

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**DÜŞÜK ENERJİLERLE İMPLANTE EDİLMİŞ**  
**ISO 5832-2 GRADE-4 TİTANYUM NUMUNELERİNDE**  
**OSTEOBLAST VE FİBROBLAST HÜCRE TUTUNMASININ**  
*in vitro*  
**ORTAMLARDA İNCELENMESİ**

**Pelin KES**

**Biyomühendislik Anabilim Dalı**  
**Bilim Dalı Kodu: 612.01.00**  
**Sunuş Tarihi : 26/08/2008**

**Tez Danışmanı: Prof Dr. Ahmet ÖZTARHAN**

**Bornova-İZMİR**



**ÖZET****DÜŞÜK ENERJİLERLE İMPLANTE EDİLMİŞ ISO 5832-2  
GRADE-4 TİTANYUM NUMUNELERİNDE OSTEOLAST  
VE FİBROBLAST HÜCRE TUTUNMASININ***in vitro***ORTAMLARDA İNCELENMESİ****KES, Pelin**

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet ÖZTARHAN

Yardımcı Danışman: Prof. Dr. S. İsmet DELİLOĞLU GÜRHAN

**Ağustos 2008, 84 sayfa**

Kimyasal-fiziksel özellikleri ve göstermiş olduğu yüksek biyouyumluluk özellikleri nedeniyle titanyum, implant materyali olarak en fazla kullanılan biyomalzemedir. Fakat, günümüzde zirkonyum metalinin, zirkonyum oksit, alüminyum oksit, hidroksiapatit gibi biyoseramiklerin ya doğrudan ya da titanyum gibi biyouyumlu malzemeler üzerine kaplama veya lazerle uygulanan çeşitli stabilizasyon işlemleri neticesinde kullanımları, titanyum malzemesine alternatif olarak sunulmaktadır. Literatürde bu farklı tipteki malzemeler üzerinde fibroblast ve osteoblast hücre tutunumları incelenmektedir. Ülkemizde de yurt dışından ithal edilen estetik ve protetik tedavilerde kullanılan zirkonyum ve zirkonyum oksit kaplanmış, doku dostu, aşınma ve korozyona karşı yüksek dirençli olarak bilinen birçok ürün kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, kaplamalara göre üstün özellikleri sahip ve son yılların en önemli yüzey teknolojilerinden biri olan MEVVA İyon İmplantasyon teknolojisini kullanarak iyon implantasyonu yapılmış yüzeylerin osteoblast ve fibroblast hücre tutunmalarına etkisini incelemektir. Bu amaç doğrultusunda, iyon implantasyonu yapılacak malzeme olarak diş hekimliğinde en çok kullanılan titanyum malzemesi seçilmiştir. İmplantasyonu yapılacak element olarak %100 doku uyumlu olarak bilinen zirkonyum kullanılmıştır. Bu çalışmada, "ISO 5832-2 Grade 4" titanyum

numuneler üzerinde osteoblast ve fibroblast hücre tutunmaları *in vitro* ortamda yüzey pürüzlülüğü ve iyon implantasyonu yüzey modifikasyonu açısından karşılaştırmalı olarak incelemeye tabi tutulmuştur. Testler Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü Hayvan Doku Kültürü Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışması sonucunda biyouyumluluğu zaten kanıtlanmış olan "ISO 5832-2 Grade 4" titanyum malzemeye zirkonyum iyon implantasyonu yapıldığı durumda *in vitro* fibroblast ve osteoblast hücre tutunmalarında artış gözlenmiştir. Ayrıca bu çalışma ile fibroblast ve osteoblast hücrelerinin pürüzlü yüzeylerde daha iyi tutunma gösterdikleri bir kez daha kanıtlanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** iyon implantasyonu, titanyum, zirkonyum, osteoblast tutunması, fibroblast tutunması.

**ABSTRACT**

**ANALYSIS OF OSTEOBLAST AND FIBROBLAST CELL  
ATTACHMENT ON ISO 5832-2 GRADE-4 TITANIUM  
SAMPLES *in vitro* IMPLANTED WITH LOW ENERGY**

**KES, Pelin**

MSc. in Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ÖZTARHAN

Coadvisor: Prof. Dr. S. İsmet DELİLOĞLU GÜRHAN

**August 2008, 84 pages**

Titanium is the most common biomaterial because of its chemical-physical and well biocompatibility characteristics. But nowadays the usage of bioceramics like zirconium, zirconia, alumina, hydroxyapatite either directly or by stabilization of these materials on biocompatible materials as titanium with coating or with laser modifications is becoming an alternative to titanium. In literatures the analysis of osteoblast and fibroblast attachment on different kinds of materials is investigated. In our country so many exported zirconium and zirconia coated products known as tissue friend and having high resistance to corrosion are used in aesthetic and prosthetic therapies.

The aim of this study is with the help of MEVVA Ion Implantation technology, which is one of the most important surface modification technologies and which has ascendant specifications when compared with coating, investigation of osteoblast and fibroblast attachment on ion implanted surfaces. In the light of this aim, the material for ion implantation is chosen as titanium which is the most common material used dentistry. Zirconium element known as 100% tissue compatible is chosen for creating ions. In this study attachment of osteoblasts and fibroblasts on “ISO 5832-2 Grade 4” titanium samples is investigated *in vitro* for comparing the roughnesses and ion implantation surface modification. All studies are realized in Ege University, Faculty of Engineering, Bioengineering Department, Animal Tissue Culture Laboratory.

## VIII

At the end of this study, in case of zirconium ion implantation on “ISO 5832-2 Grade 4” titanium samples known as biocompatible, the increase of *in vitro* fibroblast and osteoblast cell attachment is observed. Also this thesis has proved the attachment of fibroblast and osteoblast cells on rough surfaces is better than other surfaces, once again.

**Keywords:** ion implantation, titanium, zirconium, osteoblast attachment, fibroblast attachment

**TEŞEKKÜR**

Tez çalışmam boyunca benden yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen tez danışmanlarım, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ahmet ÖZTARHAN ve Sayın Prof. Dr. S. İsmet GÜRHAN DELİLOĞLU'na, tez çalışmamın her aşamasında bana her türlü yardımda bulunan sevgili arkadaşım Sultan GÜLÇE'ye, tez çalışmamda kullandığım numunelerin elde edilmesini sağlayan Salih ŞANLI'ya, numunelerin yüzey pürüzlülüklerini oluşturmamda bana yardımda bulunan Dokuz Eylül Üniversitesi Malzeme Metalurji Mühendisliği araştırma görevlisi Dr. Bahadır Uyulgan'a, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Bilge Hakan ŞEN'e, Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölüm Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Fazilet VARDAR SUKAN'a, sevgili araştırma görevlileri Feyzan ÖZDAL KURT ve Esra DOKUMACI'ya, canım arkadaşım Pınar AKYÜREK'e, bölümümüz sekreteri sevgili Tuncay abimize çok teşekkür ederim.

Bugüne kadar hertürlü sıkıntıda, her zorluğumda bana destek olan ve sevgilerini esirgemeyen annem Zülfiye KES'e, babam Turan KES'e, ablam Pınar KES'e ve daima destekçim olacak Süleyman BAL'a da çok teşekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER**

	<b><u>Sayfa</u></b>
ÖZET.....	V
ABSTRACT .....	VII
TEŞEKKÜR .....	IX
İÇİNDEKİLER.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XV
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	XIX
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	3
2.1 Biyomalzemeler ve Biyouyumluluk.....	3
2.1.1 Biyouyumluluk kavramı.....	3
2.1.2 Biyomalzemeler .....	5
2.1.2.1 Titanyum ve alaşımları.....	7
2.1.2.2 Titanyum ve zirkonyum metallerini karşılaştırmaya yönelik çalışmalar .....	11
2.1.2.3 Sağlık alanında kullanılan diğer metal ve alaşımlar.....	14
2.2 Osseoentegrasyon.....	15
2.2.1 Osseoentegrasyonun zorunlu olduğu ürünler: dental implantlar.....	18
2.2.1.1 Dental İmplantların Endikasyonları .....	18
2.2.1.2 Dental implantların operasyon teknikleri.....	19
2.2.2 Osseoentegrasyonda kemik-implant yüzeyi.....	22
2.2.2.1 Kemik-implant arayüzeyinde gerçekleşen olaylar .....	22
2.2.2.2 Kemik-implant arayüzeyinde materyalin verdiği yanıt.....	22

**İÇİNDEKİLER (Devam)****Sayfa**

2.2.3 İmplantlara hücre tutunmasında ve osseoentegrasyonda rol oynayan moleküler etkileşimler.....	23
2.2.4 Osteoblast ve fibroblast tutunmasına yönelik çalışmalar.....	24
2.3 Biyomalzemelerde Yüzey Modifikasyonları .....	29
2.3.1 Metal yüzeylerin modifikasyonları .....	29
2.3.2 Çeşitli yüzey modifikasyonlarına yönelik uygulamalar.....	30
2.3.3 İyon implantasyon yüzey modifikasyon yönteminin implantlarda kullanımı, iyon imlantasyon sistemleri tarihçesi ve çalışma sistemleri .....	36
2.3.3.1 İyon implantasyon sistemleri tarihçesi.....	36
2.3.3.2 İyon implantasyonuyla işlem gören malzemeler.....	38
2.3.3.3 İ yon implantasyonu yapılan elementlerden bazıları.....	38
2.3.3.4 İyon implantasyonunun getirdiği avantajlar.....	38
2.3.3.5 İyon implantasyonunun uygulama alanları .....	40
2.3.3.6 Farklı kategorideki iyon implantasyon sistemleri .....	44
2.3.3.7 MEVVA iyon üreticinin çalışma prensibi.....	46
2.3.3.8 İyon İmplantasyonuna Yönelik Gerçekleştirilmiş Çalışmalar .....	49
3. MATERYAL VE METOT.....	57
3.1 Materyal .....	57
3.1.1 Hücre Tutunma Testi Materyalleri.....	58
3.1.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Materyalleri .....	58
3.1.3 Giemsa ile Boyama ve Materyalleri.....	59
3.1.4 Sıvı Azotta Donmuş Hücreleri Çözdürme Materyalleri.....	59
3.1.5 Hemositometre Kullanarak Boya Almama Esaslı Hücre Sayımı Materyalleri .....	59

**İÇİNDEKİLER (Devam)**

	<b><u>Sayfa</u></b>
3.2 Metot .....	60
3.2.1 Sıvı Azot İçerisinde Saklanan Dondurulmuş SAOS-2 ve L929 Hücrelerinin Çözündürülerek Yeni Kültürlerin Hazırlanması .....	60
3.2.2 Hücre Kültürlerinin Giemsa İle Boyanması.....	60
3.2.3 Hemositometre Kullanarak Boya Almama Esaslı Hücre Sayımı.....	61
3.2.4 Hücre Tutunma Testi.....	62
3.2.5 Materyaller Üzerine Tutunan Hücrelerin Taramalı Elektron Mikroskopuyla (SEM) Fotoğraflanması .....	63
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	64
4.1 Hücre Tutunması Test Sonuçları.....	64
4.1.1 L929 Hücre Tutunması Sonuçları .....	64
4.1.2 SAOS-2 Hücre Tutunması Sonuçları .....	71
4.2 Tartışma.....	77
5. ÖNERİLER .....	78
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	79
ÖZGEÇMİŞ .....	83



**ŞEKİLLER DİZİNİ****Sayfa**

<b>Şekil 2.1 a;</b> Titanyum (Ti), zirkonyum kaplı titanyum (Ti-Z1) ve kontrol numune (CTR) üzerinde yapılan 4 günlük osteoblast ve fibroblast tutunma testi neticesindeki hücre miktarları .....	11
<b>Şekil 2.1 b;</b> Numuneler üzerinde fibroblast (a) ve osteoblast benzeri (b) hücrelerin tutunma morfolojisi.....	12
<b>Şekil 2.2;</b> 1750°C/7 dk reaksiyon neticesinde zirkonyum ve titanyum arayüzeyinin SEM mikrografı.....	13
<b>Şekil 2.3;</b> Titanyuma tutunan kemik hücresinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü .....	16
<b>Şekil 2.4;</b> Kemik-Titanyum arayüzeyi.....	17
<b>Şekil 2.5 a;</b> Doğal diş ile dental implant restorasyonun karşılaştırılması....	18
<b>Şekil 2.5 b;</b> Tek diş eksikliği .....	18
<b>Şekil 2.5 c;</b> Çoklu diş eksikliği .....	19
<b>Şekil 2.5 d;</b> Total diş eksikliği.....	19
<b>Şekil 2.6 a;</b> Drill yardımıyla kemikte yuvanın açılması .....	20
<b>Şekil 2.6 b;</b> İmplant gövdenin ve yardımcı aparatın kemiğe vidalanması...20	
<b>Şekil 2.6 c;</b> Yardımcı aparatın implant gövdeden çıkarılması .....	20
<b>Şekil 2.6 d;</b> Diş etinin kapatılması .....	21
<b>Şekil 2.6 e;</b> Kron için gerekli yardımcı aparatın implanta monte edilmesi..21	
<b>Şekil 2.6 f;</b> İmplantın protez aşaması.....	21
<b>Şekil 2.7;</b> Kemik-implant arayüzeyinde gerçekleşen olaylar.....	22
<b>Şekil 2.8 a;</b> Ti, Ti6Al4V ve CoCrMo numunelerde taramalı elektron mikroskobuyla elde edilen görüntüler.....	26

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

<b>Şekil 2.8 b;</b> 1 saatlik Osteoblast tutunma sonrasında SEM görüntülerinden	27
<b>Şekil 2.8 c;</b> 1 ve 3 saatlik tutunmalar neticesinde nanofaz Ti ve Ti6Al4V üzerindeki osteoblast yoğunluğu.....	28
<b>Şekil 2.9 a;</b> Titanyum plazma spreylili (TPS) titanyumlarda yüzeylerde SEM görüntüleri .....	31
<b>Şekil 2.9 b;</b> TiO kumlanmış yüzeylerde SEM görüntüleri .....	32
<b>Şekil 2.9 c;</b> SLA yüzeyli titanyum dental implantların SEM görüntüleri ..	33
<b>Şekil 2.9 d;</b> Plazma spreyle hidroksiapatit (HA) kaplı yüzeyde SEM görüntüsü.....	34
<b>Şekil 2.9 e;</b> Biyomimetik kalsiyum fosfat kaplamanın SEM görüntüleri....	35
<b>Şekil 2.10;</b> Kaplama ile iyon implantasyonu arasındaki fark .....	39
<b>Şekil 2.11 a;</b> MEVVA İyon Üreteci.....	47
<b>Şekil 2.11 b;</b> MEVVA İyon Kaynağı'nın temel elektriksel bileşenleri .....	47
<b>Şekil 2.11 c;</b> MEVVA İyon İmplantasyon Sistemi.....	48
<b>Şekil 2.11 d;</b> Faraday kabı .....	48
<b>Şekil 2.12 a;</b> İmplant edilmemiş 316 L paslanmaz çelik numunede sürtünme katsayısı.....	50
<b>Şekil 2.12 b;</b> N implante edilmiş 316 L paslanmaz çelik numunede sürtünme katsayısı.....	50
<b>Şekil 2.12 c;</b> Zr implante edilmiş 316 L paslanmaz çelik numunede sürtünme katsayısı.....	51
<b>Şekil 2.12 d;</b> Zr+O implante edilmiş 316 L paslanmaz çelik numunede sürtünme katsayısı.....	51
<b>Şekil 2.12 e;</b> İmplant edilmemiş Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.12 f; N implante edilmiş Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı.	52
Şekil 2.12 g; Zr implante edilmiş Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı .....	53
Şekil 2.12 h; Zr+O implante edilmiş 316 Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı.....	53
Şekil 2.13; Histolojik kesit alanları.....	56
Şekil 3.1 a; 20x büyütme ile SAOS-2 hücre görüntüsü.....	61
Şekil 3.1 b; 20x büyütme ile Giemsa boyama sonrası SAOS-2 hücre görüntüsü.....	61
Şekil 3.2; Tutunma testi düzeneği.....	63
Şekil 4.1 a; Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği .....	67
Şekil 4.1 b; Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği .....	68
Şekil 4.2; 2 saatlik L929 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları karşılaştırmalı grafiği .....	69
Şekil 4.3; Lamel ve titanyum yüzeylerdeki fibroblast tutunma SEM görüntüleri .....	70
Şekil 4.4 a; Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği .....	73
Şekil 4.4 b; Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği .....	74
Şekil 4.5; 2 saatlik SAOS-2 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları karşılaştırmalı grafiği .....	75
Şekil 4.6; Lamel ve titanyum yüzeylerdeki SAOS-2 tutunma SEM görüntüleri .....	76



## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1 a;</b> Ti, Ti6AlV, Co28Cr6Mo malzemelerde partikül boyutları..	25
<b>Çizelge 2.1 b;</b> Nanofaz ve konvansiyonel metallerde yüzey pürüzlülüğü...	26
<b>Çizelge 2.2;</b> En sık kullanılan implantasyon elementleri .....	38
<b>Çizelge 2.3 a;</b> 316 L paslanmaz çelik numunelerde genel sonuçlar .....	54
<b>Çizelge 2.3 b;</b> Ti-6Al-4V numunelerde genel sonuçlar.....	54
<b>Çizelge 2.4;</b> PIII ile muamele edilmiş ve edilmemiş numuneler gerilme mukavemeti ve çekme kuvvetleri açısından karşılaştırılması .....	55
<b>Çizelge 3.1.a;</b> 5832-2 sınıf 4 (grade-4) saf titanyum malzemede yüzde kimyasal bileşimler .....	57
<b>Çizelge 3.1.b;</b> Numunelerin implantasyon şartları .....	57
<b>Çizelge 4.1 a;</b> L929 tutunma testi 1. tekrar tutunan ve tutunmayan hücre adetleri.....	65
<b>Çizelge 4.1 b;</b> L929 tutunma testi 2. tekrar tutunan ve tutunmayan hücre adetleri.....	65
<b>Çizelge 4.1 c;</b> L929 tutunma testi 1. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları.....	66
<b>Çizelge 4.1 d;</b> L929 tutunma testi 2. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları.....	66
<b>Çizelge 4.2;</b> 2 saatlik L929 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları .....	69
<b>Çizelge 4.3 a;</b> SAOS-2 tutunma testi 1. tekrar tutunan ve tutunmayan adetleri .....	72

**ÇİZELGELER DİZİNİ (Devam)****Sayfa**

<b>Çizelge 4.3 b;</b> SAOS-2 tutunma testi 2. tekrar tutunan ve tutunmayan hücre adetleri.....	72
<b>Çizelge 4.3 c;</b> SAOS-2 tutunma testi 1. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları.....	72
<b>Çizelge 4.3 d;</b> SAOS-2 tutunma testi 2. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları.....	72
<b>Çizelge 4.4;</b> 2 saatlik SAOS-2 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları.....	75

## 1. GİRİŞ

İnsan vücudunun herhangi bir organ ve dokusunu iyileştirmeye yönelik ya da bir takım fonksiyonlarını gerçekleştirmek amacıyla tasarlanan protez ve implantlar; polimerler, metaller, seramikler ve bunların kompozitleri olan biyomalzemelerden hazırlanmaktadır. Biyomalzemeleri diğer malzemelerden ayıran en önemli özellik bu malzemelerin vücut ile uzun süreli teması halinde vücut tarafından kabul edilebilirliği ve istenmeyen immunolojik reaksiyonlara yol açmamasıdır. Son 50 yıldır biyouyumlu olan implant malzemelere çeşitli yüzey modifikasyonları yapılarak implante edildiği bölgelerde etkileşim halinde olduğu hücrelerin tutunmasını ve *osseoentegrasyonu* artırma gibi çalışmalarla üst seviyelere çıkarılmıştır. Biyouyumlu olarak bilinen malzemelerden kobalt-krom alaşımlar kalp kapakçıkları ve stentlerde, platinyum grubu alaşımlar elektrodalarda, alüminyum oksit-kalsiyum fosfat gibi seramikler biyoaktif yüzeylerde ve kemik dolgusu olarak, poli (metil metakrilat) gibi polimerler oküler lenslerde ve kemik çimentosu olarak, silikonlar yumuşak doku iyileşmesinde, polyester tekstiller ise vasküler greftler gibi çeşitli protezlerin üretilmesinde kullanılmaktadır. Dental implantlar, ortopedik implantlar, spinal cerrahi ürünleri, kalça ve diz protezleri ise güçlü mekanik özelliklerinden dolayı sıklıkla metaller ve alaşımlarından üretilmektedir. Bu metaller paslanmaz çelikler, kobalt-krom alaşımları ve çok daha yoğunluklu olarak titanyum ve alaşımlarıdır (**Williams, 1991**).

İyileşmeyi sağlamak amacıyla vücuda yerleştirilen implantlarda öncelikli olarak biyouyumlu malzemelerin kullanılmasının yanında bu ürünlerin hızlı iyileşmeyi sağlaması, kemik matriksi ve implant arasında karakteristik bir arayüzey tabakası oluşturması, biyomekanik dayanımının yüksek olması gerekmektedir. Bu özellikler implant tasarımı ve şekli, malzemenin yüzey topografisi ve yüzey kimyası, mekanik yükleme, cerrahi yöntem, hastanın kemik kalitesi ve kantitesi gibi bir çok parametreye bağlıdır. Malzemelerin yüzey kimyasını değiştirmeye yönelik olarak da yüzey modifikasyonları gerçekleştirilmektedir (**Puleo ve Nanci 1999**).

Dental implantasyon sonrası iyileşmede ise kemik hücreleri olan osteoblast ve dişeti hücreleri olan gingival fibroblastların implant yüzeyine tutunması ve implant ile dokular arasında arayüzey oluşması oldukça önemlidir. Özellikle osteoblastların tutunmasına yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmalarda farklı yüzey denemeleri yapılmıştır. Bu denemeler parlak yüzeyler ile farklı seramik malzemelerle kumlanmış, asitle dağlanmış pürüzlü yüzeylerde karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilmiştir (**Guehennec vd., 2008**). Malzeme yüzeylerinin pürüzlendirilmesinin yanında

plazma sprej gibi yöntemlerle kaplama işlemleri de gerçekleştirilerek osseoentegrasyon artırılmaya çalışılmaktadır. Fakat bu gibi yöntemler sağlık uygulamalarında istenilen uzun süreli stabilitenin sağlanmasını garantilememektedirler. Günümüzde kaplama, yüzey pürüzlendirme gibi modifikasyonların yanında iyon implantasyonu gibi son teknoloji ürünü modifikasyonlar gerçekleştirilmektedir. Özellikle titanyum implantlarda yüzeye yakın bölgelerde çeşitli iyonların implantasyonuna yönelik yapılan uygulamalarda osseoentegrasyonun ve implant stabilitesinin artırıldığı belirlenmiştir (**Krischok vd., 2007**).

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1 Biyomalzemeler ve Biyouyumluluk

#### 2.1.1 Biyouyumluluk kavramı

Vücut, yabancı malzemeler için yıpratıcı bir kimyasal çevre oluşturmaktadır. İmplant edilmiş bir biyomalzemenin özellikleri vücut sıvıları tarafından değiştirilebilmektedir. Korozyon gibi degradasyon mekanizmaları da vücut sıvısındaki iyon konsantrasyonları ve pH değişimleriyle birlikte hızlanmaktadır. Vücudun implante edilen malzemeye verdiği yanıt iyi huylu bir tepkiden kronik inflamatuvar reaksiyona dönüşebilmektedir. İmplant edilmiş malzemelerin uygun performans göstermeleri için uygun mekanik dayanıklılık, biyouyumluluk ve fizyolojik ortamda yapısal biyostabiliteye sahip olmaları gerekmektedir. Dolayısıyla biyomatemal bilimiyle ilgili olarak implante edilebilir malzemelerde sınıflandırma öncelikle malzemelerin kimyasal kompozisyonu ve biyolojik uyumlulukları çerçevesinde geliştirilmektedir (**Block vd., 1997**).

Biyoyumluluk kavramına bakıldığında ise bir malzemenin biyoyumlu olması için bulunduğu canlıdaki fizyolojik ortam tarafından kabul edilmesi gerektiği anlaşılmaktadır. Bu yaklaşımlara rağmen biyoyumluluğun çok kesin bir tanımı yoktur. Çünkü kullanılan malzemenin vücudun neresinde ve ne amaçla kullanılacağı bu tanımı belirler. Fakat özetle malzemenin spesifik bir uygulamada uygun konukçu yanıtı oluşturabilmesi kabiliyeti olarak tanımlanabilmektedir. Çünkü biyomalzemeler de mikroorganizmalar gibi yabancı olarak algılanarak vücut tarafından oluşturulan bazı koruyucu mekanizmalarla karşı karşıya kalırlar. Bu mekanizmalar da bir çok farklı komponent ve proses içermekle beraber temel olarak spesifik ve non-spesifik olmak üzere iki ayrı kategoridedirler. Bu mekanizmalardaki süreçler temelde aynı ajanlar tarafından oluşturulurlar ancak birbirlerinden farklıdırlar. Örneğin makrofaj hücreleri spesifik ve non-spesifik yanıtların ikisinde de önemli rol oynamaktadırlar (**Williams, 1991**).

Biyolojik sınıflandırma implantın dokuya verdiği tepki ve sistemik toksisite etkilerine göre yapılmaktadır ve bu temelde biyomalzemeler üç ana sınıf altında toplanmaktadır: biyotolerant, bioaktif ve biyo inert. Kemik implant arayüzeyinde uzun süreli etkileşim neticesinde polimetilmetakrilat (PMMA) gibi biyotolerant malzemelerde ince fibröz bir doku arayüzeyi oluşmaktadır. Bu fibröz doku oluşumu, malzemedan gelen kimyasal ürünlerin implantı çevreleyen dokuda oluşturduğu irritasyon neticesinde gerçekleşir. Titanyum ve alüminyum oksit gibi biyo inert malzemelerde uygun

mekanik şartlarda arayüzeyde doğrudan kemik etkileşimi veya osseointegrasyon adı verilen oluşum gerçekleşir. Osseointegrasyonun gerçekleşebilmesinin sebebi malzeme yüzeyinin malzemeyi çevreleyen doku ve vücut sıvıları ile kimyasal reaktiflik göstermemesidir. Kalsiyum fosfat ve cam gibi biyoaktif malzemeler incelendiğinde kemik-implant arayüzeyinde implant ve çevreleyen doku arasında doğrudan kimyasal bir bağ oluşmaktadır. Bu bağın da implant yüzeyinden serbest kalsiyum ve fosfat bileşenlerinin salınması sebebiyle gerçekleştiği düşünülmektedir (**Block vd., 1997**).

Implante edilmiş bir malzemeye verilen lokal ve sistemik yanıtın minimize edilmesi malzemelerin biyouyumluluğunun arttırılabilmesiyle gerçekleştirilebilecek bir mühendislik kavramıdır. Protez olarak kullanılan bir implant aynı zamanda implant stabilitesinin uzun süreli olabilmesi için uygun stres kuvvetini kemik yüzeyine transfer edebilme ve kuvveti tolere edebilme özelliğinde olmalıdır. Fizyolojik olmayan stres kuvveti transferi de kemik-implant arayüzeyinde basınç nekrozlarına veya resorbsiyonlarına sebep olmaktadır. Nekrotik ve resorbe olmuş kemik implant gevşemesine ve dolayısıyla kayıba sebep olmaktadır. Sonuç olarak implant malzemelerinin iyi biyouyumluluk özelliklerinin yanında siklik vücut kuvvetlerini de kaldırabilir özellikte olması gerekmektedir (**Block vd., 1997**).

Biyomalzemelerin vücut, hücre, doku ve onların sıvılarıyla oluşturduğu biyolojik reaksiyonlar incelendiğinde ise bu reaksiyonların fiziksel veya kimyasal olup hücre ve dokularda nekroza kadar giden patolojilere sebep olabildiği anlaşılmıştır. Bir ajanla yaralanma sonucu kronolojik olarak üç aşamalı bir lezyon zinciri oluşabilir.

- a. Biyokimyasal lezyon
- b. Fonksiyonel lezyon
- c. Morfolojik lezyon

Biyokimyasal lezyon; sirkülasyonda meydana gelen akut oksijen yetersizliği ile başlar. Eğer bu durum birkaç dakika devam ederse oksidatif fosforilasyonda azalma meydana gelir. Takip eden zamanda ATP (Adenozin trifosfat) üretimi hemen hemen son bulur.

ATP belli başlı üç çeşit hücre fonksiyonunda kullanılır.

- Membran transportu
- Hücrede kimyasal bileşiklerin sentezi.
- Mekanik iş.

Biyokimyasal lezyonu fonksiyonel lezyon izler. Fonksiyonel lezyonda, hücre membranındaki sodyum pompalarında işlevsel bozukluklar ortaya çıkar.

Son aşama olan morfolojik lezyonda ise hücre ve çekirdek membranları bütünlüğünü kaybeder. Bu da lizozomal enzimlerin ortaya salınmasına neden olur. Yoğun bir lizis aktivasyonu başlar. Lizozomal aktivite hücrenin nekrozuyla son bulur. Aslında lizozomlar çok önemli fizyolojik yıkım olaylarının mimarlarıdır. Fizyolojik görevlerinin yanısıra yaralanmalarda ortaya çıkan lizozomal enzimler, hücre veya dokuların, bir dizi dejenerasyon olayından sonra nekroza kadar giden patolojik süreçlerinden sorumludurlar (**Williams, 1991**).

### 2.1.2 Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, vücudun herhangi bir organ ve dokusunu iyileştirmeye yönelik ya da bir takım fonksiyonlarını gerçekleştirmek amacı ile tasarlanan araç ya da protezlerde kullanılan malzemelerdir. İnsan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas eden malzemelerdir. Biyomalzemeler konakçı organizmada kalıcı veya geçici bir çok reaksiyona sebep olabilirler. Biyomalzemelerin sebep oldukları bu reaksiyonlar doku yararına yani beklenen malzeme yanıtı şeklinde gelişebileceği gibi önceden umulmadığı şekilde olumsuz özellikler de gösterebilir (**Silver ve Christiansen, 1999**).

Biyomateryallerin, konakçıda oluşturabilecekleri biyolojik etkiler biyotolere, biyoinert, biyoaktif ve toksik olmak üzere dört ana gruba ayrılabilir (**Wataha vd., 1996**).

**Biyotolere etki:** Biyomateryal, uygulandığı bölgede, sınırlı fibröz bir doku ile çevriliyorsa biyotolere etkiden söz edilir. Kullanılan pek çok biyomateryal, konakçıda biyotolere etki oluşturur.

**Biyoinert etki:** Biyomateryal, uygulandığı kemik dokuyla, arada sınırlı fibröz bir doku olmadan birleşir. Çoğu zaman materyaller uygulandıkları dokuyu, dokular da kendilerine uygulanan materyali etkilemek çabasıdadırlar. Biyoinert etki, bu tür etkileşimlerin görülmediği materyal-konakçı ilişkisine verilen isimdir.

**Biyoaktif etki:** Biyomateryal, uygulandığı dokuda, benzer hücrelerin

oluşumunu aktive ediyorsa bu etki biyoaktif etkidir.

**Toksik etki:** Vücut içerisinde kullanılan materyaller bir çok testten geçirilerek biyouyumluluğu onaylandıktan sonra kullanım alanına girebilirler. Allerjik, immün, nonimmün, mutajenik, karsinojenik ve inflamatuvar etkileri olan malzemelere ise toksik malzemeler denmektedir.

Biyomalzeme seçiminde ise başlıca şu kriterler aranır ;

- Biyolojik açıdan uyumlu olmalı,
- Histolojik açıdan uyumlu olmalı,
- Toksik, mutajenik yada karsinojenik etkisi olmamalı,
- Sterilizasyon işlemlerinden etkilenmemeli,
- Antijen yada hapten benzeri davranış özelliği göstermemeli,
- Mümkünse allerjik determinantı çok az olmalı,
- Metalse korozyona karşı yüksek dirençli olmalı,
- Yapısı homojen olmalı,
- Hasta tarafından kabul edilebilir olmalıdır (**Wataha vd., 1996**).

Biyomalzemeler; polimerler, metaller, seramikler ve bunların kompozitlerinden hazırlanabilir.

Metaller ve alaşımları güçlü mekanik özelliklerinden dolayı ortopedik ve dental cerrahide implant madde olarak kullanılır. Metaller korozyon ve doku hassasiyetine neden olsalar da birçok biyomekanik özelliklerinden dolayı en çok kullanılan biyomalzemelerdendir.

Polimerik biyomateryaller de çok değişik şekillerde ve özelliklerde hazırlanabilmeleri, yüzey özelliklerinin modifiye edilebilmesi gibi pek çok avantaja sahiptirler. Örneğin polietilenin (PE) yüksek dayanım ve düşük esneme özelliklerinden dolayı, yüksek molekül ağırlığına sahip formları ortopedik implantlarda kullanılmaktadır. Politetrafloroetilen (PTFE), ticari adıyla teflon, yüksek kristaliniteye, düşük yoğunluk, elastik modülü, yüzey gerilimi ve sürtünme katsayısına sahip olmasından dolayı yapay damarlar şeklinde kullanılmaktadır. Poliamidler işlenebildikleri için ameliyat ipliği ya da yara örtü materyali olarak kullanılırlar. Polietilenteraftalat (PET) ise kalp kapakçıklarını dikme amacıyla kullanılan bir polimerdir (**Bose vd. 2000**).

Vücudun zarar görmüş parçalarının değişimi ve yeniden yapılandırılması için kullanılan seramik maddelere ise biyoseramik denir. Biyoseramikler, korozyona dayanıklı, üstün sürtünme özellikleri olan, allerjik ve kanserojen olmayan inorganik, düşük yoğunluklu maddelerdir. Biyoseramikler ortopedi ve dişçilikte, diz, kalça ve kas değişimi, çenenin

yeniden yapılandırılması, çene kemiğinin sabitleştirilmesi ve omurga kemiği füzyonunda kemik dolgu maddesi olarak kullanılır (**Bose vd. 2000**).

Biyoseramikler ise doku ile etkileşimlerine göre biyoinert, biyoaktif ve biyobozunur seramikler olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Biyoinert seramikler canlı dokuyu değiştirmeden doku ile bir arada bulunabilir. Biyoaktif seramikler kemikle ya da canlı organizmanın yumuşak dokusu ile kimyasal bağ yapma özeliği gösterirler. Biyobozunur seramikler doku ile yer değiştirir (**Dubok, 2000**).

### **2.1.2.1 Titanyum ve alaşımları**

Titanyum, katıldığı alaşımlara sertlik kazandıran, alkalin ve asit ortamların oluşturduğu, koroziv etkiye oldukça dirençli, gümüş rengine hafif bir metaldir. Erime ısısı çok yüksektir ve döküm esnasında genellikle kalıp malzemeleriyle birleşme eğilimindedir. Oda şartlarında son derece zor olan döküm işlemini kolaylaştırmak amacıyla ortamda nitrojen bulduran özel vakumlu döküm teknikleri kullanılır. Titanyumun fiziksel özellikleri, elastikiyet modülü dışında hemen hemen paslanmaz çelikle aynıdır (**Niinomi, 1998**).

Ticari saf titanyuma %6 aliminyum ve %4 vanadyum eklenmesiyle implant uygulamalarında sıklıkla kullanılan ve oldukça stabil bir malzeme olan alaşım elde edilebilir. Titanyumlarda *in vitro* korozyon direnci son derece iyidir. Korozyona olan dirençleri nedeniyle dokulara iyon salınımları hemen hemen hiç yoktur. Korozyona olan direncin titanyum yüzeylerde oluşan oksit tabakasından kaynaklandığı bilinmektedir. Bu aynı zamanda metale doku dostu bir özellik kazandırmaktadır. Uzun dönemde, uygulandıkları dokularda subletal konsantrasyonlarda bile iyon salınımı göstermezler. Bu da sitotoksik etki doğurmamasına neden olur. Hayvan ve kullanım deneyleri titanyum ve alaşımlarının biyouyumluluklarının mükemmel yakın olduğunu göstermektedir (**Niinomi, 1998**).

Bir metal okside olup yüzeyinde bu oksit tabakasını fizyolojik koşullarda koruyorsa pasif olduğu düşünülür. Titanyum fizyolojik koşullarda yüksek derecede pasif özellik sergiler. Hava ile temas ettiğinde,  $10^{-9}$  saniye içinde yüzeyinde 10 Å kalınlığında bir oksit tabakası oluşturur. Oksit tabakası 1 saniye içinde 2-5 nanometre kalınlığa ulaşır. Birkaç dakika içerisinde de bu tabaka 100 Å kalınlığa ulaşır. Bu kalınlıktaki oksit tabakası, korozyon direncini dikkate değer ölçüde artırır ve metale oldukça iyi bir doku uyumu özeliği kazandırır. Zamanla implant malzemesi düzeyinde küçük değişiklikler ve buna bağlı konakçı dokuda titanyum birikimi yada

pigmentasyonu görülebilir. Titanyumun sebep olduğu pek çok **metalozis** yani metal partiküllerinin birikimi olguları literatürdeki yerlerini almıştır. Korozyona direnci florid içeren ortamlarda oldukça azalmaktadır. Klorid içeren solüsyonlarla *in vivo* şartların simüle edildiği ortamlarda da, anodik polarizasyonla korozyon ölçümleri sonucu titanyumun en dirençli biyomateryal olduğu saptanmıştır (**Öztarhan vd., 2007**).

En çok kullanılan biyomalzemelerden olan titanyumun özelliklerini şu şekilde özetleyebiliriz;

- Titanyum reaktif bir metaldir. Bunun anlamı havada, suda veya oksit olan herhangi başka bir elektrolit metal üzerinde kendiliğinden bir oksit tabakası oluşturur. Bu tabaka ile kalın bir film oluşur ve vücut sıvılarınıninki de dahil olmak üzere kimyasal saldırılardan metal korunmuş olur.
- Titanyum doku içerisinde inert bir özellik gösterir. Doku ile temas halinde bulunan film tabakası çözünmeyen özelliktedir. Bu durumda organik moleküllerle reaksiyona girebilecek iyon salınımı gerçekleşmemektedir.
- Titanyum iyi mekanik özellikler göstermektedir. Dayanma kuvveti oldukça yüksek olan bir malzemedir. Hatta titanyumun kortikal kemik veya dentinden çok daha sert olduğu bilinmektedir. Narin, zayıf biçimdeki dental implantların elde edilmesinde kullanıldıkları halde büyük yükleri de taşıyabilecek kadar dayanıklıdırlar. Ayrıca bu metalin sert ve dövülebilir biçimde olması şok yüklemelerden etkilenmemesine, eğilme ve bükülmelere rağmen kırılmamasına neden olmaktadır.
- Titanyum doku ve kemik içerisinde pasif davranış göstermez. Kemik pürüzlü yüzeye doğru büyümektedir ve kemikle bağlanma göstermektedir. Bu niteliğinden dolayı da bu malzeme biyoaktif bir malzemedir. Bu yapışan biçimde bağlanma, osseoentegrasyon olarak isimlendirilmektedir (**Niinomi, 1998**).

Demir, alüminyum, krom, molibden gibi metallerin eser miktardaki ilaveleri ile saf titanyumun mekanik özellikleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu elementlerin ilavesiyle oluşturulan ve en çok kullanılan titanyum alaşımları  $Ti_6Al_4V$  ve  $Ti_6Al_4V/ELI$  'dir. Bunun dışında  $Ti_5Al_{2.5}Fe$ ,  $Ti_6Al_7Nb$  ve  $Ti_{4.5}Al_5Mo_{1.5}Cr$  alaşımları kullanılır. Bunun yanında saf titanyum çeşitleri de  $Ti_1$ ,  $Ti_2$ ,  $Ti_3$  ve  $Ti_4$  olmak üzere dörde ayrılırlar (**Niinomi, 1998**).

## Titanyumda Korozyon – Kimyasal Uyumluluk

Standart elektrot potansiyel elektrokimyasal serileri genellikle korozyon reaksiyonunun açıklanmasında kullanılmaktadır. Standart elektrot potansiyeli elektrolitte 1 molar iyon solüsyonunda oksidasyon hızının (metal atomları serbest elektronlar içeren metal iyonlarına oksitlenirler) indirgenme hızına (metal iyonları elektronları tüketerek yük kaybeder) eşit olduğu potansiyeldir.

Tahmin edilebileceği gibi, elektrokimyasal seriler kimyagerler tarafından kullanılan teorik bir kavramdan öte değildir. Titanyum reaktif metal serileri içerisinde sınıflandırılmaktadırlar fakat cerrahi implantlar ve kimyasal aparatlar için kullanılabilir en dirençli metaldir.

Metaller elektrokimyasal serilerde galvanik serilerden daha farklı bir sıradadırlar ve potansiyel değerleri birbirlerine daha yakındır. Bu durumun elektrokimyasal açıklaması; metal iyonlarını içeren kısmi reaksiyonun etkisinin, bu iyonların konsantrasyonunun düşük olması sebebiyle göz ardı edilebilir olmasıdır. Bu reaksiyon metali kutuplaştıran itici güçtür ve böylece aşınan bir metal üzerinde tüm reaksiyonlar gerçekleşmektedir. Birçok metal için potansiyel gerçekten bu değer etrafındadır. Deniz suyu, doku sıvısı ve tükürük gibi sulu elektrolitlerde bu etki gözlenmektedir. Oluşan redoks potansiyeli platin elektrot ile ölçülmektedir (doku içerisinde 0.3 V<sub>H</sub>).

1960’larda Pourbaix korozyon süreçlerini açıklamak amacıyla yeni bir kavram geliştirmiştir. Buna göre korozyon mekanizmasının tahmini ancak kendiliğinden oluşan reaksiyonların ne olduğu ve sonuçta hangi korozyon ürünlerinin stabil olduğu bilinebildiği durumda gerçekleştirilebilmektedir. Reaksiyon ürünleri sadece metal iyonlarından değil aynı zamanda metal oksitler ve halojen bileşiklerden (Cl, F, vs) de oluşmaktadır.

Metaller ve civa su içerisinde immündür. Metaller kompakt bir tabakada çözünmeyen oksit oluşturmak amacıyla kendiliğinden oksitlendiklerinde pasif davranış göstermektedirler ve böylece korozyona karşı koruyucu bir tabaka oluşturmaktadırlar. Bir metalin immun veya pasif olup olmadığı ortamın asit veya alkali olup olmamasına, oksitleyici veya indirgeyici bileşenlerini (örn. hidroklorik asit veya klorat) içerip içermediğine de bağlıdır. Metalin bu gibi faktörlere duyarlılığı ne kadar azalırsa korozyona karşı direnci o kadar artmaktadır. Titanyum ve altın çok benzer korozyon dirençlerine sahiptir. Elektriksel olarak izole edilmiş, ince bir oksit film reaktif titanyumu korozyon ortamından korumaktadır.

Metalik biyomalzemelerin korozyonu, sadece elektrokimyasal metotlarla çalışılabilmektedir. Çünkü korozyon olayı ne belirgin olarak gözlenebilmekte ne de ağırlık kaybı ile saptanabilmektedir. Korozyon hızını ölçmek için hibrit metodu kullanılmıştır. Korozyon potansiyelini in vivo ölçmüşlerdir ve daha sonrasında bu potansiyelde oksijen-free fizyolojik solüsyonlarda anodik kısmi akım (korozyon akımı) belirlenmiştir. Canlı dokuda korozyonu inhibe eden veya indükleyen birçok süreç bulunmaktadır. Bu durumda in vivo doğrudan ölçüm tercih edilmelidir. Polarizasyon direnci korozyon akımı ile ters, oksitlenmiş veya korozyona uğramış metal miktarı ile doğru orantılıdır.

Sonuçlara göre paslanmaz çelik veya titanyum gibi metallerde korozyon hızı çok düşüktür. Korozyon ile her gün metal atomlarının bir katından daha azı uzaklaştırılır. Bu sonuç da titanyum malzemenin tamamıyla oksitlenmesi için bir milyon yıldan daha fazla zaman geçmesi gerektiği sonucunu vermektedir.

Sonuç olarak “kimyasal uyumluluk” terimi korozyon ile aynı anlamda kullanılmaktadır. Sıfır korozyona sahip bir malzeme de bulunmamaktadır. Fakat minimum korozyon hızı da aslında (biyo) kimyasal uyumluluğu garantilemektedir. Dolayısıyla titanyum da düşük korozyon hızıyla iyi bir malzemedir (**Schroeder vd., 1995**).

### **Titanyumun Elektrolit İçerisindeki Davranışı**

Titanyum oksit, titanyum metali veya çözelti içerisindeki iyonlarından çok daha stabildir. Titanyum oksitlendiği zaman ortaya çıkan enerji, suyu bileşenlerine ayırmak için gerekli olan enerjiden daha fazladır. Zaten bu da oksit oluşturma reaksiyonunun kendi kendine oluşmasının en büyük sebebidir. Kendiliğinde oluşan oksit tabakası titanyum üzerinde kalınlığı 3nm veya 20 atomik tabaka kalınlığında ince bir film tabakası oluşturur.

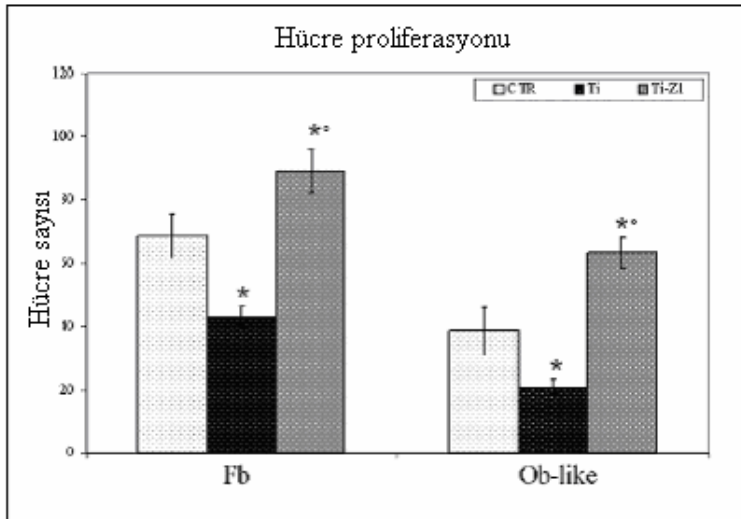
İnsan vücuduna hergün diyetlerle birlikte çeşitli kimyasal formlarda önemli miktarlarda titanyum girmektedir. Giren miktarın %40'ı veya yaklaşık 300  $\mu\text{g}$ 'ı metabolize edilmektedir. Bu miktar titanyum implantın oksitlenmesi neticesinde salınan titanyum miktarından yaklaşık 10000 kat daha fazladır. Dolayısıyla vücuda titanyum implantın yerleştirilmesinin toplam implant yükünü arttırıcı yönde bir etkisi olmamaktadır. Böylece allerji gibi sistematik reaksiyonlar veya organlarda depolanma oluşmamaktadır (**Schroeder vd., 1995**).

Biyomedikal alanda titanyum biyomalzemesi birçok tipte implantın

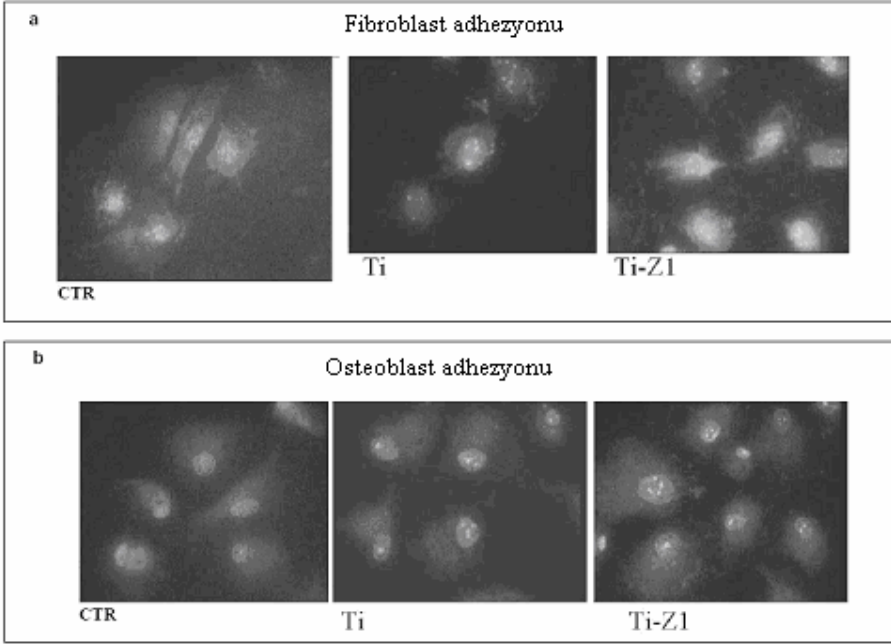
üretiminde kullanılmaktadır. Dental implant olarak kullanılan titanyum, kaybolan dokuların fonksiyonlarını iade etmek için uygun bir malzemedir. Bu tür uygulamalarda oldukça yaygın olarak kullanılırlar. Dental implantlarda saf titanyumun yanında Ti-6Al-4V alaşımı da kullanılmaktadır. Kemikten sert olmalarına rağmen elastikiyet modülü, kemiğe yakındır. Bu özellik kemik ve implant ara yüzünde uygun bir kuvvet dağılımı sağlar. Dental implantların ortopedik implantlara göre önemli bir avantajı vardır. Ortopedik implantlar uygulamayı izleyen ilk günlerde kuvvetleri karşılamak zorundayken dental implantlar bir süre için streslerden korunabilirler (Williams, 1998).

### **2.1.2.2 Titanyum ve zirkonyum metallerini karşılaştırmaya yönelik çalışmalar**

Doku uyumluluğu ve biyomekanik özellikleri kanıtlanmış, ayrıca bakteriyel tutunmanın ve plak akümüasyonunun düşük olduğu, biyomedikal alanda sık kullanımı olan biyomateryallerden zirkonyum ve titanyumun karşılaştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde titanyum ile zirkonyum kaplanmış titanyum üzerinde insan akciğer fibroblastik hücreleri (MRC5) ve insan primer osteoblastlarının tutunması ve çoğalması incelenmiştir. Şekil 2.1 a'da bu çalışmada gerçekleştirilen fibroblast ve osteoblast tutunma testi neticesinde elde edilen hücre miktarları ve proliferasyonları karşılaştırılmaktadır. Şekil 2.1 b'de ise yine aynı çalışmaya ait osteoblast ve fibroblast hücre adhezyon morfolojileri gözlenmektedir (Bianchi, 2004).



**Şekil 2.1 a;** Titanyum (Ti), zirkonyum kaplı titanyum (Ti-Zr) ve kontrol numune (CTR) üzerinde yapılan 4 günlük osteoblast ve fibroblast tutunması testi (Bianchi, 2004).



**Şekil 2.1.b;** Numuneler üzerinde fibroblast (a) ve osteoblast benzeri (b) hücrelerin tutunma morfolojisi. Materyaller 6 saat inkübe edilmiştir. Analiz flöresan mikroskobunda 250x büyütme ile gerçekleştirilmiştir (**Bianchi, 2004**).

Şekil 2.1 a ve 2.1 b' de görüldüğü gibi bu analizler, yumuşak doku hücrelerinden olan fibroblastlar ile sert doku hücrelerinden olan osteoblastların tutunma ve proliferasyonunun titanyuma zirkonyum kaplama neticesinde artış olduğunu göstermektedir (**Bianchi, 2004**).

Zirkonyum oksit yüksek biyouyumluluk özelliği, çizilmeye sıyrılmaya karşı dirençliliği gibi özelliklerinden dolayı dental uygulamalarda oldukça sık kullanılan biyoseramiklerden biridir. Ancak düşük sıcaklıklarda bozunması ve düşük stabil mekanik özelliklerini arttırmaya yönelik olarak oluşturulmuş yeni bir zirkonyum alaşımı ((YNb)-TZP/alumina) ile saf titanyum diskler üzerine osteoblast benzeri HOS hücrelerinin tutunmasının karşılaştırılmasına yönelik olarak bir çalışma gerçekleştirilmiştir (**Ko vd., 2007**).

Çalışma neticesinde zirkonyum alaşımının saf titanyum numunelerle osteoblast yanıtı açısından karşılaştırıldığında kısa süreli denemeler neticesinde benzer ve hatta biraz daha iyi özellik gösterdiği, implant

malzemesi olarak kullanıma uygun bir aday olduğu belirlenmiştir (Ko vd., 2007).

Biyouyumluluk ve biyomekanik özellikler açısından karşılaştırıldığında birbirini tamamlar özellikte bulunan zirkonyum ve titanyum biyomalzemelerinin birbirleriyle arayüzeysel reaksiyonlarının ve etkileşiminin incelendiği bir başka çalışma da şöyledir.  $1800^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta titanyumun eriyik halde bulunması halinde  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$  ve  $\text{MgO}$  gibi oksitlerle penetre olabilmektedir ve titanyum ile zirkonyum reaksiyona girmektedir. Bu çalışmada da zirkonyum ile titanyum arasındaki arayüzeyin mikroyapısı Şekil 2.2’de görüldüğü gibi transmisyon elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Çalışmada saf titanyum tozu ile kalsiyum oksit stabilize olmuş  $\text{ZrO}_2$  pleytler zirkonyum kröze içerisine koyularak elektrik rezistanslı bir fırına konulur. Sıcaklığın çeşitli aşamalar neticesinde  $1800^{\circ}\text{C}$ ’ye çıkarılmasıyla reaksiyon gerçekleştirilir (Lin ve Lin,1998).

A →|← B →|← C →|← D →|← E



**Şekil 2.2;**  $1750^{\circ}\text{C}/7$  dk reaksiyon neticesinde zirkonyum ve titanyum arayüzeyinin SEM mikrografı. Bölge A:reaksiyona girmemiş  $\text{ZrO}_2$ , Bölge B:  $\text{ZrO}_{2-x}$ , Bölge C:kimyasal reaksiyon tabakası, Bölge D: $\alpha$ -tabakası, Bölge E:reaksiyona girmemiş titanyum (Lin ve Lin, 1998).

### **2.1.2.3 Sağlık alanında kullanılan diğer metal ve alaşımlar**

Krom-Kobalt alaşımları 1907’de geliştirilmiştir. 1930’ların ortalarında cerrahi implant malzemesi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Son 40 yıldır özellikle ortopedik biyomalzeme olarak oldukça geniş kullanım alanı bulmuşlardır. Bunun en önemli nedenleri, bir biyomalzemede aranan özelliklere yakın performans sergilemesi ve üretiminin kolay olmasından kaynaklanan ekonomik avantajları olmuştur **(Dalkız vd., 2000)**.

Mekanik özellikleri oldukça iyidir. Sadece eksternal streslerle şekillendirilebilmeleri zordur. Biyomalzeme olarak kullanılacak krom-kobalt alaşımları, karpit çözeltilerde kuvvetlendirilirler. İşlem sonunda oluşan değişiklik geleneksel ısıtma terapileriyle sağlanamayacak kadar iyidir. Döküm özellikleri iyi olduğundan bu alaşımlar özellikle subperiostal implant uygulamalarında yaygın olarak kullanılırlar. Ek olarak yüksek aşınma direnci, ortopedik eklem replazmanlarında krom-kobalt alaşımlarını gözde malzemeler yapmıştır. İn vivo ve in vitro korozyon dirençleri titanyumdan sonra en iyi metal alaşımıdır. Arasına korozyona bağlı başarısızlıklar görülse de bunun sebebinin dizayn hatasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Krom-kobalt alaşımlarındaki konakçı yanıtı krom-nikel alaşımlarından daha az ancak titanyum ve alaşımlarından daha fazladır **(Dalkız vd., 2000)**.

Krom-Nikel alaşımlarının implant malzemesi olarak kullanımı ise 1930’larda başlamıştır. Biyolojik uyumları titanyum ve alaşımları kadar iyi değildir. Hatta krom-kobalt alaşımları bile biyolojik uyum açısından krom-nikel alaşımlarından daha iyi performans sergiler. Molibden ilavesine rağmen, biyomalzeme olarak kullanılan metal alaşımlarından korozyon direnci en düşük olanı krom-nikel alaşımlarıdır. Bu da malzemenin sitotoksik özelliğini arttırmaktadır. İmplant malzemesi olarak özellikle dar bölgelerde uygulandığında, oksit tabakasını koruyamaz ve uygulandığı dokuda sıvı kompozisyonunda değişikliklere sebep olabilir. Anodik polarizasyon yöntemiyle yapılan korozyon değerlendirmelerinde krom-nikel alaşımlarının çukurcuk korozyonuna uğradığı gösterilmiştir **(Dalkız vd., 2000)**.

Altın ise 1970’li yıllara kadar, alternatif metal alaşımları henüz çok yaygın değilken oldukça fazla ve başarıyla kullanılmış bir metaldir. Altın, biyouyumluluğu en iyi metal alaşımlardan biridir. Kullanım testlerinde altından elde edilen kalıcı protetik yapılara karşı oluşan reaksiyonlar son derece enderdir **(Bezzon, 1993)**.

Altın tuzlarının intravenöz uygulamalarında bile toksisite oldukça nadirdir. Romatoid artrit, diskoid lupus gibi sistemik hastalıkların

tedavisinde, altın tyoglüköz yada altın tiyomalat preparatları şeklinde intravenöz kullanımları da mevcuttur (**Bezzon, 1993**).

Saf altın, yumuşak, işlenebilir bir metaldir ve normal atmosferik şartlarda okside olmaz. Ancak, güçlü oksidatif koşulların varlığında oksidasyon gerçekleşir. Genel olarak, lekelenme yada korozyona yeterli direnç gösterebilmesi için, bir altın alaşımının en az % 75'inin altından oluşması gerekir. Altına bağlı lokal yada sistemik yan etkiler son derece seyrek görülür (**Bezzon, 1993**).

## 2.2 Osseoentegrasyon

Dental implantlar, diş kaybı bulunan hastalarda çiğneme ve konuşma da dahil olmak üzere oral fonksiyonların restorasyonunda ayrıca estetik açıdan da iyileştirmeyi sağlayan çok kullanışlı bir tedavi yöntemidir. Fakat bu tedavi yönteminin başarısının düşük olmasının en önemli sebeplerinden biri hastaların düşük miktar ve kalitede alveolar kemiğe sahip olmaları ve osteoporoz gibi hastalıklarının olmasıdır. Implant ile implante edildiği bölgenin bütünleşmesi, kısacası osseoentegrasyon olayı da dolayısıyla iyileşmenin en önemli faktörü olmaktadır (**Block vd., 1997**).

Osseoentegrasyon canlı kemik ile implant yüzeyi arasındaki doğrudan yapısal ve fonksiyonel bağlantıdır. Biyolojik olmayan malzemenin insan iskeleti içerisine red olayı başlamadan birleşmesini ve kronik inflamatuvar yanıt oluşmadan sürekli penetrasyonunu içeren bir olaydır. Ayrıca osseoentegrasyon, implant kompozisyon karakteristiklerinden gerçekleşen dinamik bir olaydır. İmplant sektöründe en çok kullanım alanına sahip malzeme titanyum ve alaşımlarıdır. Titanyum her zaman dış bir oksit tabakasıyla kaplanır ve bu tabaka da konakçının canlı dokularıyla doğrudan teması ve zararlı metalik iyonların etkisini engeller. Bu yüzey tabakası, titanyum dioksit ( $TiO_2$ ), biyolojik olarak inert, implantın yeni bir kemik tarafından kabul edilmesini sağlayan tabakadır (**Block vd, 1997**).

Osseoentegre olmuş dental implantlar doğal dişlerin sahip olduğu periodontal ligamentten yoksundur. Mineralize kemik temas ettiği implant yüzeyinin uzunluğunca büyür. Koroner uçta osseoentegre implantların etrafındaki yumuşak dokular sıkı bir doku bariyeri oluştururlar. Bu doku bariyeri doğal dokulardaki ile karşılaştırıldığında oranca daha yüksek kollajene karşılık daha düşük fibroblast içermektedir. Kollajen fiber oluşumu için çimento eksikliğinden dolayı dental implantlar etrafındaki fiberler implant yüzeyine paralel olarak yerleşirler. Doğal dişlerdeki gibi epitel hücreler implant yüzeyine hemidesmozomlar, bazal lamina, epitel ile sürekli

apikal olan sulkular epitelden oluşan *sulcus* yardımıyla bağlanır. (Block, 1997).

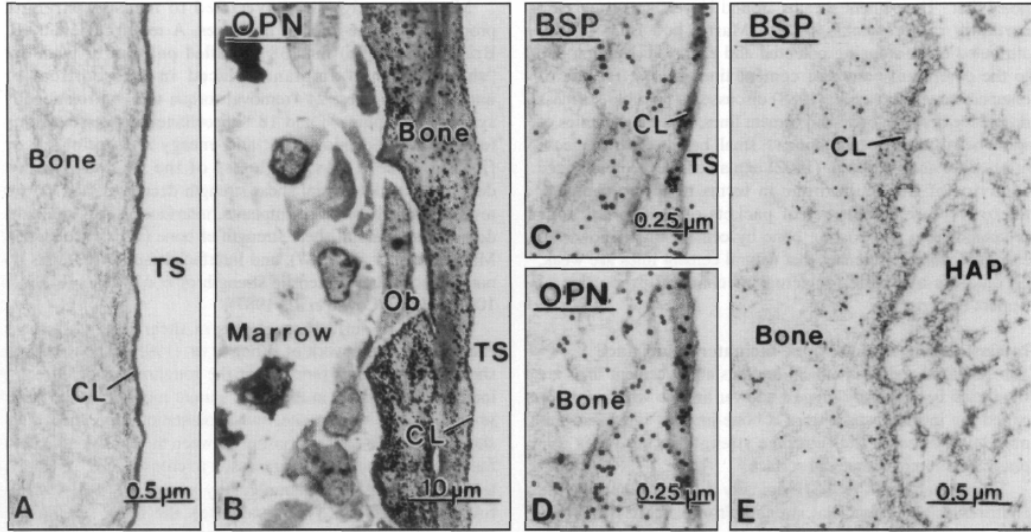


**Şekil 2.3;** Titanyuma tutunan kemik hücresinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü (<http://www.branemark.se/>)

İmplant edilmiş biyomalzemeler etrafındaki osseointegrasyon mekanizmasının temelinde yatan süreçler kemik kırıklarının iyileşmesi boyunca gerçekleşen proselerle çok benzerdir. İmplantın yerleştirilmesinden sonraki ilk faz boyunca implant ve kemik arasındaki boşluğu dolduran kan pıhtısının yerini osteoid doku ve yeni trabeküler kemik alır. Daha sonrasında doku, implant yüzeyinin büyük çoğunluğuyla temas halinde bulunan lamellar kemiğe dönüşerek osseointegrasyonun biyolojik süreci tamamlanmış olur. Bu süreçte kemik kalsifikasyonu, aktif osteoblast ve osteositleri de içeren kemik oluşturan hücreler tarafından ekstraselüler organik matriks salgılanmasıyla gerçekleştirilir. Şekil 2.3, titanyum implanta kemik hücresinin tutunmasını göstermektedir. Osteoblastlar ve osteositler aynı zamanda bulk ekstremler sıvılar ve kalsifiye kemik içerisinde bulunan iyonların birbirleri arasında değişiminin düzenlenmesinden de sorumludur. Osseointegrasyonun tamamlanmasıyla da peri-implant kemik iyileşmesi gerçekleşmiş olur (Li vd., 2008).

Kemik resorpsiyonu yapan osteoklastlar, immün hücreler, fibroblastlar gibi diğer hücre tiplerinin de osseointegrasyon mekanizmasında yer alsa da peri-implant osteogenezinde temel süreçler kollajen zengin matriks sentezinden ve mineralizasyondan sorumlu osteoblastlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Taramalı elektron mikroskobuyla yapılan incelemeler

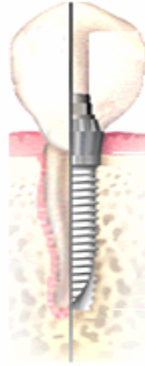
neticesinde osteoblastlar ve titanyum yüzey arasında erken ve geç implantasyon süresi boyunca doğrudan bir bağ olduğu, osteoblastların implant yüzeyine çıkıntılılarıyla tutunduğu gözlenmiştir (Şekil 2.4) (Brunski, 1999; Li vd., 2008).



**Şekil 2.4;** Kemik titanyum arayüzeyi. (A) Kemik ve titanyum yüzeyi arasındaki arayüzey değişken bir morfoloji gösterir. Bu arayüzey doğal kemiklerde bulunan sement hatları (CL)/laminer sınırlarla aynı elektron kalınlığındadır. (B-E) İmmünohistokimyasal boyama neticesinde implante edilmiş minyatür bir vida adımına karşı oluşturulan yeni kemikteki kemik sialoproteini (BSP) ve osteopontin (OPN), hidroksiapatit partikülleri ve alveolar kemik gözlenmektedir. (B) Kalın bir doku kesitinin (1,5 µm) antiosteopontin ve takibinde gümüş ile iyileştirilmiş protein A-altın ile inkübasyonu neticesindeki SEM görüntüsü. Kemik birikimi yüzeydedir ve implanttan uzaklaşır bir biçimdedir. OPN oluşan kemik matriksi boyunca lokalize olmuştur ancak sement hattı üzerindeki reaksiyon ürünü konsantrasyonu kemik-implant arayüzeyindedir. (C,D) transmisyon elektron mikroskopuyla alınan görüntüde sement hattının BSP ve OPN’ce zengin olduğu gözlenmektedir. (E) Kemik hidroksiapatit (HAP) yüzeyinde BSP gibi non-kollajen kemik matriksi proteinleri akümüasyonu gözlenmektedir. TS=titanyum alanı. Ob=osteoblast (Brunski, 1999).

### 2.2.1 Osseointegrasyonun zorunlu olduğu ürünler: dental implantlar

Dental implant çene kemiğine vidalanan ve yapay diş kökü vazifesi gören yapılardır.. Diğer tedavi yöntemleriyle karşılaştırıldığında implant restorasyonları doğal diş en çok benzeyenlerdir. Hareketli protezlerle karşılaştırıldığında dental implantlar, stabilite, fonksiyon, estetik açısından çok daha iyi sonuçlar vermektedir. Ayrıca kemik yapısının bütünlüğünü de korumaktadırlar (Sulzer, 2001). Şekil 2.5 a doğal diş ile dental implant restorasyonun karşılaştırılmasını göstermektedir.



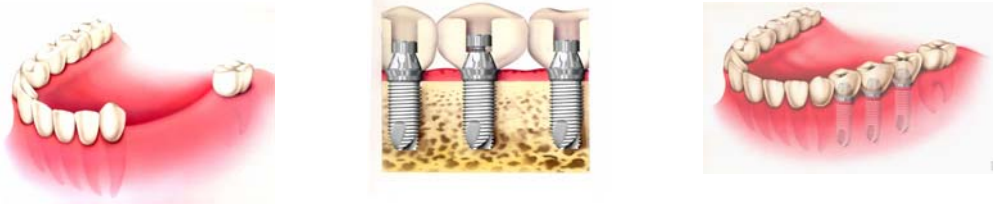
Şekil 2.5 a; Doğal diş ile dental implant restorasyonun karşılaştırılması (Sulzer, 2001).

#### 2.2.1.1 Dental implantların endikasyonları

Şekil 2.5 (b),(c),(d) çeşitli tipteki diş eksikliklerinde kullanılan dental implantların endikasyonlarını şematik olarak göstermektedir (Sulzer, 2001).



Şekil 2.5 b; Tek diş eksikliği (implant kron ile desteklenir)



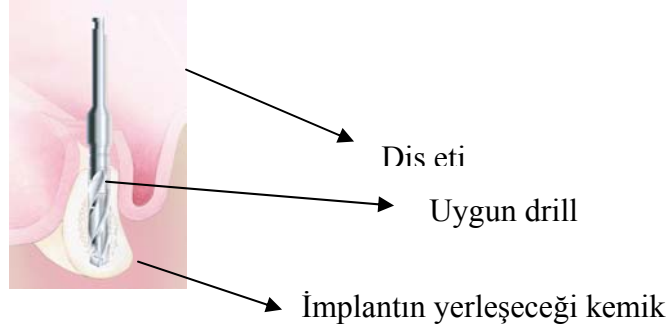
**Şekil 2.5 c;** Çoklu diş eksikliği (implant köprü veya bağımsız kronlarla desteklenir).



**Şekil 2.5 d;** Total diş eksikliği (diş implantı hareketli protez ile desteklenir).

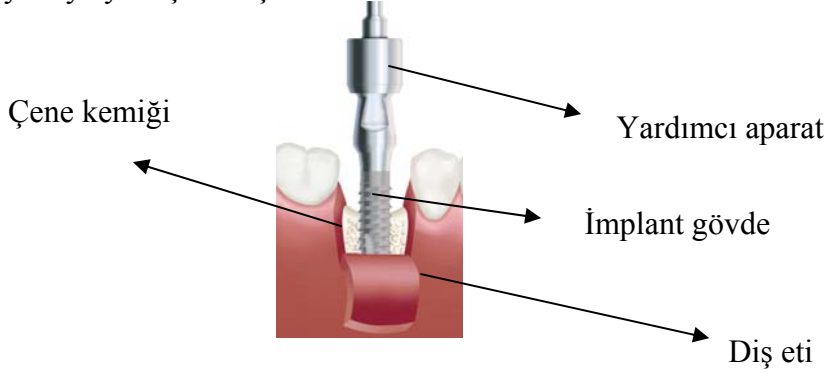
### **2.2.1.2 Dental implantların operasyon teknikleri**

Aşağıdaki Şekiller 2.6 (a),(b),(c),(d),(e),(f) implant uygulamasını adım adım şematik olarak göstermektedir (Sulzer, 2001). İmplant uygulamasının gerçekleştirileceği bölgede öncelikle ensizyon yapılarak diş eti kaldırılır. İmplantın yerleştirileceği kemikte uygun drillerle yuva açılır Şekil 2.6 a.



**Şekil 2.6 a;** Drill yardımıyla kemikte yuvanın açılması.

İmplant gövdesi ve üzerinde monte halde bulunan aparatla birlikte açılan yuvaya yerleştirilir Şekil 2.6 b.



**Şekil 2.6 b;** İmplant gövdenin ve yardımcı aparatın kemiğe vidalanması

İmplant, pürüzlendirilmiş yüzeyinin sonuna kadar, parlak kısım dişetinde kalacak biçimde çene kemiğine vidalanır ve yardımcı aparat gövdeden çıkarılır Şekil 2.6 c.



**Şekil 2.6 c;** Yardımcı aparatın implant gövdeden çıkarılması.

İmplant gövde yuvaya yerleştirildikten sonra diş eti kapatılır Şekil 2.6 d.



**Şekil 2.6 d;** Diş etinin kapatılması.

Belirli bir iyileşme periyodundan sonra porselen kronun altında bulunacak yardımcı aparat implant gövdeye yerleştirilir Şekil 2.6 e.



**Şekil 2.6 e;** Kron için gerekli yardımcı aparatın implanta monte edilmesi.

Gerekli preparasyonlar sonrasında porselen kron implanta simante edilerek işlem bitirilir Şekil 2.6 f.



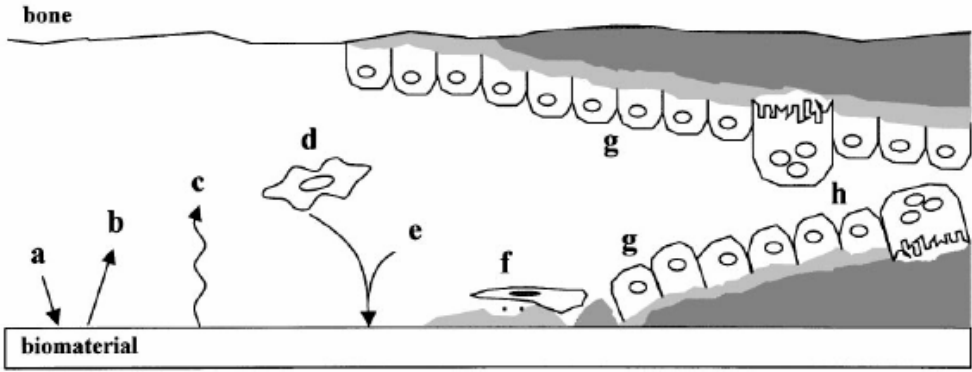
**Şekil 2.6 f;** İmplantın protez aşaması.

### 2.2.2 Osseointegrasyonda kemik – implant yüzeyi

Bir implantın implantasyon sonrası kemiğe entegrasyonunu etkileyen birçok kompleks faktör bulunmaktadır. Bu faktörler implantın malzemesi, şekli, topografisi ve yüzey kimyası gibi sadece implantla ilgili faktörler değil aynı zamanda mekanik yüklenme, cerrahi teknik ve kemik kalitesi gibi hastaya bağımlı değişkenlerdir.

#### 2.2.2.1 Kemik - implant arayüzeyinde gerçekleşen olaylar

Biyomalzemelerin performansı iki etkenden oluşmaktadır.. Konukçunun implanta olan yanıtı ve implantın konukçudaki davranışı Şekil 2.7’de şematik olarak gösterilmiştir.



**Şekil 2.7:** Kemik-implant arayüzeyinde gerçekleşen olaylar (a)Kandan ve doku sıvılarından biyomalzeme yüzeyine protein adsorpsiyonu, (b)protein desorpsiyonu, (c)yüzey değişimleri ve malzeme salınımı, (d) inflamatuvar ve bağlantılı doku hücrelerinin implanta ulaşması, (e)matris proteinlerinin hedeflenmiş salınımı ve çeşitli proteinlerin seçilmiş adsorpsiyonu, (f)lamina limitanlarının oluşumu ve osteogenik hücrelerin adhezyonu, (g)ekspoz olmuş kemik ve implant yüzeyinde kemik birikimi, (h)yeni oluşmuş kemiğin şekillenmesi (Puleo ve Nanci, 1999).

#### 2.2.2.2 Kemik - implant arayüzeyinde malzemenin verdiği yanıt

Metallerin implantasyonundan hemen sonra diğer biyomalzemelerde de olduğu gibi ilk gerçekleşen olay proteinlerin adsorpsiyonudur. Bu proteinler öncelikle yara bölgesindeki kan ve doku sıvılarından daha sonra da periprostetik alandaki hücresel aktiviteden gelir. Öncelikle yüzey üzerinde proteinler desorbe olur (doğal veya denatüre, intact veya fragmente) veya doku-implant etkileşimini sağlamak için aynı kalır. Ardından malzeme

yüzeyinde de çeşitli değişiklikler gerçekleşir. İmplant olarak kullanılacak malzemeler stabil oksit tabakalarına sahip olsalar da, fizyolojik ortamda elektrokimyasal değişiklikler geçirmektedirler. Örneğin saf titanyum implantlar sterilizasyon metoduna bağlı olarak implantasyon öncesi 2-6 nm kalınlığında bir oksit tabakasına sahiptir. İnsan dokusuyla karşılaşan implantların üzerindeki film tabakasının kalınlığı iki veya üç kat artmaktadır. Ortama Ca, P ve S eklendiği zaman da analitik çalışmalar neticesinde oksit film tabakasının kimyasal yapısının değiştiği anlaşılmıştır. Ayrıca dokuya metal iyonları salınır. Bu tipte korozyon ürünleri öncelikle lokal olarak daha sonra da sistematik olarak yayılma gösterir. Bu yükseltgenmiş metal iyonları hastaların hem periprostetik dokularında hem de ürünlerinin serumunda bulunmaktadır. Örneğin implantları çevreleyen fibroz membran zar etrafında yapılan metal seviyesi ölçümlerinde Ti6Al4V etrafında 21 ppm Ti ve 1 ppm V, CoCrMo etrafında da 2 ppm Co, 12,5 Cr ve 1,5 ppm Mo tespit edilmiştir. İz miktardaki metaller sağlık açısından gereklidir ancak toksik de olabilirler ve hipersensitivite reaksiyonlarına da sebep olabilirler. Ayrıca bazı in vitro çalışmalar subletal dozdaki metal iyonlarının bile osteoblast ve osteoklastların farklılaşmasında etkilerinin olduğunu göstermiştir (**Puleo ve Nanci., 1999**).

### 2.2.3 İmplantlara hücre tutunmasında ve osseoentegrasyonda rol oynayan moleküler etkileşimler

Hücre tutunması olayı incelendiğinde iki önemli faz öne çıkar, tutunma fazı hızlı gerçekleşir ve hücreler ile malzemeler arasındaki iyonik kuvvetler, van der Waals vs. kuvvetlerini içeren kısa süreli fizyokimyasal bağlantıları içerir. Adhezyon fazı ise daha uzun süre de gerçekleşir. Birbirleriyle etkileşime girerek sinyal iletimini indükleyen, transkripsiyon faktörlerinin ve iskelet proteinlerinin aktivasyonunu sağlayarak gen ekspresyonunun gerçekleşmesini sağlayan ekstraselüler matriks proteinleri, hücre membran proteinlerini ve iskelet proteinlerini içerir (**Anselme, 2000**).

Kemik ekstremler matriksi %90 kollajen proteinlerinden (%97'si tip I kollajen ve %3 tip V kollajen) ve %10 da kolajen olmayan proteinlerden (%20 osteokalin, %20 osteonektin, %12 kemik sialoproteinleri, %10 proteoglikanlar, osteopontin, fibronektin, büyüme faktörleri, kemik morfogenetik proteinleri vs.) oluşur. Bu proteinlerin tamamı osteoblastlar tarafından üretilir ve çoğu da adhezyonda kullanılır. In vitro adhezyonda bu proteinlerin yanısıra fibronektin ve vitronektin gibi proteinler de yer almaktadır (**Anselme, 2000**).

Doku kültürü yapılmış hücreler ile substrat yüzeyleri arasındaki adhezyon alanları fokal bağlantılar veya adhezyon plakları olarak adlandırılırlar. Fokal bağlantılar substrat yüzeyi ile hücre membranı arasındaki mesafenin 10-15 nm olduğu sıkı bağlantılardır. Bu bağlantıların eksternal yüzeyleri integrin gibi spesifik reseptör proteinleri sunarlar. İnternal yüzeyde ise talin, paxillin, vinculin, tensin gibi aktin filamentleri ve membran reseptör protein etkileşimlerini sağlayan proteinler bulunmaktadır. Adhezyon plağında integrin, sitoskelet proteinleri, proteazlar, protein kinazlar, fosfatazlar gibi birçok protein vinculin ve talin ile kolokalize olarak sinyal iletiminde rol alırlar (**Anselme, 2000**).

Hücrelerdeki fokal etkileşimler düşük motilite ile gerçekleşir ve in vitro ortamda fibronektin veya vitronektin gibi ekstraeselüler matriks proteinleriyle desteklenir. Hücre yapısında ve tutunmasında aktin iskeletinin yapısının büyük önemi vardır (**Anselme, 2000**).

Adhezyon molekülleri ise spesifik bir ligand ile etkileşim kabiliyetine göre karakterize olur. Bu ligandlar komşu hücrelerin membranlarında da bulunabilir veya ekstraselüler matriks proteinleri de olabilir. Selektinler, immunoglobülin süper ailesi, kaderinler ve integrinler adhezyon moleküllerinin dört temel sınıfını oluşturmaktadırlar (**Anselme, 2000**).

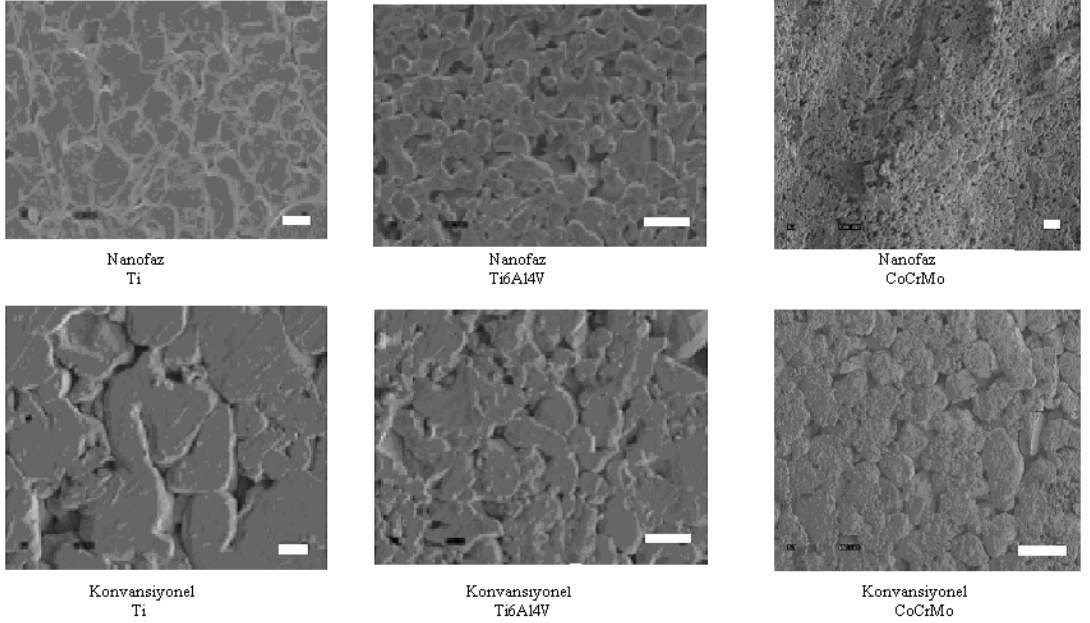
#### **2.2.4 Osteoblast ve fibroblast tutunmasına yönelik çalışmalar**

Alüminyum oksit, titanyum oksit, hidroksiapatit gibi konvansiyonel seramiklerle poli laktik-glikolik asit ve poliüretan gibi polimerler, karbon nanofiber/tüplere ve kompozitlere osteoblast tutunmasının incelendiği bir çok çalışmanın yanında Ti, Ti6Al4V ve CoCrMo gibi nanofaz metallerin üzerine tutunmanın karşılaştırıldığı bir çalışma mevcuttur. Zaten bu biyometaryaller de dental ve ortopedik implant uygulamalarında en sık kullanılan malzemelerdir. Çizelge 2.1 a'da çalışmada kullanılan malzemelerin nanofaz ve konvansiyonel fazları arasındaki farklar gösterilmektedir. (**Webster ve Ejafor, 2004**).

**Çizelge 2.1 a;** Nanofaz ve konvansiyonel fazdaki metallerin karşılaştırılması. Partikül boyutu 1µm civarında bulunan metaller nanofaz diğer metaller de konvansiyonel olarak isimlendirilmektedir.

Malzeme	Tip	ASTM numarası	Partikül boyutu	Partikül tipi
Ti	Nano	F-67; Gr2	0.5-2.4	Süngerimsi
Ti	Konv.	F-67; Gr2	> 10.5	Süngerimsi
Ti6Al4V (alaşımli)	Nano	F-136	0.5-1.4	Süngerimsi (Ti); düzensiz (Al/V)
Ti6Al4V (alaşımli)	Konv.	F-136	>7.5	Süngerimsi (Ti); düzensiz (Al/V)
Co28Cr6Mo	Nano	F-75;F-799	0.2-0.4	Küresel (Co); düzensiz (Cr ve Mo)
Co28Cr6Mo	Konv.	F-75;F-799	44-106	Küresel (Co); düzensiz (Cr ve Mo)

Şekil 2.8 a'daki SEM fotoğraflarından ve Çizelge 2.1 b'deki tablodan da anlaşılacağı gibi nanofaz yapısındaki malzemelerde yüzey pürüzlülüğü daha fazladır.

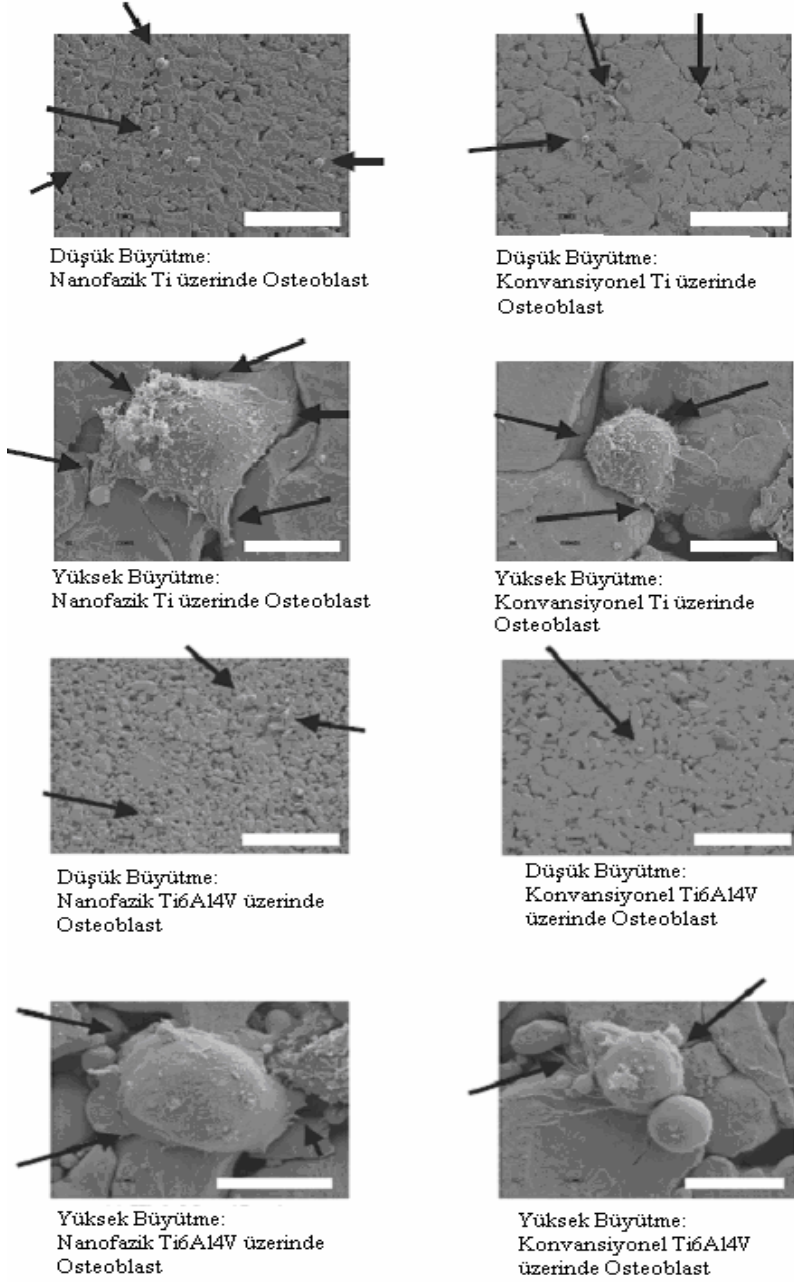


**Şekil 2.8 a;** Ti, Ti6Al4V ve CoCrMo numunelerde taramalı elektron mikroskopuyla elde edilen görüntülerde nanofaz ile konvansiyonel örnekler karşılaştırıldığında nanoyapılı yüzey pürüzlülüğününün nanofazlarda daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Nanofaz numunelerde barın uzunluğu 1µm, konvansiyonel numunelerde ise 10 µm'dir (**Webster ve Ejafor., 2004**).

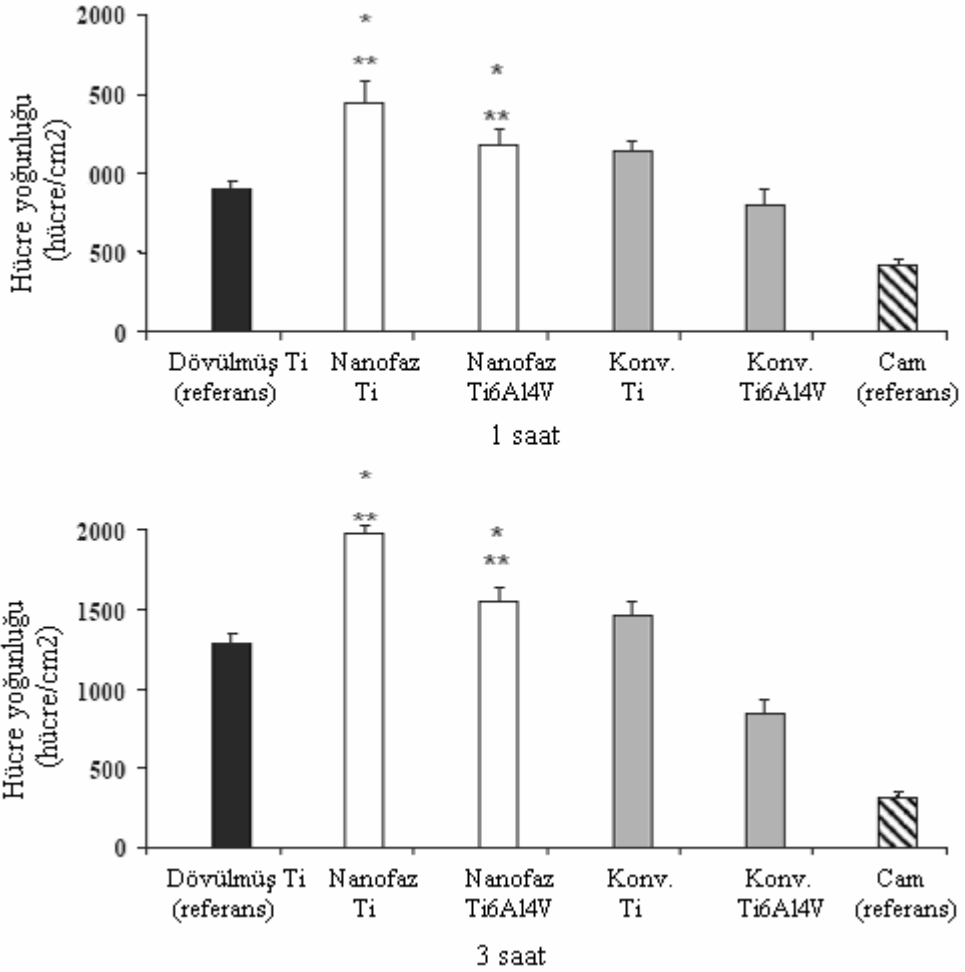
**Çizelge 2.1 b;** Nanofaz ve konvansiyonel metallerde yüzey pürüzlülüğü (**Webster ve Ejafor., 2004**).

Substrat	Yüzey pürüzlülüğü (rms; nm)
Ti (nano)	11.9
Ti (conv)	4.9
Ti6Al4V (nano)	15.2
Ti6Al4V (conv)	4.9
CoCrMo (nano)	356.7
CoCrMo (conv)	186.7

Şeki 2.8 b ve Şekil 2.8 c'den de anlaşılacağı gibi çalışma neticesinde yüzey yapısı daha pürüzlü olan numunelerde hücre tutunmasının daha yoğun olduğu, hücrelerin yüzey ile etkileşimlerinin daha fazla olduğu gözlenmektedir.



**Şekil 2.8 b;** 1 saatlik Osteoblast tutunma sonrasında SEM görüntülerinden elde edilen bilgiye göre nanofazik Ti ve Ti6Al4V üzerinde osteoblast adhezyonununun daha yoğun olduğu anlaşılmaktadır. Düşük büyütmede barın uzunluğu 100  $\mu\text{m}$ , yüksek büyütmede ise barın uzunluğu 10  $\mu\text{m}$ 'dir. Düşük büyütmede oklar hücreleri, yüksek büyütmede ise hücrelerin çıkıntılarını göstermektedir (Webster ve Ejafor., 2004).



**Şekil 2.8 c;** Grafiklerden de anlaşılacağı gibi 1 ve 3 saatlik tutunmalar neticesinde nanofaz Ti ve Ti6Al4V üzerindeki osteoblast yoğunluğu konvansiyonel olandan daha fazladır. Ti ve Ti6Al4V üzerindeki osteoblast yoğunluğu karşılaştırıldığında ise saf Ti üzerindeki yoğunluğun daha fazla olduğu anlaşılmaktadır (**Webster ve Ejafor., 2004**).

İnsan periodental ligament fibroblastlarının (HPLF) tutunmasının ve fibronektin (FN) adsorbsiyonunun kollajen kaplı ve kaplanmamış titanyum (Ti), poli laktik asit (PLA), poli laktik ko glikolik asit (PLGA) üzerine tutunmasına yönelik olarak bir başka çalışma gerçekleştirilmiştir. Buna göre kollajen kaplı disklerle erken kültür periyodunda PLGA tutunması daha yüksek olmuştur. Fakat aynı periyotta FN adsorbsiyonu ise Ti, PLA ve PLGA üzerinde daha fazla olmuştur. Çalışma neticesinde de HPLF'nin FN kontrolünde biyomalzemeler tarafından adsorblanabildiği belirlenmiştir (**Kobayashi vd., 2005**).

İnsan gingival fibroblastlarının alüminyum oksit üzerine tutunmasına yönelik olarak yapılan bir başka çalışma da şöyle gerçekleştirilmiştir. Preslenmiş-millenmiş ve sinterlenmiş alüminyum oksit üzerinde, preslenmiş-sinterlenmiş ve parlatılmış alüminyum oksit üzerinde fibroblast kültürü gerçekleştirilmiştir. Bu yüzeyler arasında en parlak olan parlatılmış numuneler en pürüzlü olan numuneler de millenmiş olanlardır. Analizin ilk zamanlarında parlak yüzeye olan tutunma millenmiş ve sinterlenmiş yüzeylerle karşılaştırıldığında daha fazla olmuştur. Ayrıca millenmiş yüzeyde hücre tutunması düzensizlikler göstermiştir. Fakat hücre kültüründen 3 gün sonra millenmiş ve sinterlenmiş yüzeylerde daha fazla hücre tutunduğu ve proliferasyon olduğu gözlenmiştir (**Mustafa vd., 2005**).

### 2.3 Biyomalzemelerde Yüzey Modifikasyonları

Her materyalin kendine özgü kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri vardır. Bunun yanında materyalin yüzey özellikleri, materyalin kendisinden belirgin farklılıklar gösterebilir. Bu farklılıklar üretimden yada sterilizasyondan kaynaklanan sebeplerle ortaya çıkabilirler.

Özellikle metalik yapıdaki implant materyallerinin yüzey özellikleri biyoyoum açısından önemlidir. Örneğin, düz yüzeyli saf titanyum implantlara göre pürüzlü yüzeye sahip TPS (Titanyum Plazma Sprey) kaplı, SLA (Sand Blasted Acid etche) , ve Laser Wailded yüzeyli implantların yanında pürüzlü yüzeye sahip TPC (trikalsiyum fosfat) ve HA (hidroksiapatit) kaplı implantların biyolojik açıdan daha uyumlu oldukları ve kısa sürede biyoaktif özellik göstererek osseointegrasyonu hızlandırdıkları bir çok çalışmada gösterilmiştir (**Jandt, 2007**).

#### 2.3.1 Metal yüzeylerin modifikasyonu

Metallerin dokularla oluşturduğu etkileşim, materyalin sıvı ortamda korozyona uğrarken ortama saldığı iyonlardan dolayı daha karışıktır. Farklı metal alaşımları incelenirse, protein adsorbsiyonunun her metal için farklı olduğu görülür. Ayrıca bu adsorbsiyon sadece yüzey enerjisiyle kontrol edilememektedir. Bu yüzden metallerin biyoyoumluluğuyla ilgili bir çalışmada, sadece oluşturulması düşünülen materyalin kompozisyonu değil ayrıca biyolojik çevrede oluşacak dekompozisyonu da gözönüne alınmalıdır (**Jandt, 2007**).

Metallerin biyolojik uyumluluklarını optimal seviyeye taşımak için yüzey kaplamaları oluşturulmasında pekçok yöntem vardır. Bunlardan en çok uygulananları, kimyasal ve fiziksel buhar çöktürme (CVD, PVD)

yöntemleridir (**Jandt, 2007**).

Yüzeyi kalsiyum fosfatla kaplanmış titanyumun, saf titanyum implantlarından daha sıkı osteointegre olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Sterilizasyondan önce ısı uygulamasına tutulmuş Ti-6Al-4V materyali ile bu işlemde geçirilmemiş örnekler karşılaştırılmış ve ısı uygulamasına maruz kalan örneklerin uygulandıkları bölgede oluşan yeni dokuda normalden daha fazla miktarda kalsiyum yığılması sağladıkları gösterilmiştir. Lityum ve titanyum implantlarının üzerlerindeki oksit tabakanın metalden iyon salınımını engellediği bilinmektedir (**Jandt, 2007**).

Bazı çalışmalarda, titanyum yüzeyinin protein adsorbsiyonunu artırdığı ve bunun da daha sıkı bir kemik formasyonu sağladığı gösterilmiştir. *İn vitro* çalışmalarda kollajen ve pıhtıdan elde edilmiş büyüme faktörü ile kaplanmış titanyum alaşımının insan fibroblastlarını daha fazla cezbediği gösterilmiştir. Biyoaktif camın, fibronektin ile kaplanmasının, hücre progresyonu için gerekli zamanı kısalttığı ve yapışık hücre morfolojisini olumlu yönde değiştirdiği gözlenmiştir (**Jandt, 2007**).

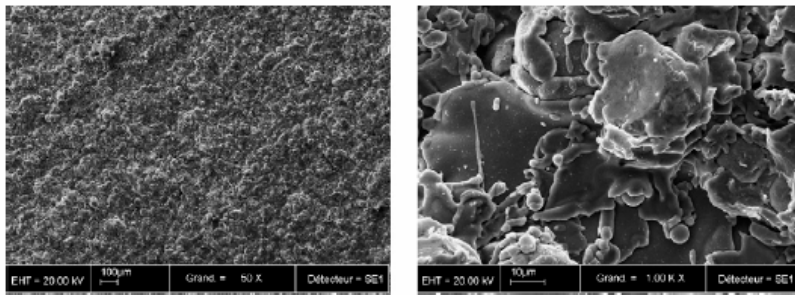
### 2.3.2 Çeşitli yüzey modifikasyonlarına yönelik uygulamalar

Titanyum dental implantlarda osseoentegrasyonu etkileyen en önemli faktör implantın yüzey pürüzlülüğüdür. Yüzeyi pürüzlendirilmiş implantlar kemik tutunması ve biyomekanik stabilitenin sağlanmasında daha etkindirler. Ayrıca osteokondüktif kaplamalar da kemik iyileşmesin indüklemektedirler. Titanyum plazma sprej, kumlama, asitle dağlama, anodizasyon veya kalsiyum fosfat kaplama gibi yüzey modifikasyonları işlemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada da osseoentegrasyonun artırılması, uzun süreli implant başarısının sağlanması için gerçekleştirilen işlemlerle ilgili bilgi alınabilmektedir (**Guehennec vd., 2007**).

İmplantlarda yüzey topografisi üçe ayrılmaktadır. Bunlar makro, mikro ve nano boyutlu topografilerdir. Makro seviyedeki yüzeyler milimetre ile 10 mikron arasındaki topografilerdedir. Bu ölçek doğrudan implant geometrisine bağlıdır, vida adımları ve makroporoz yüzey işlemleri ile yüzeye 10µm'den daha büyük pürüzlülük özelliği kazandırılır. Birçok çalışma neticesinde erken fiksasyon ve uzun süreli mekanik stabilitenin pürüzsüz yüzeylerden ziyade pürüzlü yüzeylerle gerçekleştirilebildiği, çünkü yüksek pürüzlülüğün implant yüzeyi ile üzerinde oluşan kemik arasında kilitlemeyi sağladığı anlaşılmıştır. Fakat çok yüksek pürüzlülük de iyonik sızıntıyı arttırabilmektedir. 1-2 µm civarındaki pürüzlülük bu iki parametreyi kapsayabilir. Mikrotopografik profil ise 1-10µm aralığında değişen yüzey

pürüzlülüğüdür. Bu boyut mineralize kemik ile implant yüzeyi arasındaki kilitlemeyi maksimize eden bir orandır. Nanometre boyutundaki yüzey profilleri ise proteinlerin adsorpsiyonu, osteoblastik hücrelerin adezyonu ve dolayısıyla osseointegrasyon hızında çok önemlidir. Bu boyuttaki yüzey profilinin oluşturulması ise kimyasal yöntemlerle oldukça zordur. Fakat osteoblastik hücrelerin adezyonunda büyük etkisi olan seçilmiş protein adsorpsiyonu ve hızlı kemik gelişimi nano boyutlu yüzey pürüzlülüğünde çok daha etkindir (**Guehennec vd., 2007**).

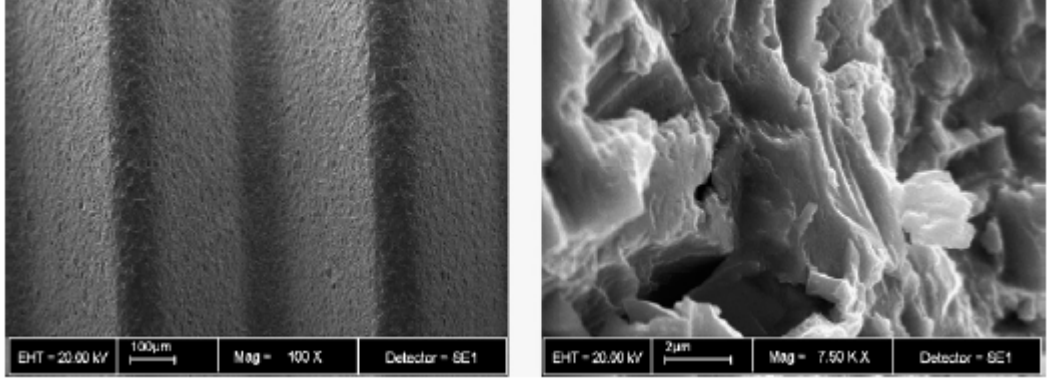
Titanyum plazma sprej (TPS) metodunda (Şekil 2.9 a) yüksek sıcaklıkta plazma ile beraber titanyum toz partiküllerinin titanyum yüzeyine püskürtülmesiyle yüzey pürüzlendirilir. Bu tipte kaplama neticesinde yüzeyde 7 µm civarında pürüzlülük oluşur. Pürüzsüz yüzeye sahip numuneler ve TPS kaplanmış numunelerle domuzlarda yapılan implantasyon denemeleri neticesinde kemik/implant arayüzeyinde çekme mukavemetinin ve kemik oluşum hızının arttığı belirlenmiştir. Fakat bu yöntemle çalışılan numunelerde titanyum partiküllerinin implanttan kopması ve karaciğer, dalak gibi organlarda küçük agregatlar yaparak kanserojenik etkiler oluşturması gibi sakıncalı durumlar söz konusudur(**Guehennec vd., 2007**).



**Şekil 2.9 a;** Titanyum plazma sprejli (TPS) titanyumlarda yüzeylerde SEM görüntüleri (**Guehennec vd., 2007**).

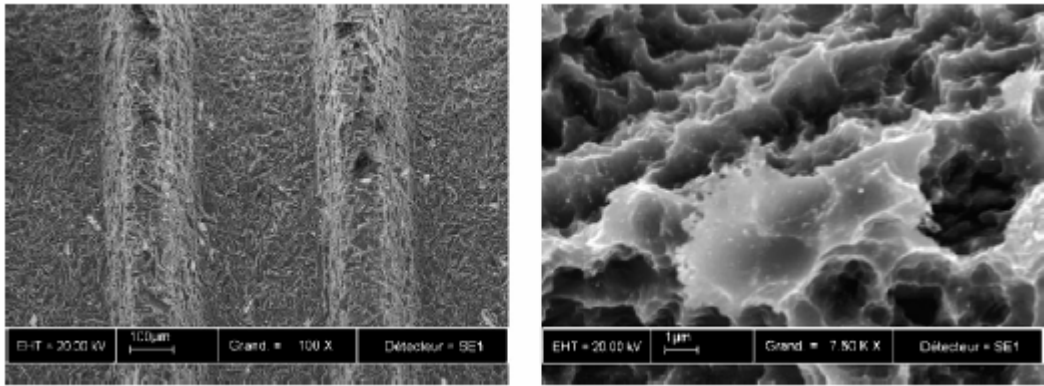
Kumlama yönteminde ise (Şekil 2.9 b) sert seramik partikülleri ile yüzeyin pürüzlendirilmesi gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde seramik partiküller yüksek hızda ve basınçla bir tabanca vasıtasıyla, seramik partiküllerinin boyutuna bağlı olarak titanyum yüzeylerde girintiler oluşturmaktadır. Kumlama materyalinin biyouyumlu ve osseointegrasyonu engellemeyecek özellikte olması gerekmektedir. Bu sebeple genelde alüminyum oksit, titanyum oksit ve hidroksiapatit, beta-tri kalsiyum fosfat ve karışımları gibi kalsiyum fosfat partikülleri kullanılmaktadır. Bu işlem neticesinde sıklıkla kumlama materyali implant yüzeyine gömülme ve ultrasonik yıkama, asit pasifleme ve sterilizasyon işleminden sonra bile kalıntı bırakabilmektedir. Bu partiküllerin implantasyon sonrası dokuya

salınması gibi bir risk bulunmaktadır. Ancak kumlama neticesinde yüzeylerde 1-2  $\mu\text{m}$  civarında pürüzlülük oluşturulabilmektedir. Kumlama neticesinde kemik-implant temasının arttığına yönelik birçok çalışma mevcuttur (**Guehennec vd., 2007**).



**Şekil 2.9 b;** TiO kumlanmış yüzeylerde SEM görüntüleri (**Guehennec vd., 2007**).

Asitle dağlamayla yapılan (SLA) ve HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub> ve HF gibi kuvvetli asitlerin kullanılmasıyla yapılan diğer bir pürüzlendirme yönteminde (Şekil 2.9 c) ise 0,5-2  $\mu\text{m}$  civarında pürüzlülük oluşturulabilmektedir. Bu yöntemle osseoentegrasyon çok hızlı bir biçimde arttırılmaktadır. Konsantre HCl ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gibi asitlere asitin cinsine göre 100<sup>0</sup>C üzerindeki sıcaklıkta daldırılan implantlarda mikropürüzlü yüzeyler oluşturulabilmektedir. Bu tip yüzeylerde fibrin ve osteogenik hücrelerin tutunması arttırılarak kemik oluşumunun doğrudan implant yüzeyde oluşturulması sağlanmaktadır. Bu tip yüzeylerin kumlanmış veya asitle dağlanmış yüzeylerle karşılaştırıldığında homojen bir poroziteye sahip olmaları ve fibrin adhezyonunu arttıran dolayısıyla osteoblastaların yüzey boyunca göç etmesini tetikleyen ıslanabilirliğinin olması sebebiyle osseoentegrasyonda daha etkin olduğu anlaşılmaktadır. Bu yöntemin dezavantajı ise yüksek sıcaklıklardaki asit uygulaması sebebiyle titanyumun mekanik özelliklerinde azalma yaşanmasıdır (**Guehennec vd., 2007**).

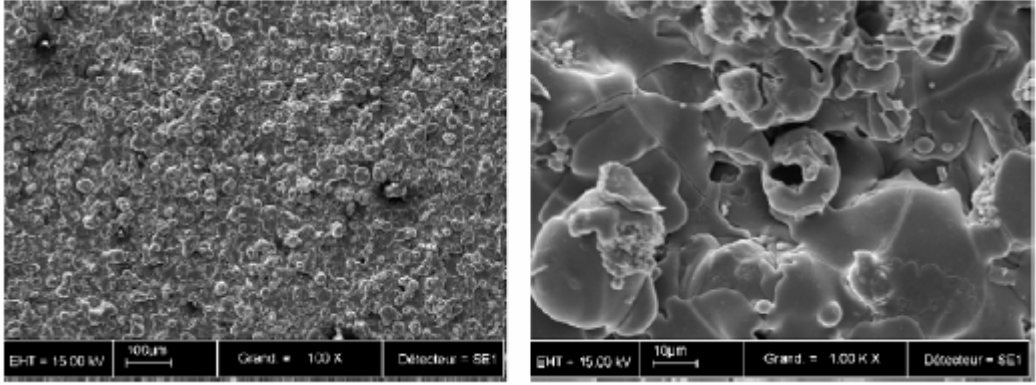


**Şekil 2.9 c;** SLA yüzeyli titanyum dental implantların SEM görüntüleri (**Guehennec vd., 2007**).

Mikro ve nano poroz yüzeylerin oluşturulmasında kullanılan yöntemlerden biri de  $H_2SO_4$ ,  $HNO_3$ ,  $H_3PO_4$ ,  $HF$  gibi kuvvetli asitler kullanılarak yüksek akım yoğunluğunda ( $200A/m^2$ ) veya potansiyelde (100V) titanyumun potentiostatik veya galvanostatik anodizasyonudur. Anodizasyon neticesinde titanyum üzerindeki oksit tabakası 1000 nm'den daha yüksek hale getirilmektedir. Elektrolit solüsyonunda kuvvetli asitlerin kullanılmasıyla oksit tabakası akım konveksiyon hatları boyunca çözünmekte ve diğer bölgelerde kalınlaşmaktadır. Bu olay da titanyum yüzeyinde mikro veya nano-porozitenin oluşmasına sebep olmaktadır. Anodizasyon titanyum oksit tabakasının kristalinitesinde ve mikroyapıda modifikasyonlara sebep olmaktadır. Ancak bu süreç oldukça karmaşık olup akım yoğunluğu, asit konsantrasyonu, kompozisyon ve elektrolit sıcaklığı gibi birçok parametreye bağlıdır. Bu tip yüzeylerde diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında protein adsorpsiyonu, osteoblast hücre tutunması ve peri-implant alanda kemik dokusu iyileşmesinin daha yüksek olduğu bilinmektedir. Sebep olarak da porlarda kemik ile doğrudan kilitlenme ve biyokimyasal bağlanma olmak üzere iki mekanizmanın etkin olduğu düşünülmektedir. Fakat diğer yöntemlere bakıldığında bu yöntemlerin mekanik tutunma ve kemiğe primer fiksasyonda oldukça etkin oldukları bilinmektedir (**Guehennec vd., 2007**).

İmplantlara uygulanan yüzey işlemlerinden biri de kaplama işlemidir. Metal implantlar genelde hidroksiapatit bazlı kalsiyum fosfat tabakalarla kaplanırlar. İmplantasyon sonrası peri-implant alanına kalsiyum fosfatın salınımı vücut sıvılarının saturasyonunu artırır ve implant yüzeyinde biyolojik apatitin presipite olmasına sebep olur. Bu biyolojik apatit tabakasında osteogenik hücre tutunması ve gelişmesinde matriks olarak görev yapan osteogenik endojen proteinler bulunabilir. Böylece implant etrafındaki kemik iyileşmesi artmaktadır. Metal implantların kaplanmasında plazma-

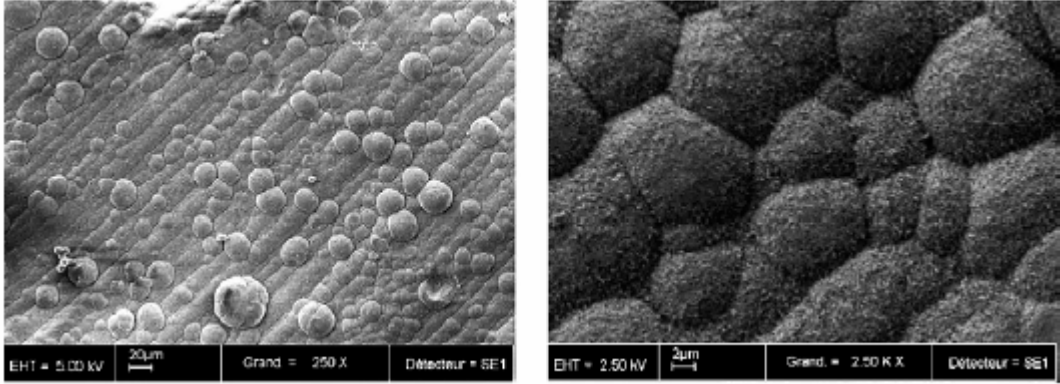
sprey, püskürtmeli-biriktirme (*sputter-deposition*) sol-gel kaplama, elektroforetik biriktirme veya biyomimetik presipitasyondur. Fakat bu metodlardan sadece plazma spreyle kaplama yapılmış dental implantların klinik kullanımı mevcuttur. Fakat plazma spreyle kaplama yöntemi ile kaplanmış dental implantlarda (Şekil 2.9 d) yaşanan bazı problemler bulunmaktadır. Örneğin kaplamanın implant yüzeyinde tabakalar halinde dizilimi ve implant kemik dokusuna iyi tutunmuş olsa da kaplama ile implant arayüzeyindeki tabakalaşma sebebiyle başarısızlık yaşanması. Bu tabakalaşmadan partiküllerin salınımı, çevre dokulara zarar vermesi ve ayrıca kaplamada da kayıplar yaşanması gibi problemler mevcuttur. Bu gibi problemler nedeniyle plazma spreyle kaplama yöntemine alternatifler bulunmaya çalışılmaktadır (Guehennec vd., 2007).



**Şekil 2.9 d;** Plazma spreyle hidroksiapatit (HA) kaplı yüzeyde SEM görüntüsü (Guehennec vd., 2007).

Plazma spreyle yapılan kaplamada yaşanan problemler sebebiyle bulunan alternatif yöntemlerden biri doğal biyomineralizasyon sürecinden faydalanarak oluşturulan yeni bir kaplama yöntemidir. Bu biyomimetik yöntemde simüle vücut sıvılarındaki (SBF) kalsiyum fosfat apatit kristalleri oda sıcaklığında titanyum yüzeyler üzerinde kaplama oluşturmaktadır. Bu yöntemi uygulamaya yönelik olarak kullanılan metodlardan birinde kalsiyum fosfat akım, titanyum katod ve platinyum anod kullanılarak elektrobirikime uğrattılır. Bu olay nötral pH'da vücut sıvısını simüle eden tampon içerisinde gerçekleştirilir ve titanyum yüzey üzerinde doğrudan karbonatlı apatit kaplama gerçekleşir. Bu yöntemde her tipteki komplike yüzeyler üzerinde birikim kalınlığı çok iyi kontrol edilebilmektedir. İkinci bir yöntemde ise titanyum yüzeylerin SBF içerisine immersiyonu ile kalsiyum fosfatın biyomimetik presipitasyonu gerçekleşmektedir (Şekil 2.9 e). Bu metot kemik benzeri kristallerin fizyolojik sıcaklıklarda ve pH şartlarında implant yüzeyinde heterojen bir biçimde nükleasyondur. Bu tipte kaplama yöntemi pre-klinik olarak kaplama yapılmayan numunelerle karşılaştırılmıştır ve

osseointegrasyonun oldukça yüksek olduğu anlaşılmıştır. Fakat bu tipteki kaplama yönteminin diğer yüzey işlemleriyle karşılaştırıldığı çalışmalar henüz gerçekleştirilmemiştir (Guehennec vd., 2007).



**Şekil 2.9 e;** Biyomimetik kalsiyum fosfat kaplamanın SEM görüntüleri (Guehennec vd., 2007).

Farklı yüzey tiplerinin osseointegrasyon ve biyomekanik özellikler üzerindeki etkilerini karşılaştırmak amacıyla yapılan başka bir çalışmada Ti6Al4V malzeme ile pürüzsüz yüzey (SS), CP-Ti plazma spreyle kaplanmış ve alkalın-sıcaklık uygulaması yapılan (AHT) implantlar köpek uyluk kemiğine implante edilmiştir, 4, 8 ve 12 hafta süreyle implant etrafında iyileşen dokunun histolojik ve mekanik özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonrasında AHT implant yüzeyinde yeni kemik oluşumunun SS ve PSC yüzeylerle karşılaştırıldığında daha yoğun olduğu anlaşılmıştır. AHT implantlarda mekanik testler neticesinde daha geniş doku entegrasyonu ve daha hızlı matris mineralizasyonu gözlenmiştir. Bu durumun nanoboyutlu poroziteye sahip yüzey yapısında daha geniş kemik ve implant bağlanma yüzeyi olması ve mikrometre boyutlu pürüzlülüklerde mekanik kilitlenmenin daha iyi olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Lee vd., 2008).

Farklı yüzeylerin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada osteoblastik MC3T3-E1 hücrelerinin ayna pürüzsüzlüğüne (*smooth-Ti*) sahip, alüminyum oksit kaplanmış (alümina-Ti), bifazik kalsiyum fosfat seramik kaplanmış (BCP-Ti) ve SLA titanyum yüzeylerdeki tutunması incelenmiştir. Pürüzlülük açısından karşılaştırıldıklarında BCP-Ti yüzeylerin ortalama Ra=2,5 μm pürüzlülükle en yüksek pürüzlülüğe sahiptir. Yüzeyler tutunma açısından incelendiklerinde ise BCP-Ti ve SLA yüzeylerde çok daha iyi olduğu anlaşılmıştır (Guehennec vd., 2008).

Zirkonyum oksit kaplanmış dental implantlarda osseointegrasyonun

incelendiği bir çalışmada zirkonyum oksit kaplanmamış numuneyle kemik oluşumu ve osteoblast tutunması açısından yapılan karşılaştırmayla ilgili bir çalışma mevcuttur. Çalışma neticesinde kaplanmış yüzeyli implant etrafında kemik-implant temas yüzeyinin daha fazla ve daha kalın olduğu anlaşılmıştır. Böylece titanyum üzerine zirkonyum oksit kaplamanın kemik oluşumunu ve osteoblast tutunmasını indüklediği anlaşılmaktadır. (Sollazzo vd., 2007).

### **2.3.3 İyon implantasyon yüzey modifikasyon yönteminin implantlarda kullanımı, iyon implantasyon sistemleri tarihçesi ve çalışma prensipleri**

#### **2.3.3.1 İyon implantasyon sistemleri tarihçesi**

Bu yöntemde bir veya birden fazla elementin atomları pozitif iyonlar halinde hızlandırılarak, yüksek enerjilerle modifikasyona uğratılacak malzeme yüzeyine bombardıman edilerek, yüzeyden içeri doğru 0.01-3 µm derinlikteki bir bölgeye nüfuz ettirilir. İyon İmplantasyonu uygulaması bakımından ikiye ayrılır; yarı iletken ve yarı iletken olmayan (metalurjik amaçlı) iyon implantasyonu.

Yarı İletken İyon İmplantasyonu : İyon doz'u  $<10^{15}$ , İyon enerjileri  $>10^6$  eV.

Yarı iletken olmayan iyon implantasyonu (metalurjik amaçlı): İyon Doz'u  $>10^{15}$ , İyon Enerjileri :  $10^5$ - $10^6$  eV.

İyon İmplantasyon Tekniği 30 yıl önce silikon kristallerin “dope” edilmesinde kullanılmış ve yaklaşık 20 yıldır yarı iletkenlerin hazırlanmasında ticari amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde de, TÜBİTAK-MAM ve ODTÜ Fizik Bölümlerinde ikinci elden alınmış sistemlerde, yarı iletkenler üzerinde küçük çapta iyon implantasyon çalışmaları yapılmaktadır (**Öztarhan, Tübitak Misag 43 No lu rapor**). Metalurjik amaçlı iyon implantasyonu, maliyetinin yüksek oluşu nedeni ile 1992 yılına kadar ticari amaca geçememiştir. Ancak, yeni iyon üreteçleri ve implantasyon tekniklerinin geliştirilmesiyle (**Brown 1989**), iyon implantasyonunun kullanım maliyetleri daha ekonomik hale getirilmiş ve endüstriyel uygulamaları artmış, yeni kullanım alanlarının keşfedilmesi için çalışmalar yoğunlaştırılmıştır (**Öztarhan vd., 2007**). Bazı uygulamalarda, iyon implantasyonu ince kaplamalardan daha ekonomik ve avantajlı duruma gelmiştir. Bununla beraber iyon implantasyonunu kaplama tekniklerine rakip görmek yalnız bir strateji olur. İyon implantasyonu yüzey işlemi diğer kaplama tekniklerini tamamlayıcı niteliktedir. Her tekniğin uygulanacağı uygulanamayacağı ve avantajlı dezavantajlı durumları vardır. İyon

implantasyon sistemi ise, "*Metal Vapour Vacuum Arc*=MEVVA (metal buharlı vakum ark) iyon implantasyon sistemi" olup, yüksek akımlı metal iyon ışınları, vakum ark ile üretilen yoğun ve yüksek iyonizasyon derecesindeki metal plazmadan metal iyonların çekilip (ekstraksiyon) yüksek enerjilerde hızlandırılmaları ile elde edilir. Bu cihazlara "ion source=iyon üretici" denilir (**Öztarhan, Tübitak Misag 43 No lu rapor** ).

İyon implantasyon sistemlerinin tariçesi şu şekilde özetlenebilir (**Öztarhan, Tübitak Misag 43 No lu rapor** );

### Sene Aktivite

- 
- 1971 Yarı iletkenlerde iyon implantasyonu ticari amaç ile kullanılmaya başlandı.  
İyon implantasyonunun metallere ve diğer malzemelere uygulanması ile ilgili araştırmalar İngiltere’de Harwell Laboratuvarında başlatıldı.
- 1976 Metallerin iyon implantasyonu yapılması için ilk Harwell prototip iyon implantasyon sistemi İngiltere’de kuruldu.
- 1982 Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde iyon implantasyonu ile ilgili deniz kuvvetleri destekli "*Manufacturing Technology* (MANTECH)" projesi kapsamında ilk metalurjik amaçlı prototip iyon implantasyon sistemi kuruldu.
- 1983 ABD’de ilk metalurjik ticari amaçlı iyon implantasyon sistemi geliştirildi
- 1985 İkinci Harwell iyon implantasyon sistemi kuruldu.
- 1986 Japonya’da iyon implantasyon tekniğinin uygulanması için *Advanced Material Processing and Machining Technology Research Association* AMMTRA projesi başlatıldı.
- 1987 Danimarka’da *Danish Technological Institute* (DTI) Triibology - Centre ‘da C.A. Straede, Danfysik firmasının geliştirdiği iyon implantasyon sistemini (model 1090) endüstriyel uygulamalarda kullandı.
- 1990 University of Wisconsin tarafından "Plazma Source İon Implantation" sistemi General Motors için geliştirildi.
- 1991 Avrupa’da iyon implantasyon tekniğinin endüstrideki uygulama alanlarının keşfedilmesi için Danimarka, İngiltere ve İspanya ortaklaşa "*European SPecific PROjects for INtra-community innovation Transfers* (SPRINT)" projesini başlattılar (4 yıl süreli).
- 1992 MEVVA (MEtal Vapour Vacuum Arcs) iyon implantasyon sistemi ticari hizmet verecek şekilde geliştirildi (ISM tarafından).
- 1994 "Corpus Christi Army Depot (CCAD)" azot implante eden iyon implantasyon sistemini kullanmaya başladı.

### **2.3.3.2 İyon implantasyonu ile işlem gören malzemeler**

İmplantasyon için en çok kullanılan ametaller C<sup>+</sup>, B, P, S, O, Ar, Xe, metaller Ti, Cr, Ta, Mo, Fe, Ni, Al, Cu, Sn ve nadir elementler Y ve Ce'dur. Malzemenin sertliğini, kırılma tokluğunu, katlanma mukavemetini arttırmak ve sürtünme ve aşınma karakteristiklerini geliştirmek üzere en yaygın implantasyon edilen malzemeler şunlardır:

Metaller	: Fe, Cu, Al, Ti, Be, Mo, çelikler, fosfor bronz, Co esaslı alaşımlar, Ti6Al4V, Ni-Cr alaşımı
Ametaller	: B
Sermetler	: Co-WC
Seramikler	: Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , safir ( α-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , ZrO <sub>2</sub> , MgO, Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> , WC, SiC, TiB <sub>2</sub>
Polimerler	: Polyamid, PTFE

### **2.3.3.3 İyon implantasyonu yapılan elementlerden bazıları**

Çizelge 2.2 de en çok kullanılan iyon implantasyonu elementlerinden bazıları ve bu elementlerin daha çok hangi amaçlar doğrultusunda kullanıldıklarına ilişkin bilgiler verilmiştir.

**Çizelge 2.2;** En sık kullanılan implantasyon elementleri

Adhezif ve Abrasif Aşınma	N, B, O, Cr, Zr, Y, Co, Ti, Ta, C
Yorulma	N, O, B, Al, Ti, C
Korozyon ve Oksidasyon	Mo, Al, Cr, Ta, Y, Pt, Au, Ce, N, Pd, C, Sn
Sürtünme	Ti, Ti+C, Ag, Sn, Au

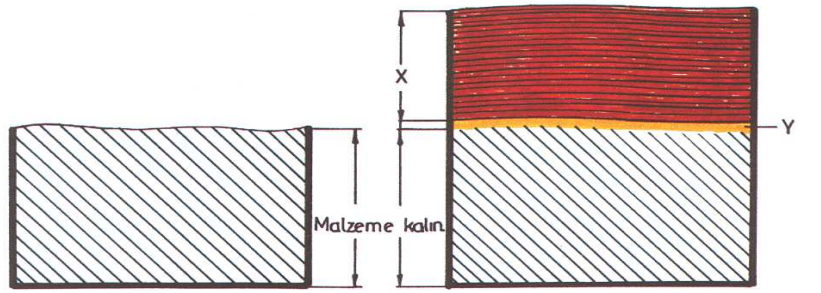
### **2.3.3.4 İyon implantasyonunun getirdiği avantajlar**

- 1) Çevre dostu temiz ve yüksek bir teknolojidir.
- 2) İyon implantasyonu işlem maliyetleri kaplama işlemleri ile mukayese edilebilir hale gelmiştir.
- 3) Vakumda yapıldığı için iyon implantasyonu işlemi sırasında malzemenin oksitlenme tehlikesi yoktur.
- 4) İyon implantasyonu ile sayısız bileşim ve yapıların elde edilmesi sonucunda olağanüstü mekanik özelliklere sahip yüzeyler elde edilebilir. Bu şekilde modifikasyona uğramış bir yüzey çoğu kez malzemenin gerilme, yorulma, aşınma, ve korozyona karşı direniş özelliklerini belirlemektedir.

İyon implantasyonu yapılan bir malzemede; yüzey sertliği ve aşınmaya karşı direnç artar, sürtünme azalır, kayganlık artar (sürtünme katsayısı istenilen şekilde kontrol edilebilir).

5) Çok düşük sıcaklıklarda (oda sıcaklığı—150°C) uygulanabildiğinden malzemede şekil değişikliği (çarpılma) söz konusu değildir.

6) Kesinlikle bu bir kaplama veya katmanlama yöntemi değildir. Kaplama ve katmanlama yöntemlerindeki yapışma sorunu ve kullanım sırasında yüzeydeki dökülme problemi, iyon implantasyonu yapılmış yüzeylerde yaşanmaz. İyon implantasyonunda yapışma söz konusu değildir. İyon implantasyonunda yüzeyde meydana gelen yapısal değişiklik ile implante edilen bölge ana malzemenin bir parçası durumunu alır (Şekil 2.10.).



X = Kaplama kalınlığı (  $1\mu\text{m} - 100\mu\text{m}$  )

Y = Interface ( yapışmanın olduğu bölge )



X =  $0.1\mu\text{m} - 2\mu\text{m}$

Y = İyon implantasyonu olmuş bölge (ionların malzeme yüzeyi içine nüfuz ettiği bölge)

Z = Modifikasyona uğramış bölge (  $50\mu\text{m}$  )

Şekil 2.10; Kaplama ile iyon implantasyonu arasındaki fark

- 7) İmplant edilen malzemenin boyutlarında değişiklik olmadığı için, çok sıkı toleranslara sahip hassas aletlere ve makina parçalarına uygulanabilir.
- 8) Termodinamik sınırlamalar olmadığından difüzyon için gerekli yüksek sıcaklıklara ve kimyasal reaksiyonlara ihtiyaç yoktur.
- 9) Terkibi kontrol edilebilen sayısız yüzey alaşımları oluşturulabilir.
- 10) Cilalanmış yüzeylerin parlaklığı bozulmaz, işlemden sonra tekrar parlatmak gerekmez.
- 11) PVD (fiziksel buhar depolarizasyonu), CVD (kimyasal buhar depolarizasyonu), plazma nitrürleme gibi teknikler yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmektedirler. Bu nedenle, bu tekniklerle işlem gören hassas malzemelerde görülebilen bükülme, eğilme, çarpıklık ve kırılmalık iyon implantasyonu ile işlenen malzemelerde görülmez.
- 12) Plastik, seramik ve cam gibi malzemelerinde iyon implantasyonu yapılarak yüzey özellikleri istenilen şekilde değiştirilebilir. Plastik malzemelerin yüzey sertliği son derece artar, çelikten daha sert yüzeyler elde edilebilir.
- 13) İyon implantasyon derinliği genellikle 0.1--2µm olmakla beraber, modifikasyona uğramış yüzey derinlikleri 50--100µm arasındadır.

### **2.3.3.5 İyon implantasyonunun uygulama alanları**

İmalat sanayiinde malzeme yüzeylerinin iyileştirilmesi ve değişik özelliklerde modifikasyona uğratılmasının gerekli olduğu alanlarda giderek artan uygulama alanları bulunmaktadır.

Mikroyapısal ve kimyasal değişimlerin önemli olduğu tribolojik uygulamalarda  $10^{16}$ - $10^{18}$  iyon/cm<sup>2</sup> lik implantasyon dozları gereklidir. Oda sıcaklığında ve tipik implantasyon koşullarında ulaşılabilecek maksimum implantasyon koşullarını saçılma olayı sınırlar. Bu yüzden genellikle  $\sim 10^{18}$  iyon/cm<sup>2</sup> 'den fazla implantasyon dozunun kullanılması faydasızdır. İmplantasyon yüksek sıcaklıklarda veya ultra yüksek akım yoğunluklarında uygulanacaksa (ki bu yüksek alt tabaka sıcaklıklarına yol açar yada radyasyon indüklü difüzyona yol açar) bu doz limiti dışına çıkılabilir. Böylece alt tabakaya daha derin difüze olacak hareketli elementlerin girişine izin verilmiş olur ve 10 µm'den daha büyük derinliklere ulaşılabilir.

Endüstriyel aletlerin işlenmesinde, endüstriyel aletlerin uygulamaları: Plastik, kağıt, sentetik, fiber ve yumuşak malzemeler için; şekillendirme kalıpları, kesme kalıpları ve delme kalıpları gibi üç kategoride toplanabilir.

Çok hassas ve pahalı kesici ve delici parçaların Titanyum ve Karbon ile implantasyonu, bu parçaların ömrünü 10-20 kat artırmaktadır.

Bu üstün özelliklerinden dolayı yöntem: Cerrahi bıçakların kesiciliğinin ve ömrünün artırılması, çok hassas delici uç ve matkapların kullanım ömürlerinin artırılması, içinden gaz veya sıvı geçen nozulların (deliklerin) aşınma ve korozyona karşı dirençlerinin artırılması, tekstil makinalarında git-gel hareketi yapan hassas parçaların sertleştirilip yüzeylerinin kayganlaştırılması ve aşınmaya dayanıklı olmalarının sağlanması, tekstil makinalarında fiberin geçtiği delik ve köşelerin sertleştirilip kayganlaştırılması, kobalt-krom alaşımlı parçaların altın ve platin ile implantasyonları yapılarak, bu parçaların korozyona karşı dirençlerinin artırılması ve benzeri birçok yerde kullanım alanı bulmuştur.

İmplantasyon yönteminin başarıyla kullanıldığı bir diğer sektörde kalıplardır.

Tıbbi Alanda: Kalça, diz protezlerinde, total eklem implantlarında (bilek, omuz, parmaklar) titanyum bazlı alaşımların karbon ve azot ile implantasyonu, bu alaşımların korozif ortamda aşınmalarını 1000 defa daha azalttığı görülmüştür. Ayrıca malzemenin yorulmaya karşı direncinin de çok arttığı görülmüştür.

ABD’de Spire ve İmplant Science Corp. firmaları her yıl implante edilmiş 400.000 kalça protezini hastalara takılmak üzere üretmiştir. 316L Paslanmaz Çelikten yapılan kırık kalça ve uzun kemiklerde kullanılan sıkıştırma plateleri, Karbon, Bor ve Azot ile implante edilerek yorulma ömürleri büyük ölçüde arttırılır.

Cerrahi aletlerin titanyum ve karbon ile implantasyonu, bu aletlerin kesiciliğinin uzun süre devamını ve korozyona karşı direncini artırmaktadır. Ayrıca vucuda biyolojik yönden uyumlu olmaları da önemlidir. Bu aletler Dental ve Göz Cerrahisinde kullanılmaktadır. Dental implant ve gereçlerinin implantasyonu, bu malzemelerin yorulmaya ve korozyona karşı dirençlerini artırmaktadır. Ayrıca gümüş ile implantasyonları antibakteriyel özellik kazandırmaktadır (Öztarhan vd., 2007).

Ortopedik alandaki Ti esaslı total (bütün) eklem yenilemelerinde iyon

implantasyonunun aşınmayı etkili bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Süper aşınma direncinin nedenleri arasında;

- i ) Ti alaşımının (Ti-6Al-4V) artan sertliği ve
- ii ) İki fazlı alaşımın homojenleşmesine ve Ti parçaların yüzeyinde nitrür, oksit ve karbür oluşumuna bağlı olarak meydana gelen düşük sürtünme katsayısı gösterebilir.

İdeal biyo-uyumları nedeniyle yeni nesil ortopedik implantlar (Ti-6Al-4V) alaşımından üretilir. Alışılmış (Co-Cr-Mo) alaşımı ile karşılaştırıldığında (Ti-6Al-4V) alaşımı süper bir korozyon ve yorulma direnci gösterir. Ayrıca kemikle daha iyi bir uyum sağlayan düşük elastik modülüne sahiptir. Total eklem yenilemelerinde Ti parçası yüksek molekül ağırlıklı (UHMWPE) polietilen yüzeylere karşı mafsal hareketi yapar. (Ti-6Al-4V) alaşımının aşınma direncindeki gelişmeler ortopedik çevreler için oldukça enteresan bir durumdur. Bu alaşım içine N ve C implante edilmesinin alaşımın mikro sertliğinde önemli artışlar sağladığı gösterilmiştir. 1-2 gr. yük altında yapılan ölçmelerde, sertliğin üç katına çıkarılabileceği gösterilmiştir. MIT (ABD) 'de yapılan çalışmalar (Ti-6Al-4V) içine yapılmış N<sub>2</sub> implantasyonunun bu malzemenin iki fazlı mikro yapısını ( $\alpha$  ve  $\beta$  mikro levhalarını) değiştirip, malzemenin standart yağlama solüsyonlarına karşı dayanıklı hale geldiğini göstermiştir. 100 kV'da (Ti-6Al-4V) alaşımına yapılan N<sub>2</sub> implantasyonunun sürtünme katsayısını 0.48'den 0.15'e düşürdüğü belirlenmiştir (**Tek vd., 2007**).

Ti alaşımındaki yüksek sertlik ve düşük sürtünme katsayısının; alaşımın ve mafsal olarak çalıştığı (UHMWPE) yüzeyinin aşınma hızlarında, azalmada etkili olduğuna inanılır. Williams ve Buchanan çalışmalarında Ti-polietilen çiftinin korozif aşınmasında 1000 katı bir azalmanın meydana geldiğini göstermiştir.

Titanyum-UHMWPE sisteminin aşınmasındaki önemli azalma, ortopedik imalatçıların Spire'ın IONGUARD işleminin, ürünlerinin muamele edilmesinde öncelikli bir yeri olduğuna ikna etmiştir ( 1000 serisi Ti bazlı ortopedik ürünlerin işleme için kullanılır ). Bu uygulama, çoktan, pazarlanabilir düzeyde bir olgunluğa ermiştir. Büyük miktarlarda Ti esaslı ortopedik dizler, kalçalar ve az sayıda bilek, omuz, el ve ayak parmakları günümüzde iyon implantasyonu işlemiyle muamele edilmektedirler.

1994'den bu yana dünyada birçok ticari metalurjik amaçlı iyon implantasyon sistemi geliştirilmiştir. Şu anda bunları üreten ülkeler ve belli başlı firmalara bakacak olursak;

**ABD** : Implant Sciences , Spire , ISM Technologies , Eaton,Epiyon Corp.

**Danimarka**: Danfysik

**Fransa**: IBS

**İngiltere**: Tecvac

**Almanya**: MAT GmbH

Daimler Benz (Almanya), Philips (Hollanda) gibi dev şirketler kendi implantasyon sistemlerini kullanmaktadır. Avrupada şu anda iyon implantasyon Teknolojisini kullanan 80 merkez bulunmakta, bunlardan 15 tanesi ticari faaliyet göstermektedir.

**Japonya**: 6 japon firması MEVVA İyon İmplantasyon sistemi kullanıyor. Elde edilen bilgilere göre Japon Ministry of Internatıyonel Trade and Industry İyon İmplantasyon Ar-Ge çalışmalarına ve uygulamalarına ABD'den çok daha fazla para ayırmıştır, bu miktar birkaç yüz milyon US dolardır. Çelik Endüstrisi'nin ne kadar para ayırdığı bilinmiyor.

ULVAC Japan Ltd: Çok geniş çelik levhaların yüzeylerinin iyon implantasyonu için İyon implantasyon sistemi geliştirdi.

Nissan Electric Co.Ltd.: MEVVA İyon İmplanter'ı aynı amaç için geliştirdiler .

Mitsubishi Electric Corp: Korozyona dayanıklı çelik yüzeyler için iyon implantasyon sistemi geliştirdiler.

EOL Ltd.: Çeliklere yüksek dozda azot iyon implantasyonu için sistem geliştirdi.

Kobe Steel Ltd.: Aşınmaya ve korozyona dayanıklı sert yüzeyler için iyon implantasyon sistemi geliştirdi.

Shimadzu Corporation: Aero-space uygulamaları için (roketlerdeki valf ler ve bazı uydu parçaları)'nın iyon implantasyonu için iyon implantasyon sistemi geliştirdi.

Toyota Research Lab. ve Mitsubishi Electric'in, otomotiv sanayi parçalarında kullanılmak üzere geliştirdikleri "iyon cluster beam tekniği"ni ticari amaca geçirip bugüne kadar yüzlercesini sattıkları bilinmektedir.

**Rusya**: Dünyada metal iyon implantasyon'a dayalı araştırma ve uygulamala lider durumda. Şu anda Rusya Endüstrisinde kullanılan 50 adet MEVVA iyon implantasyon sistemi bulunmaktadır. Bu sistemlerin kurulması ve araştırmalar için mali desteğin nereden geldiği bilinmemektedir. İyon implantasyon sistemleri büyük boyutlarda olup, kesici, delici aletlerde,

şekillendirme ve baskı kalıplarında, plastik kalıplarında kullanıldığı bilinmektedir.

Araştırma ve Geliştirme amaçlı kendi iyon implantasyon sistemlerini kurabilen diğer ülkeler;

**Çin:** MEVVA ve Plazma Source iyon implantasyon sistemlerini geliştirdiler. Son zamanlarda endüstriyel uygulamalara dönük çok büyük çalışmaları var. Kendi sistemlerini pazarlamaya başladılar.

**Avustralya:** Araştırma ağırlıklı çalışmalar yapılmakta.

**Kanada:** Araştırma ve endüstriyel uygulamalar yapılmakta.

NOT: Yukarıdaki verilen bilgiler BDM Federal Inc.'in June1996'da hazırladığı rapordan alınmıştır.

**Türkiye:** İlk ve tek metalurjik amaçlı MEVVA İyon İmplantasyon sistemi TÜBİTAK desteği ve bazı sanayiilerin yardımı ile İzmir'de.DEÜ makina bölümünde **Ahmet Öztarhan** tarafından TÜBİTAK MİSAG 43 No' lu proje kapsamında sıfırdan kuruldu ve pazar odaklı Endüstriyel uygulamalara yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

### **2.3.3.6 Farklı kategorideki iyon implantasyon sistemleri**

İyon İmplantasyon Sistemleri 3 kategoride gruplanır;

**a) Kütle analizli iyon implantasyon sistemi (Mass analyzed ion implantation system):**

İyon üreticinde meydana gelen plazma saf olmayıp içinde istenmeyen elementlerin iyonları da bulunmaktadır. Pozitif iyonlar plazma üretici ile implante edilecek numune arasında uygulanan çok yüksek voltaj farkı ile yüksek enerjilerde hızlandırılarak numune yüzeyine bombardıman edilerek yüzey içerisine (0.1-2µm) nüfuz ettirilir. İstenmeyen elementlerin (safsızlıklar) iyonları ise iyon üretici ile numune arasına yerleştirilen büyük magnetler ile saptırılırlar. Manyetik alan iyonların hareket yönlerine dik olarak uygulanır. Sapma miktarı manyetik alan şiddetine ve iyonların kütlelerine bağlıdır. Ağır iyonlar hafif iyonlardan daha az sapar. Bu tür iyon implantasyon sistemleri ile periyodik cetveldeki hemen hemen bütün elementlerin iyon implantasyonu yapılabilir, çok büyük saflıkta iyon ışınları elde edilir. Bu sistem, kullanılan saptırıcı magnetler yüzünden pahalıya mal

olmakta ayrıca bu magnetlerin güç tüketimleri’de çok yüksektir. Elde edilen iyon ışını akımı “*self-repulsiyon*”(pozitif iyonların bir birlerini itmesi) yüzünden düşüktür (<10mA), dolayısı ile daha uzun süreli implantasyon işlemi gerektirmektedir. Bu tür sistemlerin şu anda yarı iletken teknolojisinde yarı iletkenlerin yüksek hassasiyet ile “*dope*” edilmelerinde ticari amaçlı olarak kullanımı çok yoğundur. Bununla beraber, Danfysik’in sunduğu metalurjik amaçlı sadece istenilen bölgenin iyon implantasyonunun yapılabilmesi sisteminin kullanım olanağı implantasyon maliyetini önemli miktarlarda düşürmüştür.

Ticari amaçla dönük “*mass analyzed ion implantation system*” i imal eden firmalar; Danfysik(Dnimarka), Spire(ABD), Eaton Corp. (ABD), Varian (ABD)’ dir.

### **b) Plazma kaynağı iyon implantasyon sistemi:**

Bazen “Plazma iyon immersiyon” iyon implantasyon sistemi diye adlandırılır. Burada tamamen gaz iyonları ile implantasyon yapılır(azot gibi). En büyük avantajı, kompleks geometriye sahip metal parçaların implantasyonu yapılabilmesidir. Bu sistemde, plazma üretici (plazma source) ile implantasyonu yapılacak numunenin içinde bulunduğu tank, plazma ile doldurulur ve numune çok yüksek negatif voltaj ile çok kısa “*pulse*” lar ile yüklenir. Plazmadaki pozitif yüklü iyon’lar çok yüksek voltajlar altında yüksek enerjilerde hızlanarak numune yüzeyini 90 derece altında bombardıman ederler. Burada dikkat edilecek husus “*pulse*”ların çok kısa süreli olmasıdır, aksi takdirde numune ve tank çeperleri arasında meydana gelecek olan ark’lar numune yüzeyini bozabilir. Şu anda bu tür implantasyon sistemi General Motors tarafından kullanılmak üzere University of Wisconsin’de bir grup araştırmacı tarafından geliştirilmiştir.

### **c) Direk iyon implantasyon sistemi:**

Bu sistemde sapırtıcı magnet yoktur. Bu nedenle sistemin maliyeti daha ucuz, yüksek iyon ışını akımı (10-50mA) ile çalışması nedeni ile implantasyon süresi daha kısa ve implantasyon maliyeti daha ekonomiktir. Brown ve arkadaşları Lawrtence-Berkeley (US)’de 600mA iyon ışın akımı ile çalışan d-c MEVVA iyon implantasyon sistemi ni çalıştırmayı başarmışlardır.

Metal iyon implantasyonu ve metal+gaz iyon implantasyonu metal buharlı ark (MEVVA) iyon üreteçleri ile yapılmaktadır. Direk iyon implantasyon sistemlerinde “*selective area impolantasyon*”(sadece istenilen

bölgenin iyon ışınının hareket ettirilerek implantasyonu) imkanı olmadığı için implante edilecek numunenin manipülasyonu gerekir. İyon ışını geniş çaplı olduğu için implantasyon geniş yüzeylere daha ekonomik yapılabilir. İyon ışını çapından çok daha küçük bölgelerin implantasyonu ise isteğe göre bu bölgelerin dışındaki alanların maskelenmesi ile veya maskesiz olarak yapılır, bu durumda iyon implantasyonunun maliyeti artabilir.

Ticari amaca dönük “ Direk İyon İmplantasyon System” ‘ni imal eden firmalar;

ISM Technologies(US),

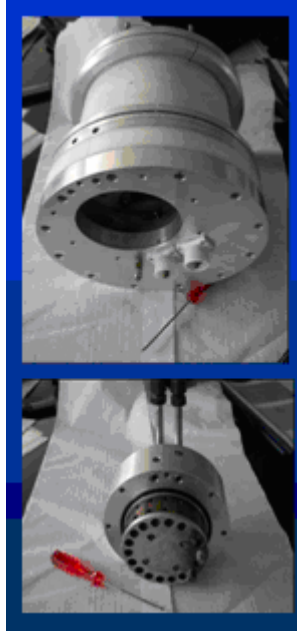
Implant sciences(US),

Tecvac(England),

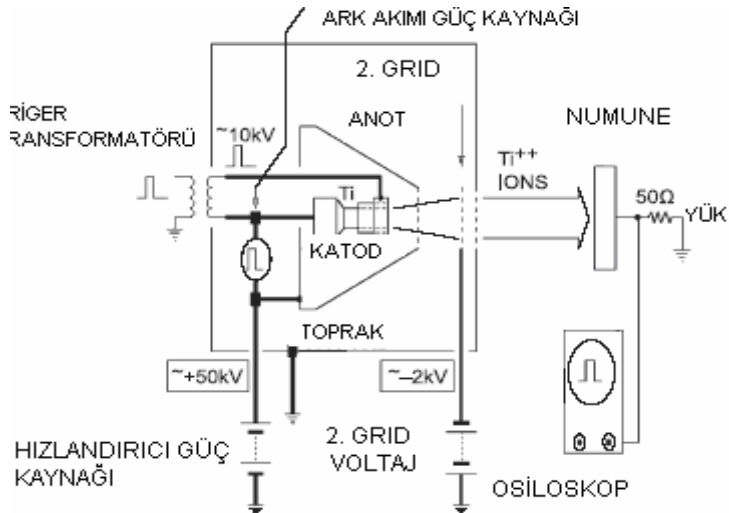
MAT GmbH(Germany)’dır

### **2.3.3.7 MEVVA iyon üreticinin çalışma prensibi**

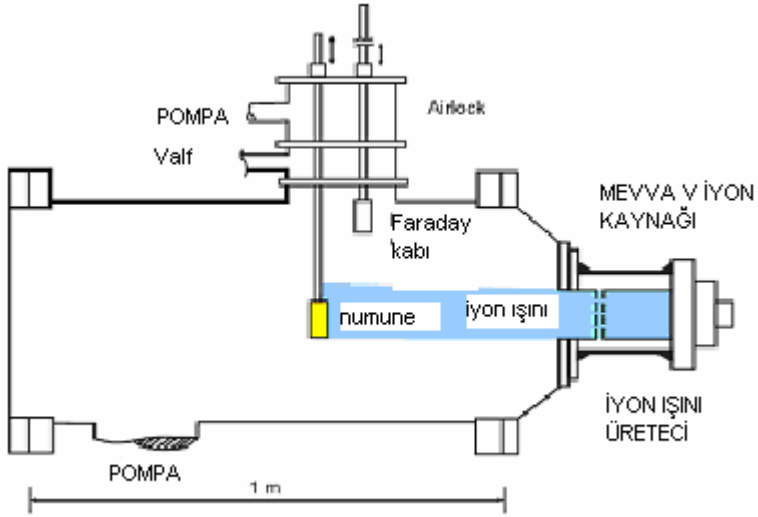
Şekil 2.11 a’da görüldüğü gibi MEVVA İyon Üretici 18 ayrı katot ile beraber 67 parçadan oluşan, dönebilen ve su soğutmalı, prinçten yapılmış katot tutucu üzerine monte edilebilmektedir. Şekil 2.11 b’de’de iyon kaynağının temel elektriksel bileşenleri görülmektedir. Vakumu bozmadan, istenilen katot, “ateşlenme” pozisyonuna, katot tutucu döndürülerek getirilmektedir. Ark deşarjı,  $10^{-6}$  torr vakum altında, tetikleyici elektrot ile üzerinde ince seramik halka bulunan metal(iletken) katot arasında birkaç mikro saniye sürelik *puls*’lar ile yaklaşık 10kV ‘luk voltajın uygulanması ile meydana gelir. Meydana gelen metal plazma’nın anoda yönelmesi ark akımının kazanılmasını sağlar. Ark akımının katot üzerinde bir veya bir kaç mikronluk bir alana yoğunlaşması ile buharlaşıp gaz haline gelen metalin atomları yüksek enerjili elektronların çarpması sonucu iyonize olarak plazma haline geçer. Ark deşarj’ının devamını sağlayan elektrik devresi, ark akımının katottan anoda akması ile tamamlanır. Ark akımının büyük bir kısmı elektronlardan oluşur. Anot’a yönelen plazma’nın bir kısmı ise katotdan birkaç santimetre uzakta bulunan yaklaşık 1cm çapındaki anot deliğinden geçerek grid elektrotlarının bulunduğu “iyon ekstraksiyon=iyon hızlandırıcı” bölgesine gelir. Grid elektrotlarının üzerinde 4mm çapında yaklaşık 100 delik bulunmaktadır ve hepsi merkezlenmiştir. 1.grid anoda bağlanmıştır. Katot anot devresi ve 1.grid “hızlandırıcı potansiyelinde=40-60kV” tutulur. 2.grid --1 / --3kV ‘luk potansiyel altında tutulur. 3.grid ise topraklanmıştır. İyonların yüksek enerjilere hızlanmalarını sağlayan bölge 1. ve 2.grid elektrotları arasındaki boşluktur. İyonların hızlandırılması ile ilgili mekanizma iyi bilinmektedir.



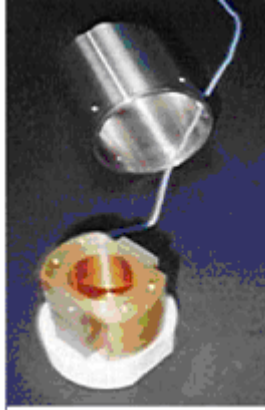
Şekil 2.11 a: MEVVA İyon Üretici (Öztarhan vd., 2005).



Şekil 2.11 b: MEVVA İyon Kaynağı'nın temel elektriksel bileşenleri (Öztarhan vd., 2005).



**Şekil 2.11 c:** MEVVA İyon İmplantasyon Sistemi (Öztarhan vd., 2005).



**Şekil 2.11 d:** Faraday kabı (Öztarhan, Tübitak Misag 43 No lu rapor )

Şekil 2.11 d’de görülen Faraday kabı, iyon akımını ölçmek için kullanılmaktadır. Bunun için geliştirilen hedefin yerine yerleştirilen Faraday kabı ile toprak arasına 1000 ohm’luk direnç bağlanmıştır. Bu direnç uçları arasındaki potansiyel farkından iyon akımı bulunmaktadır. İyon demeti kesitindeki iyon akımı yoğunluğu, Faraday kabı hareket ettirilerek ölçülmektedir.

Doz (iyon fluence)  $D$ ( $\text{ion}/\text{cm}^2$ ) Şu formüle göre hesaplanmaktadır;

$$D (\text{ion}/\text{cm}^2) = \frac{I_b \cdot \tau \cdot f \cdot T}{e \cdot S \cdot \langle Q \rangle}$$

$I_b$  = Peak ion ŐıŐını akımı (amper) (Faraday kap'ı kullanılarak ölçülecek)

$S$  = İmplant edilen alan ( $\text{cm}^2$ )

$\langle Q \rangle$  = Mean charge state (TOF cihazı kullanılarak hesaplanacak)

$e$  = Elektron yükü (Coulomb)

$\tau$  = Pulse süresi (sn) (İŐlam esnasında biliniliyor)

$f$  = Toplam pulse sayısı ( $1/\text{Sn}$ ) (İŐlam esnasında biliniliyor)

$T$  = İmplantasyon süresi (Sn) (istenilen doz  $D$  ( $\text{ion}/\text{cm}^2$ ) için yukarıdaki formülden hesaplanacak)

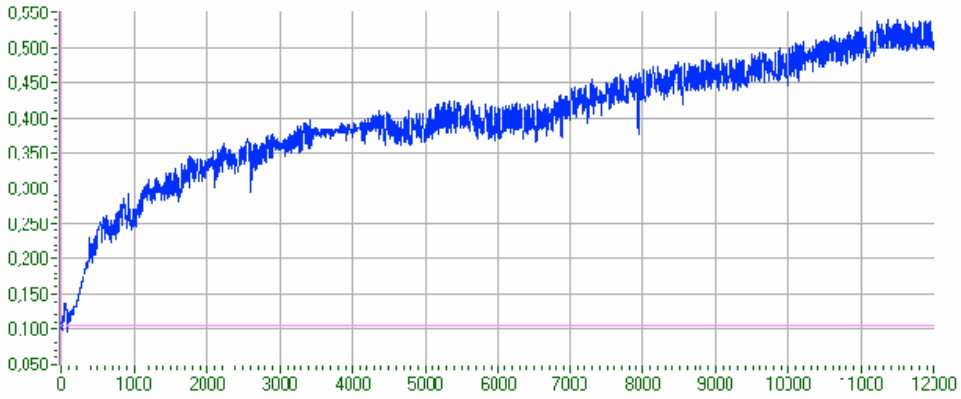
### **MEVVA sisteminde iyon enerjileri:**

Gridler'den hızlandırılan iyonlar, iyon üretecinden yaklaşık 90 cm uzaklıktaki numuneye çarparak numune yüzeyine implante olurlar. Ortalama iyon enerjileri " mean charge state "e (time of flight=TOF metodu ile ölçülmektedir) göre belirlenmektedir. rneĒin 60kV'luk bir gerilim altında hızlandırılan Ta iyonlarının "mean charge state"i 2.5 ise, Ta iyonlarının ortalama enerjileri 150 keV'dir

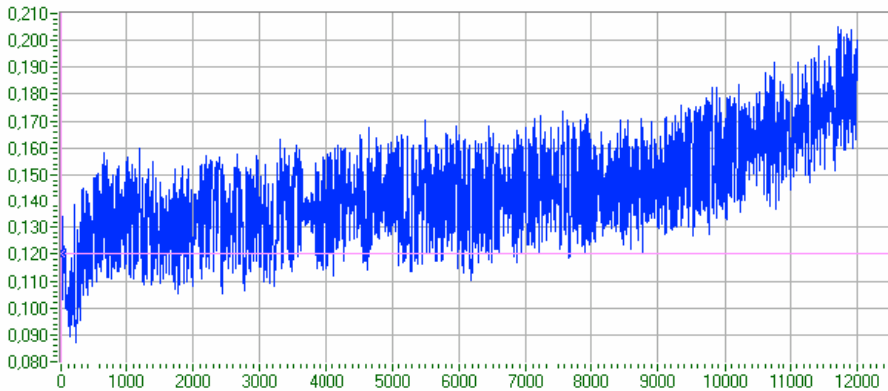
### **2.3.3.8 İyon implantasyonuna yönelik gerçekleştirilmiş alıŐmalar**

316 L paslanmaz elik, Ti-6Al-4V gibi biyomedikal alanda sık kullanım alanına sahip malzemelerde N, Zr iyon implantasyonu ve Zr+O ko-iyon implantasyonu yapılarak tribolojinin arttırıldıĒı bir çalışma mevcuttur. Çalışma esnasındaki implantasyon dozu  $10^{16}$ - $10^{17}$   $\text{ion}/\text{cm}^2$  aralıĒındadır. İyon enerjisi de 100 keV civarında test edilmiştir. Yüksek oranda parlatılmış, implante edilmiş ve implante edilmemiş numuneler aşınma ve sürtünme davranışları açısından test edilmiştir. İncelemeler neticesinde de iyon implante numunelerde sürtünme katsayısı ve aşınma oranının dŐtĒ anlaŐılmıŐtir. Ayrıca implante edilmiş numunelerin sertliĒinin arttıĒı belirlenmiştir. İyon implantasyonu öncesinde 0,01 ra przllĒe sahip numunelerde implantasyon sonrası przllĒn deĒiŐmediĒi gözlenmiştir. Şekil 2.12 (a), (b), (c), (d), (e), (f) (g) ve (h)'den de anlaŐılacaĒı gibi numuneler sertlik açısından incelendiĒinde implantasyon ncesi 350 Hv. sertliĒe sahip 316 L paslanmaz eliklerde Zr, Zr+O ve N implantasyonları neticesinde bu oranların sırasıyla 386, 700 ve 1365 Hv'ye ıktıĒı

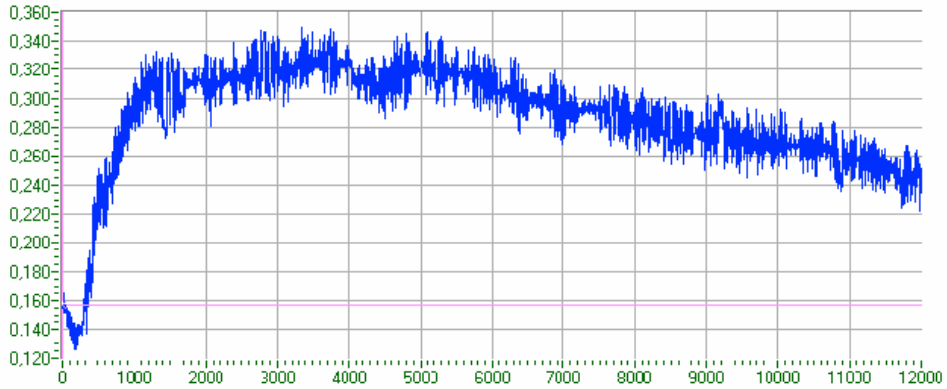
belirlenmiştir. Ti-6Al-4V numunelerde ise implantasyon öncesi 440 Hv olan sertlik oranı çeliklerde Zr, Zr+O ve N implantasyonları sonrasında 512, 655 ve 729 Hv'ye yükselmiştir. Numuneler sürtünme katsayıları açısından incelediğinde ise Zr, Zr+O ve N implantasyonları sonrası oranların 316 L paslanmaz çeliklerde 0.23, 0.35, 0.14 and 0.29  $\mu$  olduğu, Ti-6Al-4V numunelerde ise 0.26, 0.31, 0.25 and 0.31  $\mu$  olduğu belirlenmiştir. Çizelge 2.3 a ve b'den de anlaşılacağı gibi implantasyon öncesi aşınma alanı 316 L paslanmaz çeliklerde  $3 \times 10^{-4}$  mm<sup>2</sup> iken Zr, Zr+O ve N implantasyonları sonrası bu oran sırayla  $1 \times 10^{-4}$  mm<sup>2</sup>,  $0.15 \times 10^{-4}$  mm<sup>2</sup> ve  $1 \times 10^{-4}$  mm<sup>2</sup> olmuştur. Ti-6Al-4V numunelerde ise implantasyon öncesi  $6 \times 10^{-4}$  olan aşınma alanı Zr, Zr+O ve N implantasyonları sonrası sırayla  $0.4 \times 10^{-4}$  mm<sup>2</sup>,  $0.2 \times 10^{-4}$  mm<sup>2</sup> and  $2 \times 10^{-4}$  mm<sup>2</sup> olmuştur (Tek vd., 2007).



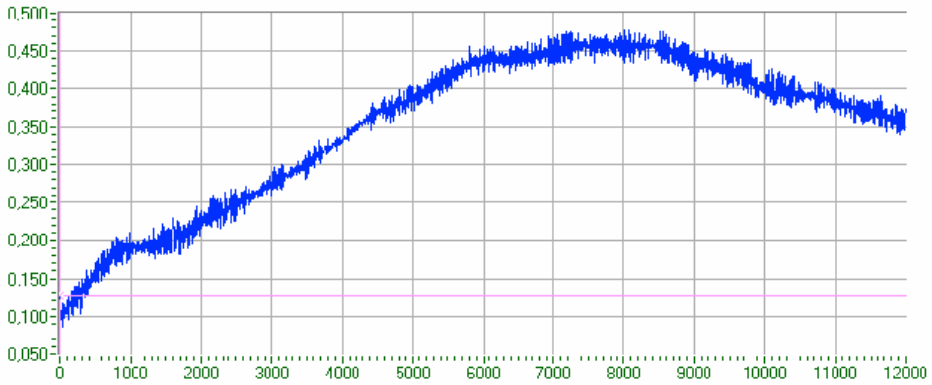
Şekil 2.12 a; İmplant edilmemiş 316 L paslanmaz çelik numunedeki sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).



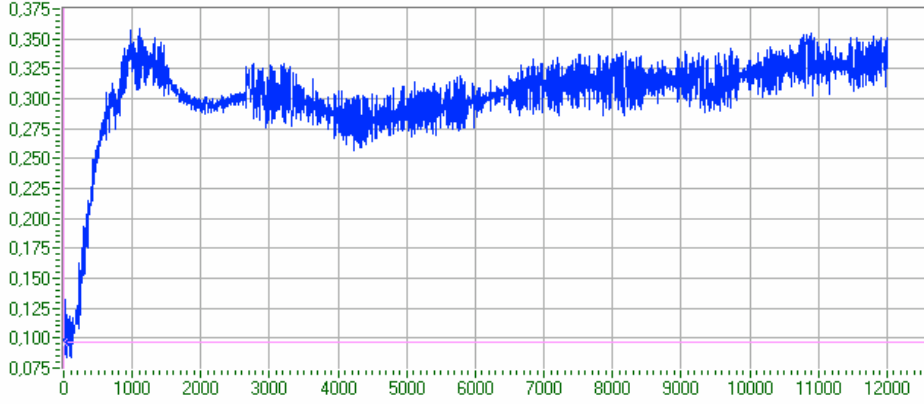
Şekil 2.12 b; N implante edilmiş 316 L paslanmaz çelik numunedeki sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).



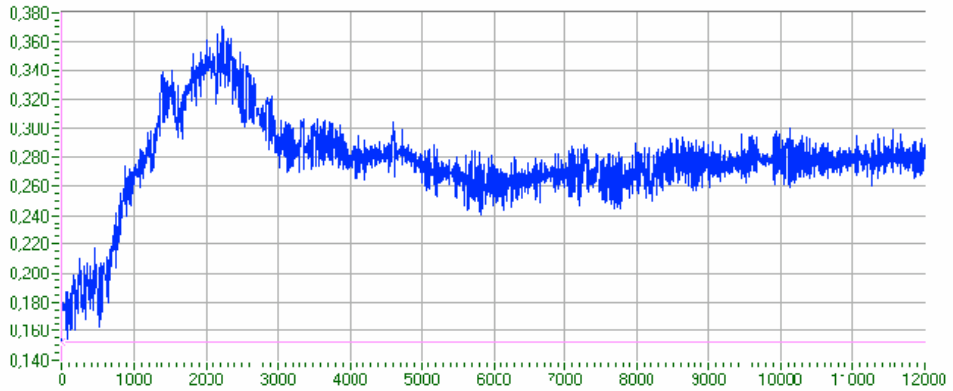
**Şekil 2.12 c;** Zr implante edilmiş 316 L paslanmaz çelik numunedeki sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).



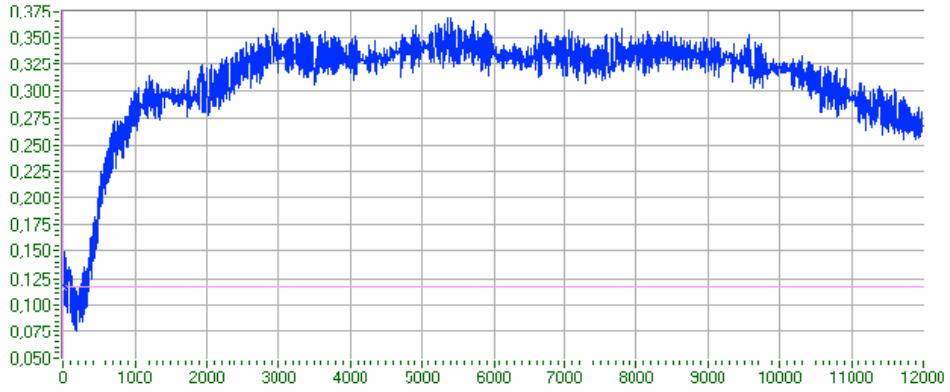
**Şekil 2.12 d;** Zr+O implante edilmiş 316 L paslanmaz çelik numunedeki sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).



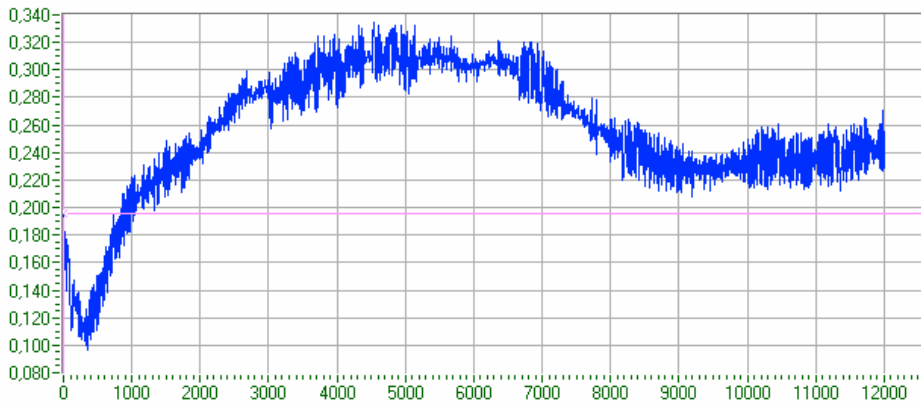
**Şekil 2.12 e;** İmplant edilmemiş Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).



**Şekil 2.12 f;** N implante edilmiş Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).



**Şekil 2.12 g;** Zr implante edilmiş Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).



**Şekil 2.12 h;** Zr+O implante edilmiş 316 Ti-6Al-4V numunede sürtünme katsayısı (Tek vd., 2007).

**Çizelge 2.3 a;** 316 L paslanmaz çelik numunelerde genel sonuçlar (doz  $1 \times 10^{17}$  iyon/cm<sup>2</sup>) (Tek vd., 2007).

Pin UHMWPE 316L paslanmaz çelik numune	Sertlik (Hv)	Sürtünme katsayısı	Aşınma ( $10^{-4}$ mm <sup>2</sup> )	Pürüzlülük Ra ( $\mu$ m)
İmplant olmamış	350	0,39	3	0,01
N	1365	0,14	1	0,01
Zr	386	0,35	1	0,01
Zr+O	700	0,28	0,15	0,01

**Çizelge 2.3 b;** Ti-6Al-4V numunelerde genel sonuçlar (doz  $1 \times 10^{17}$  iyon/cm<sup>2</sup>) (Tek vd., 2007).

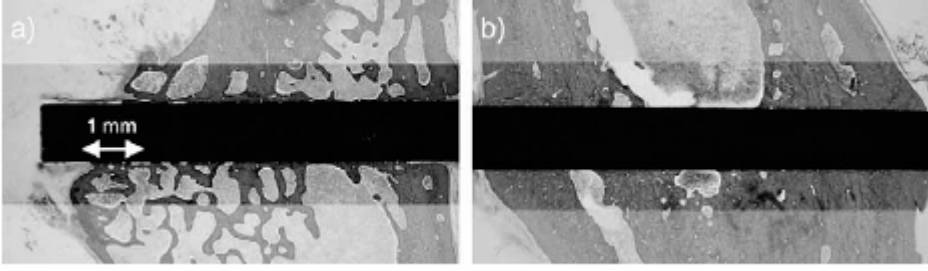
Pin UHMWPE Ti-6Al-4V samples	Hardness (Hv)	Friction coefficient	Wear trace ( $10^{-4}$ mm <sup>2</sup> )	Roughness Ra ( $\mu$ m)
Un-implanted	440	0,30	6	0,01
N	729	0,27	2	0,01
Zr	512	0,31	0,4	0,01
Zr+O	655	0,25	0,2	0,01

Titanyum gibi ortopedik ve dental implantlarda en çok kullanım alanına sahip olan, biyouyumluluğu kanıtlanmış materyallerde osseoentegrasyonu arttırmaya yönelik gerçekleştirilen ve aynı zamanda materyalin yüzey topografisini, yüzey fiziko kimyasını değiştiren tekniklerden biri olan iyon implantasyonuna yönelik olan gerçekleştirilen çalışmalardan bir diğerinde ise 1,5 mm kalınlığında, 15 mm çapında titanyum grade-2 diskler üzerine 400 kV'lık iyon implanterli  $2 \times 10^{-6}$  mbar'da çalışan bir iyon implantasyonu cihazıyla süreç gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 30 keV iyon enerjisinde  $2 \times 10^{17}$  iyon/cm<sup>2</sup> dozajlamayla Ca,  $1,5 \times 10^{17}$  iyon/cm<sup>2</sup> dozajlamayla da P iyonları implante edilmiştir. İnsan osteogenetik sarkoma hücre hattı SAOS-2 ile yapılan doğrudan tutunma çalışmalarında iyon implante numuneler üzerinde tutunmanın daha iyi olduğu anlaşılmıştır (**Krischok vd., 2007**).

Plazma immersiyon iyon implantasyonu yöntemiyle (PIII) titanyum bazlı implantların biyouyumluluğunu arttırmaya yönelik olarak gerçekleştirilen şöyle de bir çalışma bulunmaktadır. Daha önce de bahsedildiği gibi titanyumdaki biyouyumluluk materyal üzerinde kendiliğinden oluşan 2-20 nm kalınlığındaki oksit tabakasıyla yakından ilgilidir. Bu tabaka 2 ile 10 arasında pH aralığı gösteren sıvı ortamda hidroksil grupları içeren pasivasyon tabakası oluşturmaktadır. Bu tabakanın kalınlığı biyouyumluluğu dolayısıyla da osseoentegrasyonu arttırmada birinci basamağı oluşturmaktadır. Bu oksit tabakasının kalınlaştırılması ise anodik oksidasyon veya iyon implantasyon tekniğiyle gerçekleştirilebilmektedir. Yapılan çalışmada da 0.9 mm yarıçaplı 10 mm uzunluklu titanyum grade-2 rodler üzerine 200-550<sup>0</sup>C sıcaklıklar arasında  $2 \times 10^{-6}$  mbar'da  $2 \times 10^{17}$  iyon/cm<sup>2</sup> dozajlamayla O iyonları implante edilmiştir. Sıçan proksimal femurlarına implante edilen numunelerde osseoentegrasyon biyomekanik olarak çekme testleriyle (Çizelge 2.4) ve histolojik olarak flöresan mikroskopu (Şekil 2.13) ile analiz edilmiştir (**Mandl vd., 2003**).

**Çizelge 2.4;** PIII ile muamele edilmiş ve edilmemiş numuneler gerilme mukavemeti ve çekme kuvvetleri açısından karşılaştırılması. Muamele edilmiş numunelerde değerlerin daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır (Mandl vd., 2003).

Titanyum	Dayanım (MPa)	Çekme Kuvveti (N)
Muamele edilmemiş	2.4	43.3
PIII ile muamele edilmiş	2.9	55.3



**Şekil 2.13;** Histolojik kesit alanları (a) saf titatnyum, muamele edilmemiş; (b) PIII muamele edilmiş saf titanyum. Şekilden de görülebileceği gibi iyon implante edilmiş numune etrafında kemik dokusu gelişimi daha fazla olmuştur (**Mandl vd., 2003**).

Farklı iyonlarla implante edilmiş implant ve protezlerde implantasyonun etkilerinin anlatıldığı derleme biçimindeki bir çalışmaya göre de şu bilgileri elde etmekteyiz. Titanyum üzerine  $Ca^+$ ,  $K^+$ , ve  $Ar^+$  iyon implantasyonlarının yapıldığı ve insan kemik hücresi etkileşiminin incelendiği bir çalışmada yüksek dozda  $Ca^+$  implantasyonunun MG-63 hücrelerinin tutunmasını ve yayılmasını arttırdığı anlaşılmıştır. In vivo gerçekleştirilen başka bir çalışmada  $Ca^{++}$  implante edilmiş titanyumda kemik iletiminin daha iyi olduğu anlaşılmıştır.  $Ca^+$  ve  $P^+$  iyonlarının titanyum üzerine implantasyonunu ikili etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada implante edilmemiş numunelerle benzer biyouyumluluk gösterdikleri anlaşılmıştır. Diğer bir çalışmada  $Na^+$  iyon implantasyonunun takiben biriktirme sürecinin gerçekleştirildiği titanyum numunelerde osteoblast hücrelerinin büyümesinin arttığı gözlenmiştir. Başka bir çalışmada  $NH_2^+$  iyon implante edilmiş ve diğer yüzey pürüzlendirme işlemlerinin gerçekleştirildiği numunelerde osteoblast davranışları incelenmiştir. Bunlara benzer çalışmalar neticesinde de iyon implantasyonu sürecinin osseoentegrasyonu indüklediği kanısına varılmıştır (**Braceras vd., 2007**).

Ti6Al4V dental implantlara C, N, CO ve Ne gibi hafif iyonların implante edildiği bir çalışmada ise implantasyon sonrası numuneler osseoentegrasyon testine tabi tutulmuşlardır. Bu iyonlar 45 ile 100 keV arasında değişen enerjilerle  $5 \times 10^{17}$  iyon/cm<sup>2</sup> dozda implante edilmişlerdir. İmplant edilmiş numunelerle implante edilmemiş kontrol numuneleri erişkin tavşanların tibialarına yerleştirilerek 3 ay boyunca bekletilmişlerdir. 3 ay sonrasında implantlar yerlerinden çıkarılarak implant yüzeyi ve tavşan tibiaları osseoentegrasyon açısından incelenmiştir. CO implante edilen implantlar diğerleriyle karşılaştırıldığında osseoentegrasyonun daha yüksek olduğu anlaşılmıştır (**Braceras vd., 2002**).

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1 Materyal

Bu çalışmada 36 adet 3mm boy 6 mm çaplı ISO 5832-2 sınıf 4 (grade-4) saf titanyum disk kullanılmıştır. Kullanılan materyalin kimyasal bileşimi çizelge 3.1.a'da görülmektedir. Numuneler dental implant üretimi yapan Şanlılar Ltd. Şti.'nden temin edilmiştir. Bu numunelerden 18 adeti 0,1 ra pürüzlülüğe, 18 adeti de 0,06 ra pürüzlülüğe sahiptir. Pürüzlülük işlemleri Dokuz Eylül Üniversitesi Malzeme-Metalurji Mühendisliği Bölümü'ndeki pürüzlülük cihazı ile (MITU-TOYO, SA-301) gerçekleştirilmiştir. Numunelerin pürüzlülükleri ise yine Dokuz Eylül Üniversitesi Malzeme-Metalurji Mühendisliği Bölümü'ndeki pürüzlülük ölçüm cihazı ile (Metkon, Forcipol-1V) gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 9 adet 0,1 ra pürüzlülüğe, 9 adet 0,06 ra pürüzlülüğe sahip bu titanyum numuneler Zirkonyum (Zr) ile implante edilmiştir. Ege Üniversitesi EBİLTEM'deki MEVVA iyon implantasyon sistemi yeni yerine taşındığı için numuneler Rusya'daki HCEI-Tıomsk'da implante edilmiştir. Numunelerin implantasyon şartları çizelge 3.1.b'de görülmektedir.

**Çizelge 3.1.a;** 5832-2 sınıf 4 (grade-4) saf titanyum malzemede yüzde kimyasal bileşimler.

Maximum Kompozisyonel Limitler						
Yüzde Kütle Oranı						
	Nitrojen	Karbon	Hidrojen	Demir	Oksijen	Titanyum
TİTANYUM GR-4	0,05	0,1	0,012	0,5	0,4	Balans

**Çizelge 3.1.b;** Numunelerin implantasyon şartları

Numune	Numune boyutları	İyon	Ortalama Yük Dağılımı	İyon enerjisi	Doz	Hızlandırıcı voltajı	Darbe Sayısı
	mm			keV	iyon/cm <sup>2</sup>	kV	sn <sup>-1</sup>
ISO 5832-2 sınıf 4 (grade-4) saf titanyum	Boy: 3 Çap: 6	Zr	2,58	206.4	2x10 <sup>17</sup>	80	5

### 3.1.1 Hücre tutunma testi materyalleri

- SAOS-2 osteoblast hücreleri (DSMZ; ACC 243; human osteogenic sarcoma, Almanya)
- L-929 fare fibroblast hücreleri (HUKUK, Şap Enstitüsü, Ankara)
- Dulbecco hücre üretme ortamı ( DMEM; Biochrom, Almanya)
- RPMI 1640 hücre üretme ortamı (Biochrom, Almanya)
- 10 µg/ml L- glutamin (Biochrom, Almanya)
- %10 fetal dana serumu ( FBS; Biochrom, Almanya)
- 10 µg/ml gentamisin (Biochrom, Almanya)
- Tripsin-EDTA (Sigma, Almanya)
- Yüzeyi parafilmle (American National Can, Amerika) kaplanmış 24 gözlü doku kültürü pleytleri (Greiner, Almanya)
- 37°C'de, % 5 CO<sub>2</sub> 'li inkübatör (Hera Cell, Heraeus, Almanya)
- Tripkan mavisi (Applichem, Almanya)

### 3.1.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) materyalleri

- Fizyolojik serum
- Sodyum kakodilat (Sigma, Almanya)
- Gluteraldehit (EM grade, %25 aqueous) (Merck, Almanya, pH 7.2)
- Osmium Tetroksit(Sigma, Almanya)
- Sukroz (Merck, Almanya)
- % 35, % 70, % 85, % 95, %100 etanol
- Hekzametildisilazan (Merck, Almanya)
- Pipet ucu (1000µl)
- Santrifüj tüpleri (15 ml, Greiner, Almanya)
- Tampon A: %5 gluteraldehit (pH 7,2) (0,1 M sodyum kakodilat içinde)
- Tampon B: %7 sukroz (7g/100 ml) (0,1 M sodyum kakodilat içinde)
- Tampon C: %2 osmium tetroksit (0,1 M sodyum kakodilat içinde)
- Mikropipet uçları
- Fotoğraf filmi 100 ASA siyah beyaz film numarası 120
- Doku kültürü pleytleri (Greiner, Almanya)
- Doku kültürü flaskları (Greiner, Almanya)

### 3.1.3 Giemsa ile boyama materyalleri

- Pipetler (Greiner, Almanya)
- PBS solüsyonu (fosfat tamponu) (Biochrom, Almanya)
- Metanol (absolut) (Merck, Almanya)
- PBS – metanol solüsyonu ( 1 kısım PBS:1,5 kısım metanol)
- Dilue edilmemiş Giemsa boyası (Merck, Almanya)
- Deiyonize veya distile su
- Yuvarlak lameller
- Hücre kültürü

### 3.1.4 Sıvı azotta donmuş hücreleri çözme materyalleri

- Kültür kabı (çözdürülecek hücrenin kapasitesine uygun ölçekte),
- Hücre kültürü besi ortamı (hazırlanacak kültür için gerekli hacmin bir katı fazla miktarda)

### 3.1.5 Hemositometre kullanarak boya almama esaslı hücre sayımı materyalleri

- Hemositometre (Bürker)
- Fizyolojik tuzlu su (8,5 g NaCl + 1000 ml ye bidistile su ile tamamlanır)
- Tripan mavisi solüsyonu (%0,4 sol.) [(0,4 g tripan mavisi + 100 ml ye fizyolojik tuzlu su ile tamamlanır) karıştırarak tamamen erimesi sağlandıktan sonra sırasıyla süzgeç kağıdı, 0,45µm ve 0,22µm filtrelerden süzülerek küçük hacimlerdeki steril şişelere paylaşılır oda ısısında saklanır.] (Sigma, Almanya)
- Dulbecco's PBS (8,0 g NaCl + 1,150 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 0,2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 0,2 g KCl + 0,133 g CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O + 0,1 g MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O + 1000 ml distile su) (Biochrom, Almanya)
- Eppendorf tüpleri (Greiner, Almanya)
- Pipetler (1 ml) veya mikropipet uçları ve mikropipet (Greiner, Almanya)
- Işık mikroskobu
- Hücre süspansiyonu
- Alkol (%70)

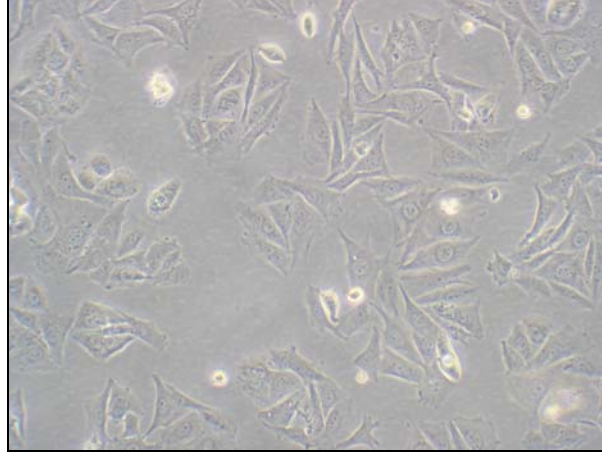
### 3.2 Metot

#### 3.2.1 Sıvı azot içerisinde saklanan dondurulmuş SAOS-2 ve L929 hücrelerinin çözündürülerek yeni kültürlerin hazırlanması

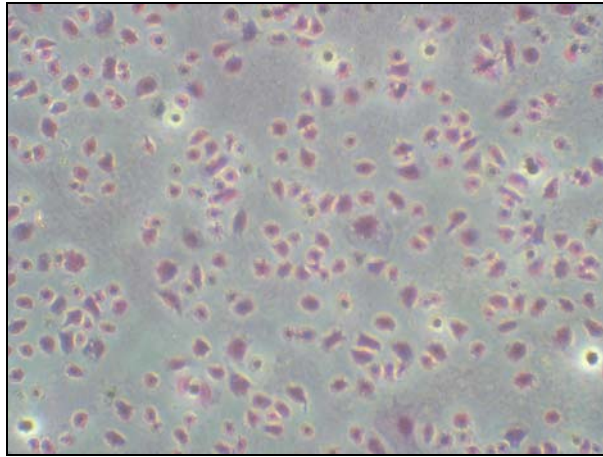
SAOS-2 ve L-929 hücre süspansiyonunu içeren ampül sıvı azot tankından çıkarıldıktan sonra bekletmeksizin kapağından tutularak 37°C'ye kadar ısıtılmış su banyosunda hafifçe sallanarak çözündürülmüştür. İçeriği tam olarak çözülme-yen ampül alkol içeren behere tamamen daldırıp çıkarılarak santrifüj edilerek laminer akışlı kabinin içerisine alınmıştır. Tüpün alt kısmında kalan ve içerisinde hücre bulunan süpernatant ayrılmıştır. Daha sonra 10 µg/ml L-glutamin, 10 µg/ml penisilin ve 10 µg/ml gentamisin içeren RPMI 1640 hücre kültürü ortamının yarısı kültür kabına konmuş, diğer yarısı da 37°C'de, %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde bekletilmiştir. Kabin içerisinde bulunan besi ortamından 0,5 ml kadarı ampüle konarak pipet yardımıyla ampül içeriği homojenize edilmiştir. Daha sonra hücre süspansiyonu içerisinde besi ortamı bulunan kültür kabına transfer edilmiştir. Kültür kabının kapağı kapatılarak inkübatöre yerleştirilmiştir. 2 saat sonra inkübatörden çıkarılan kültür kabının besi ortamı boşaltılarak inkübatörde bekletilen taze besi ortamı ilave edilmiş, flask tekrar inkübatöre yerleştirilmiştir.

#### 3.2.2 Hücre kültürlerinin Giemsa ile boyanması

Yuvarlak cam lameller üzerine 1,5 x 10<sup>5</sup> hücre/ml olacak şekilde SAOS-2 hücresi eklenerek 2 saatlik tutunması gerçekleştirilen hücrelerde morfolojinin incelenmesi açısından Giemsa ile boyama yapılmıştır. Buna göre hücreler öncelikle PBS ile yıkanmıştır. PBS boşaltılarak PBS-metanol solüsyonu ilave edilmiştir. Boşaltılan PBS-metanol solüsyonundan sonra ortama metanol eklenmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakika beklendikten sonra metanol dökülmüştür. Ortama tekrar metanol ilave edilmiş, hafifçe çalkalanmış ve dökülmüştür. Daha sonra hücre yüzeyini tamamen örtecek miktarda Giemsa ilave edilmiş ve pleyt yavaşça sallanarak boyanın tüm yüzeye yayılması sağlanmıştır. Oda sıcaklığında 5 dakika beklenerek boya boşaltılmıştır. Daha sonra yine pipet yardımıyla lamel yüzeyleri pembe bulut fon uzaklaşana kadar yıkanmıştır. Nemli halde iken mikroskop altında incelenmiştir. Işık mikroskobu ile 20x büyütme-li Giemsa ile boyama öncesi görüntü şekil 3.1 a'da boyama sonrası görüntü ise 3.1 b'de görülmektedir.



**Şekil 3.1 a;** 20x büyütme ile SAOS-2 hücre görüntüsü



**Şekil 3.1 b;** 20x büyütme ile Giemsa boyama sonrası SAOS-2 hücre görüntüsü

### **3.2.3 Hemositometre kullanarak boya almama esaslı hücre sayımı**

Eppendorf tüpüne 0,1 ml tripan mavisi solüsyonu konmuştur. Sayımı yapılacak hücre süspansiyonundan 0,9 ml alınarak tüpteki boya solüsyonu içerisine ilave edilmiştir (hücre 1:10 oranında seyreltilmiş olur). Süspansiyonu köpük oluşturmayacak şekilde dikkatle homojenize edilip oda ısısında 5 dakika bekletilmiştir. Sonrasında pipetle tekrar homojenize edilmiştir. Hemositometre sayım için hazırlanmıştır: lam ve lamel alkol ile yüzeyi çizilmeden temizlenip, lam üzerine lamel yerleştirilmiştir, lamı

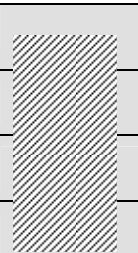





kırmamaya özen göstererek bastırılmıştır. 0,05 ml (50 µl) kadar boyanmış hücre süspansiyonu alınarak hemositometrenin lamı ve lameli arasına yavaşça akıtılmıştır. 30-60 dk hücrelerin hareketsizleşmesi için beklenmiştir. Mikroskop yardımıyla, 10X objektif kullanılarak, hemositometrenin tüm karelerindeki canlı hücreleri (boyayı absorbe etmeyen) sayılmıştır. Sayım sırasında en sağdaki üçlü çizgiden başlayarak küçük karelerin içindeki tüm hücreler, sağ çizgi üzerindikiler ve en üst çizgi üzerindikiler sayılarak yukarıya, daha sonra yandaki küçük karelere geçilmiştir. Böylece tüm alan sayılmıştır. Boyayı absorbe etmiş olan (ölü) hücreler de aynı şekilde sayılmıştır. Mililitredeki canlı ve ölü hücre sayılarını belirlemek için şu formülden faydalanılmıştır;

$$\frac{\text{sayılan hücre miktarı} \times \text{dilüsyon oranı} \times 10^4}{9} = \text{canlı ya da ölü hücre yoğunluğu} \quad (\text{hücre sayısı/ml})$$

Giemsa ile boyanma testinde  $1,5 \times 10^5$  hücre/ml SAOS-2 hücresi, tutunma testlerinde ise  $5 \times 10^5$  hücre/ml L-929 ve  $5 \times 10^5$  hücre/ml SAOS-2 hücresi kullanılmıştır.

### 3.2.4 Hücre Tutunma Testi

Hücre tutunma testinde L929 (HUKUK, Şap Enstitüsü, Ankara), fare fibroblast hücreleri ve SAOS-2 hücreleri kullanılmıştır. L929 hücreleri için 10 µg/ml L- glutamin, %10 fetal dana serumu, 10 µg/ml gentamisin içeren Dulbecco hücre üretme ortamı SAOS-2 için 10 µg/ml L-glutamin, 10 µg/ml penisilin ve 10 µg/ml gentamisin içeren RPMI 1640 hücre kültürü ortamı kullanılmıştır. Tripsin-EDTA solüsyonu ile yüzeyden kaldırılan hücreler besi ortamı içerisinde  $5 \times 10^5$  hücre/ml konsantrasyonda olacak şekilde seyreltilmiştir. Yüzeyi parafilmle kaplanmış 24 gözlü doku kültürü pleytlerine Şekil 3.2’de gösterildiği gibi test materyalleri yerleştirilmiştir. Her bir göze  $5 \times 10^5$  hücre/ml üretme ortamı konularak 37°C’de, % 5 CO<sub>2</sub> ‘li inkübatörde 2 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. Doku kültürü pleytlerinin üzerinin parafimle kaplanmasının nedeni parafilm yüzeye hücre tutunmasını önlemesi ve tutunan hücrelerin sadece materyal yüzeylerine tutunmasını sağlamasıdır. Kontrol grubu olarak parafilmle kaplanmış gözlere cam lamel, hücre ve üretme ortamı ilave edilmiştir. Daha sonra materyaller ayrı bir pleyte alınarak taramalı elektron mikroskopuyla fotoğraflamak için gerekli uygulamalar yapılmıştır. Materyaller kaldırıldıktan sonra pleytin gözlerinde kalan hücreler de materyale tutunan hücrelerin sayılabilmesi amacıyla tripan mavisi ile boyanmıştır.

H + V	0,1 <sub>k</sub>	0,1 <sub>t</sub>	0,06 <sub>k</sub>	0,06 <sub>t</sub>	
H + V	0,1 <sub>k</sub>	0,1 <sub>t</sub>	0,06 <sub>k</sub>	0,06 <sub>t</sub>	
					

**Şekil 3.2;** Tutunma testi düzeneği. Taralı alanlar boş olan kısımlardır. Numunelerin konulduğu yüzeyler parafilmle kaplanmıştır. (H+V; Lamel ve hücrenin bulunduğu göz, 0,1<sub>k</sub>; 0,1 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmamış kontrol numunesi ve hücrenin bulunduğu göz. 0,1<sub>t</sub>; 0,1 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmuş test numunesi ve hücrenin bulunduğu göz. 0,06<sub>k</sub>; 0,06 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmamış kontrol numunesi ve hücrenin bulunduğu göz. 0,06<sub>t</sub>; 0,06 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmuş test numunesi ve hücrenin bulunduğu göz.)

### 3.2.5 Materyaller Üzerine Tutunan Hücrelerin Taramalı Elektron Mikroskobuyla (SEM) Fotoğraflanması

İnkübasyon süreleri bitiminde, taramalı elektron mikroskobunda görüntülemek için pleytlerden alınan materyaller 30 saniye fizyolojik serum ile yıkanmış, 30 dakika A tamponunda bekletilmiştir. Süre sonunda başka bir solüsyonla yıkama yapmadan 15 dakika B tamponunda bekletilmiştir. Bu basamak iki kere tekrarlanmıştır. Son olarak 30 dakika C tamponunda bekletilmiştir. Bütün bu işlemler buz üzerinde gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda örnekler 5 dakika boyunca distile suda yıkanmıştır. Bu basamak da iki kere tekrarlanmıştır. Örnekler suda yıkandıktan sonra sırasıyla %35, %70, % 85, % 95, %100 etanol çözeltilerinde 5'er dakika bekletildikten sonra hekzametildisilazan solüsyonunda 5 dakika bekletilerek oda sıcaklığında kurutulmuştur. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemeleri ve fotoğraflamaları L929 hücreleri için Ege Üniversitesi, Dış Hekimliği Fakülte'sinde SAOS-2 hücreleri için ise Dokuz Eylül Üniversitesi Malzeme Metalürji Mühendisliği Bölümü'nde yapılmıştır.

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Hücre Tutunması Test Sonuçları

#### 4.1.1 L929 hücre tutunması sonuçları

Hücre tutunma test sonuçları değerlendirildiğinde iyon implantasyonu yapılmış yüzeylere iyon implantasyonu yapılmamış yüzeylerden daha fazla tutunma olduğu görülmüştür. Numuneler pürüzlülük açısından incelendiğinde ise pürüzlü yüzeylere tutunmanın daha yoğun olduğu gözlemlenmektedir (Çizelge 4.1 a ve b). Lamel ile titanyum malzemeleri karşılaştırdığımızda ise lamel üzerine tutunan hücre adedinin daha fazla olduğu gözlenmektedir. Çizelge 4.1 a'da ve Çizelge 4.1 b'de farklı numunelerde 2 saatlik inkübasyon neticesinde tutunan ve tutunmayan hücre sayıları gösterilmektedir. Ayrıca Çizelge 4.1 c'de ve Çizelge 4.1 d'de de materyaller yüzeylerine tutunan ve tutunmayan hücrelerin yüzde oranları verilmektedir. Tutunan ve tutunmayan hücre sayısının materyal tiplerine göre gösterdiği yüzde değişim oranı ise Şekil 4.1 a ve Şekil 4.1 b'de gösterilmektedir.

Tutunma testi 2 tekrarlı yapılmak üzere tasarlanmıştır. Her bir tekrardan alınan ortalama değerler Çizelge 4.2'de, tutunan hücre yüzdesinin materyallere göre gösterdiği değişim ise Şekil 4.2'de verilmiştir. Lamel ve titanyum numunelere yönelik SEM görüntüleri ise Şekil 4.3'de verilmektedir.

2 saatlik L-929 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları karşılaştırıldığında pürüzlülüğü 0,1 ra olan iyon implante edilmemiş kontrol numunelerinde % 60 iken pürüzlülük oranı 0,06 ra'ya düştüğünde tutunan hücre sayısı da % 56'ya düşmüştür. Pürüzlülüğü 0,1 ra olan iyon implante edilmiş numunelerde tutunan hücre sayısı % 69,4 iken 0,06 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante edilmiş numunelerde bu oran % 62,7'dir. Bu da pürüzlülük oranının hücre tutunmasıyla doğru orantılı olduğunu göstermektedir. İyon implantasyonunun tutunmaya olan etkisini incelemek istediğimizde ise 0,1 ra pürüzlülükte ve iyon implante numunelerde tutunma oranı % 9,4 oranında artış göstermiştir. 0,06 ra pürüzlülükte ve iyon implante numunelerde ise %6,7 oranında artış gözlemlenmiştir.

**Çizelge 4.1 a;** L929 tutunma testi 1. tekrar tutunan ve tutunmayan hücre adetleri (hücre+vasat; Lamel üzerine tutunan ve tutunmayan hücre adetleri. 0,1 Kontrol; 0,1 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmamış kontrol numunesi üzerine tutunan ve tutunmayan hücre adetleri. 0,1 Test; 0,1 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmuş test numunesi üzerine tutunan ve tutunmayan hücre adetleri. 0,06 Kontrol; 0,06 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmamış kontrol numunesi üzerine tutunan ve tutunmayan hücre adetleri.. 0,06 Test; 0,06 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante olmuş test numunesi üzerine tutunan ve tutunmayan hücre adetleri. )

<i>Hücre Tutunma Testi</i>	<b>hücre+vasat(lamel)</b>	<b>0,1 Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06 Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>Tutunan Hücre Sayısı</b>	354000	300000	347000	280000	307000
<b>Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	146000	200000	153000	220000	193000

**Çizelge 4.1 b;** L929 tutunma testi 2. tekrar tutunan ve tutunmayan hücre adetleri

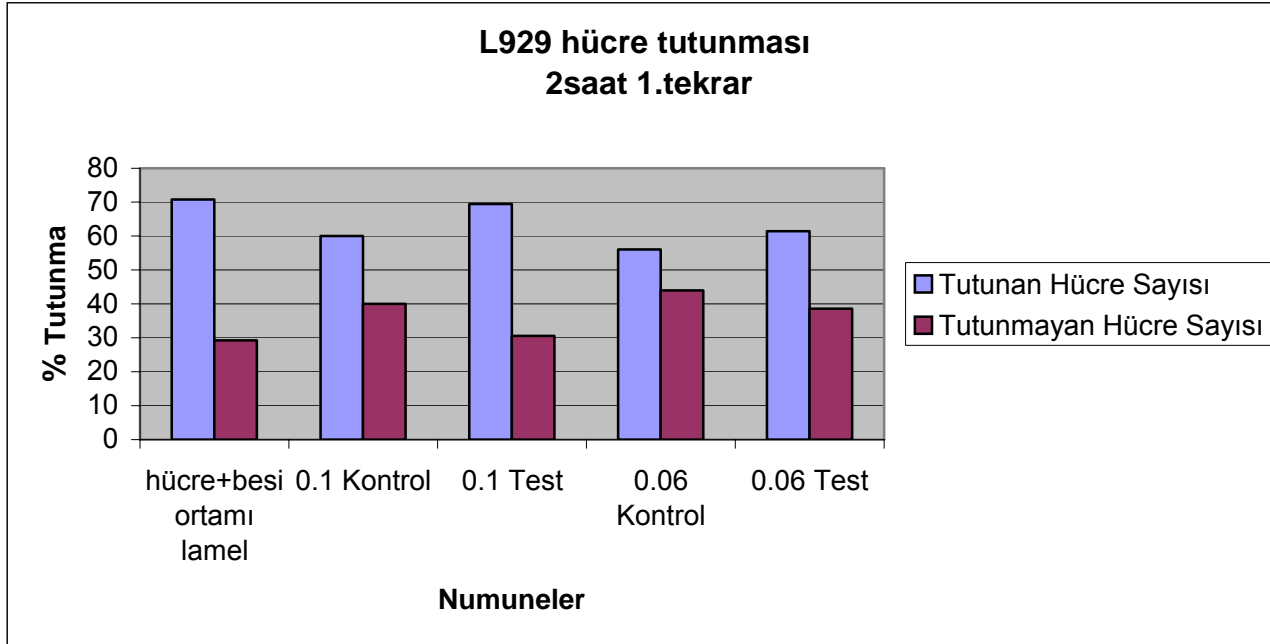
<i>Hücre Tutunma Testi</i>	<b>hücre+vasat(lamel)</b>	<b>0,1 Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06 Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>Tutunan Hücre Sayısı</b>	350000	300000	347000	280000	320000
<b>Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	150000	200000	153000	220000	280000

Çizelge 4.1 c; L929 tutunma testi 1. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları

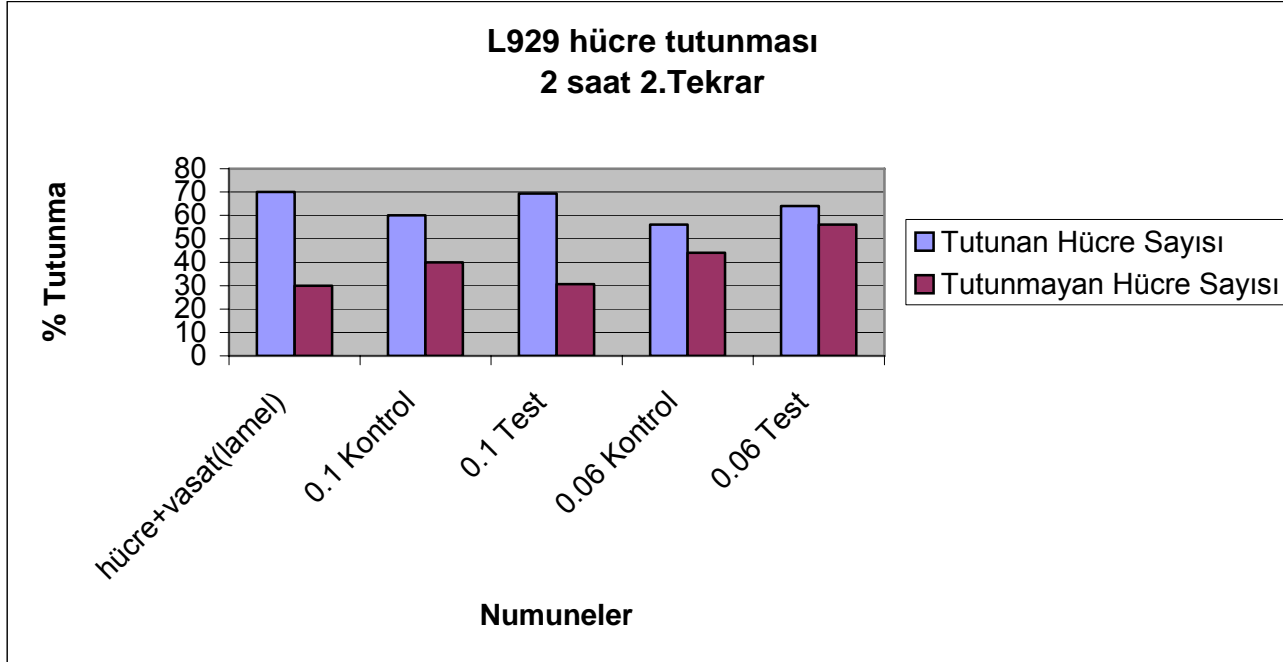
<i>Hücre Tutunma Testi</i>	<b>hücre+vasat (lamel)</b>	<b>0,1 Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06 Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>% Tutunan Hücre Sayısı</b>	70,8	60	69,4	56	61,4
<b>% Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	29,2	40	30,6	44	38,6

Çizelge 4.1 d; L929 tutunma testi 2. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları

<i>Hücre Tutunma Testi</i>	<b>hücre+vasat(lamel)</b>	<b>0,1 Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06 Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>% Tutunan Hücre Sayısı</b>	70	60	69,4	56	64
<b>% Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	30	40	30,6	44	56



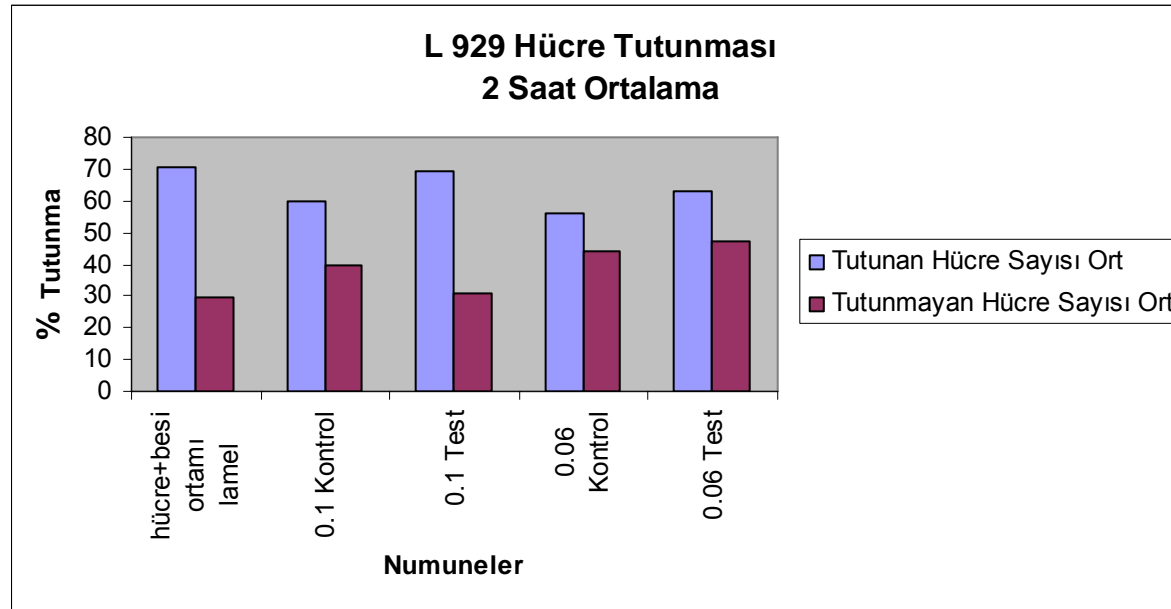
**Şekil 4.1 a;** Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği



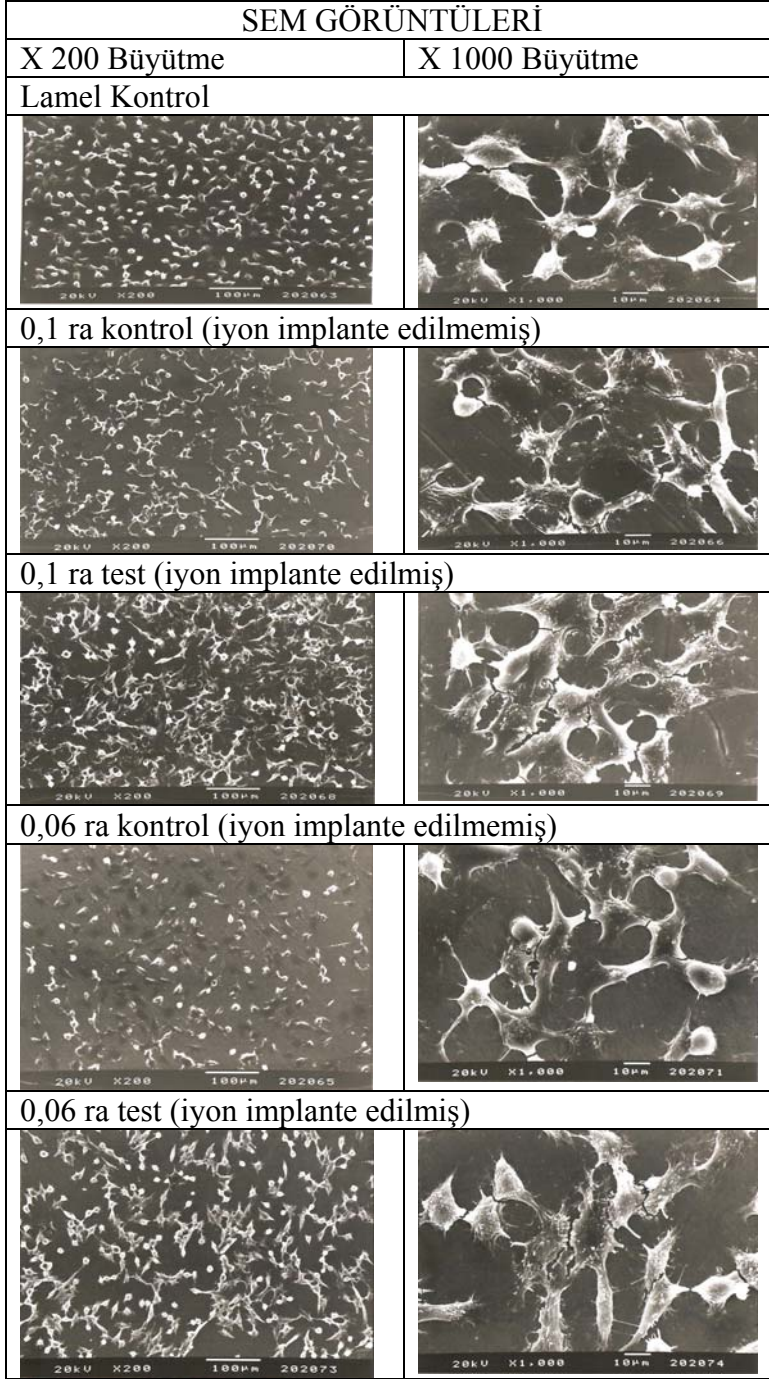
**Şekil 4.1 b;** Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği

**Çizelge 4.2** 2 saatlik L929 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları

<i>Hücre Tutunma Testi</i>	<b>hücre+vasat (lamel)</b>	<b>0,1 Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06 Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>% Tutunan Hücre Sayısı Ort</b>	70,4	60	69,4	56	62,7
<b>% Tutunmayan Hücre Sayısı Ort</b>	29,6	40	30,6	44	47,3



**Şekil 4.2;** 2 saatlik L929 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları karşılaştırmalı grafiği



**Şekil 4.3;** Lamel ve titanyum yüzeylerdeki fibroblast tutunma SEM görüntüleri

#### 4.1.2 SAOS-2 hücre tutunması sonuçları

Hücre tutunma test sonuçları değerlendirildiğinde iyon implantasyonu yapılmış yüzeylere iyon implantasyonu yapılmamış yüzeylerden daha fazla tutunma olduğu görülmektedir. Numuneler pürüzlülük açısından incelendiğinde ise pürüzlü yüzeylere tutunmanın daha yoğun olduğu gözlemlenmektedir. SAOS-2 hücrelerinde lamel ile titanyum malzemelere tutunma karşılaştırıldığında lamele tutunan hücre adetinin daha az olduğu gözlenmektedir. Çizelge 4.3 a' ve Çizelge 4.3 b'de farklı numunelerde 2 saatlik inkübasyon neticesinde tutunan ve tutunmayan hücre adetleri gösterilmektedir. Ayrıca Çizelge 4.3 c'de ve Çizelge 4.3 d'de de materyaller yüzeylerine tutunan ve tutunmayan hücrelerin yüzde oranları verilmektedir. Tutunan ve tutunmayan hücre sayısının materyal tiplerine göre gösterdiği yüzde değişim ise Şekil 4.4 a ve Şekil 4.4 b'de gösterilmektedir.

SAOS-2 hücreleri tutunma testi de 2 tekrarlı yapılmak üzere tasarlanmıştır. Her bir tekrardan alınan yüzde ortalama değerler Çizelge 4.4'de, tutunan hücre yüzdesinin materyallere göre gösterdiği değişim ise Şekil 4.5'de verilmiştir. Ancak her iki deneme neticesinde de SEM görüntüsü elde edilememiştir. Daha sonra 4 saatlik tutunma işlemi gerçekleştirilerek SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Numunelere ait SEM görüntüleri ise Şekil 4.6'da verilmiştir.

2 saatlik SAOS-2 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları karşılaştırıldığında pürüzlülüğü 0,1 ra olan iyon implante edilmemiş kontrol numunelerinde % 78 iken pürüzlülük oranı 0,06 ra'ya düştüğünde tutunan hücre sayısı da % 68'e düşmüştür. Pürüzlülüğü 0,1 ra olan iyon implante edilmiş numunelerde tutunan hücre sayısı % 82,8 iken bu oran 0,06 ra pürüzlülüğe sahip iyon implante edilmiş numunelerde % 76'dır. Bu da pürüzlülük oranının hücre tutunmasıyla doğru orantılı olduğunu göstermektedir. İyon implantasyonunun tutunmaya olan etkisini incelemek istediğimizde ise 0,1 ra pürüzlülükte ve iyon implante numunelerde tutunma oranı % 4,8 oranında artış göstermiştir. 0,06 ra pürüzlülükte ve iyon implante numunelerde ise %8 oranında artış gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.3 a; SAOS-2 tutunma testi 1. tekrar tutunan ve tutunmayan hücre adetleri

<i>Hücre Tutunma Testi</i>	hücre+vasat(lamel)	<b>0,1</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>Tutunan Hücre Sayısı</b>	300000	400000	408000	380000	360000
<b>Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	200000	100000	92000	120000	140000

Çizelge 4.3 b; SAOS-2 tutunma testi 2. tekrar tutunan ve tutunmayan hücre adetleri

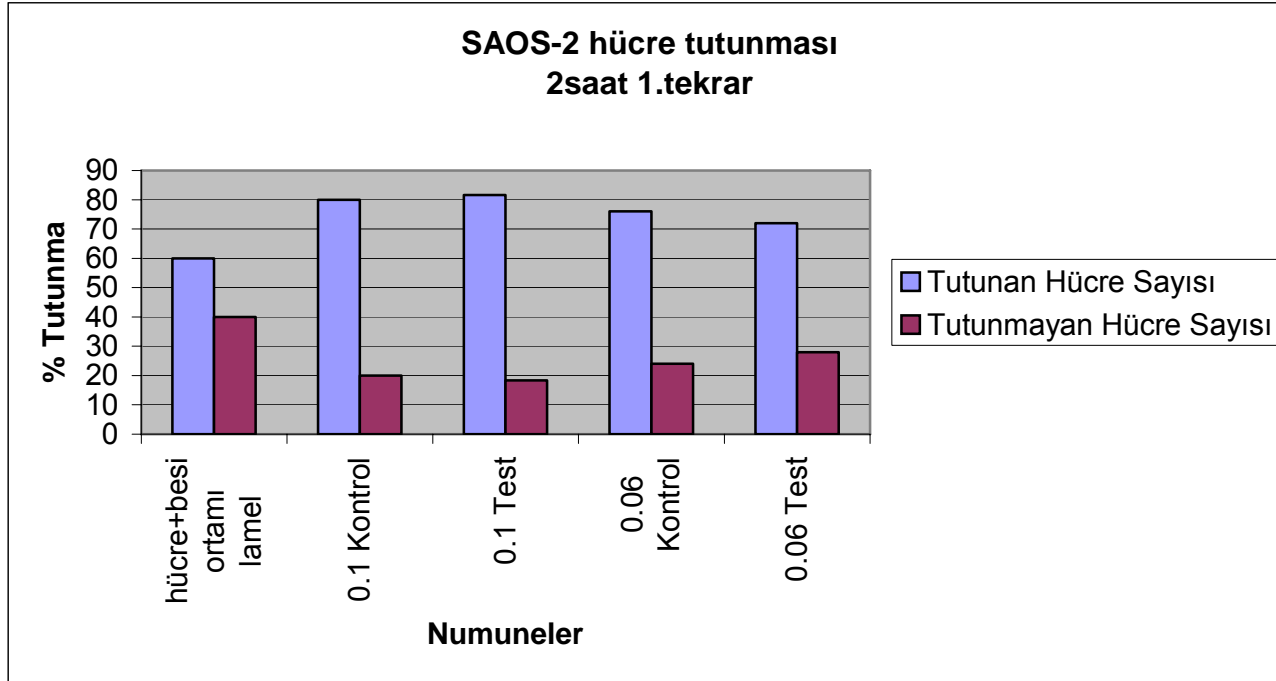
<i>Hücre Tutunma Testi</i>	hücre+vasat(lamel)	<b>0,1</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>Tutunan Hücre Sayısı</b>	280000	380000	420000	300000	400000
<b>Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	220000	120000	80000	200000	100000

Çizelge 4.3 c; SAOS-2 tutunma testi 1. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları

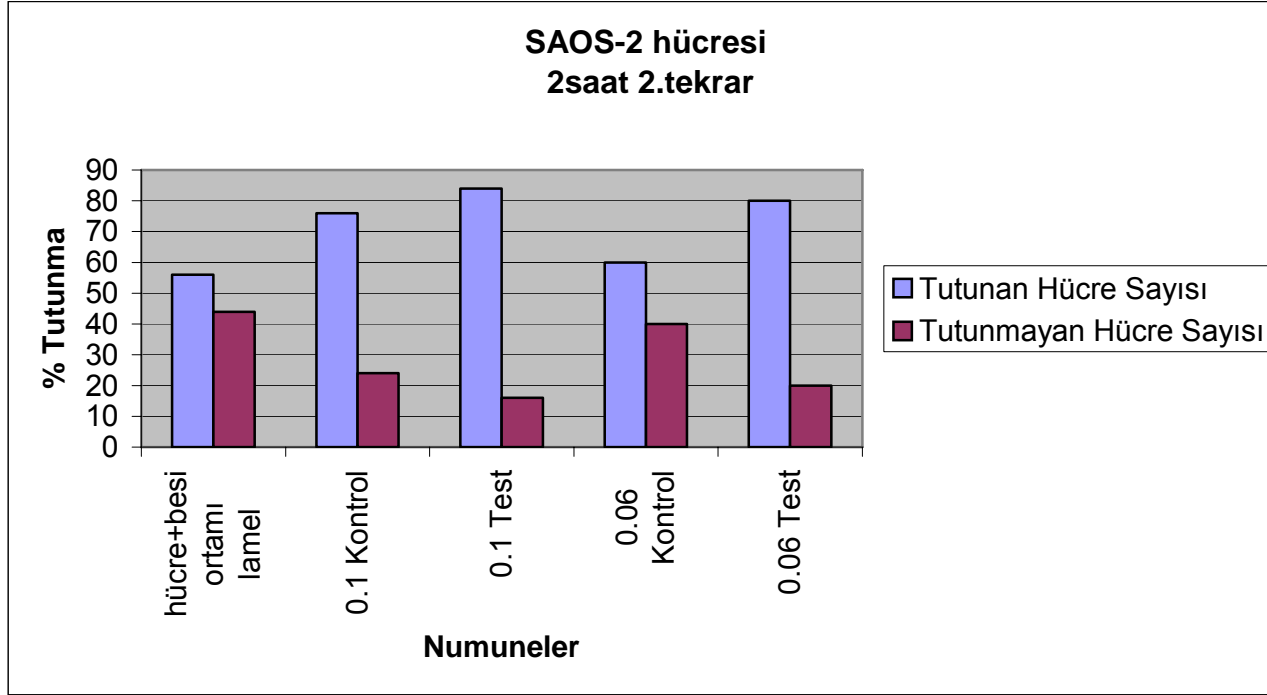
<i>Hücre Tutunma Testi</i>	hücre+besi ortamı lamel	<b>0,1</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>% Tutunan Hücre Sayısı</b>	60	80	81,6	76	72
<b>% Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	40	20	18,4	24	28

Çizelge 4.3 d; SAOS-2 tutunma testi 2. tekrar yüzde tutunan ve tutunmayan hücre oranları

<i>Hücre Tutunma Testi</i>	hücre+besi ortamı lamel	<b>0,1</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06</b> <b>Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>% Tutunan Hücre Sayısı</b>	56	76	84	60	80
<b>% Tutunmayan Hücre Sayısı</b>	44	24	16	40	20



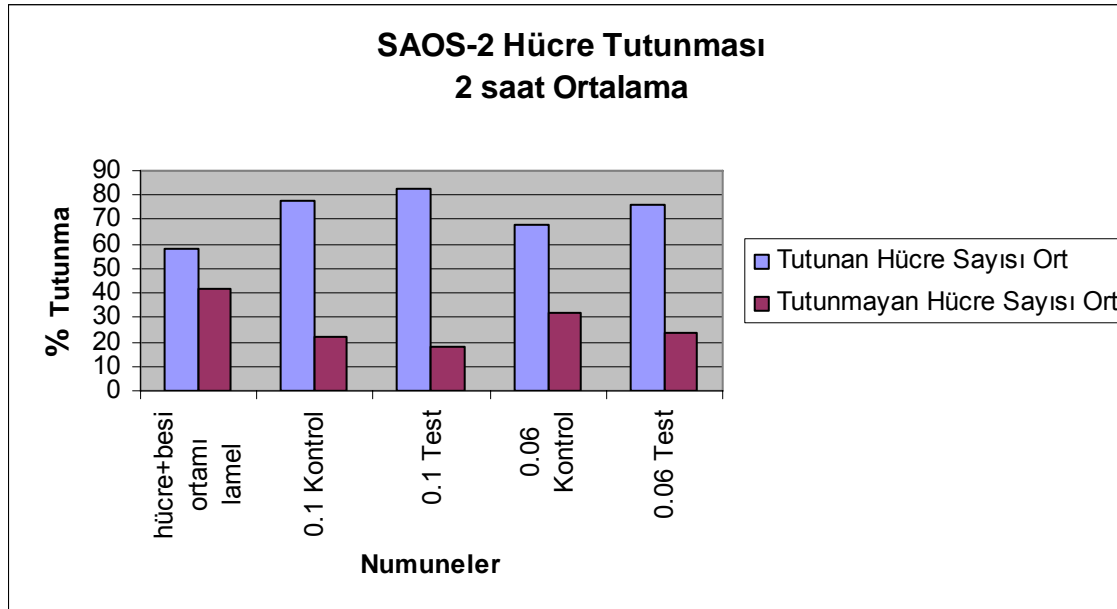
**Şekil 4.4 a;** Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği



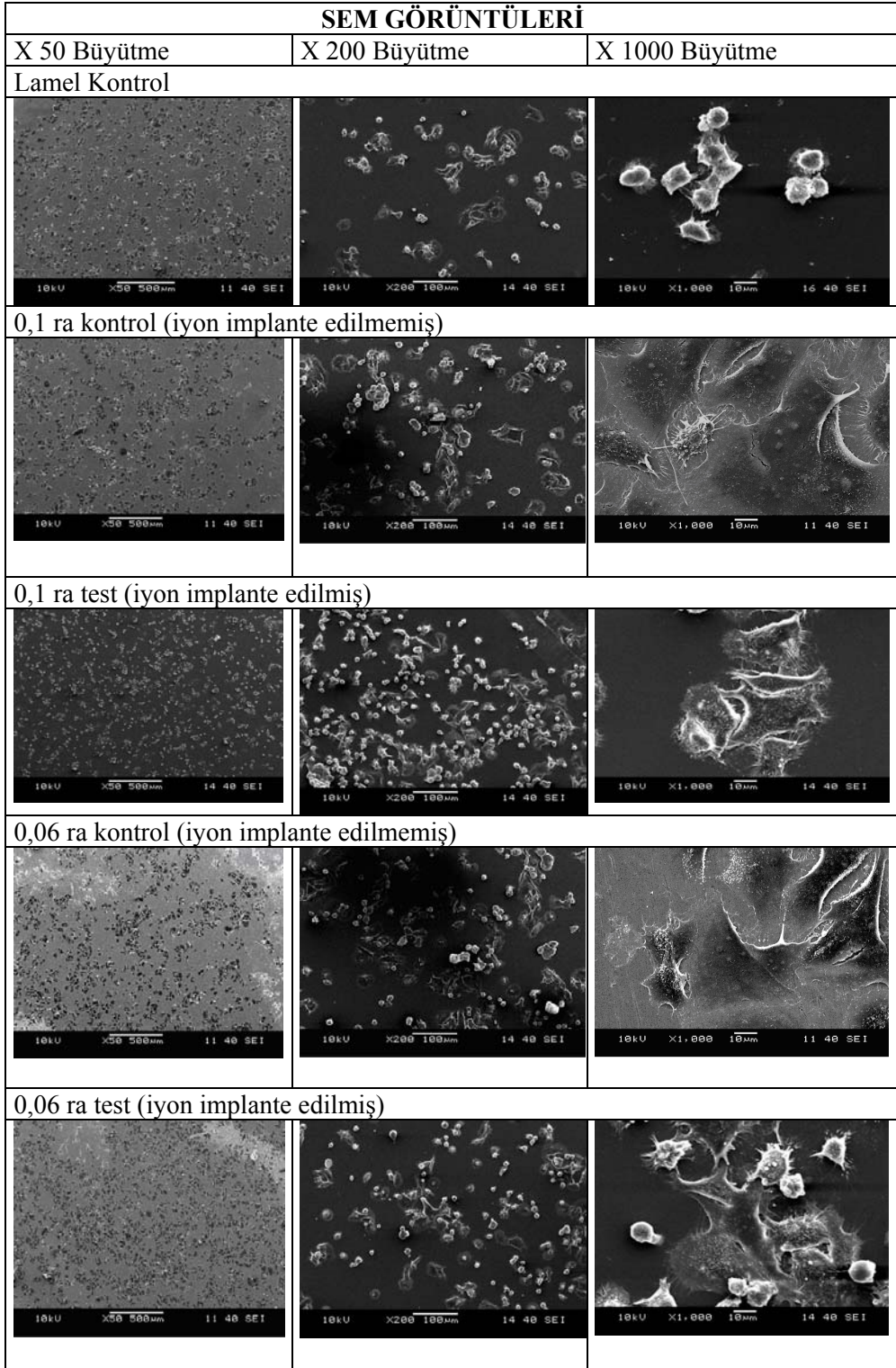
**Şekil 4.4 b;** Materyal yüzeylerine yüzde tutunan ve tutunmayan hücrelerin karşılaştırmalı grafiği

**Çizelge 4.4;** 2 saatlik SAOS-2 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları

<i>Hücre Tutunma Testi</i>	<b>hücre+besi ortamı lamel</b>	<b>0,1 Kontrol</b>	<b>0,1 Test</b>	<b>0,06 Kontrol</b>	<b>0,06 Test</b>
<b>% Tutunan Hücre Sayısı Ortalama</b>	58	78	82,8	68	76
<b>% Tutunmayan Hücre Sayısı Ortalama</b>	42	22	18,4	32	24



**Şekil 4.5;** 2 saatlik SAOS-2 yüzde tutunan ve tutunmayan hücre ortalamaları karşılaştırmalı grafiği



Şekil 4.6;Lamel ve titanyum yüzeylerdeki SAOS-2 tutunma SEM görüntüleri

## 4.2 Tartışma

Fibroblastik L929 hücre tutunmalarına yönelik olarak numunelerde genel bir değerlendirme yapıldığında öncelikle lamel üzerine daha fazla adette tutunma gerçekleşse de proliferasyonun metal yüzeylerde daha iyi olduğu gözlenmektedir (Şekil 4.3). Numuneler pürüzlülük açısından karşılaştırıldığında ise pürüzlü yüzeylerde hücrelerin daha yoğun ve birbirine yakın biçimde tutunduğu gözlenmektedir. Numuneler iyon implantasyonu açısından karşılaştırıldığında ise implantasyon yapılmış yüzeylerde hücrelerin birbirleriyle daha etkileşimli biçimde ve genel yüzeye bakıldığında daha yoğun biçimde tutunduğu gözlenmektedir.

Osteoblast benzeri SAOS-2 hücre tutunmalarına yönelik olarak numunelerde genel bir değerlendirme yapıldığında pürüzlülük açısından karşılaştırmada ise pürüzlü yüzeylerde hücrelerin daha yoğun tutunduğu ve proliferasyonlarının daha iyi olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.6). Numuneler iyon implantasyonu açısından karşılaştırıldığında ise implantasyon yapılmış yüzeylerde hücrelerin birbirleriyle daha etkileşimli biçimde ve genel yüzeye bakıldığında daha yoğun biçimde tutunduğu gözlenmektedir.

Osteoblast ve fibroblast hücrelerinin pürüzlü yüzeylere daha iyi tutunduğu, hücrelerin birbirleriyle etkileşimlerinin pürüzlü yüzeylerde daha iyi olduğu bilinmektedir (Webster ve Ejafor., 2004; Mustafa vd., 2005). Osteoblast hücrelerinin ise  $Ca^+$ ,  $P^+$ ,  $NH_2^+$  gibi iyonların implante edildiği yüzeylere daha fazla tutunduğu yönünde çalışmalar mevcuttur (Krischok vd., 2007; Braceras vd., 2007). Bu çalışmada elde edilen bulgular ise pürüzlü ve iyon implante edilmiş titanyum yüzeylerinin L-929 ve SAOS-2 hücre tutunmasına ve proliferasyonuna uygun olduğu yönündedir.

Bu çalışmada MEVVA sistemi ile yapılan zirkonyum iyon implantasyonunun diğer sistemlere göre yapılan implantasyonlardan daha az safsızlık içermekte olduğunu söyleyebiliriz. Dolayısıyla safsızlıkların hücre tutunmasına etkilerinin olmadığı varsayılmıştır.

## 5. ÖNERİLER

Bu çalışma ileride Au ve Pt gibi elementlerin iyon implantasyonu ve Zr +O, Ti+O ve Al + O (metal-gaz hibrid) iyon implantasyonu yapılarak tekrarlanabilir. Bu sayede numune yüzeylerinde oluşacak seramiklerin etkileri de incelenmiş ve birbirleriyle karşılaştırılmış olacaktır. İmplantasyon yapılmış numune yüzeylerindeki temas açıları (*contact angle*) ve elektrik iletkenlikleri de ölçülerek ıslaklığın ve elektrik iletkenliğinin etkileri de incelenebilir.

Bu çalışma, osteoblast benzeri SAOS-2 osteo sarkoma hücre hattı ile gerçekleştirilmiştir. Bu yüzden *in vivo* çalışmalara geçmeden önce çalışma kanserojenik olmayan bir osteoblast hücre hattı ile tekrarlanabilir. İmkanların sınırlı olması nedeniyle (çok sayıda numunelerin temin edilememesi) standart sapmalar tayin edilememiştir. Bundan sonra yapılacak buna benzer çalışmalarda standart sapmaların tayin edilmesi yararlı olacaktır.

Yukarıda belirtildiği gibi numune sayısının sınırlı olması, yüksek dozlarda iyon implantasyonunun hücre tutunmasına etkisini araştırmamıza engel teşkil etmiştir. Bu bakımdan bu çalışma referans alınarak yüksek dozda iyon implantasyonunun hücre tutunmasına etkisi ayrıca araştırılabilir.

Diş hekimliğinde, implantasyon işlemi alveoler kemiğe gerçekleştirilmektedir. Özellikle ülkemizde osteoporozlu hastalarda diş implantları yerine total alt çene ya da üst çene protezleri kullanılmaktadır. Fakat zirkonyum implante edilmiş titanyum implantların alveoler kemiği zayıf osteoporoz hastalarında kullanılmasının total çene protezleri ile karşılaştırıldığında daha yararlı olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

**Anselme K.**, 2000, Osteoblast adhesion on biomaterials, *Biomaterials* 21:667-681 pp.

**Bezzon, L.O.**, 1993, Allergic Sensivity to Several Base Metals: A Clinical Report., *J. Prosthet Dent.*, 69:243-244, 1993.

**Bianchi A. E.**, 2004, In vitro and in vivo follow-up of titanium transmucosal implants with a zirconia collar, *J. Biomaterials and Biomechanics*, 2:143-150 pp.

**Block M., Kent J., Guerra L.**, 1997, Biocompatibility, Biofunctionality and Biomechanics of Dental Implants, *Implants in Dentistry Book*, Chapter 7, 54-63 pp.

**Block M. S., Kent J. N., Guerra L. R.**, 1997, Implants in Dentistry, *W. B. Saunders Company*, USA.

**Bose, S., Darsell, J., Yang, L.**, 2000, Processing, Biocompatibility and Biomechanical Testing of Porous Alumina Ceramics, *Bioceramics: Materials and Applications III, Ceramic Transactions, Volume 110*, 167-168 pp.

**Braceras I., Alava J. I., Onate J. I.**, 2002, Improved osseointegration in ion implantation-treated dental implants, *Surface and Coatings Technology* 158 – 159: 28–32 pp.

**Braceras I., Alava J. I., Goikoetxea L.**, 2007, Interaction of engineered surfaces with the living world: Ion implantation vs. osseointegration, *Surface & Coatings Technology Journal*, Article in Press.

**Brunski J. B.**, 1999, In vivo bone response to biomechanical loading at the bone/dental implant interface, *Adv Dent Res* 13:99-119 pp.

**Dalkız M., Özcan, A., Yapar, M., Gökay, N.,Yüncü, M.**, 2000, Evaluation of The Effect of Different Biomaterials on Bone Deffect., *Implant Dent.*, 9:226-235 pp.

**Dubok, V. A.**, 2000, Bioceramics-Yesterday, Today, Tomorrow, *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*, 39; 381-392 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

**Guehennec L. L., Soueidan A., Layrolle P.,** 2007, Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration: Review, *Dental Materials* 23; 844–854 pp.

**Guehennec L. L., Lopez M. A., Enkel B.,** 2008, Osteoblastic cell behaviour on different titanium implant surfaces, *Acta Biomaterialia* 4:535–543 pp.

**Ian G. Brown,** 1989, The Physics and Technology of ion sources, *A Wiley Interscience Publication, John Wiley and Sons*, ISBN-0-471-85708-4.

**Jandt K. D.,** 2007, Evaluations, Revolutions and Trends in Biomaterials Science-A Perspective, *Advanced Engineering Materials*, 1035-1048 pp.

**Ko H. C., Han J. B., Bachle M.,** 2007, Initial osteoblast-like cell response to pure titanium and zirconia/alumina ceramics, *Dental Materials* 23: 1349–1355 pp.

**Kobayashi Y. I., Nishihara D., Hirata M.,** 2005, Effects of biomaterials on cell adhesion of human periodontal ligament fibroblasts and fibronectin adsorption, *Japan International Congress Series* 1284: 334–335 pp.

**Krischok S., Blank C., Engel M.,** 2007, Influence of ion implantation on titanium surfaces for medical applications, *Surface Science Journal*, Article in Press.

**Lee B. H., Lee C., Kim D. G.,** 2008, Effect of surface structure on biomechanical properties and osseointegration, *Materials Science and Engineering Journal*, Article in Press.

**Li L., Zhu Z., Huang C.,** 2008, Ultrasound: A potential technique to improve osseointegration of dental implants, *Medical Hypotheses Journal*, Article in Press.

**Lin K. F., Lin C. C.,** 1998, Interfacial Reactions Between Zirconia and Titanium, *Scripta Materialia*, Vol. 39, No. 10: 1333-1338 pp.

**Mandl S., Sader R., Thorwarth G.,** 2003, Biocompatibility of titanium based implants treated with plasma immersion ion implantation, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 206: 517–521 pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

**Mustafa K., Odlenb A., Wennerbergc A.,** 2005, The influence of surface topography of ceramic abutments on the attachment and proliferation of human oral fibroblasts, *Biomaterials* 26: 373–381 pp.

**Niinomi M.,** 1998, Mechanical properties of biomedical titanium alloys, *Materials Science and Engineering A243*; 231–236 pp.

**Oztarhan A., Urkac E.S., Kaya N.,** 2007, Modification of Surface Morphology of UHMWPE for Biomedical Implants, *Mater.Res.Soc.Symp.Proc.Vol.1020*.

**Puleo D. A., Nanci A.,** 1999, Understanding and controlling the bone/implant interface *Biomaterials* 20: 2311-2321 pp.

**Schroeder A., Sutter F., Krekeler G.,** 1995, Oral Implantology Basics, *ITI Holoow Cylinder Thieme Flexibook*, USA.

**Silver, F. H., Christiansen, D. L.,** 1999, Biomaterial Science and Biocompatibility, *Springer, Lippendent Co.*,

**Sollazzo V., Pezzetti F., Scarano A.,** 2007, Zirconium oxide coating improves implant osseointegration in vivo, *Dental Materials Journal*, Article in Press.

**Sulzer Medica,** 2001, The Practice Building Company Trainee, Sulzer Dental Inc., USA.

**Tek Z., A. Öztarhan A., Selvi S.,** 2007, Characterization of Ti + N and Zr ion implanted 316 L stainless steel, *Surface and Coatings Technology*, Volume 201, Issues 19-20, 5 August 2007, 8303-8307 pp.

**Urkac E.S., Oztarhan A., F. Tihminlioglu,** 2007, Thermal characterization of Ag and Ag + N ion implanted ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE), *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, V. 261, No. 1-2, 699-703 pp.

**Wataha, J. C., Hanks, C. T., Sun, Z.,** 1996, In vitro Models of Biocompatibility: A Review., *Dent. Mater.*, 12: 186-193 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

**Webster T. J., Ejiofor J. U.**, 2004, Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo, *Biomaterials* 25: 4731–4739 pp.

**Williams D. F.**, 1991, Immun Response in Biocompatibility:Review, The Biomaterials Silver Jubilee Compendium, The Best Papers published between 1980-2004.

**Williams D. F.**, 2008, On the mechanisms of biocompatibility, *Biomaterials* 29:2941-2953 pp.

(<http://www.branemark.se/>)

## ÖZGEÇMİŞ PELİN KES

### *Öğrenim Durumu*

- |  |                   |           |
|--|-------------------|-----------|
| ➤ Ege Üniversitesi Y.Lisans<br>Devam (Tez Aşaması) | : Biyomühendislik | 2005-     |
| ➤ Ege Üniversitesi Lisans<br>2005                  | : Biyomühendislik | 2000-     |
| ➤ Denizli Fen Lisesi                               | :                 | 1997-2000 |
| ➤ Denizli Yunus Emre Anadolu Lisesi :              |                   | 1993-1997 |

### *İş Tecrübesi*

**HİPOKRAT Tıbbi Malzeme İmalat ve Pazarlama A.Ş. :Stajyer 07/2002-09/2002**

**Şap Enstitüsü : Stajyer 07/2003-08/2003**

**METEOR Medikal A.Ş. : Stajyer 08/2004-09/2004**

**METEOR Medikal A.Ş. : Satış Temsilcisi 03/2005-07/2005**

**ŞANLILAR TIBBİ CİHAZLAR LTD. ŞTİ : Kalite Yönetim Sorumlusu 07/2005-11/2007**

**HİPOKRAT Tıbbi Malzeme İmalat ve Pazarlama A.Ş. :Sistem Yönetim Sorumlusu 11/2007-Devam**

### *Sertifikalar*

- **KOSGEB Genç Girişimci Geliştirme Programı Katılım Sertifikası**  
2003-2004 Ege Üniversitesi-KOSGEB işbirliği ile düzenlenen 90 saatlik programa katılımı hak kazanma ve “**Dental İmplant Üretim Firması**” yapılabirlik raporu hazırlanması.
- **93/42/EEC, 90/385/ECC, 89/79/EC Tıbbi Cihaz Yönetmelikleri Eğitim Katılım Sertifikası**  
20-23.06.2005 tarihinde Avrupa Komisyonu tarafından desteklenen eğitime katıldı.
- **TS EN ISO 9001:2000 Kalite Yönetim Sistemi Semineri Katılım Sertifikası**  
13-14.09.2005 tarihinde Elginkan Vakfi tarafından verilen eğitime katıldı.
- **Kuruluş İçi Kalite Denetçisi Seminer Katılım Sertifikası**  
19-20.10.2005 tarihinde Elginkan Vakfi tarafından verilen eğitime katıldı.

- **Olası Hataların Analizi Seminer Katılım Sertifikası**  
08-09.08.2006 tarihinde Elginkan Vakfı tarafından verilen eğitime katılındı.
- **ISO 9001:2000 Kalite Yönetim Sistemi Baş Denetçi Sertifikası**  
19-23.02.2007 tarihinde Staregister, Checkpoint onaylı PersonaTR (DLIQ Türkiye) tarafından verilen eğitime katılındı ve eğitim sonrası sınavda başarı sağlanarak baştetkikçi adayı olundu.

### ***Çalışılan Projeler***

---

- Tez çalışması. “İnsan yapay karaciğer üretimi” (Teorik) 2003-2004
- Hidroksiapatitin biyouyumluluk ve kemik grefti yerine kullanılabilirliğinin *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda incelenmesi (2004)
- Yüksek Lisans tez çalışması. “İyon implante edilmiş titanyum numuneler üzerine osteoblast ve fibroblast hücre tutunmasının incelenmesi” (Uygulamalı) 2006-Devam etmekte (yazım aşaması)

### **Kişisel Bilgiler**

- **Doğum Tarihi** : 26/11/1981
- **Doğum Yeri** : Denizli
- **Cinsiyet** : Bayan
- **Ehliyet** : B tipi

### ***Seminer Katılımı***

---

- BIOMED 2004, Hacettepe Üniversitesi 11. Uluslar arası Biyomedikal Kongresi, Hacettepe Üniversitesi. 6-10 Eylül, sertifikalı)
- Hücre Kültürü Teknolojisinde Temel Prensipler ve Yapay Organlar Kursu, Ege Üniversitesi. (24-26 Kasım 2005 organizasyon görevlisi)