısı hakkında tahminler vermektedir [150]. Formazan konsantrasyonu ne kadar büyükse, mor renk o kadar koyu ve dolayısıyla absorbans da o kadar yüksek olmaktadır. Buna göre, Er^{3+} ve Tb^{3+} nanolifler ve tozlar ile hazırlanan doku iskeleleri kullanılarak yapılan MTT testi sırasında koyu mor renk oluşumunun nanolifler içeren

örneklerde daha yoğun olduğu gözlenmiş (Şekil 4.37), bu durumda *in vitro* hücre canlılığının nanolif yapıları örneklerde daha fazla olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4.37. Proje kapsamında sentezlenen Er^{+3} ve Tb^{+3} ilaveli 13-93 biyoaktif cam (a) tozları ve (b) liflerinden hazırlanan skafoldlarla *in vitro* hücre canlılığını belirlemek amacıyla yapılan MTT test sırasında formazan oluşumunu gösteren fotoğraflar.

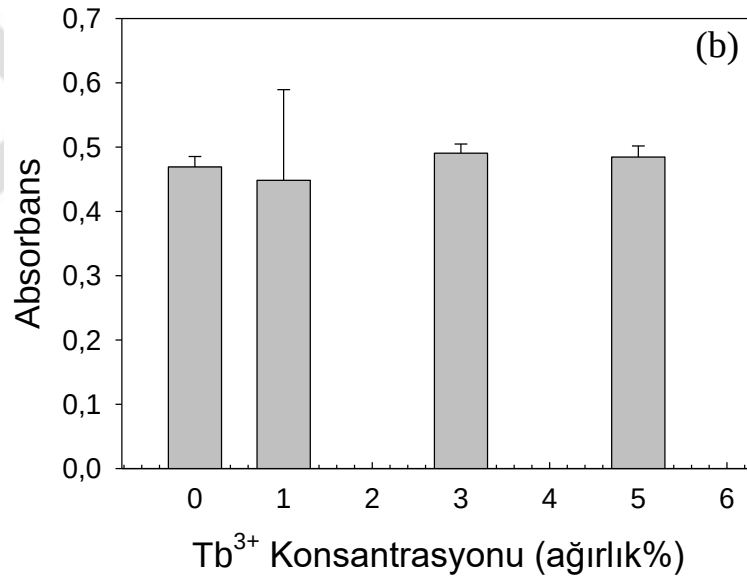
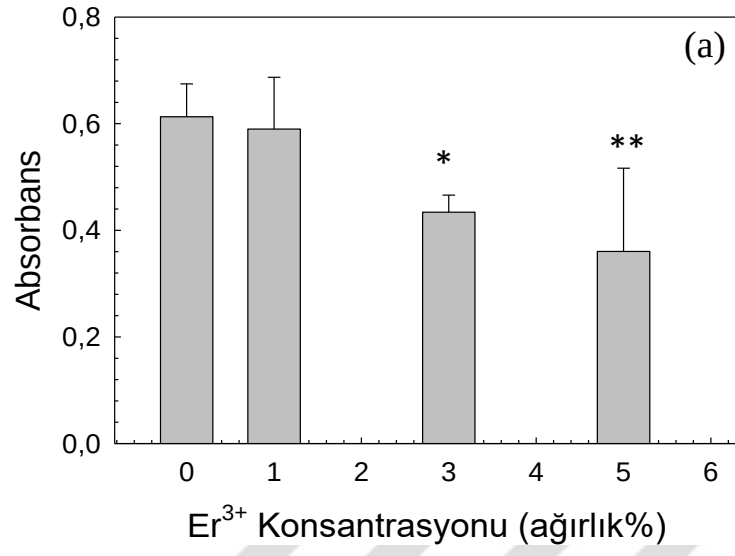
Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren sol-jel biyoaktif cam tozları ve elektroegirme ile hazırlanan nanolifler kullanılarak yapılan disk şeklindeki doku iskelelerinin MC3T3-E1 hücre hattı ile MTT test sonuçlarını gösteren grafikler sırasıyla Şekil 4.38 ve Şekil 4.39’da verilmektedir. Buna göre biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan örneklerde artan Er^{3+} konsantrasyonu ile birlikte hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir. %3 Er^{3+} ve %5 Er^{3+} içeren örnekler MC3T3-E1 hücreleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır ($p=0.054$ ve $p=0.009$) (Şekil 4.38 (a)). %1 Er^{3+} içeren örneklerde ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olmadığı

anlaşılmaktadır ($p=0.976$). Diğer yandan Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozu peletlerinde Tb 'nin herhangi bir sitotoksik etki göstermediği görülmektedir (Şekil 4.38 (b)). %3 ve %5 Tb^{3+} konsantrasyonuna sahip toz formdaki biyoaktif camlar ve %5 terbiyum konsantrasyonuna sahip lif formdaki biyoaktif camlar ile kontrol grubu olan katkısız biyoaktif cam kıyaslandığında artan terbiyum konsantrasyonu ile hücre canlılığının da arttığı gözlenmektedir (sırasıyla; $p=0.956$, $p=0.954$, $p=0.998$, $p=0.981$).

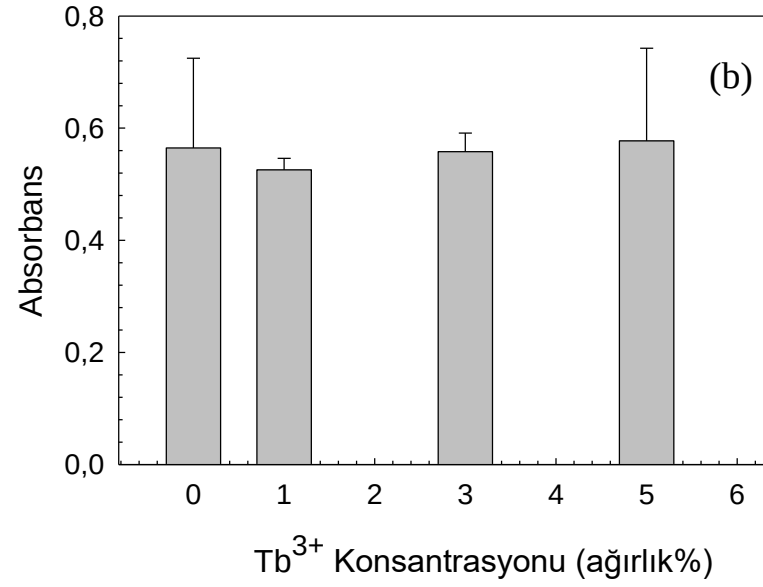
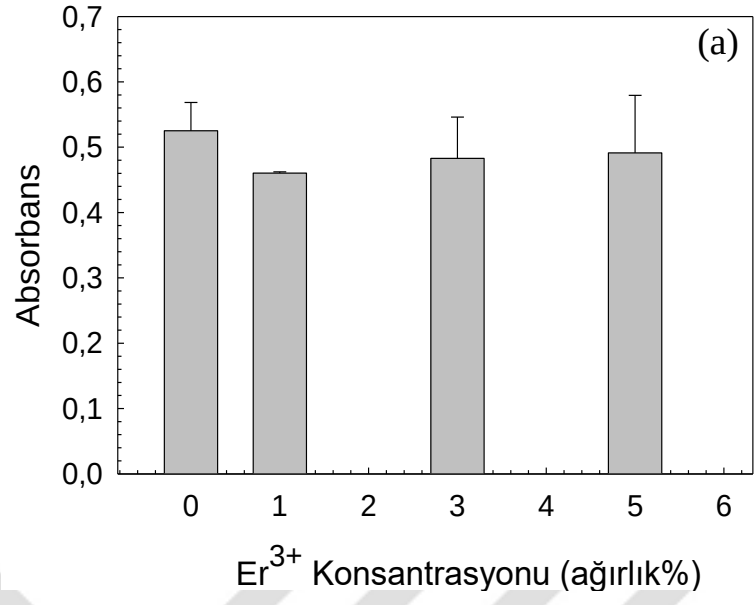
Farklı araştırma gruplarınca yapılan çalışmalar, belirli miktarda terbiyum içeren HA nanopartiküllerinin *in vitro* olarak MC3T3-E1 (doz, 25–100 g/ mL) ve A549 (doz, 20–320 g/ml) hücre hatlarında sitotoksik etkisinin olmadığını ayrıca *in vivo* testlerde organlara zarar vermediğini göstermiştir [115]. Malzemedeki toplam Tb^{3+} iyonlarının sayısı orta düzeyde hatta ilave edilen en yüksek konsantrasyonda olsa bile, terbiyumun neredeyse toksik olmadığına dikkat edilmelidir, çünkü ölümcül dozu oral yoldan 50 g'dır (LD_{50PO}) [9].

Diğer yandan Er^{3+} ya da Tb^{3+} içeren biyoaktif cam nanolif peletler ile yapılan MTT test sonuçlarına göre, kontrol grubu örneklerle (13-93) karşılaştırıldığında Er^{3+} ($p>0.05$) ya da Tb^{3+} ($p>0.05$) ilavesinin (tüm katkı konsantrasyonlarında) 72 saat sonunda hücre canlılığında anlamlı bir düşüşe neden olmadığı görülmektedir (Şekil 4.39). Bu durumun biyoaktif cam nanolifler kullanılarak hazırlanan örneklerin yüzey pürüzlülüğündeki artışa bağlı olarak hücre tutunması arttırması ve bu durumun da hücre canlılığı üzerinde olumlu etki yapması şeklinde değerlendirilebilir.

Huang ve ark. yaptıkları çalışmada MTT testi sonuçları, terbiyum katkılı biyoaktif cam lifi ile katkısız biyoaktif cam lifi kıyaslandığında terbiyum ilavesinin biyoaktiviteyi düşürmediğini göstermiştir. Biyoaktif cam liflerinden oluşan diskler toz formundan elde edilen diskler ile kıyaslandığında, MTT test sırasında formazan oluşumunda belirgin mor renk oluşturmalarına rağmen *in vitro* biyoaktivitede eşdeğer oldukları görülmektedir. Biyoaktif cam liflerinin sahip olduğu hiyerarşik gözenekli morfolojileri, onları biyomimetik yapılar kategorisine yerleştirdiği için biyoaktif cam lifleri daha çok osteogenez için kullanılmaktadır. Ayrıca, biyomimetik özelliklerinden dolayı, yumuşak doku onarımı ve anjiyogenez için kullanımları olduğu bilinmektedir [151].



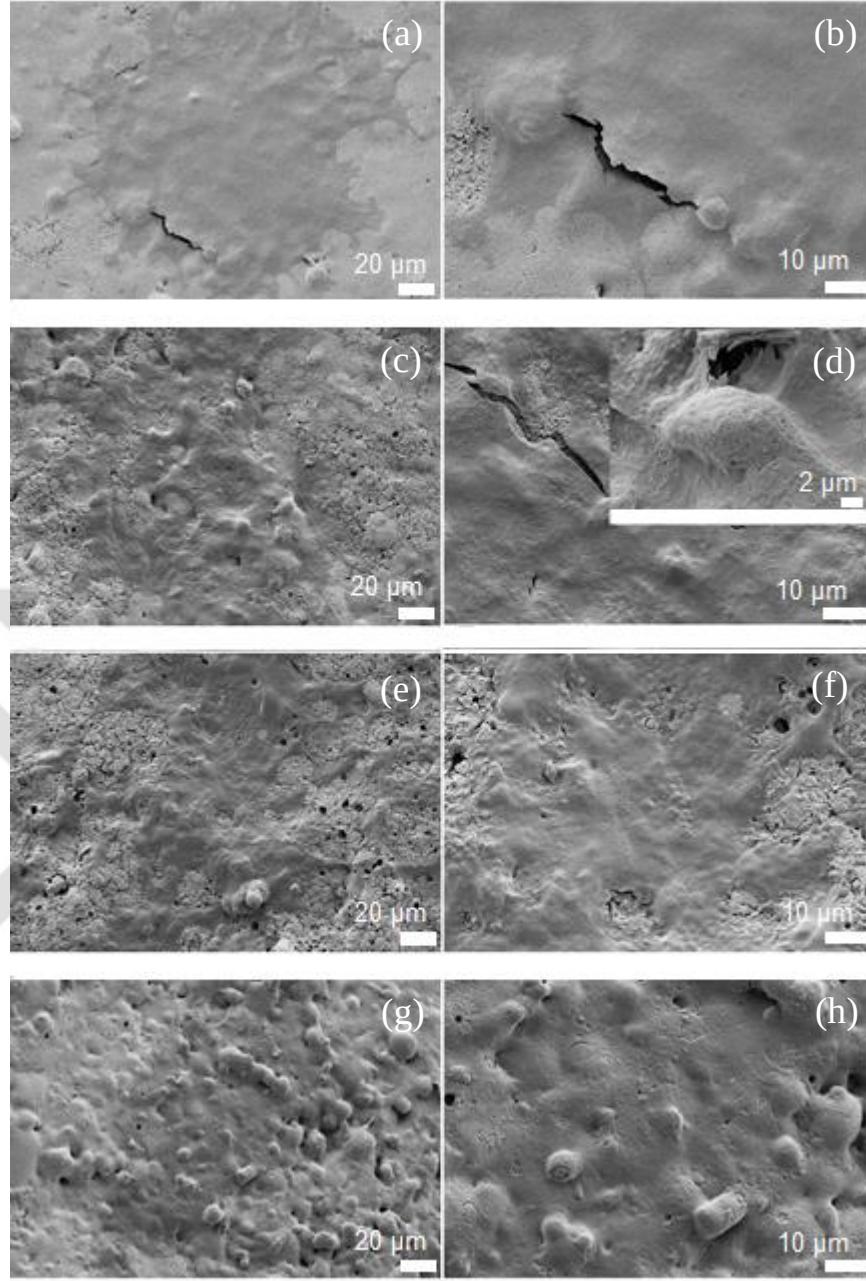
Şekil 4.38. MC3T3-E1 hücreleri ile yapılan MTT test sonuçlarını gösteren grafikler (a) Er³⁺ içeren (b) Tb³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam tozlarından hazırlanan örnekler.



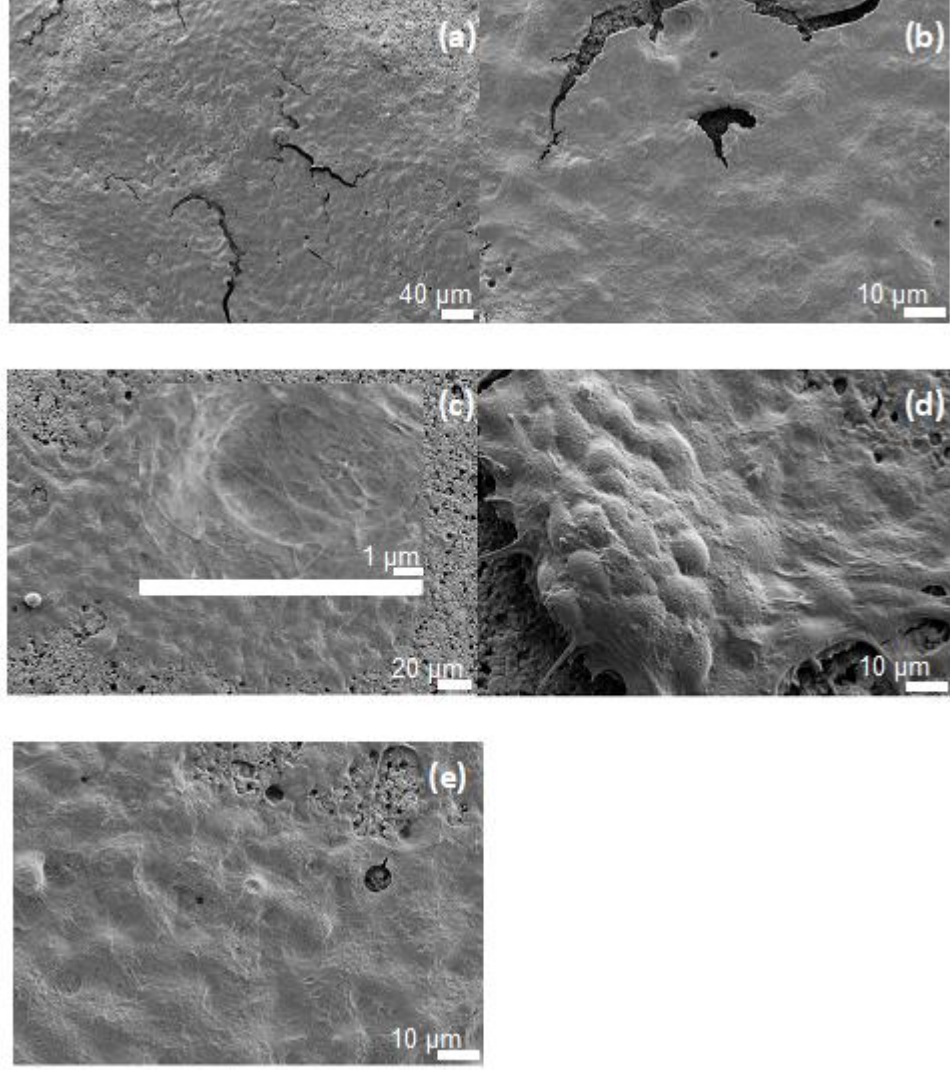
Şekil 4.39. MC3T3-E1 hücreleri ile yapılan MTT test sonuçlarını gösteren grafikler (a) Er³⁺ içeren (b) Tb³⁺ içeren, elektroeğirilmiş 13-93 biyoaktif cam nanoliflerinden hazırlanan örnekler.

Çalışmada, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam toz ve nanolifler kullanılarak hazırlanan doku iskeleleri yüzeylerine MC3T3-E1 hücre tutunması SEM ile incelenmiştir. Şekil 4.40 ve Şekil 4.42 arasında verilen SEM görüntülerine göre, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam toz ve nanolif bazlı tüm örneklerin yüzeyinde 72 saatlik hücre kültürü sonrasında hücre tutunması ve yayılmasının gerçekleştiği görülmektedir. Hücrelerin biyoaktif cam tozları ve nanofiberler kullanılarak hazırlanan disk şeklindeki tüm doku iskeleleri üzerinde tutunabildiği ve yayılabildiği anlaşılmıştır. Hücreler, 13-93 biyoaktif cam toz ve lif formlarının yüzeyinde yalancı ayaklar (psödopodlar) vasıtasıyla tamamen yayılma gösterebilmiştir.

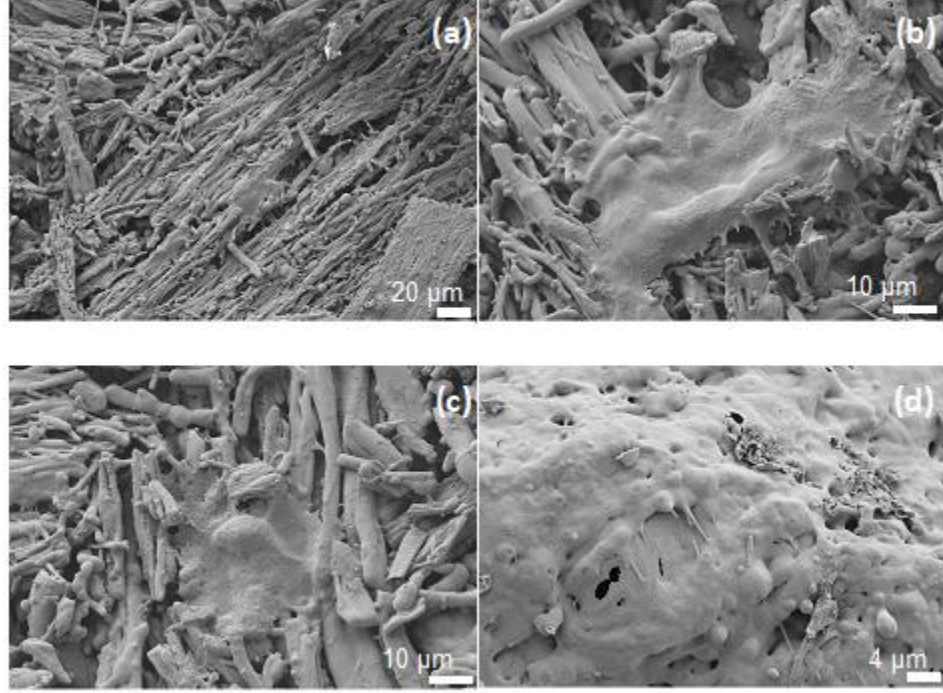
Fu ve ark [152] yaptıkları çalışmada, biyoaktif cam doku iskeleleri üzerinde kültürlenmiş MLO-A5 hücreleri için canlı hücre/ölü hücre deneylerinin sonuçlarına göre silika bazlı 13-93 ve borat bazlı 13-93B1 yapı iskelelerinin, yüzeylerinde hücre çoğalmasında desteklemede borat bazlı 13-93B3'ten çok daha iyi olduğunu ve 6 günlük inkübasyon sırasında hücre proliferasyonunda neredeyse lineer bir artış olduğunu göstermişlerdir. Hücrelerde çoğalma, yapışma ve yayılma gibi hücre davranışları hücre – doku iskelesi etkileşiminin bir göstergesidir ve doku iskelesinin biyouyumluluğu ile doğrudan ilişkilidir. Hücreler yayıldığında hücre – doku iskelesi etkileşiminin kuvvetli olduğu anlamına gelmektedir. Bu açıdan incelendiğinde doku iskelelerinin sertliği, hidrofilikliği, porozitesi, por boyutu ve pürüzlülüğü gibi özellikler hücrelerin çoğalmasında ve gelişmesini etkilemektedir [153].



Şekil 4.40. Hücre kültürü deneyleri sonunda (72 saat) Er^{3+} içeren biyoaktif cam tozları ile hazırlanan doku iskeleleri üzerindeki hücre morfolojilerini gösteren (1000x, ölçek:20 μm), (2500x, ölçek:10 μm) ve (10000x, ölçek:2 μm) büyütmelerdeki SEM mikrografları (a),(b) 13-93; (c),(d) 1Er/13-93; (e),(f) 3Er/13-93; (g),(h) 5Er/13-93.

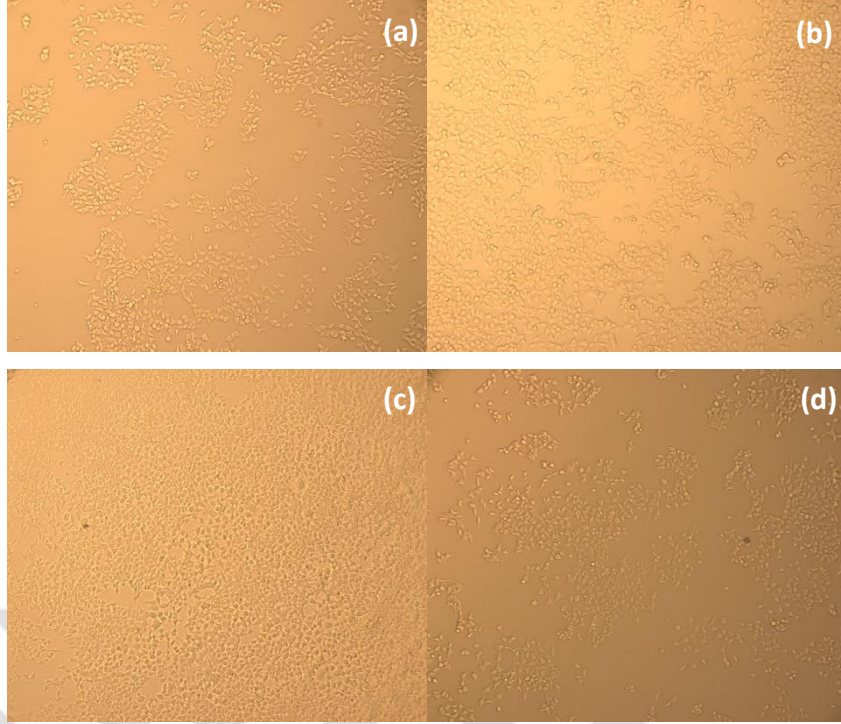


Şekil 4.41. Hücre kültürü deneyleri sonunda (72 saat) Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları ile hazırlanan doku iskeleleri üzerindeki hücre morfolojilerini gösteren (1000x, ölçek:20 µm),(2500x, ölçek:10 µm) ve (30000x, ölçek:1 µm) büyütmelerdeki SEM mikrografları (a),(b) 1Tb/13-93; (c),(d) 3Tb/13-93; (e) 5Tb/13-93

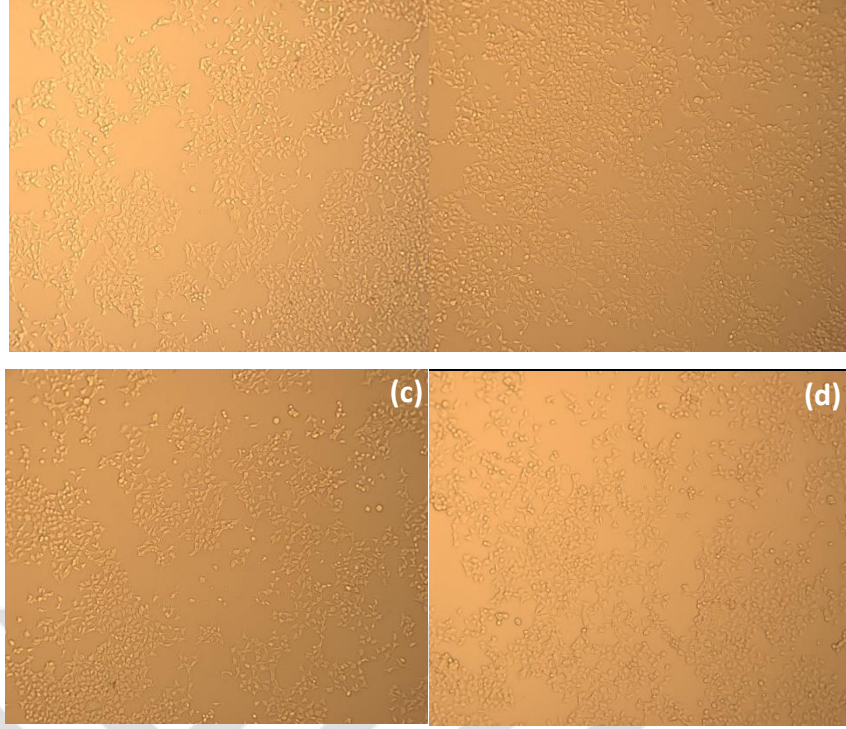


Şekil 4.42. Hücre kültürü deneyleri sonunda (72 saat) Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam nanolifler ile hazırlanan örnekler üzerindeki hücre morfolojilerini gösteren (2500x, ölçek:10 µm) ve yüksek (5000x, ölçek:4 µm) büyütmelerdeki SEM mikrografları (a),(b) 5Er/13-93; (c),(d) 5Tb/13-93.

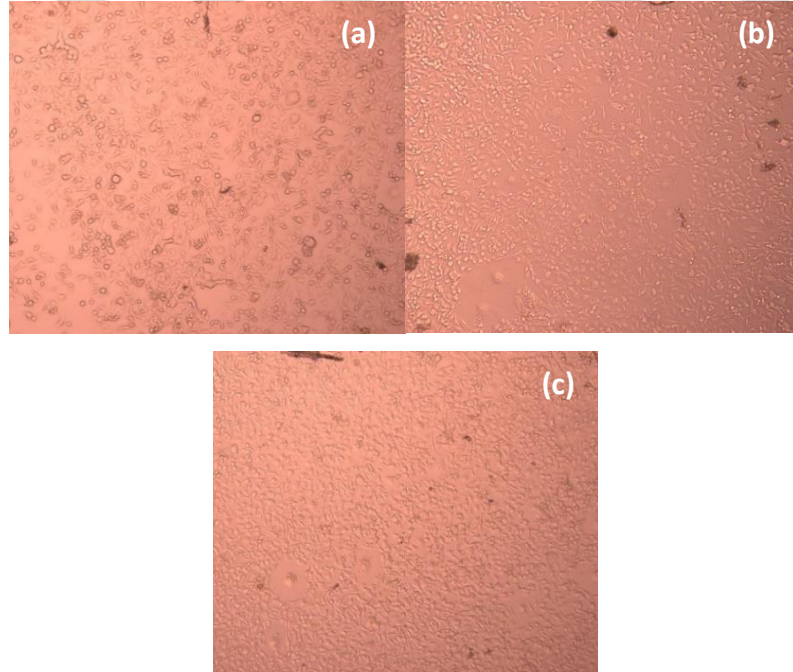
Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları ve nanolifleri ile üretilen disk şeklindeki 13-93 biyoaktif cam skafoldlar üzerine ekilen MC3T3-E1 hücrelerinin 3 günlük kültür sonrası optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.43- Şekil 4.46 arasında sunulmaktadır. Buna göre nadir toprak elementi içeren 13-93 biyoaktif camların bulunduğu ortamlarda hücre canlılığında bir azalma görülmemiştir. Kontrol grubu örnekler ile karşılaştırıldığında proje kapsamında hazırlanan tüm Er^{3+} ve Tb^{3+} katkılı örneklerin bulunduğu kültür ortamında hücrelerin canlılığını koruduğu hatta örneklerin çoğunda kontrol grubuna kıyasla daha fazla sayıda hücrenin bulunduğu görülmüştür. Optik mikroskop görüntüleri, Er^{3+} ve Tb^{3+} katkısının 13-93 biyoaktif cam örnekler üzerinde sitotoksik etkiye neden olmadığını göstermektedir.



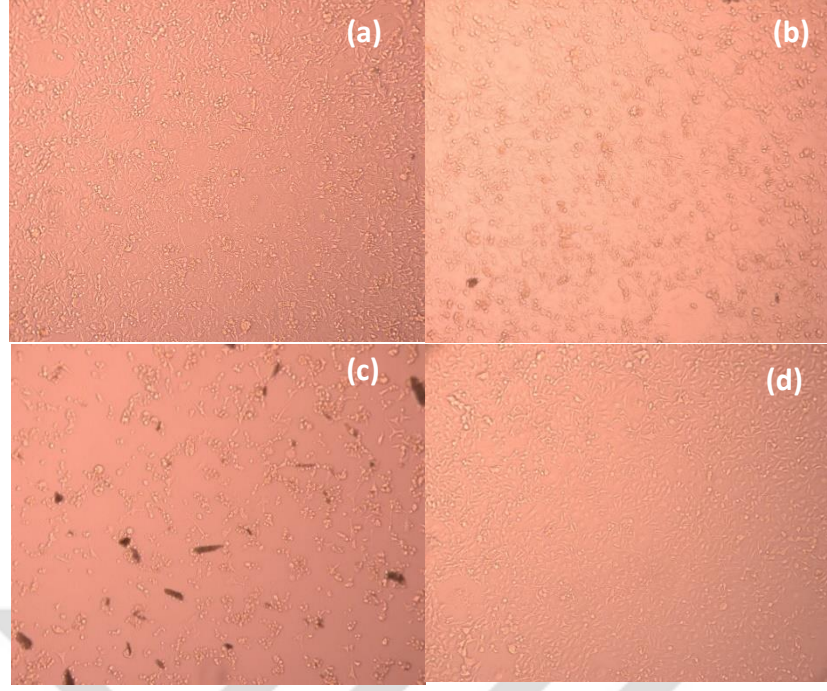
Şekil 4.43. Er^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saat kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri; (a) 13-93, (b) 1Er/13-93, (c) 3Er/13-93, (d) 5Er/13-93 (büyütme x100).



Şekil 4.44. Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saatlik kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri; (a) 13-93, (b) 1Tb/13-93, (c) 3Tb/13-93, (d) 5Tb/13-93 (büyütme x100).



Şekil 4.45. Er^{3+} içeren biyoaktif cam nanolifleri kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saatlik kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri; (a)1Er/13-93, (b) 3Er/13-93, (c) 5Er/13-93 (büyütme x100).



Şekil 4.46. Tb^{3+} içeren biyoaktif cam nanolifleri kullanılarak üretilen 13-93 biyoaktif cam skafoldlar varlığında yapılan 72 saatlik kültür sonrası MC3T3-E1 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri. (a) 13-93, (b) 1Tb/13-93, (c) 3Tb/13-93, (d) 5Tb/13-93 (büyütme x100).

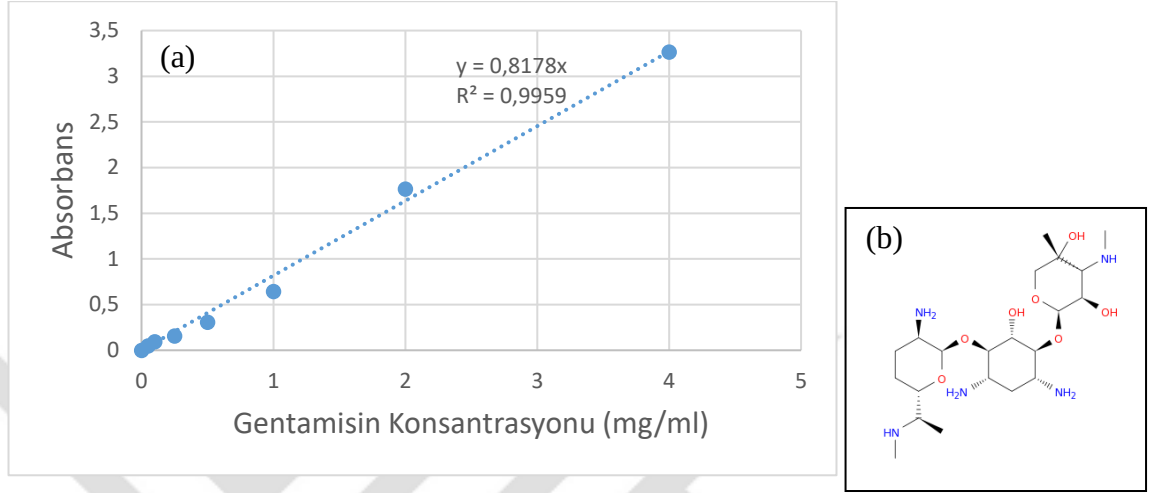
4.6. İlaç Salım Deneyleri

4.6.1. Gentamisin Sülfat Salımı

Genel olarak lokal ilaç salım özelliklerine sahip olan biyoaktif camlar, implantasyondan sonra enfeksiyonlardan kaçınmak gibi terapötik amaçlarla kemik rejenerasyonunda kullanılmaktadır [154]. Çalışmada, Er^{3+} ya da Tb^{3+} katkılı ve katkısız 13-93 biyoaktif cam tozları ve liflerinden hazırlanmış doku iskelelerine ilaç yükleme ve salım davranışını araştırmak için model ilaç olarak gentamisin kullanılmıştır.

Proje kapsamında hazırlanan Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren 13-93 biyoaktif cam tozları ve nanolifler ile hazırlanan disk şeklindeki skafoldlar üzerine yüklenen gentamisin sülfat salımını incelemek için hazırlanan kalibrasyon grafiği Şekil 4.47’de verilmektedir. 0,2 g biyoaktif cam skafoldlar üzerine yüklenen 4 mg/ml gentamisinin salım davranışı PBS içinde zamana bağlı olarak incelenmiştir. Bu amaçla, farklı zaman

aralıklarında içinde bulundukları ortam PBS'inden 2 ml alınarak UV-Vis spektrofotometrede 256 nm'de absorbans değerleri ölçülmüş ardından kalibrasyon eğrisinden PBS içindeki gentamisin sülfat konsantrasyonu değeri elde edilmiştir. Sonuçlar kümülatif ilaç salım yüzdesi olarak grafiklenmiştir.



Şekil 4.47. (a) PBS içinde gentamisin sülfatın kalibrasyon eğrisini gösteren grafik (256 nm'de), (b) gentamisin sülfatın kimyasal yapısını gösteren şematik.

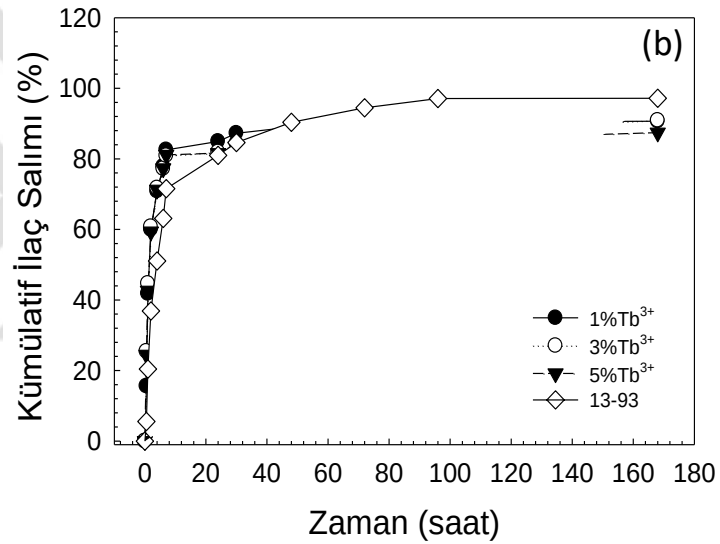
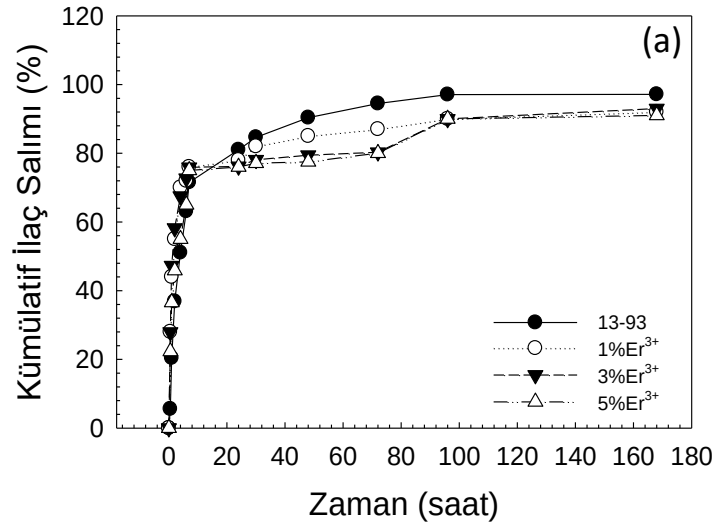
Buna göre, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan skafoldlardan gentamisin sülfat salım miktarları Şekil 4.48'de gösterilmektedir. Kontrol grubu örneklerden 24 saat sonunda salım miktarı %81 olarak ölçülürken 5Er içeren örnekte bu değer %76 olarak elde edilmiştir. Diğer yandan 5Tb içeren örnekte aynı sürede salım miktarı %81.62 olarak bulunmuştur. 168 saat sonunda ise katkısız, 5Er ve 5Tb içeren örneklerdeki salım değerleri sırasıyla %97, %91 ve %87 olarak elde edilmiştir.

Gentamisin sülfat ilaç molekülü, gözenekli doku iskelesinin yüzeyinde ve içerisindeki gözeneklerde bulunan Si-OH ve P-OH gruplarıyla hidrojen bağları oluşturabilen F, N ve OH gibi yüksek düzeyde elektronegatif atomlar/gruplar içermektedir. Mezogözenekli kanalların içindeki bu gentamisin molekülleri, yavaş salım için kontrol edilebilmektedir [168].

Zhu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada mezogözenekli biyoaktif cam iskeleleri (MGB) ile biyoaktif cam (BG) iskelelerinin *in vitro* biyoaktivite ve ilaç salım özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre her iki tip iskelede bir ilk

patlama salımı ve ardından nispeten daha yavaş olan bir salım davranışı göstermektedir. Sonuçlara göre, 0.5 g MBG iskelesine yüklenen 10 mg/ml gentamisin miktarının yaklaşık %52'si ilk patlama salınımı ile ilk 12 saatte PBS içerisine salınmaktadır. Salım hızının, artan zamanla birlikte önemli ölçüde azaldığı ve kümülatif salımın 7 gün boyunca maksimum %66 değerine ulaştığı bildirilmektedir. Öte yandan, BG iskelesine yüklenen gentamisinin yaklaşık %73'ü ilk 12 saatte salınırken, 7 günün sonunda salınan gentamisin miktarının %96'ya ulaştığı gözlenmiştir [155].

Xie ve ark. tarafından yapılan çalışmada, tüm gram-negatif organizmalara ve gram-pozitif organizmaların çoğuna, özellikle enterobakterilere karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olan gentamisin, antibiyotik olarak seçilmiş ve bor bazlı biyoaktif cam peletlere yüklenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre peletlerdeki gentamisin miktarının artması, antibiyotik salınımının kümülatif yüzdelerinin belirgin şekilde artmasına ve ayrıca PBS içerisindeki ilaç salınım patlama etkisinin daha yoğun görülmesine sebep olmaktadır. Bunun nedeni olarak, ilaç salım mekanizmasının difüzyon ve matriks bozunması ile aynı anda kontrol edilmesi olabileceği açıklanmaktadır. Sonuçlar, gentamisin yüklü biyoaktif cam peletlerinin önce yüklenen gentamisin salımı yaparak *in vivo* enfeksiyonu iyileştirdiğini ve ardından da borat camının bozunmasıyla desteklenen yeni kemik oluşumuyla kemik defektini onardığını göstermektedir [156].



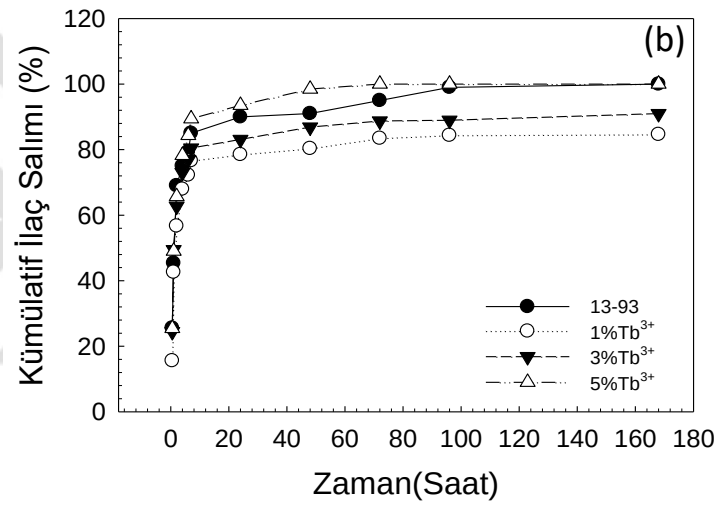
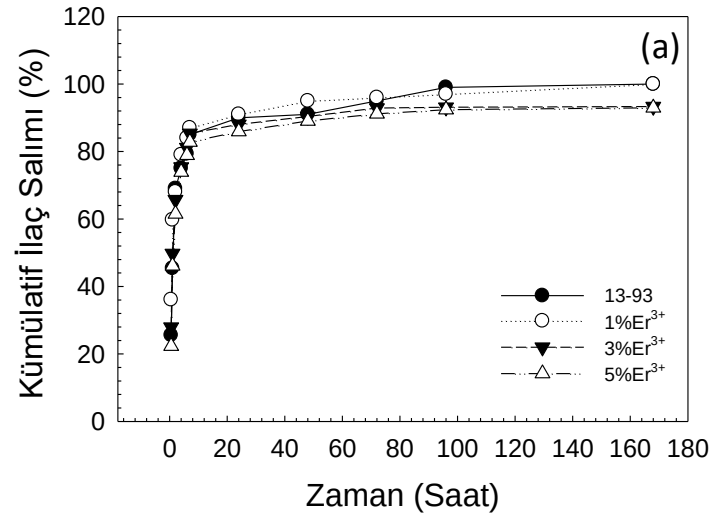
Şekil 4.48. (a) Er^{3+} ve (b) Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine gentamisin sülfat salım yüzdelерini gösteren grafikler (Absorbans: 256 nm).

Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam nanoliflerden hazırlanan doku iskelelerinden ilaç salım yüzdeleri Şekil 4.49'da verilmektedir. Kontrol grubu örneklerden 24 saat sonunda PBS ortamına geçen gentamisin miktarı %90 iken, 5Er ve 5Tb içeren nanolif bazlı örneklerde aynı süre sonunda ilaç salımı sırasıyla %85 ve %89 olarak bulunmuştur. Diğer yandan 168 saat sonunda aynı örnekler için ilaç salım miktarları %100, %92 ve %100 olarak elde edilmiştir. Sonuçlar nanoliflerden hazırlanan örneklerin daha hızlı ilaç salımı yaptığını göstermektedir. Pisani ve ark. elektroçirilmiş polilaktik asit-polikaprolakton nanolif matrislerden gentamisin

sülfatın salım profilini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada gentamisin sülfatın ilk 8 saat içerisinde ilaç patlama salınımı gösterdiğini bildirmişlerdir [157].

İlaç yükleme verimliliği; gözenek boyutu, gözenek hacmi, yüzey alanı ve ilaç-cam etkileşimi gibi farklı parametreden etkilenmektedir [158]. Gözenek boyutu, ilaç moleküllerinin gözenek ağına dahil edilmesine izin verecek kadar yüksek olmalıdır. %55-65 gözeneklilik oranına sahip nanolif bazlı doku iskeleleri, %15-25 aralığında gözenekliliği sahip cam tozu bazlı skafoldlar ile karşılaştırıldığında ilk 24 saatlik patlama salımında daha fazla gentamisin nanolif bazlı doku iskelelerinden PBS içerisine geçtiği anlaşılmaktadır. Gentamisin moleküllerinin nanolif bazlı doku iskelelerinden salım miktarının fazla olması, moleküllerin gözeneklerde ve yüzeyinde bulunan Si-OH gruplarıyla hidrojen bağlarının kurulamaması ve nanolif biyoaktif camlardan hazırlanan peletlerin gentamisini gözenek kanallarına adsorbe edememesi ile açıklanabilir [159].

İlacın salım kinetiği, ilaç moleküllerinin skafold yüzeyinden desorpsiyon hız sabitlerini belirlemek için genellikle zamanın bir fonksiyonu olarak incelenmektedir. Genel olarak biyoaktif camlarda gentamisin salım profilleri, belirgin bir ilk patlama salım etkisi ve ardından yavaş salım davranışı sergilemektedir. İlk patlama, yüzey üzerinde ve düzensiz gözenek yakınında bulunan ilacın belli bir bölümünün hemen çözünmesine ve salınmasına atfedilmektedir [155]. Bu çalışmada kullanılan gentamisin sülfatın silika bazlı biyoaktif cam iskelelerinden *in vitro* salımının Higuchi salım kinetiğini izlediğini göstermektedir. Çalışılan çeşitli salım kinetik modellerine ait parametreler Tablo 4.6 ve Tablo 4.7’de gösterilmektedir [155].



Şekil 4.49. (a) Er^{3+} ve (b) Tb^{3+} içeren, elektroegirme ile üretilen biyoaktif cam naolifler kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine gentamisin sülfat salım yüzdelerini gösteren grafikler (Absorbans: 256 nm).

Tablo 4.6. Gentamisin sülfat yüklü, Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam partikül bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri.

	A=K ₀ .t		logAR=K ₁ .t/2.303		A=k.t ^{0.5}	
Örnekler	Sıfır Derece		Birinci Derece		Higuchi modeli	
	R ²	K	R ²	K	R ²	K
13-93	0,9456	9,7937	0,9848	0,1691	0,9732	0,0341
1Er/13-93	0,7586	8,6909	0,9247	0,155	0,9401	0,0338
3Er/13-93	0,7284	8,4706	0,921	0,1482	0,9211	0,0336
5Er/13-93	0,8557	8,5827	0,9619	0,1502	0,9769	0,037
1Tb/13-93	0,804	10,317	0,94	0,2144	0,9432	0,0294
3Tb/13-93	0,7724	9,4981	0,9396	0,1899	0,9438	0,0313
5Tb/13-93	0,7938	9,6788	0,9516	0,196	0,9546	0,0313

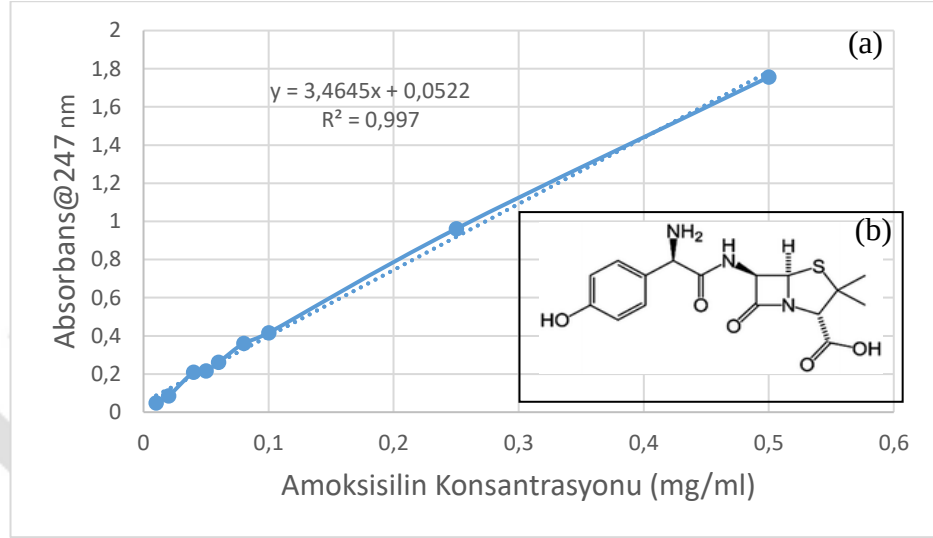
Tablo 4.7. Gentamisin sülfat yüklü, Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam lif bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri.

	A=K ₀ .t		logAR=K ₁ .t/2.303		A=k.t ^{0.5}	
Örnekler	Sıfır Derece		Birinci Derece		Higuchi modeli	
	R ²	K	R ²	K	R ²	K
13-93	0,7428	9,8741	0,895	0,2397	0,9206	31,61
1Er/13-93	0,62	9,1094	0,8062	0,2452	0,845	30,58
3Er/13-93	0,7488	9,7934	0,9228	0,2451	0,9304	31,392
5Er/13-93	0,7755	9,9162	0,9251	0,2312	0,9402	31,397
1Tb/13-93	0,7745	9,3863	0,8997	0,1906	0,9287	29,558
3Tb/13-93	0,7301	9,2829	0,8845	0,2086	0,9157	29,894
5Tb/13-93	0,7828	10,595	0,956	0,2914	0,9463	33,497

4.6.2. Amoksisilin Trihidrat Salımı

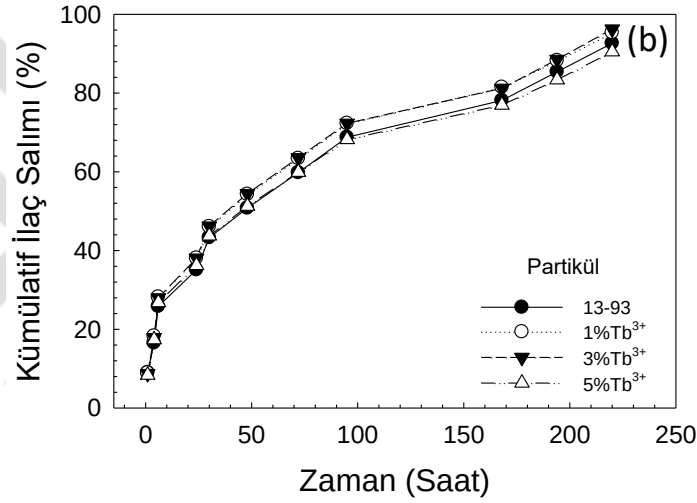
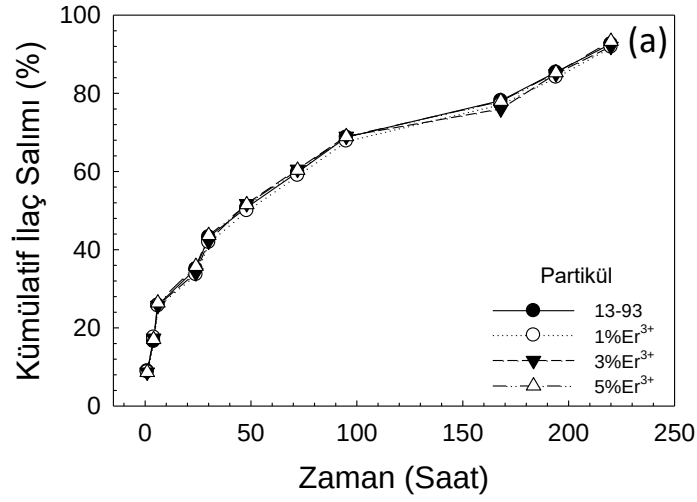
Proje kapsamında sentezlenen 13-93 biyoaktif cam tozları ve nanoliflerden hazırlanan disk şeklindeki doku iskelelerinden ilaç salım çalışmalarında 2. ilaç modeli olarak penisilin esaslı bir antibiyotik olan amoksisilin trihidrat kullanılmıştır. Şekil 4.50’de, proje kapsamında 247nm’de absorbans ölçümü alınarak hazırlanan

amoksisilin trihidrata ait kalibrasyon grafiği görülmektedir. İlaç salım deneylerinde gentamisin salımında kullanılan yöntemin aynısı takip edilmiştir. Ancak başlangıç amoksisilin trihidrat y klemeşi, gentamisin miktarından düşük 1 mg/ml olarak yapılmıştır.



şekil 4.50. (a) PBS içinde amoksisilin trihidrat kalibrasyon eğrisini gösteren grafik (247 nm’de), (b) amoksisilin trihidrat kimyasal yapışını gösteren şematik.

Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden amoksisilin trihidrat salım miktarları şekil 4.51’de gösterilmektedir. Buna göre Er^{3+} içeren tüm örneklerde ilk 24 saat sonunda ilacın yaklaşık 35%’lik kısmı PBS içine geçmiştir. Kontrol grubu örneklerden 24 saat sonunda salım miktarı %38 olarak ölçülürken 5 Er^{3+} içeren örnekte bu değer %34 olarak elde edilmiştir. Diğer yandan 5 Tb^{3+} içeren örnekte aynı sürede salım miktarı %33 olarak bulunmuştur. 168 saat sonunda ise katkısız, 5 Er^{3+} ve 5 Tb^{3+} içeren örneklerdeki salım değerleri sırasıyla %81, %77.9 ve %77.2 olarak elde edilmiştir.

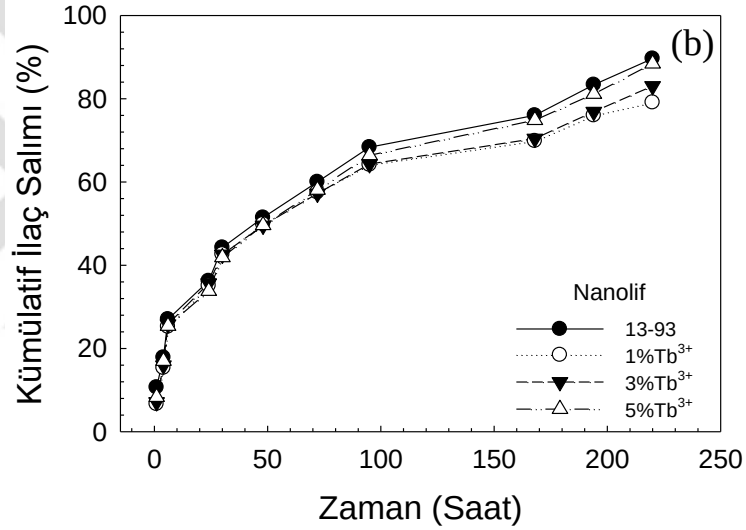
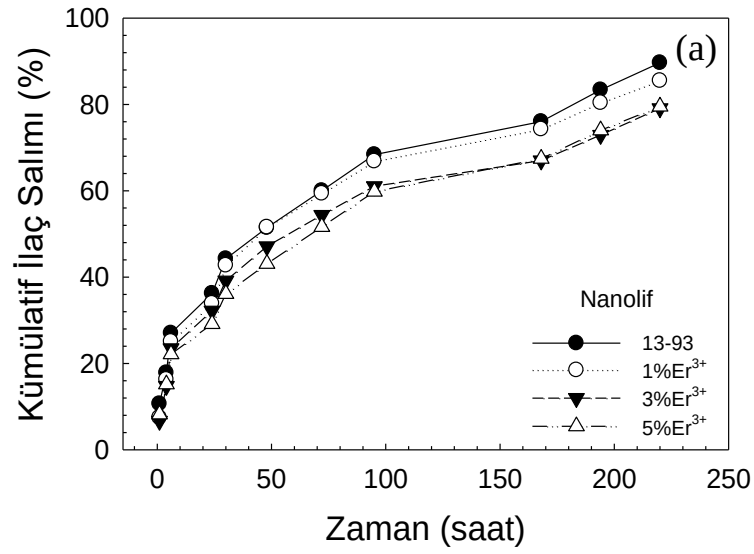


Şekil 4.51. (a) Er³⁺ ve (b) Tb³⁺ içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine amoksisilin trihidrat salım yüzdeleri gösteren grafikler (Absorbans: 247 nm).

Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren biyoaktif cam nanoliflerden hazırlanan skafoldlardan amoksisilin trihidrat salım yüzdeleri Şekil 4.52’de verilmektedir. Kontrol grubu nanolif bazlı örneklerden 24 saat sonunda PBS ortamına geçen amoksisilin trihidrat miktarı %36.2 iken, 5Er ve 5Tb içeren nanolif bazlı örneklerde aynı süre sonunda ilaç salımı sırasıyla %29.11 ve %33.79 olarak bulunmuştur. Diğer yandan 168 saat sonunda aynı örnekler için ilaç salım miktarları %76, %66.9 ve %74.8 olarak elde edilmiştir. 220 saat sonunda kontrol grubu nanolif bazlı doku iskelelerinden gerçekleşen salım %89.6’ya ulaşmıştır. Aynı şartlar altında 5Tb içeren örnekler aynı

miktarda ilaç salımı yaparken, 5Er içeren örneklerde bu miktar %79.5 olarak tespit edilmiştir.

Zheng ve ark. tarafından yapılan çalışmada model ilaç olarak seçilen amoksisilin trihidrat (AMX), fiziksel adsorpsiyon yoluyla n-HA yüzeyine yüklenmiş ve farklı bir teknikle AMX/n-HA/PLGA kompozit nanofiberlerin oluşumu incelenmiştir. AMX/n-HA'lerden ilk 24 saat içinde amoksisilin trihidrat yaklaşık %50'si salınmış ve pelette kalan amoksisilin trihidratın çoğu (toplam salınım yüzdesi > %90) birbirini izleyen 6 gün içinde biraz daha yavaş bir hızda salınmıştır. Buna karşılık, AMX/ n-HA/PLGA fiberlerinden AMX'in yaklaşık %16'sı ilk 24 saat içinde salınırken, 18. günde yaklaşık %35 AMX salınmıştır. AMX'in AMX/n-HA çubuklarından hızlı salınımının, AMX ve n-HA arasındaki fiziksel etkileşimin (örneğin hidrojen bağı gibi) yeterince güçlü olmamasından kaynaklandığı belirtilmiştir [160].



Şekil 4.52. (a) Er³⁺ ve (b) Tb³⁺ içeren, elektroegirme ile üretilen biyoaktif cam naolifler kullanılarak hazırlanan doku iskelelerinden PBS içine amoksisilin trihidrat salım yüzdelerini gösteren grafikler (Absorbans: 247 nm).

Sonuçlar, amoksisilin trihidratın, gentamisin sülfat ile karşılaştırıldığında hazırlanan biyoaktif cam skafoldlardan daha yavaş salım yaptığını göstermektedir. Bu durum, skafoldlara başlangıçta yüklenen gentamisin sülfat miktarının yüksek olması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Skafoldlar üzerine yüklenen Amoksisilin trihidratın ani salım gerçekleştirmemesi ve ilaç salım davranışını 220 saatten sonra da devam ettirmesi olumlu bir durum olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca genel olarak, kompozisyona eklenen Er³⁺ ve Tb³⁺,nin 13-93 biyoaktif cam skafoldlardan (hem toz hem de nanolif formunda örnekler ile hazırlanan) gentamisin sülfat ve amoksisilin

trihidrat salımını bir miktar yavaşlattığı anlaşılmıştır. Vücut içi uygulamalarda enjekte edilen ilacın kısa bir sürede tamamen çözünerek hızlı salım (burst release) profili göstermesi çoğu uygulama için istenilen bir durum değildir. Ancak bu durum bazı uygulamalar için avantaj olarak görülebilir [161].

Bakhsheshi-Rad ve ark. tarafından yapılan çalışmada, amoksisilin trihidrat yüklü doku iskelelerinin sürekli ilaç salınımı, 8 saat boyunca %20’lik ilk patlama salınımı ve ardından kemik enfeksiyonu tedavisi için uygun olan sürekli bir salım yaptığını tespit edilmiştir [162]. Etken maddenin istenilen konsantrasyonlarda iletimi ve tedavi boyunca terapötik etki göstermesini sağlayacak şekilde salınmasına ‘‘kontrollü ilaç salım sistemi’’ adı verilir. Bu sistemlerin amacı, tedavi süresi boyunca ilacın toksik olmayacak, aynı zamanda da etkili konsantrasyonlarda tutulacak seviyede salınmasıdır [163].

Amoksisilin trihidrat salım profili, yavaş bir ilk patlama salım etkisi ve ardından yavaş salım davranışı sergilemektedir. Bu çalışmada kullanılan amoksisilin trihidratın silika bazlı biyoaktif cam iskelelerinden *in vitro* salımının Higuchi salım kinetiğini izlediğini göstermektedir. Çalışılan çeşitli salım kinetik modellerinin formül ve model parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 4.8 ve Tablo 4.9’da gösterilmektedir [169].

Tablo 4.8. Amoksisilin trihidrat yüklü, Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam toz bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri

	A=K ₀ .t		logAR=K ₁ .t/2.303		A=k.t ^{0.5}	
Örnekler	Sıfır Derece		Birinci Derece		Higuchi Modeli	
	R ²	K	R ²	K	R ²	K
13-93	0,8869	0,6463	0,9641	0,0112	0,9867	6,8156
1Er/13-93	0,8901	0,6342	0,9646	0,0109	0,9858	6,6729
3Er/13-93	0,8928	0,6528	0,9678	0,0114	0,9871	6,8627
5Er/13-93	0,8812	0,6486	0,9616	0,0113	0,9854	6,8575
1Tb/13-93	0,8759	0,6788	0,964	0,0124	0,9839	7,1927
3Tb/13-93	0,8765	0,6823	0,9644	0,0124	0,9845	7,2291
5Tb/13-93	0,8732	0,6399	0,9564	0,111	0,9832	6,7889

Tablo 4.9. Amoksisilin trihidrat yüklü, Er³⁺ ve Tb³⁺ içeren 13-93 biyoaktif cam nanolif bazlı doku iskelelerinin ilaç salım kinetiğine ait model parametreleri

	A=K ₀ .t		logAR=K ₁ .t/2.303		A=k.t ^{0.5}	
Örnekler	Sıfır Derece		Birinci Derece		Higuchi Modeli	
	R ²	K	R ²	K	R ²	K
13-93	0,8735	0,692	0,9566	0,011	0,9831	6,7088
1Er/13-93	0,8803	0,6415	0,9573	0,0109	0,9851	6,785
3Er/13-93	0,8739	0,5844	0,9453	0,0093	0,9841	6,2002
5Er/13-93	0,8994	0,5569	0,96	0,0087	0,9871	5,8336
1Tb/13-93	0,8612	0,6157	0,9415	0,0101	0,9803	6,5678
3Tb/13-93	0,8587	0,6098	0,9408	0,0101	0,9794	6,5116
5Tb/13-93	0,8829	0,6236	0,9589	0,0105	0,9851	6,586

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Proje kapsamında Er^{3+} ve/veya Tb^{3+} (1, 3, 5 ağırlık%) içeren amorf yapıda, silikat bazlı 13-93 biyoaktif camlar partikül formunda ($d_{50} \approx 3.5 \mu\text{m}$) ve nanolif formunda (ort. $\text{çap} \approx 275\text{-}665 \text{ nm}$) sırasıyla sol-jel ve elektroegirme yöntemleri ile üretilmiştir. Sentezlenen malzemelerin yapısal, morfolojik ve fotoluminesans özellikleri, bozunma süreleri karakterize edilmiştir. Ayrıca, yapay vücut sıvısı içinde bekletilen örneklerin yüzeylerinde hidroksiapatit oluşturma davranışı, MC3T3-E1 pre-osteoblast hücrelerinin sentezlenen malzemelerden disk şeklinde hazırlanan doku iskelelerine *in vitro* ortamda verdiği tepki incelenmiştir. Partikül ve nanolif formundaki örnekler kullanılarak hazırlanan doku iskelelerine gentamisin sülfat ve amoksisilin trihidrat yüklemesi yapıldıktan sonra PBS içindeki ilaç salım davranışları araştırılmıştır.

XRD analiz sonuçları, hazırlanan Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif camların yapısında başlangıçta bulunan nitratların büyük bölümünün 625°C 'de yapılan kalsinasyon işlemi ile uzaklaştırıldığını ve amorf yapıda camlar elde edildiğini göstermiştir.

Fotoluminesans analiz sonuçlarına göre, Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif camların hem partikül hem de nanolif formunda floresans özelliğe sahip olduğu anlaşılmıştır. Tez çalışmasında, örnekler literatürde yer alan diğer çalışmalardan farklı olarak gelen fotonların doğrudan Er^{3+} enerji seviyeleri ile rezonansa girmediği 374 nm 'de uyarılmıştır. 374 nm 'de uyarılan Er^{3+} katkılı biyoaktif cam tozları 506 nm ve 560 nm 'de emisyon pikleri vermiştir. En yüksek pik şiddeti %1Er içeren biyoaktif cam tozları için elde edilmiş ve artan katkı miktarına bağlı olarak emisyon pik şiddetinde azalma görülmüştür. Diğer yandan, aynı dalga boyunda uyarılan Tb^{3+} içeren biyoaktif camlarda artan Tb^{3+} konsantrasyonuna bağlı olarak ışık emisyon şiddetinde de artış gözlenmiştir. Sonuçlar, 13-93 biyoaktif cam için aktivatör iyonlarının optimum konsantrasyonunun, ışıltama yoğunluğu açısından ağırlıkça %1 Er^{3+} ve ağırlıkça %5 Tb^{3+} olduğunu göstermiştir. Ayrıca cam ağında Er^{3+} ve Tb^{3+} iyonlarının varlığı floresans bozunma sürelerinde bir artışa neden olmuş ve katkı konsantrasyonu arttıkça hem mikrosaniye hem de nanosaniye zaman rejimi ölçümlerinde daha uzun bozunma süreleri elde edilmiştir. 13-93 biyoaktif cam tozlarına ait Stoke's kayma değerleri 132

ve 192 nm iken, Tb^{3+} içeren biyoaktif camlarda emisyon değerleri daha yüksek dalga boylarına kaydığından daha büyük Stoke's kayma değerleri (210 nm, 248 nm) elde edilmiştir.

Sonuçlar ayrıca biyoaktif cam morfolojisinin lüminesans emisyon şiddetinin ve bozunma kinetiğini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymuştur. Sol-jel yöntemi ile üretilen biyoaktif cam partiküller daha güçlü emisyon şiddeti sergilerken, elektroçirme yöntemi ile üretilen nanolif formundaki örnekler daha uzun bozulma süreleri göstermiştir.

In vitro, biyoaktivite testleri için, Er^{3+} ve Tb^{3+} katkılı ve katkısız 13-93 biyoaktif cam tozları ve nanolifler 7, 14 ve 30 gün süreyle yapay vücut sıvısı içinde bekletilerek örneklerin yüzeylerinde hidroksiapatit oluşturma davranışı FTIR spektroskopisi ve SEM ile incelenmiş, 7. günden itibaren örneklerin yüzeyinde HA oluşumunun gerçekleştiğini görülmüştür. Bu durum çalışma kapsamında sentezi yapılan cam tozların ve nanoliflerin biyoaktif olduğunu kanıtlamaktadır. Ayrıca, Er^{3+} ve Tb^{3+} katkısının 13-93 biyoaktif cam örneklerin biyoaktivitesi üzerinde olumlu bir etkiye neden olduğu, katkısız cam örnekler ile karşılaştırıldığında yüzeyde kalsiyum fosfat oluşumunu hızlandırdığı görülmüştür. 30 gün SBF'te bekletilen Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren örneklerin yüzeyinde yoğun hemisferik ve plakalı yapıda HA kristali oluşumu gözlenmiştir. Sonuçlar ayrıca sol-jel yöntemi ile partikül formunda sentezlenen biyoaktif cam örneklerin SBF içerisinde HA oluşturma hızının, nanolif formundaki biyoaktif cam örneklerle göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur.

Çalışma kapsamında sentezlenen biyoaktif camların sitotoksitesisi, *in vitro* ortamda MC3T3-E1 hücre hattı kullanılarak MTT yöntemi ile test edilmiştir. Buna göre 72 saat için yapılan hücre kültürü sonunda Er^{3+} içeren biyoaktif cam tozları kullanılarak hazırlanan disk şeklindeki doku iskeleleri, %1Er'den daha büyük konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermiştir. Diğer yandan, Tb^{3+} içeren örneklerde konsantrasyon artışına bağlı olarak hücre canlılığında önemli bir azalma gözlenmemiştir. Ayrıca, Er^{3+} içeren nanolif bazlı örneklerde yine artan konsantrasyonlar ile birlikte hücre canlılık değerlerinde düşüş gerçekleşmemiştir. Bu durumun nanolif bazlı skafoldların daha yüksek toplam gözeneklilik (%55-65) ve yüzey alanı değerlerine sahip olması ile ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır. SEM

ile yapılan hücre morfolojisi incelemeleri, 72 saatlik hücre kültürü sonunda MC3T3-E1 hücrelerinin tüm skafoldlar yüzeyine tutunarak, yayılma gerçekleştirdiğini göstermiştir.

Çalışmada partikül ve nanolif formundaki biyoaktif cam örnekler kullanılarak hazırlanan doku iskelelerine 2 farklı antibiyotik (gentamisin sülfat ve amoksisilin trihidrat) yüklemesi yapıldıktan sonra PBS içindeki ilaç salım davranışları araştırılmıştır. Sonuçlar, gentamisin sülfat yüklü biyoaktif cam doku iskelelerinden PBS ortamına ani ilaç salımı olduğunu göstermiştir. Diğer yandan, gentamisin sülfat ile karşılaştırıldığında amoksisilin trihidratın hazırlanan biyoaktif cam skafoldlardan daha yavaş salım yaptığı anlaşılmaktadır. Doku iskeleleri üzerine yüklenen amoksisilin trihidratın ani salım gerçekleştirmemesi ve ilaç salım davranışını 220 saatten sonra da devam ettirmesi olumlu bir durum olarak değerlendirilmiştir. İlaç salım kinetiği analizleri, çalışmada kullanılan gentamisin sülfat ve amoksisilin trihidratın silika bazlı biyoaktif cam doku iskelelerinden *in vitro* salımının Higuchi salım kinetiğini izlediğini göstermiştir.

Proje kapsamında sentezi yapılan Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif camların hem partikül hem de nanolif formunda özellikle kemik doku mühendisliği, ilaç salımı ve biyo-görüntüleme uygulamalarında kullanılma potansiyellerinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Konuya ilişkin olarak mevcut yapılan deneysel çalışmalar dışında, gentamisin sülfatın daha farklı konsantrasyonlarda sisteme yüklenerek ilaç salım çalışmalarının gerçekleştirilmesinin, gentamisin sülfat ve amoksisilin trihidrat yüklü Er^{3+} ve Tb^{3+} içeren biyoaktif camların antibakteriyel özelliklerinin incelenmesinin, ayrıca hazırlanan biyoaktif cam örneklerin daha uzun dalga boyu uyarımları altında daha kısa dalga boyu emisyonları üretme yeteneklerinin, yukarı dönüşüm lüminesans analizleri ile araştırılmasının, SBF içerisinde farklı süreler bekletilen biyoaktif cam örneklerin lüminesans özelliklerindeki değişimin incelenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Nerem R., Cellular engineering. *Annals of Biomedical Engineering*. 1991, 19, 529-545.
- [2] Hench, L., Polak, J., Third-generation Biomedical Materials. *Science*. 2002, 295, 1014-1017.
- [3] Zhu, Y., Wu, C., Ramaswamy, Y., Kockrick, E., Simon, P., Kaskel, S. and Zreiqat, H., Preparation, characterization and *in vitro* bioactivity of mesoporous bioactive glasses (MBGs) scaffolds for bone tissue engineering. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2008, 112, 494-503.
- [4] Deliormanlı, A., *In vitro* assessment of degradation and bioactivity of robocast bioactive glass scaffolds in simulated body fluid. *Ceramics International*. 2012, 38, 6435-6444.
- [5] Bairo, F., Novajra, G., Miguez-Pacheco, V., Bioactive glasses special applications outside the skeletal system. *Journal of Non Crystalline Solids*. 2016, 243, 15-30.
- [6] Hench, L., Splinter, R., Greenlee, T., Allen, W., Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1971, 2, 117.
- [7] Brink, M., Turunen, T., Happonen, R., Yli-Urppo, A., Compositional dependence of bioactivity of glasses in the system $\text{Na}_2\text{O}-\text{K}_2\text{O}-\text{MgO}-\text{CaO}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1997, 37, 114–121.
- [8] Hench, L., Chronology of bioactive glass development and clinical applications. *New Journal of Glass and Ceramics*. 2013, 3, 67-73.
- [9] Neacsu, A., Stoica, A., Vasile, S., Andronescu, E., Luminescent hydroxyapatite doped with rare earth elements for biomedical applications. *Nanomaterials*. 2019, 9(2), 239.
- [10] Paulose, P., Luminescence Studie of Certain Doped Phosphors and Glassy Material. Mamatha Gandhi University, School of Pure&Applied Physics, Kottayam, 2002, 137p. (Doktora Tezi)
- [11] Chen, F., Huang, P., Zhu, J., Wu, J., Cui, X., Multifunctional $\text{Eu}^{3+}/\text{Gd}^{3+}$ dual-doped calcium phosphate vesicle-like nanospheres for sustained drug release and imaging. *Biomaterials*. 2012, 33 (27), 6447-6455.
- [12] Xue, Y., Du, Y., Yan, J., Liu, Z., Ma, P. X., Chen, X., Lei, B., Monodisperse photoluminescent and highly biocompatible bioactive glass nanoparticles for controlled drug delivery and cell imaging. *Journal of Materials Chemistry*. 2015, 3(18), 3831–3.
- [13] Baranowska, A., Kochanowicz, M., Żmojda, J., Miluski, P., Wajda, A., Leśniak, M., Biological properties of rare-earth doped bioactive glass. *Optical Fibers and Their Applications*. 2020, 11, 456.
- [14] Li, Q., Xing, M., Chen, Z., Wang, X., Zhao, C., Qiu, J., Chang, J. $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ co-doped bioactive glasses with up-conversion luminescence prepared by containerless processing. *Ceramics International*. 2016, 42(11), 13168–13175.
- [15] Kalaivani, S., Srividiya, S., Vijayalakshmi, U., & Kannan, S. Bioactivity and up-conversion luminescence characteristics of $\text{Yb}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ co-doped bioglass system. *Ceramics International*. 2019, 45(15), 6.

- [16] Deliormanlı, A., Oguzlar, S., Ertekin, K. Photoluminescence and decay characteristics of Cerium(III), Gallium (III), and Vanadium (V)- containing borate-based bioactive glass powders for bioimaging applications. *Ceramics International*. 2020, 47(3), 3797-3807
- [17] ABD Sağlık ve İnsan Hizmetleri Bakanlığı, Organ Tedarik ve Nakil ağı; <https://optn.transplant.hrsa.gov/> /erişim tarihi: 08.07.21
- [18] Langer, R., Vacanti, JP., Tissue engineering. *Science*. 1993, 260 (5110), 9206.
- [19] Abatangelo, G., Brun, P., Radice, M., Cortivo, R., Tissue engineering. *Integrated Biomaterials Science*. 2001, 885–945.
- [20] Mi, H., Jing, X., Turng, L., Fabrication of porous synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. *Journal of Cellular Plastics*. 2015, 51, 165-196.
- [21] Dvir, T., Timko, B., Kohane, D., Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nature Nanotech*. 2011, 6, 13–22.
- [22] Persidis, A., Tissue engineering. *Nature Biotechnology*. 1999, 17(5), 50810.
- [23] Dziki, J., Huleihel, L., Scarritt, M., Badylak, F., Extracellular matrix bioscaffolds as immunomodulatory biomaterials. *Tissue Engineering Part A*. 2017, 23(1920), 11529.
- [24] Vaday, G., Lider, O., Extracellular matrix moieties, cytokines, and enzymes: dynamic effects on immune cell behaviour and inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*. 2000, 67, 149.
- [25] Buckwalter, A., Glimcher, J., Cooper, R., Recker, R., Bone biology II: formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *Instructional Course Lectures*. 1996, 45, 387–99.
- [26] Bosse, J., MacKenzie, J., Kellam, F., Burgess, R., Webb, X., Swiontkowski, F., An analysis of outcomes of reconstruction or amputation after leg-threatening injuries. *The New England Journal of Medicine*. 2002, 347(24), 192431.
- [27] Weiner, S., Wagner, D., The material bone: structure–mechanical function relations. *Annual Review of Materials Research*. 1998, 28, 271–298.
- [28] O’Keefe, RJ., Mao, J., Bone tissue engineering and regeneration: from discovery to the clinic an overview. *Tissue Engineering, B*. 2011, 17(6), 38992.
- [29] Jones, R. ve Hench, L., Regeneration of trabecular bone using porous ceramics. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 2003, 7(4– 5), 301–307.
- [30] <https://study.com/academy/practice/quiz-worksheet-ossification-in-the-human-body.html>. Erişim tarihi/ 8.7.21
- [31] Bruder, P., Caplan, I., Terminal differentiation of osteogenic cells in the embryonic chick tibia is revealed by a monoclonal antibody against osteocytes. *Bone*. 1990, 11, 189–98.
- [32] Cornell, N., Lane, M., Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1998, 355, 267–273.
- [33] Hotz, G., Herr, G., Bone substitute with osteoinductive biomaterials — current and future clinical applications. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1994, 23, 413–7.
- [34] Cooper, F., Harris, T., Bruder, P., Incipient analysis of mesenchymal stem-cell-derived osteogenesis. *Journal of Dental Research*. 2001, 80, 314–20.
- [35] Timuçin, M., Öztürk, A., Korkusuz, F., Korkusuz, P., Durucan, C., Koç, N., Park, J., Vakıfahmetoğlu, Ç. ve Tan, C., Apatit-wollastonit biyoaktif

seramiklerin üretimi ve karakterizasyonu, TÜBİTAK Mühendislik Araştırma Destek Grubu, Proje No: 104M400. 2008.

- [36] Zohora, T., Azim, A., Biomaterials as porous scaffolds for tissue engineering applications: A review. *European Scientific Journal*. 2014, 10, 186-200.
- [37] Yang, S., Leong, F., Du, Z., Chua, K., The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Engineering*. 2001, 7(6), 679-89.
- [38] Patel, H., Bonde, M., Srinivasan, G., Biodegradable polymer scaffold for tissue engineering. *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*. 2011, 25, 20-29.
- [39] Boccaccini, R., Roether, A., Hench, L., Composites approach to tissue engineering. *Ceramic Engineering and Science Proceedings*. 2002, 23, 805–816.
- [40] Ashammakhi, N., Ndreu, A., Piras, M., Biodegradable nanomats produced by electrospinning: expanding multifunctionality and potential for tissue engineering. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2007, 7(3), 862-882.
- [41] Hubbell, A., Biomaterials in tissue engineering. *Nature Biotechnology*. 1995, 13(6), 565–576.
- [42] Wu, T., Yu, S., Chen, D., Wang, Y., Bionic design, materials and performance of bone tissue scaffolds. *Materials*. 2017, 10(10), 1187.
- [43] Sheikh, Z., Najeeb, S., Khurshid, Z., Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications. *Materials*. 2015, 8(9), 5744–5794.
- [44] Lichte, P., Pape, H., Pufe, T., Kobbe, P., Fischer, H., Scaffolds for bone healing: Concepts, materials and evidence. *Injury*. 2011, 42(6), 569–573.
- [45] Burg, J., Porter, S., Kellam, F., Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2000, 21(23), 2347–2359.
- [46] Kandola, K., Flame retardant characteristics of natural fibre composites. *Natural Polymers vol 1: Composites*. 2012, 8(6), 117.
- [47] Venkatesan, J., Kim, S., Chitosan composites for bone tissue engineering: An overview. *Marine Drugs*. 2010, 8 (8), 2252–2266.
- [48] Athanasiou, A., Zhu, C., Lanctot, R., Agrawal, M., Wang, X., Fundamentals of biomechanics in tissue engineering of bone. *Tissue Engineering*. 2000, 6(3), 61-8.
- [49] Tay, K., Patel, V., Bradford, S., Calcium sulfate- and calcium phosphate-based bone substitutes. Mimicry of the mineral phase of bone. *Orthopedic Clinics of North America*. 1999, 30, 615-23.
- [50] Oliveira, H., Catros, S., Castano, O., Rey, S., Siadous, R., Clift, D., The proangiogenic potential of a novel calcium releasing composite biomaterial: orthotopic *in vivo* evaluation. *Acta Biomaterialia*. 2017, 54, 377-85.
- [51] El-Ghannam A, Ning CQ. Effect of bioactive ceramic dissolution on the mechanism of bone mineralization and guided tissue growth *in vitro*. *Journal Biomedical Material Research A* 2006, 76, 386-97.
- [52] Woodard, R., Hilldore, A., Lan, K., Park, J., Morgan, W. Eurell, C. The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity. *Biomaterials*. 2007, 28, 45-54.

- [53] Rahaman, M., Day, D., Sonny B., Fu, Q., Jung, B., Bonewald, L., Tomsia, P., Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 2011, 7(6), 2355–2373.
- [54] Farooq, I., Ali, S., Husain, S., Khan, E., Hill, R., Bioactive glasses—structure and applications. *Advanced Dental Biomaterials*. 2019, 453–476.
- [55] Hench, L., Bioceramics: from concept to clinic. *Journal of the American Ceramic Society*. 1991, 74, 1487-1510.
- [56] Hench, L., Splinter, J., Allen, C., Greenlee, K., Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1971, 5, 117-141.
- [57] Hench, L., Bioceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 1998, 81, 1705-1728.
- [58] Hench, L., The story of Bioglass®. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*. 2006, 17, 967-978.
- [59] Newlands, C., Foss, M., Matchei, T., Skibsted, J., Macphee, E., Early stage dissolution characteristics of aluminosilicate glasses with blast furnace slag- and fly-ash-like compositions. *Journal of the American Ceramic Society*. 2017, 100(5), 1941.
- [60] Nandi, K., Kundu, B., Datta, S., De, K. Basu, D., The repair of segmental bone defects with porous bioglass: An experimental study in goat. *Research in Veterinary Science*. 2009, 86, 162-173.
- [61] Hench, L., Paschall, A., Histochemical responses at a biomaterial's interface. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1974, 8, 49-64.
- [62] Hench, L., Wilson, J., An introduction to bioceramics. Scientific Publishing Co. 1993, 1.
- [63] Neuman, W., Neuman, M., The chemical dynamics of bone mineral. University of Chicago Press. 1958, 1(5), 473–474.
- [64] Andersson, H., Karlsson, H., Kangasniemi, K., Calcium phosphate formation at the surface of bioactive glass *in vivo*. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 1990, 119(3), 290–6.
- [65] Brink, M., Bioactive Glasses with a Large Working Range, Abo Akademi University, Finland, 1997. (doktora tezi)
- [66] Kokubo, T., Bioceramics and their clinical applications. Woodhead Publishing Limited, Washington, 2012, XXXIII(2).
- [67] Fu, Q., Rahaman, N., Bal, S., Brown, F., Preparation and *in vitro* evaluation of bioactive glass (13-93) scaffolds with oriented microstructures for repair and regeneration of load-bearing bones. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2010, 93(A), 1380–90.
- [68] Brown, F., Day, E., Day, T., Jung, S., Rahaman, N., Fu, Q., Growth and differentiation of osteoblastic cells on 13-93 bioactive glass fibers and scaffolds. *Acta Biomaterialia*. 2008, 4, 387–96.
- [69] Pan, H., Zhao, X., Zhang, X., Zhang, K., Li, L., Li, Z., Strontium borate glass: potential biomaterial for bone regeneration. *Journal of the Royal Society Interface*. 2010, 7, 1025–31.

- [70] Han, X., Day, E., Reaction of sodium calcium borate glasses to form hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2007, 18, 1837–47.
- [71] Huang, W., Day, E., Kittiratanapiboon, K., Rahaman, M., Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solution. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2006, 17, 583–96.
- [72] Brown, R., Rahaman, N., Dwilewicz, B., Huang, W., Day, DE., Li, Y., Conversion of borate glass to hydroxyapatite and its effect on proliferation of MC3T3-E1 cells. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2009, 88, 392–400.
- [73] Bellantone, J., Coleman A., Hench, L., A novel sol-gel derived bioactive glassfeaturing antibacterial properties. *Key Engineering Materials*. 2009, 597–600.
- [74] Hoppe, A., Guldal, N., Boccaccini, R., A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011, 32, 2757- 2774.
- [75] Hollinger, O., Brekke, J., Gruskin, E., Lee, D., Role of bone substitutes. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1996, 324, 55–65.
- [76] Hulbert, F., Young, A., Mathews, S., Klawitter, J., Talbert, D., Stelling, H., Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1970, 4, 433–456.
- [77] Li, N., Jie, Q., Zhu, S., Wang, R., Preparation and characterization of macroporous sol–gel bioglasses. *Ceramics International*. 2005, 31(5), 641–6.
- [78] Li, R., Clark, A., Hench, L., An Investigation of bioactive glass powders by sol–gel processing. *Journal of Applied Biomaterials*. 1991, 2(4), 231–9.
- [79] Hench, L., West, K., The sol–gel process. *Chemical Reviews*. 1990, 90(1), 33–72.
- [80] Kaur, G., Pandey, O. P., Singh, K., Homa, D., Scott, B., Pickrell, G., A Review of bioactive glasses: their structure, properties, fabrication and apatite formation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2014, 102(1), 254–74.
- [81] Vallet–Regí, M., *Ceramics for medical applications*. *Journal of the Chemical Society*. 2001, (2), 97–108.
- [82] Baino, F., Fiume, E., Miola, M., Verné, E. Bioactive sol-gel glasses: Processing, properties, and applications. *International Journal of Applied Ceramic Technology*. 2018, 15(4), 841–860.
- [83] Li, J., Laurencin, T., Caterson, J., Tuan S., Ko K., Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2002, 60, 613–21.
- [84] Bhardwaj, N., Kundu, C., Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. 2010, 28, 325–347..
- [85] Pham, P., Sharma, U., Mikos, G., Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. *Tissue Engineering*. 2006, 12(5), 1197–1211.
- [86] Li, D., Xia, Y., Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?. *Advanced Materials*. 2004, 16 (14), 1151–1170.

- [87] Weinstein, L., Electromagnetic Waves, UNIT-5(XII-Physics_Vol-1), Moscow ,1988, 292.
- [88] Stokes, G., On the effect of internal friction of fluids on the motion of pendulums. Transactions of the Cambridge Philosophical Society. 1851, 9, 8–106.
- [89] Kibar, R., Farklı Metal İyonları ile Bombalanan SrTiO₃ Kristalinin ve Bazı Minerallerin Nükleer ve Diğer Yöntemlerle İncelenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilimdalı, 2007. (Doktora Tezi)
- [90] Gilbert, A., Baggott, J., Essentials of molecular photochemistry. Blackwell Science, Oxford, 1995, XII, 538.
- [91] Turro, N., Benjamin, W., Molecular photochemistry. Massachusett, 1965.
- [92] Blasse, G., Grabmaier, C., A general introduction to luminescent materials. Luminescent Materials, Springer. 1994, 1-9.
- [93] Albani, R., Structure and dynamics of macromolecules: absorption and fluorescence studies. Elsevier. 2004, 5.
- [94] Beisker, W., Klocke, A., Fluorescence lifetime measurements in flow cytometry. Proceedings of the SPIE—The International Society for Optical Engineering. 1997, 2982, 436–445.
- [95] Aric, B., Jesus, S., Samantha, V., Houston, P., A Review of new high-throughput methods designed for fluorescence lifetime sensing from cells and tissues. Frontiers in Physics. 2021, 9.
- [96] Mondal, S., Nguyen, V. T., Park, S., Choi, J., Tran, L. H., Yi, M., Oh, J., Bioactive, luminescent erbium-doped hydroxyapatite nanocrystals for biomedical applications. Ceramics International. 2020, 46(10), 16020-16031.
- [97] Zhang, C., Li, C., Huang, S., Hou, Z., Cheng, Z., Yang, P., Peng, C., Lin, J., Self-activated luminescent and mesoporous strontium hydroxyapatite nanorods for drug delivery. Biomaterials. 2010, 31, 3374–3383.
- [98] Liu, H., Chen, F., Xi, P., Chen, B., Huang, L., Cheng, J., Shao, C., Wang, J., Bai, D., Zeng, Z. Biocompatible fluorescent hydroxyapatite: synthesis and live cell imaging applications. The Journal of Physical Chemistry C. 2011, 115, 18538–18544.
- [99] Sánchez, K., Pacheco, P., Gurinov, A., Ortiz, G., Carbajal, A., Dual responsive dysprosium-doped hydroxyapatite particles and toxicity reduction after functionalization with folic and glucuronic acids. Materials Science and Engineering C. 2015, 48, 541-7.
- [100] Lu H., Chen F., Xi P., Chen B., Huang L., Cheng J., Shao C., Wang J., Bai D., Zeng Z., Biocompatible fluorescent hydroxyapatite: synthesis and live cell imaging applications. The Journal of Physical Chemistry C. 2011, 115, 18538–18544.
- [101] Bunzli, C., Lanthanide luminescence for biomedical analyses and imaging. Chemical Reviews. 2010, 110 (5), 2729-2755.
- [102] Mosander, G., On the new metals, Lanthanium and Didymium, which are associated with Cerium; and on Erbium and Terbium, new metals associated with Yttria. Philosophical Magazine. 1843, 23 (152), 241–254.
- [103] Gordon, B., James, B., Greta, J., Rare Earth Elements-Critical Resources for High Technology. United States Geological Survey, Fact Sheet, 2002, 087-02.

- [104] Escudero, A., Calvo, M., Rivera-Fernández, S., De la Fuente, M., Ocaña, M., Microwave-assisted synthesis of biocompatible europium-doped calcium hydroxyapatite and fluoroapatite luminescent nanospindles functionalized with poly (acrylic acid). *Langmuir*. 2013, 29, 6, 1985–1994
- [105] Chen, Q., Zuo, J., He, X., Mo, X., Tong, P., Zhang, L., Enhanced fluorescence of terbium with thiabendazole and application in determining trace amounts of terbium and thiabendazole. *Talanta*. 2017, 162, 540–546..
- [106] Emsley, J., Erbium nature's building blocks: an a-z guide to the elements. Oxford University Press. 2001, 136–139.
- [107] Victor, P., Gayathri, G., Paul, W., Vijayan, M., Muthu, J., Sharma, P., Europium doped calcium deficient hydroxyapatite as theranostic nanoplatfroms: Effect of structure and aspect ratio. *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2017, 3, 358.
- [108] Han, Y., Wang, X., Li, S., Biocompatible europium doped hydroxyapatite nanoparticles as a biological fluorescent probe. *Current Nanoscience*. 2010, 6(2), 178–183.
- [109] Di, W., Ren, X., Zhao, H., Shirahata, N., Sakka, Y., Qin, W., Single-phased luminescent mesoporous nanoparticles for simultaneous cell imaging and anticancer drug delivery. *Biomaterials*. 2011, 32(29), 7226–7233.
- [110] Wu, C., Xia, L., Han, P., Mao, L., Wang, J., Zhai, D., Xiao, Y., Europium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds for stimulating *in vitro* and *in vivo* osteogenesis. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2016, 8(18), 11342–11354..
- [111] Li, G., Liang, G., Zhao, S., Ma, K., Feng, W., Zhou, D., Liu, X., Synthesis and characterisation of porous luminescent glass ceramic scaffolds containing europium for bone tissue engineering. *Advances in Applied Ceramics*. 2014, 114(3), 164–174..
- [112] Zhu, D.-Y., Lu, B., Yin, J.-H., Ke, Q.-F., Xu, H., Zhang, C.-Q., Gao, Y.-S., Gadolinium-doped bioglass scaffolds promote osteogenic differentiation of hBMSC via the Akt/GSK3 β pathway and facilitate bone repair *in vivo*. 2019, 1085—1100.
- [113] Alshemary, Z., Akram, M., Goh, Y.-F., Abdul, R., Abdolahi, A.; Hussain, R., Structural characterization, optical properties and *in vitro* bioactivity of mesoporous erbium-doped hydroxyapatite. *Journal of Alloys and Compounds*. 2015, 645, 478–486.
- [114] Li, L., Liu, Y., Tao, J., Zhang, M., Pan, H., Xu, X., Tang, R., Surface modification of hydroxyapatite nanocrystallite by a small amount of terbium provides a biocompatible fluorescent probe. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2008, 112, 12219–12224.
- [115] Wei, Y., He, Y., Li, X., Chen, H., Deng, X. Cellular uptake and delivery-dependent effects of Tb³⁺-doped hydroxyapatite nanorods. *Molecules*. 2017, 22, 1043.
- [116] Wang, X., Zhang, Y., Lin, C., Zhong, W., Sol-gel derived terbium-containing mesoporous bioactive glasses nanospheres: *in vitro* hydroxyapatite formation and drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017, 160, 406–415.

- [117] Deliormanlı, A., Yıldırım, M., Sol-gel synthesis of 13-93 bioactive glass powders containing therapeutic agents. *Journal of the Australian Ceramic Society*. 2016, 52(2), 9-19.
- [118] Deliormanlı, A., Preparation, *in vitro* mineralization and osteoblast cell response of electrospun 13-93 bioactive glass nanofibers. *Materials Science and Engineering C*. 2015, 53, 262-71.
- [119] Boyde, A., Quantitative photogrammetric analysis and quantitative stereoscopic analysis of SEM images. *Journal of Microscopy*. 1973, 98A, 452-471.
- [120] Jones, J., Hench, L., *Biomedical materials, encyclopedia of condensed matter physics*. Elsevier. 2005, 108-116.
- [121] Gibson, P., Thin films: characterization by x rays. *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. 2001, 9229–9234..
- [122] <https://www.edinst.com/products/fls920-upgrades/>. (Erişim tarihi: 9.8.21)
- [123] Harris, C., Bertolucci, D., *Symmetry and spectroscopy: an introduction to vibrational and electronic spectroscopy*. Courier Corporation. 1978, 565.
- [124] Kokubo, T., Takadama, H., How useful is SBF in predicting *in vivo* bone bioactivity?. *Biomaterials*. 2006, 27 (15), 2907–2915.
- [125] Riss, L., Moravec, A., Cell proliferation assays: improved homogeneous methods used to measure the number of cells in culture. In “*Cell Biology*”. Elsevier Academic Press, Burlington. 2006.
- [126] McGahan, J., Martin, J., Bissonnette, P., Mahbaubi, A., Shi, Y., Mogil, J., Nishioka, K.,. The end of the (cell) line: Methods for the study of apoptosis *in vitro*. ‘*Methods in cell biology, cell death*’. Academic Press. 1995, 46, 150-181.
- [127] Soundrapandian, C., Datta, S., Kundu, B. Porous bioactive glass scaffolds for local drug delivery in osteomyelitis: development and *in vitro* characterization. *American Association of Pharmaceutical Scientists*. 2010, 11, 1675–1683.
- [128] Roy, J., *An introduction to pharmaceutical sciences production, chemistry, techniques and technology*. Cambridge: Woodhead Pub. 2012, 239.
- [129] Deliormanlı, A., Size-dependent degradation and bioactivity of borate bioactive glass. *Ceramics International*. 2013, 39(7), 8087–8095..
- [130] Zheng, J.-Y., Zhuang, M.-F., Yu, Z.-J., Zheng, G.-F., Zhao, Y., Wang, H., & Sun, D.-H., The effect of surfactants on the diameter and morphology of electrospun ultrafine nanofiber. *Journal of Nanomaterials*. 2014, 1–9.
- [131] Baranowska, A., Kochanowicz, M., Wajda, A., Leśniak, M., Żmojda, JM., Miluski, P., Zgłobicka, I., Kurzydłowski, KJ., Dorosz, D., Luminescence sensing method for degradation analysis of bioactive glass fibers. *Sensors*. 2021, 21(6), 2054.
- [132] Huang, S., Kang, X., Cheng, Z., Ma, P., Jia, Y., & Lin, J., Electrospinning preparation and drug delivery properties of $\text{Eu}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ doped mesoporous bioactive glass nanofibers. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2012, 387(1), 285–291.
- [133] Teng, M., Wang, F., Li, T., Zhang, R., *Colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects*. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2011, 355, 23.

- [134] Fu, H., Fu, Q., Zhou, N., Huang, W., Rahaman, MN., Wang, D., *In vitro* evaluation of borate-based bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication method. *Materials Science Engineering: C*. 2009, 29, 2275–81.
- [135] Hench, L., Genetic design of bioactive glass. *Journal of the European Ceramic Society*. 2009, 7, 1257-1265.
- [136] Selvi, S., Marimuthu, K., Muralidharan, G., Structural and luminescence behavior of Sm^{3+} ions doped lead boro-telluro-phosphate glasses. *Journal of Luminescence*. 2015, 159, 207–218.
- [137] de Dood, A., Slooff, H., Polman, A., Moroz, A., Blaaderen, A., Modified spontaneous emission in erbium-doped SiO_2 spherical colloids. *Applied Physics Letters*. 2001,79(22) ,3585-3587.
- [138] Wojdak, M., Jayatilleka, H., Shah, M., Modification of erbium photoluminescence decay rate due to ITO layers on thin films of $\text{SiO}_2\text{:Er}$ doped with Si-nanoclusters. *Journal of Luminescence*. 2013, 136, 407.
- [139] Sun, Y., Huang, M., Gu, M., Gao, C., Gong, S., Ye, P., Enhanced Tb^{3+} luminescence by non-radiative energy transfer from Gd^{3+} in silicate glass. *Physica B*. 2010, 405, 569–572.
- [140] Sun, Y., Luminescence properties of $\text{B}_2\text{O}_3\text{--GeO}_2\text{--Gd}_2\text{O}_3$ scintillating glass doped with rare-earth and transition-metal ions. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, 2013, 716, 90–95.
- [141] Bei, J., Qian, G., Liang, X., Yuan, S., Yang, Y., Chen, G., Optical properties of Ce^{3+} -doped oxide glasses and correlations with optical basicity. *Materials Research Bulletin*. 2007,42, 1195-1200.
- [142] Yao, Y., Liu, L., Zhang, Y., Chen, D., Fang, Y., Zhao, G., Optical properties of Ce^{3+} doped fluorophosphates scintillation glasses. *Optical Materials*. 2016, 51, 94-97.
- [143] Kislyuk, V., Strilchuk, G., Lozovski, V., Osipyonok, M., Lytvyn, P., Influence of particle size on luminescence spectra. *Progress in Colloid & Polymer Science*. 2004, 125, 24-26.
- [144] Berezin, Y., Achilefu, S., Fluorescence lifetime measurements and biological imaging. *Chemical Reviews*. 2010, 110(5), 2641-2684.
- [145] Lisitsyn, M., Valiev, T., Effect of particle size and morphology on the properties of luminescence in ZnWO_4 . *Journal of Luminescence*. 2014, 153, 130–135.
- [146] Silver, J., Martinez-Rubio, I., The effect of particle morphology and crystallite size on the upconversion luminescence properties of Erbium and Ytterbium Co-doped Yttrium Oxide Phosphors. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2001, 105, 5, 948–953.
- [147] Lukowiak, A., Lao, J., Lacroix, J., Bioactive glass nanoparticles obtained through sol-gel chemistry. *Chemical Communications*. 2013, 49, 6620.
- [148] El-Batal, H., Azooz, M., Khalil, M., Monem A., Hamdy, Y., Characterization of some bioglass-ceramics, *Materials Chemistry and Physics*. 2003, 80(3), 599-609.
- [149] Fu, Q., Rahaman, M., Brown, R., Bal, S., Day, D., Mechanical and *in vitro* performance of 13–93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique. *Acta Biomaterialia*. 2008, 6(4), 1854-1864.

- [150] Uludag, H., Sefton, V., Colorimetric assay for cellular activity in microcapsules. *Biomaterials*. 1990, 11, 708-712.
- [151] Nagraath, M., Alhalawani, A., Yazdi, R., Towler, R., Bioactive glass fiber fabrication via a combination of sol-gel process with electro-spinning technique. *Materials Science and Engineering: C*. 2019, 101, 521-538.
- [152] Fu, Q., Rahaman, M. N., Bal, S., Bonewald, F., Kuroki, K., Brown, R. F. Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2010, 95A(1), 164–171.
- [153] Gümüşderelioğlu, M., *Biyomalzemeler. Bilim ve Teknik Dergisi, TÜBİTAK, Temmuz özel sayısı*. 2002.
- [154] Arcos, D., Lopez-Noriega, A., Ruiz-Hernandez, E., Ordered mesoporous microspheres for bone grafting and drug delivery. *Chemistry of Materials*. 2009, 21(6), 1000-1009.
- [155] Zhu, Y., Kaskel, S., Comparison of the *in vitro* bioactivity and drug release property of mesoporous bioactive glasses (MBGs) and bioactive glasses (BGs) scaffolds. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2009, 118(1-3), 176–182.
- [156] Zongping, X., Gentamicin-Loaded borate bioactive glass eradicates osteomyelitis due to *escherichia coli* in a rabbit model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013, 57(7), 3293-3298.
- [157] Pisani, S., Dorati, R., Chiesa, E., Genta, I., Modena, T., Bruni, G., Conti, B., Release profile of gentamicin sulfate from polylactide-co-polycaprolactone electrospun nanofiber matrices. *Pharmaceutics*. 2019, 11(4), 161.
- [158] Vallet-Regí, M., Balas, F., Arcos, D., Mesoporous materials for drug delivery. *Angewandte Chemie*. 2007, 46, 7548–7558.
- [159] Qi, R., Guo, R., Shen, M., Cao, X., Zhang, L., Xu, J., Electrospun poly (lactic-co-glycolic acid)/halloysite nanotube composite nanofibers for drug encapsulation and sustained release. *Journal of Material Chemistry*. 2010, 20, 10622e9.
- [160] Zheng, F., Wang, S., Wen, S., Shen, M., Zhu, M., & Shi, X., Characterization and antibacterial activity of amoxicillin-loaded electrospun nano-hydroxyapatite/poly(lactic-co-glycolic acid) composite nanofibers. *Biomaterials*. 2013, 34(4), 1402–1412.
- [161] Huang, H., Gong, H., Chen, J., Lin, F., Luo, D., Huang, D., Spectral properties of Er^{3+} -doped CaGdAlO_4 crystal for laser application around 1.55 μm . *Journal of Alloys and Compounds*. 2014, 585, 163-167.
- [162] Bakhsheshi-Rad, HR., Hamzah, E., Abbasizadeh, N., Synthesis of novel nanostructured bredigite–amoxicillin scaffolds for bone defect treatment: cytocompatibility and antibacterial activity. *Journal of Sol-Gel and Science Technology*. 2018, 86, 83–93.
- [163] Kumari, A., Yadav, K., Yadav, C., Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010, 75(1), 1–18.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Begüm RAHMAN

Doğum Yeri ve Yılı :

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta :

Eğitim Durumu

Lise : Buca Anadolu Lisesi, 2013...

Lisans : Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, 2020

Yüksek Lisans : Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, 2021

Yayınları

Deliormanlı, A., Rahman, B., Oğuzlar, S., Ertekin K., Structural and luminescent properties of Er^{3+} and Tb^{3+} doped sol-gel-based bioactive glass powders and electrospun nanofibers. Journal of Materials Science. 2021, 56 (2), 14487–14504.

Deliormanlı, A., Shams, M., Al-Buriah, M.S., Rahman, B., Zakaly, H., Tekin, H., Erbium (III) and Terbium (III)-containing bioactive glass powders: Physical, structural and nuclear radiation shielding characteristics. Applied Physics A: Materials Science and Processing. 2021, 127, 463.