

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**SİNİR DOKUSU REJENERASYONU VE DESENLİ YAYGIN
SİNİR AĞLARI UYGULAMALARINA YÖNELİK İYON
IŞINLARI İLE MODİFİYE EDİLMİŞ VE ELMASA BENZER
KARBON (DLC) FİLMER İLE KAPLANMIŞ POLİMERİK
YÜZEYLERİN OLUŞTURULMASI**

Şadiye Emel SOKULLU URKAÇ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ahmet ÖZTARHAN

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 621.01.07

Sunuş Tarihi : 14.12.2010

Bornova-İZMİR

2010

Ş. Emel SOKULLU URKAÇ tarafından **Doktora Tezi** olarak sunulan “**Sinir Dokusu Rejenerasyonu ve Desenli Yaygın Sinir Ağları Uygulamalarına Yönelik İyon Işınları ile Modifiye Edilmiş ve Elmasa Benzer Karbon (DLC) Filmler ile Kaplanmış Polimerik Yüzeylerin Oluşturulması**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **14.12.2010** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Ahmet ÖZTARHAN
Raportör Üye	: Prof. Dr. Funda TIHMINLIOĞLU
Üye	: Prof. Dr. Ian G. BROWN
Üye	: Prof. Dr. İsmet DELİLOĞLU GÜRHAN
Üye	: Doç. Dr. Bahattin TANYOLAÇ

ÖZET**SİNİR DOKUSU REJENERASYONU VE DESENİLİ YAYGIN
SİNİR AĞLARI UYGULAMALARINA YÖNELİK İYON
IŞINLARI İLE MODİFİYE EDİLMİŞ VE ELMASA BENZER
KARBON (DLC) FİMLER İLE KAPLANMIŞ POLİMERİK
YÜZEYLERİN OLUŞTURULMASI**

Şadiye Emel SOKULLU URKAÇ

Doktora Tezi, Biyomühendislik Bölümü
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ahmet ÖZTARHAN
Aralık 2010, 185 sayfa

Bu tezde, sinir dokusu rejenerasyonu ve desenli yaygın sinir ağ'ları uygulamalarına yönelik, iyon implantasyonu ile modifiye edilmiş ve elmasa benzer (DLC) ince film karbon ile kaplanmış polimerik malzemelerin uygunluğu araştırılmıştır. Tezin amacı, modifiye edilmiş polimerik yüzeylerde desenli yaygın sinir ağlarının oluşturulması ve yüzeyleri modifiye edilmiş polimerik filmlerin tüp haline getirilerek, bu tüpler içinde sinir hücreleri büyütülmesi ve böylelikler hasarlı sinir dokusunun rejenerasyonuna olanak sağlayacak malzemelerin geliştirilmesidir.

Çalışma 3 ana bölümden oluşmaktadır: 1) polimer numunelerin yüzey modifikasyonu, 2) modifiye edilmiş bu yüzeylerde hücre çalışmaları (in-vitro çalışmalar), 3) in-vitro çalışmalarda elde edilecek başarılı sonuçlardan sonra in-vivo çalışmalar yapılmasına uygun malzemelerin geliştirilmesi.

Sonuç olarak, Au ve C ile gerçekleştirilen implantasyonlarda, yüzeydeki O miktarında artış ve karbonizasyon seviyesindeki düşüş hücre tutunmasını tetiklemiştir. Cam ve polimer malzemelerden iyi hücre tutunması ve nörit gelişimi Au ve C iyonlarıyla $10^{15} - 10^{16}$ doz değeri aralığında izlenmiştir. PLA ve silikon örneklerde de iyi sonuçlar tesbit edilmesine karşın polimer tüp yapımı bakımından da en optimize malzeme PLC olarak tesbit edilmiştir.

İmplantasyonlu ve DLC gerçekleştirilen PLC malzemeden tüp üretimi de gerçekleşmiş olup bu tüplerin klinik çalışmaları halihazırda devam etmektedir. In-vivo çalışmaların sonuçları bir başka tezin konusudur.

Anahtar sözcükler: Omurilik Rejenerasyonu, Sinir Tüpleri, Biyomalzemeler, Sinir Doku Mühendisliği, İyon İmplantasyonu, Elmasa Benzer Karbon Filmler, DLC, Sinir Hücre Kültürü, PLA, PDLG, PLC, Au, C

ABSTRACT**ION BEAM MODIFIED POLYMERIC SURFACES AND
DIAMOND LIKE CARBON (DLC) THIN FILM COATINGS
FOR NERVE TISSUE REGENERATION AND LARGE-
PATTERNED NEURAL CELL ARRAYS**

Şadiye Emel SOKULLU URKAÇ

Phd. in Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ÖZTARHAN

December 2010, 187 pages

In this thesis, research work was carried out to explore the suitability of ion implantation of various elements and vacuum arc plasma deposition of Diamond Like Carbon (DLC) thin films on biodegradable polymers for the selective, enhanced growth of neuronal cells on polymer substrates that could be applied in the future to human surgical/medical needs. One of the specific goal of the thesis is to develop short lengths of small-diameter polymer tubes the inside surface of which was plasma assisted Diamond Like Carbon (DLC) thin film coated /ion beam modified so as to selectively enhance the growth of nerve cells within the tube, thus serving as a vehicle for the regeneration and repair of broken elements of the nervous system.

This work consists of three main sections; 1) Preparation and surface modification of polymer samples and their surface characterizations, 2) Cell study on modified polymer surfaces, in-vitro tests, 3) Selecting the best modified polymer surfaces for in-vivo studies by comparing the results obtained by in-vitro studies.

It was observed that both after Au and C ion implantation, Oxygen concentration increases and Carbon concentration decreases on polymer surfaces. The results showed that neural cell growth on biodegradable polymer surfaces has been stimulated with ion beam modification. Best neural cell attachment and cell growth properties have been observed with the ion fluency of $10^{15} - 10^{16}$ ion /cm², at extraction voltage of 30kV, both with Au and C ions.

As well as being biodegradable polymer, PLC seems to be more suitable for processing small tubes, which can be used as neural conduits in-vivo tests and ion beam modified and DLC thin film coated small tubes are being supplied for in-vivo studies with Sprague-Dowley rats, which is the subject of another on going joint clinical work.

Keywords: Spinal Cord Regeneration, Nerve Conduits, Biomaterials, Neural Tissue Engineering, Ion Implantation, Diamond Like Carbon Films, DLC, Nerve Cell Culture, PLA, PDLG, PLC, Au, C

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın en başından itibaren gerçek araştırmacılara özgü olduğunu anladığım heyecanını ve konuya ilişkin derin bilgisini esirgemedi ortaya koyan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Öztarhan'a,

Bütün proje boyunca gerek teknik gerek psikolojik desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Ian Brown'a,

Kimya ile ilişkili bildiğim ne varsa kendisinden öğrendiğim, çok sevgili hocam Prof. Dr. Funda Tihminlioğlu'na,

İyon implantasyonları ve ToF-SIMS ölçümlerine yardımcı olan, Doç Dr. Alexey Nikolayev'e, Optik Absorbans Fotospektrometre ölçümlerinin Celal Bayar Üniversitesi'nde gerçekleşmesine aracı olan Prof. Dr. Saim Selvi'ye, DLC filmlerde kalınlık ölçümlerinin teorik hesaplarını gerçekleştiren Yüksek Mühendis Umut Yeşilyurt'a,

Hücre kültürü çalışmalarındaki desteklerinden ötürü Yüksek Mühendis Sultan Gülce İz'e, Prof. Dr. İsmet Gürhan'a, Yrd. Doç. Dr. Feyzan Özdal Kurt'a, istatistik hesaplamalarına yardımcı olan Doç. Dr. Taner Dağcı'ya,

İYTE MAM ekibine, Bilkent UNAM ekibine,

Klinik takımın yöneticisi, Prof. Dr. Mehmet Zileli'ye, Prof. Dr. Sedat Çağlı'ya. Klinik çalışmaları kendi tezi kapsamında yürüten, böylece ürün ortaya çıkarmanın keyfini bana tattıran Dr. Umut Yıldırım'a, Dr. Oğuz Gözen'e,

Sevgi ve her daim desteklerinden ötürü eşime, oğluma, kardeşime,

ve anneme, babama...

teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez, TÜBİTAK 108M391 ve E.Ü. BAP 08BİL026 projeleri kapsamında desteklenen araştırmaların bir ürünüdür.

*2006 Şubat Ay'ında kaybettiğimiz Anneannem Ayten Çeltek'e ve
en değerli varlığım Atilla Galip Mehmet Urkaç'a ithaf olunmuştur,*

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxvii
1. Giriş	1
2. Sinir Rejenerasyonu	5
2.1 Sinir Sistemi Fizyolojisi	5
2.2 Sinir Sisteminin Hücresel Bileşenleri	5
2.3 Periferel Sinirler ve Omurilik Anatomisi	7
2.4 Sinir Doku Mühendisliği	9
2.4.a Periferel Sinir Sisteminde Hasarlı Dokular	9
2.4.b Merkezi Sinir Sistemi Yaralanmalarında Tedavi	10
2.4.c Sinir Rejenerasyonuna Yönelik Biyomühendislik Stratejileri	14
2.5 Sinir Rejenerasyonuna Yönelik Nano Malzeme Esaslı Stratejiler	14
2.5.a Sinir Yönlendirme Tüpleri	14
2.5.b. Literatür Taraması	16
3. İyon Işını ve Plazma Teknikleri ile Yüzey Modifikasyonu	22
3.1 Giriş	22
3.2 Vakum Ark Tekniğiyle Metal Plazma	23
3.3 İyon Üreticinin Çalışma Prensipleri	24
3.4. Ege Üniversitesin’de Yürütülen Plazma ve İyon Işını Esaslı Yüzey Modifikasyon Çalışmaları	27
3.5 MEVVA (Metal Vapour Vacuum Ark) Sistemiyle Polimer Uygulamalar	35
3.6 Literatür Özeti	39
4. İyon Işını ile Modifikasyonun Biyobozunur Polimerler Üzerine Etkileri	43
4.1 Giriş	43
4.2 Materyal Ve Yöntem	44
4.2.a Materyal	44

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.2.b Yöntem	45
4.3 Karakterizasyonlar	49
4.3.1 İyon Derinlik Analizi (SRIM)	49
4.3.2 Kimyasal Karakterizasyonlar	52
4.3.3 Termal Testler	55
4.3.4 Yüzey Morfolojisi	55
4.3.5 Kontak Açısı Ölçümleri	56
4.4 SONUÇLAR ve TARTIŞMA	56
4.4.1 İyon Derinlik Analizi	56
4.4.2 Kimyasal Özellikler	63
4.4.3 Termal Özellikler	94
4.4.4 Yüzey Morfolojisi ve Pürüzlülük	97
4.4.5 Kontak Açısı Ölçümleri	114
4.4.6 Sonuçlar	116
Bölüm 5. İyon İmplantasyonu Ve Plazma İle Modifiye Edilmiş - Desenli Biyobozunur Polimerik Yüzeylerde Sinir Hücre Tutunma	
Davranışları	118
5.1 Giriş	118
5.2 Malzeme ve Yöntem	119
5.2.A Materyal	119
5.2.B Malzemelerin Hazırlanması	120
5.3 Sonuçlar ve Tartışma:	123
5.3.1 Cam Numuneler Üzerine İyon İmplantasyonu	123
5.3.2 Cam Numuneler Üzerine Plazma Depozisyonu	129
5.3.3 Polimer Yüzeylere Hücre tutunması	132

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
5.3.4 Karşılaştırmalı Hücre Çalışması	145
5.3.5 Silikon Üzerine Litografi	147
5.4 Tartışma	149
5.5 Sonuç	153
Bölüm 6. Sinir Doku Mühendisliği Alanında Klinik Uygulamalara Yönelik, Biyobozunur, İyon Işınımı Ve Plazma Teknikleri İle İşlem Görmüş, Polimerik Tüpler	154
6.1 Giriş	154
6.2 Malzeme ve Yöntem	155
6.2.A Materyal	155
6.2.B Yöntem	155
6.2.C In Vivo Denemeler	157
7. GENEL SONUÇLAR	162
KAYNAKLAR DİZİNİ	165
EK A	185

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Periferel sinirlerde greftlerin entübölasyon yöntemiyle rejenerasyonu	2
2.1 Miyelin kılıfla çevrili aksonların çizimi	6
2.2 PSS'nin anatomik yapısı	7
2.3 Omurilik'in anatomik yapısı	8
2.4 Ameliyatla hasarlı sinirlerin yeniden bağlanması	11
2.5 Axotomi'ye omurilik'de ve PSS'de vücudun verdiği cevap	12
2.6 Sinir Tüp'leri boyunca rejenerasyonun farklı faz'larda gelişimi	13
2.7 İdeal sinir yönlendirme kanalı'nın (tüp'ün) özellikleri	16
2.8 Poly(L-laktik asit) sinir tüpü	17
3.1 Magnetik filtre ile makro parçacıkların saptırılması (Brown et. al)	24
3.2 Lawrence Berkeley Ulusal Laboratuvarı'nda MEVVA vakum ark iyon üreticinin demonte görüntüsü	25
3.3 MEVVA iyon üreticinin bileşenleri	27
3.4 Ege Üniversitesi Yüzey Modifikasyon Laboratuvarı'nın genel görüntüsü	28
3.5 Metal buharlı vakum ark iyon üretici	30
3.6 Katot tutucu (18 ayrı katot, dönebilen ve su soğutmalı, prinçten yapılmış)	31
3.7 Mevva iyon ışını üreticinin çalışma şeması	32
3.8 MEVVA'nın elektrik bağlantılarının şematik gösterimi	33
3.9 Osiloskopta $V=40kV$ hızlandırma potansiyeliyle hızlandırılan C iyon ışını ark	35
3.10 Gönderilen iyonların hedef malzeme ile etkileşimleri	37
3.11 Tübölasyon şematik gösterimi	43
4.1 Bir iyonun hedef malzeme içerisinde iyon implantasyon sürecinde duruncaya kadar izlediği yolun iki boyutlu görüntüsü	50
4.2 Bir katı içine giren iyonun izlediği üç boyutlu yol	51

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3	Hedef içerisine giren iyonların menzillerinin (R_p) ye göre dağılımları 51
4.4	XPS ölçümlerinin gerçekleştirildiği Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'da bulunan Thermo K-alpha - monokromat XPS spektrometre 52
4.5	ATR/FTIR ölçümlerinin gerçekleştirildiği Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'a ait Bruker marka, VERTEX 70 with Hyperion Scanning Microscope model Smart DuraSamplIR 3 Bounce diamond HATR (3 reflection diamond ATR) mod FT/IR 53
4.6	Raman ölçümlerinin gerçekleştiği Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'da bulunan 632 nm. dalga boylu ($\lambda = 632$ nm.) He-Ne lazer kullanan, Witec Alpha 300S konfokal raman mikroskop 54
4.7	AFM ölçümlerinin gerçekleştiği digital instruments MMSPM Nanoscope IV 55
4.8	Kontak açısı değerine göre yüzey özellikleri 56
4.9	Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) C - iyon implantasyonu sonrası PDLG $(C_6H_8O_4)_x(C_4H_4O_4)_y$ numuneler için, derinlik profili (Depth – Z Axis) ve iyon dağılımının simulasyonu (SRIM) 58
4.10	Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) Au - iyon implantasyonu sonrası PLC $(C_6H_{10}O_2)_n$ numuneler için, derinlik profili (Depth – Z Axis) ve iyon dağılımının simulasyonu (SRIM)..... 59
4.11	Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) Au - iyon implantasyonu sonrası PDLG $(C_6H_8O_4)_x(C_4H_4O_4)_y$ numuneler için, derinlik profili (Depth – Z Axis) ve iyon dağılımının simulasyonu (SRIM)..... 60
4.12	Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) Au - iyon implantasyonu sonrası PLC $(C_6H_{10}O_2)_n$ numuneler için, derinlik profili (Depth – Z Axis) ve iyon dağılımının simulasyonu (SRIM) 61

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.13.	TRIDYN sonuçlarına göre PDLG üzerinde C implantasyonu gerçekleştiğinde beklenen iyon değeri 20 keV. için 125 nm. civarlarında seyrederken bu değer PLC için 130 nm. civarındır.63
4.14	PLC - Au implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Oksijen(O1s) atomlarının durumu.68
4.15	PLC - C implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Oksijen(O1s) atomlarının durumu.69
4.16	PLC - Au implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Karbon(C1s) atomlarının durumu70
4.17	PLC - C implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Karbon(C1s) atomlarının durumu71
4.18	PLC – C (A.B.C.D.) ve Au (E.F.G.H.) implante edilmiş örneklerde farklı enerji değerleri için yüzeyde varolan serbest Karbon(C1s) atomlarının durumu72
4.19	PLC – C (A.B.C.D.) ve Au (E.F.G.H.) implante edilmiş örneklerde farklı enerji değerleri için yüzeyde varolan serbest Oksijen(O1s) atomlarının durumu73
4.20	PLC örneklerde C1s (A.B.C.D.) ve O1s (E.F.G.H.) atomlarının PDLG Film (A.E.), PDLG – C implante edilmiş (B. F.), PDLG – Au implante edilmiş (C. G.), PDLG – DLC kaplama (D.H.)74
4.21	PLA örneklerde O1s atomlarının durumu PDLG Film (A.), PDLG – Au implante edilmiş (B.), PDLG – C implante edilmiş (C.), PDLG – DLC kaplama (D.), PDLG – C-N implante edilmiş (E.), PDLG – C-O implante edilmiş (F.), PDLG – DLC2 kaplama (G.)75

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.22 PDLG örneklerde C1s atomlarının durumu PDLG Film (A.), PDLG – Au implante edilmiş (B.), PDLG – C implante edilmiş (C.), PDLG – DLC kaplama (D.), PDLG – C-N implante edilmiş (E.), PDLG – C-O implante edilmiş (F.), PDLG – DLC2 kaplama (G.)	76
4.23 PDLG örneklerde O1s atomlarının durumu PDLG Film (A.), PDLG – Au implante edilmiş (B.), PDLG – C implante edilmiş (C.), PDLG – DLC kaplama (D.), PDLG – C-N implante edilmiş (E.), PDLG – C-O implante edilmiş (F.), PDLG – DLC2 kaplama (G.)	77
4.24-a. ToF cihazı ile alınan ölçümle belirlenen, gönderilen ışın içinde C iyonu	78
4.24-b. ToF cihazı ile alınan ölçümle belirlenen, gönderilen ışın içinde C ve N iyonları.	78
4.25 ToF cihazı ile alınan ölçümle belirlenen, gönderilen ışını içinde Au iyonu	79
4.26 DLC kaplama(a.) , C implantasyonu (b.), Au implantasyonu (c.) ve işlem görmemiş (d.) PLA (I.) , PLC (II.) and PDLG (III.) numune yüzeylerinin ATR-FTIR analizleri.	80
4.27 Au implante edilmiş (I.) ve C implante edilmiş (II.) PLA, PLC ve PDLG numunelerin ATR-FTIR analizleri.	81
4.28 PLA, PLC ve PDLG numunelerde Plazma Depozisyon yöntemi ile gerçekleştirilen DLC kaplamaların ATR-FTIR analizleri.	82
4.29 İyon implantasyonu olmuş örneklerde doz'a göre renk değişimi	86
4.30 C ve C-N implante edilmiş PLC için implantasyon öncesi ve sonrası optik absorpsiyon fotospektrometre grafikleri (200-800cm ⁻¹ bölgesi)	87

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.31	C ve C-N implante edilmiş PDLG için implantasyon öncesi ve sonrası optik absorpsiyon fotospektrometre grafikleri (200-800cm ⁻¹ bölgesi)87
4.32	C (A., C., E.) ve Au (B., D., F.) implante edilmiş PLC (A., B.), PDLG (C., D.) , PLA(E., F.) örneklerin Raman spektrumları (800-2000cm ⁻¹ bölgesi)91
4.33	PDLG örneklerle gerçekleştirilen C-N(A.) ve C-O(B.) iyon implantasyonu sonrası alınan Raman spektrum analizi92
4.34	Plazma depozisyon yöntemiyle polimer yüzeylere (A. PDLG, B. PLC) gerçekleştirilen DLC kaplamaların Raman spektrumları (800-2000cm ⁻¹ bölgesi)93
4.35	C implantasyonlu (b) ve C-N implantasyonlu (c) PLA örneklerin(a.) DSC verileri96
4.36	C implantasyonlu (b) ve C-N implantasyonlu (c) PLC örneklerin(a.) DSC verileri96
4.37	C implantasyonlu (b) ve C-N implantasyonlu (c) PDLG örneklerin(a.) DSC verileri96
4.38	Au bombardımanı sonrası PLC yüzeyde oluşan tipik değişimler - SEM fotoğrafı (200x)98
4.39	Au bombardımanı sonrası PLC yüzeyde izlenen konik oluşumu - SEM fotoğrafı (1000x)98
4.40	PLC örneklerin farklı iyonlarla implantasyonu sonucu yüzeyinde oluşan topografik değişiklikler100
4.41	PDLG örneklerin farklı iyonlarla implantasyonu sonucu yüzeyinde oluşan topografik değişiklikler101
4.42	PLC örneklerin farklı hızlandırıcı voltaj değerlerinde iyon implantasyonu sonucu yüzeyde oluşan topografik değişiklikler102
4.43	PLC örneklerin farklı doz derecelerinde iyon implantasyonu sonucu yüzeyinde oluşan topografik değişiklikler103

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.44 Farklı plazma esaslı yüzey modifikasyon teknikleriyle işlem görmüş PDLG örneklerle ait pürüzlülük değerleri	104
4.45 Farklı plazma esaslı yüzey modifikasyon teknikleriyle işlem görmüş PLC örneklerle ait pürüzlülük değerleri	104
4.46 Pürüzlülüğün, yüzey modifikasyonu için kullanılan farklı doz değerlerine göre değişimi	105
4.47 Yüzey modifikasyonu sırasında kullanılan farklı enerji değerlerinin pürüzlülük üzerine etkileri	106
4.48 PLC film örneklerde iyon implantasyonu sonucu film oluşumunun SEM fotoğrafları (200x, 1000X)	108
4.49 Pürüzlülük indükleyen mekanizma esnasında konik oluşumunun safhaları	109
4.50 PDLG yüzeylerde iyon bombardımanı sonrasında izlenen defektlerin SEM görüntüleri (200x, 1000x)	109
4.51 PDLG yüzeyde 30dk. 100eV. kutuplama voltajı (biasing voltage) ile gerçekleştirilen DLC kaplamanın kesiti SEM görüntüsü (3500X)	110
4.52 Plazma depozisyon yöntemi ile PLC yüzey üzerinde DLC film SEM görüntüleri (200X)	111
4.53 Plazma depozisyon yöntemi ile PLA, PDLG, PLC yüzeyde oluşan DLC film defektleri, SEM görüntüleri (200X, 1000X)	113
5.1 Farklı doz ve enerjilerde C implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunma oranlarının karşılaştırmalı grafik temsili	124
5.2 Farklı doz ve enerjilerde C implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunmalarının faz-kontrast mikroskop görüntüleri (20X,) (Olympus, Japonya)	125

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
5.3	Farklı doz ve enerjilerde Au implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunma oranlarının karşılaştırmalı grafik temsili127
5.4	Farklı doz ve enerjilerde Au implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunmalarının optik mikroskop görüntüleri (20X) (Olympus, Japonya)128
5.5	Cam örneklerde 30, 60, 90 nm. kalınlığındaki DLC kaplamalar için hücre tutunma sonuçları sergilenmektedir. 60nm. ve 90nm. kalınlığındaki kaplamalarda kalkmalar izlenmektedir130
5.6	(A.) Polimer örnek üzerine DLC kaplama (20X) (B.)Polimer örnek üzerinde sinir hücre (B35) tutunması bakımından işlem görmüş ve işlem görmemiş taraflar arasındaki yoğunluk farkı (4X)131
5.7	Kitosan malzeme üzerine iyon implantasyonu ve sınırda (kırmızı ok işareti) hücre (B35) tutunması İşlem görmüş tarafda kırılmalar var, işlem görmemiş tarafda hücre tutunması izlenebiliyor131
5.8	Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine C iyon implantasyonunun sabit enerjide, farklı doz değerlerinde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X)133
5.9	Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine Au iyon implantasyonunun sabit enerjide, farklı doz değerlerinde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X)134
5.10	C ve Au implante edilmiş yüzeylerde hücre kontrast oranının istatistiki olarak günlere göre (1,4 ve 7) karşılaştırılması136
5.11	C ve Au implante edilmiş yüzeylerde hücre kontrast oranının istatistiki olarak doz değerleri'ne göre 1,4 ve 7. günler bazında karşılaştırılması137

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil	Sayfa
5.12	PLC yüzeylerde C için 1×10^{16} iyon /cm ² (a.) ve Au için 1×10^{15} iyon /cm ² (b.) doz değerlerinde işlem görmüş PLC yüzeyler hücre (B35) tutunması ve nörit oluşumu (1000X) 138
5.13	Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine C iyon implantasyonunun sabit doz değerinde, farklı enerjilerde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X) 139
5.14	Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine Au iyon implantasyonunun sabit doz değerinde, farklı enerjilerde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X) 140
5.15	Belirli doz ve enerji değerinde farklı polimerler yapılan implantasyonlar sonrası yüzeylerin sergiledikleri hücre tutunma davranışları 142
5.16	PLC-DLC kaplama gerçekleşmiş yüzeyde B35 sinir hücre tutunması SEM görüntüsü (1000X) 143
5.17	PLC - Au implantasyonu gerçekleşmiş yüzeyde B35 sinir hücre tutunması SEM görüntüsü (1000X) 143
5.18	PLC - C implantasyonu gerçekleşmiş yüzeyde B35 sinir hücre tutunması SEM görüntüsü (1000X) 144
5.19	PLC üzerine DLC kaplanmış yüzeyde tutunmuş B35 sinir hücrelerinin ve nörit uzantılarının görüntüsü SEM görüntüsü (2000X) 144
5.20	PLC üzerine Au implante edilmiş yüzeyde tutunmuş B35 sinir hücrelerinin ve nörit uzantılarının görüntüsü SEM görüntüsü (1000X, 3500X) 144
5.21	C implante edilmiş PLA, PLC (E=30keV. Doz= 1×10^{16}) ve Kitosan (E=20keV. Doz= 1×10^{15}) örnekler üzerinde Neuro2A (a, c, e) ve B35 (b, d, f) sinir hücre tutunması SEM fotoğrafları (1000X) 146

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
5.22	Silikon numune üzerine yarı maskeleme ile gerçekleştirilen Ca iyon implantasyonu ($E=20\text{keV}$., doz= 1×10^{15} iyon / cm^2 'dir) sonrası B35 sinir hücresi tutunma karakteristiği. (a.) 'da üst taraf implantasyon olmamış düz numune, alt taraf Ca ile implante edilmiş numune kısımindaki hücre tutunmasını göstermektedir (SEM 200X). (b.)'de hücreler daha yakından görüntülenmiştir (SEM 1000X).147
5.23	E-ışın litografi metodu ile maskelenmiş ve Au implante edilmiş silikon numunelerde B35 sinir hücre tutunma davranışının stereo mikroskop görüntüleri (50X).148
6.1	Biyobozunur Polimer Tüpler156
6.2	Tez kapsamında hazırlanan, biyobozunur polimer tüp'ler.....156
6.3	Resimler, deney grubundaki hayvanlara yüzeyi Au ile implante edilmiş biyobozunur polimer tüplerinin sıçanlarda kesilen siyatik sinirlerine mikrocerrahi yöntemle yerleştirilmesini göstermektedir ...158
6.4	Siyatik siniri açılmış Sprague Dowley Fare görüntüsü159
6.5	Bu tez kapsamında ve 108M391 no'lu TÜBİTAK projesi içeriğinde geliştirilen PLC biyobozunur tüp'lerin Sprague Dowley Deney Hayvanları'nın siyatik sinirine yerleştirilmesi159
6.6	Bu tez kapsamında ve 108M391 no'lu TÜBİTAK projesi içeriğinde geliştirilen PLC biyobozunur tüp'lerin siyatik sinirine yerleştirildikten ve sütürlendikten sonra, ameliyat mikroskobu altındaki görüntüsü160

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

4.1	Projede kullanılacak laktik asit esaslı biyobozunur malzemelerin fiziksel özellikleri	44
4.2	İyon derinliği ve İyon dağılımını temsil eden eğrinin tepe noktasının yarı uzunluğu (HWHM (half-width at half-maximum)) cinsinden iyon derişiminin yoğunlaştığı bölgeler	57
4.3	C iyon implante edilmiş PLC örneklerde farklı iyon implantasyon doz değerleri için XPS ile belirlenen yüzey atomik konsantrasyon (% C1s, %O1s) değerleri	65
4.4	Au iyon implante edilmiş PLC örneklerde farklı iyon implantasyon doz değerleri için XPS ile belirlenen yüzey atomik konsantrasyon (% C1s, %O1s) değerleri	66
4.5	PLA, PDLG ve PLC örneklere ait implantasyon öncesi ve sonrası ATR-FTIR analizinde izlenen pik'lerin dalgaboyları (cm ⁻¹) ve bunlara karşılık gelen titreşim grupları	82
4.6	PLC, PDLG ve PLA örneklere Au ve C implantasyonu sonrası D-band, G-Band lokasyonları ve bu pik'lere ait yoğunluk oranları.	92
4.7	DLC kaplanmış numunelerin (PLC, PDLG) D-band, G-Band lokasyonları ve bu pik'lere ait yoğunluk oranları.	93
4.8-a.	PLA örneklere ait C ve C-N implantasyonu sonrası termal analiz verileri.	95
4.8-b.	PLA, PLC ve PDLG örneklere ait C ve C-N implantasyonu sonrası termal analiz verileri.	95
4.9	Au ve C implante edilmiş PLC ve PDLG polimerlere ait pürüzlülük değerleri	99
4.10	PLA, PLC, PDLG numuneler için optimal dozda gerçekleşen C ve C-N implantasyonları sonrası yüzey kontak açısı değerleri	115

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
5.1 C-implante edilmiş cam numuneler için sinir hücre (B35) tutunma kontrast oranı sonuçları	124
5.2 Au-implante edilmiş cam numuneler için (B35) hücre tutunma oranı sonuçları	126
5.3 Cam numunelerde, yaptığımız farklı kalınlıklardaki DLC kaplamalar için hücre tutunma (B35) oranları	129
5.4 Farklı doz ve enerji değerlerinde C ve Au implante edilmiş PLC örneklerin hücre tutunma kontrast oranlarının 1.,4. Ve 7. gün değerleri	135
5.5 Farklı Polimerik Yüzey’lerde (PLA, PDLG, PLC, Kitosan) birim alan başına düşen tutunan hücre sayısına göre hesaplanan hücre kontrast oranı.	136
5.6 C ve Au implante edilmiş yüzeylerde hücre kontrast oranının istatistiki olarak doz değerleri’ne göre 1,4 ve 7. günler bazında karşılaştırılması	141

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

D	İmplantasyon işleminde uygulanacak doz,
t	İmplantasyon süresi
i_p	Puls süresi
f	Frekans
I_l	İyon akımı
e	Elektronun yükü
S	İmplante edilen alan
Q	Ortalama yük seviyesi
Au	Altın
C	Karbon
N	Kaplanan iyon sayısı

Kısaltmalar

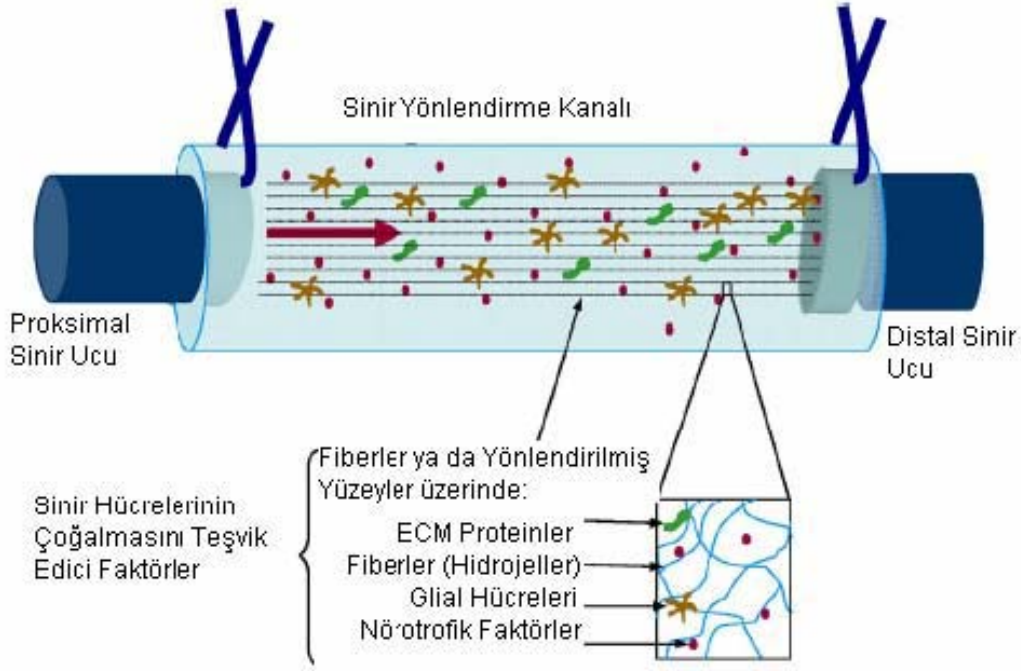
PSS	Periferal Sinir Sistemi
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
MEVVA	Metal Vapour Vacuum Arc
DLC	Elmasa Benzer Karbon
PLA	Poli L-Laktik
PLC	Poli L Laktid / E-Kaprolakton
PDLG	Poli DL-Laktid-Ko-Glikolid
XPS	X-Ray Photoelectron Spectroscopy
TOF-SIMS	Time of Flight-Secondary Ion Mass Spectroscopy
ATR-FTIR	Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform InfraRed
OAP	Optical Absorption Photospectroscopy
DSC	Differential Scanning Calorimetry
AFM	Atomic Force Microscopy
SEM	Scanning Electron Microscopy
UNAM	Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi
İYTE-MAM	İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezi

1. GİRİŞ

Bu tezin amacı, litografik maskeler kullanılmak suretiyle plazma yöntemi ile desenlendirilmiş yüzeyler üzerinde, seçime dayalı hücre çoğalma kinetiklerinin belirlenmesi ve modifiye edilmiş yüzeylerde sinir rejenerasyonunun sağlanmasıdır.

Sinir hücrelerinin rejenerasyonu ve insan vücudu içinde hasarlı sinirlerin onarımı, tıp bilimi ve medikal teknolojiler açısından oldukça önem arzeden, ilgi çekici bir konudur. Bu amaca yönelik, Entübülasyon Yöntemleri ile Sinir Greftlerinde Rejenarasyon yaklaşımı halihazırda birçok araştırmacı tarafından çalışılmaktadır (Thomas M.B., 1999; Lundborg G. 2000). Bu teknikte, sinir uçları ve aradaki boşluk, biyolojik veya sentetik malzemelerden yapılmış bir tüp içerisinde tutturulurak sinir hücrelerinin çoğalması ve hasarlı bölgenin rejenerasyonu sağlanır (Thomas M.B., 1999). Söz konusu kanalın, boşluğun yakın ve uzak uçları arasındaki nöral iletimi kolaylaştırmakta, dış inhibtör etkileri bloke etmekte ve nöral iletme fiziksel bir ortam sağlamakta yararlı olabileceği iddia edilmiştir (Lundborg G. 2000).

Bu yaklaşımda sinir yönlendirme kanalının birinci temel amacı, fiziksel, kimyasal ve biyolojik sinyalleri doku formasyonunu teşvik edecek şartlar altında birleştirmektir (Lundborg G. 2000). Oluşturulacak kanalın amaca yönelik olarak başarılı bir rejenerasyonu gerçekleştirebilmesi için Şekil 1. de gösterildiği gibi hücre dışı matriks proteinleri (ECMP), fiberler, glia hücreleri ve nörotrofik faktörler vb. bazı ilave materyallerle ortamın beslenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 1.1 Periferel sinirlerde greftlerin entübülasyon yöntemiyle rejenerasyonu
(Brandt K.E., 1997)

Bu amaçla, sinir hücrelerinin üremesini tetikleyecek ve çoğalmalarını yönlendirecek malzemelerin üretimi için yenilikçi yaklaşımlar ve teknikler konusunda birçok araştırma yapılmaktadır.

Bu tezin nihai amacı, aksonal yeniden büyümenin yönlendirilmesini sağlayacak suni biyolojik sinir yönlendirme kanallarının üretimine yönelik yeni tekniklerin geliştirilmesidir. Bu amaca yönelik olarak;

- (i) Sinir hücresi büyötmeye son derece müsait yüzeylerin oluşturulmasına yönelik plazma ve iyon demeti yüzey modifikasyon yöntemlerinin geliştirilmesi,
- (ii) Bu yüzey modifikasyon yöntemlerinin, sinirsel bilgi transfer hatlarının yeniden oluşturulması için sinir hücrelerinin üzerinde üreyebileceği biyoyumlu küçük boydaki polimer tüplerin üretilmesine yönelik olarak uygulanması,
- (iii) Ayrıca, aynı yüzey modifikasyon yöntemlerinin, büyük çapta, (şekillendirilmiş) canlı sinir hücresi dizi veya ağları oluşturulmasına yönelik olarak uygulanması çalışmalarıdır.

Böylelikle, bu tez plazma fiziği ve biyoloji bilimini

- (a) İleri tıp teknolojileri alanına bir katkı olarak, hasarlı santral aksonal iletinin onarımı,
 - (b) Sinir sistemi ve beyin araştırmaları bilimine bir katkı olarak, yönlendirilmiş sinir rejenerasyonunun sağlanması,
- şeklinde sıralanan araştırmaların yapılması yönünde birleştirmektedir.

Sinir rejenerasyonunun esasları, bu tez'in 2. bölümünde yenilikçi rejenerasyon stratejilerini de kapsayacak şekilde açıklanmaktadır.

Plazma esaslı teknolojilerin tıpta uygulama alanları ve kullanacağımız teknolojinin detayları 3. bölümde detaylandırılmıştır.

Tezin 4. bölümünde, MEVVA iyon implantasyonu ve plazma depozisyon yöntemleri kullanılarak, farklı parametrelerin (doz, enerji,vb...) yüzey üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elmas benzeri karbon [diamond-like carbon (DLC)] ince filmleri oluşturmak için mevcut MEVVA iyon implantasyon sisteminin vakum tankına vakum ark deşarj plazma depozisyon cihazının monte edilmesi ile çok ince (10 nm) DLC filmlerinin plazma tekniği kullanılarak polimer numune yüzeylerine(2cmx2cmx1mm) kaplanmasının gerçekleştirilmesi ve yüzey analizlerinin yapılması, burada ele alınmıştır. Litografik maskeler kullanarak şekillendirilmiş yüzeylerin yüzey işlemine tabi tutularak bu yüzeyler üzerinde sinir hücrelerinin çok miktarda üremelerinin gerçekleştirilmesi de bu bölüm kapsamında incelenmiştir.

Yukarda açıklanan deneylerin sonuçlarına bağlı olarak yüzey işlemine tabi tutulmuş olan örnek yüzeylerdeki sinir hücre büyümelerinin in vitro çalışmalarla kantitatif olarak araştırılması ve incelenmesi 5. bölümde gerçekleştirilmiştir.

6. Bölümde bulguların uygulanabilirliğini kanıtlamak amacıyla, yukarıdaki in vitro çalışmalar sonucunda sinir hücrelerinin büyümeleri hususunda elde edilen optimum yüzey işlemleri önce tabaka halindeki numunelere uygulanmış daha

sonra bu düzlemler tüp haline getirilerek in vivo çalışmalara hazırlanmıştır.

Tıp Fakültesi Nöroşirurji Bölümü bünyesinde Prof. Dr. Mehmet Zileli yönetiminde tıpta uzmanlık öğrencisi Umut Yıldırım tarafından yürütülen tez çalışması kapsamında sürdürülen in vivo çalışmalarla, bu tezde ortaya konulan yöntemlerle yüzey işlemlerine tabi tutulmuş (iyon implantasyonu ve DLC film kaplaması yapılmış) tüplerin deney hayvanlarının (sıçanlar) omuriliğinde canlı nöron ve aksonlarının yerleşmesine ve üremesine –rejenerasyonuna- uygun bir ortam oluşturması konusu halihazırda araştırılmaktadır. Elde edilmesi olası başarılı sonuçlar daha detaylı in vivo çalışmaların yapılmasına olanak sağlayacak medikal ağırlıklı yeni araştırmalara, imkan sağlayacaktır.

2. SİNİR REJENERASYONU

Sinir sistemi fizyolojisi, sinir rejenerasyonunun gerçekleştirilmesi bakımından biyomühendislik araştırmaları anlamında özel öneme sahiptir. Bu bölümde, sinir sisteminin genel organizasyonu, hücresel bileşenleri, periferal sinir sistemi ve omurilik anatomisi üzerinde kısaca durulacaktır. Ayrıca sinir yaralanmalarına çözüm olarak sunulan rejeneratif yaklaşımların üzerinden gidilerek özellikle biyomalzeme anlamında varolan stratejiler irdelenecektir.

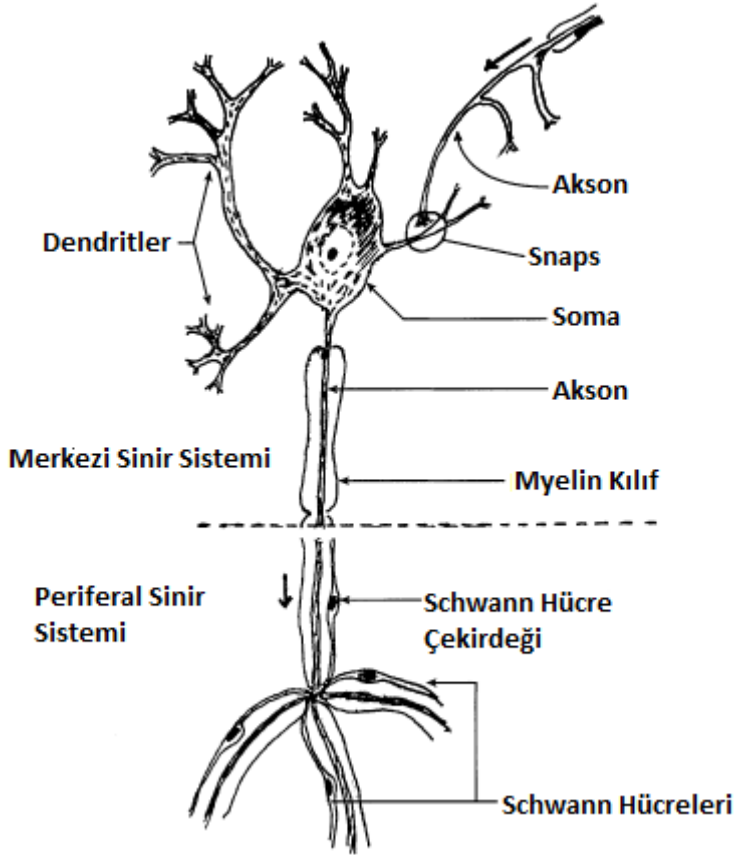
2.1 Sinir Sistemi Fizyolojisi

Sinir sistemi, Merkezi Sinir Sistemi (MSS) ve Periferal Sinir Sistemi (PSS) olmak üzere iki grup altında incelenir. Merkezi sinir sistemi, beyin, omurilik, optik ve görme duyusu, işitme duyusu sistemlerini içerir, bu bölgelerde sinyal geçişini ve alışverişini sağladığı gibi Periferal sinir sistemine iletilecek olan uyarınları sağlar. Periferal Sinir sistemi ise beyinden uzanan kranial sinirleri, omurilikten uzanan spinal sinirleri ve duysal sinir hücrelerini (dorsal root ganglia) ve bunlara ait işlem dizilerini içerir. Periferal sinirler kas dokusunun iç yüzeyini oluştururlar ve gerek duysal gerekse uyarıcı sinyallerin omurilik üzerinden çift yönlü akışını sağlarlar (Schmidt and Leach, 2003).

2.2 Sinir Sisteminin Hücresel Bileşenleri

Sinir sistemi başlıca iki hücre tipinden oluşmuştur: nöronlar ve nöroglialar. Nöronlar sinir sisteminin temel yapısal ve fonksiyonel işleyişinden sorumludurlar ve bir ana hücre (soma) ve onun uzantılarından (aksonlar ve dendritler) oluşurlar. Duysal sinir somalarından oluşmuş kümeler ganglia adıyla anılır ve omuriliğin hemen bitiminde yeralır. Sinir hücresine elektriksel sinyal iletimini dendritler, hücreden iletimi ise aksonlar sağlar. Glial hücreler ya da nöroglialar, nöronların fonksiyonlarına yardımcı hücrelerdir ve PSS’de Schwann hücreleri, MSS’de astrositler ve oligodendrositler olarak yapılanmışlardır. Glial hücrelerin sayısı nöronlara göre çok daha fazladır ve nöronların tersine mitoz geçirmezler, diğer yandan glial hücreleri belirli bir hücre bölünme kapasitesine

sahiptir. Nöronlar her ne kadar mitoz geçirip bölünmeseler de belirli koşullarda rejenerasyon ve çoğalma kapasiteleri vardır. PSS’de tüm aksonların çevresini canlı Schwann hücrelerinden oluşan bir kılıf sarmaktadır. Schwann hücrelerinden oluşan bu tabakanın dış yüzeyinde, nörolemma adı verilen ve epitel zar yapısına benzer bir membran yapı bulunur. PSS’de bulunan aksonların tersine, MSS aksonlarında bu sürekli membran yapıya ve Schwann hücrelerden oluşmuş kılıfa rastlanmaz. Aksonların büyük bir çoğunluğu miyelin kılıf yerine, sıkı ve sürekli bir şekilde birarada bulunan Schwann hücre zarıyla (PSS’de) ya da oligodendrositlerle (MSS’de) çevrilidir. Miyelin kılıf, sinir sinyallerinin iletimi sırasında iletim hızının kontrollü olarak ilerlemesine olanak sağlar öyle ki özellikle uzun mesafelere (1m.) yol alan aksonlar için bu durum önemlidir.



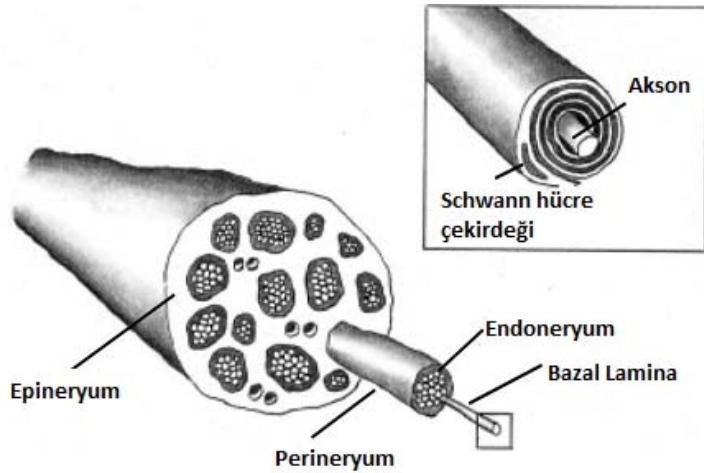
Şekil 2.1 Miyelin kılıfla çevrili aksonların çizimi (Hudson et. al., 1999)

2.3 Periferal Sinirler ve Omurilik Anatomisi

Bir periferal sinir, motor ve duysal aksonların anatomik olarak belirlenmiş hat üzerinde destek dokularla uzanmasından oluşur (Şekil 2.2). Endonerium, her bir akson ve onun etrafında yeralan Schwann hücrelerini çevreler ve ağırlıklı olarak kolajen fiber yapıya sahiptir. Daha sonra gelen perineryum düzleşmiş hücreler (fibroblastlar) ve kolajenden oluşur ve akson gruplarını çevreleyerek fasikülleri oluşturur. En dış tabakada yeralan epineryum ise fibrokolajen dokunun azaldığı, herbir sinir fasikülünün sinir kablolarına bağlandığı bölümdür. Tüm bu kapalı sistem kılcal damarlar ve etraftaki yardımcı dokuları çevreleyen ana damarlar tarafından beslenmektedir.

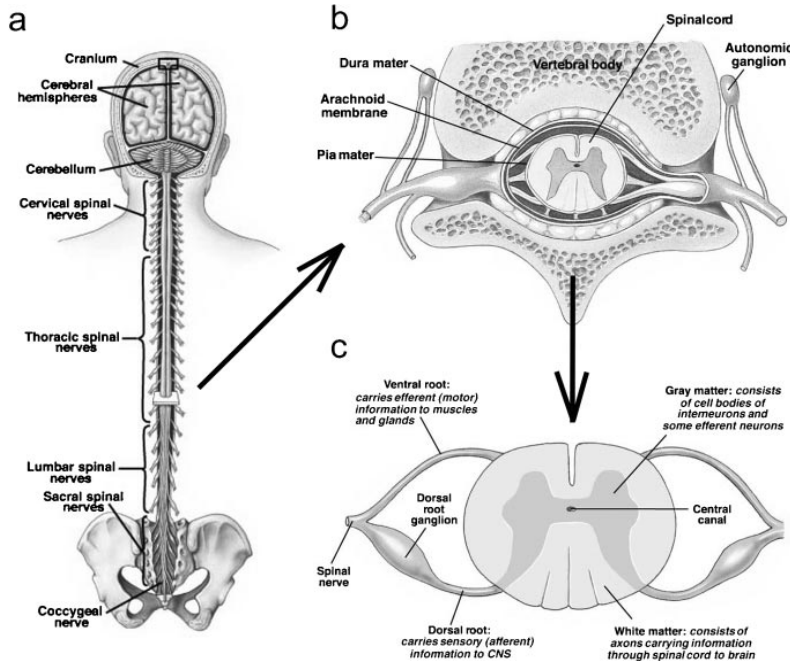
Omurilik, dendritler, aksonlar ve hücre gövdelerinden oluşur (Şekil 2.3). Omuriliğin merkezinde, kelebek şeklinde yeralan bölge gri madde olarak adlandırılır ve uyarıcı nöronlar, glial hücreler ve kan damarlarını içerir. Beyaz madde olarak bilinen ve gri maddeyi çevreleyen kısım, omurilike koruyan ve izole eden yapıyı oluşturur. Beyaz madde, aksonlar ve glial hücrelerden oluşur.

Miyelin kılıfı oluşturan Schwann hücreleri ile çevrili aksonlar, endoneryum tabaka ile birarada kapalı bir yapıda bulunurlar. Perineryum tabaka, her bir aksonu birarada tutan fasikülleri çevreler. Her bir fasikülde birçok akson bulunur. Son olarak epineryum fasikülleri gruplayarak sinir kablolarını oluşturur (Silverthorn D., 2001).



Şekil 2.2 PSS'nin anatomik yapısı (Silverthorn D., 2001).

Omuriliğ'in anatomik yapısı Şekil 2.3'de açıklanmıştır. Burada görüldüğü gibi, omurilik servikal, torakik, lumbal, sakral, ve koksijeal omur bölümlerinden oluşur(Şekil 2.3-a). Sinirler, omuriliğin her bir tarafından vücudun sağ ve sol kısımlarındaki inervasyon bölgelerine bağlanırlar ve bu esnada vertebra ve koruyucu zar tarafından muhafaza edilirler (Şekil 2.3-b). Her bir taraftaki sinirler daha alt grup segmentlere ayrılmışlardır. Ventral yol MSS'den gelen motor sinyalleri kaslar ve glandlara taşıırken dorsal yol MSS'e gönderilen sensör sinyalleri taşır(Şekil 2.3-c). Dorsal yol boyunca yer alan dorsal yol gangliası, sensör nöronlara ait hücre yapılarını (oligodendrositler, astrositler ve mikroglialar (imün hücreler) içerir (Silverthorn D., 2001).



Şekil 2.3 Omurilik'in anatomik yapısı (Silverthorn D. 2001).

Oligodendrositler, MSS içinde yer alan aksonların miyelin kılıf yapısını oluştururlarken astrositler kan-beyin bariyeri dediğimiz oluşumda rol alırlar ve MSS'i kan proteinleri ve kan hücrelerinden ayırırlar. Fasikül adıyla andığımız akson grupları beyaz maddeden kümeler halinde çıkıntılar oluştururlar ve omuriliği kafes gibi çevreleyen kemik yapısından dışarı uzanarak PSS-MSS sınırından ilerler ve PSS'e giriş yaparlar. Bahsi geçen bu geçiş bölgesini oluşturan ve MSS'e ve PSS'e ait olan glial hücreler görünüş itibarıyla kolaylıkla birbirlerinden ayırdedilebilirler.

2.4 Sinir Doku Mühendisliği

2.4.a Periferik Sinir Sistemi

Sinirler mekanik, termal, kimyasal, konjenital ve patolojik etiyolojilere bağlı olarak yaralanırlar. Sinir tamirinde başarısızlık kas fonksiyon kaybına, duyu kaybına ve ağrılı nöropatlilere neden olur. Nörotrofik faktörlerin ve “*neurite promoting factor*”lerin rollerinin anlaşılması ile posttravmatik sinir rejenerasyonu regülasyon mekanizması ile ilgili bilgilerimiz moleküler biyolojik bilgilerin klinik uygulamalarıyla günden güne artmaktadır. Yaralanmış sinir uçlarına klinik yaklaşımda optimal şartlara ulaşılmıştır ve sinir tamir sonuçlarının daha iyiye gitmesi için yeni fikirlere ihtiyaç vardır. Bunun yanında, periferik sinirlerin rejenerasyonu için çeşitli yaklaşımlar mevcutken omurilik rejenerasyonuna dönük yaklaşım ve uygulamalar daha da sınırlıdır. Sinirin yapısının, rejenerasyonun ve rejenerasyonu negatif yönde etkileyen faktörlerin anlaşılmasının sinir tamiri başarısına pozitif yönde etkide bulunacağı bir gerçektir.

Periferik sistemde en ağır yaralanmalar, tüm sinirin hasarı ve tamamının transeksiyonudur. Sinir hasarı sonrası, distal kısım, proteaz aktivitesi ve bu bölgedeki ana hücre gövdesinin metabolik kaynaklardan uzak kalması sonucu dejenere olmaya başlar (Şekil 2.4A.). Bunun oluşmasıyla hücre iskeleti zarar görür ve hücre zarı erimeye başlar. Sinir hasarının proksimal uç bölgesinde, kesik parça büyür ve geriye doğru bozunma başlar. Hücre iskeleti ve hücre zarının bozunmasını takiben distal uç'ta yeralan aksonları çevreleyen Schwann hücrelerine ait miyelin yağ tabakası etrafa yayılır. Fagositik hücreler örneğin makrofajlar ya da Schwann hücreleri miyelin ve aksonlardan oluşan kalıntıları temizlerler (Stoll et al. 1989). Makrofajlar ve Schwann hücreleri miyelin kalıntılarının temizlenmesine ek olarak aynı zamanda akson gelişimini hızlandıran sitokinleri üretirler. Kalıntıların temizlenmesini takiben proximal uç'tan başlayıp distal bölgeye ilerleyen rejenerasyon başlar. Yeni oluşan aksonal hücreler daima Ranvier boğumları adı verilen ve aksonların Schwann hücreleri arasında miyelin kılıfsız olarak yer aldığı bölgeden çıkış yaparlar. Fonksiyonların geri kazanımı için aksonların distal hedefe ulaşması gerekir ve insanlarda akson rejenerasyonu

yaklaşık olarak günde 2-5mm/gün şeklinde ilerler. Bu demek olur ki, ciddi sinir kayıplarının olduğu yaralanmalarda iyileşme haftalar sürmektedir (Jacobsen et al. 1965, Schmidt et. al 2003).

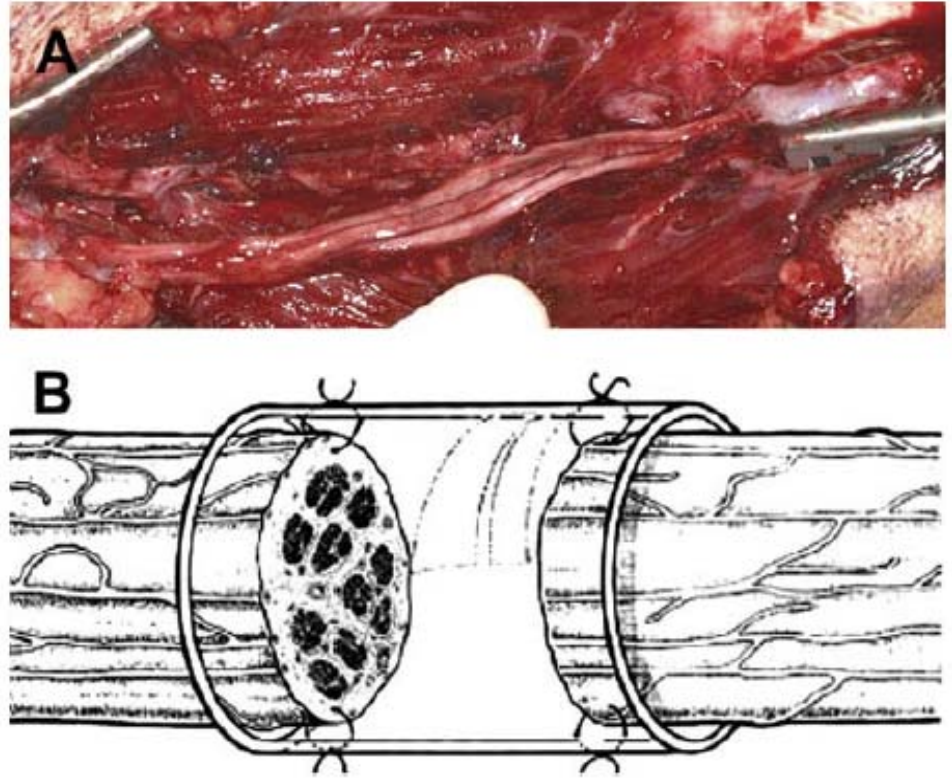
Periferal sinir yaralanmalarının tedavisine yönelik belirli bir mesafeden fazla olan açıklıklarda silindirik kesitli sinir tüpleri kullanılmaktadır ve bu durumda rejenerasyon için yukarıdakine ek adımlar söz konusu olur (Williams LR et al 1983, Fields RD and Ellisman MH 1986). Yaralanma sonrası, hasarlı bölgeyi çevreleyen tüp boyunca fibrin tabaka oluşacaktır. Bu fibrin tabaka, kalıntı temizliğini gerçekleştiren makrofajları ve diğer hücreleri içerir. Fibrin köprü, Schwann hücrelerin gelişimini geriletir ve aralık boyunca kılcal damarlanma oluşur. Böylelikle rejenerasyon normal seyrinde ilerler. Polimerik tüp'ün olmadığı durumlarda fibrin tabakanın gene de oluşup oluşmayacağı belirsiz bir konudur.

2.4.b Merkezi Sinir Sistemi

Merkezi sinir sistemi ve periferal sinir sistemi arasındaki temel farklılık periferal sinir sisteminin rejenerasyon kabiliyeti ve MSS aksonlarının doğal ortamlarında kayda değer miktarda rejenere olmayışlarıdır. MSS'ne ait hücrelerarası ortamda (miyelin) yeralan çeşitli doğal glikoproteinler rejenerasyonu inhibe etmektedir (Mukhopadhyay G et al. 1994, Chen JS et al. 2000). Buna ek olarak MSS'de oluşan yaralanmalara fizyolojik yanıt da PSS'ye göre farklılıklar göstermektedir. MSS'de oluşan yaralanma sonrası, hasar bölgesine makrofajların nüfuzu PSS'dekine oranla çok daha yavaş gerçekleşmektedir ve bu durum miyelin inhibitörlerin ortamdaki uzaklaştırılmasını geciktirmektedir (Avellino A.M. et. al 1995). Bu durum, büyük oranda sinir dokusuna makrofajların girişini engelleyen kan-beyin bariyerinin bir sonucudur. Buna ek olarak yaralı omurilik'in distal ucunda PSS'de olduğu kadar hücre tutunmasına ilişkin, nörotransmitter salıverilmesinin kontrolünde postsinaptik regülasyon sırasında fonksiyonel reseptör sayısında artış söz konusu değildir ve bu durum makrofajların yaralı bölgede işlevselleşmesini engellemektedir. Sonuç olarak, MSS'de yaralanma sonrası astrositler, PSS'deki Schwann hücreleri gibi çoğalmaktadır ancak bu

oluşum, “reaktif astrositler” yerine rejenerasyonu inhibe eden glial yaralanma oluşturmaktadır (McKeon et al 1991).

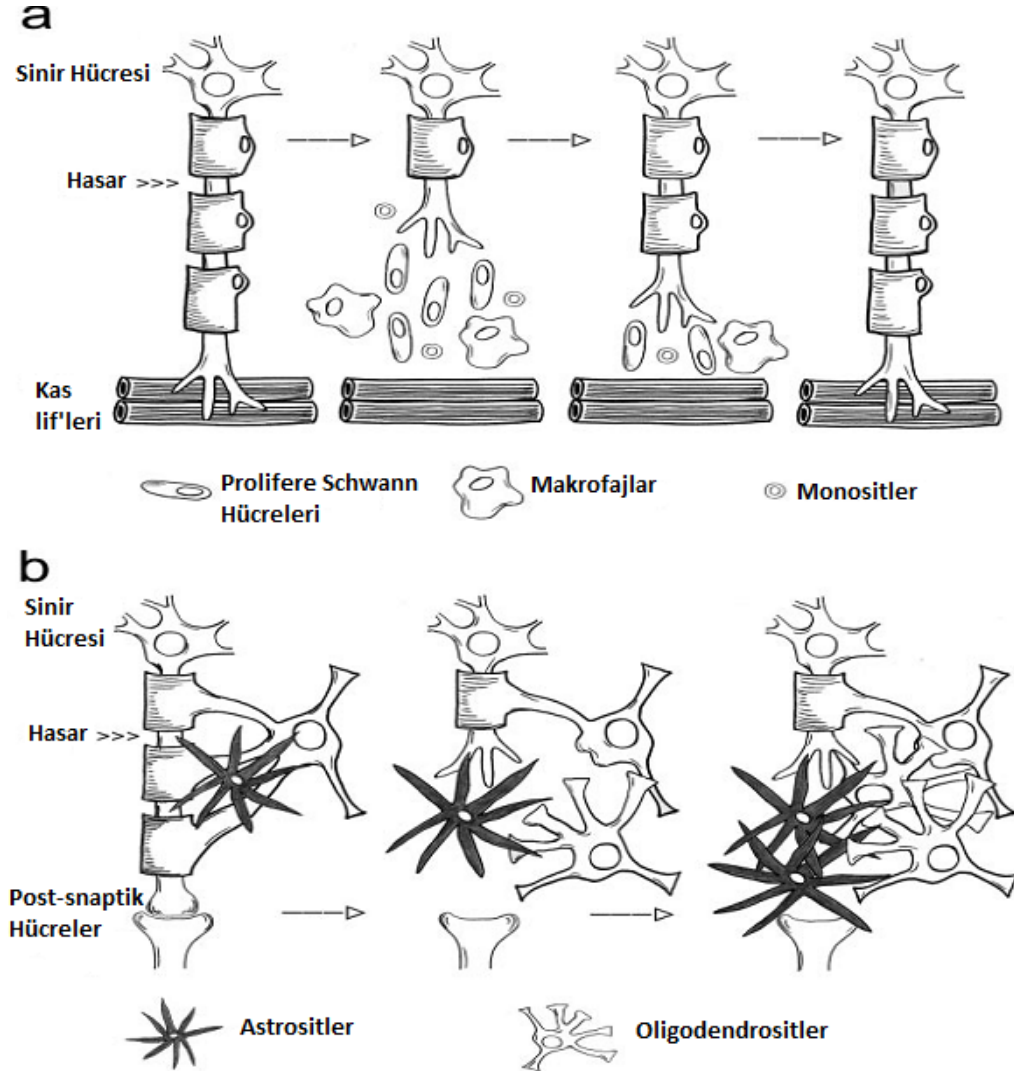
Hali hazırdaki klinik stratejilerden biri, sinirleri başabaş sütür yardımıyla bağlantılandırmaktır ancak arada boşluk olduğu durumlarda bu strateji işlevini yitirir. Boşluk olması durumunda otolog sinir greftleri (Şekil 2.4-A.) ya da sinir tüpleri (Şekil 2.4-B.) kullanılır (Lundborg G. 1987).



Şekil 2.4 Ameliyatla hasarlı sinirlerin yeniden bağlanması (Lundborg G. 1987).

Aksotomi’ye omurilik’de ve PSS’de vücudun verdiği cevap farklıdır ve bu farklılık, Şekil 2.5’de şematik olarak anlatılmıştır. Burada görülebileceği gibi, (a) PSS’de destek hücreler nöronal rejenerasyona yardımcı olurlar. Prolifere Schwann hücreleri, makrofajlar ve monositler birarada miyelin debris’i yoketmeye çalışırlar, nörotrofin salınımı gerçekleşir ve aksonlar sinaptik hedeflerine doğru rejenere olurlar, nöronal fonksiyonların geri gelmesi beklenir. (b) Bununla birlikte omurilikte, aksotomi’den sonra hayatta kalan birkaç hücre rejenerasyona teşebbüs eder, ancak eşzamanlı olarak, miyelin ve hücresel debris’lerden, ve aynı zamanda astrositler, oligodendrositler ve mikrogliyalardan oluşan ve gittikçe derinleşen glial

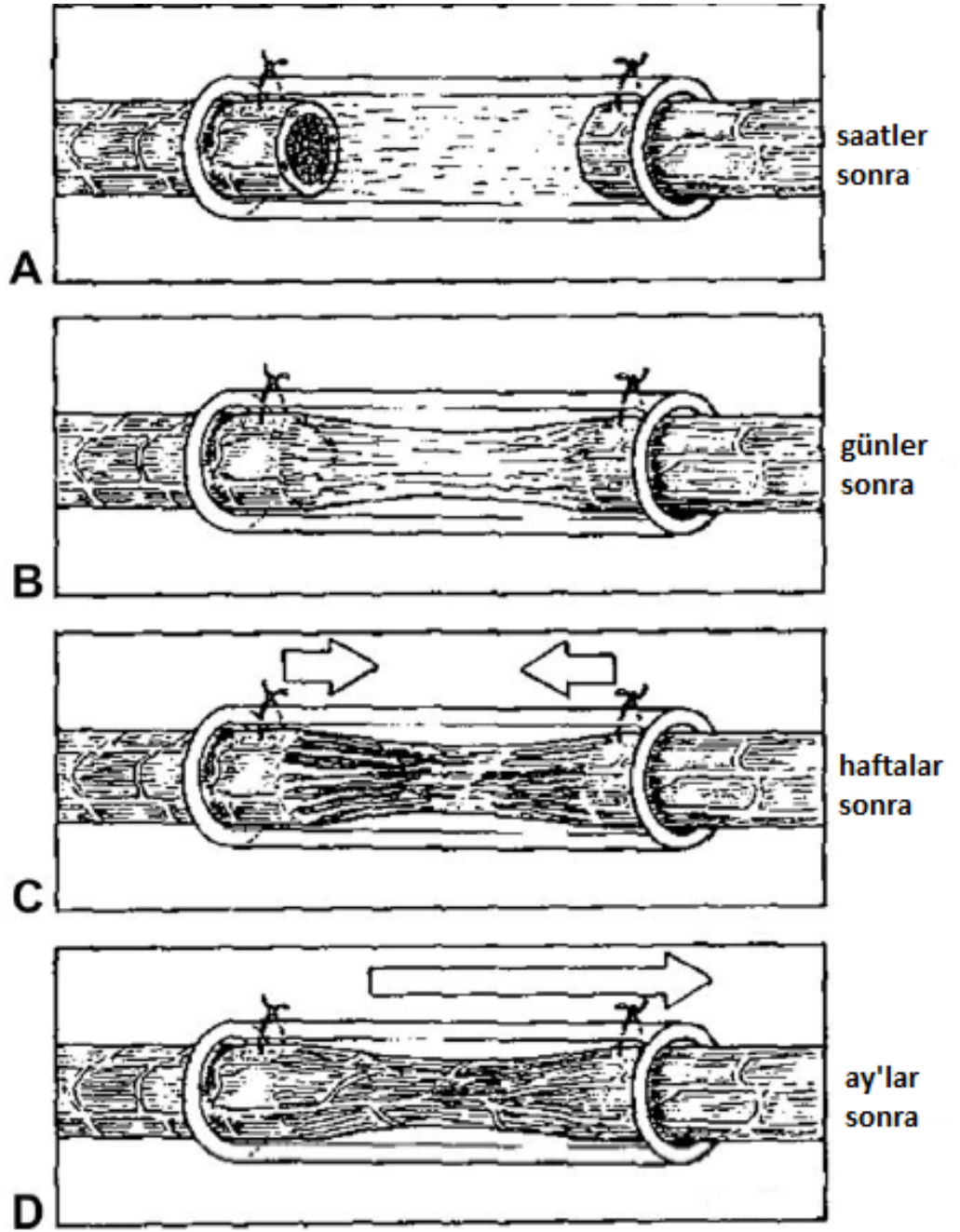
yara oluşumu izlenir. Bu glial yaranın içinde aynı zamanda fibroblastlar, monositler ve makrofajlar da yer alır. Sonuç olarak rejenere olan nöronların sinaptik hedeflerine ulaşmaları bloke edilmiş olur (Bahr et al. 1994).



Şekil 2.5 Aksotomi'ye PSS'de (a.) ve omurilikde (b.) vücudun verdiği cevap (Bahr et al. 1994).

Sinir Tüp'leri boyunca rejenerasyonun farklı faz'larda gelişimi de Şekil 2.6'da özetlenmiştir. Tüp'ün yerleştirilmesinden birkaç saat sonra lümen, nörotrofik faktörler ve çeşitli inflamator hücreler içeren sıvıyla dolar (Şekil 2.6-a). Birkaç gün içinde, sinir uç'ları arasında fibrin matriks oluşur (Şekil 2.6-b). Birkaç hafta içinde, hasarlı sinire ait proksimal ve distal uç'lar arasında fibrin matriks boyunca Schwann hücreleri, fibroblastlar ve kılcal damarlar oluşur (Şekil 2.6-c).

Birkaç ay içinde; proksimal sinir ucundan matriks'e doğru aksonlar rejenere olmaya başlar(Şekil 2.6-d) (Lundborg G. 2000).



Şekil 2.6 Sinir tüp'leri boyunca rejenerasyonun farklı faz'larda gelişimi (Lundborg G. 2000).

2.4.c Sinir Rejenerasyonuna Yönelik Biyomühendislik Stratejileri

PSS’de biyomühendislik yönünden bakıldığında yeni stratejiler, kullanılan sinir tüplerinin yerinden çıkartılmasına yönelik ikinci bir ameliyatın yapılmasının önüne geçen biyobozunur malzemelerin kullanımı yönündedir. Özellikle otolog sinir greftlerinin kullanımı buna alternatif iyi bir yöntem gibi görünmekle birlikte bu yöntemde de ikincil ameliyat hala gereklidir ve bu konuda araştırma faaliyetleri halihazırda sürmektedir. Klinik fonksiyonların geridönüşü halihazırda %80 oranında başarılı olmakla birlikte bu oranın artışı için çalışmalar sürmektedir. Alternatif yaklaşımlar, özellikle geniş açıklıkların olduğu durumlarda kullanışlı olan sinir yönlendirme tüplerinin geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmış ve biyomühendislik stratejileriyle bu konuda gelişmeler sağlanmıştır (Davies et. al. 1997, Schmidt and Leach, 2003).

Yeni terapiler adına en önemli hedef, MSS rejenerasyonuna yönelik olanlardır. 1980’lere kadar omurilik yaralanmasının geri dönülebilirliği tamamen imkansız kabul edilmekteydi (Richardson et al. 1980) ve halen bu konuda süregelen araştırmalar sonucu tam anlamıyla doyurucu bir sonuç elde edilememiştir.

2.5 Sinir Rejenerasyonuna Yönelik Nano Malzeme Esaslı Stratejiler

2.5.a Sinir Yönlendirme Tüpleri

Bugün için periferik sinir yaralanmalarına yönelik yaklaşımlar sürekli değişim göstermektedir. Bu yaklaşımlardan önemli ve dikkat çekici olan, sinir defektlerinin kapatılması için doku mühendisliği yaklaşımıyla, bölgeye iskele görevi görecektir sentetik ya da yarı sentetik biyomalzemeler uygulamasıdır (De Ruiter et. al., 2009). Genel olarak sinir dokusu rejenerasyonu için kullanılacak maddelerde 4 ana komponent bulunmalıdır;

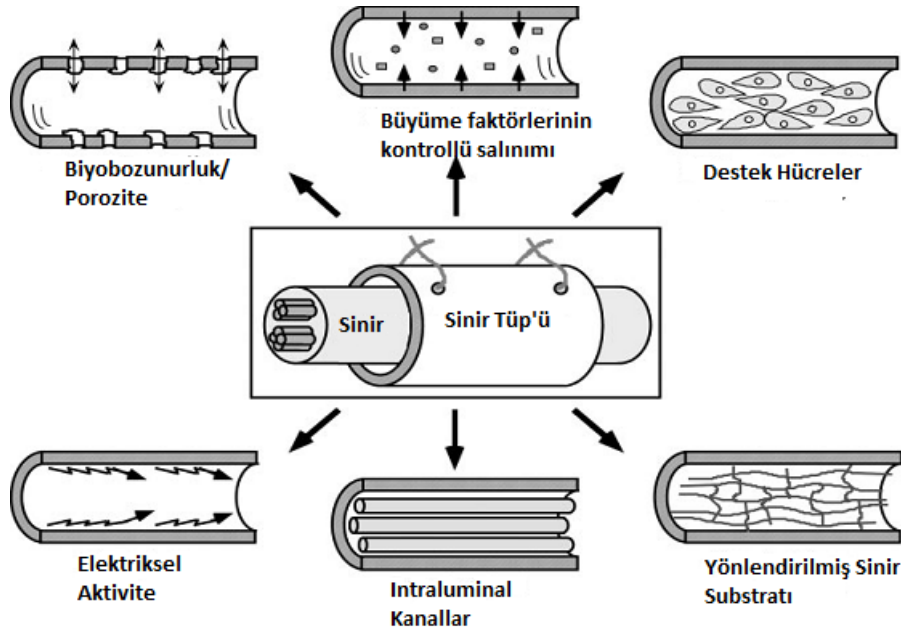
- 1) Aksonal migrasyonu sağlayacak iskelet yapı
- 2) Destek hücreleri (Schwann hücreleri, makrofajlar)

3) Büyüme faktörleri

4) Ekstrasellüler matriks

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, uygun kombinasyon ve etkileşimi sağlayacak etkin bir alternatif bulunamamıştır (De Ruitter et. al., 2009). Doku mühendisliğinin, periferik sinir sistemiyle ilgili amacı sinir defektlerinin tamirinde otolog sinir greftine alternatif olarak doğal veya sentetik materyallerden sinir tüpleri (*nerve conduits*) oluşturmaktır. Bu sinir tüpleri, rejenere sinir sonlanmalarından gelen sinir filizlerinin ilerlemesini sağlarken yaralanmış olan sinir sonlanmalarından salınan nörotrofik faktörlerin diffüzyonuna izin vermeli ancak fibröz dokunun filtrasyonunu engellemelidir. Bu fiziksel karakterlere ek olarak araştırmacılar, rejenerasyonu stimüle eden biyolojik faktörler ve biyomateryalleri de bu malzemeye eklemeyi amaçlarlar. Bu stimüle eden faktörler ve biyomateryaller, doku mühendisliği ile tasarlanmaktadır (Hudson et. al., 1999). Hudson ve arkadaşlarının Şekil 2.7’de özetlediği şekilde, idealize bir sinir tüp’ünde olması gereken fiziksel özellikler şu şekilde sıralanır:

- biyobozunur ve gözenekli duvarlara sahip olmalı,
- biyoaktif faktörler salınabilmeli (büyüme faktörleri gibi)
- destek hücreleri varolmalı,
- iç yüzeyi yönlendirilmiş matrix yapıya sahip olmalı böylelikle hücrelerin gelişimine yön vermeli,
- sinir fasiküllerine benzer işlev gören intraluminal kanallar içermeli ve
- elektriksel aktivitesi olmalıdır (Hudson et. al., 1999).



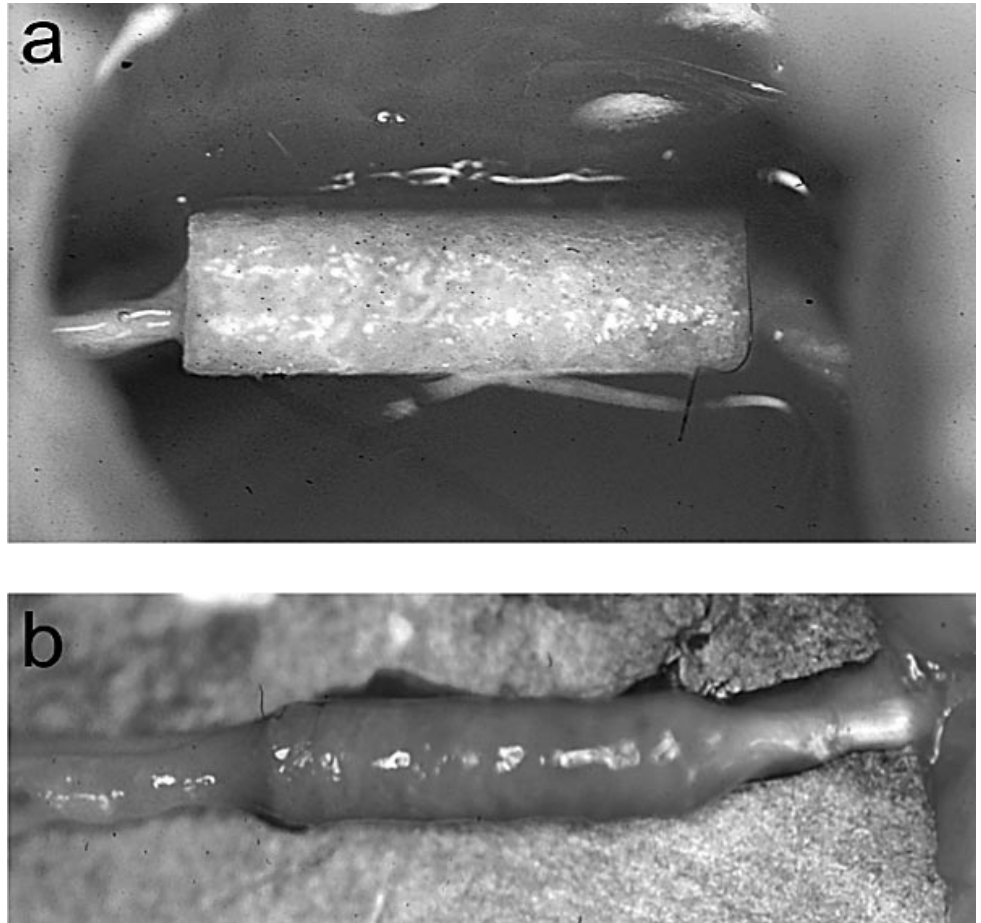
Şekil 2.7 İdeal sinir yönlendirme kanalı'nın özellikleri (Hudson et. al., 1999)..

2.5.b. Önceki Çalışmalar:

Sinir yönlendirme kanalları çok değişik teknikler kullanılarak üretilmiştir (Frykman et. al. 1981, Erdoğan ve ark. 1993, Seddon, 1954; Olson et. al. 1994, Bini et. al. 2004, Phillips et. al. 2005) . Yönlendirme sisteminin yapıldığı malzeme biyolojik anlamda uyumlu olmalı ve yine biyolojik olarak yok olabilmelidir; hidrojel (kimyasal ve fiziksel çapraz polimerik bağlara sahip, suda çözülebilen polimerler), örümcek ipeği ve ipek böceği ipeği gibi doğal materyaller bu amaç için araştırılmış ve yaygın olarak kullanılmışlardır. Sentetik polimerler, özellikle poli (laktik asit) (PLA), poli (glikolik asit) (PGA) ve bunların kopolimeri olan poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) malzemelerinin çeşitli uygulamalara yönelik olarak kullanımı ABD'nin Gıda ve İlaç İdaresi (*U.S. Food and Drug Administration* - FDA) tarafından onaylanmıştır. Kollajen bazlı sinir yönlendiricileri gibi biyolojik materyaller diğer alternatiflerdir. Primatlar ve kemirgenlerde sinir defektlerinde bu maddeler kullanıldığında başarılı sonuçlar alınmaktadır. Laminin ve fibronektin ile kaplı "biobozunur kollajen" greftler ratlarda başarılı olarak kullanılmıştır. Fibronektin greftleri gibi bu tür greftlere sinir büyüme faktörü – NGF eklenmesiyle sinir hücre ölümü azalır ve aksonal rejenerasyon artar (Lundborg et. al., 2000). Poliglikolik asit ile kaplanmış greftler kedi siyatik sinirinde 15 mm'lik defektin onarımında kullanılmış ve başarılı

sonuçlar alınmıştır (Davis et. al., 1986). McKeon ve Dellon tarafından 15 hasta üzerinde yapılan çalışmada 0,5-3 cm'lik dijital sinir defektlerinde poliglikolik asitten elde edilmiş absorbe edilebilen tüp kullanılmış, ortalama 22,4 aylık postoperatif takip sonrasında ve %33 mükemmel, %53 iyi duyuusal geri dönüş saptandığını rapor etmişlerdir (McKeon and Dellon, 1991). Stanec (1998) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 43 hastadaki ulnar veya median sinirdeki 1,5-6 cm'lik defektler politetrafloroetilen tüpü ile onarılmış ve %78,6 fonksiyonel ve motor geri dönüş tespit edilmiştir (Stanec and Stanec, 1998).

Deneyisel çalışmalarda hayvan modellerinde lümenine çok sayıda longitudinal sentetik filament uygulanan silikon tüpler büyük sinir defektlerinde başarılı olarak kullanılmıştır. Klinik olarak silikon tüpler primer suture alternatif olarak çok küçük defektlerde kullanılabilir. Beş milimetrenin altındaki sinir defektlerinde bu tüpler alternatiftir (Lundborg et. al.2000, Davis et. al. 1986).



Şekil 2.8 Poly(L-laktik asit) sinir tüpü.

Şekil 2.8'deki tüp çözücü döküm, ekstrüzyon ve partikül çözme metodlarıyla üretilmiştir. (a) Sıçan siyatik sinirleriyle in vivo denemeleri gerçekleştirilen tüp 10mm - 22mm uzunluktadır (b) 4 ay sonunda PLL tüp'ler yapıya adapte olmuş, halen infiltrasyon ve vaskülerizasyonu destekler durumdadır ve sonuç olarak yapısal ve fonksiyonel rejenerasyon sağlanmıştır (Evans et. al., 2000).

Buti ve arkadaşları (1996) silikon tüplerle çalışarak, tüp boyutlarının, iç çapının ve duvar kalınlığının periferik sinir yaralanmalarında iyileşme üzerini etkilerini incelemişlerdir. Fare siyatik siniri üzerine çalışmalar yürüten grup, bu tüp'lerin, kas dokusu, cilt dokusu ve ter bezlerinde sinyalizasyonun geri kazanımı türünden fonksiyonel parametrelere göre rejenerasyona etkilerini raporlamışlardır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre hasar gören sinir aralığı arttıkça içerdeki kas dokunun oluşumu gecikmekte ve iyileşme yüzdesi azalmaktadır. Buna ek olarak, 2mm üzerindeki aralıklarda iyileşme tüp kullanımı olmadan gerçekleşmemektedir. Tüp kullanımı, 2-4mm'lik aralıklarda iyileşmeye etkili biçimde katkı sağlarken 6-8mm'lik aralıklarda etkinliği azalmaktadır. Rejenere olmuş doku her durumda sağlıklı dokuya nazaran daha az akson içerir. Bu çalışmaya göre kullanılan tüplerin iç çapı siyatik sinirin 2,5 katı civarında olmalı ve et kalınlığı mümkün olabilecek en ince değerde tutulmalıdır (Buti et. al., 1996).

Her iki parametre silikon tüplere özel olup her yeni malzeme için yeniden optimizasyonu gerekli kılar ancak pratikte tüm malzemeler için benzer ölçütler geçerlidir (Seal et. al., 2001).

Ellis ve Yannas (1996) yaptıkları çalışmalarda kolajen-glikozaminoglikan karışımı polimerlerin sinir doku mühendisliğine yönelik uygulamalarını incelemişlerdir. Bunun yanı sıra, bu malzemeler için gerekli fiziksel parametreleri de araştırmışlardır. Bu çalışmalara göre, tek eksenli yönlendirme ve 5-300 µm seviyelerinde gözenekli yüzeyler fonksiyonel iyileşmenin sağlanabilmesi için gerekli parametrelerdir ve iyileşme gözenek genişliği arttıkça pozitif yönde artış eğilimindedir (Ellis and Yannas 1996).

Chamberlain ve ark. (1998) silikon, kolajen ve gözenekli tip I. kolajen ile yaptıkları sinir tüpü çalışmalarında yetişkin far modelleri üzerinde siyatik sinirinin iyileşmesini incelemişlerdir. Biyobozunur tüp kullanmak, ikincil operasyona ihtiyaç teşkil etmemesi bakımından avantaj içermektedir. Grup, yapılan çalışmada, gözenek çapı 5 µm olan tip I kolajen/kondroitin-6-sulfat kopolimeri ile doldurulmuş tüplerle boş tüpleri karşılaştırmışlardır. Sonuçlara göre her durumda dolu tüpler boş olan tüplere göre nörit uzantılarının oluşumu ve nörit sayısı ve nöritlerin kalınlıkları bakımından daha iyi sonuç vermiştir ancak farklı malzemelerden tip I kolajen/kondroitin-6-sulfat kopolimeri ile dolu olan tüpler arasında hangisinin en iyisi olduğuna dair net bir sonuca varılamamıştır. Nihai sonuç olarak tip I kolajen/kondroitin-6-sulfat kopolimerinin dolgu malzemesi olarak kullanımının rejenerasyona belirgin şekilde olumlu etkide bulunduğu not edilmiştir. Silikon tüp duvarları boyunca miyoblast hücrelerinin tesbit edilişi ve bunların kolajen tüpte varolmayışı da gözenekli kolajenin silikona göre sinir yönlendirme bakımından daha iyi bir alternatif oluşturduğu şeklinde yorumlanmıştır (Chamberlain et. al. 1998). 6 haftalık süreç sonunda her durumda, oluşan akson sayısı normal akson sayısının oldukça altındadır. Bunu izleyen çalışmada araştırmacılar, 98% kollajen and 2% kondroitin-6-sulfat'dan oluşan kollajen/GAG matriks ile çalışmışlardır. Bu defa 10mm'lik sıçan siyatik sinir aralığının tüple ve tüpsüz iyileşme seyri incelenmiştir. Burada, kollajen/GAG matriks dolu silikon tüpün kullanıldığı durumda denemenin gerçekleştiği bütün tüplerde akson rejenerasyonu izlenirken boş tüplerle olan durumda 9 silikon tüpten sadece ikisi rejenerasyon sergilemiştir. Tüm silikon tüpler 10-15 hücre kalınlığında kesintisiz miyoblast tabaka ile kaplı iken kollajen tüplerde, kollajen/GAG matriks ile dolu olsun olmasın myoblast tabaka süresiz ve kalınlığı sadece 1-2 hücre seviyesindedir ki bu tüpsüz durumdaki normal iyileşme ile aynıdır. Bu çalışmada araştırmacılar, miyoblast tabakanın sinir rejenerasyonunu sınırlandıran bir faktör olarak rol oynadığını raporlamışlardır ve kollajen tüplerde miyoblast oluşumunun gerçekleşmeyişi bu tüplerdeki akson rejenerasyonunun daha iyi oluşuna sebep olarak göstermişlerdir (Chamberlain et al 2000). Bu çalışmalar, tüp dizaynında porozitenin ne kadar önemli bir fiziksel parametre olduğunu ortaya koymaktadır. Belirli derecelerdeki gözeneklilik küçük makromoleküllerin geçişine izin verirken hücreler arası kılcal damar oluşumunu

sınırlandırmaktadır. Biyolojik makromoleküllerin difüzyonu sistemdeki miyoblast filtrasyonunu sınırlandıran bir ortam oluşturmaktadır.

Tüm diğer doku sistemlerinde olduğu gibi bir çok çalışma biyouyumlulukları bakımından biyobozunur polyesterlere odaklanmıştır. Tuz ekstraksiyonu ile üretilen porlu PLLA tüplerde ağırlıkça %90, kristal boyutu 150–300 μm 'lik tuz kullanılmıştır. Bu malzemeden üretilen tüpün iç çapı 1,6 mm dış çapı 3,2 mm'dir ve boyu 12mm uzunluktadır. Bu tüplerin çekme dayanımı 81.7 ± 35.1 MPa ve elastik modulus değeri 1.0 ± 0.4 MPa olarak ölçülmüştür. Tüpler, 12mm aralıklarda Sprague–Dawley sıçan siyatik sinir modellerinde kullanılmıştır. Kontrol olarak donör hayvandan alınan isograft doku hasarlı bölgede kullanılmıştır. 6. ve 16. haftalarda gerçekleşen fonksiyonel ve histolojik değerlendirme sonuçlarına göre iyileşme her grup için 16. hafta sonunda gerçekleşebilmektedir. Kontrol grefte oranla tüp içinde rejenere olan hücrelerin gerek sayısı gerekse yoğunluğu ciddi miktarda azdır. Polimerin degradasyonu sinir gelişimini inhibe edici herhangi bir ekileşim oluşturmamıştır (Evans et. al., 1999).

Gautier ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) 50:50, (PLA₂₅GA₅₀), poli(D,L- laktik asit) ve yüksek ve düşük molekül ağırlıklı poly(L-laktik asit) PLA'dan sinir tüpleri üretmişlerdir ve Schwan hücreleri ile in vitro ortamda bu malzemelerin toksisiteleri ve degradasyon ürünleri incelenmiştir. Bu çalışmada, (PLA₂₅GA₅₀) 7. günde, poli(D,L-laktik asit) 28. günde degradasyona başlamıştır. Oligo-PLA miktarının artışı, bozunma hızını arttırmaktadır ve %30 oranında düşük molekül ağırlıklı poly(L- laktik asit) PLA karışımı, poli(D,L- laktik asit) ile benzer bozunma dinamiği izlemektedir. Schwan hücreleri ile yapılan in vitro çalışmalarda bozunma ürünlerinin herhangi bir ters etki oluşturmadığı izlenmiştir. In vivo çalışmalarda da, bozunmanın herhangi bir inflamasyona veya hücre yenilenmesini geciktirici etkiye sebep olmadığı raporlanmıştır (Gautier et. al., 1998). Tüm bu çalışmalar poli(hidroksiasit) tüplerin, sinir hücrelerinin yenilenmesine herhangi bir baskılayıcı etki oluşturmaksızın bozunma hızları ve mekanik özellikler bakımından özelleştirilebileceğine işaret etmektedir.

Rodriguez ve ark. (1998) sıçan siyatik sinirinde 6mm.lik aralıklarda uyguladıkları farklı porozitedeki tüplerle sinir rejenerasyonunun derecesini değerlendirmişlerdir. 1 mm. iç çap, 150 µm. duvar kalınlığına sahip Poli(L-laktid-co-ε-kaprolakton) tüpler, yüksek ve düşük gözenekli ve hiç gözeneksiz olarak 3 farklı durumda üretilmiştir. Yüksek gözenekliler için 10 µm glukoz parçacıkları ve eşit miktarda polimer, düşük gözenekliler içinse eşit miktarda, 10 µm ve daha küçük amiloz parçacıkları kullanılmıştır. Kontrol olarak bozunmayan pürüzlü ve pürüzsüz polisülfon tüpler kullanılmıştır. Tüpün uygulanmasından itibaren 120. gün sonunda fonksiyonel ve histolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Bu sonuçlara göre her defasında yüksek gözenekli polikaprolakton'un, polisülfon ve tüm diğer polimer tüplere göre daha hızlı ve daha yüksek rejenerasyona olanak sağladığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar göstermiştir ki hem gözeneklilik hem bozunma hızı rejenerasyon üzerinde etkin faktörlerdir (Rodriguez et. al., 1999).

Bu çalışmaların ötesinde, tez'le ilişkili olarak rejenerasyonu arttırmak amaçlı kullanılan malzemelerde pek çok yüzey modifikasyonu metodu da denenmektedir. Kimyasal ve fiziksel metodlarla gerçekleştirilen bu modifikasyonların amacı genel olarak sinirleri yönlendirme, elektriksel uyarılarla stimüle etme ya da büyüme faktörleri ve destek hücrelerle rejenerasyonu hızlandırma üzerine odaklanmaktadır.

Sonuç olarak, sinir rejenerasyonuna yönelik yönlendirme kanalları, aktif bir çalışma sahası olup, birçok yaklaşımın araştırılması yapılmıştır. Bu tezde, biyobozunur sentetik ve doğal polimerler üzerine plazma esaslı metodlarla yüzey modifikasyonu gerçekleştirilerek farklı bir alternatif yaklaşım gerçekleştirilmiştir.

3. İYON IŞINI VE PLAZMA TEKNİKLERİ İLE YÜZEY MODİFİKASYONU

3.1 Giriş:

Plazma ve iyon ışını ile birkaç eV. değerlerinde düşük enerjili plazma depozisyonundan keV. değerlerinde iyon implantasyona çeşitlilik gösteren çeşitli yüzey modifikasyonu işlemleri gerçekleştirilmektedir. İyon ışını karıştırma ve iyon depozisyonu (IBAD) gibi metodlar da zaman içinde gelişmiştir. Bahsi geçen tüm bu yöntemlerin elektriksel olarak yüklü parçacıkların akışına ortam sağlamaları ve elektrik ve magnetik alan tarafından yönlendirilebilmeleri gibi farklı avantajları vardır ve özel olarak nötral akım kullanan saçılma ya da evaporasyon gibi metodların tersine yüklü iyonların enerjileri hesaplanabilir ve kontrol edilebilir (Brown, 2004).

Vakum ark ya da diğer bir söyleyişle katodik ark veya metal buhar arkı, ince film kaplamalarda kullanılabilecek yüksek miktarda yoğun metal plazma üretmenin son derece etkin bir yoludur ve gerekirse iyon kaynaklarıyla kombine edilerek enerjetik iyon implantasyonu yapmak üzere kullanılabilir. Bu plazma ve iyon ışını proses teknikleri oldukça geniş skalada parçacık enerjisi etkileşimi oluşturmak suretiyle bir kaç 10eV. den bir kaç keV. ye IBAD işleminden, ~1 den ~100 keV ye iyon ışını karıştırmaya ve aynı zamanda bir kaç yüz keV. seviyelerinde “saf” iyon implantasyonuna uzanan çeşitli yüzey modifikasyonu yöntemlerini gerçekleştirmede kullanılabilir. Son dönemde, yenilikçi hibrid proses teknikleriyle tek bir fabrikasyon / modifikasyon prosesi içinde farklı iyon enerji rejimleri devreye sokularak kompleks dizayna sahip farklı yüzey mimarileri oluşturulabilmektedir (Brown, 2004).

İyon implantasyonu ve plazma esaslı teknolojilerin, yüzey yapısı ve kimyası, yüzey enerjisi, elektronik yapı, mikro ve nano boyutlarda pürüzlülük ve morfoloji, biyolojik sistemlerle olan etkileşimler ve seçimli absorpsiyon/tutunma özelliklerine olan etkiler son derece önem kazanan çalışma ve araştırma konularıdır. Özel olarak iyon ışını esaslı tekniklerin fibroblastlar, endotel

hücreler, astrositler gibi belirli hücre türlerinin tutunma, yayılma ve proliferasyon davranışlarını etkilediği ve bunların kontrol edilebilirliğini sağladığı literatürde raporlanmaktadır. Hücre tutunmasına ilişkin son yıllarda yapılan en dikkat çekici açıklamalar, amorf karbon faz'ın ya da yüzey hidrofilitesinin tutunmayı olumlu yönde etkilediği yönündedir. Bu iki faktör, pürüzlülük, yüzey enerjisi /polaritesi, mikro/nano topografi gibi pekçok detaylı alt başlıkla ilişkilendirilebilir ve bunların modifikasyonu plazma esaslı tekniklerle, birarada mümkün olabilmektedir. Diğer yandan plazma esaslı ve iyon ışını içeren tekniklerle yüzeyde yük kapanları oluşturmak, iletken katkılar eklemek, uzun ömürlü radikal diziler ya da farklı metasabit örnekler oluşturmak ve böylece tüm elektriksel yapıyı veya spesifik özellikleri değiştirmek de mümkündür. Tüm bunların yanısıra iyon ışınıyla modifiye edilmiş polimerler kullanarak zar protein ekspresyonlarını belirlemek ve temas yüzeylerinde hücre tutunmasının mekanizmasını inceleyerek, bu komplike prosede hangi uyarıların devrede olduğunu belirlemek de son derece önemli bir diğer çalışma konusudur (Satriano et. al., 2006) .

3.2 Vakum Ark Tekniğiyle Metal Plazma

Lawrence Berkeley National Laboratory'den Brown ve ark. (1996) tarafından icad edilen MEVVA iyon üreticinde, iyon kaynağı üzerinden ekstrakte edilen ve hızlandırılan metal iyonları kullanılır. Birçok metal iyonun elde edilebilmesi ve kullanım kolaylığıyla öne çıkan MEVVA, iyon implantasyonu uygulamaları ve araştırmalar için son derece elverişli bir araçtır (Brown et. al., 1998).

Vakum ark (ya da katodik ark), vakum ortamında iki elektrod arasında yüksek akımlarda yük boşalmasıyla oluşturulur. Katod'da oluşturulan yüklü miktarda plazma, ark akımını anod'a taşır. Vakum ark esnasında, metal plazmanın yanısıra 0.1-10 mikron. boyutlarında istenmeyen makroskopik parçacıklar da üretilir ve bunların elimine edilebilmesi için manyetik filtreler kullanılır (Şekil 3.1) (Brown et. al., 1998).



Şekil 3.1 Magnetik filtre ile makro parçacıkların sapıtılması (Brown et. al., 1998)

Katod üzerinde oluşan katod spotları, vakum ark yük boşalmasının en belirleyici karakteristiğidir. Bu noktacıklar özellikle, katod ve anod arasında arkın olduğu çizgiyi belirleyen metal plazmanın bulunduğu yerlerde görülür. Böylelikle katodda oluşan plazmanın bir bölümü anodda birikir ve burada uygun bir geometrik dizayn ile metal plazmanın bir bölümü iyon ışını oluşturmak üzere iyon üretici tarafından kullanılabilir. Katod spotlarında, katod yüzeyi ısınır, buharlaşır ve plazma durumunda iyonize olur. Ark akımı, bu türlü spotların biraraya gelmesiyle oluşur.

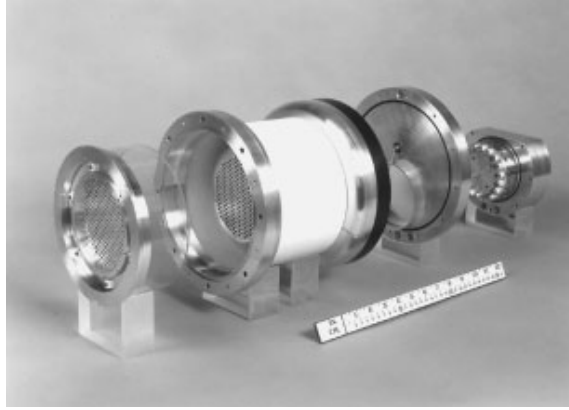
3.3 İyon Üreticinin Çalışma Prensipleri

Vakum Ark iyon üretici içinde üretilen yüksek akım enerjetik iyon ışını, malzemelere iyon implantasyonu ile yüzey modifikasyonu için kullanılabilir. İyon ışınının çapı genel olarak anod bölgesinde 1-2 cm. den 10cm.lere değişiklik gösterebilir ve gridlerde hızlandırılan iyon enerjileri birkaç 10 keV. den 100-200keV. lere çeşitlilik göstermektedir. Diğer yandan iyon akımı (darbeli) birkaç miliamper değerlerinden çeşitli amper değerlerine ulaşır. Darbe süresi genellikle, birkaç 100 mikrosaniye civarlarındadır ve vuruş frekansı saniyede 10'lu değerlerden 100'lü değerlere çıkabilir (Brown et. al., 2003).

İşlem sırasında periyodik çizelgede yer alan herhangi bir metal iyonu ve aynı zamanda metalik bileşikler ve alaşımlar kullanılabilir. Vakum ark tarafından oluşturulan iyonlar genelde çoğul çizgiler halinde ışıma oluşturduğundan belirli

bir ekstraksiyon voltaj değerinde iyon ışınımı 200-500keV. civarında ortalama enerji değerlerine ulaşır. Vakum ark iyon kaynağının çeşitli laboratuvarlarda ve aynı zamanda endüstride kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır.

İmplantasyon, genel olarak yük-kütle manyetik analizi yapılmaksızın geniş ışınım modunda gerçekleşir ve iyon projeksiyonu iyon kaynağından görülebilen görüş sahası ile sınırlıdır (line-of-sight). Berkeley’de yürütülen implantasyon çalışmalarının detayı çeşitli makalelerde yayın haline getirilmiştir (Brown et. al, 1993-2003, Brown, 1998). Rutin çalışmaların yürütüldüğü iyon üretici, Şekil 3.2.’de görülebilir.



Şekil 3.2 Lawrence Berkeley Ulusal Laboratuvarı’nda kullanılan MEVVA vakum ark iyon üreticinin demonte görüntüsü.

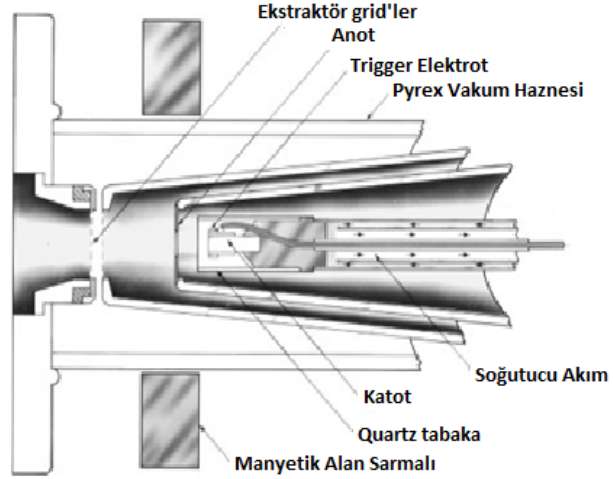
İyon enerjileri zamanın bir fonksiyonu olarak kontrol edilebilir ve film-örnek arayüzeyi, oluşan filmin kompozisyonu vb. özellikler isteğe bağlı olarak farklı yapılarda oluşturulabilir. Bu sistemler için vuruş süresi ~ 3 ila $10 \mu s$ ve vuruş frekansı $\sim 10-50\%$ civarlarındadır. Yüzey modifikasyonu esnasında başlangıç aşamasında vuruş bias değeri -2.2 kV gibi yüksek değerlerde tutulur. Vakum ark tarafından üretilmiş metal iyonları çizgisel ışınım oluşturduğundan ve iyon enerjileri ortalama yük dağılımı ve hızlandırma voltajından türetildiğinden ($E_i = QV$) iyon enerjileri 500 keV değerlerine ulaşır. Bu enerji değerlerine ulaşmış olan iyonlar, balistik olarak çarptıkları hedef malzeme üzerinde $\sim 100 \text{ \AA}$ derinliğe ulaşırlar. Böylelikle oldukça karmaşık yapılar oluşturmak mümkün olabilmektedir.

¹ Tez’in ilerleyen bölümlerinde, bu bağıntıyla ilişkili olarak hızlandırıcı voltaj değeri, enerji olarak ifade edilmiştir.

Daha düşük iyon enerjileri ile gerçekleşen iyon depozisyon yöntemine ait pekçok çalışmada, yoğunluk, morfoloji, film yapısı gibi pekçok malzeme karakteristiğinin daha rahat kontrol edilebilir olması önemli bir avantaj oluşturmaktadır. Tüm darbeli plazma depozisyon proseslerinde vuruş genliği tipik olarak -100V civarında seyrederek (Brown et. al., 1993; Brown, 1998).

Işının oluştuğu elektrodlar (ekstraktör gridleri) amaca özel seçilebilir. Ancak, genelde kullanılan çoklu hızlandırıcı-yavaşlatıcı konfigürasyonu en basit ve etkili çalışma imkanı sunan türdür. Üçlü dairesel gridler genişleyerek yayılan plazmaya eşlik edecek şekilde ayarlanmıştır. Plazmaya en yakın duran 1. grid plazma potansiyeline olabilecek en yakın değerdedir, orta grid genel olarak birkaç kV. negatif voltaj ile yüklenmiştir. Böylelikle, düşük enerjili elektronların geri kaçışını engeller. Son bölümde yeralan 3. grid toprağa bağlanmıştır. Birinci grid ve bütün olarak plazma oluşumu kaynağın yüksek pozitif potansiyele bias edilmesiyle oluşur (Brown et. al., 1993; Brown, 1998).

Resim 3.2’de görülen manyetik alan sarmalları isteğe bağlıdır. Ortalama değerlerde ark bölgesi boyunca oluşturulan manyetik alan katodtan hızlandırıcıya uzanan plazmanın kontrolüne olanak sağlar. Manyetik alan oluşturulmadığı durumlarda plazmanın büyük bir miktarı duvarlara doğru yayılarak kaybolur. Oysa ki uygulanan birkaç yüz gauss değerlerindeki manyetik alanla radyal plazma kayıpları ciddi miktarda azaltılabilir ve oluşan plazmanın önemli bir fraksiyonu hızlandırıcıya kadar ulaştırılarak ışına dönüştürülebilir. Özetle, oluşabilecek en yüksek değerdeki iyon ışını akısı ve maksimum verimlilik için manyetik alan kullanımı avantajlar oluşturmaktadır (Brown et. al. 1993; Brown, 1998).



Şekil 3.3 MEVVA iyon üreticinin bileşenleri

Ark akımı, transistör kontrollü akım kaynağı ile oluşturulur ya da eğer milisaniyeden daha uzun vuruş süresine ihtiyaç duyulmayan daha basit düzeneklerde düşük empedanslı LC vuruş hatları kullanılabilir. Tetikleyiciden katoda adımlı dönüştürücü uygulanarak yüksek voltaj izolasyonu sağlanmış olur (Şekil 3.3).

3.4 Ege Üniversitesin’de Yürütülen Plazma ve İyon Işını Esaslı Yüzey Modifikasyon Çalışmaları

TÜBİTAK MİSAG 43 No’lu Proje kapsamında 1997’de A. Öztarhan tarafından kurulan iyon implantasyon sistemi, MEVVA (metal buharlı vakum ark) iyon implantasyon sistemi olup, yüksek akımlı metal iyonlarının vakum ark ile üretilerek yoğun ve yüksek iyonizasyon derecesindeki metal plazmadan metal iyonlarının çekilip yüksek enerjilerde hızlandırılmalarını sağlar. Şekil 3.4’ de sistemin genel görünümü verilmiştir.



Şekil 3.4 Ege Üniversitesi Yüzey Modifikasyon Laboratuvarı'nın genel görüntüsü (1. Elektrik - elektronik donanım kontrol paneli, 2. Yüksek gerilim odası, 3. Mevva iyon üretici, 4. Ark ve tetikleyici güç kaynağı, 5. a. Ark akımı kontrolü 5. b. İyon hızlandırıcı kontrolü, 6. İzolasyon trafosu, 7. Yüksek gerilim güç kaynağı (110 kVd.c), 8. Yüksek gerilim, 9. Vakum sistemi)

Vakum sistemi yüksek vakuma dayanıklı olacak şekilde paslanmaz çelik (316L soğuk çekme) imal edilmiştir (10^{-9} torr). Vakum sistemi, vakum tankı, rotorlu pompa, manyetik yataklı turbo-moleküler pompa , izolasyon vanaları, bağlantı elemanları ve kontrol panelinden meydana gelmektedir (Şekil 3.4). İyon bombardıman işlemlerinin yapıldığı vakum tankı silindirik olup iç çapı 600 mm ,boyu 1200mm ve et kalınlığı 6mm'dir. 316 L kalite soğuk çekme paslanmaz çelikten imal edilmiştir.

Pompa yağlarının vakum sistemine geri sızma yapabilmesi ihtimali düşünülerek ve sistemi yüksek vakumda tutmak amacı ile $60\text{m}^3/\text{sn}$ emiş kapasiteli turbo moleküler pompa ile desteklenen, 24.000 rpm'e kadar kademeli olarak çıkabilen, 800 l/sn kapasiteli , manyetik yastık özelliği ile yağsız çalışabilen, filtre edilmiş kanatlı vakum pompası kullanılmaktadır.

Turbo pompada olabilecek ani atmosfer kaçaklarını önlemek amacı ile, turbo pompanın “giriş flanş” ı ile vakum tankı flanşı arasına monte edilen, iç çapı 250 mm ve kapanma süresi yaklaşık 1 s olan “ana giriş sürgülü vakum vanası” kullanılmaktadır. Vakum sistemi, ani atmosfer kaçakları ve kullanım

hatalarına karşı çok pahalı olan turbo pompayı korumak üzere vakum sensörleri ile uyarılan otomatik kontrol ünitesi ile de kontrol edilmektedir. Ayrıca, turbo pompayı üzerine düşebilecek makro taneciklerden korumak için girişine “mikro elekli” filtre yerleştirilmiştir.

Vakum sisteminin sabitliğini sağlamak ve turbo pompası titreşimlerini azaltmak ve herhangi bir dönme kazasında (eksen kayması) oluşabilecek savrulmaları önlemek amacı ile sistem 316 L kalite soğuk çekme paslanmaz çelikten imal edilmiş, yere sabitlenen vakum sehpası üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.4). Rotorlu pompanın, yüksek genlikli ve düşük frekanslı titreşimlerinin vakum tankına ve turbo pompaya naklini önlemek için bağlantılar esnek paslanmaz çelik borularla yapılmıştır. Vakum sızdırmazlığı için viton yüzükler kullanılmıştır.

MEVVA iyon üretici, vakum tankına araya konulan adaptör flanş ve iç çapı 200 mm olan ana giriş vanası ile bağlanmıştır. Bu sayede, MEVVA iyon üreticinde meydana gelebilecek bir arızanın vakumu ve turbo pompayı olumsuz yöndeki etkileri önlenmiş ve vana kapatılarak MEVVA iyon üreticinin vakum sisteminden bağımsız bakımının yapılmasına olanak sağlanmıştır. Ayrıca, iyon üreticinin onarımı veya katodun takılması vakum tankı atmosfere açılmadan yapılabilmektedir. Bu sayede turbo pompanın ömrü uzatılmış ve işlemin toplam süresi kısaltılmıştır.

Numuneler, bakırdan yapılmış su soğutmalı numune tutucu üzerine yerleştirilerek, vakum tankının üst kısmına tutturularak, iç çapı 200 mm olan yükleme odacığından içeri sarkıtılırlar. Numune tutucunun, iyon üreticinden uzaklığı yaklaşık 60 cm.'dir.

İyonlarla bombardıman edilecek numunelerin numune tutucusuna, vakum tankının atmosfere açılmadan yüklenebilmesi için vakum tankının üstüne yükleme odacığı yapılmıştır (Şekil 3.4).

Vakum tankı üzerine yerleştirilen vakum sensörleri sayesinde, vakum kontrol ünitesi ile basınç değerleri, atmosfer basıncından 10^{-8} torr'a kadar sürekli okunabilmektedir.

Vakum sisteminin 30 dakika çalıştırıldıktan sonra vakum tankındaki basıncın, atmosfer basıncından 10^{-6} torr'a kadar düştüğü tesbit edilmiştir. Vakum sistemi bütünü ile Prof. Dr. Ahmet Öztarhan tarafından tasarlanmış ve İzmir'deki DESA firması tarafından (işçilik ve malzeme dahil) imal edilmiştir.

Yüksek voltaj taşıdıkları için, ark ve tetikleyici güç kaynağı, MEVVA iyon üretici ve izolasyon trafosu "Faraday kafesi" içine alınmışlardır. Faraday kafesi 2m x 2m x 2,4m boyutundadır.

Vakum ve su sızdırmazlığı özelliklerine sahip, 67 parçadan oluşan MEVVA iyon üretici, Şekil 3.5'de gösterilmiştir.



Şekil 3.5 Metal buharlı vakum ark iyon üretici.

Vakuma dayanıklı ve yüksek voltaj yalıtkanlığı özelliğine sahip seramik silindir, Lawrence Berkeley Laboratuvarı (USA) tarafından Prof. Dr. Ahmet Öztarhan'a hediye edilmiştir.

Resim 3.6’da görüldüğü gibi, 18 ayrı katot, dönebilen ve su soğutmalı, prinçten yapılmış katot tutucular üzerine monte edilmiştir. 18 katottan sadece bir tanesi metal plazma üretmek için kullanılmaktadır. Her bir katodun ömrü ~100 saatir. Vakumu bozmadan, istenilen katot , “ateşlenme” pozisyonuna, sistem atmosfere açılmaksızın, katot tutucu döndürülerek getirilmektedir. Ark boşalması, 10^{-6} torr vakum altında, tetikleyici elektrod ile üzerinde ince seramik yüzük bulunan iletken katot arasında birkaç mikro saniye süreli ve darbeli yaklaşık 10kV.’luk voltajın uygulanması ile meydana gelir.



Şekil 3.6 Katot tutucu (18 ayrı katot, dönebilen ve su soğutmalı, prinçten yapılmış)

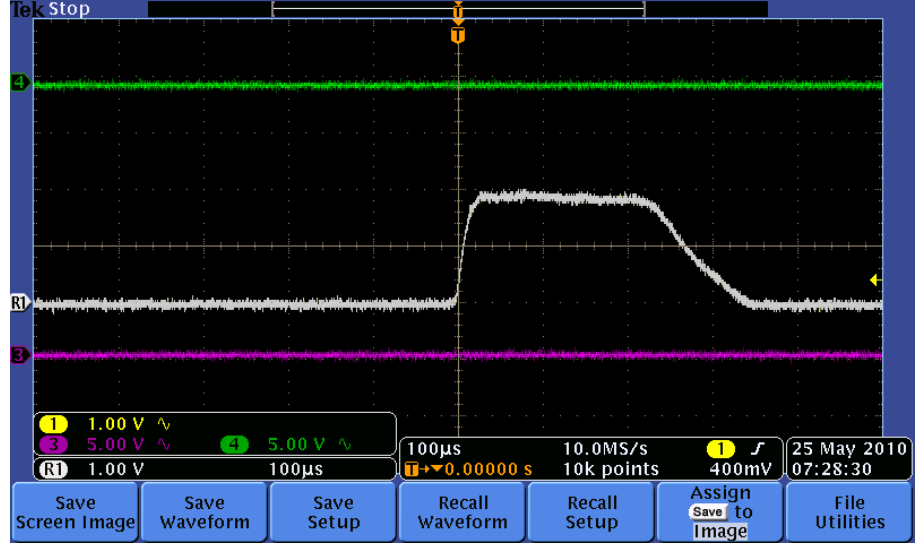
Meydana gelen metal plazmanın anoda yönelmesi ark akımının kazanılmasını sağlar. Ark akımının katot üzerinde bir veya bir kaç mikronluk bir alanda yoğunlaşması ile buharlaşıp gaz haline gelen metalden kopan parçaların atomları yüksek enerjili elektronların çarpması sonucu iyonize olarak plazma haline geçer. Ark deşarjının devamını sağlayan elektrik devresi, ark akımının katotdan anoda akması ile tamamlanır. Ark akımının büyük bir kısmı elektronlardan oluşur. Anod’a yönelen plazmanın bir kısmı, katoddan birkaç santimetre uzakta bulunan yaklaşık 1cm. çapındaki anod deliğinden geçerek grid elektrodlarının bulunduğu iyon hızlandırıcı bölgesine gelir. Izgara elektrodlarının üzerinde 4mm. çapında yaklaşık 100 delik bulunmaktadır ve

metal iyonları ve ek olarak gaz iyonlarını aynı anda üreterek isteğe göre metal ve metal-gaz hibrit iyon implantasyonu gerçekleştirebilmektedir.

Sistemde, Şekil 3.4’de görüldüğü gibi, 18 ayrı katod, dönebilen ve su soğutmalı, prinçten yapılmış katod tutucu üzerine monte edilebilmektedir. Vakumu bozmadan, istenilen katod, ”ateşlenme” pozisyonuna, katod tutucu döndürülerek getirilmektedir. Metal ve gaz iyonları üretilen bunları hızlandıracak şekilde geliştirdiğimiz iyon kaynağındaki basınç 10^{-6} - 10^{-4} torr arasında ayarlanmıştır. Darbeli manyetik alan bobinin manyetik alanına da bağlı olarak üretilen ve hızlandırılan metal iyonlarının gaz iyonlarına oranları değişir. Vakum odası içindeki gaz basıncının fonksiyonu olarak üretilen iyonların birbirine oranlarını gösteren grafik aracılığıyla bu oranların ayarlanması mümkün olur.

Tetikleyici elektrod ile üzerinde ince seramik yüzük bulunan metal (iletken) katod arasında birkaç mikro saniye süreli 10 kV’luk voltajın pulslu potansiyelin uygulanması ile ark akımı meydana gelir. Meydana gelen metal plazmanın anoda yönelmesi ark akımının kazanılmasını sağlar. Ark akımının katod üzerinde bir veya bir kaç mikronluk bir alana yoğunlaşması ile buharlaşıp gaz haline gelen metalin atomlarına yüksek enerjili elektronların çarpması sonucu iyonize olarak plazma haline geçerler. Ark deşarjının devamını sağlayan elektrik devresi, ark akımının katotdan anoda akması ile tamamlanır. Ark akımının büyük bir kısmı elektronlardan oluşur.

Elde edilen pozitif iyonlar, metal+gaz hibrid iyon implantasyonu modunda çalışıyorsa, iyon hızlandırıcı bölgesine girmeden önce manyetik bobinin içinden geçerler. Manyetik bobin, anod bölgesinde, gaz atomlarının iyonize olmaları için dizayn edilmiştir (Öks et. al. 1997). Bu şekilde manyetik bobin yaklaşık 0,18 Tesla şiddetinde manyetik alan oluşturur. Pozitif iyonlar manyetik alan etkisiyle heliks çizerek yollarına devam ederler. Böylece ortama salınan gaz atomlarına çarparak onları da iyonlaştırırlar. Sonuç olarak metal+gaz iyonları plazma halinde elde edilmiş olur. Şekil 3.9’da osiloskopta, $C^{+} + N^{+}$ için elde edilen ark ve iyon akımları görülmektedir.



Şekil 3.9 $V=40\text{kV}$ hızlandırma potansiyeliyle hızlandırılan C iyon ışını ark (1) ve iyon akımlarının (2). a) $B=0$, Tesla $I_{\text{ark}}=100\text{A}$ ve $I_{\text{iyon}}=80\text{mA}$ b) $B=0,18\text{Tesla}$, $I_{\text{ark}}=90\text{A}$ ve $I_{\text{iyon}}=120\text{mA}$ için zamana göre değişimlerinin osiloskoptaki görünüşü.

Manyetik bobin yaklaşık 100 A'lık darbeleri ark akımıyla beslenir. Tetikleyici elektrot ile üzerinde ince seramik halkanın bulunduğu iletken katod arasına 1sn başına 0,25 ms zaman aralığında tetikleyici potansiyel üreticisinden gelen potansiyel uygulanınca, yaklaşık 200A lik ark akımı oluşur ve iki elektrot arasında yük boşalması meydana gelir. Bu yük boşalması esnasında katod yüzeyi üzerinde 1-2 mikronluk bir alanda yüksek akım yoğunluklu bölgeler oluşur. Bu şekilde çalışan katod bir süre sonra aşınmaya başlar. Katod malzemesinin yüksek ısı ile buharlaşan atomları da yüksek enerjili elektronların çarpmasıyla iyonize olurlar. Böylelikle, metal atomları, elektronlar ve pozitif yüklü metal iyonların karışımı bir plazma oluşur. Ark akımı meydana geldiği sürece oluşan plazma, yük boşalmasını besleyip kuvvetlendirir. Bu şekilde, ark boşalmasının devamını sağlayacak elektrik devresi tamamlanmış olur.

3.5 MEVVA (Metal Vapour Vacuum Ark) Sistemiyle Yüzey Modifikasyonu

İyon implantasyonu, bir veya birden fazla elementin hızlandırılmış iyonlarıyla diğer bir malzemenin bombalanmasıyla hedefin içine iyonların

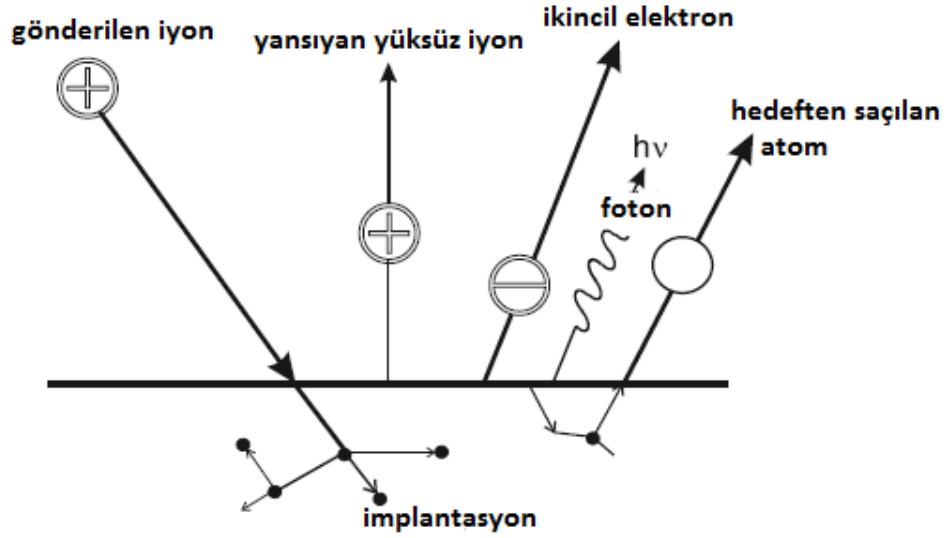
girmesini sağlar (Şekil 3.10). Hedefin en dış tabakalarının yapısını ve özelliklerini istenilen şekilde değiştirmek amacı ile uygulanan bir yöntemdir (Ziegler et. al., 1985).

Bu alanda yürütülen kapsamlı çalışmalar, hedefin ana özelliklerinde olumsuzluk oluşturmada; yüzeyin sertlik, sürtünme katsayısı, aşınma direnci, korozyon direnci, yüzey enerjisi ve benzeri diğer özelliklerinin iyon demetleri ile değiştirilebileceğini göstermiştir.

Hızlandırılmış iyon demetleriyle yapılan işlemde; yüksek enerjili iyonlar yüzeyin altındaki tabakalara girip, buradaki malzeme ile etkileşerek yüzeye yakın bölgenin kompozisyon ve yapısını değiştirirler. Kompozisyondaki değişiklikler karbür, nitrür ve oksit gibi ikinci fazların oluşmasına ve eriyik sertleşmesine neden olurlar. İçeri giren enerjili iyonların çarpışmasıyla bazı atomlar kafeslerindeki yerlerinden kaldırılırlar. Kovalent bağlı malzemelerde ve alaşımların belirli kompozisyon bölgelerinde bu düzensizlik giderilmeden kalır ve yüzeye yakın bölgedeki yapı oldukça düzensiz, amorf özellik gösterir. Bu yapı aşırı soğutulmuş alaşımlardakine benzer ve deformasyon davranışları ile yüzeyin reaktifliğinde değişiklikler meydana getirir. İyon implantasyonu ile yüzeyde meydana getirilen yarı kararlı kimyasal ve yapısal değişimlerin çalışma şartları altında kararlı oldukları gözlenmiştir.

İyon yüzey etkileşimleri, oluşturulacak farklı kompozisyonları belirlemek açısından son derece önemli ve geniş bir konudur. Şekil 3.10'da kısaca görüldüğü üzere yüzeye gönderilen iyonlar, yüzey atomlarıyla başlıca şu etkileşimleri oluştururlar:

- Bir kısım iyon yüzeyden yansır
- İkincil elektronlar oluşur
- Bir kısım iyon yüzeyden içeri girer, implantasyon gerçekleşir
- Radyasyona bağlı hasar oluşur
- Latis kusurları belirir
- Stokiometrik değişimler gerçekleşir
- Hedef malzeme atomlarından bir kısmı çarpışmanın etkisiyle saçılır



Şekil 3.10 Gönderilen iyonların hedef malzeme ile etkileşimleri

Genel olarak bir katı içinde ilerleyen iyonun enerji kaybı; (1) hedef atomun tümüne enerji aktarımıyla gerçekleşen nükleer çarpışmalarla ve (2) elektronik çarpışmalarla yani atom elektronlarının uyarılmaları veya fırlatılmaları ile meydana gelir. Bunları elastik ve elastik olmayan çarpışmalar olarak ayırmak uygun olsa da tam olarak doğru değildir, sadece iyi bir yaklaşım olur. Birim yol başına enerji kaybı (durdurma gücü)

$$[dE/dx] = [dE/dx]_n + [dE/dx]_e ,$$

n ve e nükleer ve elektronik çarpışmaları gösterir.

Nükleer çarpışmalarla iyonlar büyük oranda enerji kaybeder ve yollarından önemli miktarda saparlar. Nükleer çarpışmalardan dolayı atomun kafes içinde yer değiştirmesiyle kafes kusurları meydana gelir. Elektronik çarpışmalarda çarpışma başına oldukça küçük enerji kaybı oluşur, ayrıca kafes kusurları ve iyonların yollarından sapmaları ihmal edilebilir. Bu iki enerji-kayıp mekanizmasının arasındaki ilişki iyonun enerjisi E ve hedefin atom numarası Z_I ' e göre değişir: düşük E ve yüksek Z_I değerlerinde nükleer durdurma ön belirleyici olurken, yüksek E ve düşük Z_I değerlerinde elektronik durdurma belirleyicidir. Bundan başka iyon implantasyonu işlemi sürecinde, implantasyon bölgesindeki, iyon konsantrasyonundaki artışın da etkili olabileceği düşünülmüş ve bu etki bu çalışmada incelenmiştir. Genel olarak iyon implantasyonu işlemi sürecinde,

implantasyon bölgesinde, başlangıçtaki durdurma gücü değeri, sonlardaki değere göre küçük olmalıdır. Çünkü işlem sonlarına doğru implantasyon bölgesinde daha önce gelen iyon atomlarında durdurma gücüne katkı sağlayacaktır. Durdurma gücünün birimi genelde eV/nm veya KeV/nm olarak kullanılır (Tek ve ark., 2001).

İyonların enerjileri ve dozları (iyon sayısı/cm²) kontrol edilerek malzeme yüzeyi üzerinde meydana getirilen alaşımın yapısı ve yüzde miktarları ayarlanabilir. Enerjilerine göre iyon bombardımanı etkileri üç gruba ayrılabilir:

- Birikme
- Püskürtme
- İmplantasyon (iyon ekimi)

Şekil 3.10.'da görüldüğü gibi iyon enerjisi, gelen iyonun numune üzerinde nasıl bir yol izleyeceği ile yakından ilgilidir. İyon enerjisi 1~100 eV aralığında ise gelen iyonlar numune yüzeyinden çok az miktarda içeri girebilir. Ancak daha çok numune yüzeyine yapışma ve birikme etkisi göstererek film tabakası oluşturur. Vakumda elektrodan kopan kısımların buharlaşması sırasında iyonların kinetik enerjisi 10 eV gibi düşük değerlerde ise, yalnızca yapışma ihtimali vardır. Atom ve molekül iyonları daha yüksek örneğin 10-100 eV enerji aralığında iseler, katı yüzeyine sıkı şekilde yapışmış, istenen karakteristiklere sahip ince film oluşturabilirler. Ancak daha yüksek enerjili iyonların saçılarak yüzeydeki koparma etkisinden dolayı, daha az yapışma ihtimali olur. İyon kaplamada adhezyon, saçılma ve implantasyon etkileri aynı anda oluşur. Gelen taneciklerin çoğu birikir ve nispeten yüksek enerjili olanları implante olur. Böylece yoğun bir ince film oluşur. Zayıf yapışmış olan tanecikler kolayca saçılır (Iwaki, 1989).

İyon enerjisi yükseldikçe ($10^2 - 10^5$ eV) gelen iyon numune yüzeyine daha şiddetli çarpar ve numune yüzeyindeki atomları yerinden oynatarak zaman içerisinde yüzeyde aşınma oluşturur (Iwaki, 1989).

Yüzeye yakın bölgede ne kadar çok çarpışma olursa püskürtme verimi o kadar yüksek olur. Bundan dolayı püskürtme verimi gelen iyonların yüzeye yakın

bölgede nükleer durdurma gücüyle orantılıdır. Yüzey çıkarma etkisi yüzey işlemlerinde bir temizleme işlemi olarak da kullanılabilir. İyon enerjisi arttıkça daha fazla nüfuz etme etkisi gösterir ve saçılma oranıda giderek azalır. İyon enerjisi 10^6 eV düzeyine geldiğinde, gelen iyon numune yüzeyinden zorla içeri geçerek belirli bir derinliğe gömülür ki bu olay implantasyon olarak ifade edilir. Bu durumda yüzeyden içeri doğru biriken iyonlar bir alaşım tabakası oluşturarak yüzeyde değişikliğe sebep olurlar. Kısaca, hedefin yüzey tabakalarının karakteristikleri, işlem sırasında iyonların enerjilerinin büyüklüklerine büyük oranda bağlıdır. Çünkü her bir etki belli bir enerji aralığında oluşmaktadır (Iwaki, 1989).

3.6 Önceki Çalışmalar:

İnorganik malzemelerin (çoğunlukla yarı iletken ve metalik malzemeler olmak üzere) yüzey modifikasyonlarına yönelik iyon implantasyonu, 30-40 yıllık bir araştırma geçmişine sahip, oldukça gelişmiş bir alandır. Canlı bakteri ve bitki dokularını da içine alan organik malzemelere iyon implantasyonu ise bu alandaki çok yeni bir gelişmedir. Bu konunun genel olarak gözden geçirildiği bir çalışma Biederman ve Slavinska (1999) tarafından yayınlanmıştır. Bu tez ile bağlantılı olarak, Biederman ve Slavinska (1999) özellikle iyon bombardımanının polimer ve polimer filmlerin yapı, kompozisyon ve özellikleri üzerinde yaptıkları etkileri dikkate almakta ve incelemektedirler. Organik moleküllerin iyon bombardımanı aynı zamanda küçük canlı moleküllerin sentezinde bir araç gibi kullanılmak üzere deneysel olarak da araştırılmıştır ki bu, yaşamın başlangıcını araştırmaya yönelik bir çalışmadır (Wang et al 2004). Prof. Dr. Ian Brown'ın daha önce biyolojik moleküler modifikasyona yönelik iyon bombardıman konusunda çalışmaları bulunmaktadır (Yu Z. 2006, Yu et. al. 2002, 2003, 2006, Phanchaisri et. al. 2002, Vilaithong et. al. 2004, Sangyuenyongpipat et. al. 2006). Bu çalışmalarda, canlı hücresel malzemelerin iyon bombardımanına esas teşkil edecek bilimsel bir incelemeye tabi tutulmuş iyon implantasyonu, yeni biyoteknolojik buluşlar elde etmek üzere uygulanmıştır. Ancak, “biyo-implantasyon” alanı oldukça yeni olup, bu konudaki yazılı kaynaklar çok fazla değildir. Biyomalzemelerin ve özellikle polimerlerin iyon implantasyonu ile modifikasyonu ve hücre çoğalmasının

etkinliğinin amaca yönelik kontrolü konusunda Ti, Co-Cr gibi metallerin yanı sıra (Chu, 2007) UHMWPE yüksek yoğunluklu polietilen (Urkac et. al., 2007, Öztarhan et. al., 2007), silikon (Suzuki et. al. 1991, 1992; Ishikawa, 2007), GPC (camsı polimerik karbon) malzemelerle (Zimmerman et. al., 2007) çalışmaları mevcuttur. Bütün bu çalışmalarda, polimerik malzemelerde hücre çoğalmasının, iyon implantasyonu ile yüzey modifiye edilerek kontrol edilebileceği gösterilmiştir. Uygulanan doz ve enerji parametreleri değiştirilerek kontrollü çoğaltımın mümkün olduğu ispatlanmıştır.

Japonya'nın Kyoto Üniversitesi'nde, J. Ishikawa (2004, 2007) önderliğinde çalışmalarını sürdüren araştırma grubu (Tsuji et. al. 1997, 1998, 1999, 2000, 2004, 2007, Sato et. al 1999; Sommani et. al., 2007), özellikle implantasyona tabi tutulmuş malzemelere hücre tutunmasının kontrolü yönündeki uygulamaları başta olmak üzere, bu alanda bir araştırma koleksiyonu inşa etmişlerdir. Yakın zamanda yürütülen ve yayınlanan bu çalışmalar sinirsel rejenerasyona yöneliktir ve negatif gümüş iyonlarıyla, iyon implantasyon tekniği kullanılarak kaplanan kanallarda sinir hücrelerinin çoğalabildiği rapor edilmiştir (Sommani et. al. 2007, Tsuji et. al. 2004, 2007, 2008). Pozitif yüklü bir yüzeyin varlığında ise hayvan hücresi sadece elektrostatik kuvvet ile yüzeye tutunabilir. Yüzey pozitif yüklü de olsa, negatif yüklü de olsa, hücre ile yüzey arasındaki tutunma mekanizması benzerlik gösterir. Hücre-yüzey teması fibronektin gibi amfoterik bir protein köprüsüyle ve/veya Ca^{2+} ya da Mg^{2+} gibi divalent katyonlarla sağlanır. Hücrelerin yüksek enerjili yüzeylere düşük enerjililerle kıyaslandığında daha kolay bağlandığı gösterilmiştir. Hücreler ya negatif ya da pozitif yüklere sahip yüzeylerde kültüve edilirler. Hücre tutunması ve yayılmasındaki temel faktörün yüklerin polaritesi değil kültür yüzeyindeki yük yoğunluğu olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar ile gümüş yoğunluğunun fazlalığına bağlı olarak tutunma yeteneğinin azaldığı, hücreler arasında büyük boşluklar oluştuğu görülmüştür. Tutunmanın fazla olduğu yerlerde hücrenin aktif bir şekilde substrat ile ilişkiye girdiği, artan bir şekilde saçaklanma yaptığı, hücre iskeletinin bu saçaklanmaya oldukça uyumlu bir biçimde davrandığı hücrenin saçakları yolu ile diğer hücreler ile ilişki kurmaya çalıştığı belirlenmiştir (Tsuji et. al. 2008).

Geçtiğimiz yaklaşık yirmi yıllık süre zarfında, elmas benzeri karbon [diamond-like carbon (DLC)] filmlerin plazma ile kaplanması kısmi anlamda oturmuş ve tüm dünyada oldukça yaygın bir hale gelmiştir. Bu çalışmaların biyomalzeme uygulamaları ise, bir şekilde son yıllarda geliştirilmiş olup, yine geçtiğimiz dönemlerde R.W. Roy ve K.R. Lee tarafından bir yayın taraması yapılarak gözden geçirilmiş ve yayınlamıştır (Roy and Lee 2007). Çeşitli atomik bağ yapılarına ve kompozisyonlara sahip DLC filmler, ortopedik, kalp-damar cerrahisi ve diş tedavisi uygulamalarında kullanılmaktadırlar ve bu uygulamalarda hücreler bu filmler üzerinde toksik etki ya da inflamasyona neden olmaksızın büyüebilmektedirler (Li et. al. 2002). Ortopedik uygulamalarda DLC kaplamalar, iyon implantasyonu çalışmalarında olduğu gibi aşınmayı, korozyonu ve malzemeden vücuda yabancı madde salınımını azaltmaktadır. DLC kaplamalar aynı zamanda pıhtılaşmayı sağlayan kan hücrelerinde tutunmayı ve aktivasyonu minimize ederek trombojeniteyi azaltırlar. DLC kaplı yüzeylerde hücre tutunması ve hücre çoğalması konuları da araştırmacıların ilgisini çekmiştir (Gutensohn et. al., 2000; Matsumoto et. al., 2008, Roy and Lee 2007, Kelly et. al, 2008). Brown ve arkadaşları (2003), yayınladıkları bir çalışmada bir dizi iyon implantasyonu yapılmış malzeme üzerinde ve yanında DLC ince filmlerde sinir hücre çoğalmasını gerçekleştirmiştir. DLC malzemenin, üzerinde genel anlamda biyolojik hücrelerin ve özel bir uygulama olarak da sinirsel hücrelerin çok güçlü bir şekilde tutunduğu ve yüksek yoğunlukta çoğalabildiği mükemmel bir biyoaktif malzeme olduğu, günümüz itibarıyla şüphe götürmez bir şekilde tespit edilmiştir. Ancak bu malzemenin polimerler üzerine uygulaması araştırmaya açık bir konudur.

Tez içinde yeralan diğer bir önemli araştırma konusunda çeşitli büyüklük ve ağ yapılarına sahip litografik maskeler aracılığıyla elde edilmesi planlanan desenli yüzeyler ve bu yüzeyler üzerinde yönlendirilmiş sinir hücresi çoğalmasının gösterilmesidir. Literatürde, desenlenmiş yüzeyler oluşturmaya yönelik çukurların ve tepelerin mekanik işleme teknikleri ile oluşturulduğu (Miller et. al., 2001), lazer ile mikro işleme (Corey et. al., 1991), yüzey işlemeye yönelik foto-kimyasal yöntemler (Hickman et. al., 1994), foto-direnç metotları ve diğer bazı yöntemleri de içine alan yapılandırmaya yönelik birçok yaklaşımın

araştırması yapılmıştır (Stenger and McKenna1994). Bu metotlarla desenlenmiş yzeyler üzerinde hcre tutunması ve çoğalması deneyleri Hasırcı ve grubu tarafından başarıyla gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda, kornea doku mühendisliğinde kullanılmak üzere kollajen ve polyester bazlı mikro desenlenmiş filmlerin üzerinde fotolitografi yöntemiyle çeşitli mikro desenler oluşturulmuş ve hazırlanmış bu filmler üzerinde insan kornea keratinositlerinin ve epitelyal hcrelerinin tutunma ve çoğalma özellikleri incelenmiştir (Kenar ve ark. 2006, Zorlutuna ve ark. 2007, Vrana ve ark. 2007).

Bu tez’de, iyon implantasyonu ve plazma kaplama teknikleriyle, sinir hcresi çoğalmasını teşvik eden ya da yavaşlatan iyon türleri kullanarak üzerinde sinir hcrelerinin tutunduğu ve uygun bir şekilde çoğaldığı kontrollü sinirsel hcre dizilerinin yetiştirileceği yzeyler oluşturulacaktır. Bu doğrultuda birtakım n çalışmalar daha önce, tez’in ikinci danışmanı Prof. Ian Brown tarafından, laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiştir (Brown et. al., 2003). Bu n çalışmalar, metodun verimli olduğunu ve uygulanabilirliğini göstermiştir.

4. İYON İŞİNİ İLE MODİFİKASYONUN BİYOBOZUNUR POLİMERLER ÜZERİNE ETKİLERİ

4.1 Giriş:

Biyolojik olarak resorbe edilebilen pek çok madde sinir grefti olarak kullanılabilir. Geçirgen olmaması nedeni ile uzun defektlerde sinir greftinin alternatifi olarak kullanılamazlar. Bununla birlikte bu tüpler çeşitli faktörler, hücreler ve materyaller uygulanarak rejenerasyon için geliştirilebilirler. Literatürde, kitosan, PGA (Poli-glikolik asit), PLA (polilaktik asit), PU (poliüretan) gibi biyobozunur polimerler sinir hücreleriyle biyouyumluluk bakımından incelenmiştir (Goddard ve Hotchkiss 2007) . Bu polimerik malzemelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri yüzey modifikasyon işlemlerine (plazma, kaplama, kimyasal bağlama gibi) olanak sağladığından yaygın olarak tercih edilmektedir. Ancak özellikle polyester kökenli bu sentetik polimerik malzemelerin doku mühendisliği uygulamalarında zayıf biyouyumluluk, asidik ürünlerin degradasyonu ve mekanik özelliklerini yitirme gibi bazı dezavantajları da mevcuttur. Bu nedenle bu malzemelerin hücre ile olan iletişimini olumlu yönde geliştirmek için yüzey modifikasyonuna ihtiyaç vardır. Modifikasyon sonucunda malzemedeki değişimler, biyouyumluluk, bozunma, gözeneklilik, yüzey pürüzlülüğü, hidrofillik, elektriksel iletkenlik ve mekanik dayanım gibi özelliklerini değiştirmekte ve böylelikle sinir rejenerasyonunu bütünüyle etkilemektedir (Seal et. al., 2001).

Bu çalışmada, PLA, PDLG, PLC, kitosan ve silikon malzemeler kullanarak polimerik numuneler üretilmiş ve yüzey modifikasyon tekniklerinin sinir dokusu rejenerasyonu bakımından etkinliği araştırılmıştır. Silikon, hâlihazırda nöral rejenerasyona yönelik entübülasyon uygulamalarında yaygın olarak kullanıldığı için seçilmiştir. PLA, PDLG ve PLC hâlihazırda kullanılan bir materyaldir ve silikona alternatif sentetik biyobozunur polimer olarak projeye eklenmiştir. Son olarak kitosan, doğal biyobozunur polimer alternatifi olarak düşünülmüştür. Sonuç olarak tezde, bir sentetik, bir sentetik biyobozunur ve bir doğal biyobozunur polimer malzeme ile çalışılmıştır.

Çalışmanın yüzey modifikasyonu aşamasında, plazma esaslı teknolojiler içinden iyon implantasyonu ve plazma depozisyon teknikleri uygulanmıştır. Polimerik numunelerde elmas benzeri karbon (diamond-like carbon - DLC) yapılar oluşturmaya yönelik ince film kaplama ve iyon implantasyonu teknikleri geliştirilerek uygulamalar yapılmış ve sonuçlar sayısal anlamda değerlendirilmiştir. Literatürde, DLC ince film kaplamanın sert malzemeler üzerinde sinir hücrelerinin üremesini tetiklediği bildirilmiştir (Brown et. al., 2003). Yüksek kaliteli DLC ince film kaplama, vakum ark plazma yöntemi kullanılarak oluşturulabilmektedir. Bu anlamda çalışmada, halihazırda varolan iyon implantasyon sistemi (Öztaş ve ark., 2005) iyon implantasyonu için ve magnetik filtreli vakum ark plazma depozisyon ünitesi ise DLC ince film kaplama yapmak için kullanılmıştır. Literatürde bu konuda varolan çalışmalar ışığında bu projede, polimerik numunelere düşük enerjili iyon implantasyonu ve plazma depozisyon yöntemiyle, DLC ince film kaplama yöntemleri uygulanmıştır. İnce DLC kaplamanın esnek polimer yüzeylerde en iyi şekilde tutunabilmesi için özel bir yöntem uygulanmıştır.

4.2 Materyal ve Yöntem:

4.2.a Materyal:

İyon ışını ve plazmanın vücut içinde kullanılan biyobozunur polimer malzemelerin kimyasal ve fiziksel özelliklerine olan etkilerini incelemek üzere poli L-laktid, poli-(L laktid -ko glikolid) ve poli (kaprolaktan) film numuneler ile çalışılmıştır. Granül halindeki numuneler Purac (Hollanda) firmasından temin edilmiştir.

Çizelge 4.1 Purac (Hollanda) firmasından sağlanan laktik asit esaslı biyobozunur malzemelerin fiziksel özellikleri

Fiziksel Özellikler	Tensil Modülü (GPa)	Tensil Kuvveti(MPa)	Uzama Dayanımı(%)	Bozunma Süresi(Ay)
PLLA	3.1-3.7	60-70	2-6	>24
PDLG 50/50	3.4-3.8	40-50	1-4	1-2
PLC 70/30	0.02-0.04	18-22	> 100	12-24

Çözücü olarak kloroform ve dioksan (Merck / Almanya) kullanılmıştır.

Yüzey modifikasyonları için kullanılan 0,8mm çapında 6cm uzunluğunda C ve Au katodlar Plasmaterials (U.S.A.) firması tarafından özel imal edilmiştir.

4.2.b Yöntem

4.2.b.1 Polimer Filmlerin Hazırlanması: Polimer film hazırlamak üzere, çözücü döküm yöntemi kullanılmıştır. Polimerler 2 farklı çözücü ile (kloroform ve dioksan) %3-5'lik konsantrasyonda manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmüştür. Karışım cam petri kaplara dökülerek, önce oda sıcaklığında daha sonra vakum etüvünde 18 saat kurutulur.

4.2.B.2 Yüzey Modifikasyonları: Yüzey modifikasyonları, iyon implantasyonu ve plazma depozisyon metodlarıyla gerçekleştirilmiştir.

4.2.B.2.a İyon İmplantasyonları: Yüzey modifikasyonu aşamasının ilk basamağı, polimerik numunelerde, iyon demetinin yüzeyin moleküler yapısına minimum düzeyde hasar verecek şekilde ayarlanmış, düşük enerjili iyon implantasyonu gerçekleştirmeye yönelik tekniklerin geliştirilmesidir. Bu aşamada, geniş bir yelpaze içerisinde, farklı türden iyon demetleri üretebilmesi ve kendisini nötralize edebilen iyon demeti özelliğine sahip olması nedeniyle, MEVVA iyon implantasyon sistemi kullanılmıştır. MEVVA sisteminin nötralizasyon yeteneği, kullanılacak polimerik - yani yalıtkanlık özelliği oldukça yüksek malzemelere implantasyon esnasında, yüzeyin elektriksel olarak yüklenmesi ve oluşabilecek zararlı iç deşarjlardan kaçınılması anlamında önem kazanmaktadır (Oks et. al., 1997).

Prof. Ahmet Öztarhan'ın 1997 TÜBİTAK Misag 43 no'lu proje kapsamında geliştirdiği, Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (EBİLTEM) bünyesinde hizmette olan Metal Buharlı Vakum Ark (MEVVA) İyon İmplantasyon Sistemi kullanılmıştır. Yüzey üzerinde etkiler

araştırılırken, implantasyon parametreleri değiştirilerek optimum değerler belirlenmiştir. Değiştirilen parametreler:

İyon türü : C ve Au

İyon enerjisi: 20 keV, 30 keV, 40keV

İmplantasyon dozajı : 1×10^{14} , 1×10^{15} , 1×10^{16} 1×10^{17} ions/cm²

Çevrim süresi (10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2}) – (darbe süresinin , periyoda oranı)

İyon implantasyonu için sistem, 250µsn tekrarlama hızı ile saniye başına 1-2 darbeye göre ayarlanmıştır. Bu bağlamda 20keV - 40keV. aralığında denemeler gerçekleştirilmiştir.

Toplam ekstrakt edilmiş iyon ışın akımı tipik olarak birkaç yüz miliamper tepe noktasına ulaşmaktadır. Ortalama ışın akımı %1’lik sapma mertebesinde dir. İmplantasyon esnasında vakum basıncı 10^{-7} torr seviyesinde tutulmuştur. İmplantasyon, geniş ışın modunda gerçekleştirilmiştir. Hızlandırıcı elektrotlarda (extractor grids) gerçekleşen iyon ışın çapı yaklaşık 10 cm. dir. İmplant edilecek numune diğer bir deyişle hedef materyal iyon üreticinden 30 cm uzaklıktadır.

Uygulanacak hızlandırıcı gerilim voltajı, TOF (time of flight) cihazı ile ölçülen ortalama yük dağılımından hesaplanarak bulunmuştur (ızgaralardan hızlandırılan iyonlar, iyon üreticinden yaklaşık 60 cm uzaklıktaki numuneye çarparak numune yüzeyi içine girerler. Ortalama iyon enerjisi, uçuş zamanı “TOF” yöntemi ile ölçülen, ortalama yük seviyesine göre belirlenmektedir.

4.2.B.2.b Plazma Depozisyon:

Ege Üniversitesi Yüzey Modifikasyon Laboratuvarı’nda varolan iyon implantasyonu sistemine entegre “plazma depozisyon” ünitesi kullanılarak, tüm numunelerle 100V.,150V.,200V. (Biased) yükleme voltajı seviyesinde farklı zaman aralıklarında DLC kaplama gerçekleştirilmiştir. DLC Kaplama kalınlığını hesaplamak üzere aşağıdaki çalışma yapılmıştır:

N = kaplanan iyon sayısı

e = elektron yükü

Q = iyon "charge state"i (C^+ için $Q = 1$)

I_{ion} = iyon akımı (Amper)

Kaplanan yük = $NeQ = I_{ion}t$

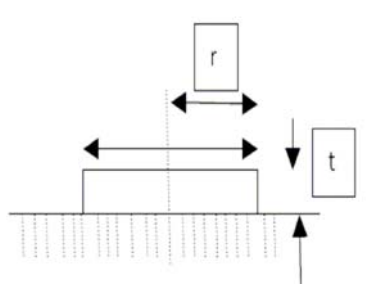
NeQ = iyon başına yük (toplam yük)

$I_{ion}t$ = akım * zaman = yük

$N = I_{ion}t/eQ$ (1)

Kaplama filmini r (cm) yarıçaplı ve t (cm) kalınlığa sahip bir disk biçiminde düşünelim; yoğunluğu h (atom/cm³) olacak şekilde atomlardan oluşsun.

Bu diskteki atom sayısı;



$N = hV = h\pi r^2 t$ olur. (2)

(1) ve (2)'den;

$(I_{ion}t)/eQ = h\pi r^2 t$ elde edilir.

Buradan kalınlığı çekersek; $t = (I_{ion}t)/eQh\pi r^2$ olur (3).

r (g/cm³) yoğunluklu 1cm³'lük bir yığın düşünelim ve A atom kütlesine sahip atomlardan oluşsun. Bu durumda 1 cm³'ün ağırlığı;

$r = hAmV$ dir.

$mV = 1$ atomik kütle birimi (amu) = $1,67 \cdot 10^{-24}$ gm

$h = r/AmV$ (3)'ten;

$t = (I_{ion}t)/(eQ(r/AmV)\pi r^2$

$t = (AmVI_{ion}t)/peQr r^2$

$mV = 1,67 \cdot 10^{-24}$ gm

$e = 1,6 \cdot 10^{-19}$ coulomb

$A = 12$ g, $r = 2$ g/cm³

$$Q = 1 \text{ (karbon plazma için; } Q = 1+)$$

$$t = (12 \cdot 1,67 \cdot 10^{-24} \cdot t \cdot I_{ion}) / p \cdot 1,6 \cdot 10^{-19} \cdot 2 \cdot r^2$$

$$t = (2 \cdot 10^{-5} \cdot t \cdot I_{ion}) / r^2 \text{ (cm, "pulse" başına)}$$

Buna göre kalınlık ölçümü için t saniye), I_{ion} (amper) ve r (cm) parametrelerini bilmemiz gerekmektedir.

Örnek olarak, cihazımızın t değeri 5ms olsun; bu da $5 \cdot 10^{-3}$ saniye yapar.

$$I_{ion} = 1 \text{ A.},$$

$$R = 2,5 \text{ cm olsun.}$$

Bu durumda;

$$t = (2 \cdot 10^{-5} \cdot 5 \cdot 10^{-3} \cdot 1) / (2,5)^2 = 1,6 \cdot 10^{-8} \text{ cm} = 1,6 \text{ angstrom/pulse olur.}$$

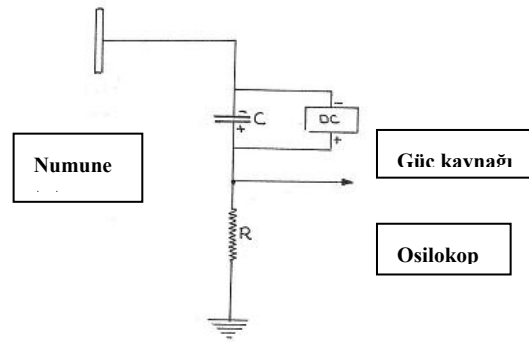
Kaplama süresince toplam N sayıda pulse olduğunu düşünelim.

Bu durumda toplam film kalınlığı;

$$\text{Film kalınlığı} = N \cdot t = 1,6 \cdot N \text{ angstrom olarak elde edilir.}$$

Şekildeki devreden bizim cihazımızda $I_{ion} = 0,9 \text{ A}$, $r = 7,5 \text{ cm}$ olarak ölçümledik,

$t = 1 \text{ ms}$ ise üretici tarafından belirlenmiş parametredir.



Devrede $R = 10 \text{ ohm}$ 'luk direnç kullanılmış, osiloskopta ise 9 Volt 'luk gerilim değeri okunarak $I_{ion} = 9/10 = 0,9 \text{ A}$. bulunmuştur.

Kaplama yarıçapı, numune tutucu üzerindeki dairesel kaplama alanının çapı ölçülerek bulunmuştur.

Bu durumda;

$$t = (2 \cdot 10^{-5} \cdot t_{ion}) / r^2 \text{ formülünden,}$$

$$t = (2 \cdot 10^{-5} \cdot 1 \cdot 10^{-3} \cdot 0,9) / (7,5)^2 = 3,2 \cdot 10^{-10} \text{cm}$$

$$t = 0,032 \text{angstrom olarak bulunur.}$$

Buna göre saniyede 5Hz'lik DLC uygulaması yapılırsa;

$$\text{Film kalınlığı} = 5 \cdot 0,032 = 0,16 \text{angstrom/saniye olarak bulunur}$$

(0,16angstrom = 0,016nanometre).

$$\text{Buradan dakikada } 0,016 \cdot 60 = 0,96 \text{nm'lik film kalınlığı elde edilir}$$

(f=10Hz olursa; $0,96 \cdot 2 = 1,92 \text{ nm/dakika olur}$).

Bu bilgiler ışığında çalışmada, 100V. 5Hz. değerleri için 30, 60, 90, 120 nm. kalınlıklarında DLC kaplamalar gerçekleştirilmiştir.

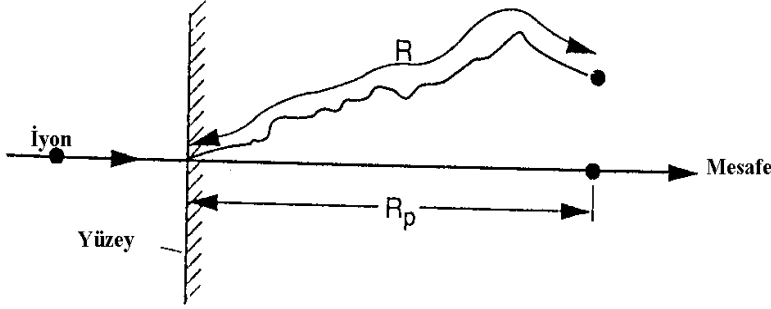
4.3 Karakterizasyonlar:

4.3.1 İyon Derinlik Analizi (SRIM):

Hızlandırılmalarından dolayı hedefe giren iyonların momentumu sıfır oluncaya kadar aldıkları yol, her iyon için rastgele bir dağılım gösterir ve bu noktada, iyonların rasgele dağılımları onların momentleriyle karakterize edilebilir. Hızlandırılmış iyonlar, enerjilerini hedef atomları ile nükleer ve elektronik etkileşmelerle kaybederler (Lindhard, 1963, 1968).

Bu çalışmada içeri giren iyonların menzil dağılımını hesaplamak üzere SRIM programı kullanılmıştır. SRIM programı internet üzerinde dağıtımına açık bir grup programdır. İyon-atom çarpışmaların quantum mekaniksel yöntemlerle teorik olarak hesaplanmasını ve iyonların malzeme içindeki hareket menzillerini ve iyon derinliğinin simüle edilmesine olanak tanır (burada terim olarak hareket halindeki atomlar –iyon, hedef malzemenin atomları ise –atom olarak anılmıştır). Bu hesaplamalar istatistiksel algoritmaların kullanımı açısından son derece etkili bir yöntem dizisi olup hesaplanan çarpışmaların ve ortalama değerlerin arasındaki mesafeyi azaltır. Çarpışmalar sırasında, iyon ve atomlar Coulomb çarpışmaları görüntülenebildiği gibi üstüste binen elektron çekirdekleri arasındaki değişim ve

korelasyon etkileşimleri de gözönüne alınmıştır. İyonlar hedef üzerinde elektron uyarımları ve plazmonlar oluştururken çok çeşitli etkileşimlere maruz kalırlar. Tüm bu etkileşimler hedefteki malzemenin kolektif elektronik yapısını ve atomlararası bağ yapısını tanımlarken özelleştirilebilir (nominal değerleri sağlayan bir Çizelge programda hazır olarak temin edilmiştir). Hedefteki iyonların yük durumları, hıza bağlı yük durumunu ve hedefteki kolektif elektron denizinde uzun menzil görüntülemesini de içeren efektif yük konsepti kullanılarak tanımlanmıştır (Ziegler et. al., 1985).



Şekil 4.1 Bir iyonun hedef malzeme içerisinde iyon implantasyon sürecinde duruncaya kadar izlediği yolun iki boyutlu görüntüsü (Mayer et. al., 1970)

Şekil 4.1’de bir katı içine giren iyonun izlediği yol üç boyutlu olarak gösterilmiştir. İyon yüzeye (0,0,0) noktasından yüzey normaline α açısıyla girmektedir. Burada iyonun izlediği gerçek yol R ile ve dik olarak izlediği yol ise R_p ile gösterilmektedir. Ayrıca iyonun girdiği (0,0,0) noktası ile durduğu (x_s, y_s, z_s) nokta arasındaki yol ise R_r açılal yol olarak tanımlanır. Eğer $\alpha=0$ olursa $R_p=R_r$ olur. İyonun yüzeye girdiği nokta ile durduğu noktanın yüzey düzlemine iz düşümü arasındaki mesafe R_s yayılma mesafesi olarak adlandırılır. R_p den R_r ye uzanan dik bileşen ise R_p^t ile gösterilir. Bunlar aşağıdaki bağıntılarla tanımlanmıştır.

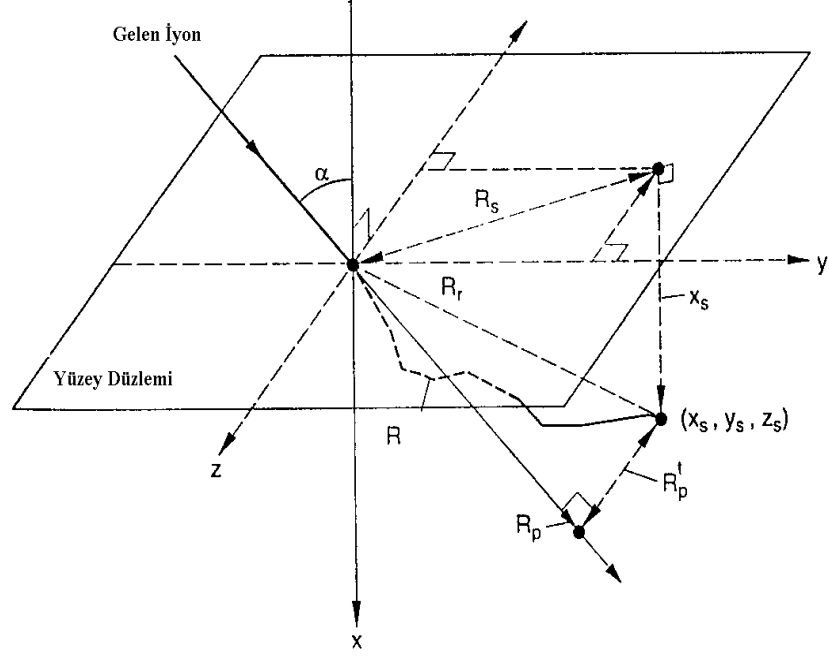
$$R_s = (y_s^2 + z_s^2)^{1/2} \quad (1.1a)$$

$$R_r = (x_s^2 + y_s^2 + z_s^2)^{1/2} \quad (1.1b)$$

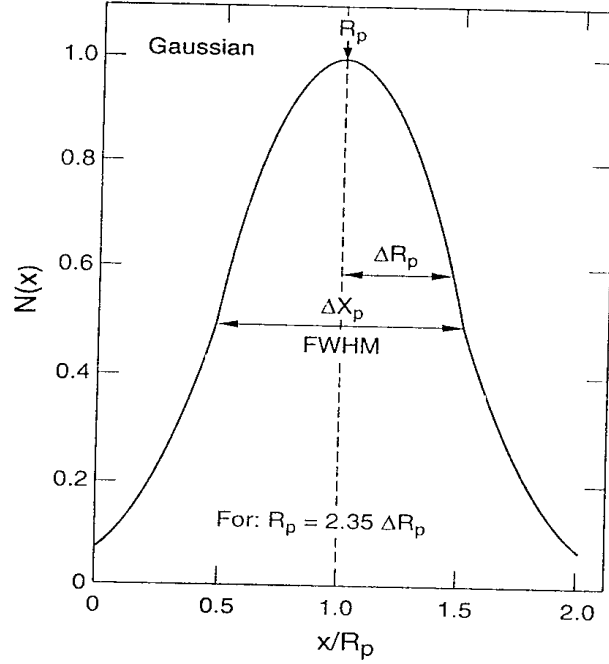
$$R_p^t = \{(x_s \sin \alpha - y_s \cos \alpha)^2 + z_s^2\}^{1/2} \quad (1.1c)$$

$$R_p = \{(R_r)^2 + (R_p^t)^2\}^{1/2} \quad (1.1d)$$

İyonun durdurulması rasgele bir süreç olduğundan, aynı enerjili iyonların gireceği derinlikler de farklı olacaktır. R_p ye göre dağılım Şekil 4.2'dekine benzer olacaktır. Menzillerinin dağılımı ise Şekil 4.3'de verilmiştir.



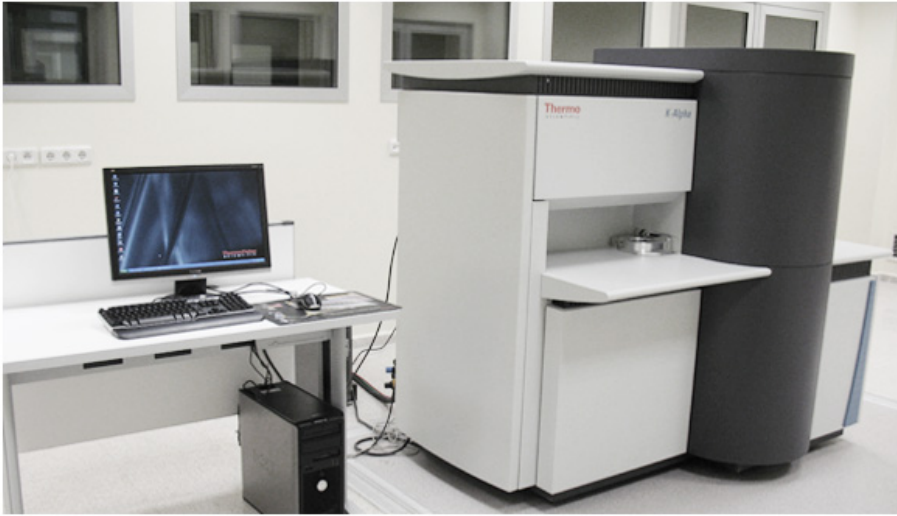
Şekil 4.2 Bir katı içine giren iyonun izlediği üç boyutlu yol (Eckstein, 1991)



Şekil 4.3 Hedef içerisine giren iyonların menzillerinin (R_p) ye göre dağılımları (Eckstein, 1991)

4.3.2 Kimyasal Karakterizasyonlar:

4.3.2.a X-Işını Foto-Spektrometresi (XPS) : İyon bombardımanı sonrası yüzey kompozisyonu ve kimyasal yapıya ilişkin bilgiler X-Işını Foto-Spektrometresi (XPS) aracılığıyla elde edilmiştir. XPS analizi Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'da bulunan Thermo K-Alpha - Monokromat XPS spektrometre ile gerçekleştirilmiştir. Cihaz, dual Al/Mg anod, hemisferik analizör ve elektrostatik lens (Omni Focus III) sistemine sahiptir. Elektron salınım açısı 45° olup analizör FAT mod'da Al K-1,2 radyasyonu ile, survey için 187.85 eV, yüksek çözünürlüklü taramalar için 11.75 eV enerji değerlerinde kullanılmıştır. Analiz için, alınan spektrum, Shirley arkaplan sübstraksiyonu sonrasında Gaussian pik'lerinin rutin fitting işlemine tabii tutulmuştur. Bağlanma enerjilerini belirlemek üzere literatüre göre 285.0 eV dolaylarında yeralan C1s hidrokarbon pik'i referans alınmıştır.



Şekil 4.4 XPS ölçümlerinin gerçekleştirildiği Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'da bulunan Thermo K-Alpha - Monokromat spektrometre (XPS)

4.3.2.b Kütle Spektrometresi (Time-of-flight secondary ion mass spectrometry) (ToF-SIMS): ToF-SIMS kütle spektrometresi iyonize olabilen kimyasal grupların belirlenmesinde kullanılan analiz tekniğidir. İyon ışınımına tabii tutulan yüzey ikincil elektronlar yayar ve bunlar kütle spektrometresinde

kütlenin yük'e oranı şeklinde dağılım gösterir. Elde edilen spektrum sinyal yoğunluğunun kütle/yük oranına karşılık gelen veriyi içerir. Böylelikle iyon ışınının homojenitesi saptanmış olur. XPS'den daha hassas bir teknik olmakla birlikte kantitatif veri elde edilemez. Bu tez'de gerçekleşen ToF-SIMS ölçümleri, polimer örnekler üzerine gönderilen iyon ışınlarının homojenitelerini ve metal-gaz hibrit implantasyonlar için iyon yüzdelerini belirlemek amacıyla, XPS verilerini tamamlayıcı olarak uygulanmıştır. Kütle spektrometre ölçümleri E.Ü. Yüzey Modifikasyon Laboratuvarı'nda, MEVVA iyon implantasyonu cihazına komplimenter halde bulunan ToF SIMS cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

4.3.2.c ATR – FTIR Spektroskopi (Attenuated Total Reflectance /ATR - Fourier Transform Infra Red Spectroscopy): ATR- FTIR spektroskopi cihazı ile gerçekleştirilen kimyasal analiz neticesinde yüzeyden 2 mikron derinlikte oluşan kimyasal bağlanmalar izlenmiştir. Analizler için Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'a ait Bruker marka, VERTEX 70 with Hyperion Scanning Microscope model Smart DuraSamplIR 3 Bounce diamond HATR (3 reflection diamond ATR) mod FT/IR kullanılmıştır. Alınan spektrumların bilgisayar ortamında prosesi için OMNIC marka yazılım ve grafik analizleri için Origin 3.1 yazılımı kullanılmıştır.



Şekil 4.5 ATR/FTIR ölçümlerinin gerçekleştirildiği Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'a ait Bruker marka, VERTEX 70 with Hyperion Scanning Microscope model Smart DuraSamplIR 3 Bounce diamond HATR (3 reflection diamond ATR) mod FT/IR

4.3.2.d Optik Absorbsyon Fotospektrometre: İyon implantasyonu etkisiyle oluşan yapısal değişimler, polimerik malzemelerin band yapısında yeralan yasak bölgede yeni elektron enerji seviyeleri oluşturabilir. Bundan dolayı, implantasyona uğrayan polimerlerin optiksel özelliklerinin incelenmesi; yasak bandındaki değişimler ve enerji seviyelerindeki geçişler hakkında bilgi edinmemizi sağlar. Ayrıca implantasyona uğratılan malzemelerin karakterizasyonu bakımından da elektron seviyeleri arasındaki geçişlerin incelenmesi önemlidir.

Optik absorbsyon fotospektrometre, Celal Bayar Üniversitesi Fizik Bölümün’de bulunan PerkinElmer (U.S.A.) marka Lambda 950 model spektrofotometreyle C ve C+N ile implante edilmiş PLC ve PDLG malzemelere uygulanmıştır. Bu örneklerin optiksel absorpsiyon spektrumları UV-görülebilir – yakın kızılötesi (200-800 nm) bölgeler aralığında alınmıştır.

4.3.2.e Raman Analizleri: Raman spektrumları üzerinden polimerik malzemenin iyon bombardımanı sonrasında elektronik band yapısı üzerinde oluşan değişimler incelenmiştir. Bunun için Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)’da bulunan 632 nm. dalga boylu ($\lambda = 632$ nm.) He-Ne lazer kullanan, Witec Alpha 300S (Almanya) konfokal Raman mikroskop kullanılmıştır. Sonuçlar, Witec Project 1-94-0 yazılımı üzerinden proses edilerek Origin 3.1 yazılımı ile rutin sübstrak ve Lorentzian fitting işlemleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6 Raman ölçümlerinin gerçekleştiği Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)’da bulunan 632 nm. dalga boylu ($\lambda = 632$ nm.) He-Ne lazer kullanan, Witec Alpha 300S Konfokal Raman Mikroskop

4.3.3 Termal Testler:

PLA, PDLG, PLC filmlerin termal analizleri DSC (diferansiyal taramalı analizleri) Shimadzu DSC-50 cihazı kullanılarak yapılmıştır. DSC çizimleri örnek ağırlıkları 2 ila 4 mg arasında değişen nitrojen gazı atmosferi uygulanarak elde edilmiştir. Analiz örneklerin 450°C ye kadar 40 ml/dk akış hızı ile dakika da 10 °C ısıtılarak nitrojen gazı ortamında yapılmıştır.

4.3.4 Yüzey Morfolojisi:

4.3.4.a Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM): Malzemelerin yapılarını mikro veya nanoboyutta görüntülemek için İ.Y.T.E. Malzeme Araştırma Merkezi'nde bulunan Phillips XL 30S-FEG ve ayrıca Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'da, temiz oda ortamında bulunan Quanta 200 FEG marka ve modele sahip taramalı elektron mikroskopları kullanılmıştır. Kullanılan SE dedektörü ile 3 boyutlu topografik görüntü, BSE dedektörü ile atomik kontrasta bağlı 2 boyutlu görüntü sağlanmıştır.

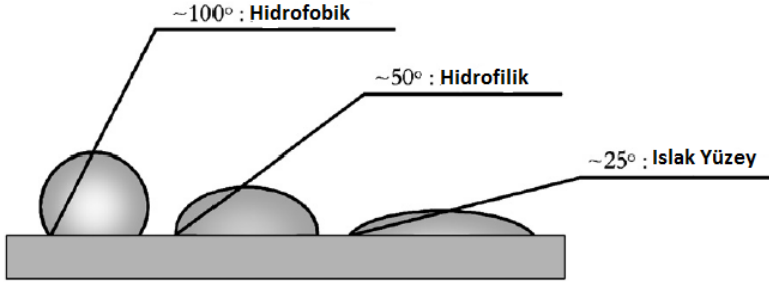
4.3.4.b Atomik Güç Mikroskobu (AFM): Atomik seviyede yüzey özelliklerini incelemek amacıyla kullanılmıştır. Yüzey ile probun etkileşmesi sonucu atomik seviyede 3 boyutlu yüzey topografyası görüntülenmiştir. Desenlendirilmiş yüzeyler, Bilkent Üniversitesi - Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM) da bulunan Digital Instruments MMSPM Nanoscope IV marka ve modelde AFM ile görüntülenerek, DI yazılımıyla yüzey pürüzlülüğü ve diğer topografik özellikler analiz edilmiştir. Polimer malzeme yumuşak olduğu ve tip'e takılıp kırılmalara yol açabildiği için bütün çalışmalar non-kontak mod'da yürütülmüştür.



Şekil 4.7 AFM ölçümlerinin gerçekleştiği Digital Instruments MMSPM Nanoscope IV

4.3.5 Kontak Açısı Ölçümleri:

Yüzeyin ıslaklık davranışı hakkında bilgi aldığımız kontak açısı ölçümleri İ.Y.T.E. Fen Fakültesi, Kimya Bölümün’de bulunan Kruss marka gonyometre ile gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde, test sıvısı olarak distile su kullanılmıştır. Damla metodu ile oda sıcaklığında, her bir ölçüm için beş farklı damlanın hem sol hemde sağ kontak açıları okunup, ortalamaları alınmıştır.



Şekil 4.8 Kontak açısı değerine göre yüzey özellikleri (Goddard and Hotchkiss, 2007)

4.4 SONUÇLAR ve TARTIŞMA

4.4.1 İyon Derinlik Analizi

SRIM analizine göre menzıl görüntüleri Şekil 4-12.’de ve iyon derinlikleri ve kaybedilen enerji değerleri Çizelge 4.2. de görülebilir.

R_p = Beklenen iyon derinliği (iyon dağılımını temsil eden eğrinin tepe noktası)

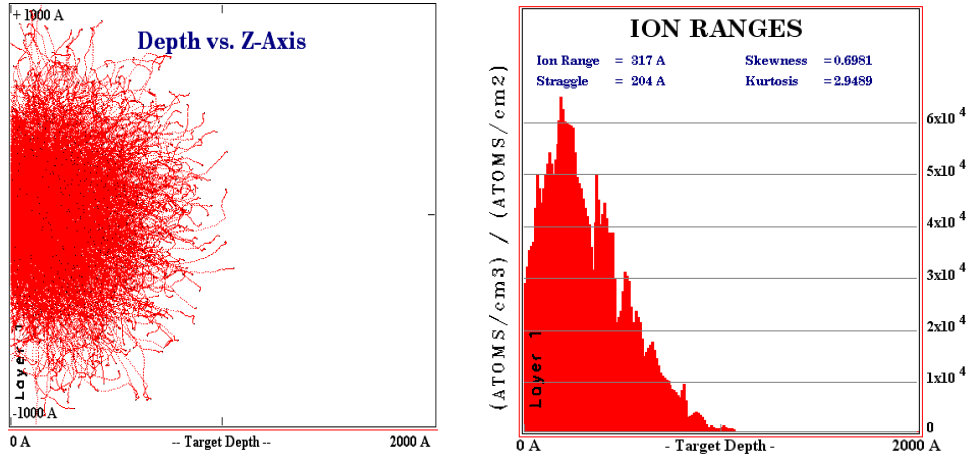
ΔR_p = İyon dağılımını temsil eden eğrinin tepe noktasının yarı uzunluğu

(FWHM (full-width at half-maximum))

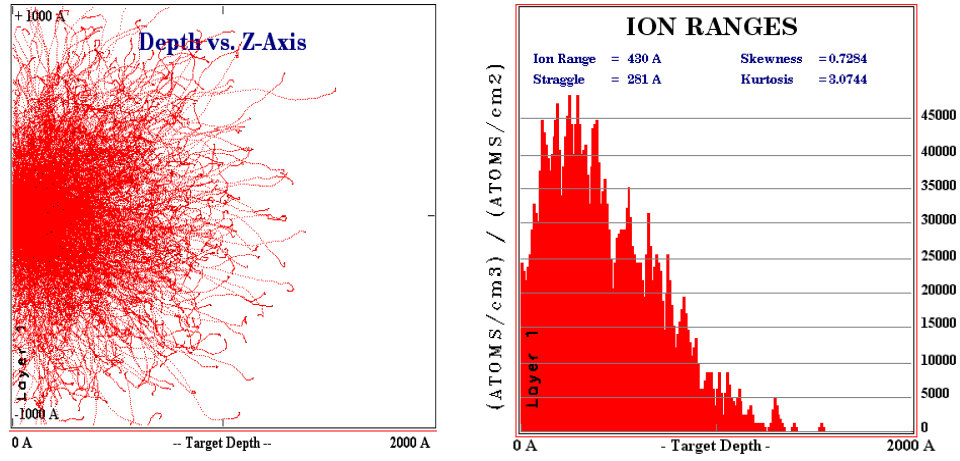
Çizelge 4.2 İyon derinliği ve İyon dağılımını temsil eden eğrinin tepe noktasının yarı uzunluğu (FWHM (full-width at half-maximum)) cinsinden iyon derişiminin yoğunlaştığı bölgeler

	C İmplantasyonu						Au İmplantasyonu					
	20 KeV.		30 keV.		40 keV.		40 keV.		60 keV.		80keV.	
	R_p (nm.)	ΔR_p (nm.)	R_p (nm.)	ΔR_p (nm.)	R_p (nm.)	ΔR_p (nm.)	R_p (nm.)	ΔR_p (nm.)	R_p (nm.)	ΔR_p (nm.)	R_p (nm.)	ΔR_p (nm.)
PDLG	31,7	20,4	43	28,1	54	34	5,6	3,5	7,1	4,3	8	4,7
PLC	0,2	0,1	0,3	0,2	0,4	0,2	0,08	0,04	0,1	0,06	0,1	0,08

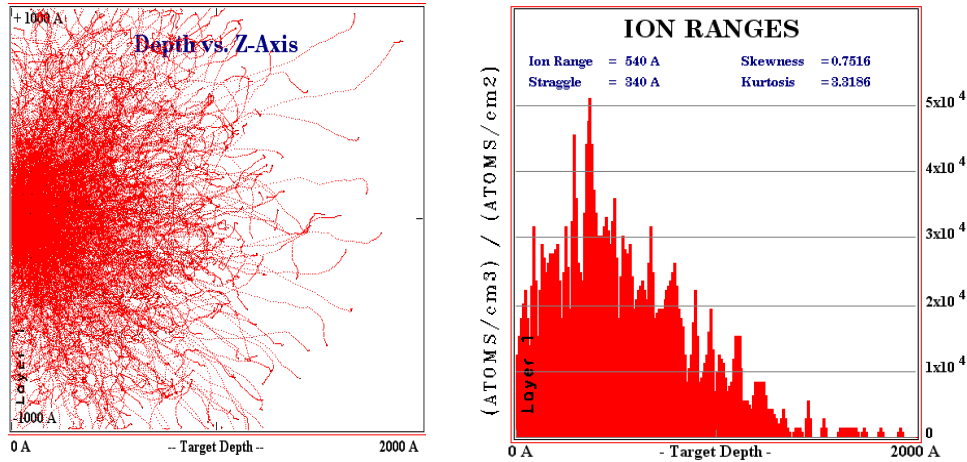
(a.) 20keV.



(b.) 30 keV.

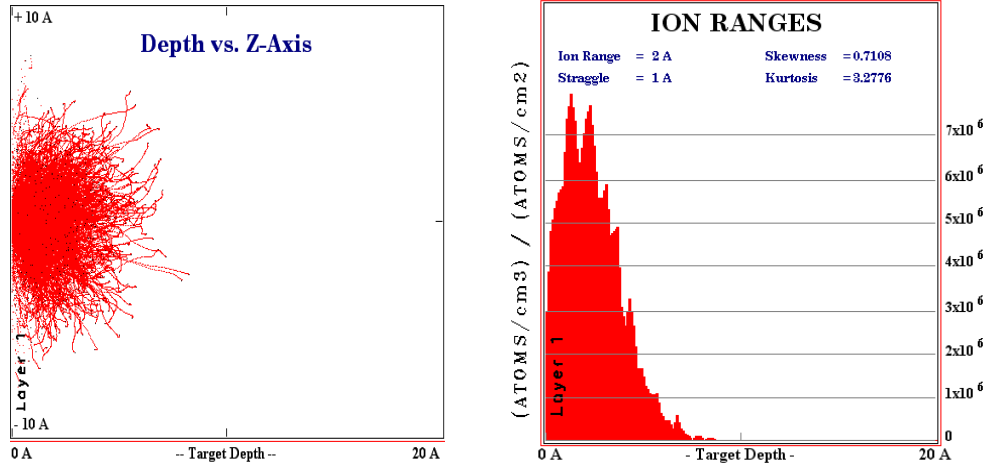


(c.) 40 keV.

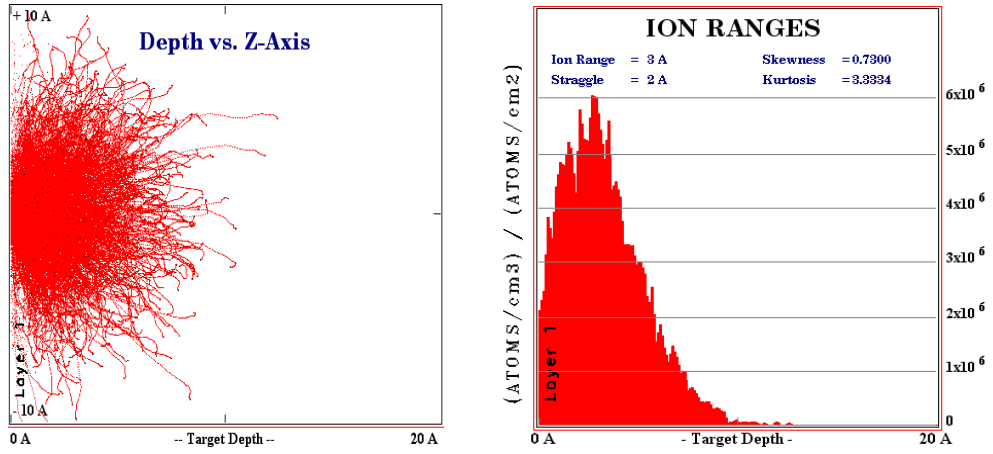


Şekil 4.9 Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) C - iyon implantasyonu sonrası PDLG (C₆H₈O₄)_x(C₄H₄O₄)_y numuneler için, derinlik profili (Z-Eksen) ve iyon dağılımının simülasyonu (SRIM) (yoğunluk = 1.24 kg/l.)

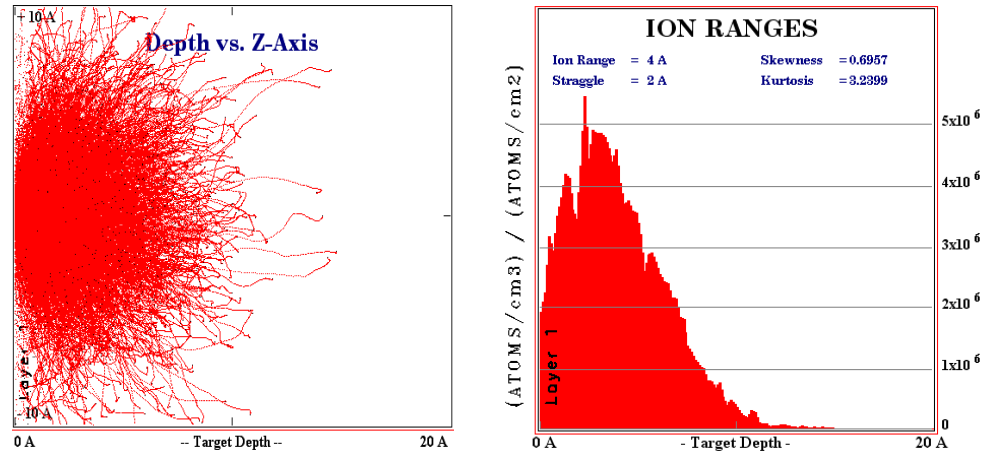
(a.) 20 keV.



(b.) 30 keV.

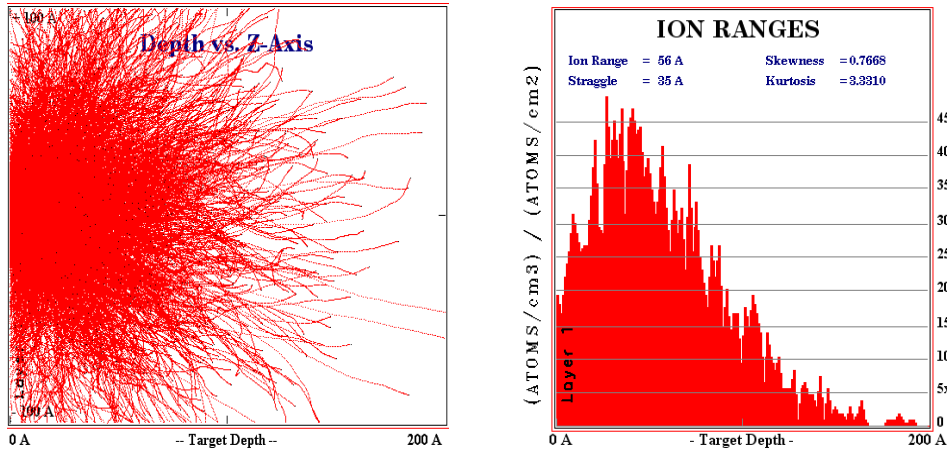


(c.) 40 keV.

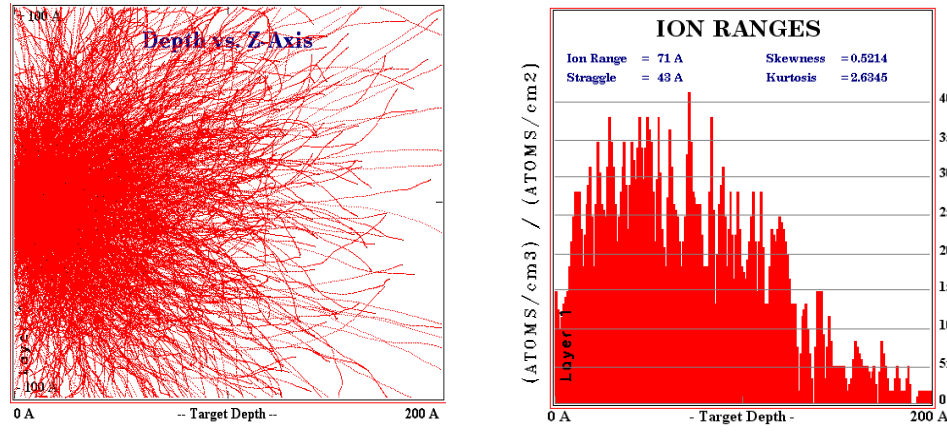


Şekil 4.10 Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) Au - iyon implantasyonu sonrası PLC ($C_6H_{10}O_2$)_n numuneler için, derinlik profili (Z-Eksen) ve iyon dağılımının simulasyonu (SRIM) (yoğunluk = 1.22 kg/l.)

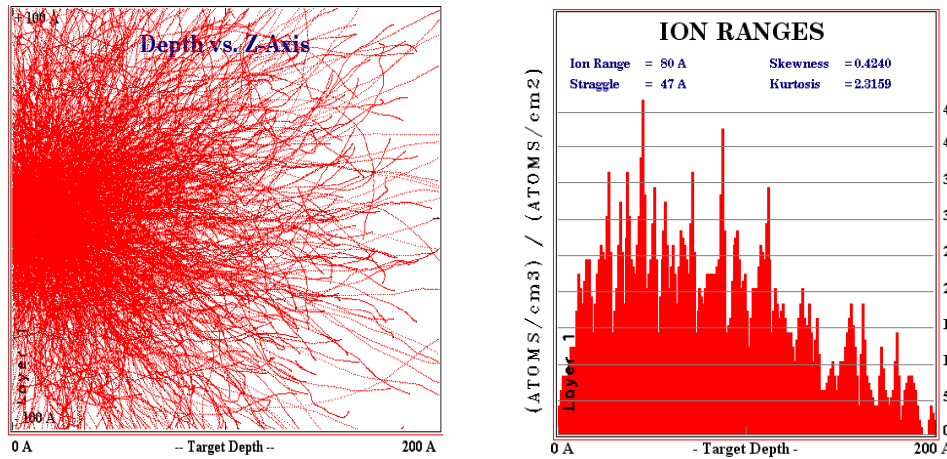
(a.)40 keV.



(b.)60 keV.

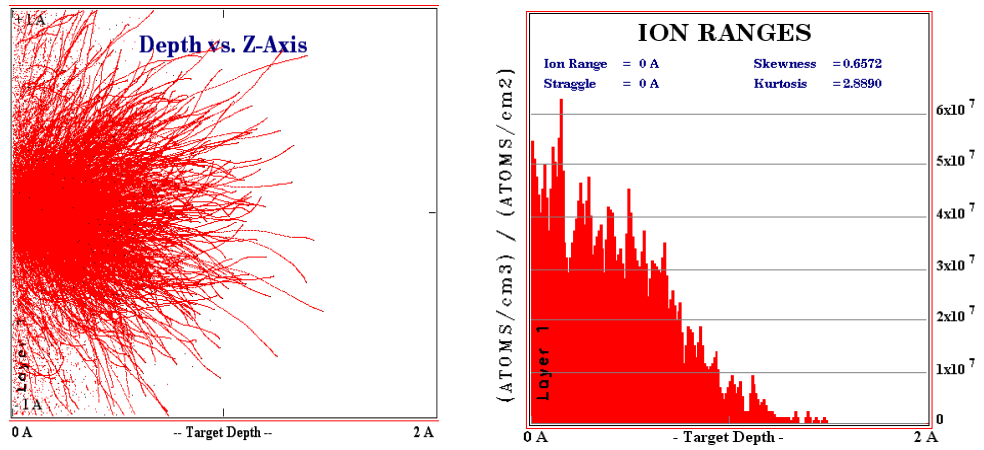


(c.) 80keV.

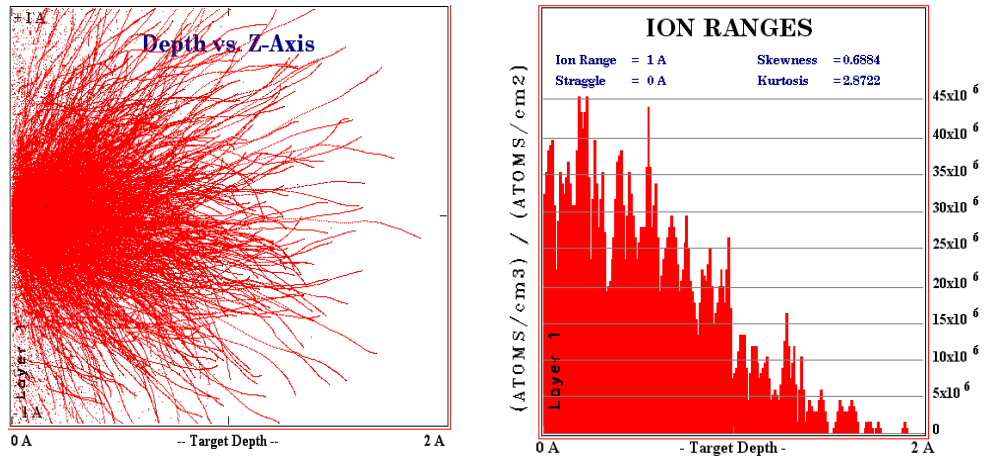


Şekil 4.11 Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) Au - iyon implantasyonu sonrası PDLG (C₆H₈O₄)_x(C₄H₄O₄)_y numuneler için, derinlik profili (Z-Eksen) ve iyon dağılımının simulasyonu (SRIM) (yoğunluk = 1.24 kg/l.)

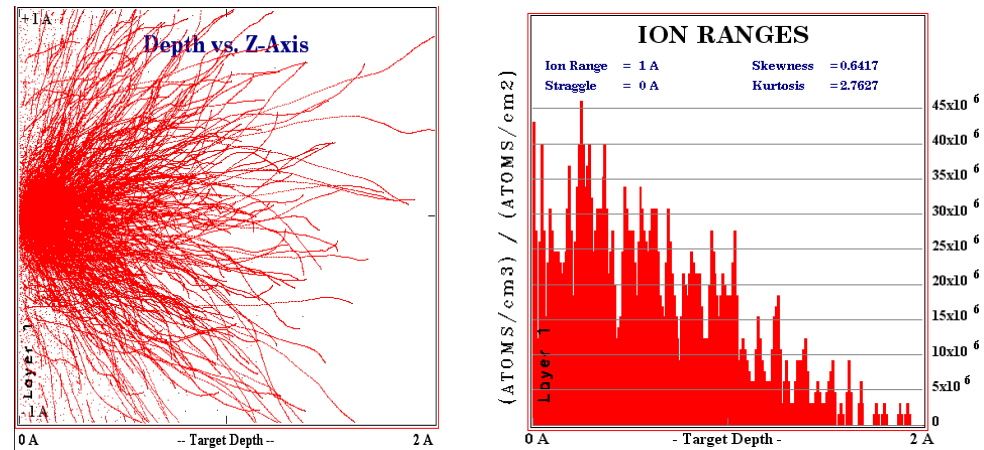
(a.)40 keV.



(b.)60 keV.



(c.)80 keV.

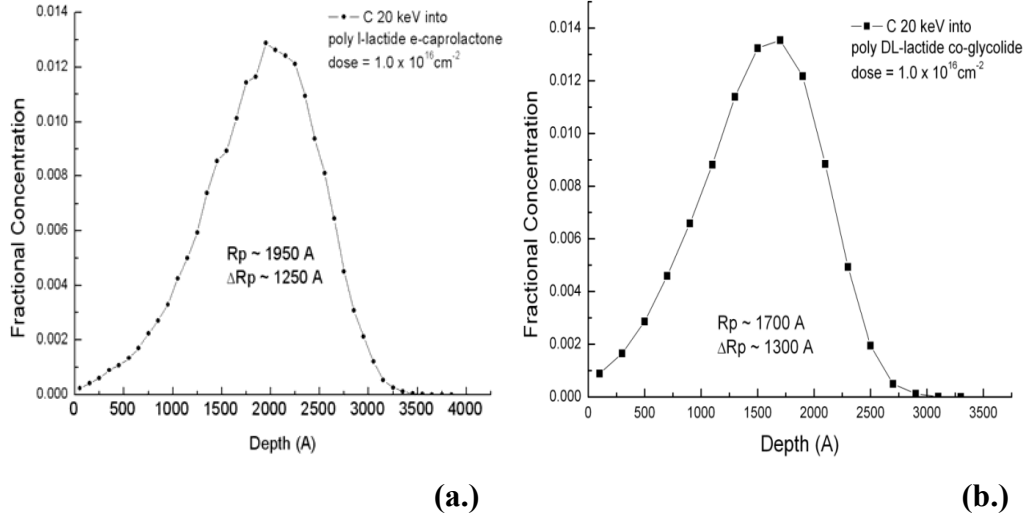


Şekil 4.12 Farklı enerjilerde (40,60,80 keV.) Au - iyon implantasyonu sonrası PLC ($C_6H_{10}O_2$)_n numuneler için, derinlik profili (Z-Eksen) ve iyon dağılımının simülasyonu (SRIM) (yoğunluk = 1.22 kg/l.)

Çizelge 4.2’de görülebileceği gibi SRIM simülasyonu göstermiştir ki genel olarak tüm polimerler malzemeler içinde, C iyon derinliği Au iyon derinliğine oranla daha yüksektir. Bu demek oluyor ki, C iyonları implantasyon sonrası daha derin noktalarda dağılım gösterirken Au iyonları yüzeye daha yakın noktalarda toplanmaktadır. Bu durum implante edilen Au iyonlarının yüzey etkileşimlerinin daha yüksek olması beklentisi oluşturur. Çizelge 4.2. ve Şekil 4.9-12’den de izlenebileceği gibi C iyonları için en optimum derinlik projeksiyonu, PDLG’de 20-30 nm. civarlarında seyrederken bu değer Au iyonları için 3,5-4nm. civarlarıdır. PLC’de ise C ve Au iyonlarının implantasyon etkisi hemen hemen aynı olup C iyonlarının beklenen derinliği 0,1-0,2 nm. civarlarında değişirken bu değer Au iyonları için 0,1nm. civarlarında seyretmektedir.

Bir başka iyon bombardımanının yüzey üzerine etkisini inceleyen simülasyon programı olan TRIDIYN ile yapılan analiz sonucu derinlik profili hesapları Şekil 4.13.’ de verilmiştir. TRIDYN sonuçlarına göre PDLG üzerinde C implantasyonu gerçekleştiğinde beklenen iyon değeri 20 keV. için 125 nm. civarlarında seyrederken bu değer PLC için 130 nm. civarıdır.

TRIDYN simülasyonlarda alınan değerler farklı olmakla birlikte davranış trendi aynıdır. Değerlerin farklı olması literatürde de düşük enerjilerde TRIDYN’in yeterince iyi sonuç vermeyişi ancak davranış trendini belirlemede bir araç olarak kullanabileceği şeklinde raporlanmıştır.



Şekil 4.13. 20 keV. enerjili C implante edilmiş PDLG (a.) ve PLC (b.) örnekler için TRIDIYN programı ile gerçekleştirilen iyon derinliği simülasyonu

TRIDYN sonuçlarına göre PDLG üzerinde C implantasyonu gerçekleştiğinde beklenen iyon derinliği 20 keV. için 125 nm. civarlarında seyrederken bu değer PLC için 130 nm. civarındır.

4.4.2 Kimyasal Özellikler:

4.4.2.a X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)

İyon ışınlarıyla polimer malzeme üzerinde gerçekleşen modifikasyonun kimyasal yapıda ne tür bir değişikliğe sebep olduğu ve yapısal değişimlerin ne türlü bir davranış dinamiği izlediği XPS analiziyle incelenebilir. Çizelge 1 ve 2’de C ve Au implantasyonu ile modifiye edilmiş PLC polimeri üzerindeki farklı doz ve enerjilerde C ve O konsantrasyonunun değişimi görülmektedir.

Çizelge 4.3’de görüldüğü gibi işlem görmemiş numunede %67,56 seviyelerindeki C konsantrasyonu düşük dozlu implantasyonla dahi %83,27’lere çıkmaktadır. Aynı şekilde malzeme üzerindeki O konsantrasyonu da aynı oranda azalma trendi izlemektedir. Çizelge 1’den izlenebileceği gibi işlem görmemiş

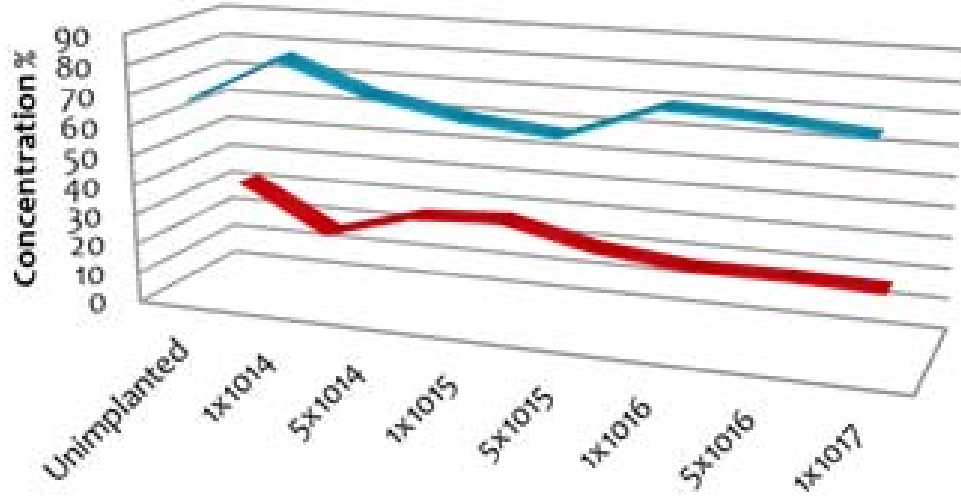
numunede %32,44 olan O konsantrasyonu en düşük doz olarak uyguladığımız 1×10^{14} lük C implantasyonu sonrasında %16,63 değerine düşüş göstermiştir.

C implantasyonu sonrasında yüzeyde C konsantrasyonunda artış ve O konsantrasyonunda düşüş beklenen bir davranıştır. Yüzeyin C implantasyonu sonrası karbonize olması ve buna bağlı olarak O miktarındaki azalma, yüzeyde oluşan renk değişimini de açıklamaktadır.

Ancak özel olarak 1×10^{15} ve 5×10^{15} iyon/cm² akı değerlerinde tersine bir davranış izlenmektedir. Bu değerlerde, C konsantrasyonunda azalma ve O konsantrasyonunda artış görülmektedir. Bunun yüzey hücre tutunma davranışlarına olan etkisi “Genel Sonuçlar” bölümünde tartışılmıştır (bkz.160). Kısaca, özel olarak bu doz değerlerinde yüzey reaksiyonlarında bir değişim olduğu ve bunun, yüzey enerjisi ve yüzey yük dağılımları açısından farklı sonuçlar oluşturduğu söylenebilir.

5×10^{16} ya da 1×10^{17} gibi yüksek doz değerlerinde yüzeydeki C ve O konsantrasyonu değişimi, düşük doz durumu ile aynı davranış trendini sergilemektedir. Genel olarak bu değerlerde C konsantrasyonunda artış ve O konsantrasyonunda azalma izlenmiştir. Bu durum özel olarak 1×10^{15} ve 5×10^{15} doz değerlerinde izlenen farklı yüzey konsantrasyonu dağılımına denk gelmektedir.

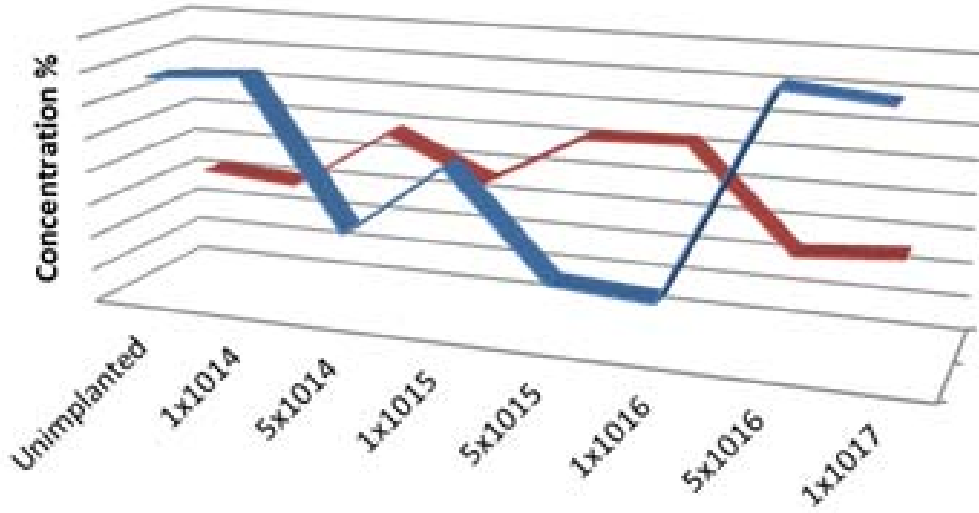
Çizelge 4.3 C iyon implante edilmiş PLC örneklerde farklı iyon implantasyon doz değerleri için XPS ile belirlenen yüzey atomik konsantrasyon (% C1s, %O1s) değerleri



	Unimplanted	1x10 ¹⁴	5x10 ¹⁴	1x10 ¹⁵	5x10 ¹⁵	1x10 ¹⁶	5x10 ¹⁶	1x10 ¹⁷
■ C %	67,56	83,27	72,97	67,65	64,9	76,09	74,74	72,18
■ O %	32,44	16,63	25,23	26,98	20,26	17,18	17,2	16,22

Benzer şekilde farklı doz değerlerinde Au implante edilmiş örneklerin yüzeyindeki %C ve %O değerleri Çizelge 4.4’de sunulmuştur. Bu çizelgeden izlenebileceği gibi, başlangıçta, 1×10^{14} doz seviyesinde C konsantrasyonunda, % 67,56’dan % 69,91’e artış ve O konsantrasyonunda %32,44’dan %30,29’a düşüş izlenmektedir. Ancak 5×10^{14} doz değerine ulaşıldığında bu durum tersine dönmüş, C konsantrasyonu %25’lere düşerken O konsantrasyonu %48’lere çıkmıştır. C/O değerlerindeki artış metil yan grupların segregasyonuna işaret eder (Popok et. al., 2001).

Çizelge 4.4 Au iyon implante edilmiş PLC örneklerde farklı iyon implantasyon doz değerleri için XPS ile belirlenen yüzey atomik konsantrasyon (% C1s, %O1s) değerleri



	Unimplanted	1x10 ¹⁴	5x10 ¹⁴	1x10 ¹⁵	5x10 ¹⁵	1x10 ¹⁶	5x10 ¹⁶	1x10 ¹⁷
■ C %	67,56	69,71	25,68	48,15	17,07	15,09	76,88	74,49
■ O %	32,44	30,29	48,75	36,07	52,05	52,76	23,12	25,51

Benzer durum 1×10^{15} , 5×10^{15} , 1×10^{16} doz değerlerinde aynı şekilde devam etmiştir. 5×10^{16} doz değerine ulaşıldığında C konsantrasyonu %76,88'e yükselirken, O konsantrasyonu %23'lere düşüş göstermiştir. Çizelge 4.4'den izlenebileceği gibi C ve O konsantrasyonlarında aynı davranış trendi, 1×10^{17} doz değeri için de geçerlidir .

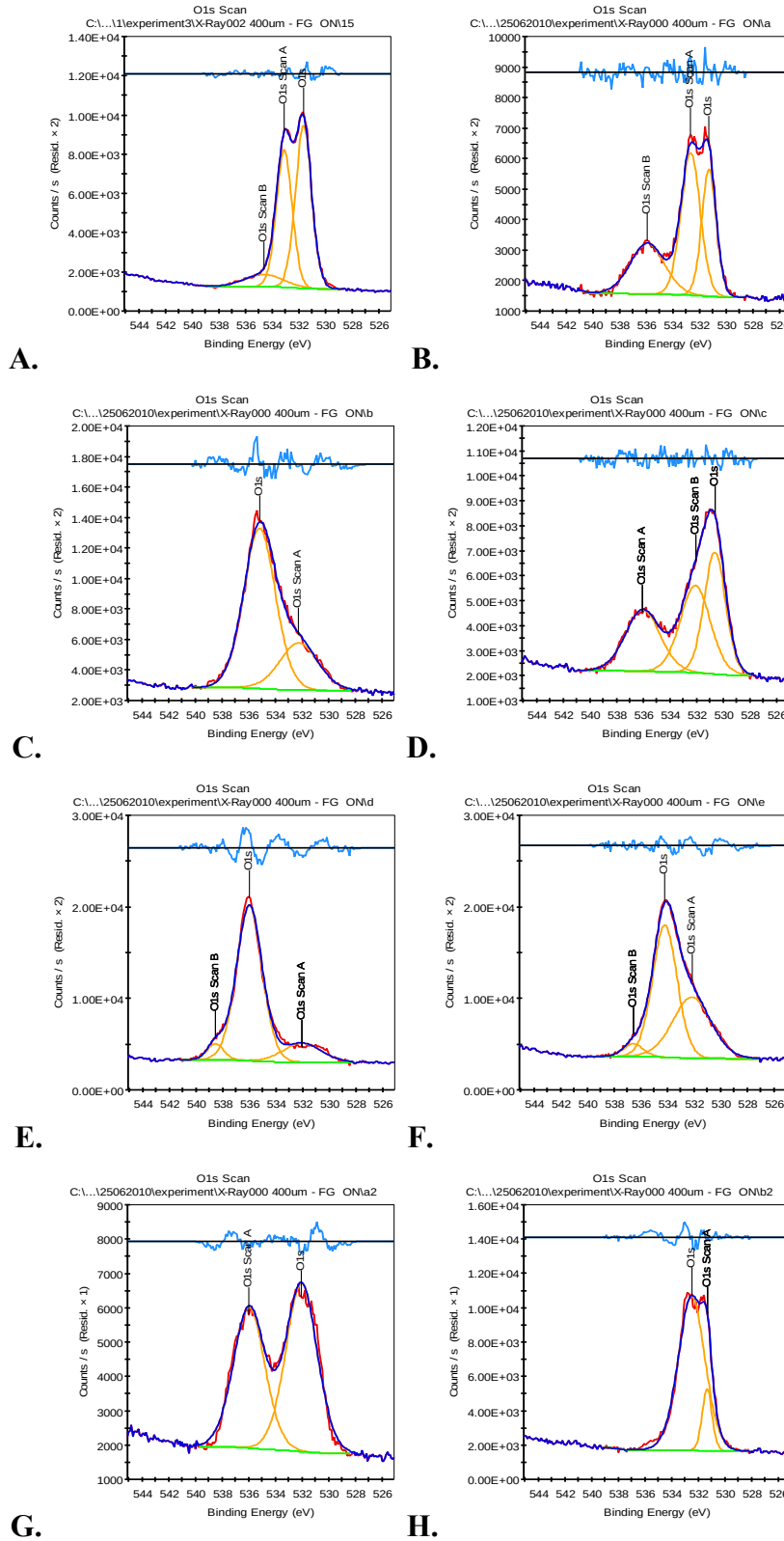
Genel olarak C ve Au implante edilmiş PLC örnekler için, yüzeydeki atomik kompozisyon benzer dağılım göstermektedir. Bu davranış eğiliminin yüzeyin hava ile teması ve buna bağlı olarak açık bağların atmosferdeki O ile yaptığı bağlanmalarla açıklaması, düşük ve yüksek doz değerlerinde aynı davranış izlenmemiştir. Ayrıca bu durumun sadece C implante edilmiş örnekte değil Au implante edilmiş örnekte de izlenmiş olması, belirli doz değerlerinde yüzeyde farklı bağ reaksiyonlarının gerçekleştiğini ve elektronik yapının da bunun

üzerinde etkili olabileceğini. Farklı doz ve enerjilerdeki C ve O konsantrasyonlarına ait detaylı grafikler Şekil 4.13-22'den de ayrıntılı olarak incelenebilir. Bu şekillerde işlem görmemiş PLC numunelerde fenil halkasına ait C–C ve C–H bağları 285.0 eV (CI) değerlerinde, C–O–C bağları 286.4 ± 0.2 eV (CII) değerlerinde izlenmektedir. Karbon-oksijen bağlanmalarıyla ilişkili O bileşenini, O konsantrasyonlarının izlendiği Şekil 4.13, 4.14'de yer alan grafiklerde 533.5 ± 0.2 eV (OII) değerlerinde okumak mümkündür. COO– grupları 288.7 ± 0.2 eV (CIII) de yer alırken fenil halkasındaki $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine bağlı titreşimler 291.8 ± 0.4 eV. değerlerinde okunabilir (Satriano et. al., 1999, 2006).

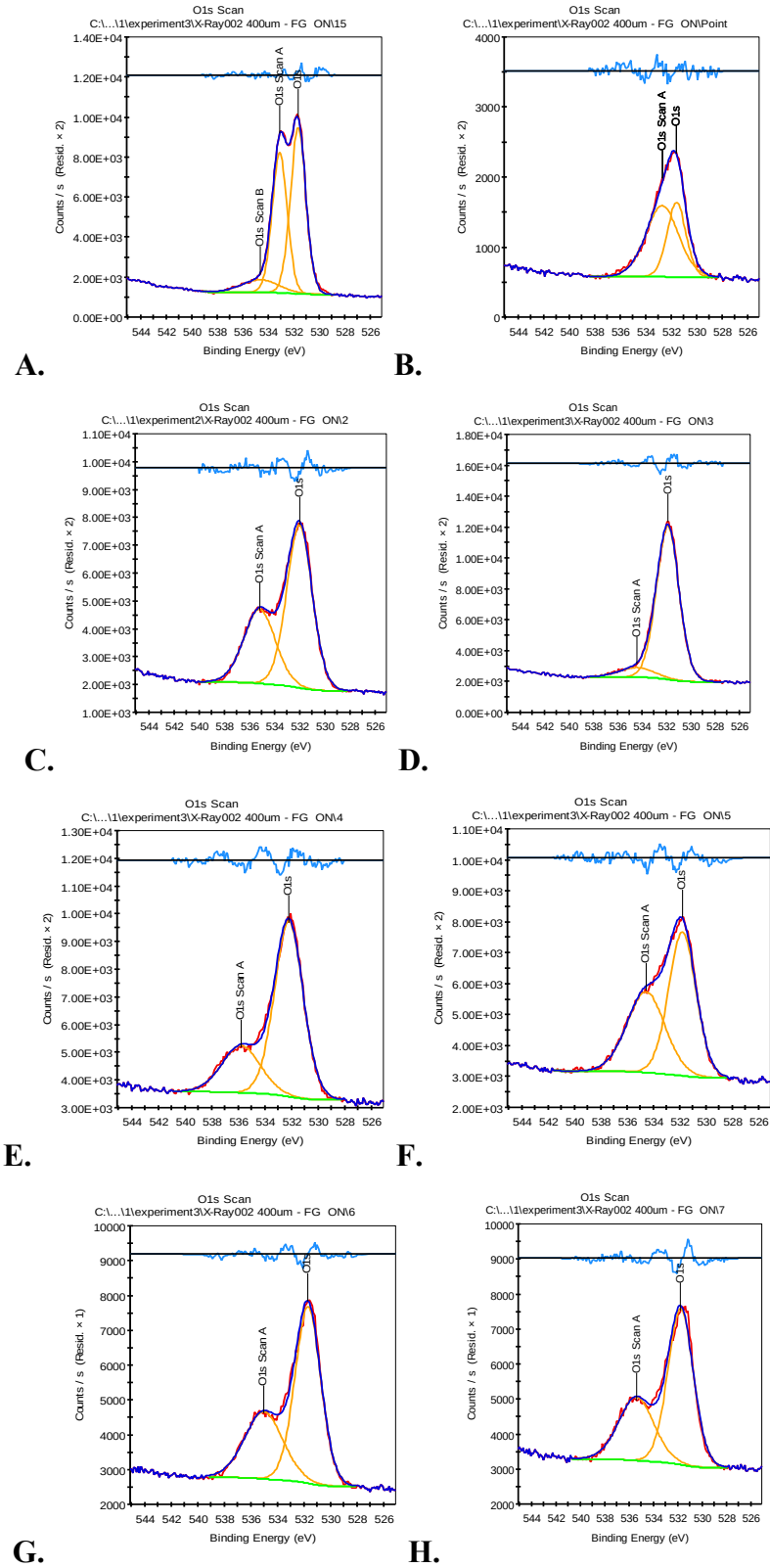
Bu noktada Şekil 4.14-17' de görülebileceği gibi, PLC örneklerde implantasyon sonrası 538.5 ± 0.2 eV civarında seyreden O1s konsantrasyonları azalma ve 292.0 ± 0.2 eV'de C1s artışı okside olan karbon bileşiklerinin oluşumuna işarettir. Bu durum aromatik halkaların kısmen bozunduğuna işaret eder (Marletta, 2009).

Tam tersi bir durum ise Şekil 4.14-17 C.,D.,E.F.G.'de izlenir. Buralarda görülen C1s and O1s fotoelektron pik'leri okside olmuş ve buna bağlı olarak titreşim yoğunluklarında düşüş yaşanmıştır. Bu durum başlangıçta varolan fenil halkalarının iyon ışınımıyla kırıldığını belirtir (Marletta, 2009). Böylece iyon implantasyonuna maruz kalmış örnekler esas olarak okside ve hidrojene amorf karbon faz titreşimleri sergilemektedirler. Buradaki sonuçlar Raman neticeleriyle konfirme edilebilir.

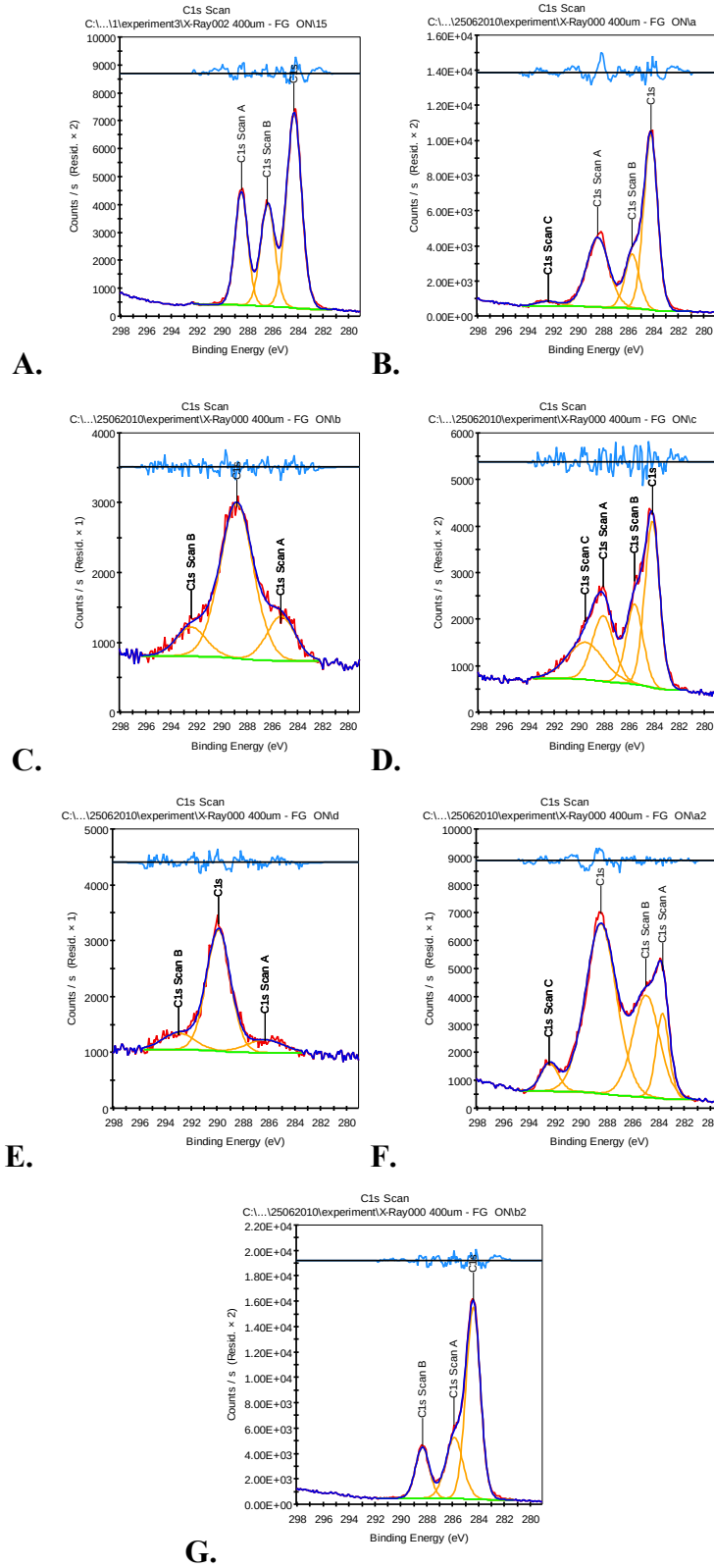
İyon ışınına maruz kalmış PLC örneklerdeki C1s titreşiminin merkezinde izlenen yer değişiklikleri ve birleşmiş pik'ler bu kırılmalar sonucu oluşmuş yeni bağlanmaları konfirme eder niteliktedir. 286.1 ± 0.2 eV. merkezli C1s pik'i genel olarak C–O–Si bağlanmalarına işaret ederken 288.0 ± 0.2 eV merkezli C1s pik'i $>C=O$ gruplarının oluşumuna gösterge teşkil etmektedir (Satriano et. al. 2001). C piklerinin kanatlarında oluşan genişlemeler TOF-SIMS ölçümleriyle de konfirme edilmiştir.



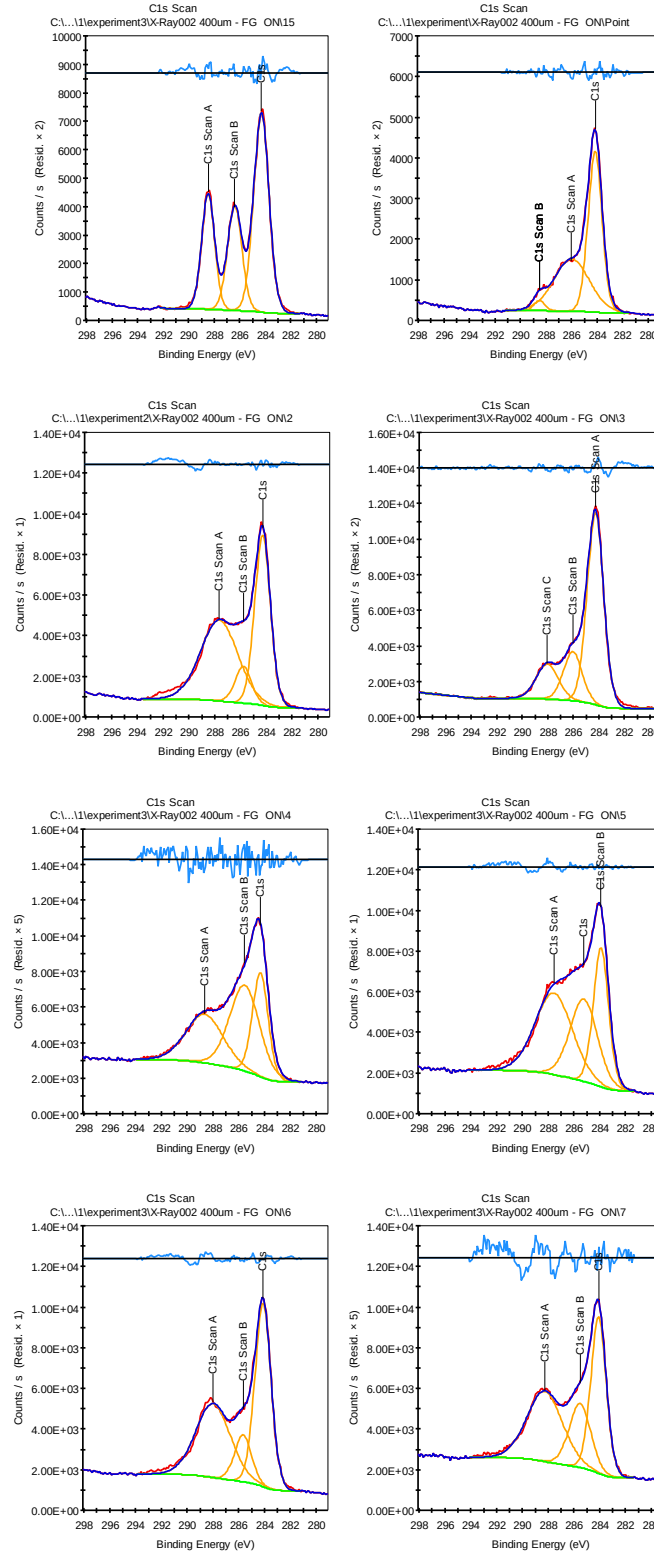
Şekil 4.14 PLC - Au implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Oksijen(O1s) atomlarının durumu. A.PLC film , B. 1×10^{14} , C. 5×10^{14} , D. 1×10^{15} , E. 5×10^{15} , F. 1×10^{16} , G. 5×10^{16} , H. 1×10^{17} iyon/cm² (E=20keV. sabit)



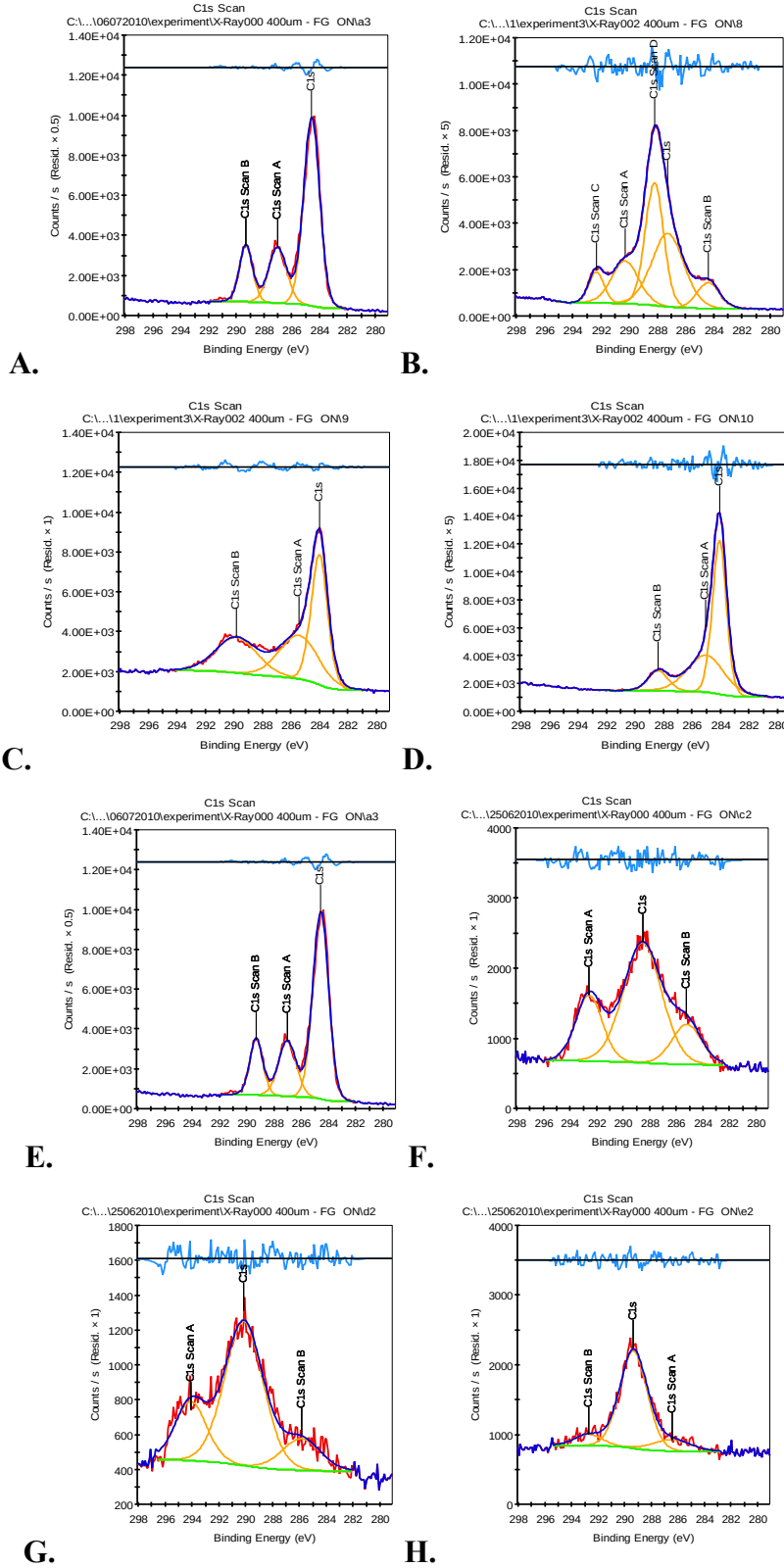
Şekil 4.15 PLC - C implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Oksijen(O1s) atomlarının durumu. A.PLC film , B. 1×10^{14} , C. 5×10^{14} , D. 1×10^{15} , E. 5×10^{15} , F. 1×10^{16} , G. 5×10^{16} , H. 1×10^{17} iyon/cm² (E=20keV. sabit)



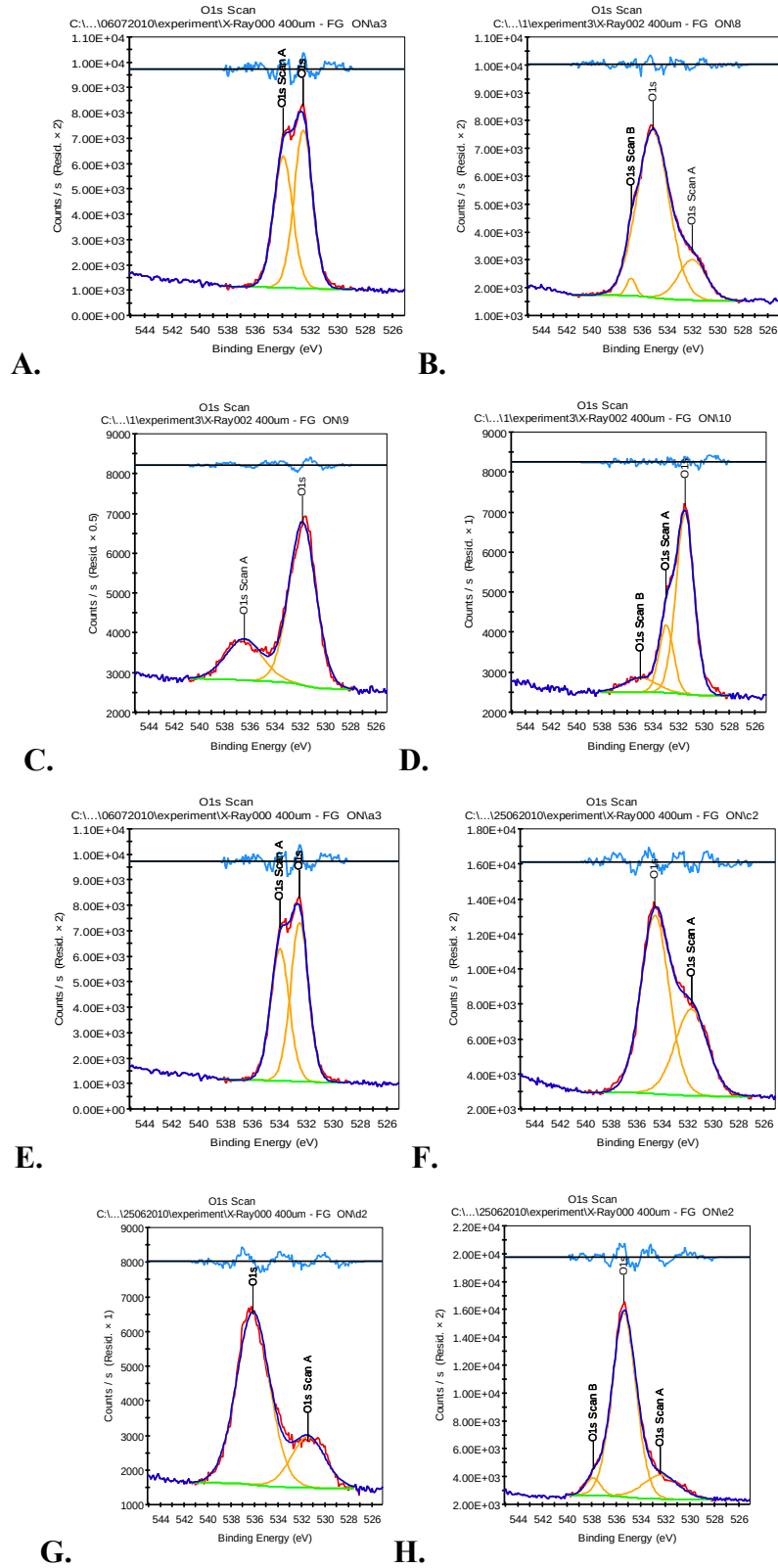
Şekil 4.16 PLC - Au implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Karbon(C1s) atomlarının durumu. A.PLC film , B. 1×10^{14} , C. 5×10^{14} , D. 1×10^{15} , E. 5×10^{15} , F. 1×10^{16} , G. 5×10^{16} , H. 1×10^{17} iyon/cm² (E=20keV. sabit)



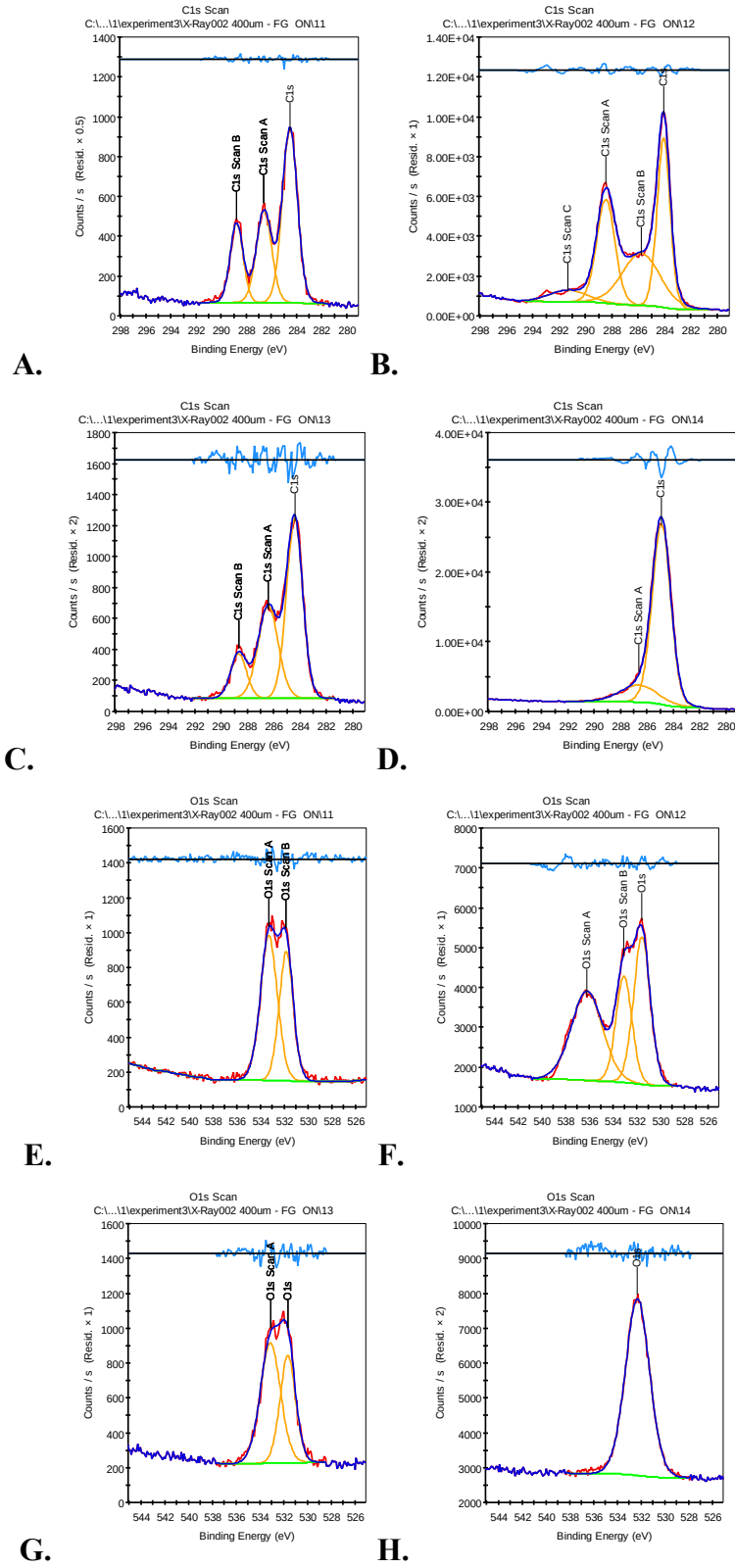
Şekil 4.17 PLC - C implante edilmiş örneklerde farklı doz değerleri için yüzeyde varolan serbest Karbon(C1s) atomlarının durumu. A.PLC film , B. 1×10^{14} , C. 5×10^{14} , D. 1×10^{15} , E. 5×10^{15} , F. 1×10^{16} , G. 5×10^{16} , H. 1×10^{17} iyon/cm² (E=20keV. sabit)



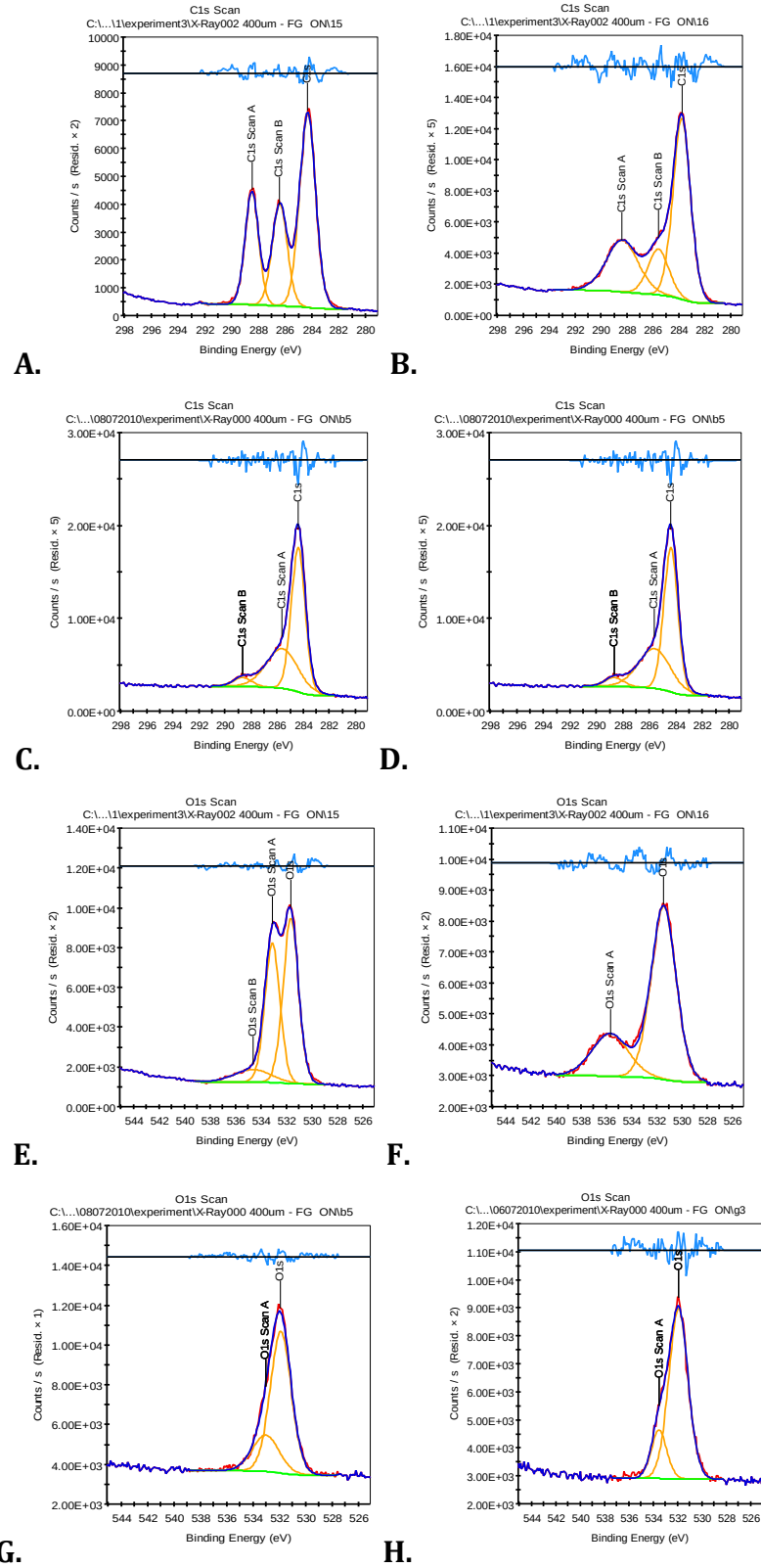
Şekil 4.18 PLC – C (A.B.C.D.) ve Au (E.F.G.H.) implante edilmiş örneklerde farklı enerji değerleri için yüzeyde varolan serbest Karbon(C1s) atomlarının durumu. A.PLC film , B. 20, C. 30, D. 40 , E. PLC Film, F. 40, G.60, H. 80 keV. (Doz. sabit)



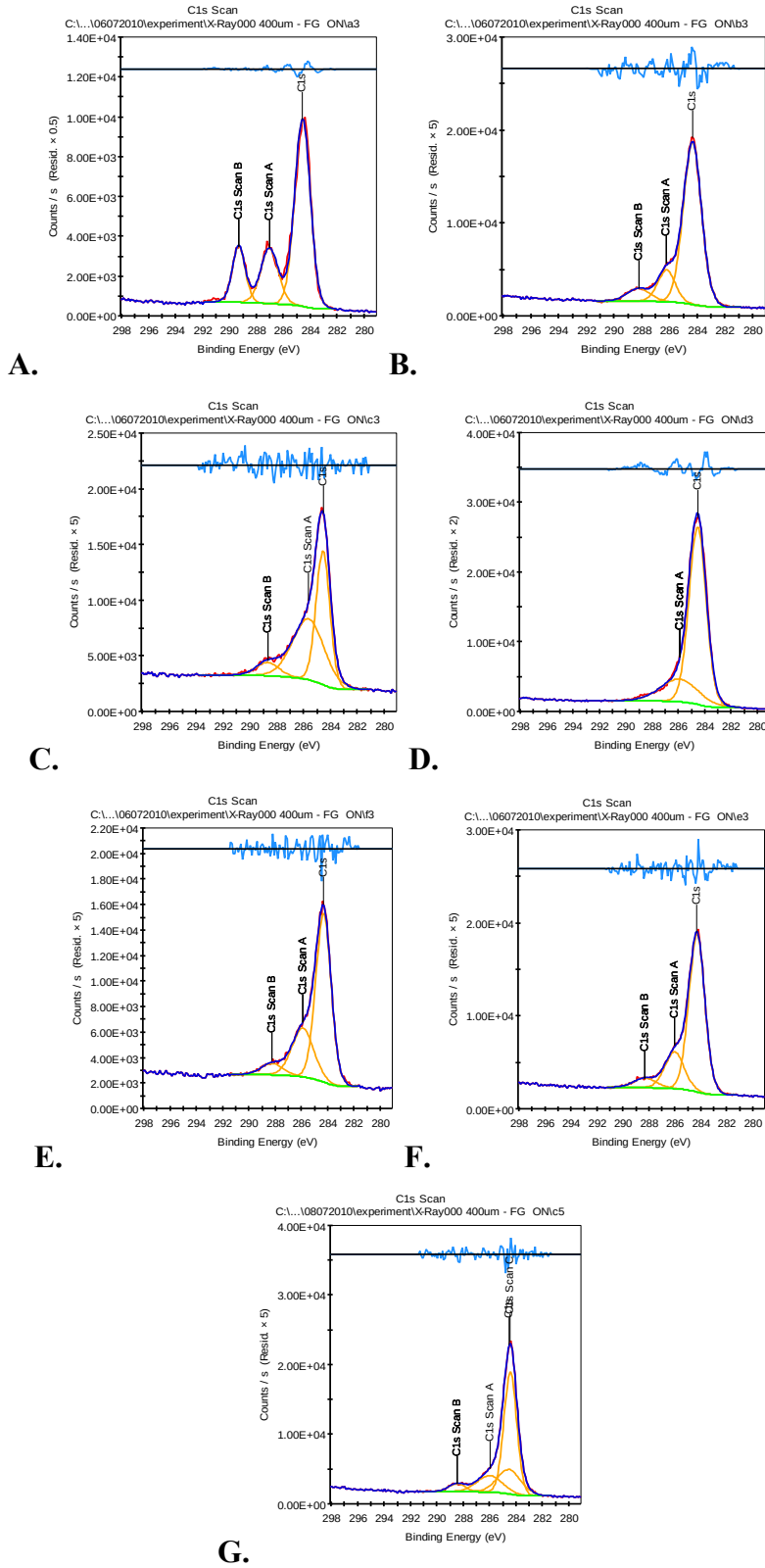
Şekil 4.19 PLC – C (A.B.C.D.) ve Au (E.F.G.H.) implante edilmiş örneklerde farklı enerji değerleri için yüzeyde varolan serbest Oksijen(O1s) atomlarının durumu. A.PLC film , B. 20, C. 30, D. 40 , E. PLC Film, F. 40, G.60, H. 80 keV. (Doz. sabit)



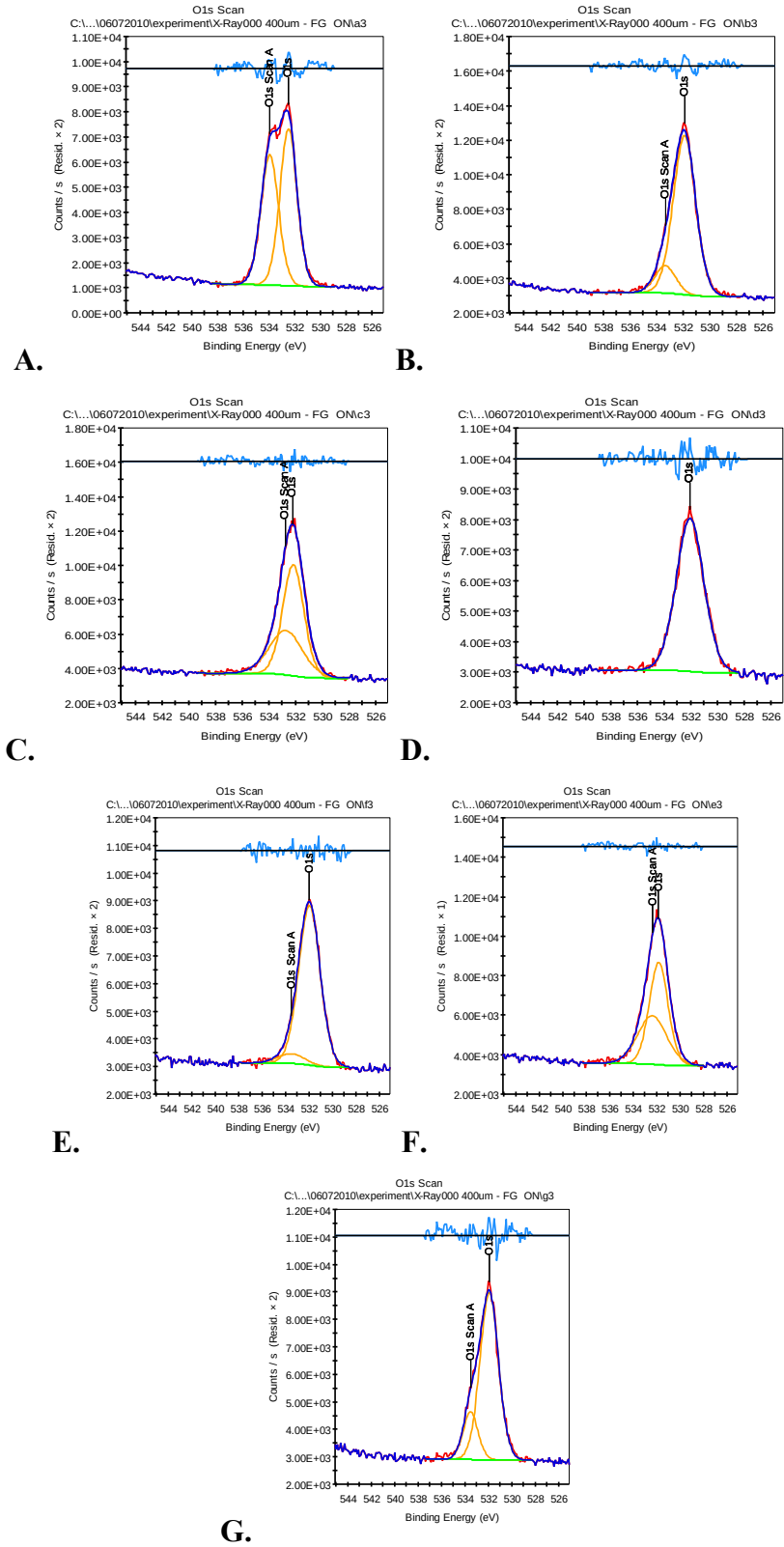
Şekil 4.20 PLC örneklerde C1s (A.B.C.D.) ve O1s (E.F.G.H.) atomlarının PDLG Film (A.E.), PDLG – C implante edilmiş (B. F.), PDLG – Au implante edilmiş (C. G.), PDLG – DLC kaplama (D.H.)



Şekil 4.21 PLA örneklerde O1s atomlarının durumu PDLG Film (A.), PDLG – Au implante edilmiş (B.), PDLG – C implante edilmiş (C.), PDLG – DLC kaplama (D.), PDLG – C-N implante edilmiş (E.), PDLG – C-O implante edilmiş (F.), PDLG – DLC2 kaplama (G.)



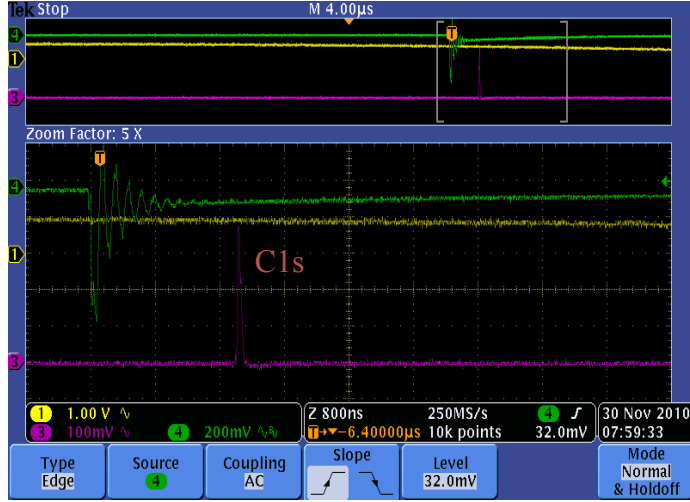
Şekil 4.22 PDLG örneklerde C1s atomlarının durumu PDLG Film (A.), PDLG – Au implante edilmiş (B.), PDLG – C implante edilmiş (C.), PDLG – DLC kaplama (D.), PDLG – C-N implante edilmiş (E.), PDLG – C-O implante edilmiş (F.), PDLG – DLC2 kaplama (G.)



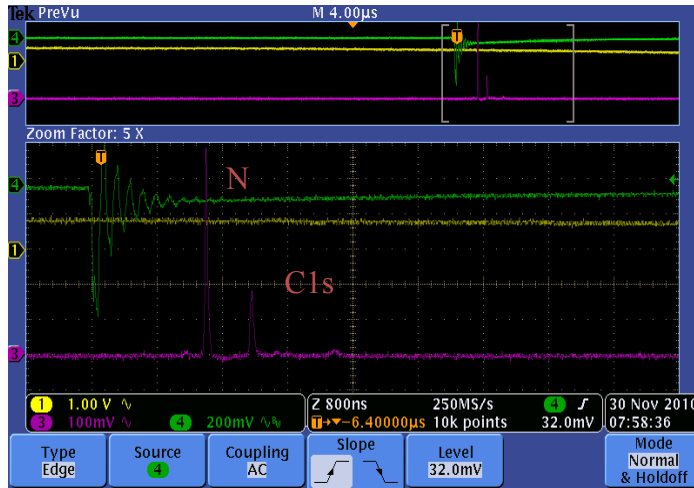
Şekil 4.23 PDLG örneklerde O1s atomlarının durumu PDLG Film (A.), PDLG – Au implante edilmiş (B.), PDLG – C implante edilmiş (C.), PDLG – DLC kaplama (D.), PDLG – C-N implante edilmiş (E.), PDLG – C-O implante edilmiş (F.), PDLG – DLC2 kaplama (G.)

4.4.2.b TOF-SIMS:

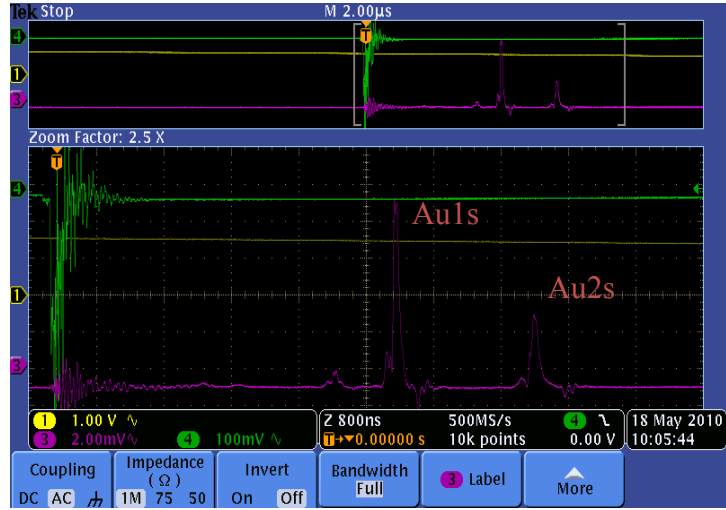
Şekil 4.24(a,b) ve 4.25’de ToF cihazı ile aldığımız, malzemelere gönderilen iyon ışınının kütle spektrumundaki karşılığı görülmektedir.



Şekil 4.24-a. ToF cihazı ile alınan ölçümle belirlenen, gönderilen ışın içinde C iyonu



Şekil 4.24-b. ToF cihazı ile alınan ölçümle belirlenen, gönderilen ışın içinde C ve N iyonları.

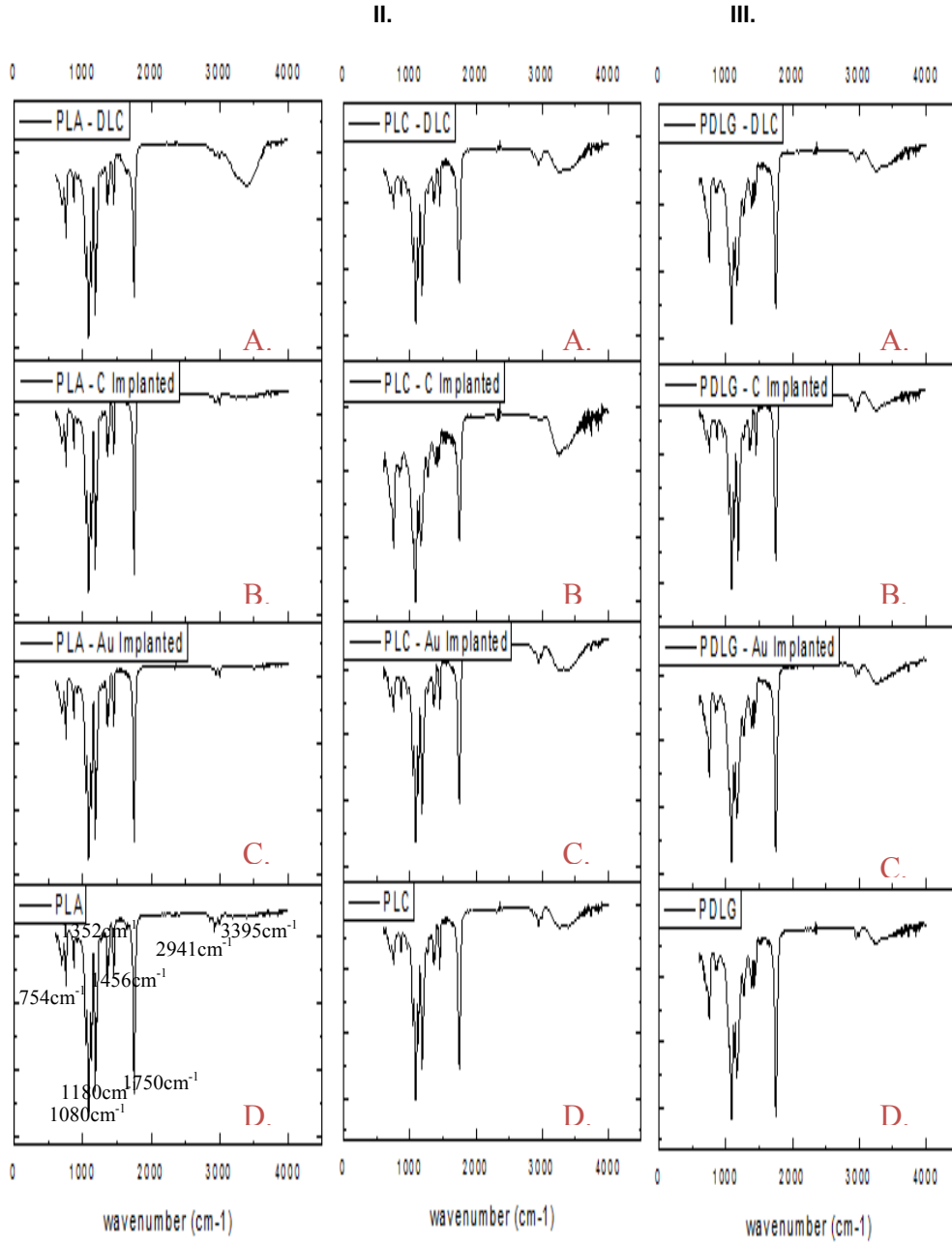


Şekil 4.25 ToF cihazı ile alınan ölçümle belirlenen, gönderilen ışını içinde Au iyonu

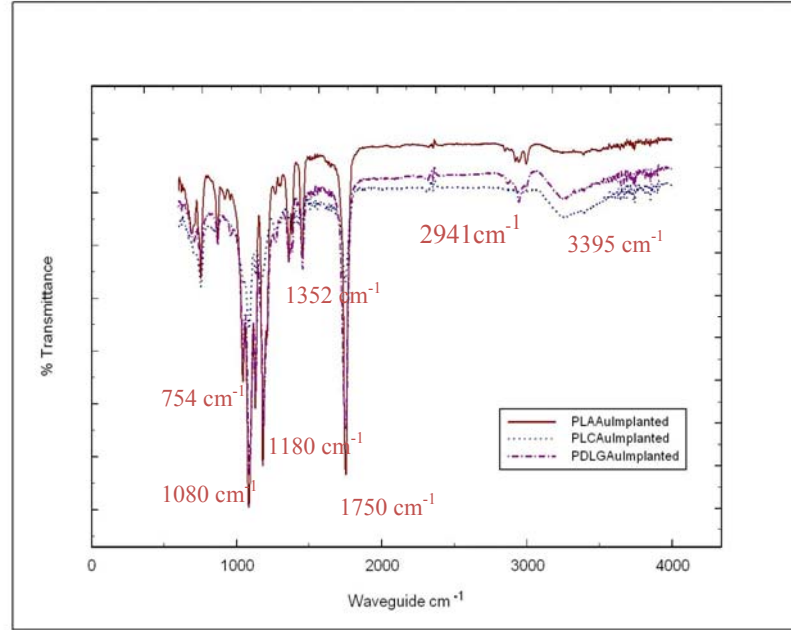
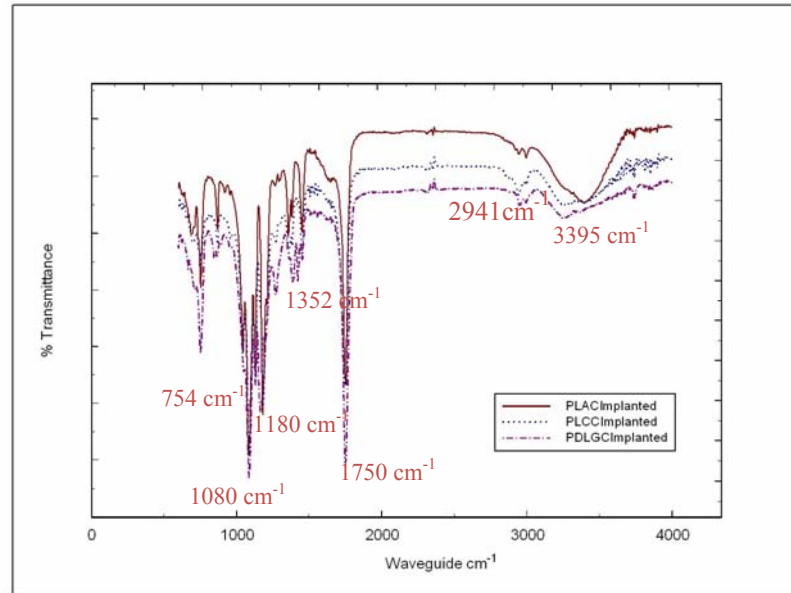
Buna göre Au katod ile gönderdiğimiz ışınla Au iyonları, C ve C-N iyonlarıyla gönderdiğimiz ışınla C ve N iyonları tesbit edilmiştir. Bu analiz, gönderdiğimiz ışın içinde malzemeye bombardımanı yapılan iyonların saflığını ve oranını bilmemiz açısından önemlidir. Örneğin; C-N implantasyonu gerçekleşirken gönderilen C iyonlarının sayısının N iyonlarına kıyasla 1/3 oranda olduğu Şekil 4.24.'den izlenebilir.

4.4.2.c ATR – FTIR Analizi

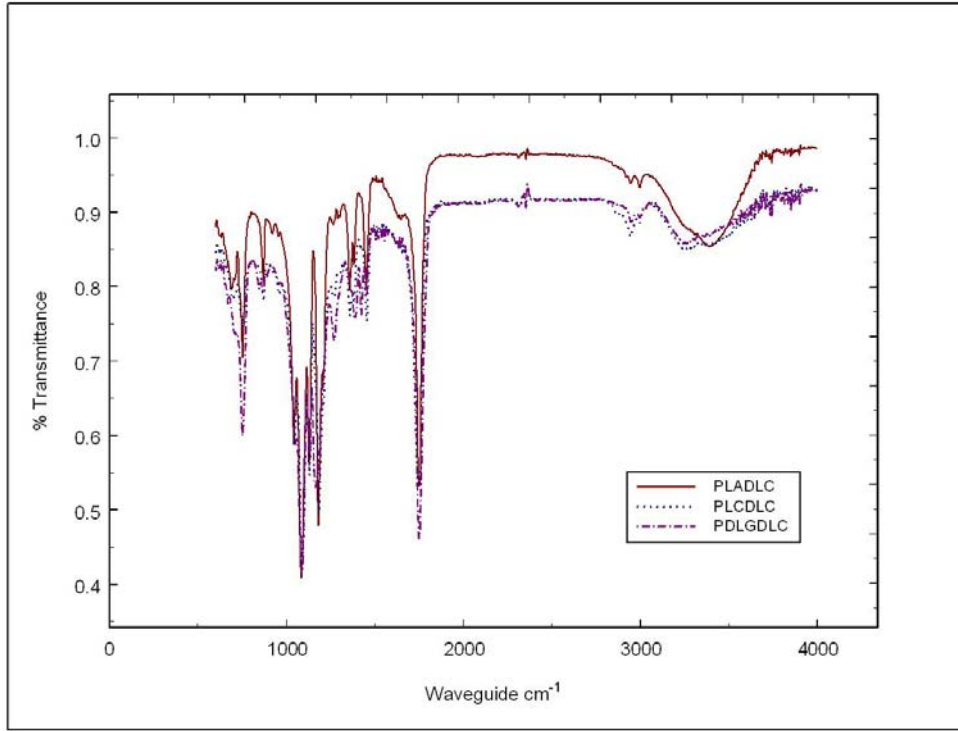
Şekil 4.26 ve 27'den den izlenebileceği gibi PLA, PDLG ve PLC'ye ait C ve Au implante edilmiş örneklerin ATR modda FT-IR spektrum verileri genel olarak benzer olup, pik yoğunluklarında farklılıklar izlenmektedir.



Şekil 4.26 DLC kaplama(a.) , C implantasyonu (b.), Au implantasyonu (c.) ve işlem görmemiş (d.) PLA (I.) , PLC (II.) and PDLG (III.) numune yüzeylerinin ATR-FTIR analizleri.

I.**II.**

Şekil 4.27 Au implante edilmiş (I.) ve C implante edilmiş (II.) PLA, PLC ve PDLG numunelerin ATR-FTIR analizleri.



Şekil 4.28 PLA, PLC ve PDLG numunelerde plazma depozisyon yöntemi ile gerçekleştirilen DLC kaplamaların ATR-FTIR analizleri.

Grafiklerde genel olarak izlenen ATR-FTIR pik'leri ve bunlara karşılık gelen bağlanmalar Çizelge 4.5'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.5 PLA, PDLG ve PLC örneklere ait implantasyon öncesi ve sonrası ATR-FTIR analizinde izlenen pik'lerin dalgaboyları (cm^{-1}) ve bunlara karşılık gelen titreşim grupları

Absorpsiyon (Dalgaboyu - cm^{-1})	Titreşim Grubu
754	C-H kırılmaları
1080	C-O-C asimetrik gerilmeleri
1180	C-O-C simetrik gerilmeleri
1352	OH Deformasyonu
1450	C-H gerilmeleri
1750	C=O gerilmeleri
2941	C-H gerilmeleri
3300-3500	OH gerilmeleri

Bütün polimerlerde (PLA, PLC, PDLG) izlenen ve grafiklerde (Şekil 4.26,27) ve Çizelge 4.5.'de gösterilen 1750cm^{-1} bölgesine denk gelen implantasyon sonrası pik yoğunluğundaki azalma, polimerin C=O oksijen

bağlarının kopmasına ve buna bağlı olarak implantasyon sonrası doymamış C=C bağ oluşumlarına işaret eder (Premnath et. al. 1999, Bracco et. al. 2006). Bu durum, implantasyon sonrası yüzeylerin çapraz bağlanmalara maruz kaldığının bir göstergesidir. Bunun bir diğer belirtisi olarak 1650cm^{-1} bölgesinde C=C çift bağlarına denk gelen pik'lerde, C implantasyonu sonrası artış izlenmektedir. Tüm polimerler arasında bir kıyaslama yapıldığında bu durum özellikle, C implantasyonuna uğramış PLC örneklerde belirgindir. PLA'da ise bu gerilim özellikle C implantasyonundan sonra artış göstermektedir. Bu durum implantasyon sonrası açıkta kalan bağların oksidasyonuna işaret eder. Aşağı absorbans değerlerine doğru pik'lerde bir kayma gözlenmektedir bu durum da, yüzeyin okside olduğu ile açıklanabilir. Özellikle 1100cm^{-1} ve 1800cm^{-1} bölgesindeki C-O bağlarının konsantrasyondaki artış, yüzeydeki oksidasyonu doğrulamaktadır.

2900cm^{-1} 'lerde kendini gösteren C-H gerilmeleri PLA ve PLC örneklerde implantasyon sonrası artarken PDLG örneklerde azalma göstermektedir. $3000-3500\text{cm}^{-1}$ aralığında belirginleşen OH gerilmeleri de aynı trendi izlemektedir. 2200cm^{-1} 'lerde yeralan C=C gerilmeleri Au implante edilmiş PLC ve PDLG örneklerde belirginleşmiştir. C-N implante edilmiş PLA larda artmış PDLG larda azalmıştır. 750 'lerde izlediğimiz C-H bağ kırılmaları özellikle C implante edilmiş PLC ve Au implante edilmiş PDLG örneklerde artmaktadır. Eksensel simetri gösteren moleküllerin çift katlandığına işaret eden $500-900$ aralığına denk gelen CH deformasyon titreşim bandı, C implante edilmiş PDLG hariç tüm örneklerde implantasyon sonrası artmıştır.

Gözlenen önemli bir diğer değişiklik, 1450cm^{-1} dalga boyuna denk gelen metil gruplardaki C-H gerilmesidir. 1043cm^{-1} dalga boyunda belirginleşen C-CH₃ gerilme titreşimi yoğunluklarında her üç polimerde farklılıklar görülmektedir. Bu dalga boyundaki gerilmenin artışı poly(D,L-laktid) ve poly(D,L-laktid-ko-glikolit) filmlerin yüzeylerindeki metil grup popülasyonundaki artışa işaret eder (Colthup et. al., 1990). Bu durumda Şekil 4.26 ve 27'de yeralan grafiklerden görülebildiği üzere, poli(L-laktid) ve poli(D,L-laktid-ko-glikolit) film yüzeylerinde, modifikasyon sonucu segregasyon oluşmuş, metil gruplar

polimer/hava arayüzeyine eğilim göstermişlerdir. Bu sebeple titreşimlerde artış izlenmektedir

Literatürde semikristal yapıya sahip PLA örneklerin, amorf PLA örneklerle göre daha keskin pik'lere sahip oldukları raporlanmıştır (Paragkumar et. al., 2006). Bu durum Şekil 4.28'de izlenebileceği gibi PLA, PDLG ve PLC örneklerde özellikle 1000 ve 1200 cm^{-1} bölgelerinde belirginleşmektedir. Pik'lerde izlenen keskinleşmenin sebebi, düzgün dizilmiş polimer segmentlerin daha spesifik frekanslarda titreşim kaydetmeleridir. Şekil 4.27'de PLC Cimplante edilmiş örnek için özel olarak izlenen 1084 ve 1184 cm^{-1} 'de yeralan C–O–C pik yoğunluğundaki azalma, düzgün polimer segmentlerden oluşmuş bir yapının oluşumuna işaret eder ve bu yüzden titreşimler azalmaktadır. Bu durum zincir yapıdaki konformasyonun değiştiğinin bir işaretidir (Davenas and Xu 1989, Chappa et. al., 2006).

Özel olarak PDLG'lerde izlenen 1134 cm^{-1} piki, CH_3 kırılmalarına işaret eder ve iyon implantasyonu görmüş örneklerde bu durum belirginleşmektedir. Bu pik'de izlenen keskinleşme, PLLA'da varolan metil grupların zincir üzerinde düzgün dizilimine işaret eder (Paragkumar et. al., 2006). C–O–C segmentlerin moleküllerarası etkileşimleri, metil grupların dışarıya doğru hareket etmesini engellemekte ve bu grupları özellikle dış yüzeye doğru yönlendirmektedir. Yüzeyde, CH_3 gruplarının popülasyonundaki artış aynı zamanda yüzeyin hidrofobikliğine ve buna bağlı olarak kontak açısının artmasına işaret eder (Bracco et. al., 2005).

4.3.2.d Optik Absorpsiyon Spektrometresi:

Geometrik yapı, molekülün iyonik durumlarına güçlü bir şekilde bağlıdır ve yük dağılımı üzerine etkileri vardır. Yüzey üzerindeki yük dağılımı ve yüklenme kendiliğinden oluşur ve dışarıdan ekstra bir elektronik yüklenmeye maruz kalındığında bu durum, atomik geometride (latis) lokal varyasyonların oluşmasına ve aynı zamanda elektronik yapının değişimine sebep olur.

Yüklenmiş örnekler, nötral sistemlerin optik absorpsyonu ya da ekme yöntemleri aracılığıyla yük transferi gerçekleştirmek suretiyle oluşturulabilir.

Genel olarak elektron-latis etkileşimleri dışarıdan gelen bir elektron ya da delik veya uyarılmış enerji ile ciddi bir etkileşim göstererek molekülün bölgesel geometrisi üzerinde büyük değişikliklere sebep olabilir. Buradaki bir diğer önemli nokta elektron delik çiftleri arasındaki güçlü eşleşmeler oluşturmalarına rağmen yüklü tanecikler veya uyarılmış durumdaki yüksüz tanecikler diğerlerinden farklı olarak hareketlerine devam ederler (André et al., 1991). Yüksek band aralığına sahip σ bağlı polimerlerde, $E_g(\sigma)$, malzeme genel olarak yalıtkan davranış gösterir ve görünür ışığı absorbe edemez. Örnek olarak, polietilende monomerik tekrar üniteleri için $(CH_2-CH_2)-$, optik band aralığı 8 eV değerlerindedir. Konjüge polimerlerde sürekli bir ağ yapı mevcut olup genellikle karbon atomlarından oluşan ana zincir sp^2 veya sp bağ hibrid durumunda yer alır. Atomik orbitalleri π -üstüpozisyonlarda olan bu atomların oluşturduğu zincir yapı ve her bir hücrenin periyodik durumu, polimerik ana zincir boyunca oluşan π -yerdeğiştirme durumuna sebep oluşturur. Sonuç olarak π -band elektronik yapının sınırlarını oluşturur. Tek boyutlu sistemlerde bu π -durumu, π -band aralığını oluşturur ve , $E_g(\pi) < E_g(\sigma)$, durumu düşük fotonik enerji seviyelerinde optik absorbansa olanak tanır (Nicolini, 2009).

Konjüge polimerlerde band genişliği (E_g) aşağıdaki denklemde yer alan 5 terimin katkıları ile oluşur:

$$E_g = E^{bla} + E^{\theta} + E^{res} + E^{sub} + E^{int} \quad (4.1)$$

Burada:

E^{bla} : Bağ uzunluğu – konjügasyon uzunluğu

E^{θ} : “rotasyonel düzensizlik” – ko-palanarasyonun ortalama değerinden türetilir.

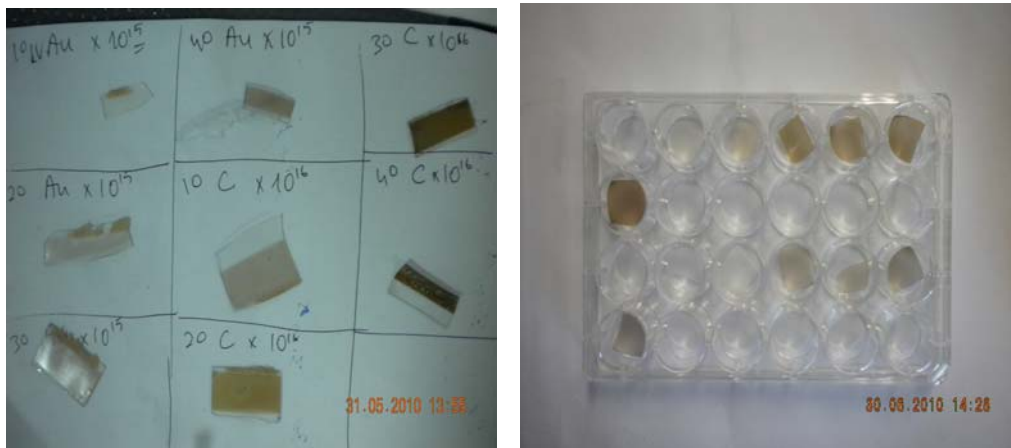
E^{res} : aromatik rezonans – aromatik bağ enerjisi

E^{sub} : eşlenik etkiler – indüktif ve mezomerik elektronik etkiler

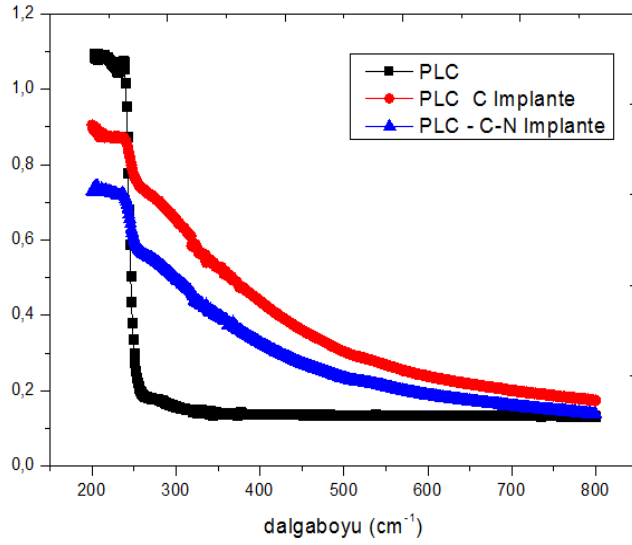
E^{int} : moleküllerarası çiftleşme – katı hal durumunda zincirlerarası etkileşimler

Bu eşitlikten, konjüge polimerlerde band aralığını dizayn ederken hangi parametrelerin etkin olabildiğini görmek mümkündür. Sonuç olarak konjüge polimerlerin bant aralığı uygun dizayn parametrelerini kullanmak suretiyle bunların enerjetik katkıları hesaplanarak mümkün olabilmektedir (Nicolini, 1995).

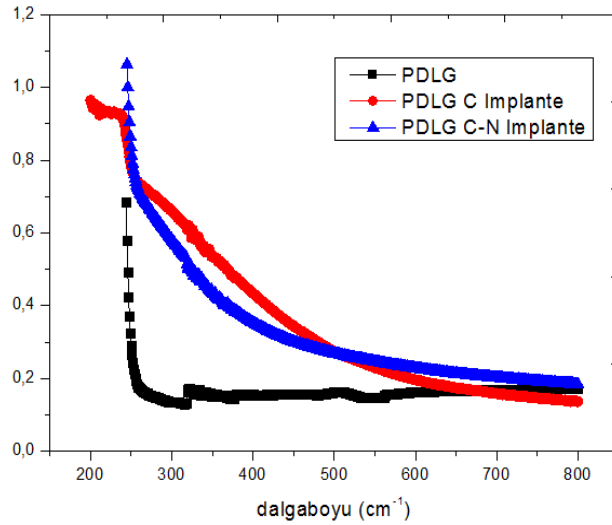
Bizim çalıştığımız polimer örneklerde implantasyon sonrası renk değişimi oluşmuştur ki bu durum band aralığının değiştirildiğine işaret etmektedir. Bu değişikliğin seviyesi termal etkilerin yanı sıra implantasyon ile yüzeydeki kimyasal bağ yapısında oluşturulan değişimlerin bir sonucudur. XPS analizlerinden de izlendiği üzere implantasyon sonrası her iki durumda da (C ve Au implantasyonları) yüzey dehidrojene olmuş, karboziasyon artış gösterirken oksijen konsantrasyonunda azalma izlenmiştir. İmplantasyon prosesi sırasında yüksek enerjili parçacıkların yüzeye işlemesi beklenmektedir ve polimer zincir yapıların özelliklerinden ötürü zincir yapılanması farklı yönde değişikliklere maruz kalarak yüzey yük dağılımında ve buna bağlı olarak yüzey enerjisinde değişiklikler beklenmektedir. Diğer yandan polimer zincir üzerinde hidrojen atomların dışarıya çıkması sonucu konjüge çift bağ oluşumu beklenebilir öyle ki bu bağlar yüzeydeki renk değişiminin bir diğer sebebidir.



Şekil 4.29 İyon implantasyonu olmuş örneklerde doz'a göre renk değişimi



Şekil 4.30 C ve C-N implante edilmiş PLC için implantasyon öncesi ve sonrası optik absorpsiyon fotospektrometre grafikleri (200-800cm⁻¹ bölgesi)



Şekil 4.31 C ve C-N implante edilmiş PDLG için implantasyon öncesi ve sonrası optik absorpsiyon fotospektrometre grafikleri (200-800cm⁻¹ bölgesi)

Optiksel absorpsiyon spektrumları, 200-800 nm arasında implantasyona uğramış ve uğramamış örneksiz alınan optiksel spektrumların, bu örneklerden geçtikten sonraki spektrumlarından çıkartılmasıyla elde edilmiştir. C⁺⁺ iyonlarıyla ve ayrıca C⁺⁺+N₂⁺⁺ iyonlarıyla implantasyonundan sonra bütün örneklerin optiksel absorpsiyon spektrumlarında oldukça fazla değişiklik meydana geldiği Şekil 4.30 ve 4.31'de görülmektedir. PLC nin C⁺⁺ karbon iyonu

implantasyonu, $C^{++}+N_2^{++}$ implantasyonuna göre optiksel absorpsiyonu çok fazla artırmıştır (Şekil 4.30). PDLG dioksanın C^{++} karbon iyonu ile implantasyonu, 200-240 nm arasında görülen yüksek absorpsiyon pikleri biraz artmış ve diğer absorpsiyon spektrumu 250-400 nm arasında yaklaşık iki misli artmıştır (Şekil 4.31). PDLG kloroformun C^{++} ve $C^{++}+N_2^{++}$ iyonlarıyla implantasyonu 0-240 nm arasındaki yüksek absorpsiyon piklerini ortadan kaldırmıştır (Şekil 4.31).

Optik absorpsiyon eşik değerinde oluşan bu değişiklikler optik band aralığının (E_g) daralmasına neden olmuştur öyleki bu durum XPS ile gözlemlenen aromatik halkalardaki yapısal değişikliklerle ilişkilendirilebilir ve literatürde daha önce de izlendiği üzere konjüge olmuş sayklik yapıda kesintisiz bir ağ oluşumuna neden olduğu söylenebilir (Rizatti et. al., 1995).

Sonuç olarak sistem implantasyon sonrasında yer değiştirmiş π -elektronlarına sahip olmuştur ve bu durumda taşıyıcıların mobilitesi yüksek elektriksel iletkenlik oluşturmaya yeterlidir. Katkı moleküllerinden yük transferi ile polimerik zincir kolaylıkla okside olabilir ve zincir uzunluğu kısaltılabilir.

Elektronik band aralığı E_g implantasyon sonrası hem PDLG hem PLC için sola kayma eğilimindedir. Bu durum literatürde düşük enerjilerde elektronik uyarılmaya ve buna bağlı olarak yarıiletken davranış göstermeye olanak sağlar şeklinde raporlanmıştır (Nicolini, 2009).

4.3.2.e Raman Spektroskopisi Analizi

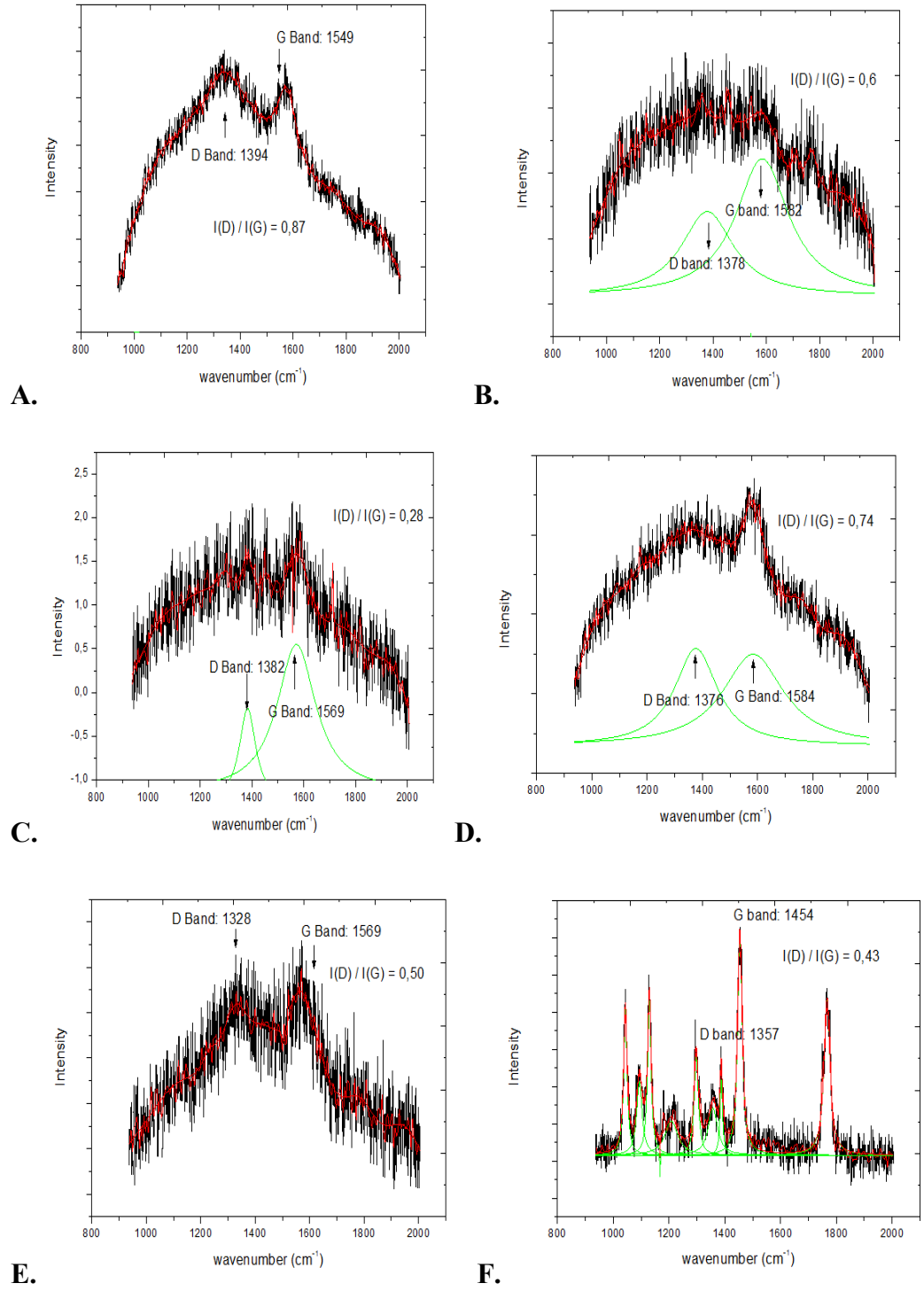
Elmas ve grafit, karbonun allotroplarıdır. Elmas her karbon atomu, dört başka karbon atomuna bağlanarak üç boyutlu katı bir yapı oluşturur; grafitte ise karbon atomları, üst üste yığılmış geniş, yassı levhalar oluşturacak biçimde, iki boyutlu düzlemde birbirlerine bağlanmıştır. Bu levhalar birbirlerinin üzerinden kolayca kayar. Elmas ve grafit dışında karbonun ayrıca altıgen elmas gibi doğal, camsı karbon, fullerenler kümelenmiş elmas nanoçubukları, karbon nanoköpüğü, doğrusal asetilenik karbon (LAC) gibi yapay allotropları da vardır. Karbonun

belirgin, kendilerine özgü bir yapısı ya da biçimi olmayan allotropuna amorf karbon denir (Hirvonen et. al. 1989).

Elmas, yalnızca yüksek sıcaklıklarda ve basınçlarda karardır (Şekil 20). Bu nedenle, elmasın sentezi normal olarak aşırı derecede sıcaklık ve basınç gerektirmektedir. Buna rağmen, ileri sentezleme teknikleri ve parametrelerin uygun seçimi ile termodinamik kısıtlamanın üstesinden gelinmekte ve yarı kararlı elmas filmlerinin sentezlenmesi mümkün olmaktadır. Amorf ve yarı kararlı, doğal elmasın özelliklerinin birçoğuna sahip bu karbon malzemesi “elmas benzeri karbon – (DLC)” olarak tanımlanmıştır (Miyoshi et. al. 1989, Green et. al. 1989). Elmas, bilinen en sert malzeme ve elektriksel olarak yalıtkandır. Saf elmas renksizdir. Grafit, yumuşak siyah bir malzemedir ve yönlenmeye bağlı olarak elektriksel iletkenliğe sahip olabilir. Elmas ve grafit arasındaki farklılık, bağ yapılarından kaynaklanmaktadır. Kristal elmas latisi oldukça yoğun (3,5 gr/cm³) ve sıkı bağlıdır. Her bir karbon atomu, diğer dört karbon atomla tetrahedral geometride (sp³) kovalent bağlıdır (Şekil 3). Grafit ise düz, zayıf bağlı ve hegzagonal yapıdadır. Her bir yapı eşit, üç açılı, birbirlerine yakın üç karbon atomunun diğer bir karbon atomuyla bağlanması ile (sp²) oluşur. Grafit, elmastan daha az (2,6 gr/cm³) yoğunluktadır (Ahlatcı 2008, Ingram 1994).

Gerçek kristalin elmasa benzer olarak, DLC filmleri karbonun ve serbest hidrojenin karışımıdır. Bu kısımda, iyon implantasyonu sonrasında yüzeyde oluşan karbon yapının hangi tür özellik taşıdığı ve ne tür bir allotropinin hakim olduğu, Raman Spektroskopi tekniğiyle araştırılmıştır. Raman spektroskopi, malzeme kompozisyonu, kimi durumlarda malzemenin sıcaklığını ve hatta malzemeye özel fonon enerjileri üzerinden yüzey gerilimlerini ölçmeye yarayan son derece özellikli bir metoddur (Ferraro, 2002; Smith, 2005). Raman analizi yapılırken C yapıları özgün yüksek frekanslarda 1595 cm⁻¹ seviyesinde G-bandı, ve 1350 cm⁻¹ seviyelerinde D-bandı karşılaştırılarak malzemenin karakteristiği belirlenir. G- bandı malzemede grafit yapının oluşumuna D-bandı ise amorf yapının , diğer bir deyişle düzensizliğin oluşumuna işaret eder (Jorio, 2003).

Şekil 4.32’de izlenebildiği gibi laktik asit polimerlere özgün karakteristik pik’leri çıkardığımızda elimizde kalan 1360 ve 1560 cm^{-1} dolaylarındaki frekans değerlerinde, hidrojene amorf karbon yapılarında karşılaştığımız D-bandı ve G-bandı görülmektedir. Bunlar arasında yaptığımız D bandına ait alan ile G bandına ait alanlar arasında yaptığımız oransal karşılaştırma $I(D)/I(G)$, aynı zamanda karbon yapı içindeki sp^3/sp^2 oranını temsil etmektedir (Ferraro 2002). Dolayısıyla bu oranın düşük olduğu durumlarda grafitik kristal yapı, yüksek olduğu durumlar için ise amorf yapı oluşumu beklenir. Literatürde raporlandığı üzere, grafitik eğilim gösteren yapılarda G-band belirgindir ve bu malzemeler D-band’ın belirgin olduğu amorf yapılara kıyasla mekanik özellikler ve biyouyumluluk bakımından daha gelişmiş özellik sergiler (Valenza et. al., 2004). Literatürde raporlandığı üzere, bu yapılarda grafitizasyona ek olarak polimer zincirde çapraz bağlanmalar ve oluşan serbest radikallerin iyonlarla etkileşimi sonucu yüzey yapısında güçlenme ve üç boyutlu bağlantılı ağ yapının eşlik ettiği sağlamlık izlenmiştir (Robertson 2002, Guzman et. al. 2002, San et. al. 2002, Chen et. al. 2000).



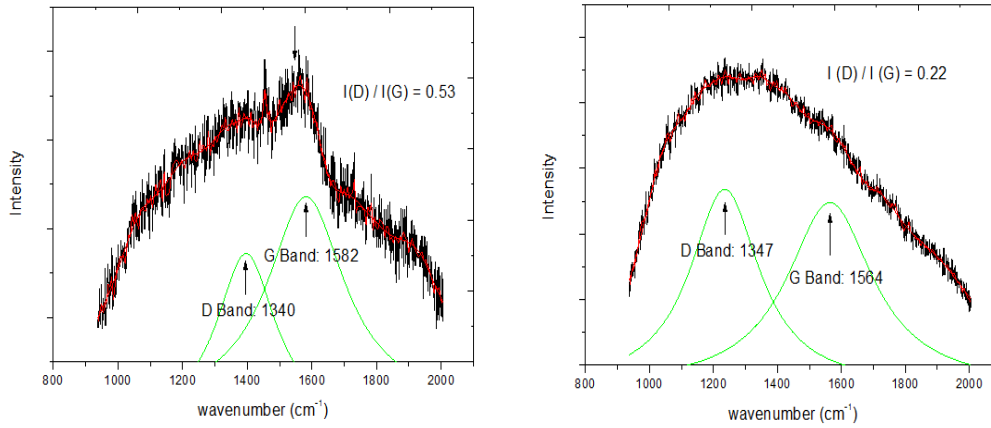
Şekil 4.32 C (A., C., E.) ve Au (B., D., F.) implante edilmiş PLC (A., B.), PDLG (C., D.) , PLA(E., F.) örneklerin Raman spektrumları (800-2000 cm^{-1} bölgesi)

Şekil 4.32’de izlenebildiği gibi implantasyon sonrası D-band ve G-band pik noktalarında sola doğru kayma vardır ve bu durum özellikle PLA örneklerde belirgindir. Origin Graph 8.1 programı ile gerçekleştirilen Lorentzian fitting sonuçları aşağıdaki çizelgede özetlenmiştir.

Çizelge 4.6 PLC, PDLG ve PLA örneklerle Au ve C implantasyonu sonrası D-band, G-band lokasyonları ve bu pik’lere ait yoğunluk oranları.

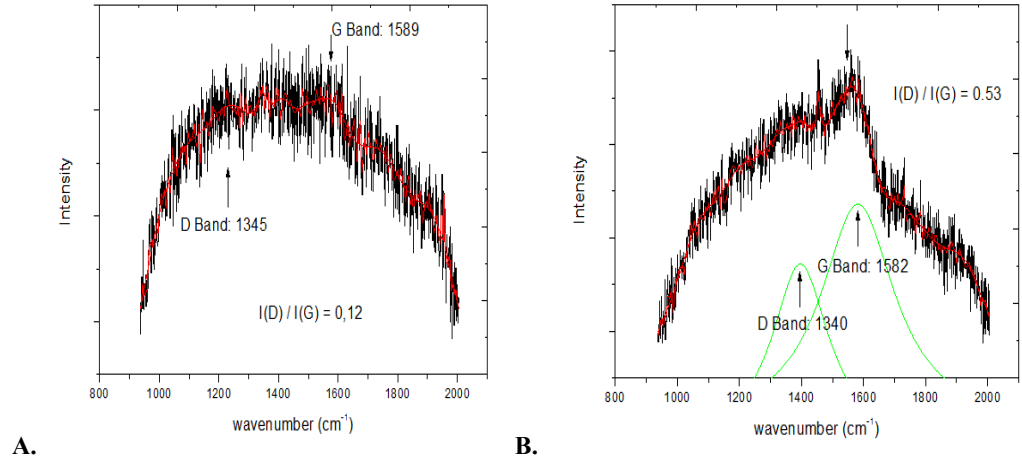
	C İmplantasyonu			Au İmplantasyonu		
	PLC	PDLG	PLA	PLC	PDLG	PLA
D-Band (cm^{-1})	1394	1362	1328	1378	1376	1357
G-Band (cm^{-1})	1549	1569	1569	1562	1584	1424
I(D)/I(G)	0,87	0,28	0,50	0,60	0,74	0,43

Bunlara ek olarak, metal-gaz implantasyonunun etkilerini izlemek amacıyla, PDLG örneklerle gerçekleştirilen C-N ve C-O iyon implantasyonu sonrası alınan Raman spektrum analizi Şekil 4.33’ de görülmektedir.



Şekil 4.33 PDLG örneklerle gerçekleştirilen C-N(A.) ve C-O(B.) iyon implantasyonu sonrası alınan Raman spektrum analizi

Plazma depozisyon yöntemiyle gerçekleştirilen DLC kaplamaların saflık dereceleri de Şekil 4.34 de sergilenen Raman spektroskopisi tekniğiyle incelenmiştir. İyi seviyede bir DLC kaplama C-C valans bağlarına ait 1332 cm^{-1} ’de yeralan tek bir keskin pik ile tanımlanmıştır. Simetrik bağ’lara ait titreşimler sadece Raman spektroskopisi tekniğinde görüntülenebilir (Ferraro 2002).



Şekil 4.34 Plazma deposisyon yöntemiyle polimer yüzeylere (A. PDLG, B. PLC) gerçekleştirilen DLC kaplamaların Raman spektrumları (800-2000 cm^{-1} bölgesi)

Çizelge 4.7 DLC kaplanmış numunelerin (PLC, PDLG) D-band, G-band lokasyonları ve bu pik'lere ait yoğunluk oranları.

	PLC	PDLG
D-Band (cm^{-1})	1345	1340
G-Band (cm^{-1})	1589	1582
I(D)/I(G)	0,12	0,53

Yapılan incelemeler, iyon bombardımanı sonrası modifiye olmuş yüzeylerde genel olarak sp^2 bağlanmalarının, diğer bir deyişle grafitik kristal yapının hakim olduğunu göstermektedir (Ferraro, 2002). Bu anlamda en düşük sp^3/sp^2 oranı 0,28 ile C implante edilmiş PDLG'de izlenirken en yüksek oran 0,87 ile C implante edilmiş PLC örneklerde gözlemlenmiştir. Diğer yandan metal-gaz implantasyonu denemelerinde, C implante edilmiş PDLG'de 0,28 olan bu oran, C-O implantasyonu ile 0,22'lere düşmüştür (Şekil 4.34). Au implante edilmiş örneklerde en düşük oran 0,43 ile PLA'da izlenmiştir. PLA ve PLC için C implantasyonunda alınan sp^3/sp^2 değerleri, Au implantasyonu ile alınan değerlere göre daha düşüktür, diğer yandan PDLG için bu durum tam tersidir. PDLG örneklerde, Au implantasyonu sonrası 0,74 olan sp^3/sp^2 oranı en yüksek değeri temsil etmektedir.

Çizelge 4.7’de sergilenen plazma depozisyon tekniğiyle gerçekleştirdiğimiz DLC filmler arasında yapılan karşılaştırmaya göre PLC örnekler için sp3/sp2 oranı 0,53, PDLG örnekler içinse 0,12’dir.

Literatürde düşük sp3/sp2 oranı yükseldikçe yüzeyin amorfı yaklaştığı ve elmasa benzer karbon özellik taşıdığı raporlanmıştır (Ferraro, 2002). Düşük sp3/sp2 oranına sahip malzemelerin, yüzeyde pürüzlülük ve kontaminasyon artışı ve buna bağlı olarak düşük yapışma özelliği gösterdikleri belirtilmiştir. Bu bağlamda iyonların yüzeyde tutunması bakımından en kötü yapışma PDLG örneklerde en iyi yapışma ise PLC örneklerde beklenmektedir.

4.4.3 Termal Özellikler:

Polimerlerde termal özellikler kristallik ile ilgili bilgi sahibi olmamızı sağlar. Moleküller düzeyde kristalliğin artması moleküler mobilitenin azalmasına işaret eder. Bu bağlamda termal verilerden elde ettiğimiz Tg değeri direk olarak polimer içindeki makromoleküler hareketlilik bilgisini verir. Kristallikte artış, zincirlerin amorf faza geçişleri için gerekli enerji miktarındaki artışa işaret etmektedir. Bu bakımdan Tg değeriindeki yükselme, malzeme içinde amorf fazın oranının azalması şekline yorumlanabilir (Jang et. al. 2007).

Şekil 4.35-(a,b,c).’de görüldüğü gibi PLA’nın erime davranışı iki fazlı olarak gerçekleşmiştir. Genel olarak, ilk endoterm pik, orijinal kristallerin erimesine ikinci endoterm pik ise kristallerin oluşumuna tekabül eder (Solarski et. al. 2005). PLA’nın erime davranışında izlenen bu yeniden kristallenme olgusu gözönüne alındığında kristallik derecesini saptamak üzere aşağıdaki denklem kullanılır (Jang et. al. 2007):

$$\chi = \frac{\Delta H_m - \Delta H_{crys} + \Delta H_{recrys}}{93.6}$$

Burada

χ = kristallik derecesi

ΔH_m = erime entalpisi

$\Delta H_{\text{crys+recrys}}$ = kristallik entalpisi

%100 kristal PLA için erime entalpisi 93.6 J/g olarak alınmıştır.

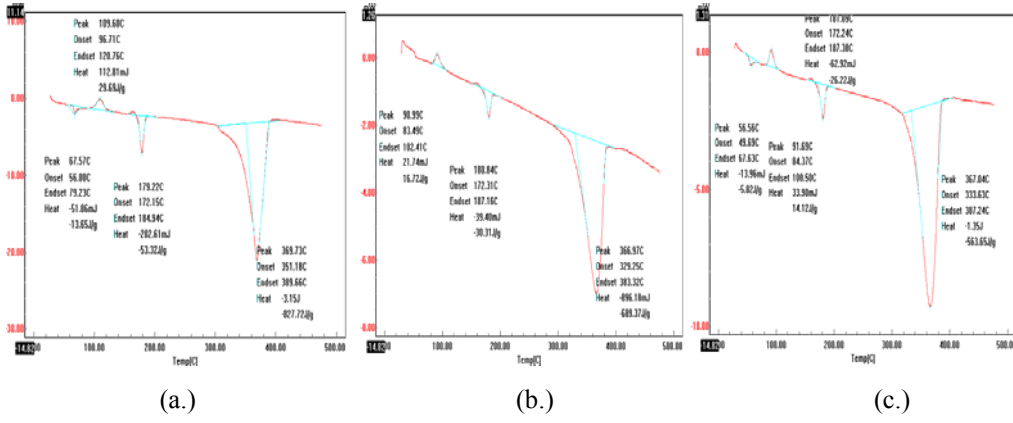
Bu bilgiler ışığında yaptığımız hesaplamalar sonucu işlem görmemiş, C implante edilmiş ve C-N implante edilmiş PLA örneklerden elde ettiğimiz kristallik derecelerindeki değişimi gösteren değerler, Çizelge 4-8a.'de sunulmuştur. Şekil 4.36 ve 4.37'de görülen PLC ve PDLG örneklerde, kristallik seviyesi düşük olduğu için bu pik'ler belirgin olarak izlenememiştir. Bu nedenle, PLC ve PDLG örneklerin termal bozunma verileri Çizelge 4.8-b'de sergilenmiş olup bu polimerlerde bozunma sıcaklıkları bilgisi üzerinden genel olarak bozunma kinetiği hakkında yorumlar yapılmıştır.

Çizelge 4.8-a PLA örneklere ait C ve C-N implantasyonu sonrası termal analiz verileri. ($\% \chi$ = % Kristallik değeri, T_g = Camı Geçiş Sıcaklığı, T_m = Erime sıcaklığı)

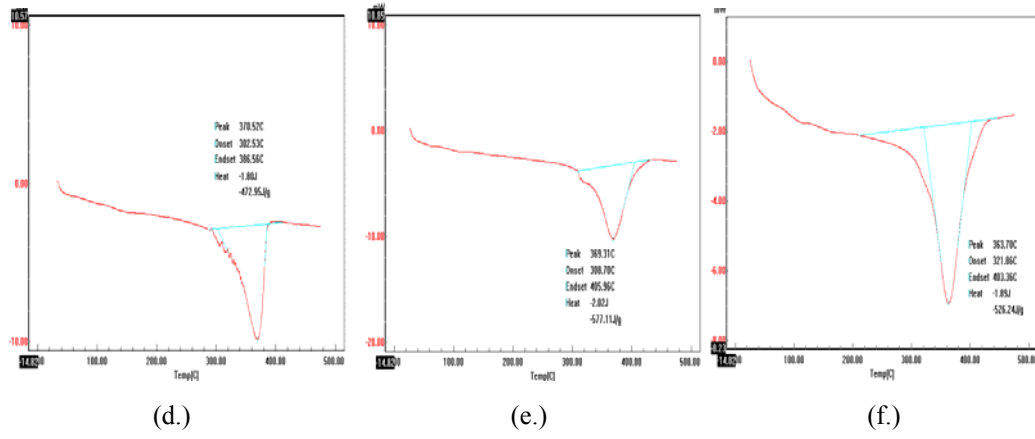
	İşlemsiz Numune			C İmplantasyonu			C-N İmplantasyonu		
	% χ	T_g °C	T_m °C	% χ	T_g °C	T_m °C	% χ	T_g °C	T_m °C
PLA	71,32	109	179,22	59,7	90,99	180,84	42,96	91,69	181,09

Çizelge 4.8-b PLA, PLC ve PDLG örneklere ait C ve C-N implantasyonu sonrası termal analiz verileri. (T_d = Bozunma sıcaklığı, ΔH_d =Entalpi değeri)

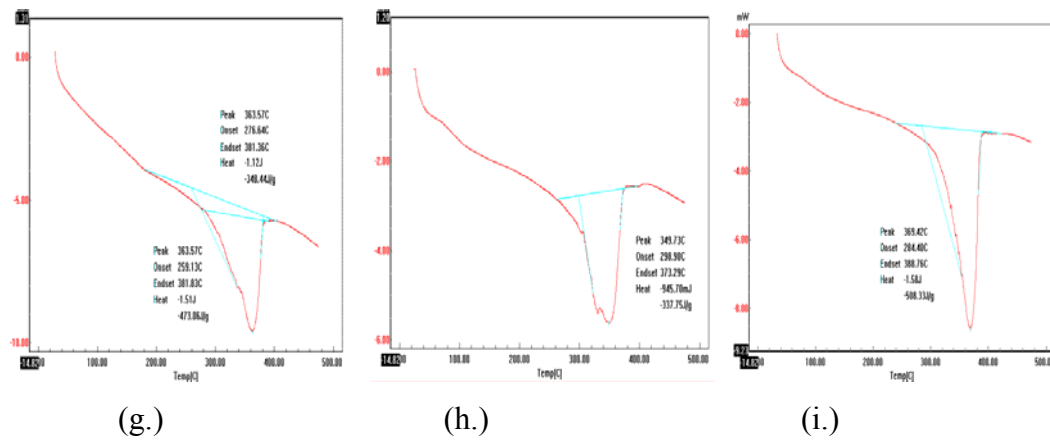
	İşlemsiz Numune		C İmplantasyonu		C-N İmplantasyonu	
	ΔH_d (j/g)	T_d (°C)	ΔH_d (j/g)	T_d (°C)	ΔH_d (j/g)	T_d (°C)
PLA	827.72	369.73	689.37	366.97	523.65	367.04
PLC	472.95	370.52	577.11	369.31	526.24	363.70
PDLG	473.06	363.57	337.75	349.73	508.03	369.42



Şekil 4.35 C implantasyonlu (b) ve C-N implantasyonlu (c) PLA örneklerin(a.) DSC verileri



Şekil 4.36 C implantasyonlu (b) ve C-N implantasyonlu (c) PLC örneklerin(a.) DSC verileri



Şekil 4.37 C implantasyonlu (b) ve C-N implantasyonlu (c) PDLG örneklerin(a.) DSC verileri

Bütün örneklerdeki endotermik piklere ait veriler Çizelge 4.8’de sergilenmiştir. Çizelgede belirtilen sıcaklıklar su kaybının olduğu sıcaklık derecelerini göstermektedir. Çizelge 4.8-a’da görüldüğü gibi PLA örneklerde implantasyon sonrası kristallik derecelerinde belirgin oranda düşüş izlenmektedir. İşlem görmemiş PLA örneklerde % 71,32 seviyelerinde olan kristallik C implantasyonu sonrası % 59,7’ye ve C-N implantasyonu sonrasında %42,96’ya gerilemiştir. Bu durum bozunma kinetiklerinin izlendiği Çizelge 4.8’b de sunulan verilerle paralel seyretmektedir.

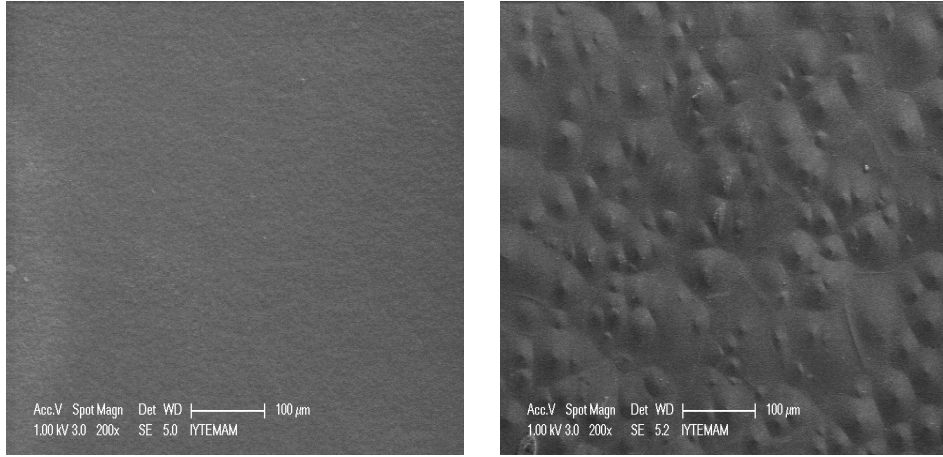
Şekil 4.35, 4.36, 4.37 ve Çizelge 4.8-b’ de görüldüğü gibi, laktik asit türevi polimer örneklerin bozunma sıcaklıkları, implantasyon sonrası çok ufak değişikliklerle hemen hemen aynı seviyelerde kalmıştır. Entalpi değerlerini incelediğimizde, PLA’da gözlemlediğimiz kristallik değerindeki düşüş, PLC örneklerde tam tersine artış göstermektedir. PDLG örneklerde ise C implantasyonu sonrası entalpi değerinde ve dolayısıyla beklenen % kristallik değerlerinde düşüş izlenirken, C-N implantasyonu sonrası artış gözlenmektedir.

Bu veriler ışığında, implantasyonun bozunma sıcaklık değerleri bakımından bozunma kinetiği üzerine göze çarpan bir etkisinin olmadığı söylenebilir ancak moleküllerin hareketliliği bakımından kristallik ve amorflik derecelerinde değişiklikler mevcuttur.

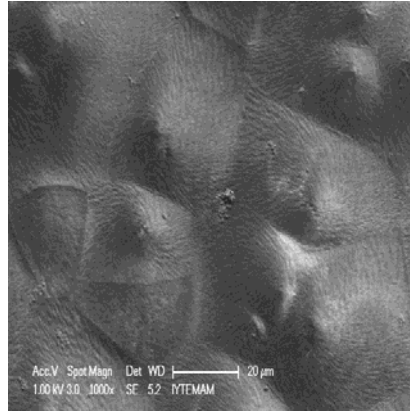
4.4.4 Yüzey Morfolojisi ve Pürüzlülük

Yüzey üzerinde iyon bombardımanı ile oluşan asal değişikliklerden bir diğeri de topografik değişikliklerdir. Topografik değişiklikler iyonik etki ile oluşurlar. Gözle görülebilen değişiklikler oluşmamasına rağmen atomik skalada ve nano ölçekte değişim göze çarpıcıdır. İyon bombardımanı ile bazı atomlar yüzeyde birikirken kimi atomlar saçılır ve en bilinen adıyla yüzey üzerinde konik yapı oluşumları gözlemlenir. Yüksek miktarda saçılmanın oluşmasıyla yüzey matlaşır (Franz 2009).

Bu ikincil etkilerin iyon bombardımanı ile yüzey modifikasyonunun en önemli fenomenlerinden birini oluşturur. Genel olarak bombardıman sonrası yüzeyde dalgalanmalar, derin delikler, kristalografik olarak zımparalanmış, yuvarlanmış, bölgeler, vadiler, tepeler ve tepelerin ortalarında koniler, piramitler oluşur (Şekil 4.38, 4.39). Bunların yanısıra yüksek iyon doz ve enerji değerlerinde (> 10 keV), kabarcık oluşumu gözlenmiştir.



Şekil 4.38 Au bombardımanı sonrası PLC yüzeyde oluşan tipik değişimler - SEM fotoğrafı (200x)



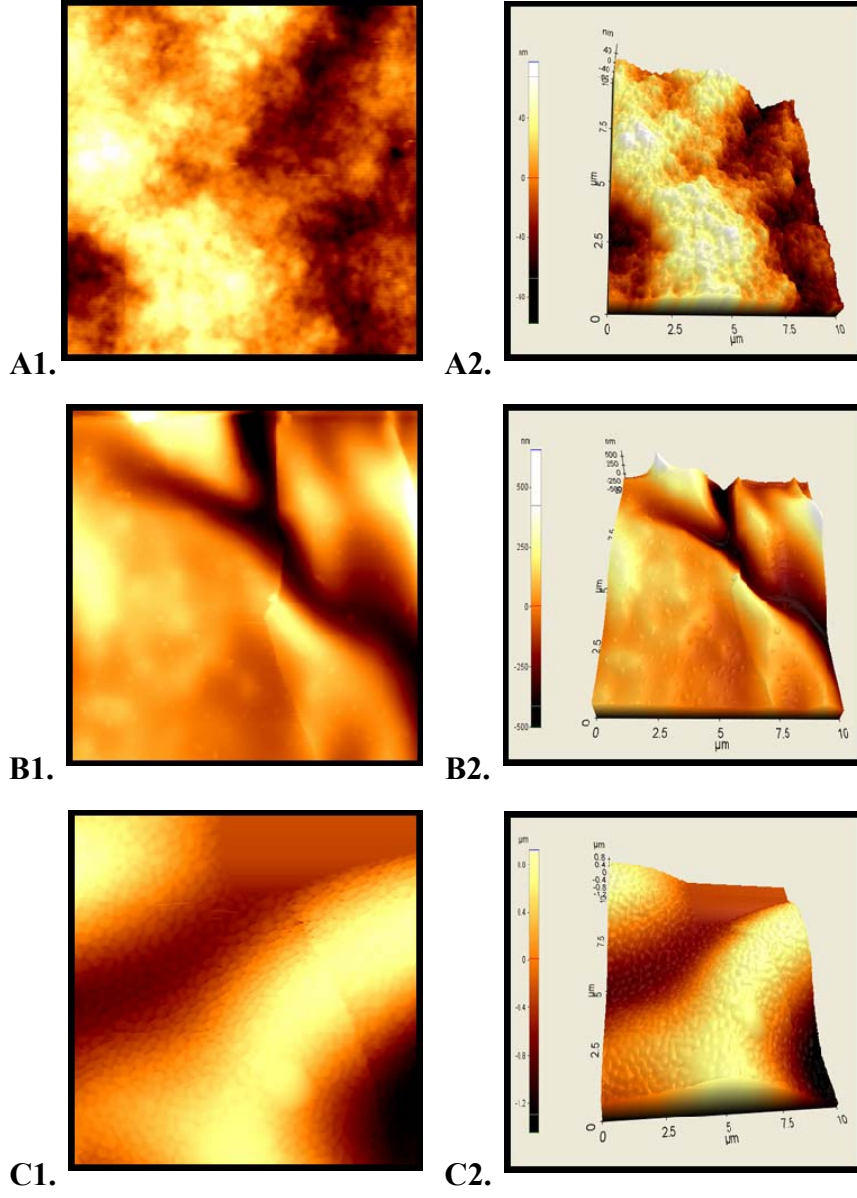
Şekil 4.39 Au bombardımanı sonrası PLC yüzeyde izlenen konik oluşumu - SEM fotoğrafı (1000x)

Atomik Güç Mikroskopi (AFM) tekniği ile yüzey morfolojisi görüntülenen ve 5 ayrı noktadan alınan değerlerle yüzey pürüzlülüğü belirlenen Au, C, C-O v C-N implante edilmiş üç polimere ait (PLC, PDLG, PLA) pürüzlülük değerleri Çizelge 4.9’da görülmektedir.

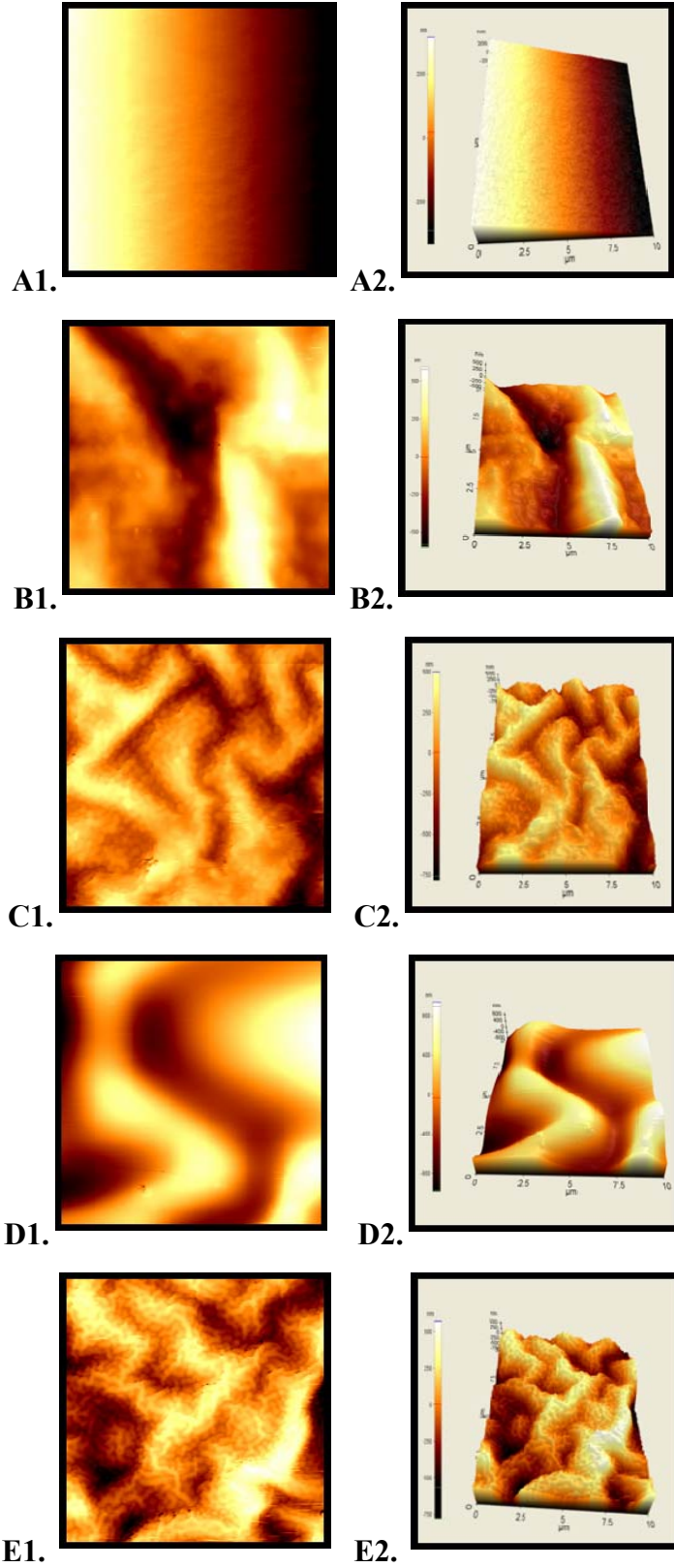
Çizelge 4.9 Au ve C implante edilmiş PLC ve PDLG polimerlere ait pürüzlülük değerleri

	İşlem	C	Au
	Görmemiş numune	implantasyonu	implantasyonu
PLC	32,433nm.	236,454nm.	254,453nm.
PDLG	179,236nm.	213,178nm.	249,5nm.

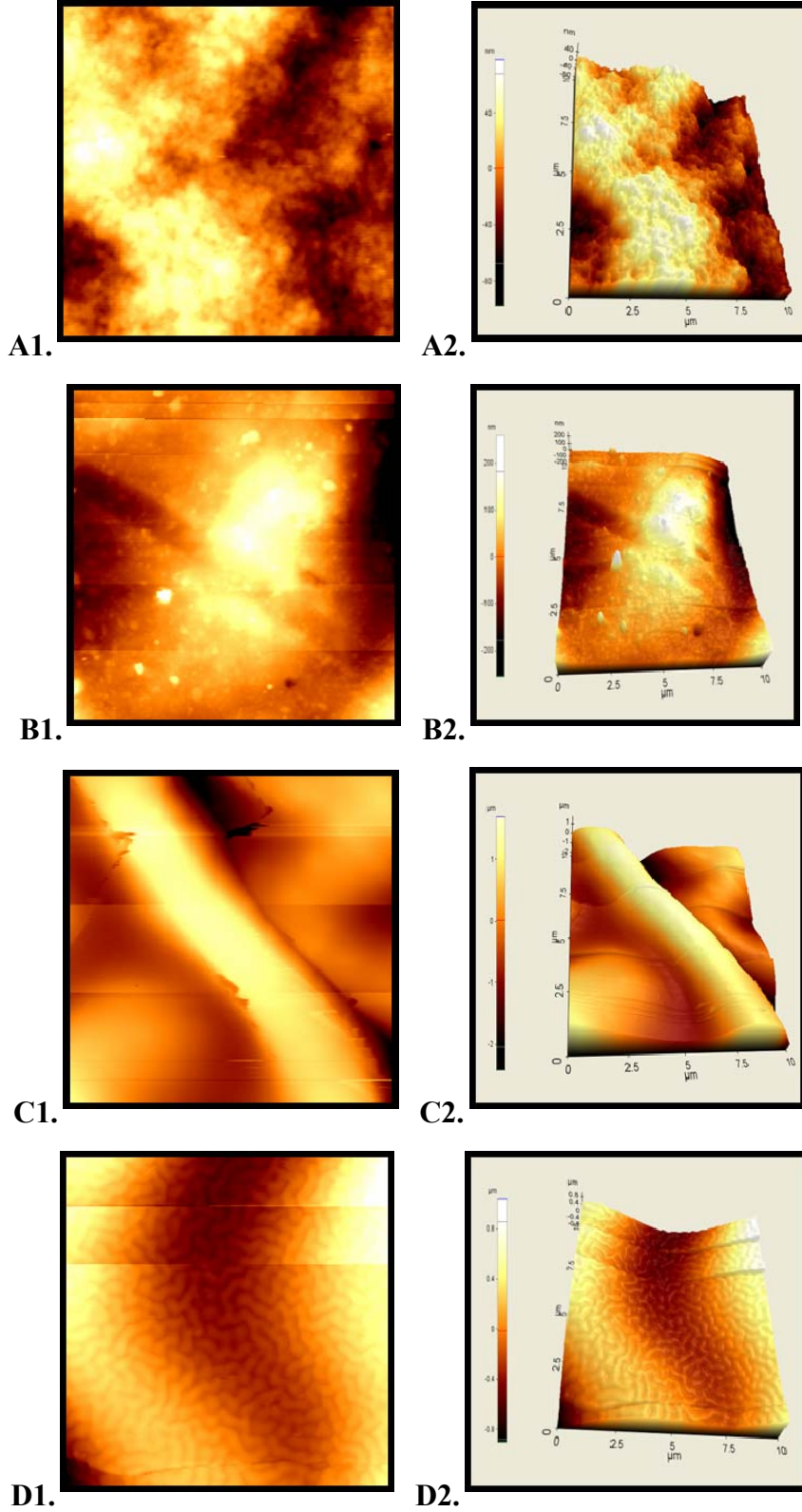
Tüm polimerlere ait yüzeylerin atomik güç mikroskobu ile alınmış topografik görüntüleri Şekil 4.40-43'. de sergilenmiştir. Ayrıca yüzeyde doz ve enerji değişimleriyle oluşan morfolojik değişiklikler Şekil 4.39 ve 40'da görülmektedir.



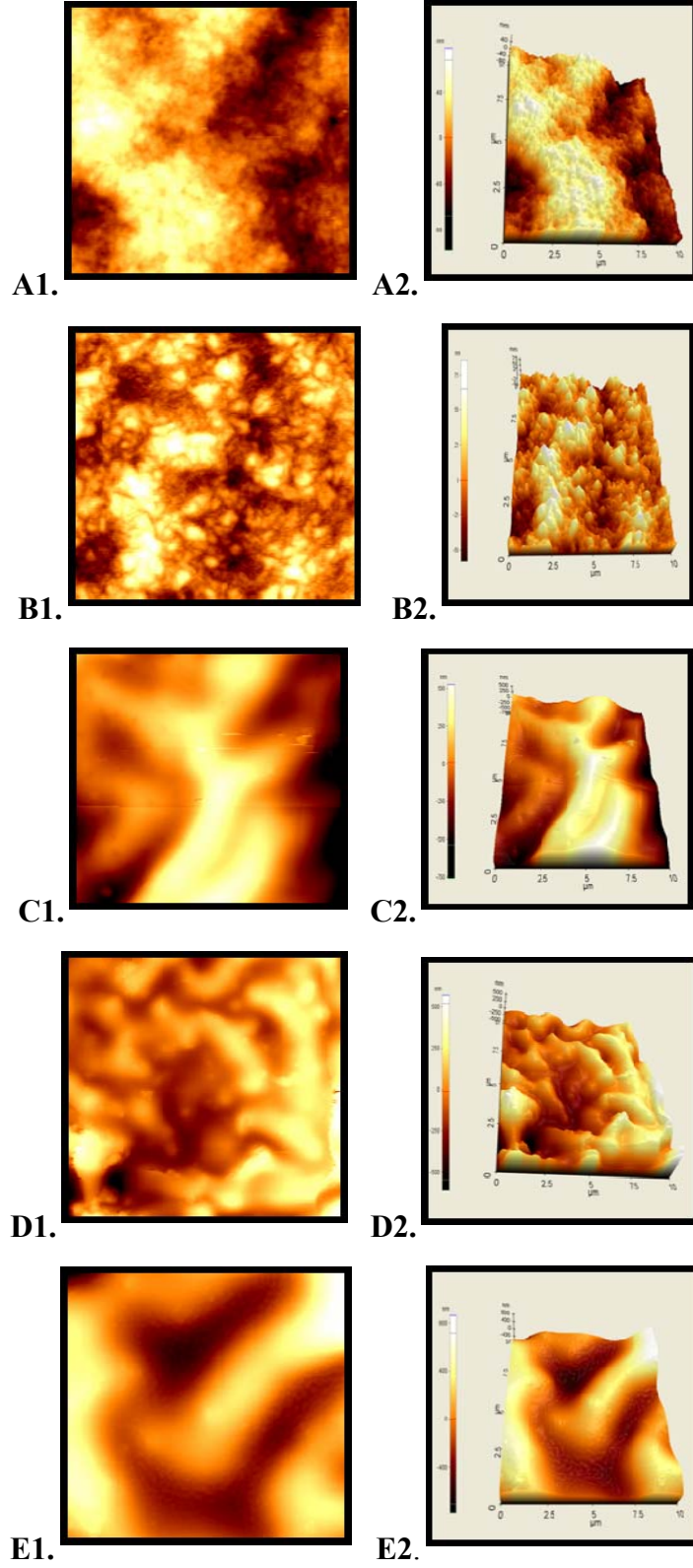
Şekil 4.40 PLC örneklerin farklı iyonlarla implantasyonu sonucu yüzeyinde oluşan topografik değişiklikler. PLC film yüzeyi (A1,2), Au implantasyonu (B1,2), C implantasyonu ile işlem görmüş numunelerin AFM görüntüleri.



Şekil 4.41 PDLG örneklerin farklı iyonlarla implantasyonu sonucu yüzeyinde oluşan topografik değişiklikler. PDLG film yüzeyi (A1,2), Au implantasyonu (B1,2), C implantasyonu, C-O implantasyonu, C-N implantasyonu ile işlem görmüş numunelerin AFM görüntüleri.

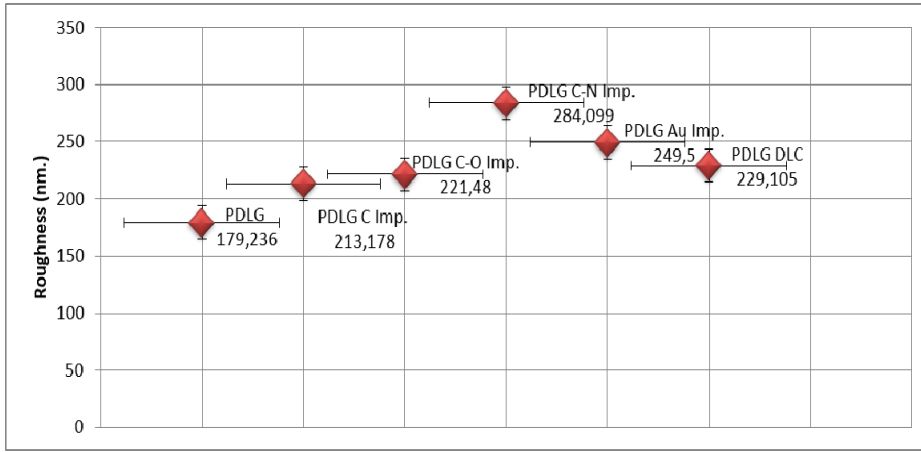


Şekil 4.42 PLC örneklerin farklı hızlandırıcı voltaj değerlerinde iyon implantasyonu sonucu yüzeyinde oluşan topografik değişiklikler. PLC film yüzeyi (A1,2), 20 (B1,2), 30 (C1,2), 40 (D1,2) keV. enerji değerlerinde işlem görmüş numunelerin AFM görüntüleri.

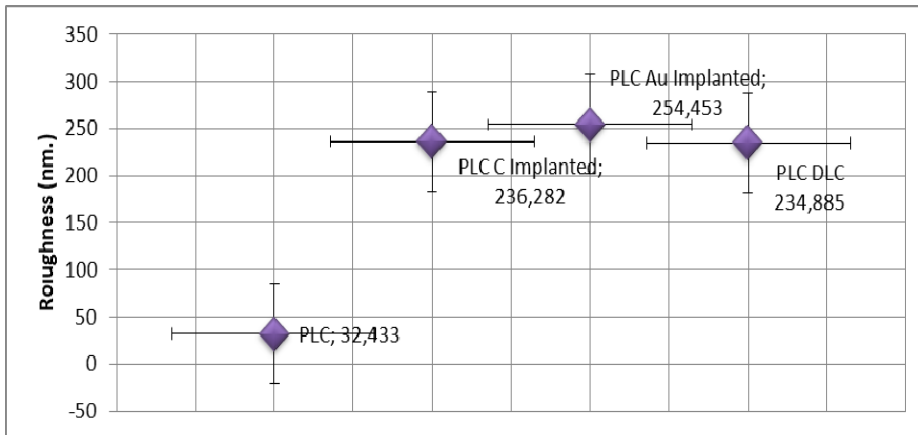


Şekil 4.43 PLC örneklerin farklı doz derecelerinde iyon implantasyonu sonucu yüzeyinde oluşan topografik değişiklikler. PLC film yüzeyi (A1,2), 1×10^{14} (B1,2), 1×10^{15} (C1,2), 1×10^{16} (D1,2), 1×10^{17} (E1,2) iyon/cm² doz değerlerinde işlem görmüş numunelerin AFM görüntüleri.

AFM görüntülerinde izlendiği gibi, DLG polimerine C, C-O, C-N, Au implantasyonları ve plazma depozisyon ile DLC kaplama gerçekleştirilmiş, pürüzlülüğü 179nm. civarında seyreden PDLG yüzeyinde bu değer, C implantasyonu sonrasında 213nm., C-O implantasyonu ile 221nm. , Au implantasyonu ile 249nm. değerlerine ulaşmış ve en yüksek pürüzlülük değerine 285nm. değeri ile C-N implantasyonu sonrasında ulaşılmıştır. PDLG yüzeyine plazma depozisyon ünitesi ile uygulanan DLC kaplamanın yüzey pürüzlülüğü 229nm. seviyesindedir ve bu değer implantasyon sonrasında alınan değerlerle hemen hemen aynı paralelde seyretmektedir.

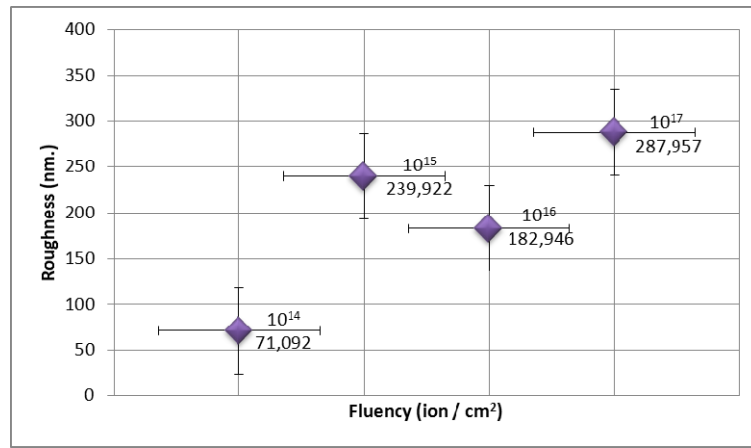


Şekil 4.44 Farklı plazma esaslı yüzey modifikasyon teknikleriyle işlem görmüş PDLG örneklerine ait pürüzlülük değerleri



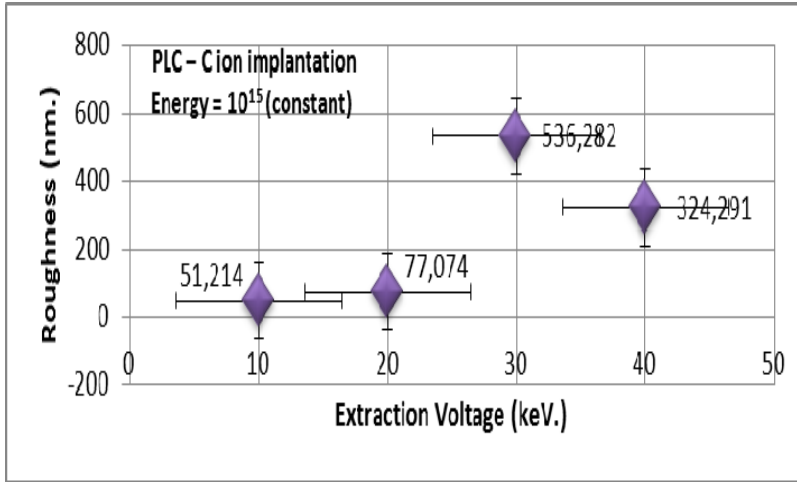
Şekil 4.45 Farklı plazma esaslı yüzey modifikasyon teknikleriyle işlem görmüş PLC örneklerine ait pürüzlülük değerleri

Pürüzlülüğün doz değerlerine olan bağımlılığı PLC ile incelenmiş, ve sabit enerjili 4 farklı doz değerinde (10^{14} , 10^{15} , 10^{16} , 10^{17}) Au implantasyonu gerçekleştirilmiş örnekler kendi aralarında Şekil 4.46'da karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmaya göre, pürüzlülük değeri, doz değeri arttıkça artış göstermektedir. Doz değerlerinin yüzey üzerine gönderilen atom sayısı ile ilişkisel bağımlılığı düşünülürse, yüzeye gönderilen daha fazla sayıda atomun daha fazla pürüzlülük oluşturması normaldir, ancak 10^{15} doz değerinde oluşan pürüzlülük 239 nm iken 10^{16} doz değerinde bu değer 182nm'ye inmiştir.



Şekil 4.46 Pürüzlülüğün, yüzey modifikasyonu için kullanılan farklı doz değerlerine göre değişimi. Sabit enerjili 4 farklı doz değerinde (10^{14} , 10^{15} , 10^{16} , 10^{17}) Au implantasyonu gerçekleştirilmiş PLC örnekler ile çalışılmıştır.

Bir diğer inceleme, enerji değerlerinin pürüzlülük üzerine etkileri bakımından yapılmıştır. PLC'nin sabit 10^{15} doz değerinde farklı enerjilerle Au implantasyonu şeklinde gerçekleştiren bu değerlendirmenin sonuçları Şekil X'de izlenebilir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, 10 ve 20 keV. enerji değerleri malzeme üzerinde pürüzlülük bakımından kayda değer bir değişiklik oluşturmazken 30keV. ve üstü değerlerde pürüzlülük artmaktadır. Burada özellikle 40 keV. de pürüzlülükte tekrar bir azalmanın gözlenmesi, termal etkilerin de pürüzlülükte rolü olduğunun bir işaretidir.



Şekil 4.47 Yüzey modifikasyonu sırasında kullanılan farklı enerji değerlerinin pürüzlülük üzerine etkileri. PLC'nin sabit 10^{15} doz değerinde farklı enerjilerle (10,20, 30, 40 keV.) Au implantasyonu.

Tüm bu yapısal değişiklikler literatürde de genişçe yerbulmuştur ve pürüzlülük mekanizmaları olarak adlandırılır (*roughness-induced mechanism*) (Şekil 4.48) (Sigmund 1973) Bu mekanizmalara ilişkin literatürde, temel üç farklı etkileşim sıralanmaktadır :

- *Birincil etkiler:* Bombardıman neticesinde yüzeye ulaşan öncül parçacıklar, yüzey üzerinde gelişigüzel desenler ve ikincil parçacıklar oluşturur.

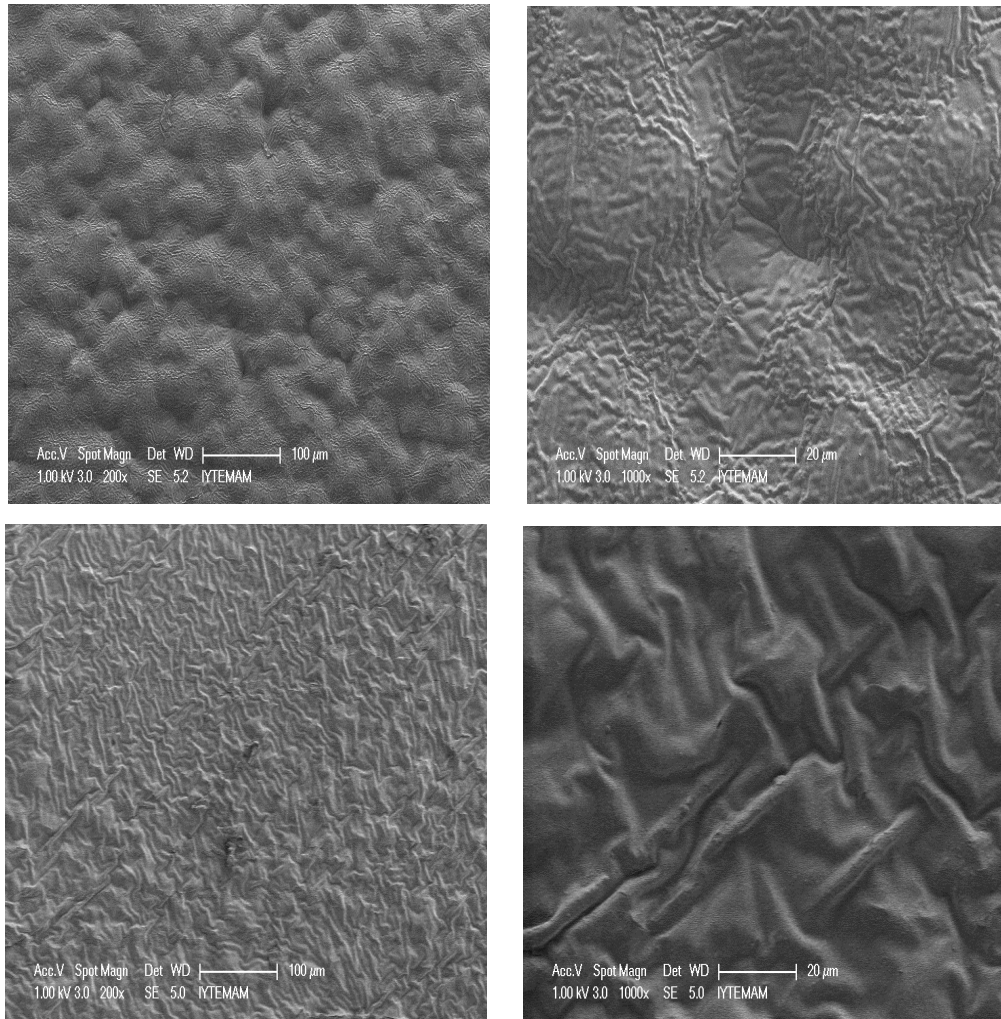
- *İkincil etkiler:* Öncül parçacıkların etkisiyle oluşum gösteren ve kimi zaman saçılmayla kimi zaman malzeme yüzeyinden fırlayarak oluşan ikincil parçacıklar yüzey üzerinde koni ve piramitlerin oluşumuna neden olur.

- *Tersiyer etkiler:* Geniş tepeler ve vadiler boyunca oluşan koniler ve piramitler düzelemselleşir ve adeta kendiliğinden organize olmuş düzenli bir yapı sergiler (Şekil 4.48). Bu noktada düzlemsel yapının oluşumuna öncül ve ikincil parçacıkların ne düzeyde katkısı olduğu halihazırda belirsizliğini muhafaza etmektedir.

Koni oluşumuyla ilişkili ilk çalışmalar Wehner tarafından ortaya konulmuştur ve bu çalışmalarda Wehner pürüzsüz polikristal yüzeylerin konik yapılara dönüşümünü ve bu dönüşümün iyon bombardımanının açısallığına olan bağlılığını sergilemiştir (Wehner, 1959). Bu konuda bir diğer çalışmada Wilson

ve Kidd (1971), kimyasal yöntemlerle zımparalanmış polikristal yüzeylerde Au bombardımanı ile oluşan koni ve piramitleri göstermişlerdir.

Bu çalışmada saçılma sistemini açıklamak, birincil ve ikincil bombardımanın etkilerini polimerlerde izlemek açısından Şekil 4.40. de görülen SEM fotoğrafları incelenebilir. Polimerlerde oluşan yapıları açıklayan bir teori ortaya konulmamakla birlikte bunun kontrol edilmesine dair çeşitli çalışmalar literatürde raporlanmıştır (Sigmund, 1973; Thornton, 1975)

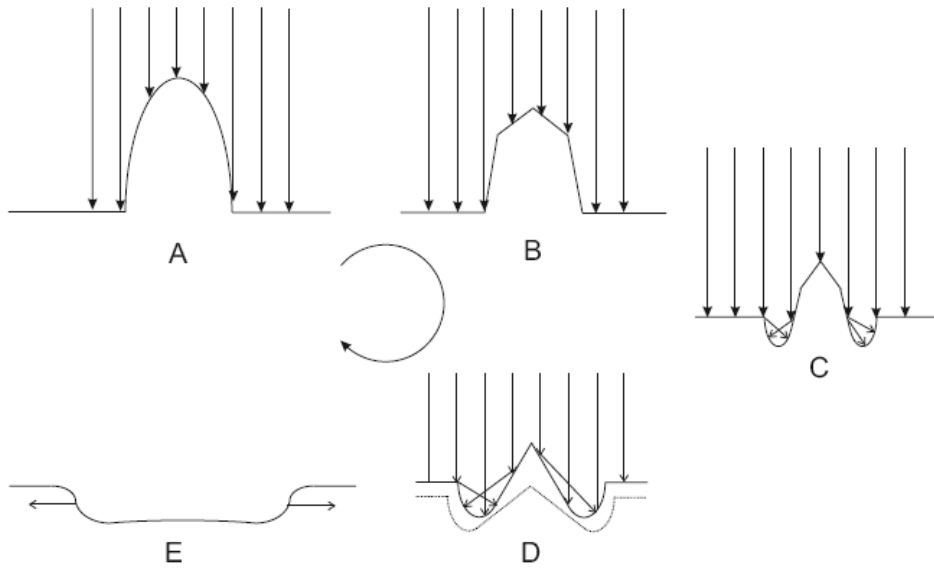


Şekil 4.48 PLC film örneklerde iyon implantasyonu sonucu film oluşumunun SEM fotoğrafları (200x, 1000X)

Şekil 4.48. de SEM ile alınan film görüntüleri görülmektedir. Vadiler ve tepeler üzerinde dikine biriken sütun oluşumları izlenmektedir. Bu durum

örneklerin pürüzlülük seviyelerini değiştirmektedir. Bu gözlemler Sigmund tarafından ortaya koyulan ilk modelle örtüşmektedir (Sigmund, 1973).

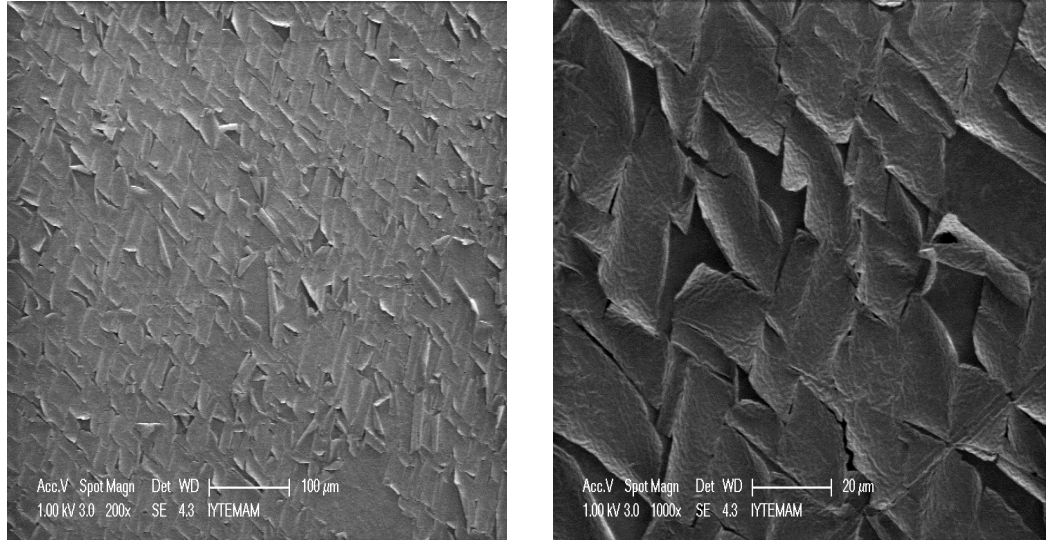
Bu modele göre iyon bombardımanı esnasında oluşan konilerin tepelerinden vadilere doğru uzanan atomik migrasyon belirli bir süre sonra düzleşme eğilimi göstermektedir ve bu teori literatürde *roughness-induced mechanism – pürüzlülükle indüklenen mekanizma* olarak yer almıştır (Şekil 4.48, 49). Burada gerçekleşen birincil proses sıcaklıktan bağımsızdır ancak ikincil proses de termal aktivasyonun etkilerin rolü vardır. Numune üzerinde hangi mekanizmanın devreye girmesini istiyorsak ona bağlı olarak sıcaklıkla oynarak dilediğimiz ayarlamayı yapmamız mümkün olabilmektedir. Böylelikle örneğin proses sıcaklığını ayarlamak suretiyle daha pürüzlü yüzeyler elde edilebilir ya da tam tersi mekanizma işletilerek yüzey pürüzlülüğü azaltılabilir.



Şekil 4.49 Pürüzlülük indükleyen mekanizma esnasında konik oluşumunun safhaları : konveks yapı oluşumu (A) iyon bombardımanı ile piramit şeklini alır (B). İkincil etkilerin etkisiyle piramit gittikçe keskinleşir (C) keskinleşir (D.) ve tersiyer etkilerin devreye girdiği safhada düzlemsel bir yapı oluşur (E) (Franz 2009)

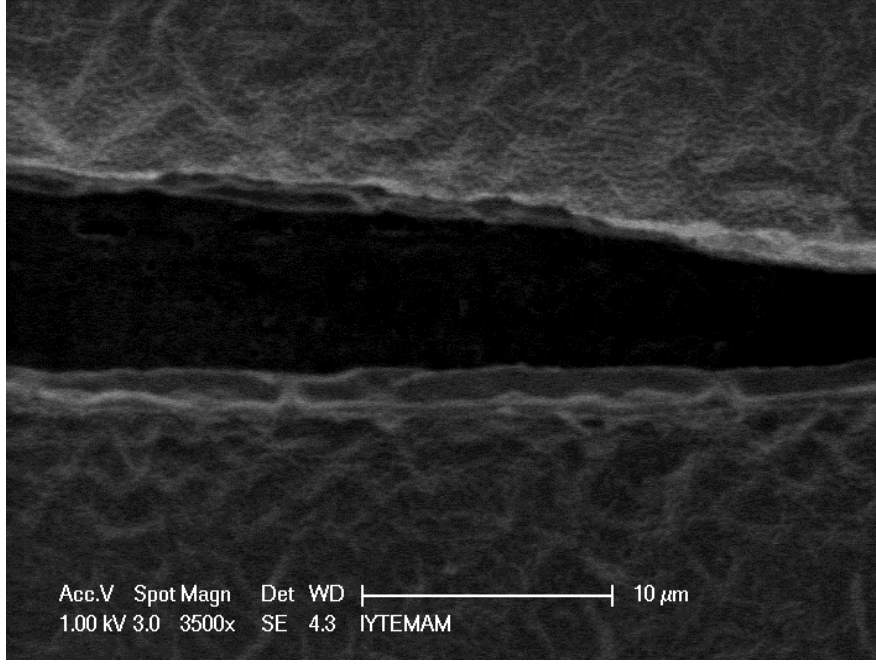
Konik yapılar, pürüzsüz yüzeyler ile çalışıldığında daha yavaş düzlemsel yapıya kavuşurken, iyon menzil derinliğinin de koni oluşumuna etkileri vardır. Buradan hareketle ilk defa Pashley (1963) ve arkadaşları (1964) tarafından SEM

mikroskopla alınmış görüntüler ışığında oluşturulmuş film oluşumu teorisine gelinmektedir. Bu teorinin Thornton'un (1975) ortaya attığı saçılma teorisi ile birleştirilmesiyle film oluşumu, 5 ana durumdan oluşan aşağıdaki aşamaları içeren bir tanıma oturtulmuştur: Nükleasyon, adacık oluşumu, koalesans, kanal oluşumu ve aglomerasyon.



Şekil 4.50 PDLG yüzeylerde iyon bombardımanı sonrasında izlenen defektlerin SEM görüntüleri (200x, 1000x)

Şekil 4.50’de, PDLG yüzeylerde iyon bombardımanı sonrasında izlenen kalkmalar görülmektedir. Burada görüldüğü gibi iyon bombardımanı ile yüzeyde oluşan film tabaka, parçalar halinde yüzeyden kalmıştır. Bu durum yüzeyin atomla kimyasal affinitesi, numunenin ergime sıcaklığı , ortam basıncı gibi bir dizi parametre ile ilişkilidir.



Şekil 4.51 PDLG yüzeyde 30dk. 100eV. kutuplama Voltajı ile gerçekleştirilen DLC kaplamanın kesiti SEM görüntüsü (3500X)

PDLG yüzeyde 30dk. 100eV. kutuplama Voltaj değerinde Plazma Depozisyon Cihazı ile gerçekleştirilen DLC kaplamanın kesit görüntüsü, yüzeyde oluşan kaplamanın kalınlığı hakkında kabaca fikir vermektedir. Şekil 4.51’de görülen SEM görüntüsüne göre yaklaşık olarak bu değer 2 mikron civarındadır.

Yatayda birikme, dikeyde birikmeye oranla daha fazla olduğundan gaz fazdan direk absorpsiyon yerine yüzeyden desorpsiyonun olması daha fazla beklenir. Zincirlerarası mesafe fazladır ve aynı koşullar altında kütle malzemeye göre daha yüksek buhar basıncına sahiptirler, ve bu durum Gibbs-Thomson denkleminde hareketle (ya da diğer adıyla Kelvin denklemi) süpersatürasyon faktör tüm malzemeye uyarlanamazsa termodinamik olarak sabit kalmayan bir durum oluşturur (Franz 2009)

$$p_{\text{cluster}} = p_{\text{bulk}} \exp \left\{ \frac{2\Gamma}{r n k_B T} \right\}$$

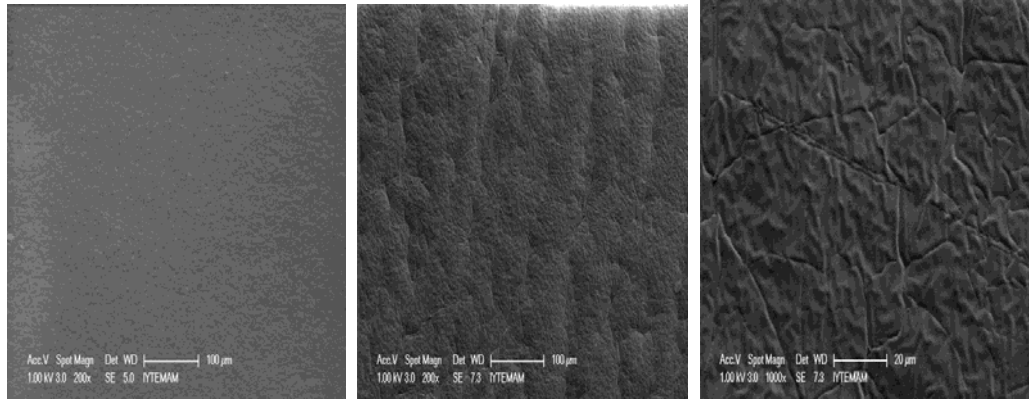
Burada Γ = yüzey gerilimi r =kümenin çapı olarak belirtilmiştir.

Bu durumda, film oluşumunu, adacık oluşumu ile süregeler.

Prensipte engelleyici faktör olarak karşımıza çıkan 2 durum sözkonusudur:

- Yüzey ve atom arasında güçlü kimyasal affinite oluşması durumunda çekirdek bağl olarak düzlemsel kalır ve yüzey boyunca yatayda gelişir.
- Farklı malzemelerle zayıf bağlantının olduğu durumlarda dikeyde gelişim izlenir.

Bununla birlikte ilk durumda uygun arayüz difüzyon prosesleri ve buna bağlı kimyasal reaksiyonlarla gerçekleşir ve bu durumda yapışma van der Waals kuvvetleriyle ilişkili olup zayıf bağ özelliği göstermektedir. Stabilizasyon sadece Kirkendall delikleri oluştuğu durumda elde edilir, bu durum arayüzeyde varolan iki materyal arasında çok seri bir difüzyon hızı gerektirir. Yüksek difüzyon hızı neticesinde boşluklar oluşur ve bu boşlukların diğer malzeme tarafından doldurulmasıyla mekanik kilitlenme devreye girer ve bu durumda kuvvetli bağlanma gerçekleşir (Franz 2009).



I.

II.

III.

Şekil 4.52 Plazma depozisyon yöntemi ile PLC yüzeyde tutunan DLC film SEM görüntüleri (200X) (I. PLC film yüzeyi, II. 100eV. 30dk. DLC film , III. 100eV. 60 dk. DLC film)

Yüzeyde biriken atomların çoğalması sınırları belli olan kristalografik köşelerin yavaş yavaş kaybolmasına neden olur, böylelikle sıvı damlacıklara uyarlanan Kelvin denklemi sağlanmış olur. Bunun da ötesinde uydu damlacıklarla gerginleşerek daha büyük adacıkların oluşumu izlenir ve yayılma gerçekleşir.

Sonuç olarak adacıklar birbirleriyle temas ederler ve yüzey gerilimi dolayısıyla daha büyük adacıkların oluşumu olarak tanımlayabileceğimiz koalesans gerçekleşir. Adacıkların gelişimi ve sınırların belirsizleşmesi, yüzeyde gelişmiş tekil bir yapının oluşumuyla son bulur. Sonuç olarak dar kanallarla birbirinden ayrılmış uzun spotlar oluşur ve bu kanalların da dolmasıyla aglomerasyon olarak adlandırılan iki boyutlu yapı oluşumu izlenir.

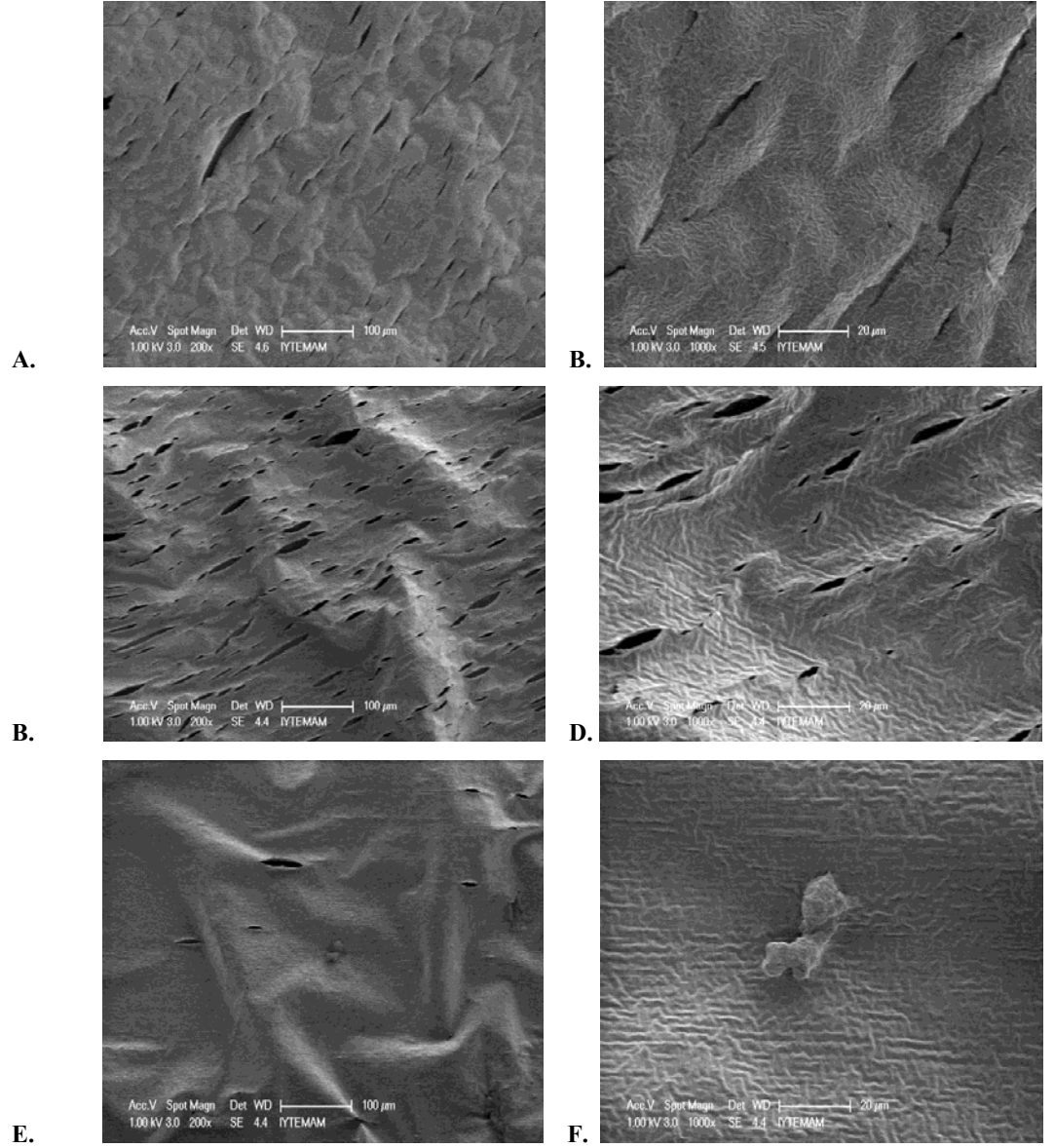
Böylelikle film oluşumu tamamlanır ancak bunun devamında bombardıman devam ettiği müddetçe gelişim, üçüncü boyuta devam edecektir. Burada tekrar sınırlandırıcı 2 ayrı mekanizma sözkonusu olur: İki malzeme arasındaki düşük kimyasal affinite sütunlar şeklindeki morfolojiye neden olurken yüksek kimyasal afinite eşitleyici etkide bulunur ve sütun oluşumunu engeller (Franz 2009).

Ortamdaki basıncın etkilerini incelersek, saçılan atomların termal etkiye maruz bırakılmadığı durumlarda, yüzeyde biriken atomların mobilitelerinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir, ve bu durumda kolaylıkla dengeleme prosesi devreye sokulur böylelikle dikey gelişim baskın olmaz. Özellikle buharla depozisyon yönteminde kimyasal veya fiziksel etkilerden bağımsız ihtiyaç duymaktadır. Bununla birlikte sütunların boyutları T_s/T_m (T_s = numune sıcaklığı, T_m = erime sıcaklığı) parametresinin artışına bağlı olarak artış gösterir (Franz 2009).

Basıncın yükselmesiyle ortalama iyon enerjilerinde düşüş olması beklenir. Thornton buna sebep olarak serbestlik derecelerindeki artışı göstermektedir (Thornton 1975, Franz 2009). Kendisi, gene Movchan ve Demchisin'in oluşturduğu model üzerinden bir takım geliştirmeler yaparak burada esas olarak etkili olan iki mekanizma tanımlamıştır: inert gaz atomlarının çarpışmalarının etkisiyle birikme akımının normal bileşeni düşüş gösterir bununla birlikte oblique bileşeni güçlenir ve bu durum topografik farklılıkların dengelenmesine yol açar (Franz 2009).

Yüksek basınca eşlik eden sıcaklıktaki artış atomların rezidüel enerjilerinde azalmaya yolaçacaktır. Yükselen basınç durumunda numune

sıcaklığını düşürdüğümüzde, oluşan proses tersine dönecek böylelikle birinci mekanizma ikinciye baskın gelecek ve yüzeyde sütun yapıların oluşumu izlenecektir. Diğer yandan en iyi yapışma düşük basınç ortamında beklenmektedir.



Şekil 4.53 Plazma depozisyon yöntemi ile PLA, PDLG, PLC yüzeyde oluşan DLC film defektleri, SEM görüntüleri (200X, 1000X) (A.,B. PLA film yüzeyi, C.,D. PDLG film yüzeyi, E.,F. PLC film yüzeyi)

İyon bombardımanı ve numune sıcaklığına bağlı olarak mikroyapı, amorf dan polikristaline farklılık gösterebilir. Örneğin, düşük numune sıcaklıklarında çalışırken iyon enerjilerini yükseltmek ile durum dengelenebilir.

Şekil 4.43-48 ve 4.53’de görüldüğü gibi, tüm yüzeyler nanoskalada pürüzlü yapı sergiler ve bu türlü yapılarda tepeler vadilere oranla daha fazla atom birikimine neden olacaktır. Yüzeyde biriken atomların kinetik enerjileri içeri girenlere oranla daha yüksektir.

4.4.5 Kontak Açısı Ölçümleri:

Film oluşumunun sonlanması termodinamik bakış açısıyla yüzey enerjisinin minimize olduğu duruma denk gelir. Malzeme üzerinde yüzeysel ve hacimsel boyutta buharlaşma, yoğunlaşma ve difüzyon mekanizmaları da devreye girer. Özellikle kirlilik ya da saçılma dolayısıyla ortamda varolan iyonlar ve rezidü gazları yüzey gerilimi oluşturur (Satriano et. al. 1999) .

Çizelge 4.10’da her üç polimerin Au ve C implantasyonu sonrası saf su ile yapılan kontak açısı ölçüm değerleri ve buna bağlı olarak hesaplanan yüzey enerjisi değerleri görülmektedir. Görüldüğü üzere her iki türlü yüzey modifikasyonu yüzey üzerinde benzer etkileşimi oluşturmuştur ve böylece PLA, PDLG ve PLC yüzeyleri hidrofilik özellik kazanmışlardır.

Çizelge 4.10’da izlenen laktik asit türevi polimerlerde ise PLA, PLC ve PDLG örneklerde yüzey, hem C hem Au implantasyonu sonrası hidrofobtan hidrofile değişim göstermektedir. Sonuçlar genel olarak XPS ve FTIR datalarıyla uyumludur.

Çizelge 4.10 PLA, PLC, PDLG numuneler için optimal dozda gerçekleşen C ve Au implantasyonları sonrası yüzey kontak açısı değerleri

	Film Örnek	C İyon İmplant Edilmiş Örnek	Au İyon İmplant Edilmiş Örnek
PLA	77°	64°	63°
PLC	82°	67°	61°
PDLG	71°	44°	56°

Çizelge 4.10’da izlendiği gibi kontak açısı değeri PLA’ da 77° iken C implantasyonu ile bu değeri 64’e ve Au implantasyonu ile 63’e düşmüştür. Aynı şekilde PLC için ise kontak açısı değeri 82 iken C implantasyonu ile 67’ye ve Au implantasyonu ile 61’e düşmüştür. PDLG filmde ise kontak açısı değeri 71 iken C implantasyonu ile 44’e Au implantasyonu ile 56’ya düşmüştür.

Burada kontak açısı değerlerinin her üç polimer için Au ve C implantasyonu ile düştüğü söylenebilir. Bu durum yüzeyin hidrofob’dan hidrofil’e değiştiğinin göstergesidir. Bu durum ATR-FTIR ve XPS sonuçlarıyla uyumludur. ATR-FTIR sonuçlarına göre yüzeydeki metil grupları segregasyon olmuştur ve bu kırılmalar sonucu yüzeyin hidrofil özellik göstermesi beklenir. AFM sonuçlarının da izlendiği gibi yüzey implantasyon sonrası pürüzlülük değeri artmaktadır ve bunun kontak açısına etkisinin tam tersi yönde olması beklenirken yüzeydeki hidrofil davranışın, yüzeydeki metil grupların yani CH bağların kırılmasıyla oluşan serbest radikallerin Oksijen’le bağlanması sonucu oluştuğu düşünülebilir. Bu durum yüzeyin hidrofil yapısına morfolojik (pürüzlülük) değil kimyasal etkinin hakim olduğunun bir belirtisidir.

4.4.6 Sonuç:

Bu çalışmada biyouyumlu yüzeyler elde etmeye yönelik plazma esaslı iki ayrı metot uygulanmıştır, enerjetik iyon implantasyonu ve plazma kaplama. Bu konuda yapılan geçmiş çalışmalarda malzeme olarak polimerik ince filmler (hassas ve esnek yüzeyler) yerine iyon ışıını esnasında elektriksel yük bakımından nötral kalan ve aynı zamanda belirli düzeyde moleküler fragmentasyon göstermeyen malzemeler tercih edilmiştir. Bu ana kriterler, MEVVA kaynaktan üretilen iyon bombardımanı ve plazma esaslı modifikasyon esnasında kontrol edilebilmektedir. Yüzey üzerine gönderilen iyon ışıının her defasında kendiliğinden nötralize olmasının sağlanması ve iyon bombardımanı vuruş tekrar hızının ayarlanması aracılığıyla işlemsel parametreler bakımından optimal kondisyonun belirlenmesi, tez'in özgün değerini teşkil etmektedir ve böylece hassas ve esnek yüzeylerin kaplanması mümkün olmuştur. Tez'in bir diğer özgün değeri, her iki metodun bir arada uygulanması suretiyle ara yüzeyin malzeme içinde yayılmasını sağlamak bu sayede hassas ve esnek yüzeyler üzerinde dayanıklı plazma kaplamalar elde edilmesidir.

Malzeme yönünü ele aldığımızda, esnek malzemelerde, yüzeye çok iyi bağlanmış dökülme sorunu yaşamayan kaplama oluşturmak oldukça zordur. Bu çalışmada, buna dönük, plazma depozisyon tekniği uygulanmıştır. Böylece, malzemede yüzeyden içeriye doğru homojen atomik karışım oluşturulmaktadır. Bu teknikle keskin bir malzeme arayüzü oluşturulmadığından, dökülmeye karşı dirençli ince DLC filmlerin üretimi mümkün olabilmektedir.

Sonuç olarak her üç biyobozunur polimer için Au ve C implantasyonu kimyasal yapıda ve buna bağlı olarak yüzey morfolojisi ve yüzey enerjilerinde değişikliklere sebep olmuştur. Oluşan değişiklikleri ilişkisel olarak özetlersek:

Yüzey üzerinde iyon implantasyonu sonucu farklı bileşiklerin, iyonların depozisyonu, yüzeye difüzyonu ve farklı bileşiklerin oluşumu, yüzey kimyasını ve buna bağlı fiziksel özelliklerin değişimini tetiklemiştir.

XPS, FTIR, OAS, Raman ve Kontak açısı ölçümlerine göre yüzeyin kimyasal yapısı Au ve C iyon implantasyonu sonrası değişmektedir. FTIR sonuçları yüzeyde varolan metil grupların iyon implantasyonu sonucu kırılmalara maruz kaldığı bilgisini vermektedir. XPS analizinden görüldüğü üzere yüzeyde oluşan değişim, belirli doz ve enerji değerlerine göre kontrol edilebilir. Normalde belirli süre iyon ışınımına maruz kalan polimerlerin yüzeyinde karbonizasyon beklenmesine rağmen her iki implantasyon için de belirli doz aralıklarında yüzeydeki oksijen konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. Bu durum ışınım neticesinde yüzeyde serbest radikal oluşumu ve bunların işlem sonrası havayla teması sonucu yüzeyin oksidasyonu şeklinde açıklanabilir.

Raman analizlerine göre yüzeyde yapı kimi zaman grafitte eğilim gösterirken kimi zaman amorf özellik kazanmıştır. Plazma depozisyon cihazıyla uygulanan kaplama sonucu elmasa benzer karbon film yüzey elde edilmiştir ancak kaplamanın tutunma özellikleri açısından bu çalışmayı ilerletmek ve uyum parametreleri belirlemek gereklidir. Şu anki çalışmalar sonucu en iyi yapışma özelliği gösteren elmasa benzer karbon film yüzey, PLC polimeri üzerine C iyon implantasyonu ile elde edilmiştir.

Hızlandırılmış iyonların yüzeyle çarpışması sonucu gelişen prosesler, yüzey üzerinde vadiler, tepeler ve desenler şeklinde, SEM ile görüntülenebilen topografik değişimler biçiminde kendini göstermiştir. Buna bağlı olarak belirli doz ve enerji değerlerinin yüzey morfolojisine etkileri farklı mekanizmalar ortaya çıkarmaktadır. Yüzeyde koniler, tepecikler ve vadiler oluşumu SEM ve AFM fotoğraflarından izlenebilir, ayrıca bu oluşumların değişen doz değerlerine göre evrimi görüntülenmiştir. Tüm bu oluşumlar sonucu, C ve Au implantasyonu sonrasında yüzeylerin pürüzlülük değerlerinde artış izlenmektedir.

Yüzey kontak açısı değerleri ve buna bağlı yüzey enerji değerlerinde de değişimler vardır. Genel olarak C ve Au implantasyonu sonrasında yüzey, hidrofobtan hidrofil'e değişiklik göstermektedir. Bu sonuç, ATR- FTIR'la raporlanan yüzeyde metil grupların azalması sonucuyla uyumludur.

BÖLÜM 5. İYON İMPLANTASYONU VE PLAZMA İLE MODİFİYE EDİLMİŞ - DESENLİ BİYOBOZUNUR POLİMERİK YÜZEYLERDE SİNİR HÜCRE TUTUNMA DAVRANIŞLARI

5.1 Giriş

Plazma esaslı teknolojiler, genel anlamda hücre çoğalmasını tetikleyen yüzeylerin elde edilmesi bakımından oldukça kabul görmüştür (Marletta 2009). Bu anlamda plazma esaslı teknolojiler ve ince film kaplama yöntemleri yakın dönemde dünyanın birçok araştırma laboratuvarlarında ilgi çekmeye başlamış olan yöntemlerdir. Bu çalışmaların dikkat çekici yanı, diğer uyaranlara ve destekleyici malzemelere gerek duyulmaksızın, doku rejenerasyonunu tamamlar nitelikte sonuçlar vermiş olmasıdır. Bu çalışmalar ağırlıklı olarak kemik dokusuyla gerçekleştirilmiş olup aynı yaklaşımın sinir dokusuyla da sonuç verdiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Chu, 2006; Marletta, 2009).

Bu bağlamda, iyon implantasyonu ve plazma depozisyonu ile polimerik numunelerin yüzey işlemine tabi tutulmasını takiben yüzeyler üzerinde sinir hücreleri çoğaltılmış ve bu yüzeylerde biyouyumluluk testleri gerçekleştirilmiştir. Farklı polimer yüzeyler üzerinde sinir hücreleri ile yapılan hücre tutunması testleri sayısal anlamda karakterize edilmiştir. Elde edilecek sonuçlar, modifiye edilmiş yüzeylerin hücre tutunması davranışlarını sergilemesi bakımından son derece önemlidir. Bu tez kapsamında, sinir hücrelerinin tutunması ve çoğalmasına yönelik, farklı plazma ve iyon implantasyonu tekniklerinin etkinlikleri sayısal olarak karşılaştırılmıştır.

Sayısal verinin elde edilmesi için cam numunelerde farklı işlem görmüş yüzeylere 2 gün süre ile tutunan hücre sayısının kontrol numuneye tutunan hücre sayısına oranı hesaplanarak farklı yüzeylerin tutunmaya etkisi nümerik olarak belirlenmiştir. Tutunan hücrelerin çoğalma yeteneği, 4. gün sonunda farklı yüzeylerde birim alan başına düşen hücre sayısı üzerinden hesaplanmaktadır. Sinir hücresinin kültür ortamındaki en önemli fonksiyonu olan nörit uzatma yeteneği de mikroskop ile alınan görüntülerin değerlendirilmesi ile saptanmıştır (McLean and Ward 1998, Lau et. al. 2006, LoPachin, 2004).

Bunu takiben, modifiye edilmiş ve edilmemiş farklı özellikli yüzeyler, maskeleme yöntemiyle yanyana oluşturulmuştur. Böylelikle, maskeli yüzeylerde hücre kültürü çalışması gerçekleştirilerek sinir hücrelerinin farklı işlem görmüş yüzeylere tutunma ve çoğalma sonuçları karşılaştırmalı olarak sergilenmiştir.

Hücre çoğalması etkinliğinin sayısal değerlendirilebilmesi için, “hücre büyüme kontrast oranı” modifiye edilmiş yüzey bölgelerindeki hücre büyüme yoğunluğunun (örneğin bir santimetre karedeki hücre sayısı), modifiye edilmemiş yüzey bölgelerdeki hücre büyüme yoğunluğuna oranı olarak hesaplanmıştır.

Bunun yanısıra tez kapsamında litografik maskeler aracılığıyla DLC film kaplamalar ve iyon implante edilmiş bölgeler üzerinden desenlendirilmiş yüzeyler ve bu yüzeyler üzerinde in-vitro çalışmalarla desenli yaygın sinir ağları oluşturulmuştur.

5.2 Materyal ve Yöntem:

5.2.A Materyal

Hücre tutunma çalışmaları Sıçan B35 (ATTC numarası; CRL 2754) neuroblastoma hücre hattı ve fare Neuro2a (ATTC numarası; CCL-131) neuroblastoma hücre hattı. Literatürde, merkezi sinir sistemi çalışmalarında sıkça kullanılan, sıçan nöroblastoma, B35 model hücre dizisi, neonatal sıçanlara ait tümör dokusundan türetilmiştir ve hücre büyümesi, toksikoloji, farklılaşma çalışmalarında sıkça kullanılır. Bu çalışmada, in vivo denemeler için yüzey seçiminde homolog sistem oluşturmak amacıyla seçilmiştir. Fare adrenal medulladan türetilen Neuro2A hücre dizisi ise, özellikle sinir hücresi farklılaşması için model sistem olarak kullanılmaktadır ve iyon implante edilmiş örneklerin, ileride planlanabilecek bir hücre farklılaşması çalışmasına ne derece uygun olabileceğini saptamak amacıyla seçilmiştir.

Hücre tutunma çalışması sıçan nöroblastoma hücre dizisi ile PDLG, PLLA, PLC, Kitosan biyobozunur polimerleri ve ek olarak silikon ve cam malzemeler ile gerçekleştirilmiştir.

Cam malzeme, uygun doz ve enerji saptanması ve hücre tutunma deney serilerinin kaplanmış ve iyon implante edilmiş örnekler üzerinde, yüzey modifikasyonunu sağlayan doz ve enerji bakımlarından optimize edilmesine dönük çalışmalarda, seri sonuçlar almak ve polimerik etkileşimlerden bağımsız salt hücre-yüzey etkileşimini incelemek amacıyla kullanılmıştır.

Biyobozunur polimer malzemeler, bu türlü polimerik biyomateryallerin iyon implantasyonu ve plazma depozisyon metotlarıyla işlem gördükten sonra sinir hücresi tutunmasına elverişliliklerini karşılaştırmalı olarak değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır.

Litografi çalışmaları için silikon kristalleri kullanılmıştır.

5.2.B Malzemelerin Hazırlanması:

5.2.B.1 Polimer Filmlerin Hazırlanması

a.Poli L-laktid, Poli-(L laktid -ko glikolid) ve Poli (kaprolaktan) filmlerin hazırlanması için, PLLA, PCL ve PDLG (PURAC) ile çalışılmış ve çözücü döküm yöntemi kullanılmıştır. Polimerler 2 farklı çözücü ile (kloroform ve dioksan) %10'luk konsantrasyonda manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmüştür. Karışım cam petri kaplara dökülerek, önce oda sıcaklığında daha sonra vakum etüvünde 18 saat kurutulmuştur.

b.Kitosan Filmlerin Hazırlanması: Kitosan filmler yoğun ve asimetrik membran olarak hazırlanmıştır. Kullanılan kitosanın deasetilasyonu % 85 oranında olup Sigma Aldrich firmasından alınmıştır. Kitosan filmler % 2'lik konsantrasyonda, %2'lik asetik asit (çözücü) kullanılarak oda sıcaklığında 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonucunda elde edilen solüsyondaki hava kabarcıklarının giderilmesi amacı ile 90 dakikalık bekleme süresinin ardından petri kaplarına dökülen kitosanlar 50° C deki etüv de 4 saat süre ile kurutulmuştur. Kurumuş kitosan filmler, 60 dakika boyunca 0.5 M NaCl solüsyonunda, filmlerin nötrleşmesi amacı ile bekletilmiştir. Bu işlem sonrasında nötrleşen filmler distile su ile yıkanıp önce 50°C deki etüv de 30

dakika süre ile kurutulup, sonrasında bir gün boyunca oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Yüzey modifikasyonu öncesinde ultrasonik banyoda 10 dakika süre ile temizlenen cam ve silikon malzemeler, modifikasyon sonrasında in vitro çalışmalara hazır hale getirilmek üzere, 45 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Polimerik malzemelerin sterilizasyonu için örnekler, modifikasyon sonrası UV fırın'da 15'er dakika bekletilmiştir.

5.2.B.2 Yüzey Modifikasyonları:

Yüzey modifikasyonları için TUBITAK MISAG Projesi kapsamında inşa edilen ve Ege Üniversitesin'de varolan MEVVA kaynaklı iyon implantasyonu sistemi ve bu sisteme TUBITAK 108M391 no'lu proje kapsamında monte edilen plazma depozisyon ünitesi kullanılmıştır. Uygulanan prosedür Bölüm 4.1.B.2'de anlatılanla aynıdır.

Desenli yaygın sinir ağları oluşturmak üzere yüzeyler üzerine e-ışını maskeleme ve yarı-maskeleme metotları uygulanmıştır.

E-ışını maskeleme işlemi silikon tabakadan kesilen numuneler üzerine, Brezilya Sao Paulo Üniversitesi'nden Prof. Cecilia Salvatore ve ekibi tarafından mikron mertebesinde TUBITAK MAG yazısı yazılması suretiyle gerçekleştirilmiştir. Bunun için silikon numune e-rezist SUV polimeri ile kaplanmış ve e-ışınına maruz kalmak suretiyle bilgisayar ortamında aktarılan mikron seviyedeki TUBITAK MAG yazısı çerçevesinde numune üzerinden polimerin kalkması sağlanmıştır. Daha sonra numuneler halihazırda Ege Üniversitesi'nde varolan MEVVA kaynaklı iyon implantasyonu sistemi aracılığıyla Au implantasyonuna maruz bırakılmıştır. Böylelikle sadece e-ışını ile kalkmış tabakanın altı işlem görmüş diğer bölgeler işlem görmeksizin maskelenmiştir.

Yarı maskeleme için ise, cam ve polimer örnekler yarıya kadar 0,1 mikronluk ince çelik saç ile maskelenerek iyon ışınımına tabi tutulmuşlardır.

Böylelikle aynı numune üzerinde işlem görmüş ve işlem görmemiş tarafların sergilediği farklı özellikler incelenmiştir.

5.2.B.3 *In Vitro* Denemeler:

Materyaller üzerine yerleştirilen hücreler 1, 4 ve 7 gün süreler ile %10 FBS, % 1 L-glutamin, 100 U/ml penisilin, 100 mg/ml streptomisin DMEM ile %5 CO₂ 'li ortamda 37°C'de inkübe edilmiştir. Hücre yoğunluğu 4-6 x 10⁵ hücre/mL olarak kullanılmıştır.

Örneklere ait besi ortamı, 48 saatte bir serum içermeyen, sinir büyüme faktörü (NGF, 50ng/ml) ilaveli DMEM ile değiştirilerek kültür süreleri tamamlanmış ve hücrelerin tutunma ve üreme özellikleri ile nörit oluşumları incelenmiştir. Farklı hücre dizilerinin farklı yüzeylerdeki davranışlarını karşılaştırmalı olarak belirlemek amacıyla inverted faz kontrast mikroskopi ve taramalı elektron mikroskopi (SEM), silikon üzerindeki litografi incelemeleri için ise stereo mikroskopi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

- ***Faz kontrast mikroskopi:***

E.Ü. Biyomühendislik Bölümü'nde mevcut Olympus marka (CK-40), kamera ataçmanlı inverted faz kontrast mikroskop kullanılmıştır. Bu yöntemle sadece ışık geçirgen yüzeylerdeki hücre davranışları izlenebilmiştir.

- ***Stereo Mikroskopi:***

E.Ü. Biyomühendislik Bölümü'nde mevcut Manüel Leica MZ16 F, floresanlı manuel stereo mikroskop kullanılmıştır. Tam apokromatik floresan stereo mikroskopunun kamera ataçmanı ile bilgisayar ortamında görüntü alabilmek mümkündür. Bu mikroskop, ışık geçirmeyen silikon numunelerle gerçekleştirilen mikron mertebesindeki litografik çalışmaları görüntülemek üzere kullanılmıştır.

- **SEM ile İnceleme Yöntemi:**

İmplant materyalleri üzerinde çoğaltılan hücreler, 0.1 mol/L sodyum kakodilat ile tamponlanmış % 2.5'lik glutaraldehit solüsyonu içine yerleştirilmiş ve buz üzerinde 1 saat süre ile bekletilmiştir. Daha sonra örnekler, sodyum kakodilat tamponu içinde 30 dak. süre ile yıkanarak, 0,1 mol/l sodyum kakodilat ile tamponlanmış %2'lik ozmiyum tetroksit içinde postfiksasyon sürecine tabi tutulmuşlardır. Bu süreç sonunda, distile su ile iki kez 10'ar dakika yıkanan örnekler, alkol serisi içinde (%35, %70, %85, %95 ve %100, 5er dak.) dehidrate edilerek kurutma amacı ile 10 dak. hekzametildisilazan solüsyonu içinde bekletilmiştir (Deliloğlu-Gurhan ve ark. 2006). 30 dak. süre ile havalandırılarak kurutulduktan sonra pirinç taşıyıcılar üzerine yerleştirilen örnekler, İ.Y.T.E. Malzeme Araştırma Enstitüsü'nde bulunan Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Phillips XL 30S-FEG) kullanılmıştır. Kullanılan SE dedektörü ile 3 boyutlu topografik görüntü, BSE dedektörü ile atomik kontrasta bağlı 2 boyutlu görüntü sağlanmıştır.

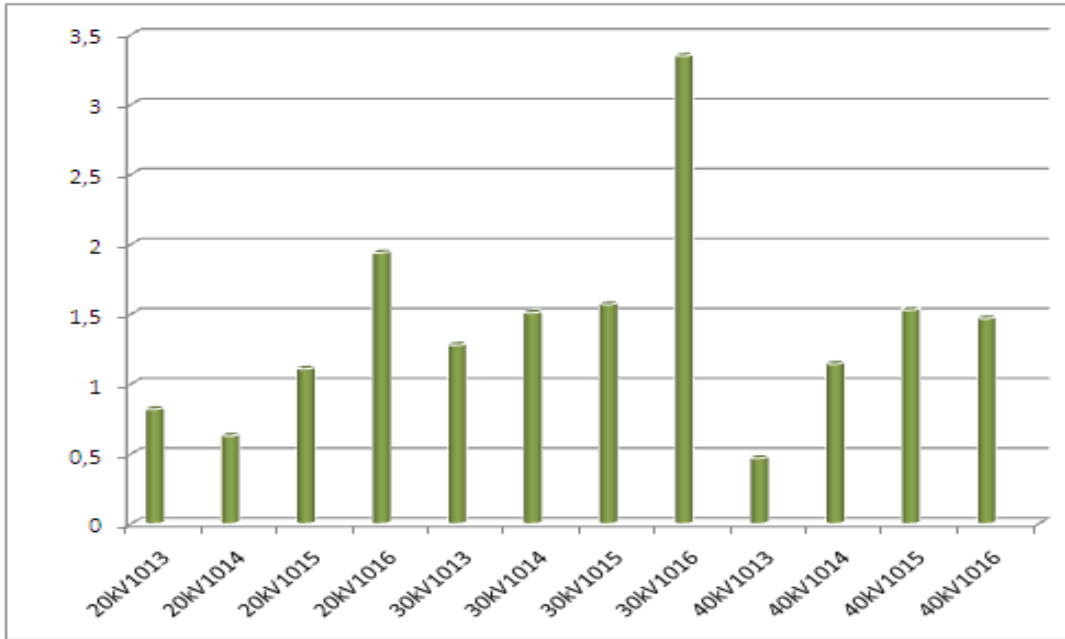
5.3 Sonuçlar:

5.3.1 Cam Numuneler Üzerine İyon İmplantasyonu

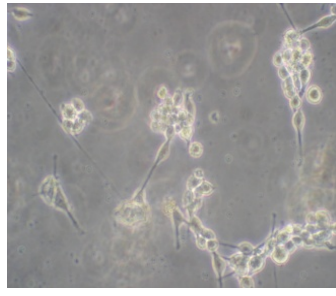
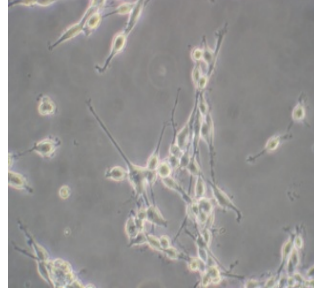
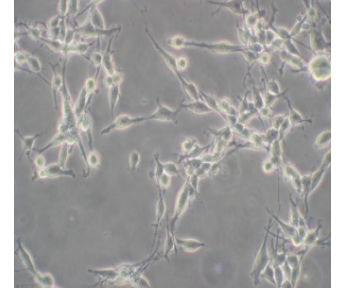
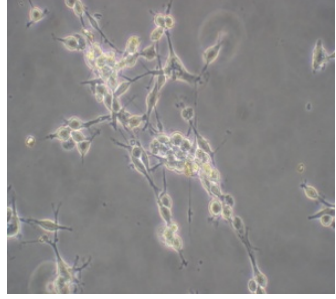
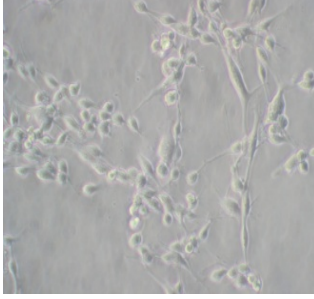
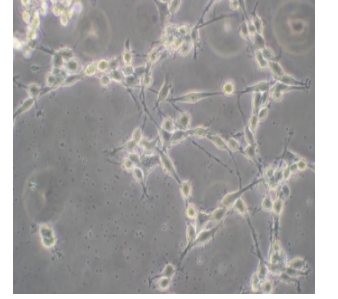
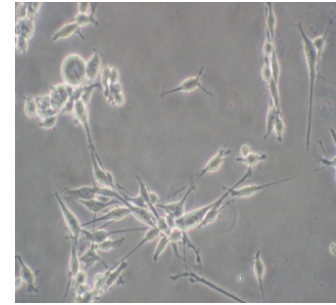
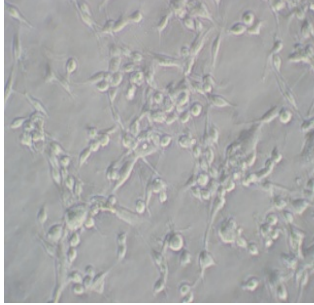
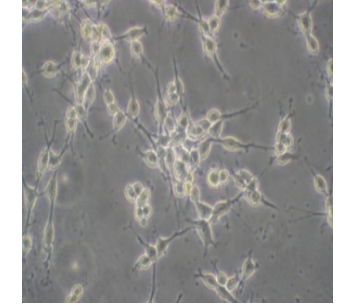
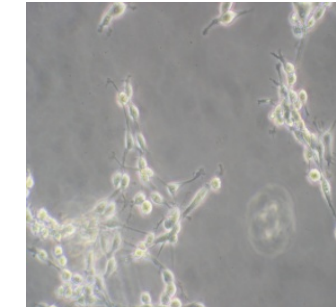
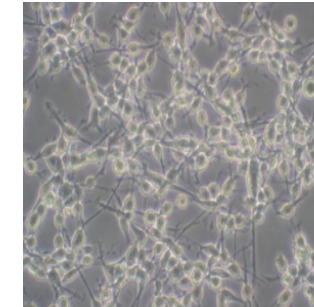
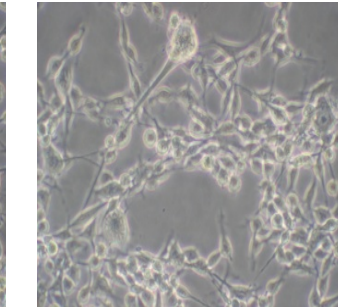
Cam numuneler 20, 30, 40kV. yük dağılımı ve 1×10^{13} , 1×10^{14} , 1×10^{15} , 1×10^{16} iyon akımı değerlerinde C iyon implantasyonu ile yüzey modifikasyonuna tabii tutulmuş ve Çizelge 5.1 ve Şekil 5.1' de sunulan sonuçlar alınmıştır. Buradaki veriler her bir doz ve enerji değerinde işlem görmüş cam numuneye tutunan hücre sayısının, işlem görmemiş cam numuneye tutunan hücre sayısına oranını temsil etmektedir. Bu şekilde yapılan çalışma sonuçları Resim 1. de grafik olarak ifade edilmiştir. Şekil 5.1'de yeralan grafik ve Çizelge 5.1'den görülebileceği gibi 3 deneme sonucundan alınan ortalama değerler ışığında en uygun yüzey, 30 kV. enerji 1×10^{16} iyon akımı ile C implante edilmiş olandır. Bu değerlerle işlem gören numunelerde hücre tutunma davranışında 3 katı düzeyinde iyileşme gözlenmiştir. Yapılan 3 denemeyi temsil eden faz-kontrast mikroskop görüntüleri Şekil 5.2'de sunulmuştur.

Çizelge 5.1 C implante edilmiş cam numuneler için sinir hücre (B35) tutunma kontrast oranı sonuçları

Enerji			
Doz	20 keV.	30 keV.	40 keV.
10^{13}	0,82	1,28	0,47
10^{14}	0,63	1,51	1,144
10^{15}	1,11	1,57	1,53
10^{16}	1,94	3,35	1,47



Şekil 5.1 Farklı doz ve enerjilerde C implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunma oranlarının karşılaştırmalı grafik temsili.

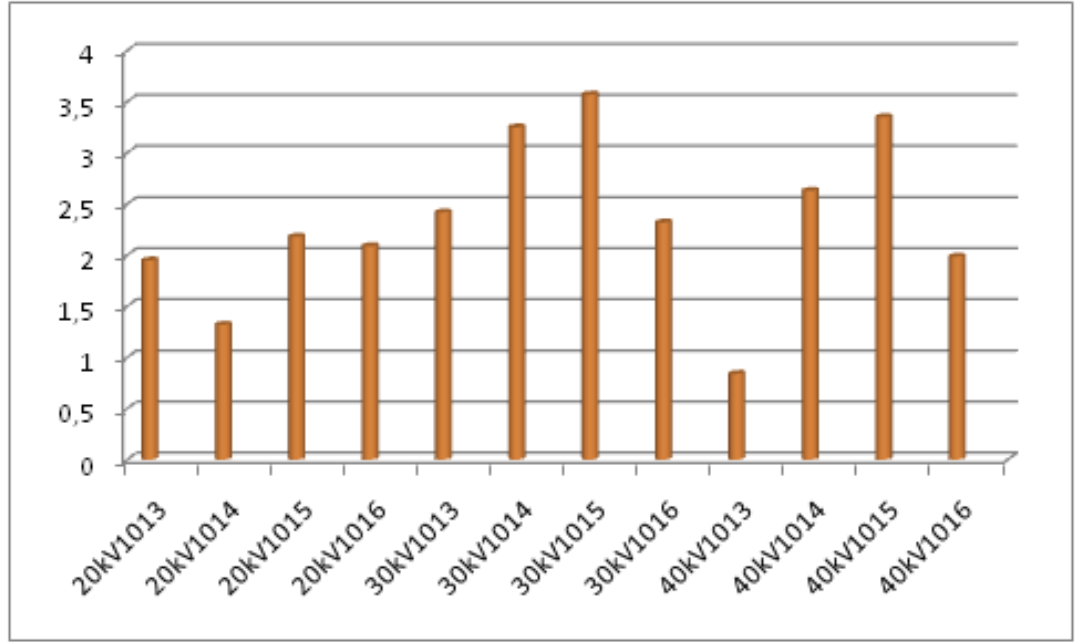
20kV. 1×10^{13} 30kV. 1×10^1 40kV. 1×10^{13} 20kV. 1×10^{14} 30kV. 1×10^{14} 40kV. 1×10^{14} 20kV. 1×10^{15} 30kV. 1×10^{15} 40kV. 1×10^{15} 20kV. 1×10^{16} 30kV. 1×10^{16} 40kV. 1×10^{16}

Şekil 5.2 Farklı doz ve enerjilerde C implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunmalarının faz-kontrast mikroskop görüntüleri (20X,) (Olympus, Japonya)

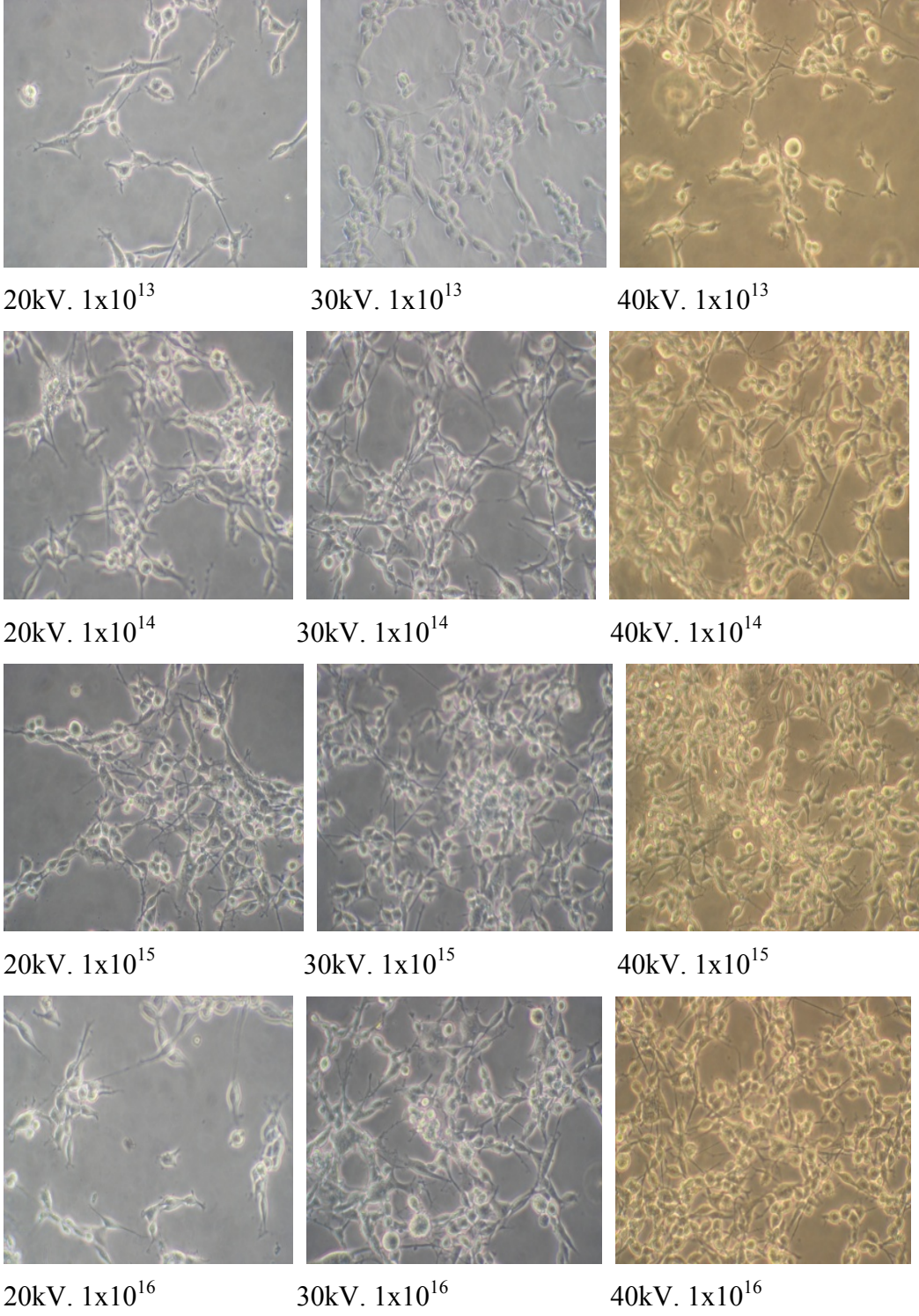
Cam numuneler ile iyon implantasyonu görmüş numunelerin sinir hücre tutunma davranışları bakımından incelenmesi bakımından aynı çalışma 20,30,40kV. yük dağılımı ve 1×10^{13} , 1×10^{14} , 1×10^{15} , 1×10^{16} iyon akımı değerlerinde Au –iyon implantasyonu uygulanmış numunelerle de gerçekleştirilmiş ve Çizelge 5.2. de sunulan sonuçlar alınmıştır. Buradaki değerler aynı şekilde, her bir doz ve enerji değerinde işlem görmüş cam numuneye tutunan hücre sayısının, işlem görmemiş cam numuneye tutunan hücre sayısına oranını temsil etmektedir. Bu şekilde Au ile yapılan çalışma sonuçları Şekil 5.3’ de grafik olarak ifade edilmiştir. Grafik ve Çizelge 5.2’den görülebileceği gibi 3 deneme sonucundan alınan ortalama değerler ışığında Au ile implante edilmiş en uygun yüzey, 30 kV. enerji 1×10^{15} iyon akımı değerlerinde elde edilmiştir. Bu değerlerle işlem gören numularda hücre tutunma davranışında 3,5 katı düzeyinde iyileşme gözlenmiştir. Yapılan 3 denemeyi temsil eden faz-kontrast mikroskop görüntüleri Şekil 5.4’. de sunulmuştur.

Çizelge 5.2 Au-implante edilmiş cam numuneler için (B35) hücre tutunma oranı sonuçları

Enerji			
Doz	20 keV.	30 keV.	40 keV.
10^{13}	1,95	2,42	0,84
10^{14}	1,32	3,25	2,63
10^{15}	2,18	3,57	3,35
10^{16}	2,09	2,32	1,986



Şekil 5.3 Farklı doz ve enerjilerde Au implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunma oranlarının karşılaştırmalı grafik temsili.



Şekil 5.4 Farklı doz ve enerjilerde Au implante edilmiş cam numunelerde sinir hücre (B35) tutunmalarının optik mikroskop görüntüleri (20X) (Olympus, Japonya).

5.3.2 Cam Numuneler Üzerine Plazma Depozisyonu:

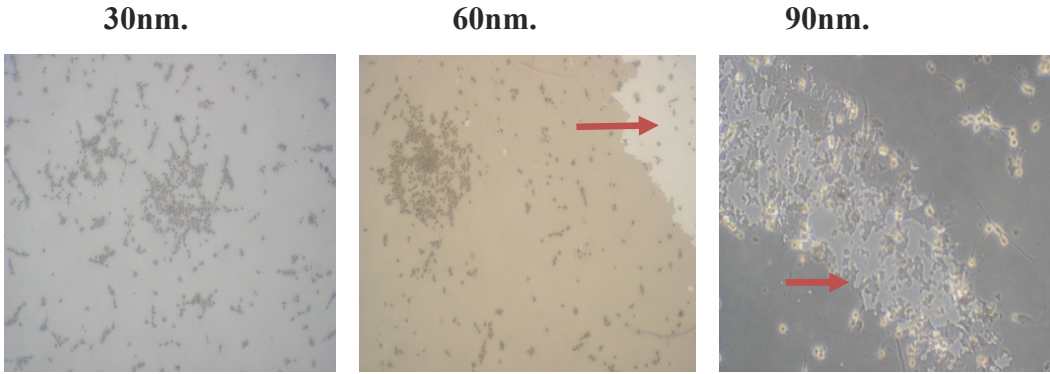
Bu bilgiler ışığında çalışmada, cam ve polimer (PDLG) numunelere, 100V. 5Hz. değerleri için 30, 60, 90, 120 nm. kalınlıklarında DLC kaplamalar gerçekleştirilerek, bu kaplamaların hücre tutunma davranışları incelenmiş ve bu doğrultuda optimizasyon verisi elde edilmiştir. Bu çalışmalarda hücre yoğunluğu $8,4 \times 10^6$ mL'dir. Örnekler, 37°C CO₂ ortamında 1 gün inkübe edilmiştir. Sonrasında örnek üzerindeki hücre tutunma davranışları optik mikroskopla incelenmiş, objektif aparatıyla 4x ve 20x büyütme fotoğrafları alınmıştır. Cam numunelerde, yaptığımız farklı kalınlıklardaki DLC kaplamalar için işlem görmüş cam numuneye tutunan hücre sayısının, işlem görmemiş cam numuneye tutunan hücre sayısına oranına ilişkin sonuçlar aşağıdadır:

Çizelge 5.3 Cam numunelerde, yaptığımız farklı kalınlıklardaki DLC kaplamalar için hücre tutunma (B35) oranları

100kV			
	1st.	2nd.	3rd.
DLC - 30nm	2,27	5,2	3,7
DLC - 60nm	2,67	1,2	1,98
DLC - 90nm	2,21	1,8	2,005
DLC - 120nm	-	-	-

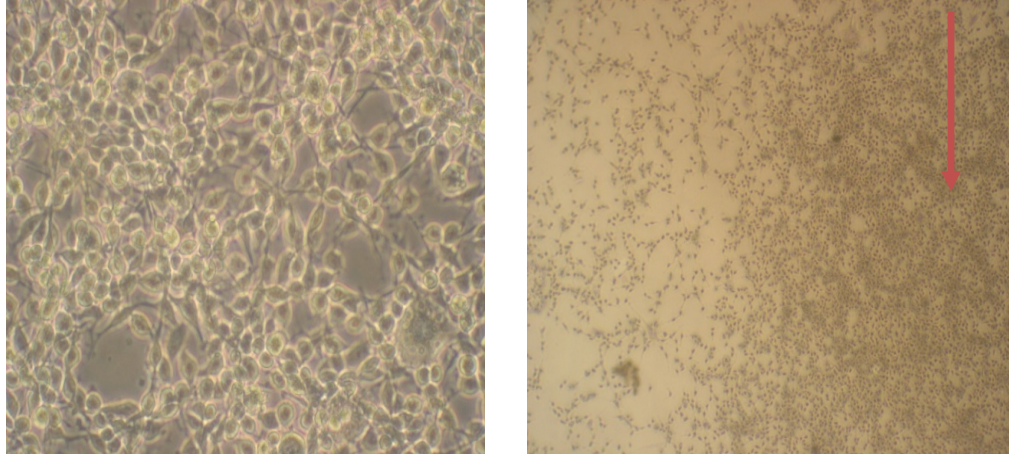
Aldığımız sonuçlara göre, DLC kalınlığı arttıkça kaplamanın tutunma özelliklerinde bozunma olduğu farkedilmiştir. Bu da hücre tutunmasına etki etmektedir. 120 nm. kaplama kalınlığına çıktığımız durumlarda kaplama, kültür ortamında cam yüzeyden tamamen ayrılmıştır. Yapılan her 3 denemede aynı durum gerçekleştiği için 120nm. kalınlığındaki kaplamalar için hücre tutunma verisi sunulamamıştır. Sonuç aldığımız 3 kaplama değeri için en iyi sonuçlar

30nm. kalınlığındaki kaplamalarda elde edilmiştir. Şekil 5.5’ de cam numune üzerine DLC kaplama ve hücre tutundurma çalışmasının sonuçları sergilenmiştir. Bu sonuçlara göre en iyi hücre tutunması 30nm. DLC kaplama sonucu alınmıştır. Kaplama kalınlığı arttıkça kaplamanın yüzeye tutunmasında sorunlar yaşanmakta ve buna bağlı olarak hücre tutunmasında da azalma ve kaplamalarda yer yer kalkma sorunu izlenmektedir.



Şekil 5.5 Cam örneklerde 30, 60, 90nm. kalınlığındaki DLC kaplamalar için hücre tutunma sonuçları sergilenmektedir. 60nm. ve 90nm. kalınlığındaki kaplamalarda kalkmalar izlenmektedir

Polimerik malzemelere yapılan DLC kaplamanın yoğunluğu Şekil 5.6A’ da görülebilir. Resim 5.6B’ de ise sırasıyla polimer (PDLG) örnek üzerine yarı-maske ile yapılan DLC kaplama sonrasında hücre tutunma deneylerinin sonucu izlenmektedir. Resimlerde görüldüğü gibi, hücreler ağırlıklı olarak işlem görmüş alanlarda tutunma ve çoğalma eğilimi göstermektedirler. Bu durum yönlendirmenin maskeleme ile sağlanabileceğine işaret etmektedir.

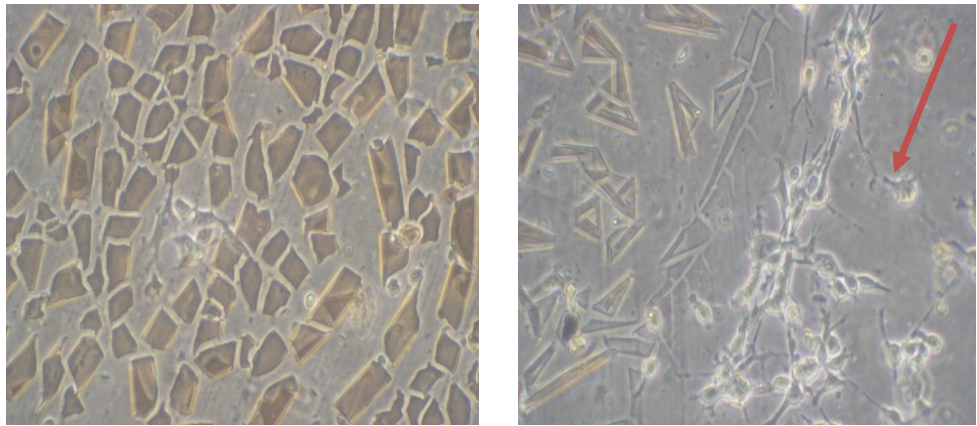


A.

B.

Şekil 5.6 (A.) Polimer örnek üzerine DLC kaplama (20X) (B.) Polimer örnek üzerinde sinir hücre (B35) tutunması bakımından işlem görmüş ve işlem görmemiş taraflar arasındaki yoğunluk farkı (4X) Not: Kırmızı ok işareti sınırı tanımlamaktadır. Sağ taraf işlem görmüş sol taraf işlem görmemiş kısımdır. İşlem görmüş tarafta hücre yoğunluğu göze çarpmaktadır.

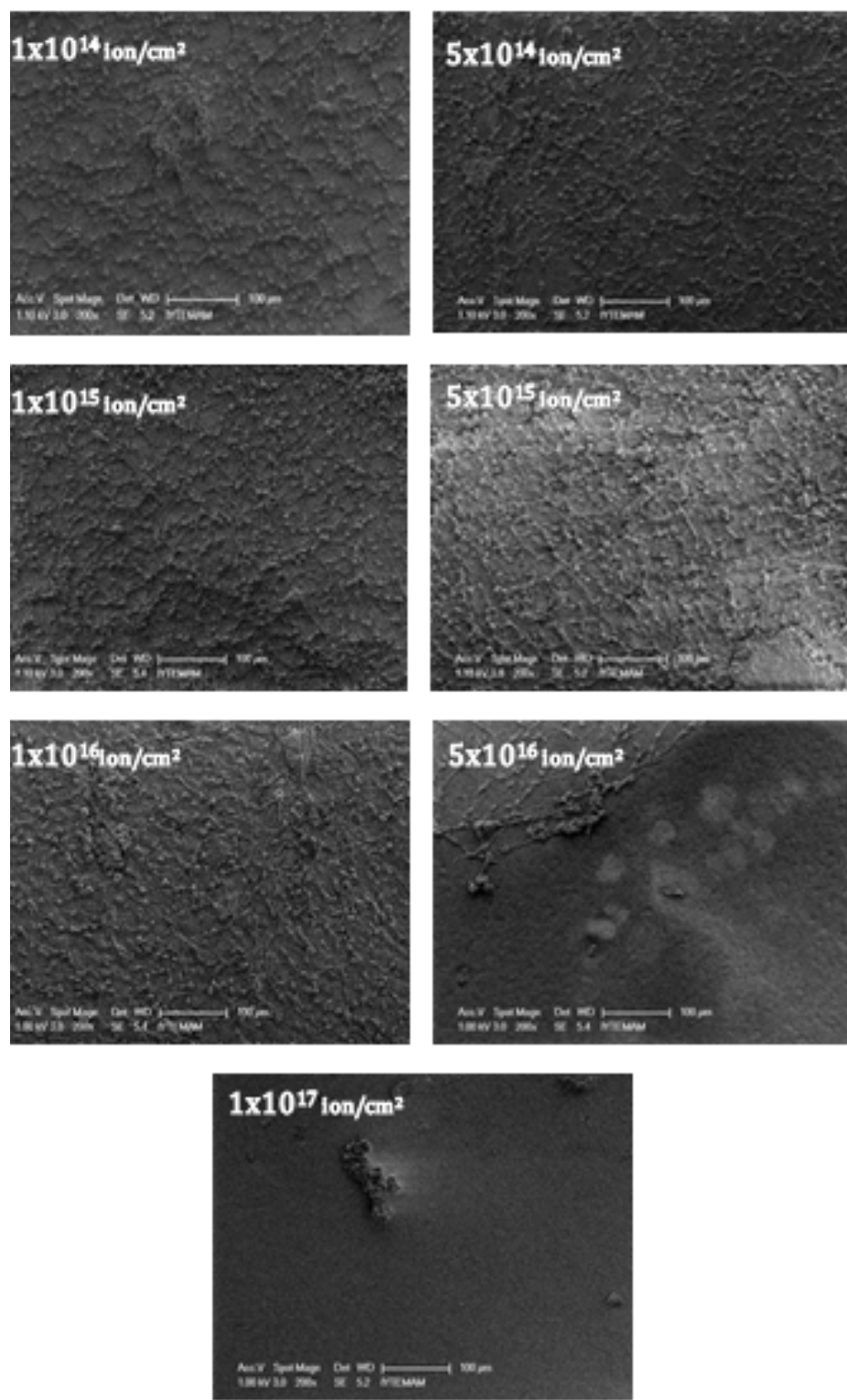
Şekil 5.7' de iyon implantasyonu yapılmış kitosan malzeme görülmektedir. Kitosan, doğal biyobozunur polimerler grubunda yer almaktadır, bu anlamda sentetik biyopolimerlerden daha hassas özelliklere sahiptir. Yapılan çalışmalarda iyon implantasyonu sonrası yüzeyinin bozulduğu bu yüzden hücre tutunmasına olumlu etkiye bulunmadığı görülmektedir. Bunun çözümüne yönelik kitosan numune ile daha düşük doz ve enerji çalışmaları gerçekleştirilmiştir.



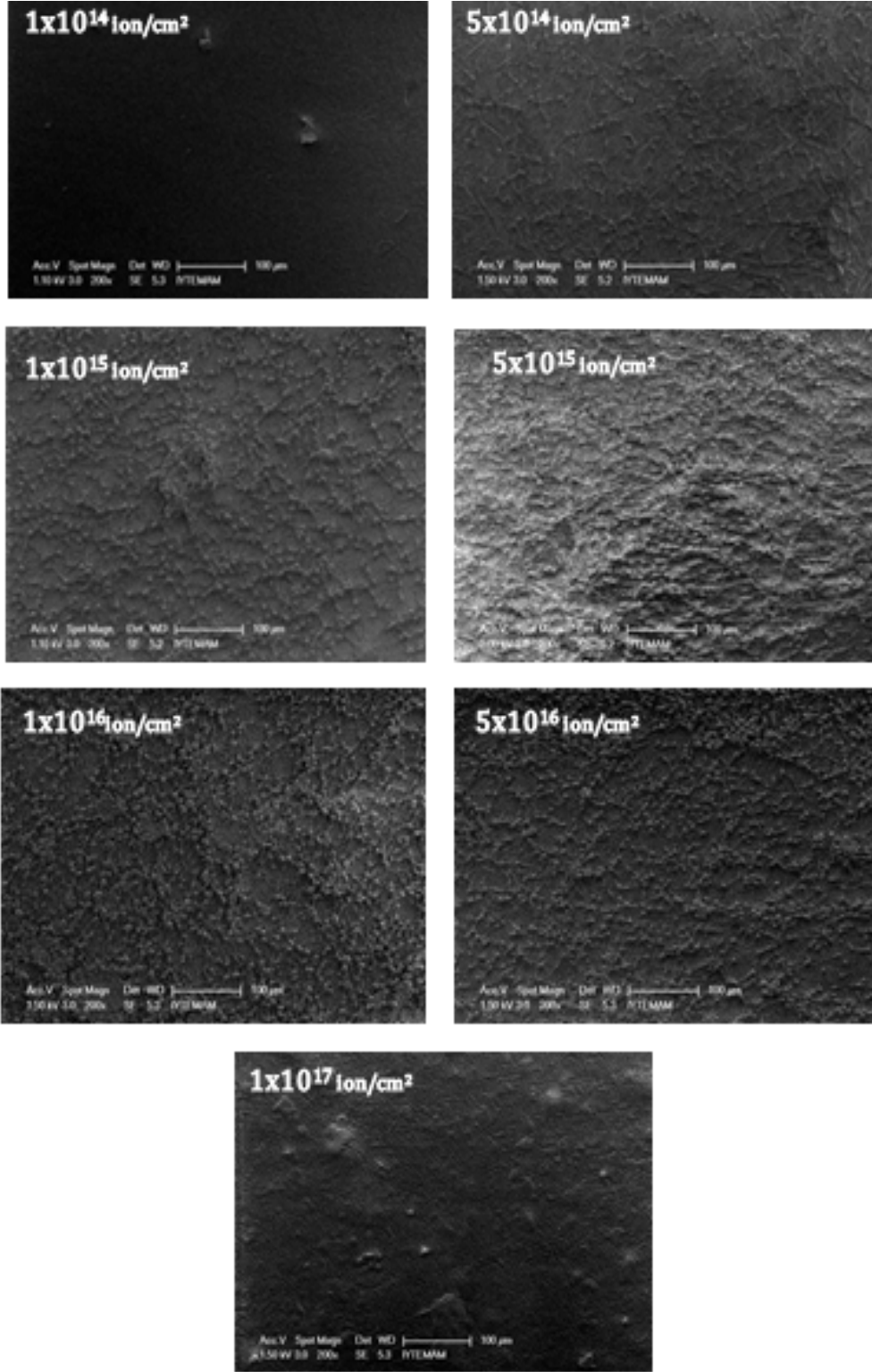
Şekil 5.7 Kitosan malzeme üzerine iyon implantasyonu ve sınırda (kırmızı ok işareti) hücre (B35) tutunması İşlem görmüş tarafta kırılmalar var, işlem görmemiş tarafta hücre tutunması izlenebiliyor

5.3.3 Polimer Yüzeylere Hücre tutunması

Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine C ve Au iyon implantasyonunun değişik doz ve enerjilerde uygulanmasının sinir hücre tutunma davranışı üzerine etkileri incelenmiş ve sabit enerjide farklı doz değerlerindeki tutunma karakteristikleri Şekil 5.8 ve 9.'da ve sabit doz değerinde farklı enerjilerdeki tutunma karakteristikleri Şekil 5.11 ve 5.12'de sergilenmiştir. Bu bağlamda her iki implantasyon için de davranış dinamiği Cam malzeme ile olan davranışa benzerlikler sergilemektedir. Burada da düşük ve yüksek doz değerlerinde tutunma izlenmezken 10^{15} - 10^{16} aralığı hem C hem Au implantasyonu görmüş yüzeylerde hücre tutunması bakımından elverişli bir ortam olduğu izlenmektedir.



Şekil 5.8 Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine C iyon implantasyonunun sabit enerjide, farklı doz değerlerinde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X) . Enerji 30keV. değerinde sabit tutulmuştur. (Doz değerleri her bir resmin sol üst köşesinde yer almaktadır.)



Şekil 5.9 Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine Au iyon implantasyonunun sabit enerjide, farklı doz değerlerinde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X) . Enerji 20keV. değerinde sabit tutulmuştur.(Doz değerleri her bir resmin sol üst köşesinde yer almaktadır.)

Çizelge 5.4 Farklı doz ve enerji değerlerinde C ve Au implante edilmiş PLC örneklerin hücre tutunma kontrast oranlarının 1.,4. ve 7. gün değerleri

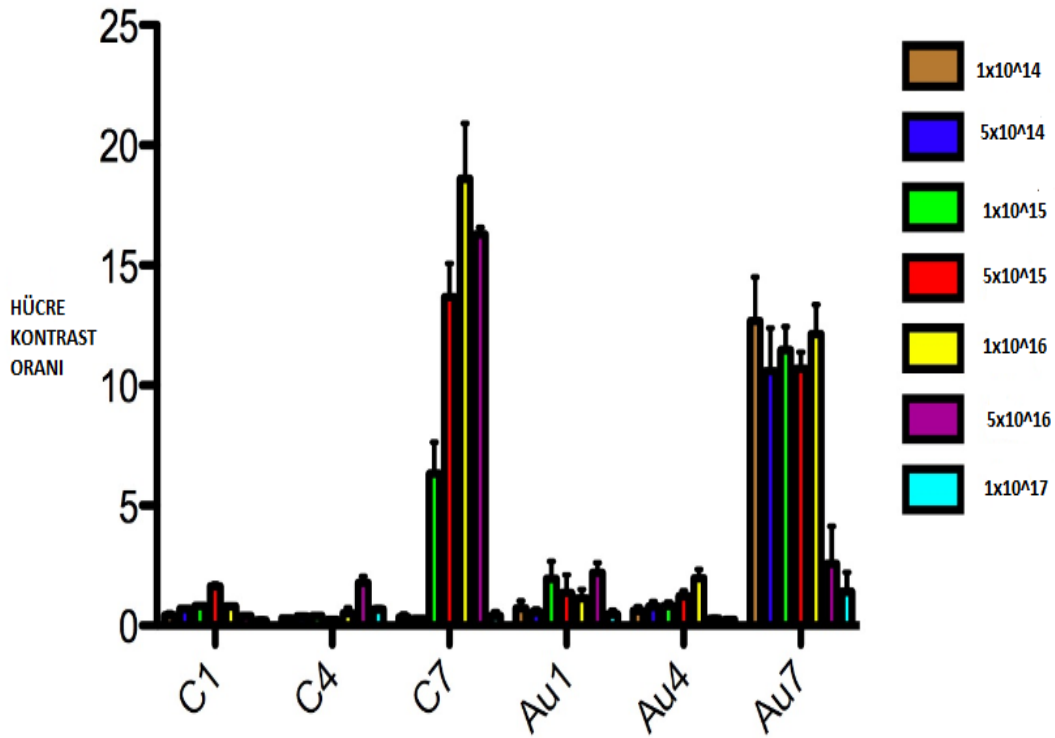
		C implante edilmiş numuneler						
		1×10^{14}	5×10^{14}	1×10^{15}	5×10^{15}	1×10^{16}	5×10^{16}	1×10^{17}
PLC	1. gün	0,4	0,7	0,8	1,6	0,8	0,4	0,2
	4.gün	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	1,8	0,6
	7. gün	0,3	0,2	6	13,6	18,6	16,3	0,4
		Au implante edilmiş numuneler						
		1×10^{14}	5×10^{14}	1×10^{15}	5×10^{15}	1×10^{16}	5×10^{16}	1×10^{17}
	1. gün	0,7	0,6	2,3	1,3	1,1	2,2	0,3
	4.gün	0,6	0,7	0,8	1,2	2	0,1	0,2
	7. gün	12	10,9	12,6	10,6	10,8	1,6	0,5

C için 1×10^{16} iyon /cm² ve Au için 1×10^{15} iyon /cm² doz değerlerinde işlem görmüş PLC yüzeyler hücre tutunması ve nörit oluşumu bakımından en elverişli ortam olarak belirlenmiştir. Çizelge 5.4. de sergilenen hücre kontrast oranına göre 1×10^{16} iyon /cm² C implante edilmiş numune 7. Günde iyon implante edilmemiş numuneye oranla 18 kat daha fazla hücre tutunması sergilerken, Au implante edilmiş numune için, 1×10^{15} iyon /cm² doz değerinde bu oran 12,6 dır.

Ek olarak, 1., 4. ve 7. gün'lere ait her bir doz değerine karşılık gelen hücre tutunma oranları istatistiki olarak karşılaştırılmış, bulgular Çizelge 5.5. ve Şekil 5.10 ve 5.11'de sergilenmiştir. Pyrisim programı, 2-way ANOVA Benferroni posthoc. yöntemiyle gerçekleştirilen istatistiki karşılaştırma sonuçlarına göre C implante edilmiş yüzeylerde 1. ve 4. günlerde de, hücre sayıları artış göstermesine rağmen, 7. günde belirgin bir artış sözkonusudur($p < 0.001$) (Şekil 5.10). 7. günde hücre sayılarındaki artışta en etkili implantasyon doz değeri 1×10^{-16} ion / cm² dir. Bunu 5×10^{-16} , 5×10^{-15} ve 1×10^{-15} ion / cm² doz değerleri izlemektedir (sırasıyla $p < 0.001$).

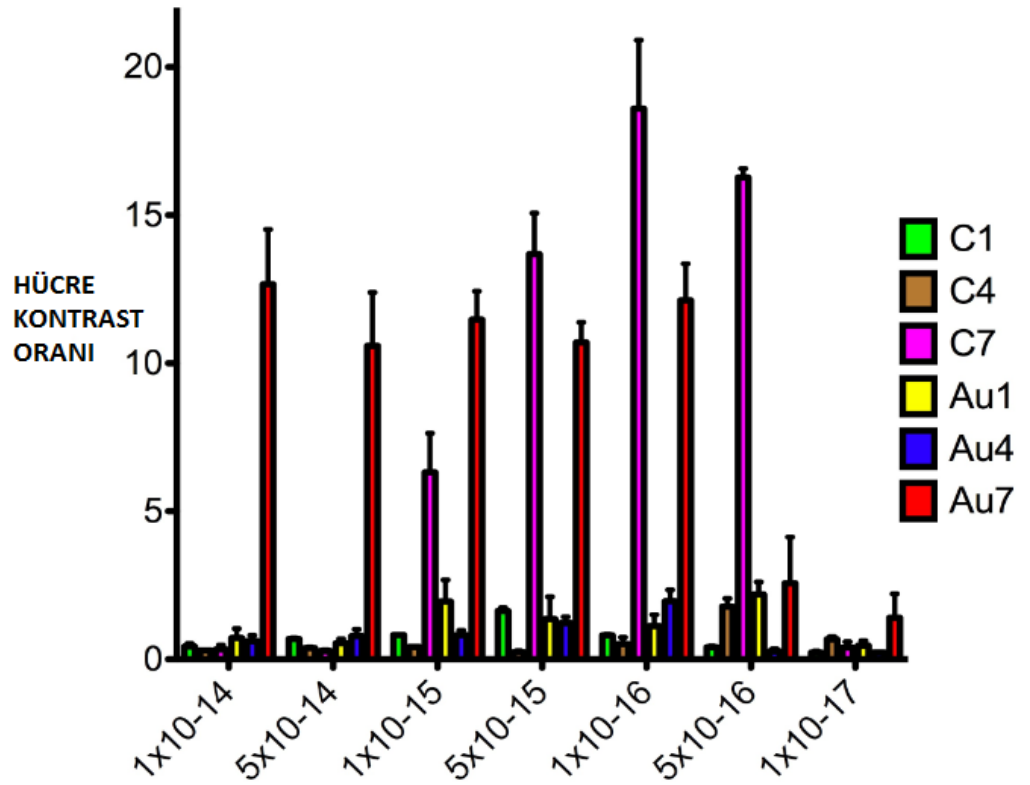
Çizelge 5.5 C ve Au implante edilmiş yüzeylerde hücre kontrast oranının istatistiki olarak doz değerleri'ne göre 1,4 ve 7. günler bazında karşılaştırılması

	1×10^{14}	5×10^{14}	1×10^{15}	5×10^{15}	1×10^{16}	5×10^{16}	1×10^{17}
C1-C7*	-	-	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-
C4-C7*	-	-	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-
A1-A7*	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-	-
A4-A7*	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-	-
A7-C7	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.05$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-
A7*-C4	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-
A1-C7*	-	-	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-
A7*-C1	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	-	-



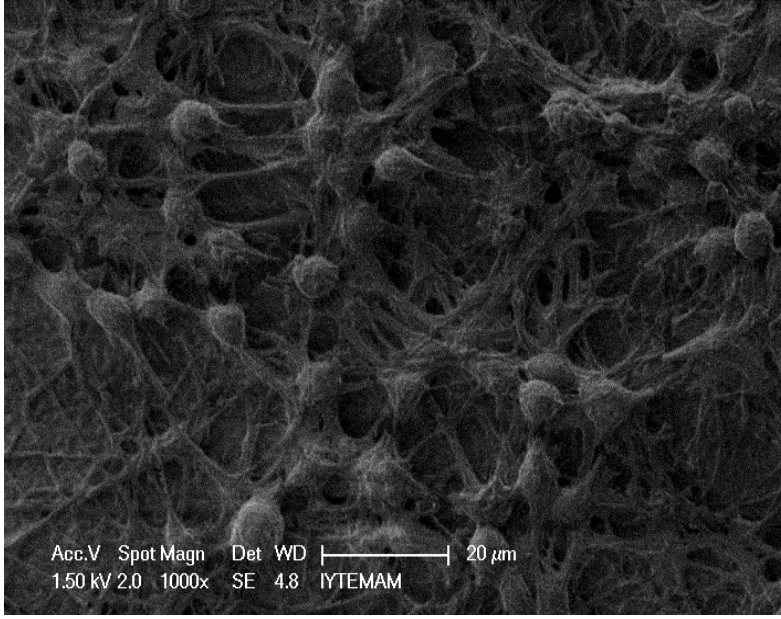
Şekil 5.10 C ve Au implante edilmiş yüzeylerde hücre kontrast oranının istatistiki olarak günlere göre (1,4 ve 7) karşılaştırılması

Au implante edilmiş yüzeylerde hücre sayıları 7. günde diğer günlere oranla belirgin bir artış göstermektedir ($p < 0.001$). En etkili iyon implantasyon doz değerleri 1×10^{-16} , 1×10^{-15} , 5×10^{-15} , 1×10^{-14} , 5×10^{-14} ion/cm² dir. Hücre sayılarının artışı yönünden C ve Au iyonları arasında istatistiksel olarak bir fark yoktur ancak Au'nun daha düşük doz'larda, C'nun ise daha yüksek doz değerlerinde etkili oldukları izlenmektedir.

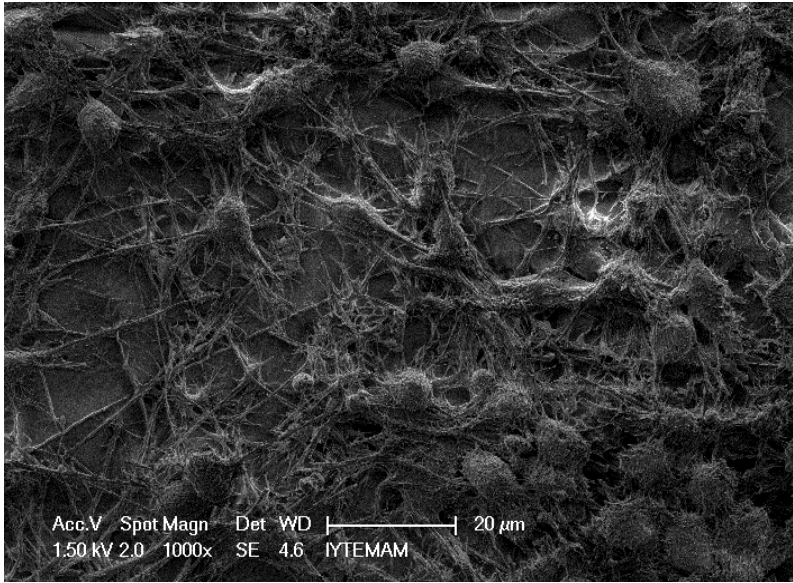


Şekil 5.11 C ve Au implante edilmiş yüzeylerde hücre kontrast oranının istatistiki olarak doz değerleri'ne göre 1,4 ve 7. günler bazında karşılaştırılması

Nörit uzunluğunun durumunu değerlendirmek bakımından PLC örneklerde en iyi doz değerlerindeki hücre tutunmaları, Şekil 5.12’de daha yakından sergilenmiştir. Buradan izlenebileceği gibi her iki işlem görmüş yüzeyde de hücreler sağlıklı ve iyi durumdadır, nörit uzantıları belirgindir ve ağ yapı oluşumu başlamıştır.



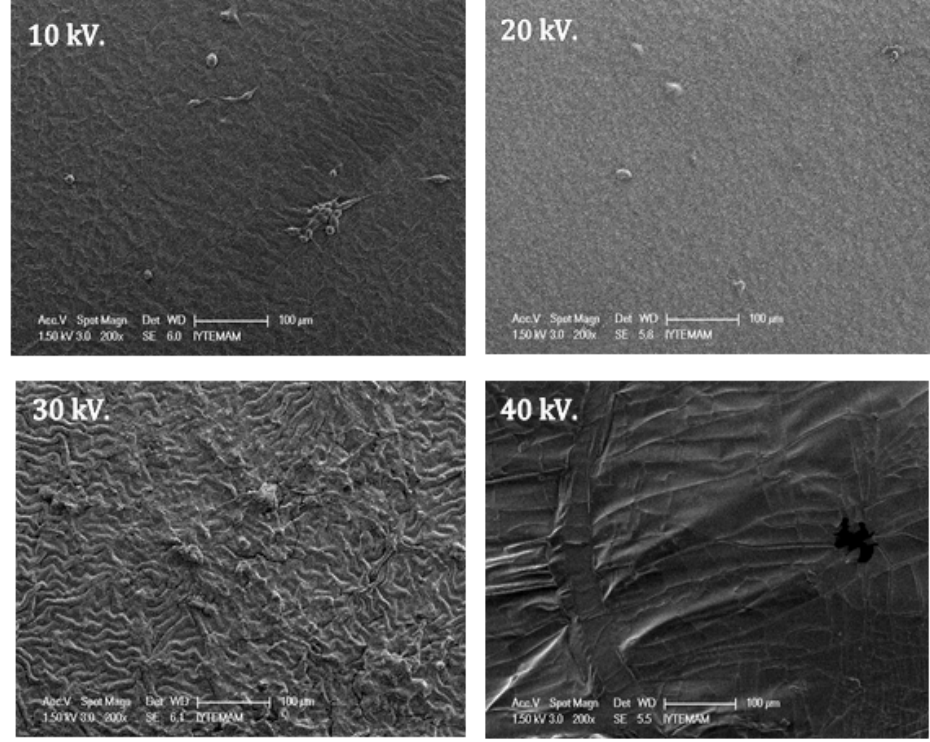
(a.)



(b.)

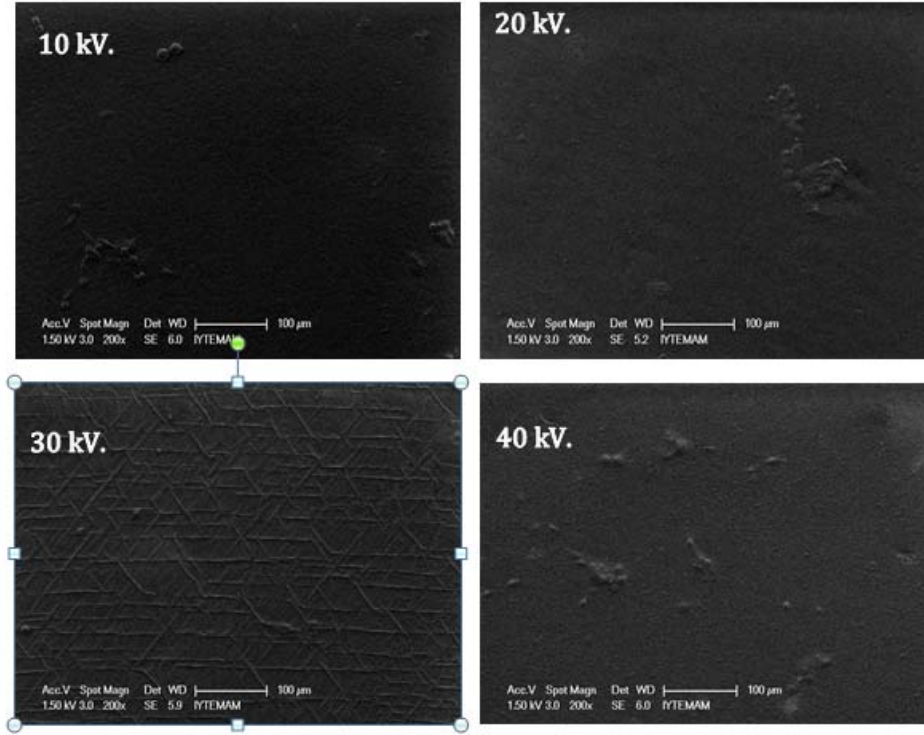
Şekil 5.12 PLC yüzeylerde C için 1×10^{16} iyon / cm^2 (a.) ve Au için 1×10^{15} iyon / cm^2 (b.) doz değerlerinde işlem görmüş PLC yüzeyler hücre (B35) tutunması ve nörit oluşumu (1000X) (7.gün)

Enerji parametresi olarak yüzeye gönderilen ışının ekstraksiyon voltajı bakımından etkinliğini izlemek amacıyla hücre tutunmasına negatif etkisi olduğu belirlenen 1×10^{14} iyon /cm² doz değeri sabitlenerek 20,30,40 kEV. ekstraksiyon voltaj değerleriyle çalışılmıştır.



Şekil 5.13 Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine C iyon implantasyonunun sabit doz değerinde, farklı enerjilerde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X) . Doz değeri 1×10^{14} iyon /cm² olacak şekilde tutulmuştur. *Extraksiyon Voltaj değerleri her bir resmin sol üst köşesinde yer almaktadır.*

Şekil 5.13.'de izlenebileceği gibi sabit doz değerinde tüm enerjilerde hücre tutunma davranışı aynı şekilde negatif yönde seyretmiştir. Burada enerjinin belirgin bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmaktadır.



Şekil 5.14 Poli- L-Laktid / E- Kaprolakton (PLC) üzerine Au iyon implantasyonunun sabit doz değerinde, farklı enerjilerde tutunma karakteristiklerini gösteren SEM fotoğrafları (200X) . Doz değeri 1×10^{14} iyon / cm^2 olacak şekilde tutulmuştur. *Ekstraksiyon voltaj değerleri her bir resmin sol üst köşesinde yer almaktadır.*

Şekil 5.14’de belirli doz ve enerji değerinde farklı polimerler yapılan implantasyonlar sonrası yüzeylerin sergiledikleri hücre tutunma davranışları görülmektedir. Tüm yüzeylerde implantasyon için sabit doz ve enerji değerleri kullanılmıştır ve sabit hücre yoğunluğunda B35 hücre dizisi ile gerçekleştirilen hücre kültürü çalışmaları eş zamanlı olarak yürütülmüştür.

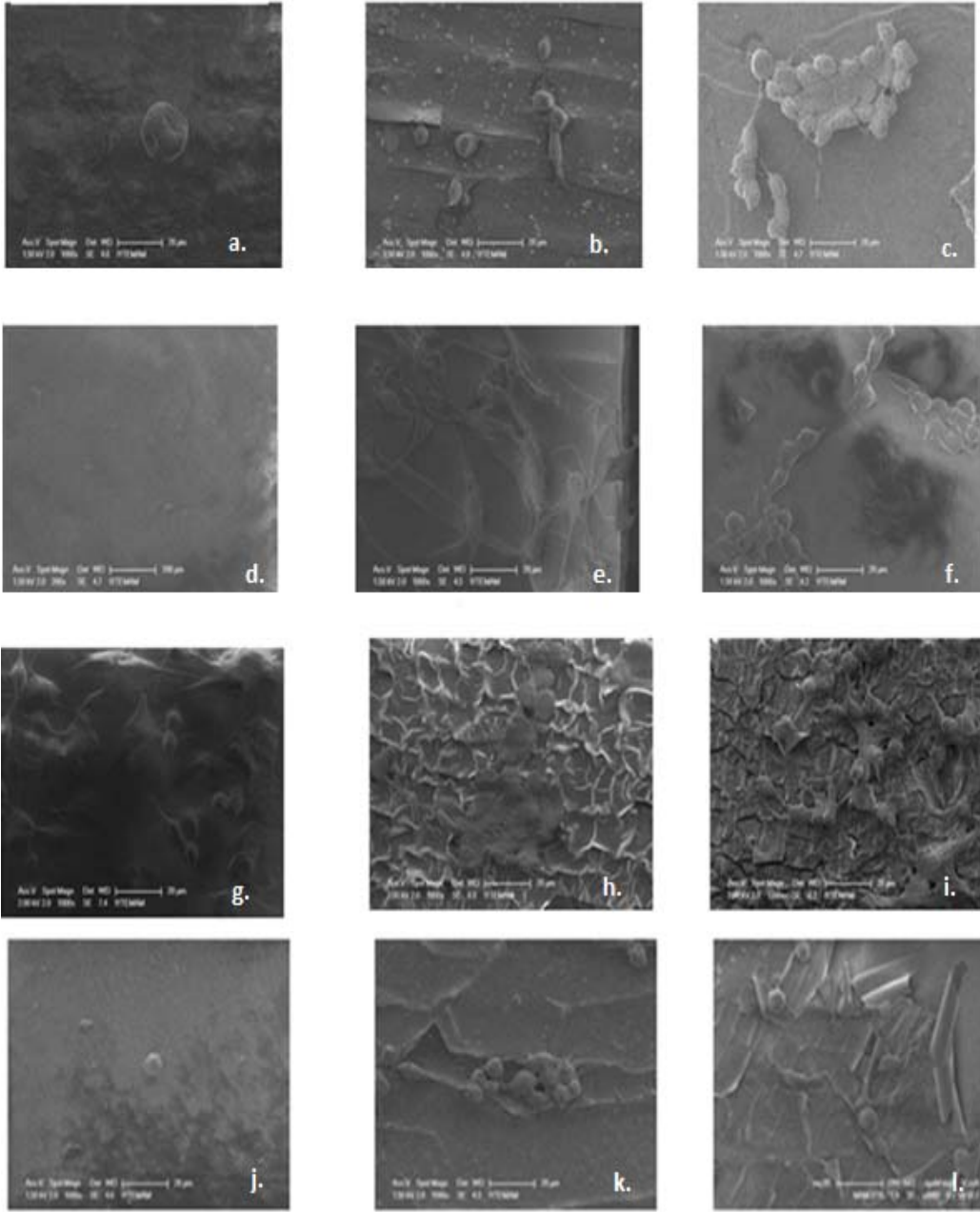
Bu çalışmanın sonucu na göre Çizelge 5.13’de izlenebileceği PLA, PLC ve PDLG numuneler üzerine tutunan hücreler karakteristik olarak benzerlik göstermektedir C-N implantasyonunun C implantasyonuna nazaran daha elverişli bir ortam oluşturduğu göze çarpmaktadır. Özellikle, diğer tüm polimerler içinde C implante edilmiş PLC örneklerin sergilediği nörit uzunluğu diğer tüm polimerlere kıyasla en iyi sonucu vermiştir. Bununla beraber Şekil 5.14. de sergilenen SEM görüntülerinden izlenebileceği gibi PDLG ve kitosan numune yüzeyleri

implantasyon işleminden kısmi olarak zarar görmüştür. Nörit uzunluğu, işlem görmemiş kitosan numunede, işlem görmüş numuneye oranla daha iyi gelişmiştir.

Sayısal olarak hesaplanan hücre tutunma kontrast oranları ve SEM görüntülerinden izlenebilen hücre gelişimi davranışları esas alınarak yapılan karşılaştırmaların sonuçlarına göre, hücre büyümesine elverişlilik bakımından iyon implante edilmiş biyobozunur polimerler arasında en iyi sonuç PLC'den alınmıştır. Bununla birlikte kontrast oranı düşük olmasına rağmen işlem görmemiş halde kitosanın hücre tutunmasına elverişliliği, Şekil 5.15. de izlendiği üzere son derece iyi seviyededir.

Çizelge 5.6 Farklı Polimerik Yüzey’lerde (PLA, PDLG, PLC, Kitosan) birim alan başına düşen tutunan hücre sayısına göre hesaplanan hücre kontrast oranı.

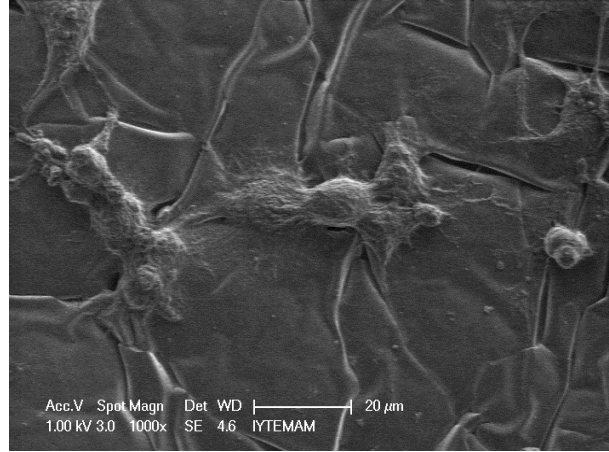
Hücre Kontrast Oranı	C implante edilmiş numune	C-N implante edilmiş numune	Au implante edilmiş numune	DLC Kaplama
PLA	2	5,2	3,5	0,57
PDLG	4	1	1,45	1,7
PLC	2,8	5,4	3,85	2,25
Kitosan	0,625	0,902	-	-



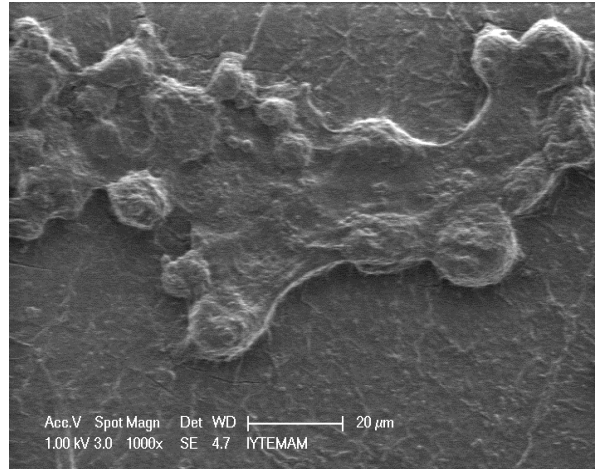
Şekil 5.15 Belirli doz ve enerji değerinde farklı polimerler yapılan implantasyonlar sonrası yüzeylerin sergiledikleri hücre tutunma davranışları (**a.**PLA, **b.**C implante PLA, **c.**C-N implante PLA, **d.** PLC **e.**C implante PLC, **f.**C-N implante PLC, **g.** kitosan **h.**C implante PLA, **i.**C-N implante PLA, **j.** PDLG, **k.**C implante PDLG, **l.**C-N implante PDLG)

En iyi polimer olarak belirlenen PLC'ye gerçekleştirdiğimiz C, Au iyon implantasyonları (sırasıyla Şekil 5.16 ve Şekil 5.17) ve DLC kaplama sonuçlarının (Şekil 5.18) hücre tutunmasına elverişli yüzey oluşturma bakımından etkinlikler

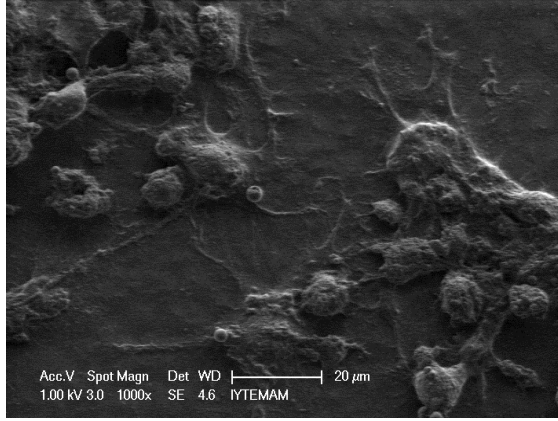
Şekil 5. 14,15 ve 16'da karşılaştırılabilir. SEM görüntülerinden izlenebildiği gibi birim alan başına düşen hücre sayısı bakımından her üç yüzey son derece iyi durumdadır ve içlerinde özellikle Au implante edilmiş yüzey nörit uzunluğu bakımından en iyi yüzey olarak seçilmiştir. Genel olarak PLC üzerine DLC kaplamanın hücre tutunmasına elverişliliği C ve Au implante edilmiş yüzeylere kıyasla daha düşüktür.



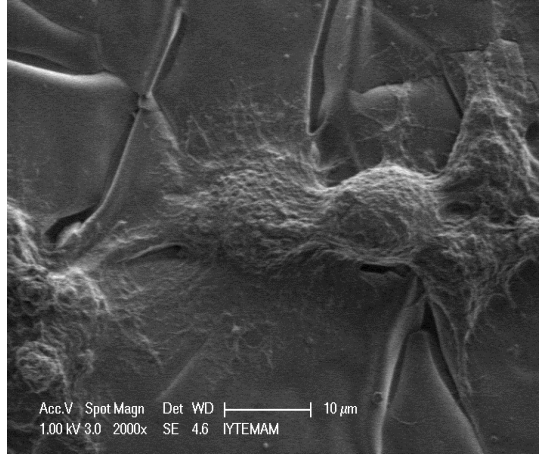
Şekil 5.16 PLC-DLC kaplama gerçekleştirilmiş yüzeyde B35 sinir hücre tutunması SEM görüntüsü (1000X)



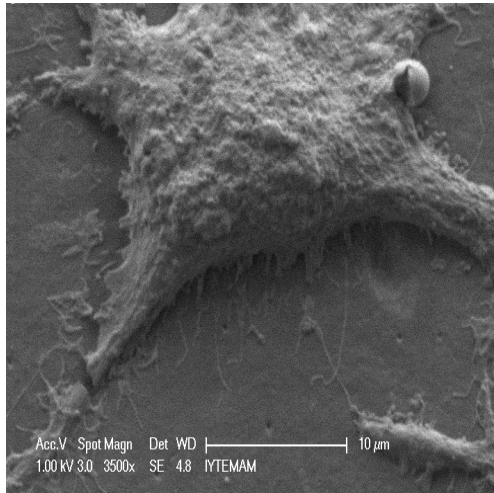
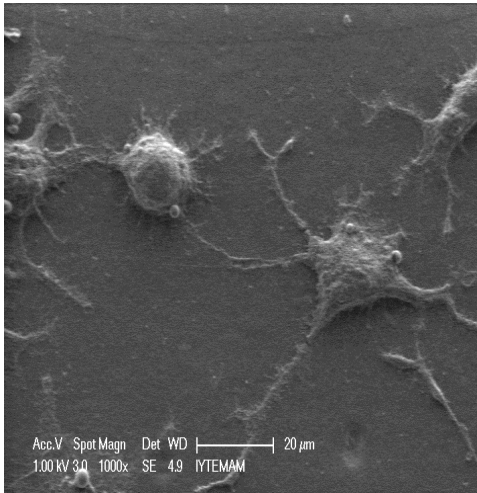
Şekil 5.17 PLC - Au implantasyonu gerçekleştirilmiş yüzeyde B35 sinir hücre tutunması SEM görüntüsü (1000X)



Şekil 5.18 PLC - C implantasyonu gerçekleşmiş yüzeyde B35 sinir hücre tutunması SEM görüntüsü (1000X)



Şekil 5.19 PLC üzerine DLC kaplanmış yüzeyde tutunmuş B35 sinir hücrelerinin ve nörit uzantılarının görüntüsü SEM görüntüsü (2000X)



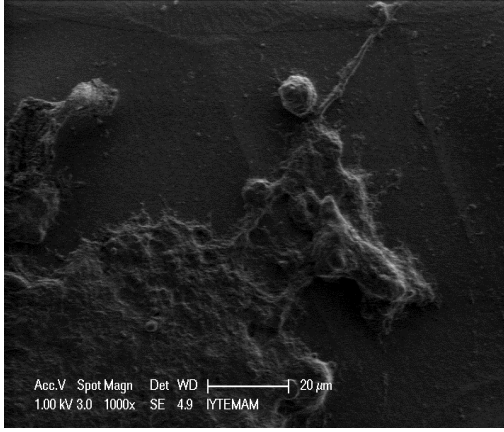
Şekil 5.20 PLC üzerine Au implante edilmiş yüzeyde tutunmuş B35 sinir hücrelerinin ve nörit uzantılarının görüntüsü SEM görüntüsü (1000X, 3500X)

Şekil 5.17'deki SEM görüntülerinden izlenebileceği gibi implante edilmiş PLC örnekte hücrelerin çevresinde göze çarpan yapı oluşumu dikkat çekmektedir. Hücrelerarası matriks olarak isimlendirilen bu yapı hücrelerin canlılığının bir işaretidir ve bu yapı özellikle Au implantasyonu ile işlem görmüş numunede belirginleşmektedir. Özellikle kontrol numunelerde varolmayan bu yapının implante edilmiş örneklerde göze çarpması, hücrelerin büyümesi ve gelişimi için uygun ortamın oluşmuş olduğunun bir göstergesi olarak ele alınabilir.

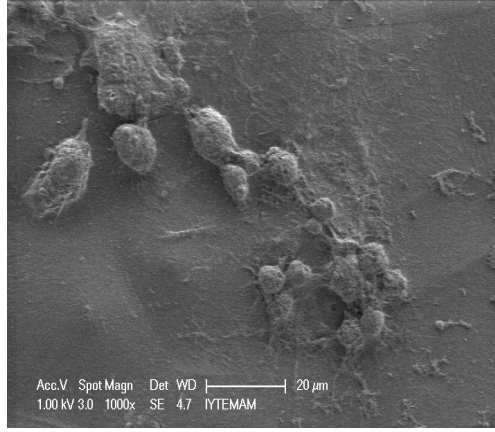
5.3.4 Karşılaştırmalı Hücre Çalışması:

Nöronal farklılaşma kapasitesine sahip hücre dizilerinin iyon implantasyonuna maruz kalmış biyobozunur polimer örnekler üzerinde davranış karakteristiklerini izlemek amacıyla, Neuro2A ve B35 hücre dizileriyle hücre kültürü çalışması gerçekleştirilmiştir. Her iki hücre dizisi için uygulanan kültür ortamı ve herbir malzeme için iyon implantasyonu parametreleri birebir aynı tutulmuştur.

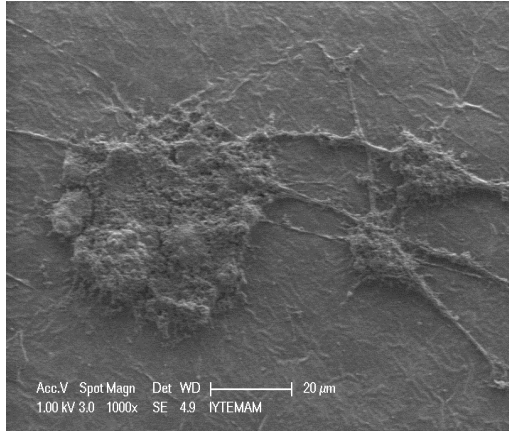
Örnekler 37°'de , 7 gün kültive edildikten sonra SEM ile alınan görüntüler Şekil 5.21'da sunulmuştur. C implantasyonu PLA, PLC ($E=30\text{keV}$. $\text{Doz}= 1 \times 10^{16}$) ve Kitosan ($E=20\text{keV}$. $\text{Doz}= 1 \times 10^{15}$) örnekler üzerine uygulanmıştır. Şekil 5.21'de görülen Neuro2A (a, c, e) ve B35 (b, d, f) Sinir Hücre Tutunması çalışmalarına ait SEM fotoğraflarında izlendiği gibi her iki tip hücrede yüzeylere iyi tutunmuştur. Her iki tip hücre için de bütün yüzeylerde nörit uzantıları belirgindir.



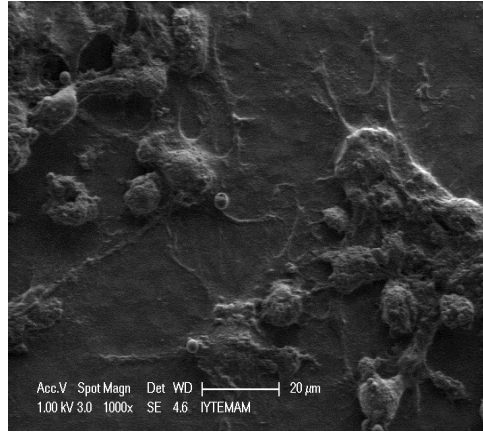
(a.)



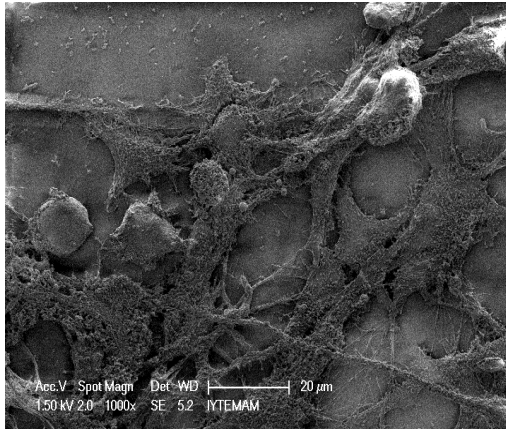
(b.)



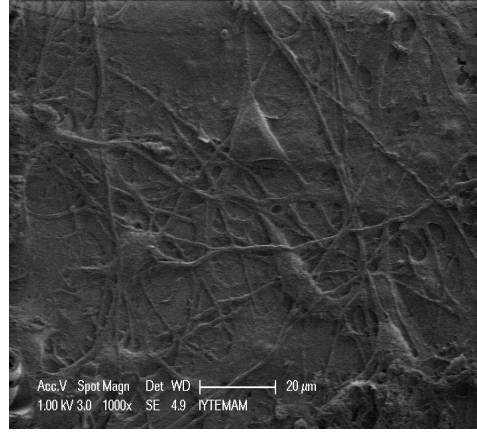
(c.)



(d.)



(e.)

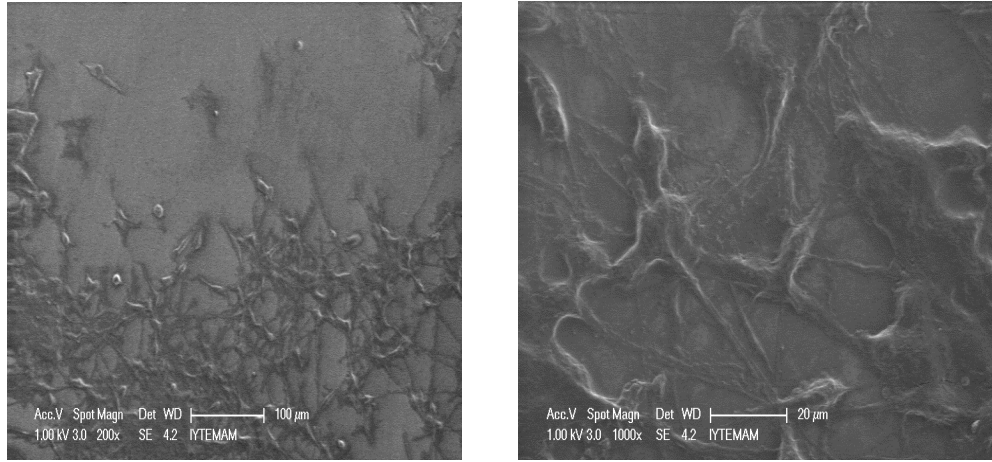


(f.)

Şekil 5.21 C implante edilmiş PLA, PLC ($E=30\text{keV}$. $\text{Doz}= 1 \times 10^{16}$) ve Kitosan ($E=20\text{keV}$. $\text{Doz}= 1 \times 10^{15}$) örnekler üzerinde Neuro2A (a, c, e) ve B35 (b, d, f) sinir hücre tutunması SEM fotoğrafları (1000X)

5.3.5 Silikon Üzerine Litografi:

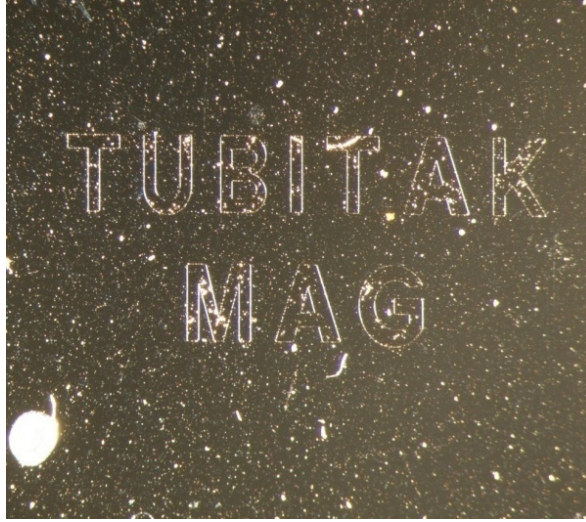
Bir diğer çalışma, Silikon üzerine Ca iyon implantasyonu uygulamak şeklinde gerçekleştirilmiştir. Ca'un hücre tutunması üzerinde son derece etkili bir element olduğu bilinmektedir. Ancak Ca implantasyonu oksitlenme sorunu nedeniyle son derece güç gerçekleşen bir süreçtir. Silikon malzeme üzerine MEVVA sistemiyle 1×10^{15} iyon / cm^2 doz ve 20keV. enerji değerlerinde maskeleme yöntemiyle gerçekleştirdiğimiz iyon implantasyonunun sınır hücre tutunma davranışına olan etkisi Şekil 5.22'de görülmektedir. Burada hücre tutunma kontrast oranı ve nörit uzatma yeteneği, işlem görmemiş numuneye oranla son derece yüksektir.



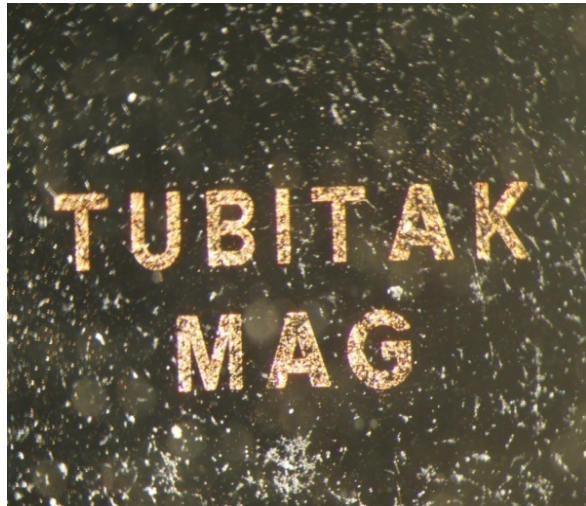
Şekil 5.22 Silikon numune üzerine yarı maskeleme ile gerçekleştirilen Ca iyon implantasyonu ($E=20\text{keV}$., doz= 1×10^{15} iyon / cm^2 'dir) sonrası B35 sınır hücresi tutunma karakteristiği. (a.) 'da üst taraf implantasyon olmamış düz numune, alt taraf Ca ile implante edilmiş numune kısmındaki hücre tutunmasını göstermektedir (SEM 200X). (b.)'de hücreler daha yakından görüntülenmiştir (SEM 1000X).

Silikon numunelerle gerçekleştirdiğimiz bir diğer çalışma, e-ışını litografi ile maskelenen ve mikron düzeyde TUBITAK MAG yazdığımız yüzeylere Au implantasyonu uygulamak suretiyle gerçekleştirilmiştir. Maskeleme işlemi Brezilya Sao Paulo Üniversitesi'nden Prof. Cecilia Salvatore ve ekibi tarafından gerçekleştirilmiştir. Maskeli bölgeye Au implantasyonu öncesi ve sonrası hücre tutunma davranışı stereo mikroskop ile görüntülenmiştir. Şekil 5.23B'de görülen

parlak TUBITAK MAG yazısı Au implante edilmiş yüzeyde tutunan sinir hücreleridir. Görüldüğü gibi silikon malzeme üzerinde e-ışını litografisi ve sonrasında Au implantasyonu, sinir hücre tutunmasını yönlendirmek bakımından olumlu sonuç sergilemiştir. Bu yöntemle silikon materyaller üzerine Au implantasyonu ile desenlendirilmiş sinir ağları oluşturmak mümkün olabilmektedir.



(a.)



(b.)

Şekil 5.23 E-ışın litografi metodu ile maskelenmiş ve Au implante edilmiş silikon numunelerde B35 sinir hücre tutunma davranışının stereo mikroskop görüntüleri (50X).

Şekilde görülen TÜBİTAK MAG yazısının gerçek boyutu mikron mertebesinde. Her iki numune de Au implante edilmiştir. (b.)’deki numune B35 kültür ortamında 4 gün bekletildikten sonra normal serum ortamına alınmış ve görüntüleme gerçekleştirilmiştir. (a.)’da izlenen numune hücreler ile kültive edilmeksizin direk serum ortamında görüntülenmiştir. (b.)’de izlenen parlak bölge, altın implante edilmiş numuneye tutunan sinir hücreleridir.

5.4 Tartışma:

Bu tezde, nöro-aktif yüzey modifikasyonlarına yönelik, daha önce Ishikawa önderliğinde bir grup araştırmacının gerçekleştirdiği negatif iyon implantasyonuna karşılaştırma yaklaşımı olarak, “pozitif” iyon (C ve Au) implantasyonu kullanılmıştır. Bunun yanı sıra, biyobozunur polimer yüzeylerde DLC ince film kaplama tekniklerinin uygulamasına yönelik literatürde herhangi bir yayına rastlanmamıştır. Bu tekniklerin sinir hücrelerinin çoğaltılmasına ve biyouyumluluğun artırılmasına yönelik olarak birarada kullanıldığı ve yönlendirilmiş yüzeylerin oluşturulduğu herhangi bir çalışma da literatürde yer almamaktadır. Bu tez, her iki metodun biyobozunur polimerlerle başarıyla uygulanması ve sinir hücrelerinin çoğaltılmasında tek başına etkilerinin araştırılması bakımlarından özgün nitelik taşımaktadır. Ayrıca yönlendirilmiş yüzeylerin bahsi geçen tekniklerle oluşturulması ve bu yüzeyler üzerinde sinir hücrelerinin çoğaltılmasının niceliksel olarak incelenmesi konuları orijinallik arz etmektedir.

Pozitif yüklü bir yüzeyin varlığında hücreler yüzeye sadece elektrostatik kuvvet etkisiyle tutunabilir. Yüzey pozitif yüklü de olsa, negatif yüklü de olsa, hücre ile yüzey arasındaki tutunma mekanizması benzerlik gösterir. Hücre-yüzey teması fibronektin gibi amfoterik bir protein köprüsüyle ve/veya Ca^{2+} ya da Mg^{2+} gibi divalent katyonlarla sağlanır. Hücrelerin yüksek enerjili yüzeylere düşük enerjililerle kıyaslandığında daha kolay bağlandığı gösterilmiştir. Hücreler ya negatif ya da pozitif yüklere sahip yüzeylerde kültive edilirler. Hücre tutunması ve yayılmasındaki temel faktörün yüklerin polaritesi değil kültür yüzeyindeki yük yoğunluğu olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar ile gümüş yoğunluğuna bağlı olarak tutunma yeteneğinin değişik özellikler sergilediği görülmüştür.

Tutunmanın fazla olduğu yerlerde hücrenin aktif bir şekilde substrat ile ilişkiye girdiği, artan bir şekilde saçaklanma yaptığı, hücre iskeletinin bu saçaklanmaya oldukça uyumlu bir biçimde davrandığı hücrenin saçakları yolu ile diğer hücreler ile ilişki kurmaya çalıştığı belirlenmiştir (Urkac 2007, Zimmerman 2007).

Sinir hücre tutunmasının yüzey özellikleriyle ilişkisini inceleyen bir çalışma daha önce Saida ve arkadaşları (2005) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, silikon yüzeyde sinir hücre tutunmasının pürüzlülükle ilişkisi araştırılmıştır ve burada sinir hücrelerinin ne çok pürüzsüz ne de çok pürüzlü ortamları tercih etmedikleri raporlanmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre 0-64nm. seviyelerinde sinir hücre tutunmasının pürüzlülük arttıkça artış gösterdiği 64-204nm. aralığı ve daha yüksek derecelerde ise azalma gösterdiği raporlanmıştır (Saida et. al, 2005).

Benzer bir diğer yaklaşım, literatürde Kyoto grubu tarafından yapılmış ve negatif gümüş iyonlarının iyon implantasyon tekniği kullanılarak kaplanan kanallarda sinir hücrelerinin çoğalabildiği rapor edilmiştir (Ishikawa et. al 1998-2008). Modifiye edilmiş polimer yüzeyleri üzerine hücre tutunma çalışmaları sıçan sinir hücresi hattında (rat adrenal pheochromocytoma, PC-12h) yapılmıştır (Tsuji et al. 2000). Modifiye edilmiş yüzeyler %70 etanolle sterilize edilip PBS ile yıkandıktan sonra PC-12h hücreleri bu yüzeylerin şlardır. Ayrıca, polistren film yerine silikon kullanarak 10 keV ve 30 keV enerji düzeylerinde ve 3×10^{15} iyon/cm² dozda negatif karbon iyon implantasyonu yaparak sinir hücrelerinin çoğalma özellikleri incelenmiş ve burada da 10 keV enerji düzeyinde optimum sonuçlar alınmıştır. Bu araştırmacılar, negatif iyon implantasyonu kullanarak karbon dışında bakır ve gümüş iyonunu da denemişler ve sinir hücresi oluşumunda benzer sonuçları almışlardır. Kontrol olarak iyon implante edilmemiş silikon tüplerde kullanılmıştır.

Bu çalışmada da benzer olarak farklı iyonların hücre tutunması bakımından belirgin etkilerinin olmadığı ancak hücrelerin genel olarak elmasa benzer, 3 boyutlu kristal yapıda yüzeyleri tercih ettikleri izlenmektedir. Bu yönüyle çalışma literatürle uyum içinde olup elmasa benzer yüzeylerin hangi etkinlik bakımından hücre tutunmasına elverişli yüzeyler oldukları ileri safhada

incelemeye açık bir konu'dur. Bu anlamda kimyasal, topografik ve elektriksel özelliklerin etkileri ayrı ayrı incelenebilir.

Pürüzlülük etkileri ile ilgili sonuçlar Saida ve ark. gerçekleştirdikleri çalışma ile kısmen örtüşmektedir. Örneğin farklı doz değerlerinin pürüzlülük etkisi ile ilişkili yapılan çalışmada 1×10^{15} üzerindeki değerlerde 200 nm. seviyelerinde elde edilen pürüzlülüğün 1×10^{16} değerinde en düşük değer olan 180nm. seviyelerine ulaşması ve en iyi hücre tutunma özelliklerini sergilemesi Saida ve ark. yapmış olduğu çalışma ile uyumludur ve aynı şekilde PDLG örneklerle gerçekleştirilen çalışmada en yüksek seviyelerde pürüzlülük sergileyen C-N implante edilmiş yüzeyler, hücre tutunmasına elverişlilik bakımından da en kötü sonucu sergilemişlerdir. Bu bağlamda, yapılan çalışmada, belirli pürüzlülük aralıklarının hücre tutunması için elverişli olduğu sonucuna varılabilir. Bu pürüzlülük değerinin kesin olarak belirlenebilmesi için daha ileri denemelere ihtiyaç vardır.

Hücre çoğalmasının iyon ve plazma esaslı modifiye edilmiş yüzeylerde çoğaltılmasının karşılaştırılmasına yönelik bu tez'de, bu karşılaştırmayı niceliksel olarak yapmaya olanak sağlayan "hücre tutunması kontrast oranı" tanımlanmıştır. Bu tanım kapsamında, modifiye edilmiş bölgeler üzerinde tutunan hücre yoğunluğunun, modifiye edilmemiş bölgelerde tutunan hücre yoğunluğuna oranı hassas bir şekilde sayısal olarak hesaplanmış, böylelikle niceliksel bir veri ortaya konulmuştur.

Bu sonuçlara göre hem Au ve hem C iyon implantasyonları belirli doz ve enerji değer aralıklarında hücre tutunmasını inhibe ederken belirli değerlerde aktive edici rol oynamaktadırlar. Bu çalışmaya göre C implantasyonu için en elverişli yüzey 1×10^{16} değerinde elde edilirken Au implantasyonu için bu değer 10^{15} dolaylarıdır. Her iki yüzey için 10^{13} ve aşağıdaki dozlar ile 10^{17} ve üzerindeki dozlar hücre tutunmasını inhibe etmektedir.

Diğer yandan implantasyon sırasında gönderilen iyonlara ait enerji değerinin tek başına hücre tutunmasına elverişli yüzey oluşturmak bakımından önemli bir parametre olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Tsuji et. al (1999) tarafından polistiren kültür kaplarına gerçekleştirilen negatif iyon implantasyonu sonrasında sinir hücre kültürü çalışmalarında 3×10^{15} ion/cm² akı değerlerindeki iyonlar 5,10,20 ve 30 keV. enerjilerle yüzeye gönderilmiştir ve burada sinir hücre tutunması bakımından en iyi sonuç 30 keV. 3×10^{15} akı değerinde alınmıştır. Burada referans materyal olarak kollajen kaplı yüzeyler kullanılmıştır. Örneklerin iyon implante edilmiş bölümlerinde hücreler yüzeye sıkı bir şekilde tutunmuş ve dallanma özellikleri göstermiştir. Fakat materyallerin iyon implante edilmemiş kısımlarında hücreler yuvarlak şekillidir, yüzeye gevşek bağlanmıştır ve dallanma sergilememektedirler. Bu çalışmada 10 ve 20 keV enerji ve 3×10^{15} iyon/cm² dozda iyon uygulanarak implante edilen örneklerin hücre tutunması bakımından 5 keV'den daha iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Bu durum bizim sonuçlarımızla da uyumludur. Tsuji ve arkadaşlarının raporladıklarına göre kontak açısıyla yapılan karşılaştırmalara göre kritik kontak açısı değeri 76° olarak belirlenmiştir (Tsuji et. al, 1999). Bu çalışmada ise pozitif iyon implantasyonu gerçekleştirilmiş olup yüzeyler genel olarak iyon implantasyonu sonrası hidrofilik özellik sergilemişlerdir. Tsuji et al. (1998) bir başka çalışmada 20 keV. 3×10^{15} için aynı değeri 73 olarak kaydetmişlerdir. 30 keV. de ise yüzeyin hidrofobikleşmesini karbonizasyona bağlamışlardır. Bu çalışmada ayrıca, yapılan XPS analizi sonucu yüzeydeki karbon oranı %25,5 olarak bildirilmiştir. Tüm bu kondisyonlara bağlı olarak yüzeyin biyokompatibilitesinde ve sinir hücre tutunmasına elverişlilik bakımından negatif gümüş implantasyonu sonrası elverişli hale geldiği raporlanmıştır (Tsuji et. al, 1998). Bu çalışmada da, iyon implantasyonunun hücre tutunmasına hemen hemen aynı doz ve enerji değerlerinde elverişli yüzeyler oluşturması gönderilen iyon'un negatif ya da pozitif özelliklerine bağlı olmaksızın, çarpışma sonucu yüzeye aktarılan enerjinin ve yüzeyde oluşan zincir kopmalarının ve yeniden bağlanmalarının, oluşan yeni yapıda etkili olduğu sonucunu oluşturmaktadır. Bu çalışmada kullanılan farklı iyonlarla (C ve Au) aynı sonucun elde edilmesi, bu sonucu doğrular niteliktedir ancak iyonların belirlenmiş bir zaman diliminde etkilerinin birebir araştırılmasına ilişkin daha detaylı çalışmalar, bu etkileri daha net olarak ortaya koyacaktır.

DLC, C ve Au implantasyonlarına maruz bırakılmış yüzeyler arasında yaptığımız karşılaştırmalara göre bu yüzey işlemlerinden hangisinin daha etkin

olduğu tam olarak açık değildir. Cam yüzeylerde belirli kalınlık derecelerinde DLC kaplamanın son derece etkili olduğu sonucuna varılırken C ve Au implantasyonları özellikle polimerlerde hücre tutunmasına elverişlilik bakımından daha aktif yüzeyler oluşturmuştur.

Buradan, polimer üzerine gerçekleşen kaplamanın tutunma bakımından camla gerçekleştirdiğimiz kaplamanın kalitesine ulaşmadığı ve değerlerin optimizasyonuna ihtiyaç duyduğu sonucuyla bir ilişkilendirilme yapılabilir. Bu bağlamda, kaplamanın yüzeye olan yapışkanlığının hücre tutunmasıyla paralellik gösterdiği yargısına ulaşılır ki bu durum daha önce de benzer şekilde raporlanmıştır (Atanur ve ark. 2009).

5.5 Sonuç:

İmplantasyona maruz kalmış birbirinden farklı biyobozunur polimerik malzemeler arasında yaptığımız karşılaştırmamızın sonuçlarına göre PLC ve Kitosan en elverişli yüzeyler olarak seçilmişlerdir.

Sonuç olarak in vivo çalışmada kullanılması düşünülen en uygun yüzey 1×10^{15} doz değerinde Au ve 1×10^{16} C iyon implante edilmiş PLC ve/veya PLC-Kitosan kompozit film olarak belirginleşmiştir.

B35 ve Neuro2A hücre dizileri ile gerçekleştirilen karşılaştırmalı hücre çalışmasının sonuçlarına göre iyon implantasyonu ile işlem görmüş yüzeylerde her iki hücre dizisi de tutunma ve nörit gelişimi yeteneği sergilemişlerdir. Buna göre, iyon implante edilmiş yüzeyler, ileride gerçekleştirilecek hücre farklılaşma çalışmaları için uygundur.

Silikon örneklerle yapılan çalışmalara göre Ca iyon implantasyonu Silikon yüzeye başarı ile implante edilmiş ve sonuç olarak hücre tutunmasına belirgin şekilde olumlu katkıda bulunmuştur. Ayrıca e-ışını ile maskeleme yöntemiyle uygulanan iyon implantasyonu ile litografi çalışması, ileride gerçekleştirilecek yapay sinir ağ'ları çalışmaları için iyon implantasyonunun uygun bir teknik olduğunu göstermektedir.

BÖLÜM 6. SİNİR DOKU MÜHENDİSLİĞİ ALANINDA KLİNİK UYGULAMALARA YÖNELİK, BİYOBOZUNUR, İYON İŞİNİMİ VE PLAZMA TEKNİKLERİ İLE İŞLEM GÖRMÜŞ POLİMERİK TÜPLER

6.1 Giriş:

Bunları takiben, bahsi geçen yüzey modifikasyon metotları içinden en uygun parametreler seçilerek iç yüzeyi optimum seviyede sinir hücresi çoğalmasına uygun hale getirilmiş kanallar boyunca seçimli aksonal büyümenin gerçekleştirilmesi ve sergilenmesi aşamasına geçilmiştir. Tezin bu aşamasında, polimerik filmlerin yüzeylerine yüzey modifikasyonu (iyon implantasyonu ve DLC film kaplaması) uygulanmış ve bu yüzey işlemi görmüş ince polimerik levhalar, kıvrılarak, uzunluğu çapından on kat fazla olan polimerik tüpler haline getirilmek suretiyle (modifiye edilmiş yüzey, tüpün iç yüzeyi olacak şekilde) omurilik için uygun bir iskele yapı elde edilmiştir.

Tez'in bu aşamasının amacı, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Bölümü Bölüm Başkanı Prof. Mehmet Zileli ve ekibi tarafından gerçekleştirilecek hayvan denemeleri için uygun, plazma esaslı tekniklerle modifiye edilmiş polimer tüplerin üretimidir. *In vivo* denemelerde plazma esaslı teknolojilerle işlem görmüş bu tüpler Beyaz Sprague-Dowley sıçanlara uygulanmıştır. Deney hayvanı olarak kullanılan beyaz Sprague-Dowley sıçanlar Ege Üniversitesi Hayvan Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Deneyler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Kliniği Deneysel Araştırma Laboratuvarı ve Fizyoloji Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmektedir. *In vivo* çalışmayı yukarıdaki yöntemlerle yüzey işlemlerine tabi tutulmuş (iyon implantasyonu ve DLC film kaplaması yapılmış) polimer film/tüplerin deney hayvanlarının siyatik sinirlerinde rejenerasyona uygun bir medya oluşturup oluşturmadığı araştırılmaktadır. Bu çalışma, düzgün bir kesi yapılmış omurilik segmentlerinin etrafına sarılan, bu tez kapsamında üretilmiş iç yüzeyi modifiye edilmiş tüpler ile yapılmıştır. Hayvanların siyatik siniri 2 seviye laminektomi ile açılarak ve transekte edilen segmentin yüzey işlemine tabi tutulmuş (Au iyon implantasyonu) polimer tüp'ün bölgeye yerleştirilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Halihazırda, E.Ü. Tıp

Fakültesi Fizyoloji A.B.D. deney hayvanları laboratuvarı'nda antibiyotik ve mesane bakımları yapılarak 4 ay süreyle yaşatılması planlanan ve bu sürenin sonunda sakrifiye edilen hayvanların siyatik sinir segmentleri en blok çıkarılarak patolojik incelemeye tabii tutulacaktır.

6.2 Materyal ve Yöntem:

6.2.A Polimer Tüplerin Hazırlanması:

Polimer tüp hazırlamak üzere, batırma ve sarma yöntemleri kullanılmıştır. PLC granül (Purac, Hollanda), kloroform ile %3'lük konsantrasyonda manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünür. Karışım 0,1mm. çapında cam kapiler çubuklar yardımıyla batırma yöntemi ve cam kapiler ve teflon çubuklara sarma yöntemleri kullanılarak hazırlanır. Örnekler, önce oda sıcaklığında daha sonra vakum etüvünde 1 gece kurutulur. Cam kapiler çubuktan ayrılan tüp formundaki polimerlerin et kalınlığı, 0,2mm., çapları 1mm. olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan tüpler 1,6cm. boyunda kesilir. Gaz sterilizasyonu metoduyla sterile edilen örnekler, yüzey modifikasyonuna ve in vivo çalışmalara hazır hale getirilir.

6.2.B Yüzey Modifikasyonları:

Yüzey modifikasyonları, Au iyon implantasyonu gerçekleştirilmiştir. İyon İmplantasyonu için, MEVVA iyon implantasyon sistemi kullanılmıştır. Cihaz, 250µs tekrarlama hızı ile saniye başına 1-2 darbeye göre ayarlanmıştır. İşlem, 20 keV ekstraksiyon voltaj değeri ve 1×10^{15} iyon/cm² akı değerinde gerçekleştirilmiştir. Metodun detayları Bölüm 3.2.B'de anlatılmıştır

Sonuç olarak, in vivo çalışma için yüzeyleri Au implante edilmiş biyobozunur PLC tüp'ler başarıyla üretilmiştir (Şekil 6.2). Üretilen örnek sayısı 1 set 6 fare içerecek şekilde toplam 3 set tekrarlı klinik çalışma için, 18 adet işlem görmemiş, 18 adet Au implante edilmiş olmak üzere toplam 36 adet'dir.



Şekil 6.1 Biyobozunur PLC polimer film



Şekil 6.2 Tez kapsamında hazırlanan, iyon ışını ile yüzeyleri modifiye edilmiş, elmasa benzer karbon film kaplı biyobozunur polimer tüp'ler

6.2.C In Vivo Denemeler:

In vivo çalışma Sprague-Dowley sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Hayvanların siyatik siniri ve sonraki denemelerde omuriliği 2 seviye laminektomi ile açılacak ve transekte edilen sinir segmentinin proksimal ve distalini de kaplayacak şekilde yüzey işlemlerine tabi tutulmuş (iyon implantasyonu ve DLC film kaplaması yapılmış) polimer tüpler ameliyat mikroskopu altında yerleştirilmiştir.

Çalışmada, 1 set 6 fare içerecek şekilde toplam 3 set tekrarlı klinik çalışma için, 18 adet işlem görmemiş, 18 adet Au implante edilmiş olmak üzere toplam 36 adet tüp, farelerin siyatik sinirlerine yerleştirilmiştir. 18 adet fare içeren kontrol set'inde, siyatik sinirlerine, aynı şekilde kesi gerçekleştirilmiş farelerin kendi kendine iyileşme düzeyleri izlenmektedir.

Deney hayvanlarına, 50-60 mg/kg intraperitoneal ketamin hidroklorid intraperitoneal enjekte edilerek anestezi uygulanmıştır. Gerekğinde rapel enjeksiyonlar yapılarak vücut ısısı ve kardiyopulmoner fonksiyonlar anestezi ve cerrahi usuller sırasında kontrol edilmiştir.

Deney süresince EKG kaydı yapılarak, kalp hızı 190-260 arasında tutulmuştur. Ayrıca bir rektal ısı probu yerleştirilerek ve hayvan deney süresince bir enfrarüj lamba ile ısıtılarak rektal ısı 35,5-37,5°C arasında tutulmuştur. Siyatik siniri üzerinde orta hat insizyonu ve kas separasyonundan sonra yüksek devirli bir tur yardımı ile laminektomi yapılarak, 6-8 mm'lik bir sinir segmenti rahatlıkla görünür hale getirilmektedir. Deney süresince serum fizyolojik irrigasyonu yapılarak sinirin kuruması engellenir. Siyatik siniri üzerinde bir tam kesi yapılmıştır ve daha sonra optimal olarak belirlenen Au implante edilmiş PLC tüp'ler sinirin her iki ucunu tutacak biçimde bölgeye yerleştirilerek yara kapatılmıştır.

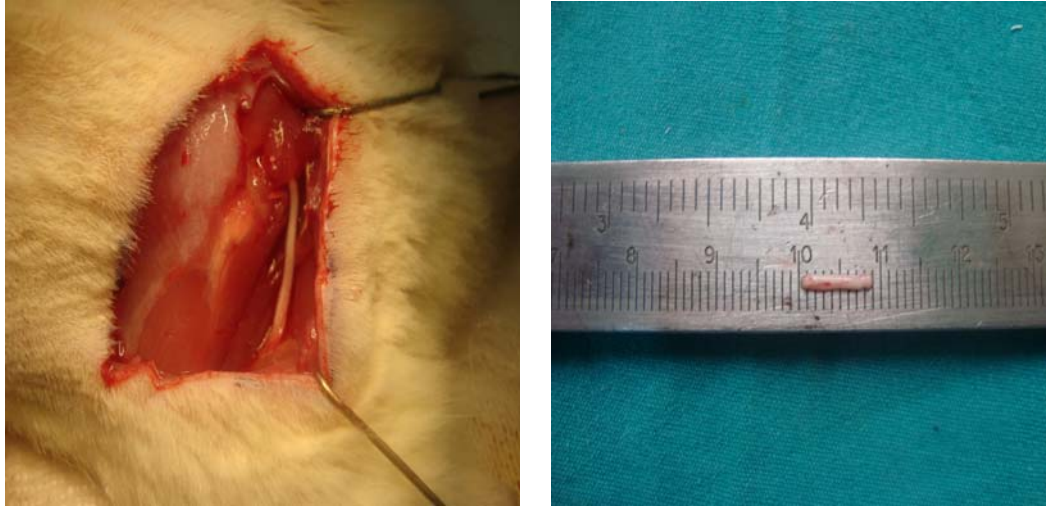
Paraplejik sıçanların ciltleri kapatılarak, E.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Bölümü Laboratuvarı'nda antibiyotik ve mesane bakımları yapılarak 4 ay süreyle

yaşatılacak ve bu sürenin sonunda önce intraperitoneal 50-60 mg/kg ketamine hidroklorid enjeksiyonu ile anestezi uygulanarak, daha sonra kalp içine formol enjeksiyonu ile sakrifiye edilecektir. Sakrifiye edilen hayvanların siyatik sinir segmentleri en blok çıkarılacak ve çıkarılan örnek %10'luk formol solüsyonu içerisine konacaktır. Patolojik inceleme için , çıkarılan segment hematoksilen eozin ile boyanarak immun histokimyasal yöntemler ile incelenecektir. Bu çalışmada rejenerasyon oluşma zamanı da saptanacaktır. Çalışmaya ilişkin E.Ü. Hayvan Etik Kurulu'na onaylanmış izin belgesi ek'tedir (EK A.).

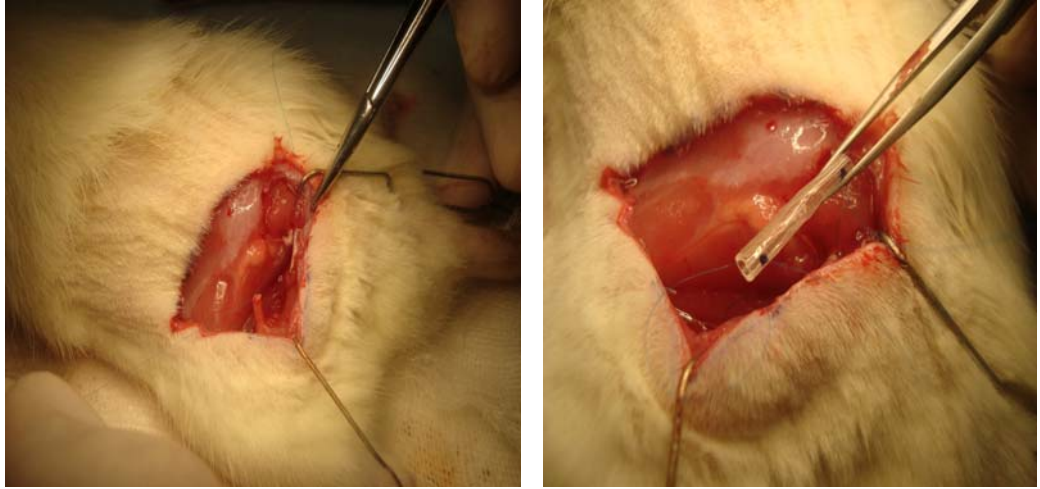
Şekil 6.3, 6.4 ve 6.5'de yeralan fotoğraflarda, yüzeyi Au ile implante edilmiş biyobozunur polimer tüplerin deney grubuna mikrocerrahi yöntemle yerleştirilmesi gösterilmektedir



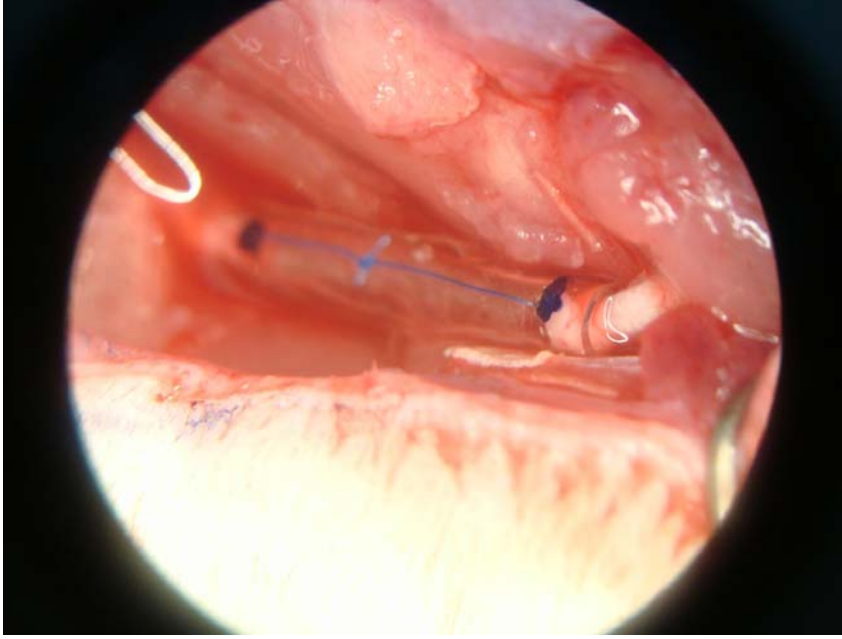
Şekil 6.3 Au ile implante edilmiş biyobozunur polimer tüplerin sıçanlara yerleştirilmesi



Şekil 6.4 Siyatik siniri açılmış Sprague Dowley fare ve çıkartılan sinir segmentinin görüntüsü. *Bu çalışma E.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Bölümü Laboratuvarlarında Dr. Umut Yıldırım ve Dr. Oğuz Gözen tarafından gerçekleştirilmiştir.*

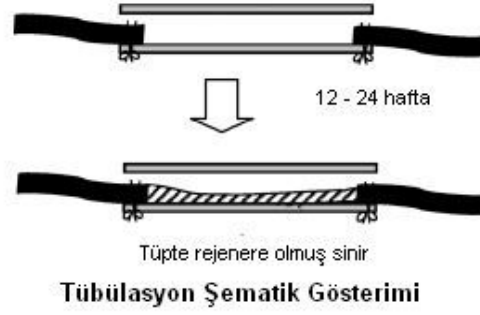


Şekil 6.5 Bu tez kapsamında ve 108M391 no'lu TÜBİTAK projesi içeriğinde geliştirilen PLC biyobozunur tüp'lerin, Sprague Dowley Deney Hayvanları'nın siyatik sinirine yerleştirilmesi. *Bu çalışma E.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Bölümü Laboratuvarlarında Dr. Umut Yıldırım ve Dr. Oğuz Gözen tarafından gerçekleştirilmiştir.*



Şekil 6.6 Bu tez kapsamında ve 108M391 no'lu TÜBİTAK projesi içeriğinde geliştirilen PLC biyobozunur tüp'lerin siyatik sinirine yerleştirildikten ve sütürlendikten sonra, ameliyat mikroskobu altındaki görüntüsü. *Bu çalışma E.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Bölümü Laboratuvarlarında Dr. Umut Yıldırım ve Dr. Oğuz Gözen tarafından gerçekleştirilmiştir.*

Literatürde Tsuji et. al. (2000) tarafından gerçekleştirilen ve 12-24 hafta sonunda rejenerasyon izlenen çalışmada (Şekil 6.7) negatif iyon implantasyonu 10 keV enerji ve 3×10^{15} iyon/cm² dozda uygulanmıştır. Kullanılan sıçanlar 10-12 haftalık Fisher 344 sıçanlarıdır. Sıçanların sağ siyatik sinirinden 10 mm uzunluğundaki bir sinir segmenti kesilmiş ve arasına iyon implante edilmiş tüp koüzerinde kültüre alınmıştır. Bu çalışmada malzeme olarak polistren filmler kullanılmış ve örnekler karbon negatif iyonlarla iyon bombardımanına tabi tutulmuşlardır.



Şekil 6.7 Tübülasyon Şematik Gösterimi (Tsuji et al. 2000)

Tübülasyon işleminin uygulanmasından 12 hafta sonra negatif karbon iyonu implante edilmiş tüplerde sinir dokusu oluşumu gözlemlenmiş ancak sıçanlar stimülasyon transferini henüz gerçekleştirememişlerdir. 24 hafta sonunda, tüpteki 15 mm'lik sinir boşluğu tamamlamış ve sıçan pedal adductor kasını çalıştırmak üzere aksiyon potansiyeli göstermeye başlamıştır, iyon implantasyonu yapılmamış kontrol grubunda böyle bir iyileşme söz konusu olmamıştır (Tsuji et al. 1998, 1999, 2000).

Hayvanlara uygulanması ve bununla ilgili immunohistokimyasal tetkikler, Tıp Fakültesi Nöroşirurji Bölümü Tıpta Uzmanlık öğrencisi Dr. Umut Yıldırım'ın, uzmanlık tez konusu olup, sonuçlar ve tartışma bu tez kapsamında incelenecektir.

7. GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER:

Sonuç olarak yapılan çalışmalarda gerek Au ve C atomları ile gerçekleşen iyon implantasyonu ve gerek plazma depozisyon ünitesi ile gerçekleştirilen elmasa benzer karbon film kaplama, polimerik yüzeylere başarı ile uygulanmış ve her iki tip yüzey modifikasyonu ile yüzey üzerinde beklenen kimyasal değişimler çeşitli analiz teknikleriyle saptanmıştır.

Bu oluşan değişiklikleri kısaca özetlersek C ve Au implantasyonu sonrasında yüzeyde karbonizasyon artmış ve oksijen seviyeleri azalmış ancak belirli implantasyon doz ve enerji değerlerinde bu durum tam tersi şekilde gözlemlenmiştir.

Buradan çıkartılacak sonuç, yüzeye uygun doz ve enerji dereceleri kullanılarak yüzeyin yapısını istenilen şekilde değiştirmek C ve Au implantasyonu ile mümkün olabilmektedir.

Bu durumda yüzey enerjileri ve yük dağılımları ile de bağlantılı şekilde oynanarak amacımıza yönelik polimer yapıları oluşturmamız mümkündür.

Plazma depozisyon tekniği ile elmasa benzer karbon kaplamalar yaparken, kaplamanın polimerik yüzeye yapışması ve tutunması önemli bir sorun teşkil etmektedir. Burada, yüzeyin önce implante edilerek metalik özellik kazandırılması böylece kutuplanma gerçekleştirmek suretiyle kaplamanın yapılması yöntemi benimsenmiştir. İnce yüzey kaplamaları üzerinde daha iyi sinir hücre tutunması gözlemlenmiştir.

Yapılan hücre çalışmalarını yüzey üzerinde gerçekleştirilen Au ve C implantasyonu ve elmasa benzer kaplamalar ile ilişkilendirirsek, genel olarak Au ve C ile gerçekleştirilen implantasyonlarda, yüzeydeki O miktarında artış ve karbonizasyon seviyesindeki düşüş hücre tutunmasını tetiklemiştir. Bunun sebebi, hücrelerin oksijenli ortamda daha iyi beslenme koşullarına sahip olduklarından ötürü enerji metabolizmalarını daha etkin kullanabilmeleridir. DLC filmlerde ise

en etkin sonuç, ince kaplama değerlerinde elde edilmiştir ve elmasa benzerlik raman spektrumları bakımından değerlendirildiğinde en çok elmasa benzer yüzeyler üzerinde en iyi hücre tutunması izlenmiştir.

Çalışmanın tüm sonuçları değerlendirildiğinde implantasyonlar ve polimerler bakımından en iyi tutunma PLC örnekler ile alınmıştır. PLA ve silikon örneklerde de iyi sonuçlar tesbit edilmesine karşın polimer tüp yapımı bakımından en optimize malzeme PLC olarak tesbit edilmiştir. Ek olarak kitosan ile yapılan hücre tutunma testleri de olumlu sonuç vermiştir. Diğer yandan kitosan tek başına iyon implantasyonuna maruz kalmak ve biyobozunurluk süresi bakımından yetersiz özellik sergilemektedir. Bu bakımdan, ileride yapılacak çalışmalar için PLC - kitosan kopolimerleri düşünülebilir.

C ve Au implantasyonları arasında yaptığımız değerlendirmelere göre kullandığımız polimerlerle her iki atomun yapısal özellikler bakımından benzer etkileşimlere sebebiyet verdikleri izlenmiştir. Ancak oksijen bakımından zengin yüzeyler elde edilmesi anlamında, doz ve enerji değerlerinde farklılıklar izlenmiştir. Bu bakımdan, Au implantasyonu daha düşük doz ve enerji değerlerinde karbon implantasyonuna benzer sonuçlar vermiştir. Bu durumu Au'nun atom ağırlığına ve yük derecesine bağlamak mümkündür. Ayrıca genel olarak Au'nun daha az impüriteye sebebiyet verdiği XPS analizlerinde görülmektedir.

C ve Au iyonlarının hücre tutunmasıyla ilişkilendirdiğimizde, yapısal değişikliklere paralel hücre tutunma davranışlarının ve nörit uzunluğu parametrelerinin değişiklik gösterdiği raporlanmaktadır. Bu bağlamda cam ve polimer malzemelerden iyi hücre tutunması ve nörit gelişimi Au ve C iyonlarıyla $10^{15} - 10^{16}$ doz değeri aralığında izlenmiştir. Ayrıca iyi hücre tutunması örneklerin XPS grafiklerinde O konsantrasyonunun yüksek olduğu doz'lara denk gelmesi, yüzeyde varolan oksijenin hücre tutunmasını olumlu yönde etkilediği sonucunu vermektedir. Bu noktada, ilerki çalışmalarda metal-gaz implantasyonlarının etkinliğinin araştırılması, özellikle O konsantrasyonunun hangi derecelerde yüzey tutunmasına olumlu etkilerinin olduğu bir araştırma konusu olarak önerilebilir.

C ve Au implantasyonlarını DLC ile karşılaştırdığımızda en iyi doz değerlerinde implantasyon ve DLC kaplama arasında net bir farklılık izlenmemiştir ancak uzun vadede kaplamanın dökülme riski, bozunma süresi ile paralel şekilde optimize edilmelidir.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde klinik çalışmalar için en uygun malzeme, PLC ve PLC/Kitosan kopolimeri olarak belirlenmiştir. Bu malzemelerden farklı ebatlarda tüp üretimi, cam çubuklarla daldırma metodu ile başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Sprague Dowley sıçanları ile yapılan klinik uygulamalarda en uygun tüp boyutları 1,6 cm. Uzunluğunda, 1mm. çapında ve 0,3 mikron. et kalınlığına sahip olarak belirlenmiştir.

İmplantasyonlu ve DLC gerçekleştirilen tüp üretimi de gerçekleşmiş olup bu tüplerin klinik çalışmaları halihazırda devam etmektedir. Dr. Umut Yıldırım'ın tez çalışmasında implantasyonlu ve DLC'li PLC tüpler için, fonksiyonel ve histolojik değerlendirmeler gerçekleştirilerek en uygun bulunan yüzey işlemi bu çalışma kapsamında raporlanacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ager JW, Brown IG, Monteiro OR, Knapp JA, Follstaedt DM, Nastasi M, Walter KC, Marggiore CJ.,** 1997, Growth and Characterization of Multi-layer Hard Carbon Films. Mat. Res. Soc. Symp. Proc. 438, 581-586pp.
- Ahlatci H.,** 2008, Production, Modification and Usage Areas of Diamond Thin Films, Metalurji, 23, 122p.
- André, J. M., Delhalle, J. and Brédas, J. L.,** 1991, Quantum chemistry aided design of organic polymers, World Scientific, Singapore
- Anuntalabhochai S., R. Chandej, B. Phanchaisri, L.D. Yu, T. Vilaithong and I.G. Brown,** 2001, Ion Beam Induced DNA Transfer, Appl. Phys. Lett. 78(16), 2393-2395pp.
- Atanur Sen, Syed Barizuddin, Maruf Hossain, Luis Polo-Parada, Kevin D. Gillis, Shubhra Gangopadhyay,** 2009, Preferential cell attachment to nitrogen-doped diamond-like carbon (DLC:N) for the measurement of quantal exocytosis, Biomaterials, 30(8), 1604-1612pp.
- Avellino AM, Hart D, Dailey AT, Mac- Kinnon M, Ellegala D, et al.,** 1995. Differential macrophage responses in the peripheral and central nervous system during wallerian degeneration of axons, Experimental Neurology, 136, 183–98pp.
- Bahr M, Bonhoeffer F.,** 1994, Perspectives on axonal regeneration in the mammalian CNS, Trends Neurosci., 17:473–79pp.
- Beccheroni A., Lucarelli E., Donati D., Sangiorgi L., et al.,** 2003, Recovery of stromal stem cell in bone sarcoma patients after chemotherapy: Implication for cell-based therapy in bone defect reconstruction, Oncology Reports, 10: 891-896 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Biederman D. and Slavinska H.**, 1999, Ion Bombardment of Organic Materials and its Potential Applications, Proc. 1998 Inter. Conf. on Ion Implantation Technology 2, 815– 819pp.
- Bini TB, Gao S, Tan TC , Wang S, Lim A, Hai LB, Ramakrishna S.**, 2004, Electrospun poly(L-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer nanofibre tubes for peripheral nerve regeneration, Nanotechnology, 15 1459–1464pp.
- Blakely E.A., K.A. Bjornstad, J.E. Galvin, O.R. Monteiro, I.G. Brown and S. Sangyuenyongpipat**, 2002, Selective Neuron Growth on Ion Implanted and Plasma Deposited Surfaces, IEEE Conference Record, Cat. No. 02CH37340, 253p.
- Bracco P., E.M. Brach del Prever, M. Cannas, M.P. Luda and L. Costa**, 2006, Polymer Degradation and Stability, 91, Issue 9 , , Pages 2030-2038pp.
- Bracco P., V. Brunella, M.P. Luda, M. Zanetti and L. Costa**, 2005, Polymer 46, (24 , 21): 10648-10657pp.
- Brandt KE, Mackinnon SE**, 1997, Microsurgical Repair of Peripheral Nerves and Nerve Grafts, Grabb and Smith's Plastic Surgery Philadelphia, Lippincot-Raven, 79-90pp.
- Brown IG, Anders A, Anders S, Dickinson MR, Ivanov IC, MacGill MA, Yao X, Yu KM.**, 1993, Plasma Synthesis of Metallic and Composite Thin Films with Atomically Mixed Substrate Bonding., Nucl. Instrum. Meth. B, 80/81, 1281-1287pp.
- Brown, I.G., K.A. Bjornstad, E.A. Blakely, J.E. Galvin, O.R. Monteiro and S. Sangyuenyongpipat**, 2003, Growth of Large Patterned Arrays of Neurons using Plasma Methods, Plasma Phys. Control. Fusion 45, 547-554pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Brown**, 1998, Cathodic Arc Deposition of Films, Annual Review of Materials Science, 28p.
- Brown**, 2004, The Physics and Technology of Ion Sources, Second Edition. (Ed.), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 241p.
- Brown I.G., K A Bjornstad, E A Blakely, J E Galvin, O R Monteiro and S Sangyuenyongpipat**, 2003, Plasma Phys. Control. Fusion, 45, 547-554pp.
- Brown I.G., O.R. Monteiro, E.M. Oks, G.Yu. Yushkov, P.J. Evans, F. Liu, and A. Öztarhan**, 1996, Co-Implantation of Mixed Metal-Gas Ion Beams, 14th Int. Conf. on the Applications of Accelerators in Research and Industry
- Buti, E., Verdu, R.O. Labrador, J.J. Vilches, J. Fores and X. Navarro.**, 1996, Exp. Neurol., 137p.
- Cetin A, Tek Z, Öztarhan A., et al.**, 2007, A comparative study of single and duplex treatment of martensitic AISI 420 stainless steel using plasma nitriding and plasma nitriding-plus-nitrogen ion implantation techniques, Surface and Coatings Technology, 201(19-20): 8127-8130pp.
- Chamberlain L.J., I.V. Yannas, A. Arrizabalaga, H.-P. Hsu, T.V. Norregaard and M. Spector.**, 1998, Biomaterials 19: 1393p.
- Chamberlain L.J., I.V. Yannas, H.-P. Hsu and M. Spector.**, 2000, J. Comp. Neurol. 417: 415p.
- Chaudhry V, Glass JD, Griffin JW.**, 1992, Wallerian degeneration in peripheral nerve disease, Neurol. Clin., 10: 613– 27pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Chappa VF.C., M.F. del Grosso, G. García-Bermúdez and R.O. Mazzei**, 2006, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 243(1): 58-62pp.
- Chen J.S, F.Y. Zhu, H.C Pan, J.Q Cao, D.Z. Zhu, H.J. Xu, Q. Cai, J. Shen, L.H. Chen and Z.R. He**, 2000, Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., B Beam Interact. Mater. Atoms, 169: 26p.
- Chen MS, Huber AB, van der Haar ME, Frank M, Schnell L, et al.**, 2000, Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1, Nature 403: 434–439pp.
- Cheng H, Cao Y, Olson L.** 1996, Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function, Science, 273: 510–513pp.
- Chu Paul K.**, 2006, Bioactivity of plasma implanted biomaterials, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 242, 1-7pp.
- Chu Paul K.**, 2007, Plasma surface treatment of artificial orthopedic and cardiovascular biomaterials, Surface & Coatings Technology, 201, 5601–5606pp.
- Colthup N. B., Daly L.H., Wiberley S.E.**, 1990, Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, Academic Press 3.rd Edition, U.S.A., 255-384pp.
- Corey J.M., B.C. Wheeler and G.J. Brewer**, 1991, Compliance of Hippocampal Neurons to Patterned Substrate Networks, J. Neurosci. Res. 30: 300-307pp.
- Davenas J. and X.L. Xu.**, 1989, Nucl. Instr. and Meth. B, 39: 754p.
- Davies SJ, Fitch MT, Memberg SP, Hall AK, Raisman G, et al.**, 1997. Regeneration of adult axons in white matter tracts of the central nervous system, Nature, 390: 680– 683pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Davis GE, Manthope M, Williams LR, Varon S.**, 1986, Characterization of a laminin- containing neurite-promoting factor and a neuronotrophic factor from peripheral nerve related sources., Ann N Y Acad Sci, 486, 194-205pp.
- Dahlin L and Lundborg G.**, 2000, Use of tubes in peripheral nerve repair, Neurosurg Clin N Am, 12(2), 341–352pp.
- De Ruiter G.CW., Robert J. Spinner MD, Michael J. Yaszemski MD, PhD, Anthony J. Windebank MD and Martijn J.A. Malessy**, 2009, Nerve Tubes for Peripheral Nerve Repair, Neurosurg Clin N Am 20: 91–105pp.
- Deliloglu-Gurhan S.I., H.S. Vatansever, F. Ozdal-Kurt, I. Tuglu**, 2006, Characterization of osteoblasts derived from bone marrow stromal cells in a modified cell culture system, Acta Histochemica, 108(1): 49-57pp.
- Eckstein, W.**,1991, Computer Simulation of Ion-Solid Interactions, Springer Verlag, Berlin, 5-87pp.
- Ellis D.L. and Yannas I.V.**, Recent advances in tissue synthesis *in vivo* by use of collagen-glycosaminoglycan copolymers, 1996, Biomaterials 17, 291p.
- Erdoğan D., Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO.**, 1993, Temel Histoloji, İstanbul. Sinir Dokusu Bari /Appleton-Lange, 196-231pp.
- Evans GR, Brandt K, Niederbichler AD, Chauvin P, Herrman S, et al.**, 2000, Clinical long-term in vivo evaluation of poly(Llactic acid) porous conduits for peripheral nerve regeneration, Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 11(8), 869-878pp.
- Evans G.R.D., K. Brandt, M.S. Widmer, L. Lu, R.K. Meszlenyi, P.K. Gupta, A.G. Mikos, J. Hodges, J. Williams, A. Gurlek, A. Nabawi, R. Lohman and C.W. Patrick, Jr.**, 1999, Biomaterials, 20: 1109p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Fields RD, Ellisman MH.**, 1986, Axons regenerated through silicone tube splices. I. Conduction properties., *Exp. Neurol.*, 92: 48–60pp.
- Ferraro J.**, 2002, *Introductory Raman Spectroscopy* by Academic Press, U.S.A.
- Franz G.**, 2009, *Low Pressure Plasmas and Microstructuring Technology*, Springer Verlag, 2009, 137p., 267p., 431p.
- Frykman KG, Adams J, Bowen WW.**, 1981, Neurolysis, *Orthop Clin North Am.* 12(2): 325-42pp.
- Gautier, M. Oudega, M. Frago, P. Chapon, G.W. Plant, M.B. Bunge and J.-M. Parel.**, 1998, *J. Biomed. Mater. Res.* 42, 642p.
- Goddard J.M. and J.H. Hotchkiss**, 2007, Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds, *Prog. Polym. Sci.* 32, 698–725pp.
- Green, D.C., McKenzie D.R., Lukings P.B.**, 1989, The Microstructure Of Carbon Thin Films, *Materials Science Forum*, (52&53): 103-124pp.
- Gutensohn K., C. Beythien, R. Koester, J. Bau, T. Fenner, P. Grewe, K. Padmanaban, P. Schaefer and P. Kuehn**, 2000, In Vitro Biocompatibility Analyses of Stents Coated with Diamond-Like Carbon by Flow Cytometry, Cell Growth Assays and Electron Microscopy, *Infusion Therapy and Transfusion Medicine*, 27(4): 200-206pp.
- Guzman L., B.Y. Man, A. Miotello, M. Adami and P.M. Ossi**, 2002, Thin Solid Films, 420–421, 565p.
- Hickman J.J., S.K. Bhatia, J.N. Quong, P. Shoen, D.A. Stenger, C.J. Pike and C.W. Cotman**, 1994, Rational Pattern Design for in vitro Cellular Networks using Surface Photochemistry, *J. Vac. Sci. Tech. A*, 12: 607-616pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Hirvonen, J.P., Koskinen J., Lappalainen R. And Antilla A.,** 1989, Preparation And Properties of High Density, Hydrogen Free Hard Carbon Films With Direct Ion Beam Or Arc Discharge Deposition, Materials Science Forum, v 52&53, 197-216pp.
- Hudson TW, Evans GR, Schmidt CE.,** 1999, Engineering strategies for peripheral nerve repair, Clin Plast Surg, 26:617–28pp.
- Ignatius MI, N. Sawhney, Gupta A, Thibadeau B, Monteiro OR, Brown IG.,** 1998, Bioactive Surface Coatings for Nanoscale Instruments: Effects on CNS Neurons, J. Biomed. Mat. Res. 40, 264-274pp.
- Ikeguchi R., R. Kakinoki, T. Matsumoto, T. Yamakawa, K. Nakayama, Y. Moritomo, H. Tsuji, J. Ishikawa and T. Nakamura,** 2006, Basic Fibroblast Growth Factor Promotes Nerve Regeneration in a C – Ion Implanted Silicon Chamber, Brain Research 1090, 51-57pp.
- Ikeguchi R., R. Kakinoki, T. Matsumoto, H. Tsuji, J. Ishikawa and T. Nakamura,** 2003, Rat Nerve Regeneration through a Silicone Chamber Implanted with Negative Carbon Ions, Developmental Brain Research 140, 127-131pp.
- Ingram D.C.,** 1989, Diamondlike Carbon (DLC): Its Fabrication, Analysis And Modification By Ion Beams, Materials Science Forum, v 52&53Ç: 475-494pp.
- Ishikawa J., H. Tsuji, H. Sato and Y. Gotoh,** 2007, Ion Implantation of Negative Ions for Cell Growth Manipulation and Nervous System Repair, Surf. Coat. Technol. 201: 8083-8090pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Ishikawa J**, 2007, High-intensity negative ion sources for material science applications, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 261: 1032–1035.
- Iwaki, M.**, 1989, Metal Surface Modification by Ion Implantation, *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, CRC Press, 15(5): 473-508pp.
- Jacobsen S and Guth L.**, 1965, An electrophysiological study of the early stages of peripheral nerve regeneration, *Exp. Neurol.*, 11:48–60pp.
- Jang W.Y., Shin B.Y., Lee T.J. and Narayan R.**, 2007, Thermal Properties and Morphology of Biodegradable PLA/Starch Compatibilized Blends, *J. Ind. Eng. Chem.*, 13 (3): 457-464pp.
- Jorio A., Pimenta M A, Souza Filho A G , Samsonidze G., Swan A.K. , Ünlü M.S., Goldberg B.B. , Saito R, Dresselhaus G., and Dresselhaus M.S.**, 2003, Resonance Raman Spectra of Carbon Nanotubes by Cross-Polarized Light, *Phys. Rev. Lett.* 90, 107403p.
- Kaya, N; Oztarhan, AM; Urkac, ES, et al.**, 2007, Polymeric thermal analysis of C+H and C+H+Ar ion implanted UHMWPE samples, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 261(1-2): 711-71pp.
- Kelly S., Edward M. Regan, James B. Uney, Andrew D. Dick, Joseph P. McGeehan, The Bristol Biochip Group, Eric J. Mayer and Frederik Claeysens**, 2008, Patterned growth of neuronal cells on modified diamond-like carbon substrates, *Biomaterials*, 29(17): 2573-2580pp.
- Kenar H., Kose G.T., Hasirci V.**, 2006, Tissue engineering of bone on micropatterned biodegradable polyester films, *Biomaterials* 27, 885–895pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Langone F., S. Lora, F.M. Veronese, P. Caliceti, P.P. Parnigotto, F. Valenti and G. Palma**, 1995, *Biomaterials*, 16: 347p.
- Lau K. , McLean W.G., Williams D.P., Howard C.V. ,** 2006, Synergistic Interactions between Commonly Used Food Additives in a Developmental Neurotoxicity Test, *Toxicological Sciences*, 90(1):178-187pp.
- Lettington A. and Steeds J.W.**, 1994, *Thin Film Diamond*; Champman & Hall., , New York, 1-14, 15-30, 91-105, 127-141, 143-152 pp.
- LoPachin RM**, 2004, The changing view of acrylamide neurotoxicity, *Neurotoxicology*, 25(4):617-30p.
- Lindhard J., V. Nielsen, and M. Scharff.** ,1968, Approximation Method in Clasical Scattering by screened Coulomb Fields (Notes on Atomic Collisions I), *Mat.Fys.Medd. Dan Vid.Selsk.* 36, 10p.
- Lindhard J., V. Nielsen, and H.E. Schiott.** ,1963, Range Concepts and Heavy Ion Ranges (Notes on Atomic Collisions II), *Mat.Fys.Medd. Dan Vid.Selsk.* 33, 143p.
- Li D.J. and H.Q. Gu**, 2002, Cell Attachment on Diamond-Like Carbon Coatings, *Mater. Sci. Bull.*, 25(1), 7-13pp.
- Liu F. , O.R. Monteiro, K.M. Yu and I.G. Brown**, 1997, Self-Neutralized Ion Implantation into Insulators, *Nucl. Instrum. Meth. B*, 132: 188-192pp.
- Lundborg G.**, 1987, Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand.*, 58:145-69pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Lundborg G.**, 2000, A 25-Year Perspective of Peripheral Nerve Surgery: Evolving Neuroscientific Concepts and Clinical Significance, J. Hand Surg, 25(3): 391-414pp.
- Marletta G.**, 2009, Ion-Beam Modification of Polymer Surfaces for Biological Applications, Materials Science with Ion Beams, Springer Verlag, Heidelberg, Chapter 12
- Matsumoto R., Keisuke Sato, Kazuhide Ozeki, Kenji Hirakuri, Yasuhiro Fukui**, 2008, Cytotoxicity and tribological property of DLC films deposited on polymeric materials, Diamond and Related Materials, 17(7-10), 1680-1684pp.
- Mayer, J.W., Eriksson L., Davies J. A.** ,1970, Ion Implantation in Semiconductors, Academic Press, New York
- McKeon RJ, Schreiber RC, Rudge JS, Silver J.**, 1991, Reduction of neurite outgrowth in a model of glial scarring following CNS injury is correlated with the expression of inhibitory molecules on reactive astrocytes, J. Neurosci., 11:3398– 411pp.
- McLean, W. G., and S. A. Ward.**, 1998, In vitro neurotoxicity of artemisinin derivatives, Med. Trop., 58:28-31pp.
- Miller C., H. Shanks, A. Witt, G. Rutkowski and S. Mallapragada**, 2001, Guided Schwann Cell Growth In Vitro, Biomaterials 22, 1263-1269pp.
- Miyoshi, K, Pouch J.J. and Alterovitz S.A.**, 1989, Plasma-Deposited Amorphous Hydrogenated Carbon Films And Their Tribological Properties, Materials Science Forum, v 52&53, 645-656pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Morgenstern DA, Asher RA, Fawcett JW.**, 2002, Chondroitin sulphate proteoglycans in the CNS injury response, *Prog. Brain Res.*, 137: 313–32pp.
- Mukhopadhyay G, Doherty P, Walsh FS, Crocker PR, FilbinMT.**, 1994, Anovel role for miyelin-associated glycoprotein as an inhibitor of axonal regeneration, *Neuron*, 13: 757–67pp.
- Nicolini C.**, 2009, *Nanobiotechnology & Nanosicences*, Vol1., Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., 220p.
- Nicolini C**, 1995, From neural chip and engineered biomolecules to bioelectronic devices: an overview, *Biosensors & Bioelectronics*, Chapter:10, 105–127pp.
- Oktem, T; Tarakcoglu, I; Ozdogan, E, et al.**, 2008, Modification of friction and wear properties of PET membrane fabrics by MEVVA ion implantation, *Materials Chemistry and Physics*, 108 (2-3): 208-213pp.
- Oks EM, Yushkov GY, Evans PJ, et al**, 1997, Hybrid gas-metal co-implantation with a modified vacuum arc ion source, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 127: 782-786pp.
- Olson L, Backman L, Ebendal T, et al.**, 1994, Role of growth factors in degeneration and regeneration in the central nervous system; clinical experiences with NGF and Parkinson's and Alzheimer's diseases, *J Neurol*, 242:12-5p.
- Oztarhan A, Brown I, Bakkaloglu C, Watt G, Evans P, Oks E, Nikolaev A, Tek Z.**, 2005, Metal Vapour Vacuum Arc Ion Implantation Facility in Turkey, *Surf. Coat. Technol.*, 196, 327-332pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Oztarhan A., N. Kaya, A. Ozdesir, E. Sokullu Urkac, S. Budak, C. I. Muntele, B. Chhay, E. Oks, A. Nikolaev and D. Ila**, 2007, Modification of Surface Morphology of UHMWPE for Biomedical Implants, Symposium GG: Ion-Beam-Based Nanofabrication, MRS Spring Meeting
- Paragkumar T.N., Edith D., Jean-Luc S.**, 2006, Surface characteristics of PLA and PLGA films, Applied Surface Science 253 , 2758–2764pp.
- Pashley D.W.**, 1963, The Growth and Structure of Thin Films, Chapter 3 in Thin Films, American Society for Metals, Metals Park, OH, 59 – 98pp.
- Pashley D.W., M.J. Strowell, M.H. Jacobs, T.J. Law**, 1964, The Growth and Structure of Gold and Silver Deposits Formed by Evaporation Inside an Electron Microscope, Phil. Mag. 10, 127 – 158pp.
- Phanchaisri B. L.D. Yu, S. Anuntalabhochai, R. Chandej, P. Apavatjirut, T. Vilaithong and I.G. Brown**, 2002, Characteristics of Heavy Ion Beam-Bombarded Bacteria E. Coli and Induced Direct DNA Transfer, Surf. Coat. Technol. 158/159, 624-629pp.
- Phillips J.B. et al.**, 2005, Neural Tissue Engineering: A self-organizing collagen guidance conduit, Tissue Engineering, 11(9/10), 1611-1617pp.
- Popok V.N., Azarko I, Odzhae V.B., Tóth A. and Khaibullin R.I.**, 2001, High fluence ion beam modification of polymer surfaces: EPR and XPS studies, Nuclear Instruments and Methods in Physics, Section B: Beam 178, (1-4): 305-310pp.
- Premnath V., Bellare A., Merrill E. W., Jasty M. and Harris W.** 1999, Molecular rearrangements in ultra high molecular weight polyethylene after irradiation and long-term storage in air, Polymer, 40(9): 2215-2229pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Richardson PM, McGuinness UM, Aguayo AJ.**, 1980, Axons from CNS neurons regenerate into PNS grafts, *Nature*, 284:264–65pp.
- Rizzatti M.R., M.A. Araújo and R.P. Livi**, 1995, The fluence effect of Ar⁺⁺ bombardment in PPS., *Surf. Coat. Technol. B* 70, 197p.
- Robertson J.**, 2002, Diamond-like amorphous carbon, *Mat. Sci. Eng., R Rep.* 37: 129p.
- Rodriguez F.J., N. Gomez, G. Perego and X. Navarro**, 1999, Highly permeable polylactide-caprolactone nerve guides enhance peripheral nerve regeneration through long gaps, *Biomaterials* 20: 1489p.
- Roy R.K. and Lee K.R.**, 2007, Biomedical Applications of Diamond-Like Carbon Coatings: A Review, *J. Biomaterials Research Part B: Applied Biomaterials* 83B(1), 72-84 pp.
- Saida P. Khan, Gregory G. Auner, Golam M. Newaz**, 2005, Influence of nanoscale surface roughness on neural cell attachment on silicon, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 1 (2), 125-129pp.
- San J.F., J.J. Liu, B.L. Zhu, Z.S. Mo and Q.Y. Zhang**, 2002, Carbon ion implantation of ultra-high molecular weight polyethylene using filtered cathodic vacuum arc with substrate pulse biasing, *Surf. Coat. Technol.* 161, p. 1
- Sangyuenyongpipat S., L.D. Yu, T. Vilaithong and I.G. Brown**, 2006, Ion Bombardment Induced Formation of Micro-Craters in Plant Cell Envelopes, *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B* 242, 8-11pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Sato H., H. Tsuji, S. Ikeda, N. Ikemoto, J. Ishikawa, S. Nishimoto**, Nerve-cell attachment properties of polystyrene and silicone rubber modified by carbon negative-ion implantation, 1999, J. Biomed. Mater. Res. 44: 22p.
- Satriano, E. Conte and G. Marletta**, 2001, Surface Chemical Structure and Cell Adhesion onto Ion Beam modified Polysiloxane, Langmuir 17, 2243-2250pp.
- Satriano C., Marletta G. , Guglielmino S, Carnazza S.**, 2006, Surface Free Energy and Cell Adhesion onto Irradiated Polymer Surfaces, Contact Angle, Wettability and Adhesion, 4, 1–16pp.
- Satriano C., G. Marletta and E. Conte**, 1999, Cell adhesion on low energy ion beam irradiated polysiloxane surfaces, Nucl. Instr. Methods B, 148, 1079-1084pp.
- Schmidt and Leach**, 2003, Neural Tissue Engineering: Strategies for Repair and Regeneration Annu. Rev. Biomed. Eng. , 5:293–347
- Seal B. L., T. C. Otero and A. Panitch**, 2001, Materials Science and Engineering: R: Reports, 34(4-5), 10: 147-230pp.
- Seddon HJ**, 1954, Peripheral nerve injuries. By the Nerve Injuries Committee of the Medical Research Council. Special Report Series No. 282. London
- Selvi S, Tek Z, Öztarhan A., et al.**, High fluence effects on ion implantation stopping and range, Nucl. Instr. Methods B, 229 (1): 60-64pp.
- Silverthorn D.**, 2001, Human Physiology, Upper Saddle Hall, NJ: Pearson Educ, 256–57pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Sigmund P.**, 1973, A Mechanism of Surface Micro-Roughening by Ion Bombardement, J.Mater. Sci. 8: 1545 – 1553pp.
- Solarski S., Ferreira M. and Devaux E.**, 2005, Characterization of the thermal properties of PLA fibers by modulated differential scanning calorimetry, Polymer, 46 (25), 11187-11192pp.
- Sommani P., H. Tsuji, H. Sato, T. Kitamura, M. Hattori, Y. Gotoh, J. Ishikawa**, 2007, Minimum line width of ion beam-modified polystyrene by negative carbon ions for nerve-cell attachment and neurite extension, Nucl. Instr. Methods B, 257(1-2): 118-121pp.
- Smith E. and Geoffrey D.**, 2007, Modern Raman Spectroscopy, Wiley, U.S.A.
- Stanec S. and Stanec Z.**, 1998, Ulnar nerve reconstruction with an expanded polytetrafluoroethylene conduit, British Journal of Plastic Surgery, 51(8), 637-639pp.
- Stenger D.A. and McKenna T.M.**, 1994, Enabling Technologies for Cultured Neural Networks, Academic Press, San Diego
- Stoll G, Griffin JW, Li CY, Trapp BD.**, 1989, Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation, J. Neurocytol, 18:671–83pp.
- Suzuki Y., M. Kusakabe, K. Kusakabe, H. Akiba, M. Iwaki**, 1991, In vivo evaluation of antithrombogenicity for ion implanted silicone rubber using indium-111-tropolone platelets, Nucl. Instr. and Meth. B 59/60, 698p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Suzuki Y., M. Kusakabe, J.S. Lee, M. Kusakabe, M. Iwaki, H. Sasabe,** 1992, Endothelial cell adhesion to ion implanted polymers, Nucl. Instr. and Meth. B 65
- Tek, Z., Selvi, S., Brown, I.G., Öztarhan, A., Akbaş, N.,** 2001, The Effect of Concentration on Stopping Power in Medium and High Doze Regime of 316 LSS and Be, 12th International Conference on Surface Modification of Materials by Ion Beams, P2.09.
- Tek Z, Öztarhan A., Selvi S,** 2007, A comparative study of Ti+N and W ion implantation into Ti-6Al-4V alloy, Surface & Coatings Technology, 201(19-20): 8170-8174pp.
- Tek Z, Öztarhan A., Selvi S,** 2007, Characterization of Ti+N and Zr ion implanted 316 L stainless steel, Surface & Coatings Technology, 201(19-20): 8303-8307
- Thomas MB.,** 1999, Nerve Repair and Grafting. In: Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, eds. Green's Operative Hand Surgery. Philadelphia: Churchill Livingstone;1381-1404pp.
- Thornton J.A.,** 1975, Influence of Substrate Temperature and Deposition Rate on Structure of Thick Sputtered Cu Coatings, J. Vac. Sci. Technol. 12(4): 830 – 835pp.
- Tsuji H., H. Satoh, S. Ikeda, Y. Gotoh, J. Ishikawa,** 1997, Neuron attachment properties of carbon negative-ion implanted bioabsorbable polymer of polylactic acid, Nucl. Instr. and Meth. B 141: 197p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Tsuji H., H. Satoh, S. Ikeda, N. Ikemoto, Y. Gotoh, J. Ishikawa**, 1998, Surface modification by silver-negative-ion implantation for controlling cell-adhesion properties of polystyrene, *Surf. Coatings Technol.* 103/104: 124p.
- Tsuji H., H. Satoh, S. Ikeda, S. Ikemura, Y. Gotoh, J. Ishikawa**, 1999, Negative-ion beam surface modification of tissue-culture polystyrene dishes for changing hydrophilic and cell-attachment properties, *Nucl. Instr. and Meth. B* 128: 1136p.
- Tsuji H., Hiroko Sato, Takahiro Baba, Shinichi Ikemura, Yasuhito Gotoh, Junzo Ishikawa**, 2000, Neuron cell positioning on polystyrene in culture by silver-negative ion implantation and region control of neural outgrowth, *Nucl. Instr. and Meth. B* 166-167, 815-819pp.
- Tsuji H., Piyanuch Sommani, Mitsutaka Hattori, Tetsuya Yamada, Hiroko Sato, Yasuhito Gotoh, Junzo Ishikawa**, 2008, Adhesion Patterning of Mesenchymal Stem Cells on Polystyrene Surface by Carbon Negative-Ion Implantation and Neuron Differentiation on the Position, *Nucl. Instr. and Meth. B*, 7
- Tsuji H., P. Sommani, T. Kitamura, M. Hattori, H. Sato, Y. Gotoh and J. Ishikawa**, 2007, Nerve Cell Attachment Properties of Polystyrene and Silicon Rubber Modified by Carbon Negative Ion Implantation, *Surf. Coat. Technol.* 201, 8123-8126pp.
- Tsuji H., M. Izukawa, R. Ikeguchi, R. Kakinoki, H. Sato, Y. Gotoh and J. Ishikawa**, 2004, Surface Treatment of Silicon Rubber by Carbon Negative Ion Implantation for Nerve Regeneration, *Appl. Surf. Sci.* 235, 182-187pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Urkac, ES; Oztarhan, A; Tihminlioglu, F, et al.,** 2007, Thermal characterization of Ag and Ag plus N ion implanted ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE), Nucl. Instr. and Meth. B, 261 (1-2): 699-703pp.
- Urkac E. Sokullu, Ahmet M. Oztarhan, F. Tihminlioglu, N. Kaya, S. Budak, C. I. Muntele, E. Oks, A. Nikolaev and D. Ila,** 2007, Nanoscale Surface Modification of UltraHigh Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE) Samples with the W + C Ion Implantation, Symposium GG: Ion-Beam-Based Nanofabrication, MRS Spring Meeting 2007
- Valenza A., A.M. Visco, L. Torrisi and N. Campo,** 2004, Characterization of ultra-high-molecular-weight polyethylene (UHMWPE) modified by ion implantation, Polymer 45, 1707p.
- Vilaithong T., L.D. Yu, P. Apavatjirut, B. Phanchaisri, S. Sangyuenyongpipat, S. Anuntalabhochai and I.G. Brown,** 2004, Heavy Ion Induced DNA Transfer in Biological Cells, Radiation Phys. and Chem. 71, 927-935pp.
- Vrana N.E., Elsheikh A., Builles N., Damour O., Hasirci V.,** 2007, Effect of human corneal keratocytes and retinal pigment epithelial cells on the mechanical properties of micropatterned collagen films, Biomaterials 28, 4303–4310pp.
- Williams LR, Longo FM, Powell HC, Lundborg G, Varon S.,** 1983, Spatialtemporal progress of peripheral nerve regeneration within a silicone chamber: parameters for a bioassay, J. Comp. Neurol., 218: 460–70pp.
- Woolf N.,** 2009, Nanoneuroscience Structural and Functional Roles of the Neuronal Cytoskeleton in Health and DiseaseSpringer-Verlag Berlin Heidelberg

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Wang X.Q, J.W. Han, W. Wang and Z.L. Yu**, 2004, Synthesis of Bio-Organic Molecules of Life Induced by Low Energy Ion Implantation, Chinese Phys. Lett. 21, 1941–1943pp.
- Wehner G.**, 1959, Influence of the Angle of Incidence on Sputtering Yields, J. Appl. Phys. 30(11), 1762 – 1765pp.
- Wilson I.H. and Kidd M.W.**, 1971, A Study of Cones Developed by Ion Bombardement of Gold, J. Mater. Sci. 6: 1362 – 1366pp.
- Yin Hu, Zhengcao L. and Zhengjun Zhang**, 2009, Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures, 41(5): 833-837pp.
- Yu Zengliang**, (translated from the Chinese by Yu Liangdeng, T. Vilaithong and I. Brown), Introduction to Ion Beam Biotechnology, Springer, New York, 2006
- Yu L.D., T. Vilaithong, B. Phanchaisri, P. Apavatjrut, S. Anuntalabhochai, P. Evans and I.G. Brown**, 2003, Ion Penetration Depth in the Plant Cell Wall, Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B 206: 586-590pp.
- Yu L.D., B. Phanchaisri, P. Apavatjrut, S. Anuntalabhochai, T. Vilaithong and I.G. Brown**, 2002, Some Investigations of Ion Bombardment Effects on Plant Cell Wall Surfaces, Surf. Coat. Technol. 158/159: 146-150pp.
- Zorlutuna P., Builles N., Damour O., Elsheikh A., Hasirci V.**, 2007, Influence of keratocytes and retinal pigment epithelial cells on the mechanical properties of polyester-based tissue engineering micropatterned films, Biomaterials 28, 3489–3496pp.
- Ziegler, J.F., J.P. Biersack, and U. Littmark.** ,1985, The Stopping and Range of Ions in Solids (Pergamon Press, Inc., New York)

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Zimmerman R., I. Deliloglu-Gurhan, F. Ozdal-Kurt, B.H. Sen, M. Rodrigues, D. İla., 2007, Ion implantation inhibits cell attachment to glassy polymeric carbon. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 261: 760–762pp.

Zimmerman R., I. Gurhan, C. Muntele, D. İla, M. Rodrigues, F. Ozdal-Kurt, B.H. Sen., 2007, Enhanced biocompatibility of GPC by ion implantation and deposition. Surface & Coatings Technology 201: 8020–8023pp.

EK A. ETİK KURUL ONAYI

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN ETİK KURULU

SAYI: 2008-43

26 MAYIS 2008

KONU: Onay

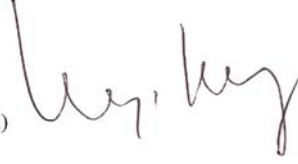
Prof.Dr. Mehmet ZİLELİ

EÜTF Nöroşirürji AD

Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda “*Selektif örnekli hücre büyümesi için elmas benzeri karbon ince filmlerin ve plazma iyon ışınlaması ile yüzeyi modifiye edilmiş polimer levhaların sinir hücresi rejenerasyonunda kullanılması*” isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda deney hayvanı kullanarak araştırmayı gerçekleştirmeniz kurulumuz tarafından uygun bulunmuştur. Saygılarımla bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Rasih YILMAZ
(Hayvan Etik Kurulu Başkanı)



Prof Dr. Serdar DEMİRGÖREN (Bulunamadı)

Prof. Dr. Meral BAKA



Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK (Bulunamadı)

Doç. Dr. Mehtap ÇINAR