

Çeşitli İmplantlarda Kaplama Malzemesi Olarak Biyoaktif Camların Araştırılması

Lale Civan

DOKTORA TEZİ

Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı

Ocak 2021

Investigation of Bioactive Glasses as Coating Material in Various Implants

Lale Civan

DOCTORAL DISSERTATION

Department of Biotechnology and Biosafety

January 2021

Çeşitli İmplantlarda Kaplama Malzemesi Olarak Biyoaktif Camların Araştırılması

Lale Civan

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Macid Nurbaş

Bu Tez BAP tarafından “2018/15A207” no’lu proje çerçevesinde desteklenmiştir

Ocak 2021

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Macid Nurbaş danışmanlığında hazırlamış olduğum “Çeşitli İmplantlarda Kaplama Malzemesi Olarak Biyoaktif Camların Araştırılması” başlıklı DOKTORA tezimin özgün bir çalışma olduğunu, tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 19/01/2021

Lale Civan

İmza

ÖZET

Biyoaktif camlar, yüksek biyoaktivite özelliğinden dolayı kemik onarımında kullanılmaktadır. Medikal alanda kullanılan metalik malzemelerin aşınması ve korozyonu ile oluşan toksik ürünler doku ve hücrelere zarar vermektedir, bu yüzden metalik malzemelere çeşitli yüzey koruyucu işlemlerin uygulanması önerilmektedir. Bu çalışmada sol-jel yöntemi kullanarak metalik altlıklar üzerine biyoaktif cam kaplaması uygulanmıştır. Sentezlenen camların yüksek biyoaktif özelliği ile biyoinert metalik altlıkların mekanik özelliği birleştirilerek yeni biyomalzemeler tasarlanmıştır. Biyoaktif cam ve cam seramiklerin sentezlenmesinde fosfat, kalsiyum ve silika kaynağı olarak sırasıyla trietil fosfat (TEP), kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ve tetraetoksisilan (TEOS) kullanılmıştır. R8, R13, R14, R15, R16 ve R17 olarak toplam 6 biyomalzeme oluşturarak karakteristik özellikleri incelenmiştir. Biyomalzemelerin mikroyapısı, biyoaktivitesi, gözenekliliği ve çatlaklık durumu Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM) ile değerlendirilmiştir. Fonksiyonel gruplar ve oluşan fazlar ise Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ve X-ışını kırınımı (XRD) analizleriyle tespit edilmiştir. Biyomalzemelerin karakterizasyonunda Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC), Simultane Termal Analiz (STA) analiz yöntemleri de kullanılmıştır. Biyoaktif cam ve cam seramiklerin in vitro biyoaktivitesi Yapay Vücut Sıvısına (SBF) daldırmak suretiyle belirlenmiştir, biyouyumluluk sitotoksosite testi de uygulanmıştır. SBF'ye daldırılmış numunelere XRD, FTIR, Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDS) analizleri uygulanarak hidroksiapatit (HA) içerdiği kanıtlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Biyoaktif cam kaplama, Biyoaktif cam/cam seramik, Biyomalzemeler Sol-jel

SUMMARY

Bioactive glasses are used in bone repair due to their high bioactivity feature. Toxic products caused by the erosion and corrosion of metallic materials used in the medical field damage tissues and cells, so the application of various surface protective treatments are recommended to the metallic materials. In this study, bioactive glass coating was applied on metallic substrates using the sol-gel method. New biomaterials have been designed by combining the high bioactive property of synthesized glasses with the mechanical properties of bioinert metallic substrates. In the synthesis of bioactive glass and glass ceramics, triethyl phosphate (TEP), calcium nitrate tetrahydrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), and tetraethoxysilane (TEOS) were used as phosphate, calcium, and silica sources, respectively. By creating a total of 6 biomaterials as R8, R13, R14, R15, R16, and R17, their characteristic properties were investigated. Microstructure, bioactivity, porosity, and crack condition of biomaterials were evaluated by Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM). The functional groups and the phases formed were determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD) analysis. Transmission Electron Microscopy (TEM), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Simultaneous Thermal Analysis (STA) analysis methods were also used in the characterization of biomaterials. The in vitro bioactivity of bioactive glass and glass-ceramics was determined by immersion in Simulated Body Fluid (SBF), the biocompatibility cytotoxicity test was also applied. It was proved that it contains hydroxyapatite (HA) by applying XRD, FTIR, Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) analyzes to the samples immersed in SBF.

Keywords: Bioactive glass coating, Bioactive glass/glass-ceramic, Biomaterials, Sol-gel

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	10
3. TEORİK BİLGİ	34
3.1. Biyomalzemelere Giriş	34
3.2. Biyomalzemelerin Tarihi: Biyoaktif Camlar	36
3.3. Biyoaktif Camlar ve Cam-Seramikler	39
3.3.1. Biyoaktif cam üretimi	42
3.4. Biyoaktif Cam Reaksiyonları: Kemik Oluşumu	42
3.4.1. HCA katmanının oluşumu	43
3.4.2. İyonik çözünme ürünleri ve osteogenez	45
3.4.3. İyonik çözünme ürünlerinin osteoblast hücre döngüsü üzerindeki etkisi ve genetik kontrolü	46
3.4.4. Kemik metabolizmasında inorganik iyonların rolü	48
3.4.5. Kemik oluşumu, emilim ve yeniden modelleme	52
3.4.5.1. <u>Kemiğin makro ve mikroyapısı</u>	53
3.5. Kemik Doku Mühendisliği Kavramı	55
3.6. Sol-Jel	58
3.6.1. Sol-jel işlemi	59
3.6.2. Sol-jel bazlı biyoaktif camlar	61
3.7. Biyoaktif Camın Biyoaktivitesi	62
3.7.1. Biyoaktif cam - sol-jel yolu	63

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.7.2. Sol-jel biyoaktif cam sentezi	64
3.7.3. Sol	67
3.7.4. Kurutma işlemleri	69
3.7.5. Sinterleme rejimleri	71
3.8. Sol-Jel Kullanarak Kaplama Teknolojisi	72
3.9. Sitotoksosite	74
4. MATERYAL VE YÖNTEM	77
4.1. R8 Kompozisyonunun Hazırlanması	77
4.2. R13 Kompozisyonu Biyoaktif Cam Tabletlerin Hazırlanması	78
4.3. R14 Kompozisyonu Biyoaktif Cam-Seramik Tozun Hazırlanması	79
4.4. R15 Kompozisyonunun Hazırlanması	79
4.5. R16 Kompozisyonunun Hazırlanması	80
4.6. R17 Kompozisyonunun Hazırlanması	81
4.7. SBF'nin Hazırlanması	82
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	84
5.1. R8 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları	84
5.1.1. Zeta-potansiyeli ölçümü	84
5.1.2. STA	85
5.1.3. FE-SEM analizleri	87
5.1.4. XRD analizleri	107
5.1.5. FTIR analizleri	108
5.1.6. TEM analiz sonuçları	110
5.2. R13 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları	111
5.2.1. STA	111
5.2.2. XRD analizleri	111
5.2.3. FTIR analizleri	112
5.2.4. FE-SEM analizleri	113
5.3. R14 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları	119

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
5.3.1. STA	119
5.3.2. DSC analizi	120
5.3.3. XRD analizleri	121
5.3.4. FTIR analizleri	122
5.3.5. FE-SEM analizleri	123
5.4. R15 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları	136
5.4.1. STA	136
5.4.2. XRD analizleri	137
5.4.3. FTIR analizleri	138
5.4.4. FE-SEM analizleri	139
5.5. R16 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları	148
5.5.1. STA	148
5.5.2. XRD analizleri	149
5.5.3. DSC analizi	150
5.5.4. FTIR analizleri	151
5.5.5. FE-SEM analizleri	152
5.6. R17 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları	159
5.6.1. STA	159
5.6.2. XRD analizleri	160
5.6.3. FTIR analizleri	161
5.6.4. FE-SEM analizleri	162
5.6.5. TEM analiz sonuçları	170
5.7. R8, R14, R15, R16 ve R17 Kompozisyonlarının Hücre Canlılık Testi	
Protokolü	171
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	173
KAYNAKLAR DİZİNİ	176

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

3.1. HCA, SBF'ye 1 haftalık daldırmadan sonra sentetik HA (plazma püskürtmeli) kaplama üzerinde çökmüştür ve tipik 'karnabahar benzeri' morfolojiye sahiptir	35
3.2. Kemik bağlaması için bileşim diyagramı	38
3.3. SBF'ye 2 haftalık daldırmadan sonra biocam yığın numunesinin kesiti: SEM görüntüsü (solda) ve karşılık gelen EDS mikroanalizi (sağda); silika jel (yüksek Si içeriği) ve HCA (yüksek Ca ve P içeriği) içeren çok katmanlı yapı açıktır	40
3.4. Hücre döngüsü	48
3.5. Kemik yeniden modelleme süreci	53
3.6. İnsan lamel kemiğinin mikroskobik yapısı	54
3.7. Temel doku mühendisliği kavramı	56
3.8. Silisyum alkoksitlerin basitleştirilmiş hidrolizi ve polikondansasyon reaksiyonları	60
3.9. Sol-jel tekniğinin basitleştirilmiş şematik diyagramı	61
3.10. Sol-jel biyoaktif cam sentezinde yer alan farklı aşamalar	65
3.11. OB'nin köprülünen oksijen bağlarını temsil ettiği silikat ağına atanan Q yapıları ..	65
3.12. SiO ₄ tetrahedral ve fosfat tetrahedral	67
3.13. Hidrolize TEOS'un polimer büyümesinin asit veya baz katalizör yoluyla ilerlemesi	69
3.14. Malzemelerin sol-jel işlem basamakları ve nihai ürünlerin mikroyapı örnekleri	70
3.15. Elektrodepozisyon, daldırma ve spin kaplama teknikleri için bir kaynak olarak biyoaktif sol-jel cam için şematik prosedür	73
4.1. (a) Ti6Al4V altlıklar (b) Ti6Al4V altlığın kaplanmış hali	77
4.2. Şeffaf jel halinde katılaştıran sol, oluşturulan biyoaktif cam tabletler	78
4.3. R14 kompozisyonunda biyoaktif cam-seramik tozu	79
4.4. R15 kompozisyonunda biyoaktif cam tozu	80
4.5. R16 kompozisyonunda biyoaktif cam tozu	81
4.6. R17 kompozisyonunda biyoaktif cam-seramik tozu	82
5.1. (a) Solün zeta potansiyel dağılımı, (b) yoğunluğa göre boyut dağılımı	85
5.2. R8 kompozisyonuna ait TGA eğrisi	86
5.3. R8 kompozisyonunun STA sonucu	86
5.4. R8 kompozisyonu ısı işlem görmemiş numunenin FE-SEM analizleri	88
5.5. R8 kompozisyonu ısı işlem görmemiş numunenin EDS analizleri	89
5.6. R8 kompozisyonu 100°C'de yarım saat ısı işlem gören numunenin FE-SEM analizleri	90

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
5.7. R8 kompozisyonu 100°C’de yarım saat ısıtılma tabi tutulan numunenin EDS analizleri	91
5.8. R8 kompozisyonu 150°C’de yarım saat ısıtılma tabi tutulan numunenin FE-SEM analizleri	92
5.9. R8 kompozisyonu 150°C’de yarım saat ısıtılma gören numunenin EDS analizleri	93
5.10. R8 kompozisyonu 200°C’de yarım saat ısıtılma tabi tutulan numunenin FE-SEM analizleri	94
5.11. R8 kompozisyonu 200°C’de yarım saat ısıtılma tabi tutulan numunenin EDS analizleri	97
5.12. R8 kompozisyonu SBF’de 7 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri	98
5.13. R8 kompozisyonu SBF’de 7 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	99
5.14. R8 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri	100
5.15. R8 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	102
5.16. R8 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri	103
5.17. R8 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	105
5.18. R8 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri	105
5.19. R8 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	107
5.20. Biyoaktif cam kaplamaların XRD desenleri	108
5.21. Biyoaktif cam kaplamaların FTIR analizleri	109
5.22. R8 kompozisyonunun TEM analiz sonuçları	110
5.23. Oluşturulan tabletin STA sonucu	111
5.24. XRD analizleri	112
5.25. SBF’de 7 gün bekletilen ve bekletilmeyen numunenin FTIR analizleri	113
5.26. R13 kompozisyonu 650°C’de 3 saat ısıtılma tabi tutulan numunenin FE-SEM analizleri	114
5.27. R13 kompozisyonu 650°C’de 3 saat ısıtılma tabi tutulan numunenin EDS analizi	115
5.28. R13 kompozisyonu SBF’de 7 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri	115
5.29. R13 kompozisyonu SBF’de 7 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	116
5.30. R13 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri	117
5.31. R13 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	119
5.32. Sol-jel yöntemiyle hazırlanan numunenin STA sonucu	120
5.33. 45S5 numunesinin DSC analiz sonucu	120

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
5.34. Zamanın fonksiyonu olarak SBF'ye batırılmış jel türevi 45S5'in XRD analizleri	121
5.35. Zamanın bir fonksiyonu olarak SBF içine daldırılmış jel türevi 45S5'in FTIR spektrumları	122
5.36. R14 kompozisyonu biyoaktif camın FE-SEM analizleri	125
5.37. R14 kompozisyonu biyoaktif camın EDS analizleri	127
5.38. R14 kompozisyonu SBF'de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri...	128
5.39. R14 kompozisyonu SBF'de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	130
5.40. R14 kompozisyonu SBF'de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..	131
5.41. R14 kompozisyonu SBF'de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	133
5.42. R14 kompozisyonu SBF'de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..	134
5.43. R14 kompozisyonu SBF'de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	136
5.44. Numunenin STA sonucu	137
5.45. SBF'ye daldırılmadan önce ve daldırıldıktan sonra biyoaktif cam tozun X-ışını kırınım spektrumları	138
5.46. Biyoaktif camın SBF'ye maruziyet öncesi ve sonrası FTIR spektrumları	139
5.47. R15 kompozisyonu biyoaktif camın FE-SEM analizleri	140
5.48. R15 kompozisyonu biyoaktif camın EDS analizleri	141
5.49. R15 kompozisyonu SBF'de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..	142
5.50. R15 kompozisyonu SBF'de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	144
5.51. R15 kompozisyonu SBF'de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..	145
5.52. R15 kompozisyonu SBF'de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	146
5.53. R15 kompozisyonu SBF'de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..	147
5.54. R15 kompozisyonu SBF'de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri	148
5.55. Numunenin STA sonucu	149
5.56. SBF'ye daldırılmadan önce ve daldırıldıktan sonra biyoaktif cam tozun X-ışını kırınım spektrumları	150
5.57. Numunenin DSC analiz sonucu	151
5.58. Numunenin FTIR analiz sonuçları	152
5.59. R16 kompozisyonu biyoaktif camın FE-SEM analizleri	153
5.60. R16 kompozisyonu biyoaktif camın EDS analizleri	154
5.61. R16 kompozisyonu SBF'de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..	155

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sekil

Sayfa

5.62. R16 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..156	
5.63. R16 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri158	
5.64. R16 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..159	
5.65. Numunenin TGA sonucu159	
5.66. Numunenin STA sonucu160	
5.67. SBF’ye daldırmadan önce ve sonra seramik tozunun XRD diyagramları160	
5.68. SBF’ye daldırmadan önce ve sonra seramik tozunun FTIR spektrumları161	
5.69. R17 kompozisyon numunesinin FE-SEM analizleri164	
5.70. R17 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..165	
5.71. R17 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri166	
5.72. R17 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..167	
5.73. R17 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizi168	
5.74. R17 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri ..169	
5.75. R17 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizi169	
5.76. R17 kompozisyonunun TEM analiz sonuçları170	
5.77. Kompozisyonların sitotoksosite test sonuçları172	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Cizelge

Sayfa

3.1. Zaman artışıyla ilgili 45S5 Biocam® reaksiyon aşamaları	46
3.2. İnsan kortikal ve süngerimsi kemiğin mekanik özelliklerinin özeti	55
3.3. Kompozisyonun biyoaktif cam nanoparçacık morfolojisi üzerindeki etkileri	68
3.4. Farklı kurutma yolları kullanılarak işlenen biyoaktif camların partikül morfolojisi	71
4.1. SBF yapımında kullanılan kimyasallar ve miktarları	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
cm	Santimetre
M	Molar
mV	Milivolt
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece
µm	Mikrometre
θ	Teta
%	Yüzde
Ag	Gümüş
Au	Altın
B	Bor
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
Ca/P	Kalsiyum/fosfat
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	Kalsiyum nitrat tetrahidrat
CaO	Kalsiyum oksit
Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH	Hidroksiapatit
C ₂ H ₅ OH	Etanol
(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	Tris(hidroksimetil) amino metan
(C ₂ H ₅) ₃ PO ₄	Trietil fosfat
Co	Kobalt
Co-Cr	Kobalt-krom
Cu	Bakır
CuO	Bakır oksit
HCl	Hidroklorik asit
HNO ₃	Nitrik asit
KCl	Potasyum klorür
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	Dipotasyum hidrojen fosfat trihidrat
K ₂ O	Potasyum dioksit
Mg	Magnezyum

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

MgCl ₂ .6H ₂ O	Magnezyum klorür hekzahidrat
MgO	Magnezyum oksit
Na ₂ Ca ₂ Si ₃ O ₉	Kombeit
NaCl	Sodyum klorür
Na ₂ O	Sodyum dioksit
NaHCO ₃	Sodyum hidrojen karbonat
NaNO ₃	Sodyum nitrat
Na ₂ SO ₄	Sodyum sülfat
NH ₃	Amonyak
NH ₄ OH	Amonyum hidroksit
OH	Hidroksil
P	Fosfor
P ₂ O ₅	Fosfor pentaoksit
Si	Silisyum
SiO ₂	Silisyum dioksit
Si(OC ₂ H ₅) ₄	Tetraetoksisilan
Si-OH	Silanol bağları
Sr	Stronsiyum
Ti	Titanyum
TiO ₂	Titanyum dioksit
V	Vanadyum
Zn	Çinko
Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	Çinko nitrat hekzahidrat
ZnO	Çinko Oksit
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ACP	Amorf kalsiyum fosfat
AW	Apatit-wollastonit
BGN	Biyoaktif cam nanopartikül
BMD	Kemik mineral yoğunluğu
BMP	Kemik morfojenetik protein

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

DLS	Dinamik ışık saçılımı
DSC	Diferansiyel tarama kalorimetre
DTA	Diferansiyel termal analiz
EDS	Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi
EPD	Elektroforetik biriktirme
FBS	Fetal sığır serumu
FE-SEM	Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
HA	Hidroksiapatit
HCA	Hidroksikarbonat apatit
HOC	İnsan osteoblast hücreleri
IB	Biyoaktivite indeksi
MSC	Mezenkimal kök hücre
MTEOS	Metiltrioksilan
NMBG	Nano ve mikro biyoaktif cam
NMR	Nükleer manyetik rezonans
PEG	Polietilen glikol
PVA	Polivinil alkol
PCL	Polikarbonat
PVP	Polivinilpirolidon
SBF	Yapay vücut sıvısı
SSA	Spesifik yüzey alanı
STA	Simultane Termal Analiz
T _g	Cam geçiş sıcaklığı
TGA	Termogravimetrik analiz
T _g /DTA	Termo gravimetrik/diferansiyel termal analiz
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TEOS	Tetraetoksilan
TEOS-MTES	Tetraetoksilan-metiltrimetoksilan
TEA	Trietanol amin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

TEP	Trietil fosfat
XRD	X-Işını kırınımı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik iyileşmesi biyolojik olarak optimize edilmiş bir süreçtir ve bu nedenle küçük kemik kusurlarının çoğu çok az tedavi ile kendiliğinden iyileşir. Bununla birlikte, kırılmadan sonra riskli kemik iyileşmesini desteklemek, osteoporoz, kötü huylu tümörler veya osteomyelite bağlı kemik dokusu kaybını eski haline getirme gibi bazı klinik durumlarda, ek bir kemik yenileme tedavisi gereklidir (Logeart-Avrasmoglou vd., 2005). Bu bağlamda, fonksiyonel bozukluk, kemik kusurları, büyük klinik ve sosyoekonomik etkileri olan ciddi bir küresel sağlık sorunu haline gelmiştir (Gao vd., 2014). Geliştirilmiş kemik dokusuna yönelik klinik talep, artan insan nüfusu ve yaşlanmayla doğrudan ilişkili olarak son yıllarda artmaktadır (Palangkaraya ve Yong, 2009). Kemik rejenerasyonu için otolog malzeme kullanımı sınırlı bulunabilirlik ve donör morbiditesi, otolog greftlerin başlıca dezavantajları iken, allojenik transplantların kullanımı, hücre aracılı immün yanıt ve patojen transferi riskini taşır. Otolog kemik greftlerine olan talebin ciddi şekilde artmasıyla birlikte, kemik yenileyici malzemelere duyulan ihtiyaç, küresel önemi olan bir unsur haline gelmiştir. Bu nedenle, kemik yenilenmesi için yeni biyomalzemeler ve tedavi yaklaşımları geliştirme amacıyla çok miktarda çalışma yapılmıştır.

Sert ve yumuşak dokular dahil olmak üzere doku yenilenmesi, sağlık hizmetlerinde önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Dokuların kendiliğinden yenilenmesi genellikle dış uyarımla sınırlıdır. Doku indükleme veya uyarma özelliğine sahip biyomalzemeler bu nedenle doku yenilenmesini kolaylaştırmak için öne çıkmaktadır. Seramik ve polimerler dahil birçok malzeme doku yenilenmesinde bu rolü oynayabilir. Biyoaktif camlar, çeşitli biyomedikal uygulamalar için, özellikle kemik yenilenmesi için, bağlanma yeteneği, belirgin biyouyumluluk, osteogenez ve anjiyogenez potansiyeli gibi benzersiz özellikleri nedeniyle büyüleyici malzemelerdir (Miguez-Pacheco vd., 2015). Büyüleyici özellikleri sayesinde biyoaktif camlar, kompozitler oluşturmak için de çekici yapı taşlarıdır. Kemiğe bağlanma yetenekleri, canlı dokular ve biyoaktif cam yüzeyleri arasında apatit tabakası oluşturarak elde edilir. Ek olarak metalik iyonlar, biyoaktif camın çözünmesi üzerine bölgesel olarak salınabilir. Bu da sonuç olarak iyonların konsantrasyonuna ve tipine bağlı olarak terapötik etkilere neden olan belirli biyolojik yanıtları tetikler (Hoppe vd., 2011). Bu özellikler, biyoaktif camın bileşimi ve morfolojisi

ile oldukça ilişkilidir. Biyoaktif camın hem fizyokimyasal hem de biyolojik özellikleri, bileşimleri ayarlanarak özelleştirilebilir. Örneğin, biyoaktif camın apatit oluşturma yeteneği silikat, borat ve fosfat camları arasında önemli ölçüde değişiklik gösterirken, katkılı metalik iyonların türleri ve konsantrasyonu doğrudan indüklenen biyolojik yanıtlarla ilgilidir. Biyoaktif camın morfolojisi de performanslarını etkileyebilir. Örneğin, daha küçük biyoaktif cam, daha büyük olanlara kıyasla hızlandırılmış bir apatit oluşumuna neden olabilir. Bu nedenle, amaçlanan uygulamaların gerekliliklerini yerine getirmek için biyoaktif camda kompozisyon ve morfolojinin kontrolü mutlaka istenmektedir. Tek başına biyoaktif camlar, kemik kusur dolgusu olarak biyomedikal uygulamalar için kullanılabilir (Jones, 2013). Biyoaktif camlar, osteokondüktif, osteoindüktif özellikleri ve diğer biyoseramiklere kıyasla hızlı kemik oluşumunu teşvik etme kabiliyeti nedeniyle hem araştırmalarda hem de ticari olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yeni biyoaktif kaplamalar geliştirmek için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Biyoaktif camlar ve cam seramikler, vücut sıvılarıyla temas halinde olduklarında yüzey kimyasal reaktiviteleri nedeniyle giderek daha fazla çalışılmaktadır.

Doku mühendisliği ve rejeneratif tıba etkili bir yaklaşım, işlevsel hücreler ve tasarlanmış biyomalzemelerden yapılan biyolojik olarak parçalanabilir implantlar kullanarak dokuların hastalıklı veya hasarlı kısımlarını eski haline getirmeyi amaçlamaktadır. Bilimsel birliğin, kemik doku yenilenmesini teşvik eden, multidisipliner yaklaşımla kusurlu veya hastalıklı kemiğin iyileşme süreçlerini hızlandıran yeni ve ileri üçüncü nesil biyoseramikler ile biyomalzeme tasarlama ve üretme konusunda zorlukları vardır. Şu anda, kemik dokusu mühendisliği uygulaması için umut vadeden iskele malzemelerinin çoğunun farklı biyoaktif camlar ve ilgili biyoaktif kompozitler olduğu belirtilmiştir. Biyoaktif cam malzemeler, genellikle zararlı etkiler olmaksızın canlı dokularla uygun fonksiyonel ve yapısal biyouyumluluk sağlayacak şekilde tasarlanır. Başlangıç bileşimini ve işleme yöntemini değiştirerek, hedefe ve uygulamaya özel farklı biyoaktif cam türleri tasarlanabilir. Biyoaktif camların kemik doku mühendisliği uygulamalarında etkin bir şekilde çalışmasını sağlayan önemli özelliklerinden bazıları revaskülarizasyonu artırma, osteoblast adezyonu, enzim aktivitesi ve mezenkimal kök hücrelerin (MSC) farklılaşmasıdır. Ayrıca, polimer yapıları için dolgu malzemeleri/kaplamalar için verimli bir aday olarak hareket edebilirler (Anand vd., 2019).

Biyoaktif cam, son zamanlarda doku mühendisliği uygulamaları için en umut verici biyomalzemelerden biri haline gelmiştir. Bu malzemeler, sulu ortama maruz kaldıklarında spesifik biyolojik aktiviteyi indükleyebilir. Biyoaktivite, yüzeylerinde hem sert hem de yumuşak dokulara güçlü bir şekilde bağlanan ve çözünmeden sonra iyon ürünlerini açığa çıkaran hidroksiapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) katmanı oluşumu ile sağlanır (Deliormanlı ve Yıldırım, 2016). Karmaşık bir iyon süzme mekanizması ve cam yüzeyinin kısmi çözünmesi yoluyla, kemik benzeri apatitin çözüldüğü çökelmesi dokularla güçlü bir kimyasal bağ sağlar. Biyoaktif cam veya cam seramik ile çevre dokular arasındaki bağlanma, kemiğin mineral fazına çok benzeyen bir HA tabakasının oluşumu ile gerçekleşir. Biyoaktif cam, fizyolojik sıvılarla temas ettirildiğinde, bu katman, biyoaktivite olarak bilinen, çevreleyen sıvılarla karmaşık bir iyon değişim mekanizması yoluyla oluşturulur. Bu biyolojik olarak aktif HA tabakası, geniş bir bileşim aralığına sahip camların yüzeyinde oluşabilir ve çevreleyen canlı doku tarafından kendisi olarak kabul edilir. Varlığı, implantın canlı kemikle kimyasal olarak bağlanması için yeterli bir gereklilik olarak kabul edilmektedir.

Bir sentetik silika bazlı biyomalzeme grubu olarak biyoaktif camlar, biyoaktiviteleri, biyomalzeme yüzeyinde kendiliğinden HA tabakası oluşumu yoluyla kemiğe bağlanma kabiliyetleri ile iyi bilinir. *In vivo* çalışmalar, araya giren fibröz tabaka olmadığını ve biyoaktif camlar tarafından üretilen yerel yabancı cisim inflamatuvar yanıtı olmadığını göstermiştir. Biyoaktif camlar ortopedik ve dental uygulamalarda kemik dolgusu, metalik ortopedik implantlar için biyoaktif kaplamalar ve seramik-polimer kompozitlerde biyoaktif fazlar olarak başarıyla kullanılmıştır. Biyoaktif camlar, bitmiş ürünlerin özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilecek sol-jel ve eriyik söndürme yöntemleriyle sentezlenebilir. Sol-jel tekniği, geleneksel eritme yöntemine kıyasla bileşimin daha yapısal kontrolünü ve homojenliğini sağlar. Ayrıca, özgül yüzey alanı ve gözenek hacmini artırarak ve mezogözenekli bir yapı oluşturarak, biyoaktif cam sentezlemek için sol-jel tekniğinin kullanılması, HA'nın kinetik çökeltme sürecini hızlandırabilir. Son yıllarda, $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ üçlü sistemine dayalı sol-jel türevi biyoaktif camlara büyük önem verilmiştir. Bu özel bileşim, hem yumuşak hem de sert dokulara bağlanma yeteneği göstermiştir. Biyolojik performansını iyileştirmek için, Sr^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} ve Ag^+ gibi farklı metalik iyon türleri bu bileşime eklenmiştir. Biyoaktif camların iyonik çözünme ürünlerinin, kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasını indüklediği ve *in vitro*

osteoblast proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, etkili iyonların kontrollü salınımı, anjiyojenik ve antibakteriyel aktiviteler gibi ek işlevselliklerle sonuçlanabilir (Taherkhani ve Moztaarzadeh, 2016). Günümüzde sol-jel, biyoaktif kaplamaları oluşturmak için en yaygın kullanılan işlemdir. Daha iyi kemik bağlanması, daha yüksek degradasyon oranları ve çeşitli katyon inklüzyonlarını sol-jel ağına dahil etme yeteneği gibi faydalar, sol-jel biyoaktif cam sentez yöntemini çok çekici kılmıştır. Sol-jel, bileşenlerini içeren çözeltinin, jel oluşturmak için oda sıcaklığında polimer tipi reaksiyonlara maruz kaldığı düşük sıcaklıkta işleme yöntemidir. Jel, yüksek çapraz bağlı kısa zincirli inorganik polimere benzer ıslak inorganik ağıdır, daha sonra cam haline getirilmek üzere kurutulur ve ısı ile işleme tabi tutulur. Sol-jel prosesi geleneksel camlardan çok farklı özelliklere sahip camlar üretir. Örneğin, mezo-gözenekli veya nanoparçacıklar olan silikatlar ve biyoaktif camlar yapılabilir. İki malzemenin üretilmesi için sol-jel işlemindeki fark, sadece solun yapımında kullanılan katalizördür. Biyomedikal uygulamalar için en yaygın sol-jel türevli camlar silika bazlı (SiO_2) camlardır (Brinker ve Scherer, 2013; Iler ve Iler, 1979).

Biyotıpta uygulamalarını önemli ölçüde sınırlayan biyoaktif camların içsel zayıf mekanik özellikleriyle birlikte biyoaktivite ile ilişkili kimyasal özelliklerin yanı sıra mekanik özelliklerle ilgili gereksinimleri karşılama ihtiyacı, cam seramiğe yönelik araştırmayı başlatmıştır. Daha belirgin olarak, biyoaktif cam seramikler, spesifik cam bileşimlerinin kontrollü kristalizasyonu ile hazırlanırlar. Biyoaktif camın özelliklerini ve aynı bileşimdeki seramiğin yüksek mekanik mukavemetini en iyi şekilde birleştirebildikleri için, toplu halde veya kaplamalar halinde biyotıpta artan ilgiyi çekerler (Dimitriadis vd., 2020). Cam seramikler, artık cama gömülü bir veya daha fazla kristal faz içeren ve belirli camların kontrollü ısı ile işlemeyle üretilen polikristalin malzemelerdir. Cam seramikler her zaman bir artık camsı faz ve bir veya daha fazla gömülü kristal faz içerir. Kristaliteleri % 0,5 ile % 99,5 arasında, en sık olarak % 30 ile % 70 arasında değişir. Kontrollü kristalizasyon, biyolojik, elektriksel, termal ve mekanik gibi ilginç, bazen alışılmadık özellik kombinasyonlarına sahip bir grup malzeme verir. Biyoaktif cam veya cam seramik, malzemenin arayüzünde hücre proliferasyonunu, gen tepkisini ve canlı dokular ile malzeme arasında bir bağ oluşumunu uyaran belirli bir biyolojik reaksiyonu ortaya çıkaran camdır (Montazerian ve Dutra Zanotto, 2016). Biyoaktif camlar ve cam seramikler, kemik onarımını ve rejenerasyonunu destekleme yetenekleri nedeniyle geleneksel olarak kemik doku mühendisliği için tasarlanmış ve uygulanmıştır. Cam ve

cam-seramik bileşimleri, çeşitli özelliklerin (biyoyumluluk, biyolojik olarak rezorbe edilebilirlik, antibakteriyel ve anjiyogenetik özellikler, kemik bağlanma hızı, vb.) yanı sıra spesifik metabolik süreçleri oluşturmak veya geliştirmek için uyarlanabilir. Uygun ısı ile işleme camlar, biyoaktif ve osteokondüktif özelliklerini kaybetmeden, orijinal ana camdan mekanik olarak daha güçlü olan cam seramikler oluşturarak kristalleşebilir. Cam veya cam-seramik reaktivitesini değiştirebilen cam ağ modifiye edicilerin eklenmesi, belirli biyomoleküllerin gözenekli yapılara dahil edilmesi, yüzey işlevselleştirme, vb., biyo-camların klinik uygulamalarını genişletmek için önemli stratejilerden yalnızca birkaç örnektir. Manyetik kristal faz içeren biyoaktif cam seramikler, kanser hücrelerini öldürerek ve kemik rejenerasyonunu teşvik ederek kemik tümörlerinin tedavisinde kullanılabildiklerinden özellikle önemlidir (Baino vd., 2019). Yüksek sıcaklıkta ısı ile işleme sonucunda biyoaktif camlar kısmen kristalleşebilir, ana cama kıyasla üstün mekanik özelliklere sahip cam-seramik malzemelerden elde edilir. Cam seramikler, artık amorf bir matris içine gömülü kristal fazlara sahiptir. Kristal fazlar, cam seramiklerin mukavemetini artırır ve ana cama kıyasla onlara daha yüksek kırılma dayanıklılığı verir. Bu bağlamda, çatlak köprüleme ve çatlak sapmasının en güçlü sertleştirme mekanizmaları olduğu belirlenmiştir (Kaur vd., 2019). Bir osteokondüktif biyomalzeme grubu olan biyoaktif cam-seramikler, mükemmel biyoaktiviteleri ve kanıtlanmış biyoyumlulukları nedeniyle, özellikle ortopedik ve dental implantlarda tıbbi uygulamalar için önceden belirlenmiş malzemelerdir (Nabian vd., 2011).

Biyoaktif camlar, yüksek biyoaktiviteye sahip oldukları için özellikle ilgi çekici olmalarına rağmen ne yazık ki biyoaktif camlar kırılma olmaları nedeniyle yük taşıma uygulamaları için uygun değildir. Bu nedenle çoğunlukla biyoaktif kaplamaların üretiminde kullanılırlar. Biyoaktif camlar ve cam seramikler kırılma malzemeler olduğundan, özellikle küçük kemik kusurlarının onarımında veya yük taşıyan protezler için inert altlıklar üzerinde kaplamalar olarak kullanılırlar. Biyoaktif camlar ve biyoseramikler, doğaları gereği kırılma yapıları nedeniyle, uyumlu mekanik özellikler sağlayamazlar. Kaplama teknolojisi, kaplama tekniğine bağlı olarak farklı özelliklerin elde edildiği çok sayıda biriktirme tekniği ile geniş bir mühendislik alanıdır. Kaplama tekniğine bağlı olarak iki ana özellik mikroyapı ve kaplama kalınlığıdır, ancak yapışma ve uzun süreli stabilite de değerlendirilmelidir.

R8 kompozisyonunda, Ti6Al4V alaşımının yüzeyine sodyum aljinat içeren biyoaktif cam malzeme sol-jel yöntemi ile kaplanmış ve biyoaktif özelliği araştırılmıştır. Çalışmanın amacı, Ti6Al4V alaşımının yüzeyini kaplama tabakası yardımıyla biyoaktif hale getirmektir. Bu amaçla polimerik kaplama malzemesi tasarlanmış ve malzeme yüzeyinde sol-jel yöntemi kullanılarak biyoaktif cam tabaka oluşturulmuştur. Literatürdeki benzer çalışmalardan yararlanılarak yeni bir biyoaktif cam kaplama malzemesi tasarlanmıştır. Sol yapısını oluşturmak için fosfat, silika ve kalsiyum kaynakları olarak trietil fosfat ((C₂H₅)₃PO₄), tetraetoksisilan (Si(OC₂H₅)₄) ve kalsiyum nitrat kullanılmıştır. Biyoaktif cam kaplama solüsyonuna polivinilpirolidon (PVP) eklenerek homojen bir kaplama yüzeyinin oluşmasında önemli bir faktör olan solüsyonun reolojik özellikleri optimize edilmiştir. Sol-jel yöntemi ile üretilen biyoaktif camlar, yarım saat boyunca 200°C'de ısıtılma tabi tutulmuştur. XRD ve FTIR cihazları, oluşan fazları tanımlamak ve fonksiyonel grupları tespit etmek için kullanılmıştır. SBF ile temastan önce ve sonra 200°C'de ısıtılma işlemi görmüş numunelerin in vitro biyoaktif özelliklerini belirlemek EDS, XRD, FTIR analiz yöntemleri kullanılmıştır. Kaplama malzemelerini karakterize etmek için TEM ve STA yöntemleri de kullanılmıştır. R8 kompozisyonunda hedef, kemik doku mühendisliği için biyoaktif, özellikle biyoaktif cam kaplama oluşturmaktır. Daha düşük ısıtılma sıcaklığı ile birlikte istenen biyoaktivitenin sağlanması, oluşturulan orijinal kaplamalara üstünlük katmıştır. R8 kompozisyonu kapsamında Ti6Al4V SBF'ye daldırıldığında apatit oluşumunu kolayca indükleyebilen kaplamaların geliştirilmesi amaçlanmıştır. Kaplamanın sentezi esnasında solün viskozitesi kontrol edilmiştir. Daha dayanıklı ve uzun ömürlü implantlar oluşturulmak istenmiştir. Bu kapsamda püskürtme kaplama tekniği seçilmiştir. PVP'nin biyoaktif cam kaplama soluna eklenmesi, püskürtme işlemini kolaylaştırmıştır. Sol-jel yöntemiyle hazırlanan biyoaktif cam kaplamalar hidroliz-yoğuşma reaksiyonu, ardından yaşlanma, püskürtme kaplama, kurutma ve termal stabilizasyon işlemleri kullanılarak hazırlanmıştır. Sol-jel camların daha yüksek biyoaktivitesi, çözeltide silanol bağları (Si-OH) bağlarının yoğunlaşması sonucunda oluşan yapısından kaynaklanmaktadır. Kaplamalar implantların osseointegrasyonunun, geliştirilmesi ve metalin vücut sıvılarının korozyonundan korunması amacıyla yapılmıştır. Kaplamanın bileşimi, daha düşük ısıtılma sıcaklığında istenen biyoaktiviteyi sağlayan şekilde benzersiz ve orijinal olarak oluşturulmuştur.

R13 kompozisyonunda kemik yenilenmesi için biyoaktif cam kompozit malzemelerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sol-jel yöntemiyle kullanılarak $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ bileşenli biyoaktif cam tabletleri başarılı bir şekilde yapılmıştır. Bu çalışmada, kemik yenilenmesini sağlamak için biyoaktif cam tozları sol-jel yöntemiyle sentezlenmiş ve sentezlenen bu tozlar direkt kuru presleme yöntemi kullanılarak tablet haline getirilmiştir. Biyoaktif cam tabletlerin morfolojisi ve yüzey özellikleri FE-SEM cihazları ile incelenmiştir. Sol-jel biyoaktif cam tabletlerde oluşan fazları değerlendirmek için XRD kullanılmıştır. SBF'ye daldırılan tabletlerin yüzey karakterizasyonu XRD, FE-SEM ve FTIR ile gerçekleştirilmiştir. XRD, FTIR ve EDS analizi, numunenin HA içerdiğini kanıtlamıştır. Ayrıca, in vitro mineralizasyon deneyi, biyoaktif cam tabletlerin SBF'ye daldırıldıktan sonra HA oluşumunu indükleyebildiğini göstermiştir. Tüm analiz sonuçları, biyoaktif cam tabletlerin iyi HA oluşturma aktivitesine sahip olduğunu ve tabletlerin kemik kusuru onarımı alanında potansiyel uygulama alanı bulabileceğini göstermiştir. Amaç sol-jel yöntemiyle yüksek biyoaktiviteye sahip biyoaktif cam parçacıklarını sentezlemektir. Sentezden sonra biyoaktif cam parçacıkları doğrudan kuru presleme yöntemi yardımıyla tablet formuna getirilmiştir. Mineralizasyon deneyinde HA oluşumu incelenmiştir.

$\text{SiO}_2\text{-CaO}$ biyoaktif camlarının üretilmesi için sol-jel süreci iyi bilinmektedir. Ancak amorf formun zayıf mekanik özellikleri ve kristalimsi karışımın biyoinertliği ile ilgili sorunlar devam etmektedir. Bu özellikler, Na_2O 'nun biyoaktif camlara dahil edilmesiyle geliştirilebilir ve sinterlendiğinde biyoaktif camlardan sert fakat biyolojik olarak parçalanabilen kristal fazın oluşmasına neden olabilir. Bununla birlikte, Na_2O içeren biyoaktif camların sol-jel yöntemleriyle üretilmesinin zor olduğu kanıtlanmıştır. 45S5 amorf biyoaktif camlar, yük taşıma gerektirmeyen kemik dolumu gibi biyomedikal uygulamalarda kullanım alanı bulmaktadır. R14 kompozisyonunda sol-jel yöntemi kullanılarak Na_2O içeren biyoaktif cam-seramik 45S5 tozu üretilmiştir. Sentez yolunun yüzey dokusu, in vitro çözünme ve mineral oluşumu üzerine sol-jel yöntemi ile üretilen tozlar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışma amacı kristalimsi seramiği amorf hale getirmektir. Böylece mineral oluşumu teşvik edilerek biyoaktiflik sağlanmak istenmiştir. Yapılan araştırmalar kristalli biyoaktif cam-seramiklerin, mineral oluşumu için başlangıç zamanı tarafından ölçülen amorf emsallerine göre daha az biyoaktif olduğunu göstermiştir. Çalışmada 45S5 biyoaktif camı sol-kristal yöntemiyle yapılmış ve yarı kristalli yapıya ulaşmak için ısı işleme tabi tutulmuştur. Jelden türetilmiş numuneler, yapının % 80'inden

fazlasını kristal yapmak üzere 700°C'de stabilize edilmiştir. 45S5 cam-seramiğin toz formunda çözündürülmesi, çeşitli süreler boyunca SBF çözeltisine in vitro daldırma yoluyla incelenmiştir. Daha sonra bu tozlar XRD, FE-SEM, EDS, DSC, STA ve FTIR analizi ile karakterize edilmiştir. Sol-jel tozu daha yüksek yüzey alanı, genellikle kristalin malzemelerin daha düşük çözünme hızları ile bağlantılı olan sorunu çözer. Sol-jel yöntemiyle oluşturulan tozun yüzey dokusunun SBF'de çözünme ve mineralizasyon davranışı çok daha önemli belirleyici etkidir. Bu kompozisyonda oluşturulan biyoaktif camlarda ağ değiştirici olarak sodyum kullanılarak HA çökmesi, kristalleşme ve mekanik kabiliyetin artırılması amaçlanmıştır. Sol-jel yöntemi kullanılarak 45S5 tozu üretilmiştir. Jelden türetilmiş 45S5 tozunun, yüksek sıcaklık stabilizasyonundan sonra kristal olmasına rağmen, jel türevli seramiğin gelişmiş yüzey alanı ve yüzey dokusundan dolayı, in vitro testte aynı konsantrasyonda amorf cam tozuna benzer bir çözünme oranı gösterdiği bulunmuştur.

R15 kompozisyonda çinko (Zn) içerikli biyoaktif cam hazırlanarak in vitro özellikleri değerlendirilmiştir. CaO-P₂O₅-SiO₂-ZnO sistemine dayanan malzeme sol-jel yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Bu malzeme toz halinde elde edilmiştir. Oluşturulan malzeme XRD, FE-SEM ve FTIR cihazlarıyla karakterize edilmiştir. Sentezlenen biyoaktif camların in vitro biyoaktivitesi üzerindeki etkileri, SBF'ye daldırılarak değerlendirilmiştir. SBF'ye daldırılmadan önce ve daldırıldıktan sonra XRD, EDS ve FTIR analizleri yapılmıştır. Jelleşmiş malzemeler XRD ile gösterildiği gibi SBF'ye daldırılmadan önce amorf, fakat SBF'ye maruz kaldıklarında yüzeylerinde HA tabaka oluşmuştur. Zn'nin faydalı özellikleri, yeni kemik malzemesi olarak Zn içeren biyoaktif cam üzerine sentez ve biyoaktivite çalışmaları yapılması gerektiğini gösterir. Bu kompozisyonunda, SiO₂-P₂O₅-CaO-ZnO bileşiminin sol-jel sentezi ve in vitro biyoaktivite çalışmaları sunulmuştur. Çalışmanın temel amacı, cam kompozisyonunda Zn içeriğinin HA tabakası oluşumu üzerindeki etkisini araştırmaktır.

R16 kompozisyonunda biyoaktif camlar sol-jel yöntemi kullanılarak hızlı alkali aracılığıyla hazırlanmıştır. Malzemenin biyo aktivitesi SBF'ye daldırılarak değerlendirilmiştir. Biyoaktif camın yüzey reaktivitesi, SBF'ye daldırma işleminden sonra oluşan apatit tabakasının morfolojisi ve bileşimi ile incelenmiştir. Sentezlenen biyoaktif cam, FE-SEM, EDS, XRD ve FTIR, STA ve DSC analizi kullanılarak karakterize

edilmiştir. XRD analizinde hava ortamında 700°C’de kalsine edilmiş biyoaktif camın amorf yapıda olduğu belirlenmiştir. Biyoaktif camların büyüklüğü, amonyak (NH₃) çözeltisi ilave edilerek kontrol edilebilir. SBF’ye daldırma işleminden sonra numuneler, FE-SEM ve EDS kullanılarak karakterize edilmiştir.

R17 kompozisyonunda sol-jel işlemiyle (ağırlıkça%) % 45 SiO₂, % 24,5 CaO, % 24,5 Na₂O ve % 6 P₂O₅ kompozisyonunda biyoaktif seramik toz sentezlenmiştir. X-ışını kırınımı sodyum kalsiyum silikat ve sodyum fosfat olmak üzere iki kristal fazın varlığını göstermiştir. İn vitro deneyler, toz numunesinin farklı zamanlarda SBF içine batırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Biyoaktivitenin in vitro değerlendirilmesi için FE-SEM, EDS, XRD ve FTIR kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, seramik tozunun, in vitro analizden sonra yüzeyinde HA tabakası oluşumu ile ifade edilen biyoaktivitesi nedeniyle kemik dokusu mühendisliği için biyomalzeme olarak kullanılabilceğini doğrulamıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Ti alaşımları, paslanmaz çelik veya kobalt-krom (Co-Cr) alaşımları gibi metalik alaşımlar, iyi mekanik özellikler ve yük taşıma yeteneği gerektiren kemik implantları için tercih edilen malzemelerdir. Titanyum (Ti) alaşımları ise yüksek dayanımları, korozyon direnci, hafiflik, düşük elastik modül ve biyouyumluluk özelliklerine bağlı olarak ortopedik uygulamalar için önemli bir malzeme grubudur. Farklı özelliklerine bakılmaksızın, cerrahi operasyonda implant başarısızlığına yol açabilecek problemler ortaya çıkabilir. Risklerden biri ameliyat sonrası hastaların iyileşmesini uzatan ve hatta implant reddine neden olabilen cerrahiye bağlı bakteriyel enfeksiyonlardır. Enfeksiyon riskini azaltmak için olası çözüm, antibakteriyel aktiviteye sahip kaplamalardır. İmplant malzemeler genellikle yüzey düzensizliklerinde morfolojik fiksasyonla kemik büyümesi ile osteointegre edilir. Kemik içi büyüme etkin değilse, ara yüzde yapışkan olmayan fibröz kapsül hızlı şekilde oluşturularak ara yüzey gevşemesine ve bu da implantın başarısızlığına neden olur.

İmplant yüzeyinin HA tabakası oluşturma kabiliyetine sahip biyoaktif kaplama ile kaplanması osseointegrasyonda belirgin bir iyileşmeye yol açar. Biyoaktif cam kompozisyonları, terapötik etkiye sahip çeşitli elemanlar eklenerek kolayca değiştirilebilir. Araştırılan elementler arasında olan stronsiyum (Sr) ve Zn, kemik metabolizması ve antibakteriyel etkisi nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Zn iyonları bakteriyel aktif şeker taşınmasını ve metabolizmasını etkileyerek biyofilm oluşumunu engeller. Böylece, çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri, kaplamalarda antibakteriyel etken olarak uygulanabilir. Antibakteriyel aktiviteye sahip kaplamalar, implant yüzeyinde bakteri yapışmasını ve biyofilm oluşumunu önlemek için umut verici bir çözümdür. Böylece cerrahi operasyon sırasında enfeksiyon riski azaltılabilir. Zn içeren malzemeler osteojenik ve antibakteriyel aktiviteye sahipken, biyoaktif cam nanopartiküller (BGN) osteoindüktif özelliklerin yanı sıra kemik bağlama yeteneği sergilemektedir. Zn içeren BGN'lerin, kemik yenilenmesinde, umut verici olduğu düşünülmektedir. BGN'ler, kemik bağlanma kabiliyeti, biyouyumluluk, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon özellikleri nedeniyle özellikle sert doku yenilenmesinde umut vericidir. Biyomoleküllerin biyoaktif camlara dâhil edilmesi, kemik yenilenmesi veya antikanser tedavilerinde malzemelerin terapötik

etkilerini artırır. Alternatif olarak, terapötik iyonları içeren malzemeler, kemik yenilenmesinde dikkati çekmektedir. Çünkü bu malzemeler terapötik iyonları serbest bırakarak salınan iyonların türüne ve miktarına bağlı olarak pozitif biyolojik tepkilere yol açar. Terapötik etkilere sahip çok sayıda iyon arasında Zn, kemik oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, Zn iyonları antibakteriyel etkilere sahiptir, bu nedenle enfeksiyonun önlenmesinde yararlıdır. Zn içeren biyoaktif cam iskeleler insan osteoblast benzeri hücrelerle biyouyumluluğunu koruyarak antibakteriyel aktivite sergiler. Zn içeren BGN'ler, kemik yenilenmesi için önemli malzemelerdir. Çünkü BGN'ler, nano ölçekte hücrelerle etkileşime girer (Miola vd., 2015; Zheng vd., 2016).

Bakteriler, implant yüzeyinin bakteri kolonizasyonu ile kemik ve çevredeki dokuların enfeksiyonuna neden olan biyofilm oluştururlar. Bu mikroorganizmalar implant yüzeyine geri döndürülemez şekilde bağlanırlar. İmplantasyondan sonra bakteriler, implant yüzeyinde kalın hücre dışı matris tabakası üretebilir ve yapışkan biyofilm oluşumuna neden olabilir. Bu biyofilm, antibakteriyel ajanların penetrasyonunu zorlaştırmaktadır. İmplantın yanındaki kronik bir enfeksiyon, osteomyelit, akut sepsis ve hatta ölüme neden olabilir. Bu sorunu çözmek için önerilen çözüm, biyofilm oluşumunu önlemek için antibakteriyel kaplamaların implant yüzeyine uygulanmasıdır. Metalik implantlar için gözlenen bir diğer yaygın problem, fibröz doku ile kapsüllenmesidir. Bu da implantın gevşemesine neden olur. Bu problemlerin çözümünde implant biyoaktif malzeme ile kaplanmalıdır. Biyoaktif camlar, osteoindüktif özellikleri ile iyi bilinen biyouyumlu malzemelerdir. Ortopedik alanda kemik onarımı ve yenilenmesini arttırmak için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Ayrıca, biyoaktif silikat camlar antibakteriyel, anti inflamatuvar ve anjiyojenik etkilere sahiptir. ZnO, yarı iletkenlik özellikleri nedeniyle ağırlıklı olarak güneş pilleri, fotovoltaj cihazlar, piller ve biyosensörlerin üretiminde kullanılmaktadır. Bu malzeme aynı zamanda, biyomalzemeler alanında ZnO'nun bir uygulamasını temsil eden, hızlı elektron transferi nedeniyle proteinleri hareketsiz hale getirebilen biyomimetik membranlar üretmek için kullanılmaktadır. ZnO metalik implantlar üzerine antibakteriyel etki gösteren kaplamaların üretiminde de kullanılmaktadır. ZnO biyoaktif camla birleştirilerek geleneksel ortopedik implantların enfeksiyon olasılığı ve osteoentegrasyon eksikliği zorlukları aynı anda ele alınarak yeni bir kompozit malzeme geliştirilebilir. ZnO içeren kaplamalar korozyona karşı koruma özelliklerinin yanı sıra biyoaktivite ve antibakteriyel özelliklere sahiptir (Cordero-Arias vd., 2015).

Pishbin vd.'nin yaptığı çalışmada antibakteriyel özelliklere sahip, kitosan, biocam parçacıkları ve gümüş (Ag) nanopartiküller içeren kompozit kaplamalar tek adımlı elektroforetik biriktirme (EPD) tekniği kullanılarak imal edilmiştir. Kaplamaların yapısal, bakterisidal ve hücresel özellikleri araştırılmıştır. Altlık olarak paslanmaz çelik 316, kompleks oluşturucu ve stabilize edici olarak kitosan kullanılmıştır. Biyocam parçacıklarının varlığı nedeniyle, kaplamalar SBF içinde karbonatlı hidroksi-apatit oluşturma açısından biyoaktiftir. Ag yüksek potansiyele sahip antibakteriyel bir bileşendir ve insan hücrelerinde çok düşük konsantrasyonlarda bakterisid etki sergilemektedir. Bu kaplamalar, biyoaktif camın organik polimer ile birleştirilmesiyle daha da geliştirilir. İnorganik kaplamaya polimer fazının eklenmesi mekanik olarak cam kaplama yapısını güçlendirir, yüksek sıcaklık işlemini ortadan kaldırır, biyoaktif camın iyonik salınım oranını kontrol eder. Daha da önemlisi, biyomoleküllerin dâhil edilmesi ve bırakılması için bir platform sağlar. Doğal bir polisakarit olan kitosan, böyle bir kompozit sistem için iyi bilinen bir adaydır. Beta-glukozamin, N-asetil-D-glukozaminden oluşan ve kitin'in N-deasetillenmesinden elde edilen doğrusal, katyonik bir polimerdir. Bu biyopolimerin önemli özellikleri, enzimatik parçalanma, hızlandırılmış anjiyojenez, büyüme faktörlerine bağlanma ve gelişmiş hücre yapışmasına duyarlılıktır. Ayrıca, kitosan mükemmel film oluşturma özelliğine sahiptir ve metalik implantların biyo işlevselleştirilmesi için birçok kaplama sisteminin odağı olmuştur. Ortopedik bir aletin vücuda yerleştirilmesi her zaman mikrobik enfeksiyon riski ile ilişkilendirilir. Daha da önemlisi, implant üzerindeki bakteriyel biyofilmlerin oluşması ek komplikasyonlara neden olur. Çünkü bunlar hem bağışıklık sistemine hem de antibiyotiklere aşırı dirençlidir. Artan antibiyotik direnci önemli bir tıbbi sorundur. Ne yazık ki böyle bir klinik durumda sistemik ilaç uygulamasından yaralanma, bozulmuş kan dolaşımı ve düşük ilaç lokal konsantrasyonu nedeniyle yeterince etkili değildir (Pishbin vd., 2013).

Erol vd.'nin yaptığı çalışmanın amacı, aljinat ile kaplanmış, bakır (Cu) iyonlarıyla çapraz bağlanmış bor (B) ihtiva eden yeni biyoaktif cam tabanlı iskeleler sentezlemek ve karakterize etmektir. Yakın zamanda geliştirilen bileşimi (ağırlıkça %) 65 SiO₂, 15 CaO, 18,4 Na₂O, 0,1 MgO ve 1,5 B₂O₃ olan biyoaktif cam tozu köpük çoğaltma yöntemi ile gözenekli iskele olarak imal edilmiştir. İskeleler aljinat çözeltisine daldırılarak kaplanmıştır. Taramalı elektron mikroskopisi araştırmaları, aljinatın üç boyutlu iskele yüzeyinde etkin bir şekilde tutunarak homojen bir kaplamaya yol açtığını göstermiştir.

İskelet yapısının sinterleme işleminden sonra amorf kaldığı ve aljinat kaplamanın iskelenin biyoaktivitesini, mekanik özelliklerini geliştirdiğini doğrulamıştır.

Kemik dokusu, mikroskopik, makroskopik, nano ölçekte organik ve inorganik bileşenlerden oluşan oldukça karmaşık ve uyumlu bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, bilim adamları kemik doku mühendisliği uygulamaları için polimer-seramik kompozit malzemelerin geliştirilmesine çok fazla önem vermişlerdir. Kemik doku mühendisliğinde başarılı bir şekilde uygulanması için ideal iskele özellikleri: mükemmel osteokondüktivite, uyarlanabilen biyobozunurluk, yüksek oranda birbirine bağlı gözenekli yapı, hücreleri destekleme kabiliyeti, uygun mekanik özellikler ve düzensiz şekilleri imal etme yeteneğidir. Biyoaktif silikat camlar ve cam seramikler kemik oluşumunu artırma ve in vivo olarak çevredeki kemik dokusuna güçlü bir şekilde bağlanma yetenekleri nedeniyle kemik onarımı ve yenilenmesi için, ilgi çekici biyomalzemelerdir. Biyoaktif malzemelerin ortak özelliği, insan plazmasını taklit eden fizyolojik sıvılar veya çözeltilerle temas halinde olduklarında yüzeylerinde apatit benzeri tabaka oluşturmalarıdır. Son yıllarda, yüksek biyoaktivite, biyouyumluluk ve biyobozunabilirlik özellikleri nedeniyle, biyopolimer kaplı biyoaktif cam seramik iskelelere dayanan kompozitler, kemik onarımı için geliştirilmiştir. Bununla birlikte, ileri iskele sistemlerine duyulan ihtiyaç, doğal kemiğin yapısını taklit edebilmek için altlıklara farklı fonksiyonelliklerin eklenmesini gerektirir. Çok fonksiyonlu özelliklere sahip yeni iskele tasarımında yüzey reaksiyonu, biyoaktivite, mekanik mukavemet, büyüme faktörü ve ilaç verme kabiliyeti gibi işlevler düşünülmelidir. Çeşitli filit türlerinden türetilmiş doğrusal bir kopolimer olan aljinat, belirli metal iyonlarıyla kombinasyon halinde jel oluşturabilme kabiliyetine sahiptir. Bu da jelleşme işlemi sırasında hücrelere zarar vermeden aljinat polimerin ve guluronik kalıntıların çapraz bağlanmasına neden olur. Ayrıca, aljinat biyouyumluluk ve Ca^{2+} gibi basit katyonlarla jelleşmesi nedeniyle, hücre immobilizasyonunda yaygın olarak kullanılır. Aljinatla kaplanmış iskeleler, kaplanmamış olana kıyasla daha fazla biyoaktif davranış sergilemiştir ve basma mukavemetinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (Erol vd., 2012).

İlk olarak İngiliz kimyager Stanford tarafından 1881'de tanımlanan aljinat, en bol polisakkarit olarak kahverengi alglerde bulunur. Aljinat, kahverengi alglerin hücre duvarlarında ve hücreler arası boşluklarda görülür. Başlıca işlevi, bitkilerde esneklik ve güç sağlamak, deniz ortamında büyüme koşullarına uyarlanmış gerekli özellikleri

vermektedir. Kahverengi yosun içerisindeki aljinat, ağaçlar ve bitkilerde bulunan selüloz ile mukayese edilebilir. Bazı toprak bakterileri, eksoselüler polimerik malzeme olarak aljinatı üretse de, çoğu ticari aljinat, algal kaynaklardan ekstrakte edilir. Aljinat, çok sayıda uygulamada kullanılabilen birçok fonksiyonel özelliğe sahiptir. Aljinat, kaplama malzemesi olarak ve bazı tablet formülasyonlarında dağıtıcı olarak kullanılır. Aljinat ve kitosan doku mühendisliğinde tıbbi ürünler olarak kullanılma potansiyeli göstermiştir. Aljinat, dalsız ikili kopolimerlerden oluşan bir ailedir. İki uronik asit monomerlerinin nispi miktarı ve bunların polimer zinciri boyunca ardışık düzenleri aljinatın kökenine bağlı olarak geniş ölçüde değişir. Uronik asit kalıntıları bir blok kalıbında polimer zinciri boyunca dağıtılır ki burada G kalıntılarının(G-blokları), homopolimer blokları M kalıntılarının (M-blokları) homopolimer blokları ve M ve G birimlerinin (MG blokları) dönüşümlü dizili blokları bir arada var olmaktadır. Dolayısıyla, aljinat molekülü tek başına monomer bileşimi ile tanımlanamaz. Aljinat alglerin çeşitli türlerinden üretilebilir. Yosunlar hasat edilir, öğütülür, yıkanır, baz ile özütlenir, kalsiyum klorid ile çökeltilir ve asit ile reaksiyona sokularak aljinik asit elde edilir. İstenen tuz (aljinat) uygun katyon ile nötrale edilerek üretilir. Çoğunlukla kullanılan aljinatın fonksiyonel özellikleri şunlardır: viskoelastisite, kalsiyumla çapraz bağ yoluyla jelleştirme ajanı olarak ve sulu solüsyonlarda bir yoğunlaştırıcı (viskosifikatör) olarak kullanılır. Çözünürlük, şişebilirlik ve film oluşturma özellikleri, biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda kullanılan diğer yeteneklerdir (Hollinger, 2011).

Jun vd.'nin yaptığı çalışmada silika kserojel/kitosan hibritinden oluşan biyoaktif kaplama, metalik implantlar için yeni bir yüzey işlemi olarak sol-jel işlemi ile uygulanmıştır. Kaplama tabakası, temas açısı ölçümüyle değerlendirildiğinde silika kserojel içeriğinin artmasıyla daha hidrofilik hale gelmiştir. Hibrit kaplamalar, SBF'ye daldırıldığında apatitin kaplama yüzeyine hızla çökmesine neden olarak mükemmel biyoaktivite sağlamıştır. Hücrelerin alkalik fosfat aktivitesi, saf kitosan kaplamaya kıyasla hibrit kaplamalarda daha yüksektir. Bu sonuçlar, silika kserojel/kitosan hibritlerinin, Ti esaslı tıbbi implantlar üzerinde biyoaktif kaplama malzemeleri olarak uygulanmasının yararlı olduğunu göstermektedir.

Yüzey özelliklerinin, implantların başarısını artırmada önemli parametrelerden biri olduğu düşünülmektedir. Çalışmaların çoğunda, hem in vitro hem de in vivo olarak bu

malzemelerle kaplanmış Ti esaslı implantların performansının arttığı ortaya çıkmıştır. Sol-jel türevli silika kserojellerin mükemmel biyoaktiviteye sahip olduğu ve çevredeki dokulara, özellikle kemikle iyi kimyasal bağlanma sergilediği bilinmektedir. Bununla birlikte, silika kserojellerin, işleme sırasında çatlamaya maruz kalması ciddi bir problemdir. Bu problemin üstesinden gelmek için, silis kserojeller organik malzemelerle kombine edilmelidir. Bu çalışmada, metalik yüzeylerde yeni bir kaplama tabakası olarak kullanılmak üzere silis kserojel ile doğal bir polimer olan kitosan hibritlenmiştir. Bir tür polisakkarit olan kitosan, kitinin deasetilatlanmış bir türevidir. Hücre uyumu, biyobozunabilirlik ve toksik olmayan özelliklerinden dolayı biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak uygulanmaktadır. Kitosanın parçalanma ürünleri özellikle lizozimin hareketi ile metabolize olur. Bu da bağ dokuda meydana gelen glikoproteinlere kitosanın katılmasını sağlar. Ayrıca, kitosan esnektir ve inorganik malzemelerle karşılaştırıldığında kolayca oluşturulabilir. Kitosanın bu özellikleri, metalik implantlarda kaplama tabakası olarak kullanılmasını uygun hale getirir. Çalışmada Ti üzerine sert doku implantları için silika kserojel/kitosan hibrit kaplama tabakaları üretilmiştir. Sol-jel spin kaplama yöntemi ile kaplama yapılmıştır. Kaplama morfolojisi, fiziko-kimyasal özellikler, biyoaktivite, hücre büyümesi ve osteoblastik farklılaşma da dâhil olmak üzere in vitro hücre yanıtları araştırılmıştır. Sonuçlar, silika kserojel/kitosan hibritlerinin, sert doku uygulamaları için biyoaktif kaplama malzemesi olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Jun vd., 2010).

Kemik dokularının yenilenmesi için yeni ortopedik implant malzemelerin geliştirilmesi önemlidir. Hücrelerin kemik oluşturma yeteneği biyomalzemelerin yüzey morfolojisi ve kimyasal bileşimi gibi özellikleriyle yakından ilişkilidir. Biyomalzemelerin nano yapısı hücre uyumlu yüzeylerle hücrelere bağlanmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlayarak kemiklerin büyüme hızını artırır. Ortopedide, biyoaktif cam film kaplamalar genel olarak ortopedik implantların performansını artırmada kullanılmaktadır. Ayrıca, nano ölçekte biyomalzemelerin yüzey yapılandırmasını sağlar. Ma vd.'nin yaptığı çalışmada sol-jel ile üretilmiş biyoaktif cam filmin biyoaktivitesi incelenmiştir. Film kaplama şeklinde nano gözenekli biyoaktif camların elde edilmesi üzerine az sayıda çalışma vardır. Çalışmada, sol-jel tekniğine dayalı olarak ticari cam altlık üzerine nano gözenekli biyoaktif cam film hazırlanarak incelenmiştir. SBF içine daldırma yoluyla, in vitro biyo-aktivitesi değerlendirilmiştir. Biyoaktif cam filmlerde gözenek

oluşturucu olarak Vitamin E TPGS kullanılmıştır. Filmlerin yüzey morfolojisi SEM ile incelenerek hücrelerin bağlanmasını ve kombinasyonunu destekleyen çok sayıda sinaps gözlenmiştir. TEM görüntülerinde ise düzensiz şekilli fakat eşit gözenekli yapı açıkça görülmektedir (Ma vd., 2013).

Ma vd.'nin yaptığı çalışmada magnezyum (Mg) içeren biyoaktif cam film, mikro ark oksidasyon ön işleme tabii tutularak darbeli lazer biriktirme yöntemiyle Ti-6Al-4V altlık üzerine uygulanmıştır. Vücut sıvısına daldırıldığı zaman, yüzeyi üzerinde canlı dokulara teması teşvik eden biyolojik olarak aktif kalsiyum fosfat kemik benzeri katman oluşmuştur. TC4'ün biyoaktif camlar ile kaplanmasıyla mükemmel biyolojik özellikle metalin mekanik özellikleri birleştirilmiştir. İn vitro testi SBF içinde steril polietilen kaplarda $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ sabit sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Kullanılan yapay vücut sıvı çözeltisi, insan plazması ile benzer bir bileşim ve konsantrasyondadır. Islatma süreleri 7, 14, 21 ve 28 gün boyunca sürdürülerek çözelti her 2 günde bir değiştirilmiştir. Her bir ıslatma zaman periyodu sonunda, numuneler deiyonize su ve aseton ile durulanmış ardından oda sıcaklığında hava içinde kurutulmuştur (Ma vd., 2016).

316L paslanmaz çelik implantlar geçici ve kalıcı implant olarak kullanılmaktadır ve ucuzdur. Metaller fizyolojik ortamda gerekli biyouyumluluğu sağlayamaz; sementasyon veya harici tespit cihazları olmadan canlı doku ile bağlanmaları mümkün değildir. Metal implant ve kemik arasına yerleştirilen fibröz doku doğal olarak oluşamaz. Bu sorunun üstesinden gelmek için, metal yüzeylerin biyouyumlu camla kaplanması başarılı ve gelecek vaat eden yöntemlerdendir. 49s biyoaktif cam ve titanyum dioksit (TiO_2) nanopartiküllerden oluşturulan kompozit kaplamalar, 316L paslanmaz çelik yüzeylere sol-jel işlemi ile uygulanarak biyomedikal amaçlar için ince filmler geliştirilmiştir. Titanya yüksek fotoaktifliği ve kimyasal kararlılığıyla bilinen yarı iletken oksittir. Yüksek içerikli Ti kaplama mükemmel sertlik, korozyon ve aşınma direnciyle yaygın olarak tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. Sol-jel ile elde edilen titanya kaplamanın sadece in vitro değil, aynı zamanda in vivo olarak apatit çekirdeklenme uyarıcı olduğu açıklanmıştır. Bu davranışın nedeni filmlerde hidroksil (OH) fonksiyonel grupların varlığını sürdürmesidir. Nano yapıli kompozit filmlere, in vitro testlerle yüzeylerde kemik benzeri bir apatit tabakasının oluşum yeteneğini değerlendirmek için SBF eklenir. Nano yapıli TiO_2 filmler

SBF içinde UV ışınına maruz bırakıldığında biyoaktivite gelişme göstermiştir (Bakhtiari vd., 2014).

Omar vd.'nin yaptığı çalışmada cerrahi amaçlı ve ortopedik implantlar için kullanılan AISI 316L paslanmaz çelik alt tabaka üzerine hibrid sol-jel kaplama korozyona karşı koruma sağlamak, koruyucu tabaka oluşturmak amacıyla daldırma yöntemiyle uygulanmıştır. Bu kaplamanın üstüne potansiyel olarak biyoaktif cam (58S) öncül olarak TEOS, TEP ve kalsiyum nitrat kullanılarak sol-jel püskürtme yöntemi ile uygulanarak biyoaktif tabaka oluşturulmuştur. Sol-jel sulu ortamda, sırasıyla Silisyum dioksit (SiO_2), fosfor pentaoksit (P_2O_5) ve kalsiyum oksit (CaO), kaynağı olarak TEOS, TEP ve $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ gibi farklı öncüllerin asit ya da bazik katalizör olarak karıştırılmasıyla elde edilen sol hazırlanması ile başlar. Oda sıcaklığında gerçekleştirilen hidroliz ve polikondenzasyondan sonra farklı koşullarda yaşlandırılan kurutulan ve stabilize edilebilen bir jel elde edilir. Sonuç olarak paslanmaz çelik üzerine uygulanan sol-jel kaplama, korozyon direncini arttırmıştır. Malzeme yüzeyi geliştirilerek koruyucu amaçlı yararlı bir film oluşturulmuştur (Omar vd., 2016).

Ti alaşımı üzerine seryum, galyum, Zn ihtiva eden gözenekli biyoaktif cam kaplamayla yüzey modifikasyonu, biyolojik ortamda tıbbi implantların performansını geliştirmek için kullanılan yöntemlerden biridir. Bu çalışmada, polikaprolakton ile kombinasyon halinde seryum, galyum, Zn içeren 80% SiO_2 -15% CaO -5% P_2O_5 gözenekli biyoaktif cam organik-inorganik hibrid kaplama elde etmek için daldırarak kaplama yöntemiyle Ti6Al4V alt tabaka üzerine kaplanmıştır. Amaç yeni bir biyomalzeme geliştirmektir. Yapısal karakterizasyon XRD, nitrojen adsorpsiyonu, SEM-EDX, FTIR kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Biyolojik olarak etkili elemanlar seryum, galyum ve Zn mevcudiyeti ile birlikte cam ve polimer fazları kaplamada tespit edilmiştir. Buna ek olarak, kaplanmış numunelerin biyoaktivitesi SBF'de 37°C'de 30 gün bekletilerek araştırılmıştır. Apatit benzeri katmanın Zn örneklerinin dışında tüm örneklerde 15 gün içinde oluştuğu FTIR, SEM-EDXS ve ICP ölçümleri ile gözlenmiştir. Seryum, galyum, Zn kemik metabolizmasında önemli rol sergileyerek kemik mekanik özelliklerini geliştirir, kemik oluşumu üzerinde uyarıcı etkisi vardır (Shruti vd., 2016).

Jaiswal vd.'nin yaptığı çalışmada, polipropilen mikrotitre plakaları kullanılarak (Ag, Cu, Zn) metal nitrat katkılı metiltrioksolan (MTEOS) kaplamaların antibakteriyel aktivitesi değerlendirilmiştir. Etkili antibakteriyel kaplamaların geliştirilmesi amaçlanmıştır. Oluşturulan sol-jel çözeltileri spin kaplama yöntemiyle kaplanarak 24 saat boyunca 70°C'de kürlenmiştir. Kürlenmiş numuneler, görsel inceleme ve termogravimetrik analiz (TGA) ile değerlendirilerek optimum kürlenme koşulları saptanmıştır. Eşdeğer konsantrasyonlarda metal katkılı sol-jelin antibakteriyel aktivitesinin $Ag > Zn > Cu$ şeklinde sıralamaya sahip olduğu bulunmuştur. Biyomalzemeler için kaplama olarak kullanım potansiyeli vardır. Ag, altın (Au), Cu ve Zn gibi metaller antibakteriyel etkinliklerinden dolayı bilinmektedir ve canlılardaki uygulamalarda kullanılır. Kaplamalardaki antibakteriyel katkıları bakterileri öldürür ya da büyümesini engeller (Jaiswal vd., 2012).

Darbeli lazer biriktirme tekniği kullanılarak yenilikçi bileşimle biyoaktif cam filmler elde edilmiştir. Elde edilen filmler tamamen mikroskopik, spektroskopik teknikler ile karakterize edilerek yüzey morfolojisi ve faz incelemeleri gerçekleştirilmiştir. Biyomedikal aletlerin üretimi mekanik mukavemet ve biyoaktivite gibi çeşitli parametrelerin yerine getirilmesini gerektirir. Özellikle, biyolojik tepki aletin giriş yüzeyi ve biyolojik çevre arasındaki etkileşim nedeniyle ortaya çıkmaktadır. İnce biyoaktif filmler ile kaplanan Ti implantlar kaplamanın osteo iletken özellikleri ve metalin yüksek mekanik mukavemetine bağlı olarak kemik implantlar için uygun malzemeler elde edilmesine olanak sağlar. Bu çalışmada fiziksel-kimyasal özelliklerini muhafaza eden RBP1 biyoaktif cam-seramik ince filmlerin oluşturulmasında darbeli lazer biriktirme tekniğinin uygun bir teknik olduğu belirtilmiştir. RBP1 cam-seramik tozu sol-jel prosesiyle sentezlenmiştir. SEM ve AFM incelemesi sonuçları oluşturulan filmlerin düzgün bir morfolojiden ziyade, mikrodan nano ölçeğe değişen boyutu ile oldukça küresel damlacıklarla kaplı camı matriksten oluştuğunu kanıtlamıştır. Ayrıca filmler hücre yapışması için uygun bir yüzey pürüzlülüğüne sahiptir (Bonis vd., 2016).

Ge vd.'nin yaptığı çalışmada TiO_2 içeren gözenekli biyoaktif cam nanorod filmler hazırlanmıştır. İlaç salım davranışı incelenerek geliştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı implantasyon cerrahi için ortopedik implant kaplamalarda kullanılmak üzere mükemmel biyolojik performans ve antienfektif özelliğe sahip nano yapıları filmler oluşturmaktır.

Gözenekli biyoaktif cam TiO_2 nanorod filmler sol-jel yöntemi ile hazırlanarak tantal yüzeylere uygulanmıştır ve deneysel çalışmalarda iyi hücre sel yanıtlara ulaşılmıştır. Filmlerin oluşumuna gözenekli biyoaktif cam kompozisyonunun ve TiO_2 nanorod yoğunluğunun etkisi incelenmiştir. İmplantasyon ameliyatlarında bakteriyel enfeksiyon ve enfeksiyon nedeniyle gecikmeli osseointegrasyon endişe konusu olmuştur. Bu yüzden, implantasyon başarısızlıkla sonuçlanabilir ve iyi antibakteriyel ortam için osseointegrasyon süreci gereklidir. Bu çalışmada sunulan yaklaşım ortopedik implantlar için umut verici yüzey modifikasyon tekniğidir (Ge vd., 2015).

Yüksek korozyon hızı tüm kemik kusurları iyileşmeden önce implantta fonksiyonel bozukluğa yol açabilir. Bu nedenle, kaplama kemik implantı uygulaması için Mg bazlı malzemelerin aşınma direncini arttırmada gereklidir. Mg alaşımlarının bozulma oranını azaltmak için uygun bir kaplama ile yüzey modifikasyonu etkili bir yöntemdir. Huang vd.'nin yaptığı çalışmada korozyon direnci ve biyoaktiviteyi artırmak için, gözenekli 58S biyoaktif cam kaplama Pluronic F 127 kullanılarak sol-jel daldırma yöntemi ile AZ31 Mg alaşımı üzerine hazırlanarak uygulanmıştır. Ayrıca kaplamaların canlı dışındaki deney ortamında bozulma davranışı incelenmiştir. Kaplama sisteminin alt tabakaya etkin bir koruma sağladığı önemli bir aşınmaya maruz kalmadan SBF içinde 7 günden fazla daldırmaya karşı koyabildiği tespit edilmiştir. Mg alaşımlarının zayıf ısı direnci ve düşük erime noktalarına bağlı olarak, alaşımlar üzerinde koruyucu kaplamalar olarak kullanılan biyocamlar düşük cam geçiş sıcaklıklarına (T_g) sahip olmalıdır. İmplantlar için koruyucu kaplamalar olarak, izotropik ve fizyolojik durumda bozulma sırasında çatlamayı önleyen amorf camlar istenir. Böylece, uzun bir süre içinde iyi koruyucu özellikler verilmiş olur. Bu çalışmada SBF'ye daldırma sonuçları 58S MBG kaplamaların önemli ölçüde Mg alaşımlarının korozyon direncini ve biyoaktivitesini geliştirdiğini ortaya koymaktadır. Buna ek olarak morfolojik olarak düzgün ve çatlaksız kaplamalar elde edilmiştir (Huang vd., 2014).

Rau vd.'nin yaptığı çalışmada darbeli lazer biriktirme tekniği ile biyoaktif cam-seramik kaplamalar hazırlanmıştır. RKKP erime işlemi ve sol-jel olmak üzere iki metodoloji, izlenerek elde edilmiştir. Sol-jel kompozisyon aralığını uyarlamak için uygundur. Darbeli lazer biriktirmenin diğer depolama tekniklerine göre avantajı hedef kompozisyonun kaplamaya uyumlu transferidir. Filmlerin fiziko-kimyasal özellikleri

taramalı elektron ve atomik kuvvet mikroskobu, fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi açısall ve enerji saçılımlı XRD ve vickers mikrosertlik cihazları ile incelenmiştir. İmplantasyondan sonra, karbonatlanmış HA tabakası, in vitro ve in vivo olarak biyocam yüzeyi üzerinde oluşturulmaktadır. Bu çalışmada alt-tabaka olarak implantolojide en yaygın kullanılan metalik malzeme olan Ti kullanılmıştır. Metal implantın uygun biyoaktif malzeme ile kaplanmasıyla organizmadan izole etmek ve beklenen yabancı cisim yanıtı olan çevresinde lifli kapsülün oluşumunu önlemek amaçlanmıştır. Sol-jel yöntemiyle üretilen film morfolojisi, erime işlemiyle yapılarına göre daha yoğun ve düzgündür. Oluşturulan filmlerin mekanik özellikleri büyük ölçüde gelişmiştir (Rau vd., 2012).

Biyoaktif cam ve cam seramikler hücre dışı sıvı yüzeyleri üzerinde kristalin apatit tabakanın oluşturulmasını sağlayan bir malzeme grubudur. Apatit tabakası doğal kemik mineral fazı ile kimyasal olarak benzer yapıya sahiptir ve implant, implantın çevresindeki doku arasında bağ oluşumunu sağlar. Biyo-aktif camlarda SiO_2 ve CaO içeriğinin belli aralığı kemik mineralizasyonu için önemlidir. Yoğun apatit tabakası doku bağlanması ve kemik yenilenmesini destekler. Lifli biyoaktif kaplama hücre dışı matriksi taklit ederek inert bir yüzeyde düzenli hücre büyümesini kolaylaştırabilir. İmplantın bağlanmasını ve hasarlı doku yenilenmesini geliştirmek için doku mühendisliği alanında yoğun araştırmalar devam etmektedir. Amaç biyolojik hücre dışı matriksin işlevini taklit ederek, yapısal matris olarak hareket edebilen malzemelerin yeni tiplerini tasarlamaktır. Matris üç boyutlu iskele yapıları aracılığıyla hücrelerin büyümesi için uygun bir ortam sağlar, aynı zamanda yeni hücrelerin oluşmasına ve çoğalmasına yardımcı olur. Biyoaktif camlarda herhangi büyüme faktörleri olmaksızın camlardan inorganik iyonların serbest bırakılması, hücrese seviyede doku büyümesini destekler.

Das vd.'nin yaptığı çalışmada gözenekli silika nanolifler ile aşılınmış kompozit biyoaktif cam-seramik kaplama, tek tip apatit çökmesi ve hücre çoğalmasına dönük yapısal iskele oluşturmak için inert cama uygulanmıştır. Kaplama yüzeyleri SBF içine daldırma öncesi ve sonrası iyice araştırılmıştır. Yüzeyde fibroblast hücrelerinin çoğalma davranışı çeşitli kültür zamanlarında gözlenmiştir. Bu kompozit biyoaktif kaplamanın nanofibröz dışı daldırmayla kısa bir süre içinde pul benzeri karbonatlı HA tabakası homojen bir büyüme sağlamıştır. Bu yeni tasarlanmış kompozit kaplama kalsiyum fosfatın homojen çökmesi için elverişli biyolojik yapı matris oluşturulmasında etkili olmuştur ve

inert cam yüzeyde hücre büyümesini düzenlemiştir. Sonuç olarak nanolif aşılınmış gözenekli silika biyoaktif kompozit kaplama yapısal matris olarak inert cam yüzey üzerine daldırılmalı kaplama tekniği ile başarıyla üretilmiştir. Yeni tasarlanmış bu kaplama düzgün yapışma ve mükemmel sertlik özellikleri göstermiştir. Tüm bulgular sitotoksik olmayan ve biyouyumlu nanolifli biyoaktif kaplamanın doku mühendisliği iskeleleri ve implant yüzeyinde biyolojik iskele olarak kullanma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Das vd., 2016).

Kollath vd.'nin yaptığı çalışmada hızlı prototipleme 3D Ti-6Al-4V iskele üzerine HA ve hidroksiapatit-aljinat elektroforetik olarak kaplanmıştır. İskeleler üç boyutlu fiber kaplama yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Bu çalışmada etanol (C_2H_5OH), bütanol ve C_2H_5OH -su gibi farklı süspansiyon ortamları kullanılmış ve bunların çökelme özellikleri üzerine olan etkileri analiz edilmiştir. C_2H_5OH veya bütanol içinde farklı konsantrasyonda, DC voltajda süspansiyona alınmış HA tozuyla $d_{10} = 1,7$, $d_{50} = 5,7$ ve $d_{90} = 18 \mu m$ boyutunda EPD ile kaplanmıştır. İskeleleri kaplamak için ayrıca HA-aljinat kompoziti kullanılmıştır. Aljinat bir bağlayıcı olarak kullanılmıştır ve homojenlik, kalınlık, çatlaklar, süreklilik, vb. kaplama özellikleri, saf HA süspansiyonlarından elde edilen kaplamalar ile karşılaştırılmıştır. Gözenekli yapının derinliğine göre kaplama kalınlığı ve yoğunluğu taramalı elektron mikroskobu ve görüntü işleme analizi kullanılarak kesitler gözlemlenerek incelenmiştir. HA-aljinat kombinasyonu homojen, daha derin ve yoğun bir HA tabakasına neden olmuştur. Bu çalışma ayrıca, altlığa yapışması için uygun bir ısıl işleme tabi tutulması gereken saf HA kaplamaya üstün bir alternatif olarak HA-aljinat kompozitinin özelliklerine işaret etmektedir.

Ti6Al4V alaşımından hazırlanan gözenekli 3D iskeleler biyoinerttir ve kritik büyüklükte yük taşıyan kemik implantı olarak kullanılabilirler. Yük taşıyan kemik ile mekanik benzerlikler dışında, daha iyi implant entegrasyonuna yol açarak açık kanallar vasıtasıyla kemik dokusunu geliştirebilirler. Doğal kemik özellikleri, gözeneklilik ayarlanarak taklit edilebilir. Kalsiyum fosfat (CaP) kaplamalar metalik iskeleleri biyoaktif hale getirerek, bu iskelelerin osseointegrasyonunu arttırabilir. Bu amaçla, çeşitli kaplama teknikleri kullanılır. 3D gözenekli iskeleleri kaplamak için kullanılacak teknikler, daldırarak kaplama, sol-jel, biyomimetik, elektrokimyasal ve EPD'dir. HA biyoaktif kaplama CaP fazı olarak seçilmiştir. Kaplama kalınlığı ve kaplama derinliği, biriktirme

voltajına, zamanına ve kullanılan süspansiyon ortamına da bağlı olarak değişir. Her durumda bir kaplama tabakası elde edilse de, sadece HA-Alg/H₂O-C₂H₅OH kombinasyonu, daha derin kaplanmış malzeme tabakası ile sonuçlanmıştır. Ayrıca biyoyoumlu olan aljinat sinterleme basamağı olmaksızın organik-inorganik kompozit kaplama hazırlamak için de uygundur ve bu da üretim maliyetini daha da düşürebilir (Kollath vd., 2016).

İnsan vücudunda implant kullanımı ömür beklentisinin artmasıyla artmakla birlikte hasarlı kemik dokularında kullanılan metalik implantların aşınması implantların gevşemesiyle enfeksiyona neden olur (Mahlooji vd., 2019). İmplant yüzeyinde biyofilm oluşmasıyla enfeksiyonların önlenmesinde kullanılan antibiyotik tedavisi etkinliği yitirerek mikroorganizmaların çoğalmasına yol açar. Ortopedik cerrahide üst üste gelen komplikasyonlar ve enfeksiyonlar implantın başarısızlığına ve hatta ölümlere neden olabilir (Marques vd., 2020). Ti ve alaşımları, korozyon dirençleri, düşük yoğunlukları, iyi mekanik özellikleri ve dinamik yükleme özellikleri nedeniyle ortopedik cerrahi malzemelerin yük taşıma uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Henaö vd., 2019; Sergi vd., 2020). Tüm bu özelliklerinin yanı sıra biyoyoumlu da olmalarından dolayı Ti bazlı alaşımlar dental implantlarda da kullanılmaktadır. Bu implantların oral ortamda bozulmaya elverişli olmaları ve kemik kaybı gibi olumsuzluklara yol açabilir (Costa vd., 2020). Gittikçe artan diş implantı ihtiyacı kullanımının artmasına ve kullanım ömrünün uzun olmasını gerektirmiştir (Mokhtari vd., 2018). Ti6Al4V alaşımının içerdiği Al ve V elementleri vücut sıvılarına uzun zaman maruz kalıp salınımı önemli problemler oluşturabilir (Harb vd., 2020). Biyo-uyumluluk, yüksek yorulma mukavemeti, toksik olmayan ve nispeten düşük elastik modül gibi olumlu özelliklerine rağmen Ti6Al4V gibi biyoyoumlu metal alaşımları kemiğe güvenli bir şekilde bağlanamadığı için biyoaktif cam kaplamalar geliştirilmiştir (Ghosh vd., 2015; Matinmanesh vd., 2017). Biyomalzemeleri metalik implantlar üzerine kaplayarak yüzey modifikasyonu biyoaktiviteyi artırır ve biyoyoumluluk sağlar (Joy-anne vd., 2019; Su vd., 2019). Ti implantların biyoaktif camlar ile kaplanmasıyla birlikte kemik oluşumu uyarılarak canlı kemik dokusu ile yükleme altındaki implant yüzeyi arasında direkt yapısal ve işlevsel bağlantı yani osseointegrasyon artar (Beltrán vd., 2020). Farklı kaplamalar arasında biyoaktif cam kaplamalar, biyomedikal uygulamalarda çok yönlü, kemik dokularına bağlanma ve fonksiyonel özelliklerinden dolayı daha etkilidir (Baino vd., 2018). Biyoaktif camların kaplamalar kemik yeniden oluşumunu destekleyici özellikte olup vücut sıvılarıyla temas halindeyken

implant yüzeyinde HA tabakası oluşur. Bu tabakanın oluşumu biyoaktifliğin göstergesidir ve böylece kemikle kuvvetli bağlanma gerçekleşir (Ferraris vd., 2020).

Tıbbi açıdan gelişmiş toplumlarda ortalama yaşam beklentisi son yüzyılda büyük ölçüde artmıştır. Şu anda, milyonlarca insan kemik ve dişleri onarmak, değiştirmek veya yeniden yapılandırmak için kullanılan cihazlara sahiptir. Bu tür implantları alan nüfus daha genç hale gelir ve daha uzun süre yaşar. Bu nedenle, dayanıklı ve uzun ömürlü protez cihazları imal etmek için kullanılabilen insan yapımı malzemeler için artan bir gereklilik vardır. Metaller ve alaşımlar, yapay implantların veya restore edilmiş malzemelerin bileşenleri olarak diş ve ortopedik alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Metaller ve alaşımlar, insan vücudunda sınırlı korozyon direncine sahiptir ve biyoaktivite özelliği eksiktir. Metal ve alaşımlar üzerindeki biyoaktif kaplamalar, mekanik özellikler, korozyon direnci, biyouyumluluk, osseointegrasyon ve biyoaktivite özelliklerini bir malzemede birleştirmek için idealdir. Ayrıca, *in vitro* hücre yanıtları implant yüzeyinin *in vivo* davranışına ilişkin değerli bir gösterge sağlar (Wang vd., 2010). Ti ve alaşımları en çok kabul gören ticari dental implantlardır. Biyouyumludurlar ve ideal mekanik özelliklere sahiptirler (Tada vd., 2014). Ti6Al4V gibi biyo-uyumlu metalik alaşımlar, biyouyumluluk, yüksek yorulma dayanımı ve nispeten düşük elastik modül gibi uygun özelliklerinden ötürü yapısal ortopedik malzemeler olarak yaygın kullanım alanı bulmuşlardır. Bununla birlikte, Ti6Al4V'nin en büyük dezavantajlarından biri, *in vivo* kullanımı sırasında çevreleyen sert dokuya kolayca bağlanamamasıdır. Bu sorunun üstesinden gelmek ve osseointegrasyona yardımcı olmak için biyoaktif bir malzeme ile kaplanması gerekir (Ghosh vd., 2015). Ti6Al4V, kalça protezleri gibi vücut yüklerinin önemli olduğu implantların üretimi için en yaygın kullanılan alaşımlardan biridir. Bu malzeme kemiğe çok az yapışma özelliğine sahiptir ve biyo inerttir. İmplant kaplamaları metalin vücut sıvıları tarafından aşınmasını önlemeli ve kemiğe yapışmasını arttırmalıdır. Kaplamaların biyoaktivitesini arttırmak aynı zamanda metallere iyi yapışmasını sağlamak için farklı yaklaşımlar araştırılmalıdır (Gomez-Vega vd., 2001). Ti ve alaşımları, kimyasal kararlılık, biyouyumlu olması, korozyon dayanımı ve iyi mekanik özellikleri nedeniyle sert doku değişimlerinde, ortopedik ve dental implantlar için uygun malzemeler olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ti implantların başarısızlığına aseptik gevşeme ve implantasyona bağlı enfeksiyonlar neden olur. Ti implantlarının biyoaktivitesi inorganik-organik kompozit kaplamalar ile yüzey işlemleriyle iyileştirilebilir (Ordikhani ve Simchi, 2014;

Teng vd., 2014). Kaplama prosesi implantasyon ömrünü uzatmak, implantın korozif ortamlardan korunması için ince bir film oluşturacak şekilde paslanmaz çelik implant üzerine yaygın olarak uygulanır (Wang ve Bierwagen, 2009). Sol-jel kaplamaların hazırlanma işlemleri sırasında, çatlak oluşumu esas olarak kaplamalarda ortaya çıkan artık gerilmeyle ilişkilidir (Dou vd., 2013). Bakteriler, ortopedik implantlarda kemik ve çevre dokuların enfeksiyonuna neden olan biyofilm oluştururlar. Biyofilm antibakteriyel ajanların penetrasyonunu zorlaştırır. Enfeksiyon osteomyelite, akut sepsise ve hatta ölüme neden olabilir. Biyofilm oluşumunu önlemek için önerilen çözüm, implant yüzeyini antibakteriyel kaplamalarla kaplamaktır. Metalik implantlar için gözlenen bir diğer yaygın problem, fibröz doku tarafından kapsüllenmesidir. Bu da implantın mikro hareketlerine, yer değiştirmesine ve olası gevşemeye yol açar. Bu problemleri çözmek için, implant biyoaktif cam ile kaplanabilir. Biyoaktif camlar, osseointegrasyonunu indüklemek, kemik onarımı ve rejenerasyonunu desteklemek için ortopedi alanında giderek artan şekilde kullanılan osteoindüktif özelliklere sahip iyi bilinen biyo-uyumlu malzemelerdir. Biyoaktif camlar, osteojenik hücrelerin ekleyebildiği ve ayırt edebileceği bir HA yüzey tabakası oluşturur. Böylece kemik-implant temasını iyileştirir ve kemik büyümesini teşvik eder (Cordero-Arias vd., 2015). Özellikle diyabetik hastalarda kemik büyümesi desteği önemli bir özelliktir (Ajami vd., 2014). Metalik biyomalzemelerin kullanımına ilişkin sınırlama, implantın yüzeyinin fibröz doku ile kapsüllenmesidir. Bu fibröz kapsülün varlığı protezlerin harekete geçmesini sağlayarak performanslarını azaltabilir. Protez yüzeyini kaplayan bu problemin üstesinden gelmek için çeşitli biyomalzemeler geliştirilmiştir. Bu biyomalzemelerden biri de sol-jel yöntemiyle oluşturulan biyoaktif cam kaplamalardır. Bu yöntemde başlangıçta sıvı olan sol çözücü buharlaştırma ve inorganik ağ oluşumundan sonra katılaştır. Düşük sentez sıcaklığı, inorganik ve organik bileşenlerden yapılan hibrid malzemelerin oluşumuna izin verir (Catauro vd., 2014).

Sol-jel yöntemiyle hazırlanan biyofilmler, daha yüksek bir reaktif yüzeye sahiptir (Arcos ve Vallet-Regí, 2010). Sol-jel işleminde solün katalizlenmesi için yüksek konsantrasyonlarda güçlü asit (esas olarak nitrik asit (HNO_3) ve hidroklorik asit (HCl)) veya bazlar (amonyum hidroksit (NH_4OH)) kullanılır (Avnir vd., 2006). Sol-jel püskürtme kaplama düşük maliyetli ve üretimi kolay bir yöntem olup kaplama kalınlığı ve mikro yapı kontrolü sağlması nedeniyle avantajlı bir tekniktir. Sol-jel, düşük sıcaklıkta cam yapım yöntemi olup metal alkoksidin hidroliz ve polikondensasyon reaksiyonlarını içerir. Eritme

yöntemleri ile karşılaştırıldığında sol-jel tekniği kullanılarak üretilen malzemeler düşük reaksiyon sıcaklığı, homojen kompozisyon daha fazla biyoaktivite ve biyo-uyumluluk sergiler. Hidroksilapatit nükleasyonunu uyaran yüzeyleri üzerindeki OH grupları osseointegrasyonu teşvik eder (Atabaki ve Rabi'atuladawiyah Jafar, 2010; Catauro vd., 2016). HA çökmesi, geliştirilmiş osseointegrasyona neden olur (Gomez-Vega vd., 2001). Eriyik dökümü, geniş üretim ölçeklerinde yaygın olarak kullanılan, biyoaktif cam seramik hazırlama geleneksel tekniğidir (Aguiar vd., 2009; Hench, 1997, 2006; Hench vd., 1998).

Biyoaktif camların kırılma mukavemeti ve dayanıklılığının düşük olması, zayıf mekanik özellikleri biyoaktif cam seramiğe yönelik araştırmayı gerektirmiştir (Daguano vd., 2019). Bu malzemelerin mükemmel biyoaktif özelliklerine rağmen düşük mekanik mukavemeti ve mekanik özellikleri iyileştirme gerekliliği çeşitli klinik uygulamalarda kullanımlarını sınırlandırmıştır (Mubina vd., 2019). Sol-jel ile üretilmiş Na_2O içeren cam seramikler, büyük ölçüde geliştirilmiş mekanik kabiliyet ve biyolojik emilebilirlik kombinasyonuna sahip olup Na_2O içermeyen malzemelere kıyasla önemli avantajlara sahiptir (Chen vd., 2010). Biyoaktif cam 45S5, malzemenin 700°C 'de 30 dakikadan fazla ısıtılmasıyla kristal faz kombeit ($\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$) içeren bir cam seramiğe dönüşür. Biyoaktif camın kristalizasyonu geliştirilmiş mekanik özelliklere neden olur (Bahniuk vd., 2012).

Biyoaktif cam seramik oluşturmada kullanılan eritme yöntemi yüksek enerji gereksinimi ve çeşitli teknolojik kısıtlamaları nedeniyle araştırmacıları sol-jel yöntemine yönlendirmiştir (Tehrani ve Sobhani, 2017). Sol-jel yöntemiyle üretilen biyoaktif camlar nano-poroziteye sahip olduğundan geleneksel eritme tekniğinden daha avantajlı ve çok yönlü bir işlemdir (Chen vd., 2010; Jmal ve Bouaziz, 2017). Çok kontrollü bir bileşim ile son derece ince tozların elde edilmesi mümkündür (Bellucci vd., 2014). Düşük işlem sıcaklığı, homojenlik üzerinde daha iyi kontrol ve daha geniş yüzey alanı dolayısıyla daha yüksek çözünme oranı ile sonuçlanan daha yüksek gözeneklilik nedeniyle biyoaktiflik sol-jel yönteminin avantajlarıdır (Borges vd., 2020; Deshmukh vd., 2020; Moghanian vd., 2020; Zhong ve Greenspan, 2000). Malzemenin biyoaktifliğini artıran daha yüksek yüzey alanına sahip olan biyo camların hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Bùi, 2017). Sol-jel yöntemiyle oluşturulan biyocamın yüksek yüzey alanı, biyolojik apatit tabakasının oluşumunu hızlandıran malzeme ve fizyolojik çevre arasındaki arayüzey reaksiyonlarını artırır (Ramila vd., 2002). Biyoaktif cam ve cam-seramikler hızlı

reaksiyon kinetiği doku mühendisliği uygulamalarında kemik dokusu rejenerasyonunu sağlayarak iyileşme süreçlerinin hızlandırılmasına yardımcı olur (Kumar ve Murugavel, 2020).

Biyoaktif camlar ve cam seramiklerde dokularla güçlü kimyasal bağlanmayı destekleyen doğal kemiğin yapısına benzeyen HA tabakasının oluşumu onları tıbbi uygulamalar için çekici hale getirir (Satyanarayana vd., 2017). Jones vd. yaptığı çalışmada sol-jel camlarda yüzey dokusunun yüksek çözünme hızlarının ortaya çıkmasında ve toz yüzeyinde yüksek yoğunlukta HA çökeltilerinin çekirdeklenmesinde etkili olduğu belirlenmiştir (Jones vd., 2001). Ortopedik uygulamalarda kullanılan biyoaktif camların veya seramiklerin yüzeyinde canlı doku ile arasında güçlü kimyasal bağ oluşturan HA tabakasının oluşması implantasyonun başarılı olduğu anlamına gelir (Dimitriadis vd., 2020).

Biyoaktif cam sentezlenmesinde kullanılan sol-jel teknolojisi düşük sıcaklıkta hazırlama yöntemi olup bu yöntemle hazırlanan camlar, yüksek spesifik yüzey alanına (SSA) sahip gözenekli bir yapıya sahiptir (Sepulveda vd., 2001). 1980'lerde Li vd. sol-jel yönteminin, biyoaktif cam-seramik üretiminde, dökümden çok avantajlı olduğunu göstermiştir (Li vd., 1991). Sol-jel yönteminin eriyik dökümü üzerindeki en önemli avantajlarından bazıları şunlardır: (1) ürünün maliyeti ve kalitesi üzerinde önemli bir role sahip olan düşük imalat sıcaklığı, (2) bileşim ve homojenlik üzerinde daha iyi kontrol ve 3) vücut sıvısındaki çözünme hızını artıran ve elde edilen malzemenin biyoaktivitesini artırabilen daha yüksek yüzey alanı (Aguiar vd., 2009; Hench, 1997). Daha yüksek yüzey alanı, kök hücrelerin bağlanması ve farklılaşması için uygun bir ortam hazırlamak için gerekli olan HA veya hidroksikarbonat apatit (HCA) oluşum oranını artırır (Izquierdo-Barba vd., 1999). Bu nedenle, sol-jel yöntemini kullanarak biyoaktif camların üretimi üzerine geniş bir çalışma yelpazesi gerçekleştirilmiştir ve çoğu, aynı bileşimin eriyik malzemesine kıyasla daha yüksek çözünme oranları ve biyoaktivite göstermektedir (Chen vd., 2008; Gil-Albarova vd., 2005; Saravanapavan vd., 2003; Saravanapavan vd., 2004; Yan vd., 2006). Jones vd. ayrıca, yüzey dokusunun (partikül büyüklüğü ve yüzey porozitesinin kombinasyonu), jel türetilmiş camlar için daha yüksek çözünme hızlarının ortaya çıkmasında ve çok sayıda yüzey gözeneklerinden dolayı toz yüzeyinde yüksek

yoğunlukta HA çökeltilerinin çekirdeklenmesinde etkili bir rol oynadığı fikrini önermiştir (Jones vd., 2001)

Sol-jel yöntemi, bileşim oluşturmak için bileşim öncüsü içeren çözeltinin jel oluşturmak üzere oda sıcaklığında polimer tipi reaksiyonlara maruz kaldığı kimya bazlı bir sentez yoludur (Hench ve West, 1990). Biyoaktif camların kimyasal bileşiminin geleneksel eritme yöntemine kıyasla önemli ölçüde genişlemesini sağlar (Zhong ve Greenspan, 2000). Sol-jel yöntemlerinin biyoaktif camları hazırlamak için ideal bir teknik oluşturduğu kanıtlanmıştır. Camsı malzemelerin düşük sıcaklıklarda sentezlenmesine izin veren bir teknolojidir (Catauro vd., 2015). Sol-jeller, düşük sıcaklıkta hidroliz ve yoğunlaştırma işlemi kullanılarak hazırlanır. Çözelti kimyası, kimyasalların kolayca karışmasını, iyi homojenizasyonu sağlar. Düşük reaksiyon sıcaklıkları kristalleşmeyi ve faz ayrılmasını önler. Böylece normal olarak hazırlanamayan camların oluşturulmasına izin verir (Martin vd., 2012). Sol-jel işlemi, düşük işlem sıcaklıkları, aynı bileşime sahip eriyik türevi camlardan daha yüksek biyoaktivite nedeniyle biyoaktif camların üretimi için alternatif bir tekniktir (Erol vd., 2010). Sol-jel yöntemiyle hazırlanan biyoaktif camlar yüksek yüzey alanı nedeniyle apatit tabakasının oluşumunu hızlandırarak malzeme ve fizyolojik çevre arasındaki arayüzey reaksiyonlarını artırır (Lefebvre vd., 2007). Yapılan çalışmalar artan SSA ve biyoaktif cam gözenek hacminin HA biriktirme sürecini büyük ölçüde hızlandırabileceğini göstermiştir (Xia ve Chang, 2007). Sol-jel kaynaklı biyoaktif camlar, mükemmel biyouyumluluk, yeniden emilebilirlik ve biyoaktivite nedeniyle kemik doku mühendisliğinde kullanılmıştır (El-Kady vd., 2010). Diğer kaplama yöntemleri ile karşılaştırıldığında sol-jel tekniği düşük işlem sıcaklığı, mikro yapı kontrolü, kaplama bileşiminin ayarlanabilmesi, iyi homojenlik özellikleri sergiler (Fu vd., 2017; Moghanian vd., 2020; Omar vd., 2017). Sol-jel yönteminin bu olumlu özellikleri ve daha geniş bileşim aralığında biyoaktivite sergilemesi onu en çok kullanılan teknik yapar (Mesquita-Guimarães vd., 2018).

Camları sentezlemek için çoğu sol-jel prosedüründe, sollar katalizör varlığında su kullanılarak, TEOS gibi düşük molekül ağırlıklı alkoksilanların hidrolizi ile oluşturulur. Hidroliz reaksiyonunda, alkoksit grupları OH gruplarıyla değiştirilir. Siloksan bağları (Si-O-Si) daha sonra sonraki yoğunlaşma sırasında oluşur. Daha fazla yoğunlaşma, kuruduktan sonra kserojel adı verilen kuru bir jel oluşturan jelleşmeye yol açar (El-Kady

ve Ali, 2012). Sol-jel işleminin solun içine polimerin katılmasıyla polimer zincirlerinin etrafında silika ağının oluşmasına izin verir. TEOS, inorganik ve organik bileşenler arasındaki kovalent bağlanma derecesini kontrol etmek ve silis öncüsü olarak eklenmiştir (Valliant vd., 2013). TEOS ve TEP, silisyum (Si) ve fosfatın bileşime sokulması için kullanılır. Bu alkoksitler oldukça kolay hidrolize olur ve yoğunlaşır (Duée, 2007). Kalsiyumun bileşimlere katılması için alkoksit tuzlarının kullanılması, Si, Ca ve P'ye dayanan üçlü camların hazırlanması için iyi sonuçlar verir. Biyo-camların reaktivitesini arttırmak için sodyum da gereklidir (Arcos ve Vallet-Regí, 2010). Elde edilen sol-jelde bulunan -OH gruplarının konsantrasyonu, kullanılan H₂O/TEOS oranına ve stabilizasyon sıcaklıklarına bağlıdır (Duran vd., 1986). Jelleşme oranı aynı zamanda sıcaklığa ve asit katalizör tipine bağlıdır (Colby vd., 1986). Polivinil alkol (PVA), polietilen glikol (PEG), polikarbokton (PCL) ve PVP gibi biyo-uyumlu polimerler mekanik özellikleri, termal stabilitesi, geçirgenliği, optik saydamlığı ve bozunma oranları nedeniyle biyomedikal uygulamalarda kullanım için çok dikkat çekmiştir (Bramhill vd., 2017). PVP'nin eklenmesi, reolojik özelliklerin daha iyi kontrol edilmesini sağlar. Polimerlerin sol-jel türevli malzemelere dahil edilmesi stabilizasyonu sağlar ve reolojiyi modifiye eder. Sol viskozitesinin düzenlenmesi, sentezlenen malzemeler için önemlidir. PVP'nin dahil edilmesine ek olarak, çözücünün çıkarılmasına yönelik kontrol solün reolojik davranışının daha fazla kontrol edilmesine izin verir (Hatcher vd., 2003). Ayrıca PVP suda kolayca çözünebilir, fizyolojik olarak uyumlu, toksik olmayan, kimyasal olarak inert, sıcaklığa dayanıklı, pH-kararlı, iyonlaşmamış ve renksiz bir polimerdir. Yüksek PVP içeriğine sahip karışımların termal stabilitesini arttırdığı ve doku mühendisliği uygulamaları için uygun bir matriks oluşturduğu açıkça görülmektedir (Subramanian vd., 2014). Aljinatın proteinler, büyüme faktörleri ve kemik oluşturucu hücreler ile potansiyel bir bağlanma etkisi vardır. Ayrıca düşük toksisitesi ve biyouyumluluğu nedeniyle biyoaktif cam kaplamaların geliştirilmesinde kullanılabilir (Cordero-Arias vd., 2015).

Biyoaktif camlar, hasarlı kemiği tamir etme yeteneğini veren osteokondüktif ve osteo üretken özelliklere sahip malzemelerdir. Bu özellikler, kalsiyum, fosfat ve sodyum iyonlarının salınımının oluşmaya başladığı ve apatit tabakasının, çevredeki kemik dokuları ile güçlü bir bağ oluşturacağı fizyolojik ortamdaki ilerleyici çözünmesinden kaynaklanır (Faure vd., 2015). Biyoaktif camlar, var olan kemiğe bağlandıkları, parçalanabildikleri ve hücreler üzerindeki çözünme ürünlerinin etkisi ile yeni kemik büyümesini uyarabildikleri

için en umut verici kemik rejenerasyon malzemelerinden biridir (Martin vd., 2012). Ayrıca bu camlar, yeni kemik büyümesini desteklemek için iskelenin yüzey tabakasına kimyasal bağlar oluşturma yeteneğine sahiptir. 90'larda sol-jel yöntemiyle 45S5 ile benzer özellikler sergileyen ve apatit oluşumu için daha yüksek çözünme hızları gösteren 58S biyoaktif camlar yapılmıştır (Mesquita-Guimarães vd., 2017).

Kuru pres kalıplama karmaşık deneysel bir işleme ihtiyaç duymadığından biyofarmasötik, inorganik malzemeler, polimer, malzeme analizi vb. alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kuru pres kalıplama biyoaktif parçacıklarının yapısını yok etmeyen, toz ve katkı maddesi karıştırılarak tablet formuna oluşturmanın bir yöntemidir. Biyoaktif partiküllerinin tablet haline getirilmesi sadece fiziksel reaksiyon olup malzemenin biyoaktivitesi ve osteojenik özelliği korunur. Bu da dolaylı olarak biyoaktif cam tabletlerin kemik iyileştirici malzemeler olarak mükemmel biyoaktivite ve potansiyel klinik uygulamaya sahip olacağını gösterir (Chen vd., 2018).

Biyomalzemeler, konak doku ile vücuda implante edilen malzeme arasında yüksek arayüzey reaksiyon oranları sağlar. Tıp ve malzeme mühendisliği alanında büyük ilgi görür. Biyomalzeme için iki önemli gereksinim uygun mekanik özellikleri ve düşük imalat maliyetini içerir. Ticari bir ürün olan biyoaktif cam 45S5, 1985'ten bu yana orta kulak protezleri gibi pek çok klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Na_2O - SiO_2 matrisi (sırasıyla ağırlık olarak % 24,5 ve % 45), tipik olarak eriyik dökümü yoluyla üretilir (Hench vd., 2000; Hench, 2006).

Biyoaktif malzeme üretiminin önemli bir yönü, üretilen malzemenin özellikleri ayrıca nihai üretim maliyeti ve kalitesi üzerinde büyük etkisi olan üretim yöntemidir. Vücut dokuları ile reaksiyon oranının artırılması ve sentez sıcaklığının azaltılması, eriyik dökümü sol-jel ile üretilmiş biyomalzemelerle karşılaştırmak için iki ana etkidir. Sol-jel yöntemi kullanılarak birçok biyoaktif cam oluşturulmuştur, ancak 45S5'in cam-seramik içine sapma eğilimi nedeniyle, jel-türevi 45S5 daha az dikkat çekmiştir ve tam olarak karakterize edilmemiştir. Kristalimsi bir yapının malzemenin biyoaktivitesini bozduğuna inanılmasına rağmen, yüksek yüzey alanı verilen kristallerin yavaş çözünme oranının üstesinden gelme potansiyeli ile jel türevli numunelerin yüksek yüzey alanı jel türevli 45S5 toz çalışmasını çekici kılar.

Cacciotti vd. 45S5'in sentezini ve termal davranışını çalışsalar da, bu çalışmanın yüzey mineralizasyonu gibi diğer yönleri, yapıdaki sodyum varlığından dolayı ayrıntılı bir şekilde çalışılmamıştır (Cacciotti vd., 2012). Sodyum varlığının jel türevi malzemeler üzerinde iki önemli etkisi vardır: (1) Sodyum nitrik asidin azotuyla reaksiyona girer. Sol-jel prosedüründe katalizör olarak HNO₃ kullanılır ve sodyum nitrat (NaNO₃) oluşur. Bu nedenle, bu bileşiğin ayrıştırılması ve numunenin yüzeyinden çıkarılması için 600°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıl işlem gereklidir (Freeman, 1956). (2) Sodyum, 600°C civarında sıcaklıklarda kristal fazlı Na₂Ca₂Si₃O₉ oluşumuna neden olur (Chen vd., 2006; Chen vd., 2006). Bu nedenle, jel türevi 45S5'in (sodyum dioksit (Na₂O) ile) stabilize edilmesi, kristalleşme sıcaklığında ve NaNO₃'ün ayrışma sıcaklığında bir örtüşmeye yol açar. Dolayısıyla camın (yarı amorf yapı) cam seramikte (kristal yapı) nihai olarak devitrifikasyonuna neden olur. Önceki çalışmaları, kristalin biyoaktif malzemelerin, termodinamik olarak daha stabil yapıları nedeniyle aynı bileşimin amorf yapılarına kıyasla daha az biyoaktivite gösterdiğini göstermiştir (Chen vd., 2006; Chen vd., 2006; Filho vd., 1996; Freeman, 1956). Bir ağ değiştirici olarak biyoaktif camlarda sodyum varlığının HA'nın çökmesini ve kristalleşmesini arttırmasına rağmen, cam yerine cam-seramik oluşumuna yol açtığı sonucuna varılabilir.

Biyoaktif camların implant olarak birçok avantaja sahip olmasına rağmen, bu malzemelerin zayıf mekanik özellikleri tıbbi uygulamalarda kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Kırılma tokluğu ~0,6 MPa^{1/2}'den düşüktür. Çok sayıda rapor, biyoaktivitenin azalırken kristalliğin mekanik özellikleri arttırdığını göstermektedir (Thompson ve Hench, 1998). Bu nedenle, cam-seramiklerin sentezi çözünme hızları ve camlar kadar yüksek biyoaktiviteleri, biyoaktif seramiklerin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi için ümit verici olabilir (Gil-Albarova vd., 2005; Lefebvre vd., 2007; Lefebvre vd., 2008; Nychka vd., 2009). Kristal yapı sinterleme veya diğer yüksek sıcaklık işlemlerini biyomalzemeler için mümkün kılar (Lefebvre vd., 2007). Biyoaktif camlar, hastalıklı veya hasar görmüş kemiği onarmak ve değiştirmek için insan vücudunda implantlar olarak kullanılmak üzere uygun malzemeler geliştirme girişimleri üzerinde çok çalışılmıştır. Bu tür implant malzemelerinin mekanik dayanıma ihtiyacı vardır, ancak aynı zamanda yeni oluşturulan kemikle aşamalı olarak yer değiştirmelerine izin vermek için zamanla zararsız bir şekilde bozulabilir (Best vd., 2008). Ticari olarak üretilen biyoaktif camlar, geleneksel cam tozu üretim yöntemleri, yani erime ve su verme yoluyla

yapılmıştır. Bu arada, erime-söndürme işlemlerine kıyasla birçok avantaja sahip olan çok yönlü bir işlem olduğu için, sol-jel tekniği (Jones, 2009) kullanılarak biyoaktif camların imalatına artan araştırma çalışmaları devam etmektedir. Sol-jel işlemi kullanılarak, seramik veya cam malzemeler, ultra ince küresel tozlar, ince film kaplamalar, seramik elyaflar, mikro gözenekli inorganik zarlar, monolitik seramikler, camlar ve oldukça gözenekli aerojel malzemeleri dahil olmak üzere çeşitli formlarda üretilebilir (Hench, 1997).

Avantajlarına rağmen, sol-jel tekniği henüz Na_2O içeren biyoaktif camların veya cam seramiklerin üretiminde başarılı bir şekilde uygulanmadı. 49-86S serisi sol-jel türevli biyoaktif camların tüm üyeleri, örneğin, SiO_2 , CaO ve P_2O_5 içerir, fakat hiçbiri Na_2O içermez (Hench, 1997; Ramila vd., 2002). Na_2O 'nun bir sol-jel biyoaktif camına dahil edilmesi, sudaki sodyum alkoksitin yüksek hidrolitik reaktivitesinden dolayı teknik bir zorluğu temsil etmektedir. Bu, bazı araştırmacıların sol-jel imalatında magnezyum oksit (MgO) kullanımına yönelmelerine yol açmıştır (Balamurugan vd., 2007). Bununla birlikte, Na_2O 'nun biyoseramik malzemelerin imalatına dahil edilmesinin tatmin edici bir biyobozunurluk kaybetmeden mekanik mukavemeti geliştirme fırsatları sunması için iyi nedenler vardır. İlk olarak, cam endüstrisinde, silika bazlı camların erime noktasını azaltmak için Na_2O eklenir, oysa CaO ve MgO gibi diğer bileşenler, aksi halde suda çözünür hale getirilebilecek olan bu camları stabilize etmek için ilave edilir. İkincisi, Na_2O 'nun varlığı, biyoseramiklerin mekanik özelliklerini geliştirmek için uygulanan kristalizasyon işlemiyle ilgili olarak avantajlar sunar. Amorf biyoaktif camların iskeleleri çok kırılğan olduğundan, iyi mekanik dayanım elde etmek için biyoaktif cam köpüklerin kristal fazları oluşturmak üzere sinterlenmesi gerekir (Chen vd., 2006). Eriyikten türetilmiş Na_2O içeren cam seramikler (Chen vd., 2006) üzerindeki çalışmalar, Na_2O 'nun, kemik dokusu mühendisliğinde iskele malzemesi olarak kullanılmak üzere yeterli mekanik güce sahip olan biyolojik olarak parçalanabilen biyoseramiklerin üretiminde kritik bir bileşen olabileceğini düşündürmektedir. Bu soruna alternatif bir yaklaşım olarak, organik bir çözücü kullanan SiO_2 - CaO - P_2O_5 - Na_2O camlarının sol-jel üretimi (Carta vd., 2005), etilen glikol içindeki SiO_2 - P_2O_5 - CaO - Na_2O alkoksit öncüleri çözeltisi hazırlanırken denenmiştir. Ümit verici olsa da, bu protokolda kullanılan üretim ortamının kullanımı elverişsiz ve zordur.

Biyoaktif camlar Hench ilk biocamı icat ettiğinden beri çalışılmakta olup iyi biyoaktivite, osteokondüktivite ve biyobozunurluk özellikleri nedeniyle kemik tamir malzemeleri olarak uzun zamandır kullanılmaktadır (Xia ve Chang, 2007). Birçok tranva ve iskelet sistemi yaralanmasında, kaybedilen kemik dokusunun değiştirilmesi ve arttırılması için özel malzemelere ihtiyaç duyulması, klinik topluluk için özel bir zorluk olarak kalmıştır (Ashuri vd., 2012).

Zn elementi kemiğin yeniden şekillenme sürecinde önemli bir rol oynar (Wu vd., 2015). Zn, kemik oluşumunda önemli rol oynayan, kemik hücresi büyümesi, gelişimi ve farklılaşması için esas olan önemli bir eser elementtir. Zn birçok enzim için bir kofaktör olup protein sentezini uyarır ve DNA replikasyonu için gereklidir (El-Kady ve Ali, 2012). Zn eksikliği, iskelet büyümesi geriliği ve kemik dokusu kalsifikasyonundaki değişikliklerle ilişkilidir (Holloway vd., 1996). Zn, anti-enflamatuar etki sergilemesi ve osteoblastta in vitro kemik oluşumunun uyarılmasına neden olan protein sentezini aktive etmesi ile ünlüdür (Yamaguchi, 1998). Öte yandan Zn, ATPaz enzimini aktive eder ve dolaylı olarak osteoblast hücrelerinde farklılaşmayı kontrol eder (Kwun vd., 2010). Zn iyonu eksikliğinin kemik büyümesinde gecikmeye ve kemik dokusu kalsifikasyonunda değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Holloway vd., 1996). Zn ile katkılı sol-jel türevli biyoaktif camlar üzerine çeşitli çalışmalarda, Zn katkılı camların biyoaktiviteyi arttırdığı (kalsiyum fosfat tabakasının oluşumu) ve osteoblast proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırdığı gösterilmiştir (Wu vd., 2015). Geçmişte yapılan bazı araştırmalar, Zn içeren biyoaktif camın, gelişmiş biyoaktivite nedeniyle kemik rejenerasyon potansiyeline sahip olduğunu göstermesine rağmen literatürden elde edilen sonuçlar çelişkilidir (Goh vd., 2013). Yapılan başka çalışmalarda biyoaktif camlarda MgO'un HA tabakasının oluşum hızını arttırırken, camdaki ZnO içeriğinin HA birikme hızını yavaşlattığı belirlenmiştir (Erol vd., 2010). Kompozisyonda MgO, ZnO ve Bakır oksit (CuO) varlığı, Cu<Mg<Zn dizisini takiben HA birikme hızını yavaşlatır (Yamaguchi vd., 1986). Öte yandan, önceki çalışmalar ZnO'nun hem bir ağ düzenleyicisi hem de camdaki bir ara oksit işlevi görebileceğini göstermiştir (El-Kady ve Ali, 2012).

Araştırmalar, biyoaktif camların bozunma ürünlerinin büyüme faktörlerinin üretimini, hücre proliferasyonunu uyarabildiğini ve osteoblastın gen ekspresyonunu aktive

edebileceğini göstermiştir (Lossdörfer vd., 2004; Valerio vd., 2004). Ayrıca biyoaktif cam, sert ve yumuşak dokuya yapışabilen tek cam olma özelliği gösterir (Hench vd., 2004).

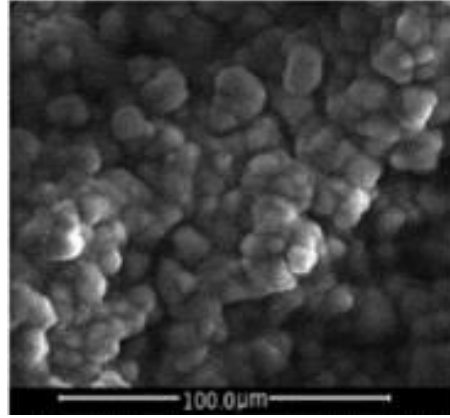
% 45 SiO₂, % 24,5 CaO, % 24,5 Na₂O ve % 6 P₂O₅ (ağırlıkça%) içeren ilk eriyik türevli biyocam 45S5, 1969'da Hench tarafından hazırlandı (Dietrich vd., 2009; Hench, 2006; Hench vd., 1971). 45S5 biyoaktif camların Hench vd. tarafından keşfedilmesiyle HA yüzey tabakası oluşturularak canlı kemiğe bağlanma yeteneği sergiledikleri bulunmuştur (Clupper ve Hench, 2003). Biyoaktif camlarda doku bağlanması vücut sıvılarında biyomalzemelerin çözünmesi ve çökmesi yoluyla olur (Kashyap vd., 2011). Biyoaktif camlar ve seramiklerin yüzeyinde apatit benzeri bir tabaka oluşması nedeniyle canlı kemiğe kimyasal olarak bağlanabileceğini kanıtlamıştır (Nabian vd., 2011). Biyo-mineralizasyon ile cam yüzeylerde apatit tabakasının oluşumu, camların canlı dokuya in vivo bağlanması için önemlidir. Camların bileşimi oluşan apatit mikrokristallerinin çeşitlerini ve biyo-mineralizasyon hızını değiştirir (Chen vd., 2008). HA oluşum mekanizması, yaygın olarak kalsiyum iyonlarının, HA bileşenlerine göre çevre sıvısındaki süper doygunluğu arttırarak biyoaktif maddelerin yüzeyinden çözünmesini içerdiği kabul edilir. Silikatların eşzamanlı çözülmesi, HA oluşumuna yol açan çekirdekleşme bölgeleri için gerekli olan malzemenin yüzeyi üzerinde silanol gruplarının oluşması ile sonuçlanır (Beherei vd., 2009). 45S5 biyoaktif camlar kemik onarımını sağlamak için hasarlı bölgeye yerleştirilir. Kemiğe güçlü bir şekilde bağlanma, onarımını arttırmaya yardımcı olma, çevredeki doku ortamıyla etkileşime girebilme, osteojenik kök hücrelerin bağlanıp farklılaşabilme özellikleri sergiler. Biyoaktif camlar, işitme kaybını hafifletmede diş implantlarında endosseöz sırtın korunmasında periodontal hastalıklarda doğal onarım sürecini hızlandırmada kullanılmıştır (Bahniuk vd., 2012).

3. TEORİK BİLGİ

3.1. Biyomalzemelere Giriş

Biyomalzemeler, implantlarla ve tıbbi cihazlarda kullanılan malzeme sınıfıdır. Bileşimlerine göre, biyomalzemeler seramik, metaller, kompozitler ve polimerler olarak ana sınıflara ayrılabilir. Her malzeme sınıfının kendine özgü özellikleri vardır. Metaller yüksek tokluk ve iyi mekanik özellikler sergiler. Seramik genellikle yüksek aşınma direnci ve sertlik sunar. Bazı polimerler canlı yumuşak dokulara benzer kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikler sergiler. Biyomalzemeler, insan vücuduyla olan spesifik etkileşimlerine göre 'biyoinert', 'biyoaktif' ve 'biyo-emilebilir' malzemeler olarak gruplandırılabilir. Bu sınıflandırma, biyolojik malzemelerin son 50 yıldaki ilerleyici gelişimini de yansıtmaktadır. Geçmişte, sözde 'birinci kuşak biyomalzemeler' mümkün olduğunca biyolojik tolere edilebilir ve biyoinert olarak tasarlanmıştır. Kesin olarak söylemek gerekirse, biyolojik ortamda hiçbir malzeme tamamen etkisiz olmamasına rağmen, bu ilk biyomalzemelerde toksik etki olmaması iyi bir sonuç olarak düşünülmüştür. Asıl amaç, protezlerin reddedilmesini önlemek ve canlı dokularla olan ara yüzde yapışkan olmayan bir fibröz kapsül oluşumunu en aza indirmektir (Vallet-Regí, 2010). Alümina ve zirkonya gibi çeşitli seramikler, Ti ve Cr-Co alaşımları gibi metaller ve ultra - yüksek moleküler ağırlıklı polietilen gibi polimerler bu sınıfa aittir. Bioinert biyomalzemeler geçmişte sıkça kullanılmıştır ve hala kemik onarım uygulamalarında oldukça yaygındır. Bununla birlikte, bu malzemelerin 'inert' doğası nedeniyle, implant ile konakçı doku arasındaki ara yüzde hiçbir kimyasal veya biyolojik bağ oluşmayabilir ve bu nedenle ilgili hareketlerin iltihaplanma reaksiyonlarına neden olması muhtemeldir (Hench, 1991). Göreceli mikro hareketleri sınırlamak için biyoinert malzemeler ile kemik arasındaki yapışmayı iyileştirmek için bazı yöntemler geliştirilmiştir. Örneğin sementasyon, protezin bir inorganik veya polimerik yapıştırma macunu ile sabitlenmesini gerektirir. Alternatif bir çözüm, morfolojik ve biyolojik fiksasyon olarak adlandırılan doğal yapışma olayını teşvik etmektir. Bu gözenekli implantlarda görülür ve kemiğin içe doğru büyümesinden kaynaklanır bu da kemiği biyomedikal cihaza mekanik olarak bağlar. Her iki durumda da yapışma sorunları henüz tam olarak çözülmemiştir. Biyomalzemeler alanında Prof. L. L. Hench, 'biyoaktif camlar' olarak adlandırılan bazı özel camların kemiğe veya yumuşak

dokulara herhangi bir reddetme olmadan bağlanabildiğini keşfetmiştir. Bu bulguyu baştan alarak, yaygın olarak 'biyoaktif malzemeler' olarak adlandırılan ikinci nesil biyomalzemeler geliştirilmiştir. Bu malzemelerin kendine özgü özelliği, konakçı doku ile ara yüz bağları oluşturma kabiliyetidir. Özellikle implantasyon yapıldığında, kemiklerin mineral bileşenine çok benzeyen yoğun HCA tabakasının gelişimi nedeniyle kemik dokusu ile kuvvetli bir bağ oluşumunu ve yapışmayı sağlarlar. Şekil 3.1, hücre içermeyen SBF'ye (iyon konsantrasyonları yaklaşık olarak insan kan plazmasına eşit olan bir akışkan) daldırıldıktan 14 gün sonra biyoaktif cam numune üzerinde yeniden çöktürülmüş HCA katmanının örneğini göstermektedir (Sola vd., 2011).



Şekil 3.1. HCA, SBF'ye daldırmadan sonra sentetik HA (plazma püskürtmeli) kaplama üzerinde çökmüştür ve tipik 'karnabahar benzeri' morfolojiye sahiptir (Sola vd., 2011)

Bu mekanizma genellikle 'biyoaktif fiksasyon' olarak bilinir. 3-6 ay sonra, kemik ve biyoaktif maddeler arasındaki bağ, kemikle karşılaştırılabilir bir mukavemete ulaşır. Dahası bazı spesifik biyomalzemeler yumuşak dokuların kollajen ile etkileşime girebilir ve oluşturulan biyoaktif bağın gücü, kolajenin kendisinin kohezif kuvvetinden daha yüksektir. Şu anda, bazı biyoaktif camlarda gözlenen biyolojik emilim ve genetik uyarılma özelliklerinden esinlenen yeni nesil 'üçüncü kuşak biyomalzemeler' üzerine bir vurgu vardır. Bu malzemeler vücut ortamında aşamalı olarak parçalanacak ve canlı doku ile yer değiştirecek şekilde tasarlanmıştır. Bu amaçla, biyolojik emilim hızı, hasar görmüş dokunun doğal iyileşme hızıyla eşleşmelidir. Dahası, biyomedikal cihaz doğal doku iyileşmesi tamamlanıncaya kadar yeterli bir mekanik destek sağlamalıdır. Biyoseramikler ve biyoaktif camlar, biyomalzemelerin önemli bir alt kümesidir. Örneğin, biyoaktif camlar,

kafatası onarımı, diş implantları ve diğer pek çok klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (Hench, 1993). Biyoaktif seramikler arasında kalsiyum fosfatlar ağırlıklı olarak kemik boşluğu doldurucuları ve periodontal cep tıkaçı olarak kullanılmaktadır. Özellikle, HA en önemli kalsiyum fosfattır. Çünkü kimyasal bileşimi ve yapısı kemiğin mineral bileşenlerine çok benzerdir. Bu benzerlik biyolojik çevrede yüksek stabilite sağlar. Birçok seramik ve cam ideal biyoaktif veya biyo emilebilir malzemeler olmasına rağmen, yük taşıma koşullarında kullanımı, zayıf mekanik özellikleri ve gevrekliği nedeniyle ciddi ölçüde sınırlandırılmıştır. Bu dezavantajın üstesinden gelmek için, biyoseramikler, kemik-implant yapışmasını iyileştirmek için daha sert biyoaktif olmayan altlıklar üzerine kaplamalar olarak başarılı bir şekilde kullanılabilir. Kalça protezinin bütünüyle değiştirilmesinde, sap, genellikle paslanmaz çelik, Cr-Co alaşımları veya Ti ve alaşımları ile üretilen metal göbek gerekli biyoaktiviteyi veren biyoseramik kaplama içerir (Geetha vd., 2009; Katti, 2004). HA kaplamalar, özellikle de plazma püskürtmeli olanlar, son 25 yıldır diş hekimliği ve ortopedi alanında başarılı bir şekilde çalışılmaktadır (Epinette ve Manley, 2013). Aslında plazma püskürtme HA kaplamaları için hem implant sabitleme hem de kemik/implant ara yüzünde kemik dokusunun içe doğru büyümesi açısından iyi sonuçlar bildirilmiştir. Ne yazık ki, HA kaplamaların kullanımı hakkında, özellikle vücut ortamında uzun vadeli stabiliteleriyle ilgili birçok endişe devam etmektedir (Marcacci vd., 2007). Bu nedenle, biyomedikal cihazlara seramik ve biyoaktif cam kaplamalar yaygın olarak uygulansa bile, özelliklerini, performanslarını tanımlamak ve mümkünse bunları üretmenin en iyi yolunu belirlemek için hala çok çaba sarf edilmesi gereklidir.

3.2. Biyomalzemelerin Tarihi: Biyoaktif Camlar

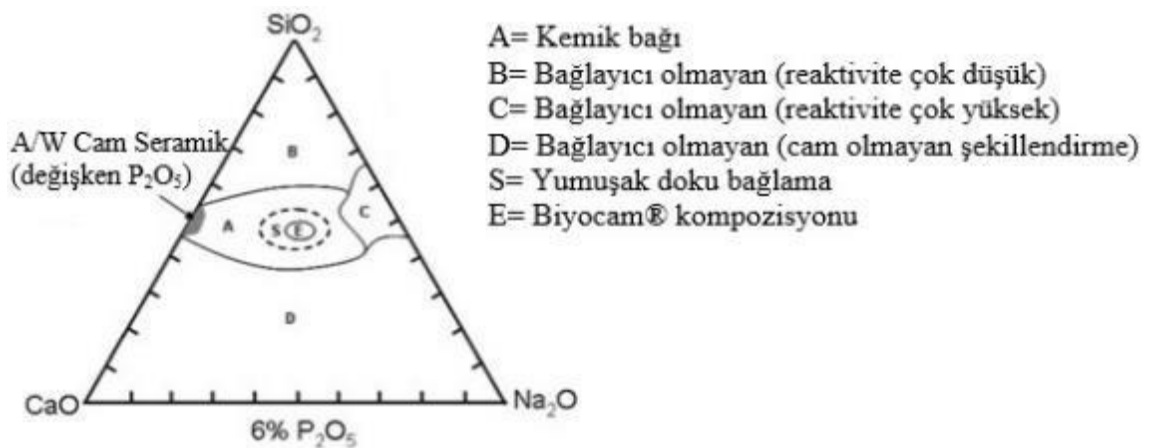
Tarihsel olarak, biyomalzemelerin işlevi hastalıklı veya hasarlı dokuların yerini almıştır (Hench, 2006). Biyomalzemelerin zamanla gelişimi “biyo inert”, “biyoaktif” ve “biyo-emilebilir” malzemeler olarak insan vücudu ile olan özel etkileşimlerine göre gruplandırılmış en az üç nesli tanımlar. İlk nesil insanlıkla başladı ve sadece doğal ortamda bulunan ve organları onarmak için kullanılan malzemelerle sınırlıydı. Mümkün olduğunca etkisiz olacak şekilde seçildi ve böylelikle konakçı dokularla arayüzde yara dokusu oluşumunu en aza indirdi. Bu nedenle bunlara biyo inert malzemeler denir (Hench, 2006, 2013; Migonney, 2014; Sola vd., 2011). İkinci nesil, bilgilerde yapılan iyileştirmeler ve sanayi devrimi ile kazanılan faydalarla başladı. 1969 yılında, camdan yapılmış biyoaktif

bir malzemenin ortaya çıkmasıyla biyomalzemeler alanında bir devrim meydana geldi. Profesör Hench vd. herhangi bir ret olmadan kemiğe ve hatta yumuşak dokulara yapışabilen “biyoaktif camlar” keşfettiler (Sola vd., 2011). Bu keşif, genellikle “biyoaktif malzemeler” olarak adlandırılan alternatif bir biyomalzeme ile işaretlenen ikinci nesli belirledi. Bu malzemelerin ayırt edici özelliği, konakçı doku ile ara-yüz bağı oluşturma yetenekleriydi. Özellikle implante edildiğinde, kemiklerin mineral bileşenine çok benzeyen ve büyük yapışma sağlayan yoğun HCA yüzey tabakasının gelişmesi nedeniyle kemik dokusu ile güçlü bir bağ oluşumunu indüklerler. Biyomalzemelerin üçüncü ve mevcut nesli, biyoaktif ve emilebilir biyomalzeme kavramlarıyla işaretlendi. Bilim adamlarının bilgisi ve biyomalzeme araştırmaları rehberliğinde polimerler çok umut verici malzemeler olarak ortaya çıktı (Migonney, 2014). Polimerler, hücre integrinleri ile belirli etkileşimleri ve böylece doğrudan hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, hücre dışı matris üretimini ve organizasyonunu teşvik eden, emilebilir fonksiyona sahip biyoaktif malzemelerden üretilmektedir. Günümüzde doku yenilenmesi ve onarımı için, gen aktivasyon özellikleri, canlı dokuların yenilenmesini uyaran genleri aktive etmek için tasarlanmış biyoaktif camlar, kompozitler, hibrid malzemeler ve makro gözenekli köpükler kullanılarak geliştirilmiştir (Hench, 2006; Sola vd., 2011). Daha önce de belirtildiği gibi, Hench vd. en bilinen 45S5 biyocam (ağırlıkça%: $45\text{SiO}_2-24,5\text{CaO}-24,5\text{Na}_2\text{O}-6\text{P}_2\text{O}_5$) ile başlayan ilk biyoaktif cam ailesini geliştirdiler. Biyocamın keşfinden bu yana, biyoaktivitelerini ayarlamak ve özelliklerini belirli uygulamalara göre ayarlamak için çok sayıda biyoaktif cam (ve cam-seramik) kompozisyonu geliştirildi ve incelendi. Günümüzde biyoaktif camlar esas olarak $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-Na}_2\text{O-K}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ sistemindeki oksit karışımlarına dayanmaktadır. Bu bileşimler, daha yüksek alkalın oksit içeriğinden, alüminyum oksitin yokluğu ve fosforun varlığı ile düşük silika yüzdesindeki geleneksel soda-kireç camlarından farklıdır (Hench, 2006, 2013; Sola vd., 2011).

Yapay biyomalzemeler polimerler, metalik bileşenler, camlar, kompozitler veya seramikler kullanılarak çeşitli kimyasal yaklaşımlarla sentezlenir. Biyoaktif camlar / cam-seramikler genellikle tıbbi uygulamalar için kullanılır. Birinci aşama biyomalzemeler, yara dokusu oluşumunu en aza indirecek şekilde mümkün olduğunca biyo-inert olacak şekilde seçilmiştir. Daha sonra biyomalzemeler alanı, biyo-inert doku tepkisinden, fizyolojik ortamda kontrollü etki ve reaksiyonun ortaya çıkmasına vurgu yapmaya başlamıştır. Üçüncü nesil biyomalzemeler, vücudun kendini iyileştirmesine yardımcı olan malzemeler

geliştirmek amacıyla emilebilirliği ve biyoaktiviteyi birleştirir (Hench ve Polak, 2002). Ortopedi alanlarında biyomalzeme olarak kullanılan biyoaktif camların / cam seramiklerin biyoaktif özellikleri ve fonksiyonları kemikle reaksiyonları ile ilgilidir. Şekil 3.2, SiO_2 - Na_2O - CaO biyoaktif cam / cam-seramik bileşimleri ve kemik bağlayıcı biyoaktivitesi arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

Silikat bazlı biyoaktif camlar, camdaki düşük SiO_2 içeriği nedeniyle alkali ve alkali toprak iyonlarını çözeltilmeye salabilen oldukça reaktif bir yüzey sergiler. Biyoaktif camlar, SiO_2 içeriğine bağlı olarak çok çeşitli farklı silikat cam bileşiminde biyoaktif davranış gösterir. Ağ değiştirici konsantrasyonunun artırılması, cam yüzeyinin reaktifliğini, ağırlıkça yaklaşık %40 SiO_2 'de cam olmayan bir oluşturma bölgesinin sınırına kadar artırır. Aslında, cam ağı o kadar çok katyonla doldurulur ki, biyoaktif cam bileşimindeki azaltılmış erime sıcaklığı, 1720°C erime sıcaklığına sahip saf silika ile standart laboratuvarında daha düşük sıcaklıkta bir cam üretimine izin verir (Scholze, 1988). Biyoaktif camlar ağırlıkça % 6'lık sabit P_2O_5 içeren üçlü diyagram tasvir edilmiştir. Düşük CaO bileşiminde çok yüksek reaktif bir bölge kemiğe bağlanmaz. Düşük Na_2O bileşiminde düşük reaktivite bölgesi A / W cam - seramiği gösterir. Bölge S, kemikleşme sürecinde önemli bir adım olan gen aktive edici olarak rapor edilmiştir. Şekilde belirtildiği gibi, bu bölge ayrıca karmaşık mineralize kemik dokusu için önemli olan yumuşak dokuya bağlanma olanağına sahiptir.



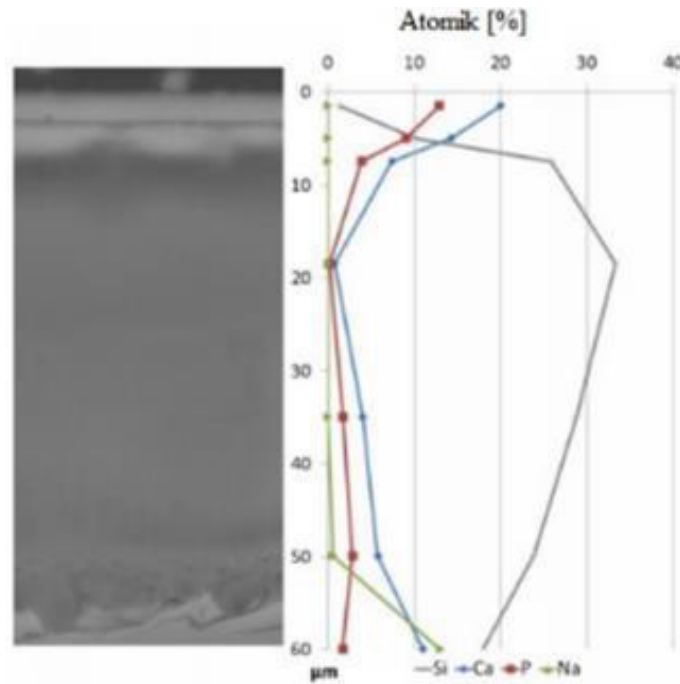
Şekil 3.2. Kemik bağlaması için bileşim diyagramı (Hench, 2006)

3.3. Biyoaktif Camlar ve Cam-Seramikler

Daha önce de belirtildiği gibi, biyo camlar, 1960'ların sonunda Hench tarafından keşfedilen bir cam ailesidir (Hench, 2006). İlk ve en iyi bilinen biyoaktif cam, 45S5 biocamdır (ağırlıkça %: 45SiO_2 - $24,5\text{CaO}$ - $24,5\text{Na}_2\text{O}$ - $6\text{P}_2\text{O}_5$). Biocamın keşfinden bu yana, biyoaktivitelerini ayarlamak ve özelliklerini belirli uygulamalara göre ayarlamak için çok sayıda biyoaktif cam (ve cam-seramik) kompozisyonu geliştirilmiş ve incelenmiştir. Öte yandan Kokubo vd. apatit-wollastonit (AW) sistemindeki en önemli biyoaktif cam seramiklerden birini geliştirmiştir (Kokubo vd., 1986; Nakamura vd., 1985). Yüksek kırılma tokluğu değerleri, young modülü ve eğilme mukavemeti ile karakterize edilen bu yoğun cam-seramik, ana cam üzerinde uygun bir ısıl işleme elde edilebilir. Ortaya çıkan kompozit yapı, içinde oksifluorapatit kristallerinin (ağırlıkça % 38 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{O}; \text{F})_2$) ve wollastonitin (ağırlıkça % 34 $\text{CaO}.\text{SiO}_2$) bir MgO-CaO-SiO_2 camsı matrisinden oluşur. 45S5 biyoaktif cam olarak bilinen Biocam®, kemiklerle bağ oluşturduğu keşfedilen ilk malzemedir. 1960'larda Larry Hench tarafından vücut tarafından reddedilmeden kemik boşluklarını doldurmak için bir malzeme geliştirmeye çalıştıktan sonra geliştirildi. Ağırlık yüzdesi olarak 45S5 Biocam® bileşimi: $45,0\text{SiO}_2$ - $24,5\text{Na}_2\text{O}$ - $24,5\text{CaO}$ - $6,0\text{P}_2\text{O}_5$ 'dir. Sıvılara daldırıldığında cam ağını bozmak için Ca ve Na gibi yüksek konsantrasyonda ağ modifiye edicilere sahip silis tabanlı bir ağa sahiptir. Biyolojik olarak parçalanabilen bir malzeme olarak, cam sulu bir ortamda yavaşça bozunur ve bu çözünme ürünleri, progenitör hücreleri osteoblast hücrelerine farklılaşmaya teşvik edebilir. Prosedüre osteoindüksiyon denir. Biyoaktif cam mevcut kemiğe bağlanır ve kalsiyum fosfat (veya / ve HA, HCA) cam yüzeyinde bulunan ve osteogenez mekanizmasını kolaylaştıran tabakalardır. Tıbbi alanlarda biyoaktif camlardan yararlanmak için, dünya çapında araştırma grupları 45S5 kompozisyonunu kılavuz olarak kullanarak yeni biyoaktif cam kompozisyonları geliştirmiştir. Bu biyoaktif camlar, metal implantların yüzeyine biyoaktif kaplamalar olarak uygulanmıştır. Biyoaktif bileşenler ve sentetik kemik iskeleleri haline getirilmiştir.

Günümüzde biyoaktif camlar esas olarak SiO_2 - CaO - MgO - Na_2O - K_2O - P_2O_5 sistemindeki oksit karışımlarına dayanmaktadır. Bu bileşimler, daha düşük silika yüzdesi, daha yüksek alkalın oksit içeriği, alüminyum oksit olmaması ve sıklıkla fosfor varlığı için geleneksel soda kireçlerinden farklıdır. Biyoaktif camlar canlı dokulara bağlanır, özellikle

tüm biyoaktif camlar kemiğe, hatta bazı özel camlar yumuşak dokulara bağlanır. Biyoaktif camlar ve canlı doku arasındaki güçlü bağ, biyolojik olarak aktif bir HCA tabakasının meydana gelmesinden kaynaklanmaktadır. Bu da cam biyolojik ortama daldırıldığında cam yüzeyinde büyür. Kemik ve biocam arasında bir bağ oluşumu, başlangıçta arayüzler arası reaksiyonları tanımlamak için 12 adımda bir model öneren Hench tarafından incelenmiştir (Hench, 1991). İlk beş aşama, cam ve çevre arasındaki iyonik reaksiyonları içerirken, sonraki aşamalar ayrıca hücreleri ve proteinleri içerir. Erken aşamalar birkaç saat içinde ortaya çıkar. Başlangıçta, camın alkalin ve alkalin toprak iyonları çevresel H^+ iyonları ile değiştirilir. Si-O-Si bağları hidrolize edilir ve böylece yüzeyde yeni Si-OH bağları oluşur. Daha sonra Si-OH bağları yoğunlaşarak bir silika jel oluşumu ile sonuçlanır. Son olarak Ca^{2+} , PO_4^{3-} ve CO_3^{2-} iyonları, HCA'nın ilerleyen oluşumu ve kristalizasyonu ile silis jeli üzerinde adsorbe edilir (Huang vd., 2006). Şekil 3.3, 14 gün boyunca SBF'ye daldırılmış bir yığın biocam numunesinin enine kesitini sunmaktadır. Cam, X-ray enerji dağıtıcı spektroskopisi yoluyla yerel kimyasal analizle kanıtlandığı gibi, tamamen kalın bir silika jel tabakası ve bunun üstünde sürekli bir HCA tabakası ile kaplanır.



Şekil 3.3. SBF'ye 2 haftalık daldırmadan sonra biocam yığın numunesinin kesiti: SEM görüntüsü (solda) ve karşılık gelen EDS mikroanalizi (sağda); silika jel (yüksek Si içeriği) ve HCA (yüksek Ca ve P içeriği) içeren çok katmanlı yapı açığı (Sola vd., 2011)

Son zamanlarda, silikat esaslı biyoaktif camların ek bir avantajı açıklanmıştır. İmplantasyondan sonra aşamalı olarak salınan Si iyonlarının primer osteoblastların büyümesini ve osteojenik farklılaşmasını teşvik ettiği düşünülmektedir. Bu nedenle, bazı yazarlar biyoaktivitesini arttırmak için HA'yı Si ile karıştırmayı önermiştir (Patel vd., 2002; Zhang vd., 2009). Ayrıca biyoaktif camlar tarafından salınan Si ve Ca iyonlarının, osteoprogenitör hücrelerdeki bazı gen ailelerinin yukarı regülasyonunu ve aktivasyonunu teşvik edebildikleri bilinmektedir.

Daha önce belirtildiği gibi, cam bileşiminin arayüzey reaksiyonlarını ve dolayısıyla biyoaktivitelerini etkilediğine dikkat edilmelidir. Aslında, biyoaktif bir fiksasyon elde etme olasılığı, HCA tabakasının oluşumuyla yakından ilişkilidir. Bu da, ancak cam yüzey biyolojik çevreye daldırıldığında Si-OH bağları oluşturabilirse gelişebilir. Örneğin, yüksek dayanıklılıkta camları, sulu ortama daldırıldığında neredeyse hiç yıkanmadığından silika jel tabakası oluşturmaz ve sonuç olarak biyoaktif değildir. Özellikle, ağırlıkça % 60'tan fazla silika içeriği olan camlar, lifli bir doku oluşumuna neden olurken, ağırlıkça % 55 ile 60 arasında silis yüzdesi olan camlar için düşük biyoaktivite gözlenir. Son olarak, ağırlıkça % 55'in altındaki silika içerikleri için, camlar genellikle yüksek biyoaktivite gösterir. Ayrıca, camın kemiğe bağlanma kabiliyeti, cam çözünürlüğünü önemli ölçüde azaltan Al_2O_3 , TiO_2 ve ZrO_2 gibi stabilizatörlerin eklenmesiyle tamamen inhibe edilebilir (El-Kheshen vd., 2008).

Geçmişte, biyoaktif camlar esas olarak standart eritme teknikleri ile üretilmiş olsa da, son zamanlarda sol-jel yöntemleriyle elde edilen camlara büyük önem verilmiştir. Sol-jel camları daha geniş bir kompozisyon aralığında biyoaktiftir (Cho vd., 1998; Vijayalakshmi vd., 2005). Sol-jel camların daha yüksek biyoaktivitesi, çözeltide Si-OH bağlarının yoğunlaşması sonucunda oluşan yapısından kaynaklanmaktadır. Bu işlem, insan vücudunda meydana gelen kendiliğinden olan mekanizmaya benzediğinden, sol-jel camları, biyolojik ortamda HCA çökeltisini arttırmak için uygun bir yapıya sahiptir. Buna ek olarak, sol-jel camlar tam anlamıyla kontrol edilebilen porozite ile üretilebilir. Bu da onları belirli biyomedikal uygulamalar için çok umut verici kılar (Almeida vd., 2011).

3.3.1. Biyoaktif cam üretimi

Biyoaktif cam üretmek için füzyon işlemi ve sol-jel yöntemi olan iki ana prosedür vardır. Geçmişte biyoaktif camlar esas olarak eritme teknikleri ile üretiliyordu. Bu işlem, saf silika camlar dahil olmak üzere geleneksel eritme yoluyla özel bileşimlerle cam imal etmeyi mümkün kılar. Mükemmel özellikleri sayesinde biyocam 45S5 hala kullanılmakta ve araştırılmaktadır. Ticari olarak, son derece yüksek sıcaklıkların kullanıldığı füzyon işlemi ve nihai malzemenin elde edilmesi için müteakip işlemler vasıtasıyla üretilir (Hench vd., 1998). 1990'larda ilgi odağı, sol-jel işleme yoluyla molde % 60 SiO₂, % 36 CaO, % 4 P₂O₅'e karşılık gelen biyoaktif cam 58S (küttelede % 58 SiO₂, % 33 CaO, % 9 P₂O₅) geliştirilmesiydi. 45S5'e benzer veya daha iyi yeni bir biyoaktif cam elde etmek amacıyla hazırlanmıştır (Sepulveda vd., 2002). Sol-jel işlemi daha düşük sıcaklıklarda (600-700°C) gerçekleşir. Burada döküm işlemlerinin bazı dezavantajları ortadan kaldırılır ve daha düşük işletme maliyeti ve kolay üretim sonrası avantajlar elde edilir (Theodorou vd., 2011). Biyoaktif camların sol-jel işlemi, daha geniş bir bileşim aralığının formülasyonuna izin verir ve geleneksel erime ile karşılaştırıldığında biyoaktivitelerini geliştirir (Sepulveda vd., 2002). Daha yüksek biyoaktivite, çözeltide SiOH bağlarının yoğunlaşmasının bir sonucu olan ve biyolojik bir ortamda HCA çökmesini teşvik eden yapılarından kaynaklanmaktadır. Aksi takdirde, sol-jel camlar sıkı bir şekilde kontrol edilen bir gözeneklilik ile üretilir. Burada gözeneklilik, HCA çökmesi için daha fazla yer sağlayacaktır. Bu da onu belirli biyomedikal uygulamalar için çok umut verici kılar (Sepulveda vd., 2002; Theodorou vd., 2011).

3.4. Biyoaktif Cam Reaksiyonları: Kemik Oluşumu

En büyük avantajlardan biri, biyoinert bir malzemeyi biyofonksiyonelleştirme için bir yüzey olarak biyoaktif camla kaplamaktır. Biyoaktif yüzey, implantın yüzeyinde meydana gelen biyomalzeme ve fizyolojik ortam arasındaki etkileşimlerde önemli bir rol oynar. İmplantasyondan sonra, hedeflenen doku ile implant arasındaki ara tabakada aynı anda çok sayıda fizyolojik reaksiyon meydana gelir. Biyoaktif camlar canlı dokulara bağlanır. Ayrıntılı olarak, tüm biyoaktif camlar kemiğe bağlanır ve bazı özel camlar yumuşak dokulara bağlanır. "Biyoaktif fiksasyon" ile ilişkili mekanizma, cam biyolojik ortama daldırıldığında cam yüzeyinde biyolojik olarak aktif bir HCA tabakası oluştuğunda

meydana gelir. 3-6 ay sonra, kemik ile biyoaktif cam arasındaki bağlantı, kemiğinki ile karşılaştırılabilir bir güce ulaşır (Sola vd., 2011). Hench, kemik ve biyoaktif bir cam arasındaki arayüzey reaksiyonlarını tanımlamak için 12 aşamalı bir model önermiştir. İlk beş aşama, cam ile biyolojik çevre arasındaki iyonik reaksiyonları içerirken, sonraki aşamalar hücreleri ve proteinlerin yüzeye afinitesini içerir. Yüzey reaksiyonlarının etkisi, çözünür iyonik türlerin camdan arayüzler arası çözeltiye hızla salınmasıdır. Hidratlanmış silis ve polikristalin HCA iki tabakasından oluşan yüksek yüzeyli bir alan, cam yüzeyinde birkaç saat içinde oluşur (Aşama 1-5). Reaksiyon katmanları, büyüme faktörlerinin adsorpsiyonunu ve desorpsiyonunu artırır (Aşama 6) ve makrofajların implant bölgesini doku onarımı için hazırlamak için gereken süreyi büyük ölçüde azaltır (Aşama 7). Kök hücrelerin bağlanması (Aşama 8) ve hücrelerin senkronize proliferasyonu ve farklılaşması (Aşama 9), en yüksek biyoaktivite düzeylerine sahip biyoaktif camların yüzeyinde hızla gerçekleşir. Biyo-inert malzemenin yüzeyinde benzer hücresel olayların meydana gelmesi için birkaç hafta gereklidir. Progenitör hücrelerin olgun bir osteoblast fenotipine ayrılması biyo-inert malzemelerde meydana gelmez ve iyonik uyarıların olmaması nedeniyle nadirdir. Bunun aksine, osteoprogenitör hücreler biyoaktif maddenin yüzeyini 24-48 saat içinde kolonize eder ve hücre bölünmesini, mitozu ve hücre dışı matris proteinlerinin üretimini uyaran çeşitli büyüme faktörlerinin üretimine başlar (Aşama 10). Matrisin mineralizasyonu kısa bir süre sonra gerçekleşir ve kollajen-HCA matrisinde yer alan olgun osteositler, *in vitro* ve *in vivo* 6-12 gün son üründür (Aşama 11) (Hench, 2013).

3.4.1. HCA katmanının oluşumu

İmplant-doku bağının oluşumundaki ilk önemli olay, önemli bir fark olmaksızın malzemenin yüzeyinde hem *in vitro* hem de *in vivo* gözlemlenen karbonat ikameli hidroksiapatit benzeri (HCA) tabakasının oluşumu olarak ortaya çıkar. Bahsedilen katmanın oluşumunda, malzemedeki çözünme ürünleri belirleyici bir rol oynamaktadır. Aslında, ortamda birikerek fizyolojik pH'ın yerel varyasyonlarına ve çözeltinin kimyasal bileşimindeki varyasyonlara neden olurlar. SBF'de *in vitro* olarak HCA oluşumu için, hem kimyasal bileşimin hem de değişecek çözeltinin pH'ının değişmesine neden olan çözünme ürünlerinin birikmesinden sonra beş aşama vardır:

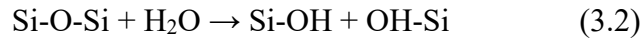
1. Malzemedeki Ca^{2+} ve Na^+ iyonları ile çevre ortamdan gelen H^+ ve H_3O^+ iyonları arasında iyonik değişim. Si-OH malzemenin yüzeyinde bulunur. Alkali iyonlarının

salınmasına bağlı olarak çözelti pH'ında bir artış gözlenir ve camın yüzeyinde silis açısından zengin bir tabaka oluşur. Başlangıç bileşiminde mevcutlarsa $(PO_4)^{3-}$ iyonları da salınır. Kimyasal reaksiyon denklemi aşağıda bildirilmiştir:



Bu reaksiyon, vücut sıvılarına maruz kaldıktan birkaç dakika sonra çok hızlı bir şekilde gerçekleşir. Yüzey tabakası serbest kalmıştır (alkalin katyonu tükenmiş) ve net bir yüzeysel negatif yük ile karakterizedir.

2. Yüksek lokal pH değeri, silika ağının kesilmesine neden olan OH^- grupları tarafından işletilen O-Si-O bağlarının kırılmasını belirler. Çözünür silika, $Si(OH)_4$ formunda salınır ve silanol grupları, doğrudan çözeltiyle temas halinde, malzemenin yüzeyi üzerinde maruz bırakılır. Mekanizmayı tanımlayan denklem aşağıda belirtilmiştir:



Açığa çıkan çözünür silislerin, cam yüzeyinin bitişik bölgesinde yeni kemik oluşumundan sorumlu hücrelerin çoğalması üzerinde büyük bir etkisi olduğu gösterilmiştir.

3. Silanol, Na ve Ca^{2+} iyonlarında zayıf olan amorf silika bakımından zengin bir katmanın yoğunlaşmasını ve yeniden polimerizasyonunu gruplar. Bu katmanın kalınlığı 1 ile 2 μm arasında değişir. Ayrıca liç sırasında köprüleme oksijen oranında bir artış gözlemlemek mümkündür. Yüzey, ortalama gözenek çapı 30 ila 50 Å ve etkili bir yüzey alanı 100 m^2/g olan mikro gözeneklilik ile karakterizedir (Greenspan, 1999).
4. Ca iyonlarının ve fosfat gruplarının yüzeyine, hem malzemedan hem de çözüldüden silika açısından zengin tabaka yoluyla göç. Silika bakımından zengin tabaka üzerinde, amorf kalsiyum fosfattan (ACP) oluşan ikinci bir tabaka oluşur. Bu ikinci tabakanın oluşumu, yüzeye duyarlı sığ açılı XRD analizi ile doğrulanmıştır (Jones, 2013).
5. OH ve karbonatlı gruplar çözüldüden dahil edilirken, camın çözünme işlemi yüzeyden başlayarak devam eder. Amorf tabaka kristalleşerek HCA olur. Ortaya çıkan yüzey, hem bileşimsel hem de yapısal bir bakış açısından fizyolojik kemik dokusunun nano kristalli mineral fazına çok benzer ve bu, implantın canlı dokuya doğrudan sabitlenmesini sağlar.

HCA tabakasının kalınlığı, zamanın bir fonksiyonu olarak 100 µm'ye kadar artar. Arayüzün uyumluluğu, bağın mekanik bakımında esastır. Daha önce belirtildiği gibi, bileşim HCA'nın oluşum hızını etkilediğinden, silika içeriği ağırlıkça % 60'a kadar arttıkça biyoaktivite potansiyelinde tutarlı bir azalma ile farklı silika bazlı sistemler içinde farklı bir davranış gözlenebilir (Greenspan, 1999). Düşük silika içeriğine sahip bileşimler, hızla çözünebilen daha az birbirine bağlı bir ağ gösterir. Böylece bildirilen reaksiyonlar daha kısa sürede gerçekleşir. Ayrıca ağ bağlantısı, isteğe bağlı olarak cam formülasyonuna dahil edilebilen ve Ca ve Na atomlarının yerine geçebilen Al^{3+} , Ti^{4+} veya Ta^{5+} gibi değiştirici katyonların varlığına büyük ölçüde bağlıdır. Bu durumda, çözünme hızının azalmasının bir sonucu olarak biyoaktivitede bir azalma gözlenir (Fiume vd., 2018).

3.4.2. İyonik çözünme ürünleri ve osteogenez

HCA tabakasının oluşumunu takip eden reaksiyon aşamaları henüz tam olarak anlaşılammıştır. Bununla birlikte, böyle bir katmanın mevcudiyetinin, protein adsorpsiyonunu arttırdığı, ankraj, proliferasyon ve müteakip hücre farklılaşmasına yol açtığı söylenebilir. Uygun fenotipe ayrıldıktan sonra, hücreler daha sonra mineralize olacak hücre dışı bir matris sentezleyebilir (Jones, 2013). Protein ve büyüme faktörleri (aşama 6) gibi organik türlerin emilimi, HCA tabakasının özelliklerinden oldukça sorumludur, çünkü ilk dört aşama ile eş zamanlı olarak gerçekleşir (Neel vd., 2009). Reaksiyon katmanı, doku rejenerasyonunun başlamasına izin vermek için makrofajların implant bölgesinin hazırlanması için gereken süreyi etkiler (aşama 7) (Hench, 2013). Malzemenin implantasyonundan itibaren, yüzeyin kök hücreler tarafından kolonizasyonu için 12 saat gereklidir (aşama 8) (Greenspan, 1999). Aşama 9 sırasında, kök hücreler çoğalır ve olgun bir osteoblastik fenotipe ayrılır. Osteoblastlar, 6-12 gün sonra matrisin mineralizasyonuna (aşama 11) yol açan hücresel bağlanmayı, hücre dışı matris proteinlerinin mitozunu ve sentezini (aşama 10) tetikleyen çeşitli büyüme faktörleri üretmeye başlarlar (Hench, 2013). Çizelge 3.1, yukarıda tarif edilen reaksiyon mekanizmalarına kısa bir genel bakış sunar ve fizyolojik ortamda iyon biyoaktif cam yüzeyinde meydana gelen reaksiyon olaylarını göstermektedir. İlk 5 adım, biyoaktif implantın yüzeyi üzerindeki fiziko-kimyasal reaksiyonu tarif ederken, 6-11. adımlar, yüzeyin biyolojik kısımlar ve kemik dokusu oluşumu ile daha fazla etkileşimini gösterir.

Çizelge 3.1. Zaman artışıyla ilgili 45S5 Biocam® reaksiyon aşamaları (Fiume vd., 2018).

Evre	Yüzey reaksiyon aşamaları
11	Matrisin kristalizasyonu
10	Hücresel bağlanma
9	Kök hücrelerinin farklılaşması
8	Kök hücrelerinin bağlanması
7	Makrofajların etkisi
6	Biyolojik parçaların adsorpsiyonu
5	HCA'ya kalsiyum fosfatın çekirdeklenmesi ve kristalizasyonu
4	ACP'in çöktürülmesi
3-2	Yüzey silisinin çözünmesi ve yeniden polimerizasyonu
1	İyon değişimi
0	İlk cam yüzeyi

3.4.3. İyonik çözünme ürünlerinin osteoblast hücre döngüsü üzerindeki etkisi ve genetik kontrolü

İyonik ürünlerin salım oranları üzerinde sıkı bir kontrol, malzemenin biyoaktif bir davranış sergilemesi için esastır. Çok fazla iyon salınırsa, bazı toksik etkiler gözlemlenebilir. Olgun insan osteoblastları üzerinde yapılan çalışmalar, gen ekspresyonunun yüksek doza bağımlı olduğunu ve maksimum gen ekspresyonunun 20 µg/mL çözünür silikada ve 60-90 µg/mL kalsiyum iyonlarında elde edildiğini göstermiştir (Hench, 2009). 45S5 Biocam®'ın çözünmesinden kaynaklanan fetal insan osteoblastlarının ürüne maruz bırakılmasından sonra benzer sonuçlar elde edilmiştir. Mitoz süreci, yeni kemik dokusunun oluşumunda önemlidir. Sonuç olarak, osteo-progenitör hücrelerin hücre döngüsünün aktif fazlarına girmesine izin vermek için doğru kimyasal uyarıların sağlanması gereklidir. Çözünme ürünlerinin, hücre döngüsünün G0 fazından G1 fazına geçişinden sorumlu bazı faktörlerin transkripsiyonunu yukarı regüle ettiği bulunmuştur (Jones, 2013). Şekil 3.4'te gösterilen şemaya göre G0 fazı, bir hücre dinlenme durumunu temsil eder. Bir büyüme döneminden sonra (G1 fazı), hücreler sadece yerel kimyasal koşullar uygun özellikler gösteriyorsa S fazına (sentez) girer. Faz S ile DNA'nın sentezi, bazı durumlarda, çekirdek içindeki tüm kromozomların çoğalmasına yol açar. Büyümenin ikinci aşamasına G2 denir. Hücre G2 fazına girerse, mitoz süreci gerçekleşir. Aşama G2'den önce, özel geri besleme mekanizmaları kullanarak çeşitli büyüme faktörlerinin sentezini ve aktivasyonunu izlemek gerekir. Hücresel apoptoz işlemi, çevredeki ortamın koşulları G1 ve G2 fazlarının tamamlanması için uygun değilse gerçekleşir (Hench, 2006).

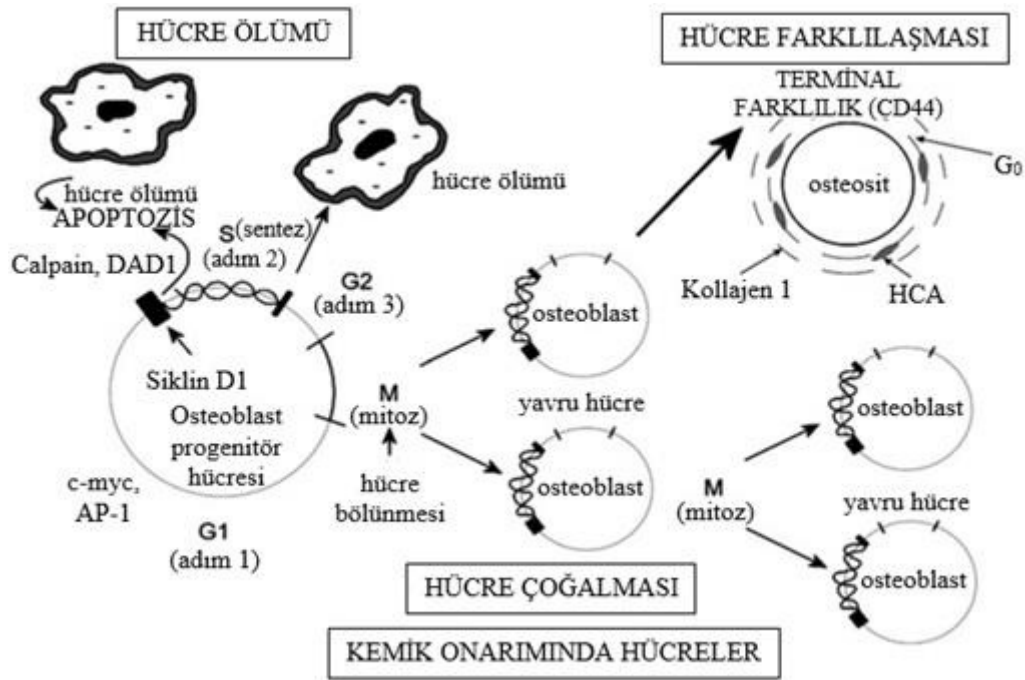
Çözünme ürünlerinin varlığı apoptoza giren hücre sayısını arttırsa bile, hayatta kalan hücreler proteinlerin ve büyüme faktörlerinin artmış mitozu ve sentezini gösterir (Jones, 2013). Kollajen sentezi hem in vivo hem de in vitro testler sırasında benzer adımları takip eder ve ayrıca kemik oluşum kinetiği hem in vivo hem de in vitro ile karşılaştırılabilir.

Yaşlı bireylerin kemiklerinde, yeni kemiği bölebilen ve oluşturabilen çok az hücre vardır. Mevcut olan az sayıda (1/100,000) osteoprogenitör hücre, hücre döngüsünün aktif segmentlerine girmelerini, hücre bölünmesine (mitoz) ve sonunda yeni kemiğin (osteogenez) rejenerasyonuna yol açan yerel ortamlarından doğru kimyasal uyarımları almalıdır. Şekil 3.4, tek bir osteoblast progenitör (yetişkin kök) hücre için bir hücre döngüsü ve bunun hücrelere bölünmesi ve olgun kemik hücrelerine farklılaşmasını içeren hücresel olayların dizisini özetlemektedir. Dinlenme hücreleri G0 fazındadır ve hücre döngüsünün aktif fazlarına girmeleri için uyarılmadığı sürece kemik rejenerasyonuna yol açmazlar. Bir hücre mitozu tamamladıktan sonra yeni bir hücre döngüsü başlar. Rejeneratif kemik onarımının anahtarı: (1) hücre döngüsünün aktif fazlarına girebilen hücre popülasyonunu kontrol etmek, (2) genlerin doğru replikasyonu (hücre proliferasyonu) ile hücrelerin mitozunu tamamlamak ve (3) olgun bir osteositi oluşturan hücre dışı proteinlerin tam bir tamamlayıcısını sentezleyebilen bir fenotipe hücresel farklılaşmanın sağlanmasıdır (Hench vd., 2010). Xynos vd. tarafından bildirilen çalışmalar, bu tür osteoblast hücre döngüsü kontrolünün, 45S5 biyoaktif camdan iyonik çözünme ürünlerinin kontrollü salımı ile elde edildiğini göstermiştir. Yapılan yayınlarda bildirildiği üzere (Xynos vd., 2000, 2001), osteoblast hücre döngüsü üzerindeki kontrol, osteogenez işleminden sorumlu genlerin aktivasyonunu kontrol etmek için camın çözünmesinden türetilen iyonların ve özellikle hücre-çözümlü arayüzündeki Si ve Ca konsantrasyonunun izlenmesi yoluyla elde edilir. Osteoprogenitör hücreler biyoaktif camın yüzeyini kolonize eder. Bununla birlikte, hücre çözeltisi arayüzündeki çözünür Si ve Ca iyonlarının konsantrasyonu, hücre döngüsünü kontrol etmek ve osteogenezden sorumlu yedi gen ailesinden oluşan bir diziyi aktive etmek için kritik öneme sahiptir. Camın kontrollü çözünme oranları, biyolojik olarak aktif iyonların, arayüzey çözeltisi yoluyla hücrelere kritik konsantrasyonunu sağlar.

Biyoaktivite açısından, biyoaktif camlar kemikle bağlanabilir ve yeni kemik büyümesini uyarabilir. Biyoaktif camlarla ilişkili iki biyoaktivite mekanizması vardır.

Bunlardan biri, protein emilimini, kemik progenitör hücrelerinin bağlanması, hücre farklılaşmasını ve kemik hücre dışı matrisinin birikmesini içeren HCA katmanına kemik bağlanmasıdır. Diğer bir mekanizma, yeni kemik büyümesini uyaran camların çözünme ürünlerinin osteoprogenitör hücreler üzerindeki etkisiyle ilişkili osteogenezdir. Şekil 3.4, programlanmış hücre ölümü (apoptoz), mitoz ve hücre çoğalması veya bir osteosite doğru terminal hücre farklılaşmasına yol açan osteoblast progenitör hücre döngüsünün şemasıdır. Serbest bırakılan her iyonun yaşam sistemi üzerinde kendi etkileri vardır:

- Ca^{2+} iyonları, IGF-II üretiminin yanı sıra osteoblastlar tarafından glutamat üretimini artırır.
- Silikat iyonları insan osteoblast hücreleri (HOC) tarafından tip I kollajen üretimini uyarır (Hoppe vd., 2011).



Şekil 3.4. Hücre döngüsü (Hench, 2006)

3.4.4. Kemik metabolizmasında inorganik iyonların rolü

İnsan kemiği dinamik, yüksek derecede vaskülarize bir dokudur ve yaşam boyunca kemik biçimlendirme (osteoblastlar) ve kemik emici hücrelerin (osteoklastlar) düzenlenmiş aktivitesi ile yeniden şekillenebilir. Kemik oluşumu ve kemiğin yeniden şekillenmesi süreçleri, büyüme faktörleri, hormonlar ve stres eylemleri dahil olmak üzere çeşitli

sistematik ve lokal düzenleyici ajanlar tarafından düzenlenir. Ayrıca Kalsiyum (Ca), P, Si, Sr, Zn gibi tekli inorganik iyonların yanı sıra B, Vanadyum (V), Kobalt (Co) ve Mg'nin kemik metabolizmasında rol oynadığı ve kemik dokusunun anjiyogenezinde, büyümesinde ve mineralizasyonunda fizyolojik bir rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle metal iyonları enzim ko-faktörleri olarak hareket ederler ve bu nedenle sinyal yollarını etkiler ve doku oluşumu sırasında meydana gelen metabolik etkileri uyarırlar. Bu etkiler, metal iyonlarını sert ve yumuşak doku mühendisliği alanlarında terapötik ajanlar olarak kullanım için çekici hale getirir (Hoppe vd., 2011).

Ca ve P, insan kemiğinin inorganik fazı olan biyolojik apatitin ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ana bileşenleri olduğundan, bu iyonlar açıkça kemik oluşumunda ve emiliminde önemli bir rol oynarlar. Bununla birlikte, bu iyonların spesifik hücre dışı matris konsantrasyonunu ve bunların kemik hücreleriyle etkileşim mekanizmalarını ve kemik oluşumu üzerindeki uyarıcı etkilerini bilmek önemlidir. Bu bilgi, ilgili fizyolojik ortamda özelleştirilmiş iyon salım kinetiğine ve kontrollü biyolojik tepkiye sahip gelişmiş yapı iskeletlerinin üretilmesine izin verecektir. Örneğin, Ca'nın osteoblastik hücreleri *in vitro* olarak etkilediği bilinmektedir. Maeno vd. düşük (2-4 mmol) ve orta (6-8 mmol) Ca konsantrasyonlarının sırasıyla osteoblast proliferasyonu, farklılaşması ve hücre dışı matriks (ECM) mineralizasyonu için uygun olduğunu, oysa daha yüksek Ca konsantrasyonlarının (> 10 mmol) sitotoksik olduğunu bulmuşlardır (Maeno vd., 2005). Dahası, hücre dışı Ca, osteoblastik hücrelerde Ca-algılama reseptörlerini etkileyerek hücre içi mekanizmaları doğrudan aktive ederek kemiğin yeniden şekillenmesinde önemli bir rol oynar. Örneğin Ca, insülin benzeri büyüme faktörleri IGF-I veya IGFII'nin ekspresyonunu artırır, bu da insandaki osteoblast proliferasyonunu düzenler. Bu bulgular (Marie, 2010). Valerio vd. tarafından da gözden geçirilerek benzer sonuçlar gözlenmiştir (Valerio vd., 2009), hücre dışı Ca'nın osteoblast hücrelerinin glutamat salınımını arttırdığını bulmuştur. Glutamat sinyal yollarının kemik mekanosensitivitesi için önemli bir rol oynadığı bilindiğinden, ekstraselüler Ca konsantrasyonu kemik metabolizmasında önemli bir düzenleyici ajan olarak düşünülmelidir. İnorganik fosfatın (P), hücre kültürü ortamına eklendiğinde (10 mmol) osteoblastik hücrelerde kemik oluşumu için anahtar bir düzenleyici olan matriks Gla proteininin (MGP) ekspresyonunu uyardığı son zamanlarda gösterilmiştir (Julien vd., 2009).

Ca ve P'nin yanı sıra, kemik apatit daha küçük konsantrasyonlarda ortaya çıkan birçok farklı eser element ile ikame edilir (Saltman ve Strause, 1993). Bu nedenle, iskeletin in vivo çözünmesi sırasında spesifik iyonların salımının kontrol edilmesiyle elde edilebilen, implant materyallerinin ve yapı iskeletlerinin kemik oluşturma kabiliyetini arttırmada birkaç iyonun umut verici ajanlar olduğu düşünülmektedir. Bu iyonlar arasında Si, Sr, Zn, Cu, Mg ve B bulunur.

Si, kemik dokusunun oluşumu ve kalsifikasyonu ile ilişkili metabolik süreçler için gerekli bir element olduğu bilinmektedir. Kemik matriks kalsifikasyonunun erken aşamalarında yüksek Si içeriği tespit edilmiştir (Carlisle, 1970). Burada sulu Si'nin insan kemiğinin inorganik fazı olan HA'nin çökmesini indükleyebildiği gösterilmiştir (Damen ve Ten Cate, 1992). Ek olarak, diyetle Si alımının erkeklerde ve menopoz öncesi kadınlarda kemik mineral yoğunluğunu (BMD) arttırdığı gösterilmiştir (Jugdaohsingh vd., 2004). Ca eksikliği olan sıçanlarla yapılan başka bir çalışma, Si desteğinin kemik erimesini azaltarak BMD üzerinde olumlu etkilere neden olduğunu göstermiştir (Kim vd., 2009). Si'nin kemik kollajen dönüşümü ve osteopontin gibi siyalik asit içeren ECM proteinlerini etkileyen kemik büyüme süreçlerinde biyokimyasal bir işlevi olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca, 10 mmol fizyolojik konsantrasyondaki ortosilikat asidin (Si(OH)_4) HOC'da kollajen I oluşumunu uyardığı ve osteoblastik farklılaşmayı uyardığı gösterilmiştir (Reffitt vd., 2003).

Zn'nin ayrıca kemik metabolizmasında önemli bir rol oynadığı ve antiinflamatuvar etkileri olduğu bilinmektedir. Ayrıca Zn, osteoblast hücrelerinde protein sentezini aktive ederek ve kemikte ATPaz aktivitesini artırarak in vitro kemik oluşumunu uyarır. Ayrıca Zn, fare iliği kültürlerinde osteoklast hücrelerinin oluşumunu inhibe ederek kemik erimesi üzerinde inhibe edici etki gösterir (Yamaguchi, 1998). Zn'nin kemik hücreleri üzerindeki düzenleyici etkileri, Zn'nin gen ekspresyonundaki önemini ortaya koymuştur (Cousins, 1998). Daha yakın zamanlarda Zn, kolajen I, ALP, osteopontin ve osteokalsin gibi osteoblastik farklılaşma genlerinin transkripsiyonunda düzenleme ajanı olarak tanımlanmıştır. Zn'nin, Runx2 hedefli osteoblast farklılaşma gen transkripsiyonunu artırarak kemik oluşumunu doğrudan uyarabilen bir Runx2 uyarıcı ajan olarak kabul edilebileceği varsayılmıştır (Kwun vd., 2010).

Cu'nun anjiyogenezde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Finney vd., 2009; Gérard vd., 2010; Hu, 1998). Örneğin, anjiyogenez geçirmeye indüklendiklerinde insan endotel hücrelerinde, anjiyojenik ajan olarak iyonun önemini ortaya çıkaran dikkate değer hücrel Cu dağılımları bulunmuştur (Finney vd., 2009). Yakın zamanda yapılan başka bir çalışma, anjiyogenez büyüme faktörü FGF-2 ile ilişkili Cu'nun, in vitro anjiyogenez üzerinde sinerjetik uyarıcı etkileri teşvik ettiğini ortaya koymuştur (Gérard vd., 2010). Dahası, Cu'nun insan endotelyal hücrelerinin proliferasyonunu uyardığı (Hu, 1998) ve MSC'lerin osteojenik soyuna doğru farklılaşmasında bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. 10^{-6} mol l⁻¹ konsantrasyonundaki Cu²⁺'in osteoklast aktivitesini inhibe ettiği de gösterilmiştir (Zhang vd., 2003). Bununla birlikte, Cu'nun kemik metabolizması üzerindeki olası olumlu etkisi hala net olarak gösterilmemiştir. Cashman vd. örneğin 4 haftalık bir süre boyunca Cu takviyelerinin kemik oluşumu veya kemik erimesinin biyokimyasal belirteçleri üzerinde herhangi bir etki göstermediğini bulmuşlardır (Cashman vd., 2001). Benzer şekilde, Lai ve Yamaguchi Cu ile takviyenin, in vivo ve in vitro olarak kemik oluşumu üzerinde hiçbir anabolik etki göstermeyen sıçanların kemik dokusunda önemli bir azalmaya neden olduğunu ve ayrıca Cu'nun Zn'nin anabolik etkilerini azalttığını göstermiştir (Lai ve Yamaguchi, 2005). Diğer araştırmacılar, diyetdeki Cu tükenmesinin BMD'nda bir azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır, ancak kemik oluşumu ve kemik erimesi için hiçbir biyolojik belirteç Cu'dan açıkça etkilenmemiştir (Smith vd., 2002).

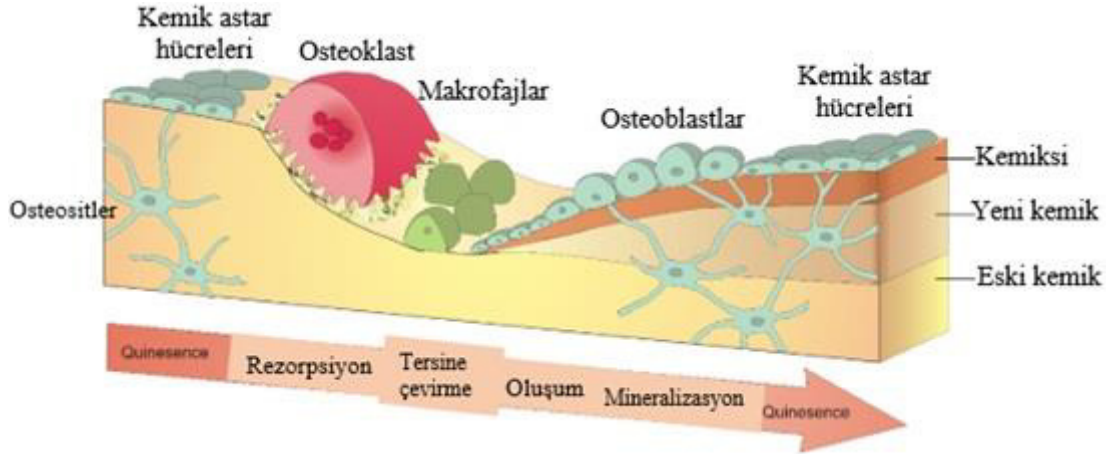
Mg, kemik metabolizması için gereklidir ve yeni kemik oluşumu üzerinde uyarıcı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Mg'nin hücre adezyonu ve stabilitesinden sorumlu olan osteoblast hücrelerinin integrinleri ile etkileşime girdiği öne sürülmektedir (Zreiqat vd., 2002). Rude vd., Mg tükenmesinin bozulmuş kemik büyümesi, artmış kemik rezorpsiyonu ve trabeküler kemikte kayıp ile sonuçlandığını gözlemleyerek, Mg'nin kemik metabolizmasında oynadığı önemli rolün altını çizdi (Rude vd., 2003; Rude vd., 2005).

B, kemik dokusu mühendisliği için potansiyel uyarıcı ajan olarak kabul edilebilecek başka bir elementtir (Nielsen, 2008). B'nin fibroblast hücrelerinde RNA sentezini etkilediği gösterilmiştir (Dzondo-Gadet vd., 2002). Dahası, diyetle alınan bor, tavşanlarla yapılan in vivo çalışmalarda gözlenen kemik oluşumunu uyarabilir (Uysal vd., 2009). Borun, diyetle alınan boron alımından sonra gözlemlendiği gibi, sıçanlarda çarpma

kuvvetine karşı vertebral direnci artırdığı da gösterilmiştir (Chapin vd., 1997). Gorustovich vd., B eksikliği olan beslenmenin sıçanlarda alveolar kemik modellemesini ve yeniden şekillenmeyi etkilediğini bulmuşlardır. Histolojik bulgular, B eksikliğinin azalmış osteojenik aktiviteye ve inaktif yüzeylere neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu, B eksikliğinin, kemik oluşumunun inhibisyonuna bağlı olarak alveolar kemik modelleme ve yeniden şekillenmenin dinamik sürecini değiştirdiğini göstermektedir (Gorustovich vd., 2008). Özet olarak, bahsedilen metalik iyonların tümü, osteogenezi ve bazı durumlarda iskele malzemelerinin anjiyogenezini geliştirmek için emilebilir yapı iskeleleri tarafından salınan terapötik maddeler olarak kullanılmak için yüksek potansiyele sahiptir.

3.4.5. Kemik oluşumu, emilim ve yeniden modelleme

Kemik yapısını ve kütlesini değiştirerek çoklu gereksinimlere adapte olabilen dinamik bir dokudur. Kemik matriks bileşenleri, çok potansiyelli MSC'lerden farklılaşma kaynaklı hücreler olan osteoblastlar tarafından üretilir. Osteoblastlar çeşitli uyarılar altında, kemik morfogenetik proteinleri (BMP) 47 gibi bir dizi büyüme faktörü altında üretilmektedir. Kemik oluşumu üç aşamaya bölünür. Osteoid matrisin üretimi ve olgunlaşması ile başlar, ardından mineralizasyonu başlar. İlk olarak, osteoblastlar kollajen biriktirerek osteoid üretir. Bunu kollajen birikimini dengelemek için mineralizasyon oranında bir artış izler. Son olarak, mineralizasyon tamamen mineralize osteoidi almaya devam ederken kollajen birikimi azalır. Kemik rezorpsiyonuna, mononükleer soyun hematopoietik hücrelerinden türetilen hücreler olan osteoklastlar neden olur. Kemik rezorpsiyonunda, esas olarak kemik matrisinin asitleştirilmesi ve proteolizine yeniden başlatılan osteoklast aktivitesi tarafından belirlenen iki işlem yer alır. İlk olarak, apatit kristallerinin çözünürlüğü, kollajen ile olan bağlantılarının sindirimi yoluyla düşük pH ile artırılır. Daha sonra mineral uzaklaştırılması, matrisin organik bileşenleri sindirilir. Yeniden modelleme süreci, eski kemiğin mekanik yüklere ve zorlanmaya uyum sağlamak için sürekli olarak yeni kemikle değiştirildiği osteoklastlar ve osteoblastların yakın işbirliği ile gerçekleşir. Şekil 3.5 üç aşama yeniden modelleme döngüsünü tanımlar. Kemik yüzeyinde çok çekirdekli osteoklast oluşumu ile başlar. Rezorpsiyon tamamlandığında, yüzey yeni osteoblastların yeni kemik oluşumuna başlaması ve eski kemiğin tamamen yerini alması için hazırlanır. Son olarak, düzleştirilmiş astar hücrelerinin yeni bir döngü başlayana kadar yüzeyi kapladığı uzun bir dinlenme süresi başlar (Philippart, 2016).



Şekil 3.5. Kemik yeniden modelleme süreci (Philippart, 2016)

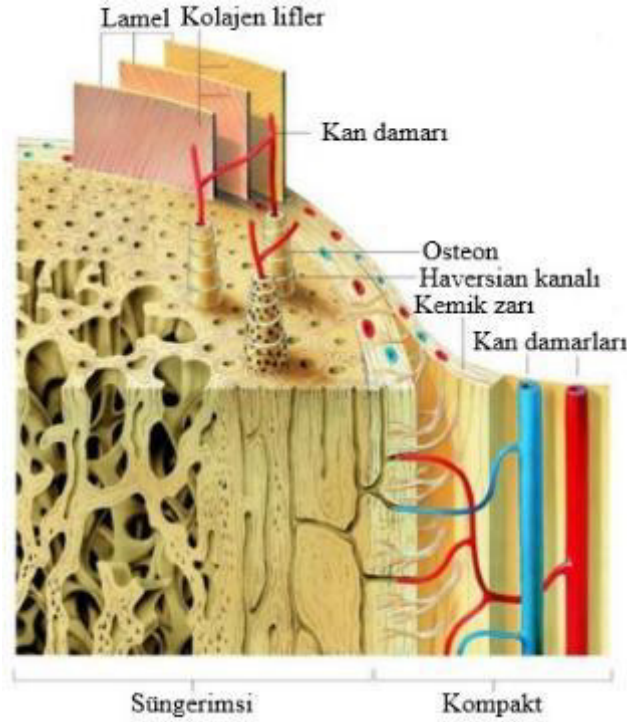
3.4.5.1. Kemiğin makro ve mikroyapısı

Kemik, iskelet sisteminin bir parçasını oluşturan bir tür sert ve yoğun bağ dokusudur. Kemik mimarisi, hiyerarşik yapısal organizasyonun çeşitli seviyeleri açısından tanımlanabilir. Bu seviyeler şunlardır:

(1) makroskopik ölçek: kortikal (kompakt olarak da bilinir) kemik ve süngerimsi (trabeküler veya süngerimsi olarak da bilinir) kemik;

(2) mikrometre (μm) ölçeği: bir fibril dizisi, karşılık gelen dizi paternleri ve osteonları (10 ile 500 μm arası); ve

(3) nanometre (nm) ölçeği: mineralize kollajen fibrilleri ve gömülü HA kristalleri (1,5- 4,5 nm). Katmanlı kemik yapısal olarak konserve süngerimsi (spongiosa) ve yoğun kortikal kemik (kompakt) şeklinde düzenlenir. Süngerimsi kemik düzensiz, kıvrımlı, lamel kıvrımlarından oluşur. Böylece kortikal kemiğin mikro yapısı düzenli silindirik şekilli lamellerden oluşur. Kortikal kemik yoğundur (~% 5-10 gözeneklilik) ve toplam kemik kütesinin % 80'ini oluşturur. Süngersi kemik açık, petek yapısına (~% 50-95 gözeneklilik) sahiptir ve toplam kemiğin kalanını oluşturur ancak kortikal kemiğin yüzey alanının yaklaşık 10 katına sahiptir. Femur, tibia vb. gibi uzun kemiklerin tübüler yapısı, kortikal kemiğin dış tabakasından ve süngerimsi kemiğin iç tabakasından oluşur. Şekil 3.6, süngerimsi ve kortikal kemiğin mikroskopik yapısını göstermektedir.



Şekil 3.6. İnsan lamel kemiğinin mikroskobik yapısı (Hoppe, 2014)

Osteon veya haversiyon sistemi, yaklaşık 200-250 µm çapında bir silindirik yapı oluşturan lamellerden (düzlemlerde düzenlenmiş kolajen lifleri, 3-7 µm kalınlığında) oluşturulur. Her bir osteonun merkezinde kan damarları ve sinirler içeren Havers kanalları vardır. Tekli lameller, kolajen lifleri arasındaki ayrı boşluklar içinde plaka benzeri nanoboyutlu HA kristallerine sahip olan kolajen fibrillerden (1 µm) oluşur. Kemik yapısı yüksek derecede anizotropiktir. Bu da mekanik özelliklerinde geniş değişikliklere sebep olur. Kompakt kemik ve mekanik özellikler için gözenekliliğe, mineralizasyon seviyesine ve katı matrisin organizasyonuna bağlıdır. Bileşim açısından kemik, HCA (kuru kemiğe göre ağırlıkça % 65), kollajen (ağırlıkça % 35) ve diğer kollajenöz olmayan proteinlerden oluşan inorganik-organik bir kompozit matris içine gömülmüş canlı hücrelerden oluşur. Ana inorganik bileşen olarak HCA, X'in formülün $(Ca,X)_{10}(PO_4,HPO_4,CO_3)_6(OH,Y)_2$ formülüne yakındır. Burada X, Ca iyonları ve Y, OH gruplarının yerini alabilecek anyonlardır (Cl veya F iyonları). Kemik matrisinin organik kısmı esas olarak Tip I kollajen liflerinden oluşur (Hoppe, 2014). Kemiğin hiyerarşik yapısal organizasyonu mekanik özelliklerinde önemli bir rol oynar. Kemik bileşenleri arasında, HCA yapısal takviye ve sertlikten sorumluyken, kolajen esnekliği ve dayanıklılığı belirler. Bileşim ve yapıdaki farklılıklar sebebiyle, kemiğin mekanik özellikleri bir kemikten diğerine ve aynı kemiğin

farklı bölgelerinde değişir. Cinsiyet, yaş ve hastalıklar da kemiğin mekanik özelliklerini değiştirebilir. Çizelge 3.2 insan kortikal ve süngerimsi kemiğin mekanik özelliklerinin bir özetini sunar.

Çizelge 3.2. İnsan kortikal ve süngerimsi kemiğin mekanik özelliklerinin özeti (Fu vd., 2011)

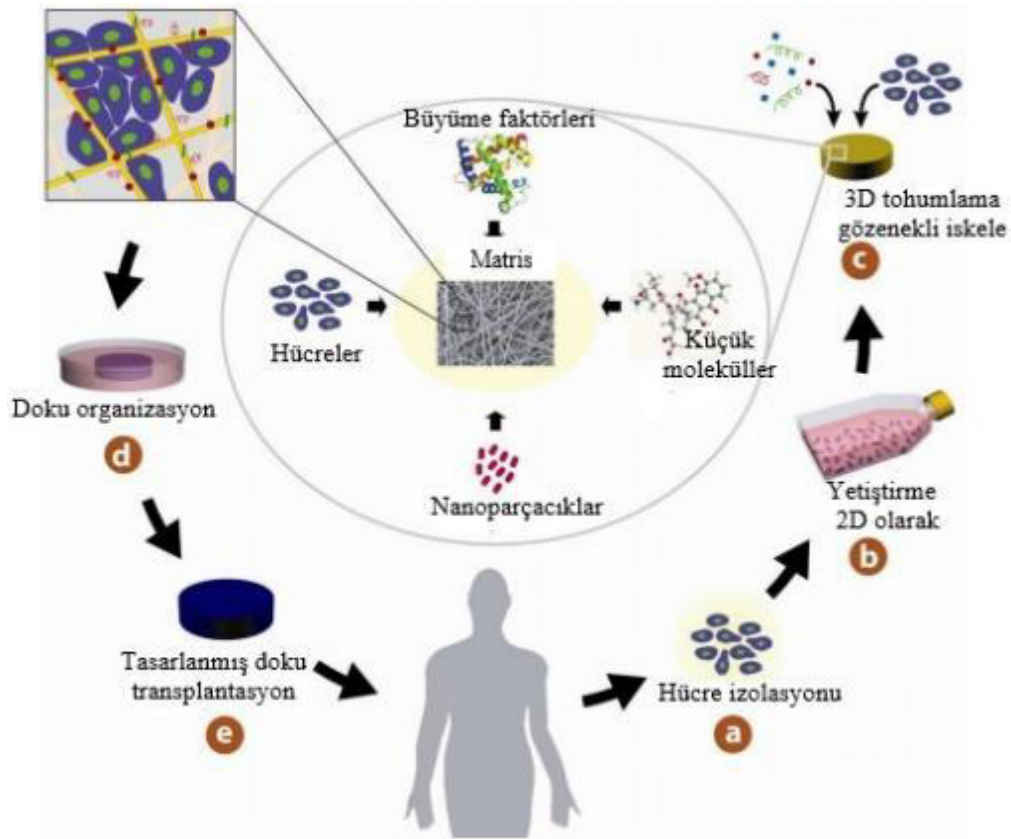
Kemik tipi	P (%)	σ_C (MPa)	KIC (MPa·m ^{1/2})	E (GPa)
Kortikal kemik	5–10	100–150	2–12	12–18
Süngerimsi kemik	50–95	0,15–12	0,04–0,6	0,1–0,5

P: gözeneklilik; σ_C : basınç dayanımı; KIC: kırılma tokluğu; E: elastik modül. Yönlendirme boylamsaldır.

3.5. Kemik Doku Mühendisliği Kavramı

Transplantasyon doku kaybı ve organ yetmezliğinin tedavisi için oldukça etkilidir. Ancak mevcut verici sayısı ve yüksek işlem maliyeti ile ciddi şekilde sınırlıdır. Her yıl binlerce insan sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde nakil için bekleme listesinde bulunmakta ve birçoğu nakil yapılmadan önce ölmektedir. Disiplinlerarası bir alan olarak doku mühendisliği, doku ve organların onarımı ve rejenerasyonu için fonksiyonel ikameler geliştirmek üzere malzeme, yaşam bilimi ve mühendislik prensiplerini uygulamaktadır. Kritik boyutlu kemik kusurlarının rejenerasyonu için “altın standart”, genellikle hastanın pelvik sırtında sağlıklı kemik dokusundan ekstrakte edilen otolog kemik malzemelerinin kullanılmasıdır. Bununla birlikte, bu işlem genellikle yüksek derecede sorunlu donör morbiditesine yol açan iki aşamalı karmaşık bir cerrahi prosedür içerir. Bu nedenle, bunu aşmak için: i) kemik greftleri olarak kullanılmak üzere sentetik osteostimülatör biyomalzemeler araştırılmakta ve ii) sağlam bir kemik rejenerasyon stratejisi oluşturmak için son yirmi yılda kemik doku mühendisliği yaklaşımları yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Doku mühendisliğinin genel amacı, hasarlı doku ve organları restore etmek ve korumak için yollar bulmaktır (Griffith ve Naughton, 2002). Bu yaklaşım, hücre biyolojisi tekniklerini ve malzeme mühendisliğini birleştirerek kültürlenmiş hücrelerin (birincil veya izole edilmiş hücre çizgileri), hücre farklılaşmasına ve 3D dokuya birleştirilmesine fiziksel destek ve kimyasal rehberlik sağlayan biyoaktif bozunabilir yapı iskeleleri üzerinde büyümek için eş eksenli olarak birleştirilir. Şekil 3.7, doku mühendisliği kavramında yer

alan adımlara genel bir bakış sunmaktadır. Hücrelerin hastadan izole edilmesinden ve hücrelerin yetiştirilmesi ve çoğaltılmasından sonra, hücreleri uyarmak için ilaçlar, büyüme faktörleri, nanopartiküller veya metalik iyonlar ile yüklenebilen bir iskele üzerine tohumlanır. Hücrelerin çoğalması ve gerekli hücre tipine doğru farklılaşmasından sonra, hastanın kemik (kusur) bölgesine yeniden nakledilebilen doku yapısı oluşturulur. Doku mühendisliğindeki yaygın yaklaşımlar, hücrelerin farklılaşması, çoğalması ve iletişim kurması için optimal bir ortam sağlamak amacıyla inorganik bir iskele veya organik matrisin kullanımını içerir (Dvir vd., 2011).



Şekil 3.7. Temel doku mühendisliği kavramı (Dvir vd., 2011).

Kemik, yaralanma ve mekanik uyarana yanıt olarak ve ayrıca iskelet gelişimi veya yeniden şekillenme sırasında onarım sürecinin bir parçası olarak bir yara izi bırakmadan sürekli yenilenme kapasitesine sahiptir. Kemik rejenerasyonunda, iskelet onarımını optimize etme ve iskelet fonksiyonunu eski haline getirme çabasıyla, farklı kemik hücre tiplerinin ve çeşitli moleküler sinyal yollarının eylemleri de dahil olmak üzere, kemik indüksiyonu ve iletiminin iyi düzenlenmiş bir dizi biyolojik olayı yer alır. Klinik ortamda,

kemik rejenerasyonunun en yaygın şekli, intramembranöz ve endokondral ossifikasyonu içeren normal fetal iskelet oluşumu yolunun tekrarlandığı kırık iyileşmesidir. Bununla birlikte, kemik rejenerasyonunun bozulduğu, örneğin ortopedik cerrahide ve büyük miktarda kemik rejenerasyonunun gerekli olduğu ağız ve çene cerrahisinde (normal kendi kendini iyileştirme potansiyelinin ötesinde) kırık iyileşmesi vakaları vardır. Bunlar, travma, enfeksiyon, tümör rezeksiyonu ve iskelet anormallikleri tarafından oluşturulan büyük kemik kusurlarının iskelet rekonstrüksiyonunu veya avasküler nekroz ve osteoporoz dahil rejeneratif sürecin tehlikeye atıldığı vakaları içerir (Dimitriou vd., 2011). Son zamanlarda, doku, doku mühendisliği yaklaşımı, büyük kemik kusurlarının iskelet rekonstrüksiyonu ile ilişkili yukarıda bahsedilen sınırlamaların üstesinden gelmek için kemik rejeneratif tıp alanında alternatif ve umut verici bir strateji haline gelmektedir.

Kemik doku mühendisliği, biyomalzemeler, hücreler ve faktörleri tek başına veya kombinasyon halinde kullanarak canlı dokuların onarımı, restorasyonu veya rejenerasyonuna yönelik biyolojik ve mühendislik ilkelerinin uygulanmasıdır (Laurencin vd., 1999). Biyolojik açıdan kemik büyümesi, hücreler, hücre dışı matris, hücre içi iletişim, hücre-matris etkileşimleri ve büyüme faktörleri gerektirir. Bununla birlikte, yukarıda bahsedilen bileşenler, kemik dokusu mühendisliği ile ilgili tek sorun değildir. Kemik 3 boyutlu bir konfigürasyona sahiptir ve hücreler in vitro olarak 3 boyutlu bir şekilde büyümeyebilir, bu da 3 boyutlu bir iskele gerektirir. Bu nedenle, başarılı kemik dokusu mühendisliği ve rejenerasyonu, iyi koordine edilmiş ve zamanında osteokondüktif yapı, proteinler veya büyüme faktörleri gibi osteoindüktif biyolojik moleküller ve osteojenik hücrelerin kombinasyonlarını gerektirir.

Kemik dokusu mühendisliği için gözenekli bir yapı iskeletinin geliştirilmesi, ya çevreleyen dokudan kemik oluşumunu indüklemek ya da implante edilmiş kemik hücreleri ya da diğer maddeler için bir şablon görevi görmek için gereklidir. Bu anlamda, yapı iskelesi, yeni kemik dokusu tamamen restore edilene/yenilenene kadar hücre proliferasyonu ve hücre dışı matris birikimi ve kemik büyümesi için geçici bir matris görevi görür. Dahası, yapı iskelesi bu yeni dokunun damarlanması için bir şablon görevi görecek ve yapısında bulunan büyüme/farklılaşma faktörlerinin salınması yoluyla rejeneratif sürece aktif olarak katılabilecektir. Yukarıdakiler ışığında, uygun bir 3 boyutlu iskelenin geliştirilmesi, kemik dokusu mühendisliği stratejisi için temel bir bileşendir. 3D

iskelenin ideal olarak kullanılacak çok değişkenli tasarım gereksinimlerini karşılaması beklenen perspektifleri ortaya koymak önemlidir. Uygun malzeme seğimine ek olarak, iskelenin makro ve mikroyapısal özellikleri büyük önem taşımaktadır. Bu tür özellikler sadece hücre hayatta kalmasını, sinyal vermesini, büyümesini ve yeniden düzenlenmesini değil aynı zamanda gen ekspresyonunu da etkiler.

3.6. Sol-Jel

Sol-jel, kimyasal yolla seramik veya cam üretmek için düşük sıcaklık kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, geleneksel eritme yöntemleriyle elde edilemeyen camların üretilmesini mümkün kılmaktadır. Ayrıca, sol-jel türevli camlar, erimeyle türemiş olanlardan daha geniş bir kompozisyon aralığında biyoaktivite gösterir (Gallardo vd., 2001). Buna ek olarak, sol-jel camları protein emilimini ve hücre adezyonunu artıracak yüksek spesifik yüzeye sahip gözenekli bir mikro yapıya sahiptir. Sol-jel tekniği, bir çözücü içerisinde tipik olarak metal alkoksitleri ve metal nitratları, cam öncüllerini çözümdürmekten oluşur. Bundan sonra, hidroliz ve polikondenzasyon reaksiyonları sonucunda bir jel elde edilir. Kalan çözücüyü uzaklaştırmak için bir kurutma işlemi ve yoğun bir yapı elde etmek için nihai bir ısıl işlem gerekmektedir. Özellikle, camlar ile ilgili olarak, ısıl işlem genellikle 600 ile 900°C arasında bir sıcaklık aralığında gerçekleştirilmektedir. Sol-jelin artan başarısı, eğer gerekirse, kontrollü bir gözenekli mikro yapı vererek geniş bir biyoaktif cam aralığı oluşturma ihtimalinden kaynaklanmaktadır (Almeida vd., 2011). Bazı bilimsel makalelerde, kemik dokusu entegrasyonunu destekleyen ve aynı zamanda Ti ve Cr-Co alaşımlarından daha ucuz olan paslanmaz çelik yüzeylerin korozyon direncini artıran sol-jel biyoaktif cam kaplamaların sağladığı faydalar vurgulanmıştır (Fathi ve Doostmohammadi, 2009; Fathi ve Mohammadi, 2008; Gallardo vd., 2001).

Sol-jel yöntemi, çok katlı kaplamaların daha kolay bir şekilde gerçekleştirilmesini mümkün kılmaktadır. Dahası, yöntem hibrid organik-inorganik kaplamaların elde edilmesini sağlar. Gallardo vd. koruyucu çift katmanlı kaplama üreten bir örnek sunmaktadır. Kaplama, tetraetoksisilan-metiltrimetoksisilana (TEOS-MTES) dayanan organik bir silika hibrittir. İki kattan oluşur, ikisi de TEOS-MTES reaksiyonlarından türetilir. Çalışma yüzeyindeki üst kısım biyoaktif cam partikülleri ile doldurulur. Bu

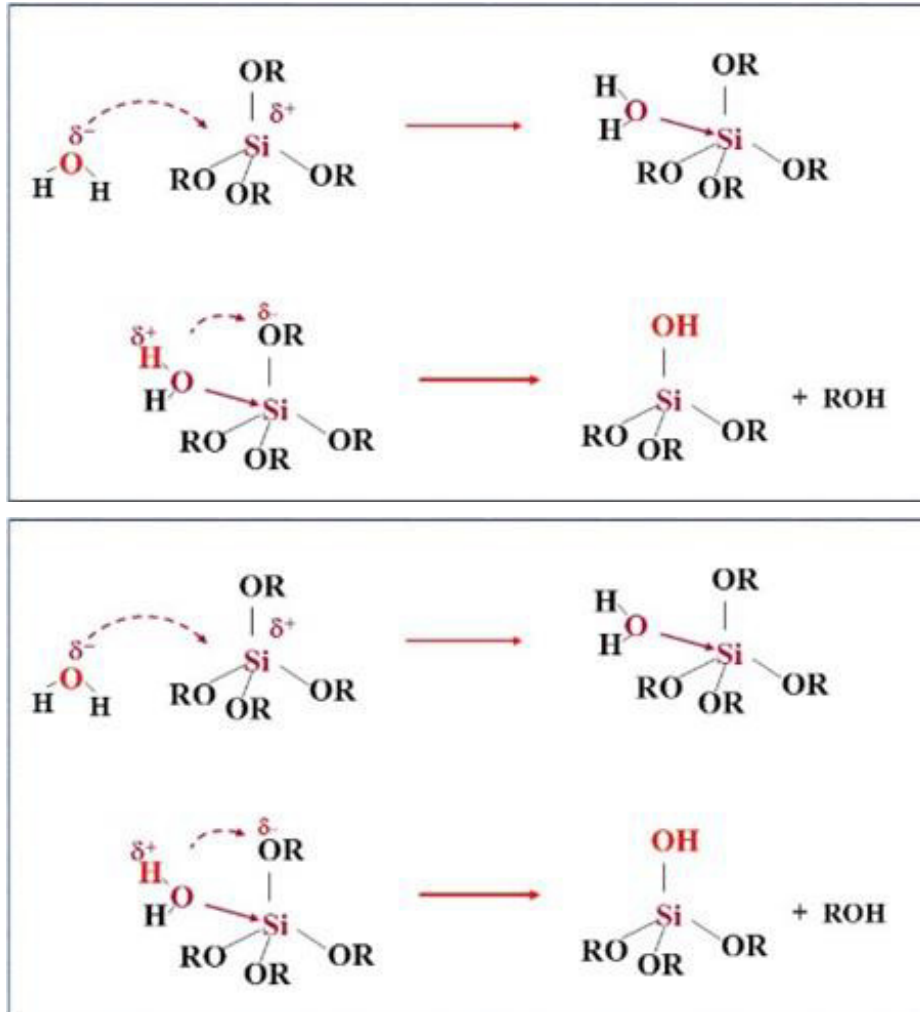
yaklaşım cazip gözükmemektedir. Çünkü çift katmanlı kaplama paslanmaz çelik alt tabakaya üstün korozyon direnci vermektedir. Aslında, paslanmaz çelik alt tabakaya doğrudan uygulanan ilk tabaka, altta yatan metalin kimyasal korozyonunu önlerken biyoaktif parçacıklar ile yüklü ikinci dış katman biyo-aktivite sağlar. Dahası, bu hibrit kaplamalar camı camlardan daha dayanıklıdır ve korozyon testlerinin çatlaklar yerine kabarcık oluşumuna neden olması nedeniyle felaket getiren bir kırığa maruz kalmazlar (Gallardo vd., 2001).

Fathi ve Doost Mohammadi, biyolojik aktiviteyi sağlamak ve paslanmaz çelik altlıkları korozyondan korumak amacıyla sol-jel yöntemi ile katkısız biyoaktif cam kaplamalar üretti (Fathi ve Doostmohammadi, 2009; Fathi ve Mohammadi, 2008). Ancak, bu durumda, kaplama-alt katman sisteminin uzun vadeli davranışı dikkatle değerlendirilmelidir. Gerçekte, HCA cam yüzeyinde çökelirken, vücut ortamı biyoaktif camı emilmesi tamamlanana kadar kademeli olarak süzer. Cam çözünme oranı HCA biriktirme hızından daha yüksekse, altlık vücut sıvılarıyla temas edebilir ve daha sonra metal aşınabilir. Bu ifade, tek katmanlı hibrid kaplamada biyoaktif cam parçacıklarının bulunması, uzun vadede korozyon direncini önemli ölçüde düşürdüğü gerçeği ile desteklenmektedir (Gallardo vd., 2001).

3.6.1. Sol-jel işlemi

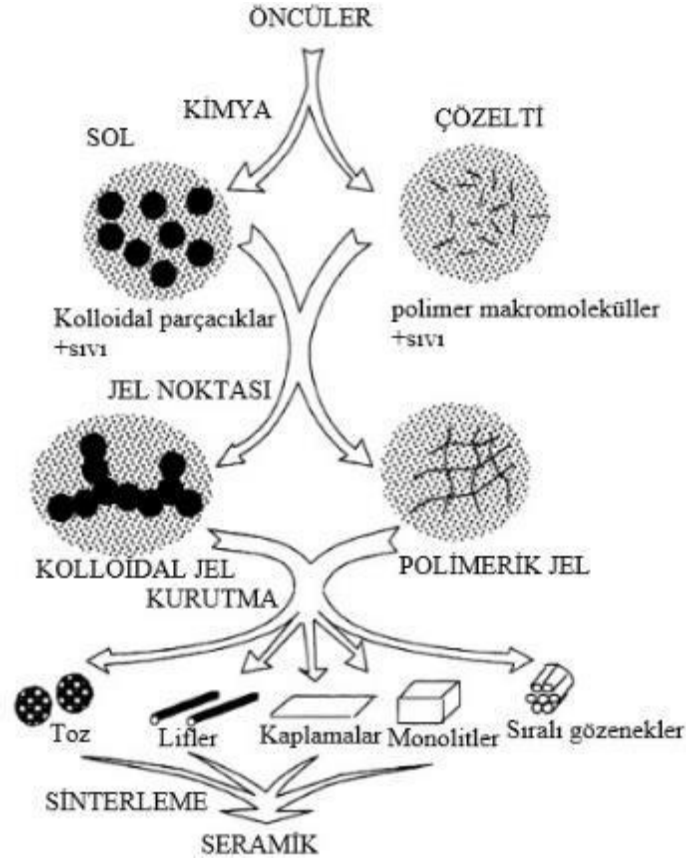
Uzun bir süredir, çözücülerin ve jellerin, mürekkep, killer, kan, serum veya süt gibi çeşitli formlarda doğal olarak bulunduğu bilinmektedir. On dokuzuncu yüzyıldan beri, sol ve jellerin sentezi gerçekleştirilmiştir. İlk olarak Ebelmen tarafından sentezlenen silika jelleri bildirilirken, en eski sentezlenmiş sollar 1853'ten kalmaz ve Faraday tarafından üretilmiştir. Sol-jel işlemede önemli ilerleme, solların tabiatlarının ve sentez mekanizmalarının anlaşılmasıyla elde edilir. Prosesin arkasındaki kimyayı açıklayan önemli bir katkı, bir çökeltiliyi ilk kez stabil bir kolloidal süspansiyondan ayıran elektrostatik teoridir (veya DLVO teorisi). Ancak, son yirmi yıla kadar bu işleme tekniğinin çok önemli gelişmeler yaşadığı söylenemez. Sol-jel işlemi, ara aşama olarak seramiklerin sol ve/veya jel yoluyla sentezlenmesine izin veren bir kolloidal yol olarak tanımlanabilir. Oda sıcaklığında inorganik polimerizasyon reaksiyonlarına dayanan bir işlemdir. Bu işlem, geleneksel cam ve cam-seramik işlemeye bir alternatif sunar. İlk adım,

katı parçacıkların (boyut $<1 \mu\text{m}$) kolloidal bir süspansiyonu olan bir solun sentezini içerir. Camın bileşimini belirleyen alkoksit öncüllerinin hidroliz ve yoğunlaşma reaksiyonları ile inorganik bir ağ oluştururlar. Her iki reaksiyon da nihai amaçlanan malzemeye bağlı olarak asit veya baz ile katalize edilebilir. Silisyum oksit (silika) oluşumunu tarif eden basitleştirilmiş denklemler Şekil 3.8’de sunulmaktadır.



Şekil 3.8. Silisyum alkoksitlerin basitleştirilmiş hidrolizi ve polikondansasyon reaksiyonları (Philippart, 2016)

Son olarak jel, geniş bir malzeme yelpazesi elde etmek için geleneksel tekniklerle işlenebilir. Örneğin bir cam/cam seramik üretmek için sinterlenebilir. Sol-jel işleminin ve bunun sonuçtaki ürünlerinin basit bir şematik diyagramı Şekil 3.9’da gösterilmektedir.



Şekil 3.9. Sol-jel tekniğinin basitleştirilmiş şematik diyagramı (Pierre, 2013)

Sol-jel işlemi için birçok avantajdan söz edilebilir. Örneğin, herhangi bir oksit kompozisyonu ve hibrit organik-inorganik malzemeler ile malzeme üretmek mümkündür. Ek olarak, geleneksel seramik işlemeye kıyasla düşük sıcaklıklı bir tekniktir. Ayrıca, birincil kolloidal partiküllerin çekirdeklenmesi ve büyümesi kontrol edilebilir ve bu partiküllerin nihai şekli, boyutu ve boyutu dağılımı üzerinde doğrudan bir kontrol sağlar (Pierre, 2013).

3.6.2. Sol-jel bazlı biyoaktif camlar

Biyoaktif camların sol-jel yoluyla sentezi, dokusal özelliklerini uyarlama ve biyoaktif camların biyoaktif yanıtını hızlandırma imkanı sağlar. Bu işlem, hidroliz ve polikondensasyon reaksiyonlarına tabi tutulan oksit öncülleri arasında oda sıcaklığında bir çözelti reaksiyonuna dayanır. Tipik bileşimler üçlü (Si/Ca/P) ve ikili (Si/Ca) sistemlere dayanmaktadır. Silika, fosfor oksit, sodyum oksit ve CaO için en yaygın kullanılan öncüler sırasıyla TEOS, TEP, sodyum ve kalsiyum nitrat (NaNO_3 ve $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

olarak çözünür tuzlardır. Sentez genellikle asidik kataliz altında yapılır. Bu, birleştirilmiş nanopartiküllerin ağ oluşumu ve silanların çapraz bağlanmasıyla bir jel oluşumuna yol açan daha fazla birleşen ve yoğunlaşan birincil nanopartikülleri (NP'ler) oluşturur. Bu yöntem, silikatın tam bir çapraz bağlanmasına izin vermesi gereken bir yaşlandırma işlemine ihtiyaç duyulması nedeniyle eriyik söndürme yönteminden daha fazla zaman alır. Son olarak jel, camı oluşturmak ve stabilize etmek için 350 ile 700°C arasındaki sıcaklıklarda ısı işleme tabi tutulur. Kurutma prosedürü sırasında su ve alkolün buharlaşması, birleşik NP'ler arasındaki boşlukları temsil eden 1-30 nm aralığında birbirine bağlı nanogözenek ağı oluşturur. Bu işlemin çok yönlülüğü, sentez sırasında pH'ı ayarlayarak iskelelerin (doğrudan köpükleme ve köpük kopyalama tekniği ile), monolitlerin veya nanopartiküllerin imalatına izin verir. Eritme yöntemiyle karşılaştırıldığında, bu yolla sunulan başlıca avantajlar, nihai ürünün saflığı ve eriyikten türetilmiş bileşimlerin işlenebilirliğine bağlı kısıtlamaları artık sunmayan cam bileşimlerinin genişlemesidir. Bu iki yöntem arasındaki fiziksel bir fark, sol-jel türevi camlar için özgül yüzey alanının doğal gözeneklilik nedeniyle artması, bu camların çözünme oranının artması ve nano topografya uygulayarak hücrel tepkinin artmasıdır. Düşük işlem sıcaklıkları nedeniyle, sol-jelden türetilmiş camlar, hızlandırılmış biyoaktif davranış için kritik bir özellik olan, malzemenin yüzeyindeki mevcut silanol (Si-OH) gruplarının miktarını en üst düzeye çıkarır (Vallet-Regí ve Salinas, 2019).

3.7. Biyoaktif Camın Biyoaktivitesi

Bir malzemenin biyoaktivitesi, malzeme arayüzünün % 50'sinin kemiğe bağlanması için geçen süreyi dikkate alan biyoaktivite indeksi (IB) kullanılarak sınıflandırılabilir. Bir malzeme, 8'den fazla bir IB'ye sahipse ve hem sert hem de yumuşak dokuya yapışabiliyorsa, Sınıf A olarak kabul edilir. Öte yandan, B Sınıfı bir malzeme 0 ile 8 arasında bir IB'ye sahiptir ve sadece sert dokuya yapışabilir. Sınıf A biyomalzemeleri ile ilgili bir diğer önemli faktör, hem osteokondüksiyon hem de osteoindüksiyonu stimüle edebilmesidir. Osteokondüksiyon, yüzeyinde veya üç boyutlu nesnel bağlamında kemik büyümesine izin veren malzemelerin özelliğidir, malzemenin gözenekleri ve kanalları boyunca kemik büyümesi gözlenecektir. Öte yandan osteoindüksiyon, farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin kemik oluşturan hücre soyuna uyarılmasıdır (Albrektsson ve Johansson, 2001). Her iki terimdeki farklılıklar çok önemlidir, osteokondüksiyon, ikinci

nesil biyomalzemenin bir özelliği olan implant ve konak kemik arasındaki yüzeylerde kemik oluşumudur. Osteoindüksiyon ise gen aktivasyonunu ve hücre sinyalini içerir, üçüncü jenerasyon biyo malzemelerin karakteristiğidir (Hench, 2009).

3.7.1. Biyoaktif cam - sol-jel yolu

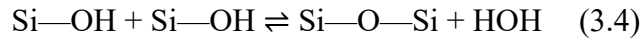
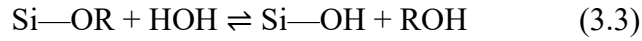
Sol-jel biyoaktif camlar ilk olarak (Li vd., 1991) ve (Pereira vd., 1994) tarafından 90'lı yılların başında türetilmiştir. Biyoaktif camlar oda sıcaklığında sentezlenmiştir ve önerilen 58S cam (% 60 SiO₂-% 36 CaO-% 4 P₂O₅; mol%), sodyum oksit bileşeni olmadan 45S5'e yakın bir kompozisyon ihtiva etmiştir. Araştırma, sol-jel biyoaktif camlar (SiO₂'nin % 80'ine kadar) için daha geniş bir biyoaktif aralık, HCA oluşum oranının arttığını ve silikadaki bir artışın biyoaktif tepkisini etkileyen camın SSA'da bir artışa yol açtığını gösterdi.

Biyoaktif cam sentezine odak, eriyikten türetilen yol üzerindeki çeşitli avantajlar nedeniyle sol-jel yolunda merkezlenmiştir. Önemli bir şekilde, sol-jel türevi biyoaktif camların geleneksel eriyik türevi biyo-camlardan daha biyoaktif olduğu bulunmuştur. Çalışmalar, bu camların yapay vücut sıvılarına (SBF) maruz kaldıklarında yüksek oranda HCA oluşumu, hızlı kemik bağlanma oranları, gelişmiş bozunma ve emilim özelliklerine sahip olduğunu göstermiştir. Bu kısmen nanopartiküllerin gözenek içerdiği bildirilen yüksek SSA'larından kaynaklanmaktadır. Sol-jel camın spesifik yüzey alanlarının eritilmiş camdan iki kat daha büyük olduğu bulunmuştur. Sol-jel biyoaktif cam nanoparçacıkların nanoyapısı içindeki gözenekler, camların SSA'yı önemli ölçüde artırır ve böylece çözünme hızını artırır.

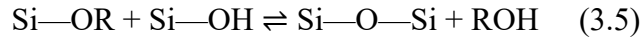
Eriyik türevi yola (1250-1400°C) kıyasla sol-jel yolunun (600-700°C) düşük işleme sıcaklığı da caziptir. Çünkü bu işlem bileşenlerin homojenizasyonunda daha iyi kontrol sağlar. Enerji, ekipman ve işçilik açısından işlem maliyetini azaltır. Ayrıca, eriyikten türetilen biyoaktif cam ile karşılaştırıldığında, biyoaktif bir tepki elde etmek için sol-jel biyoaktif cam için SiO₂ içeriği aralığı çok daha geniştir. Sol-jel camların eriyik türevi cam için ağırlıkça % 45-60 SiO₂ ile karşılaştırıldığında sistemde SiO₂'nin yüzdesinin ağırlıkça % 50-85 arasında biyoaktif olduğu bildirilmiştir (Sepulveda vd., 2002).

3.7.2. Sol-jel biyoaktif cam sentezi

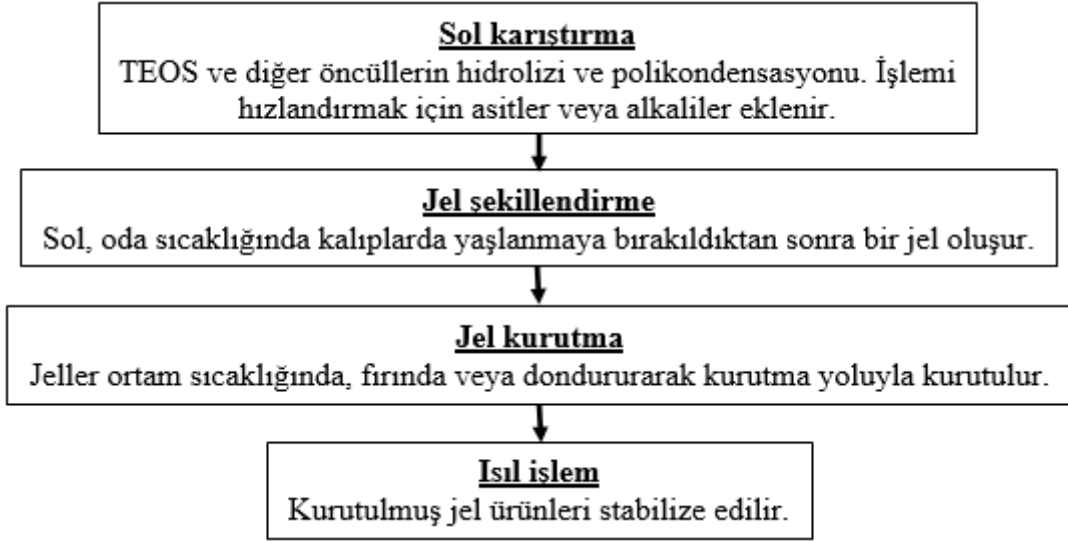
Sol-jel biyoaktif cam sentezinde yer alan aşamalar Şekil 3.10'da gösterilmiştir. Sol-jel işlemi, hidroliz ve alkoksit, metal hidroksit ve inorganik tuz öncüllerinin polikondansasyonunun iki aşamalı reaksiyonu ile başlar. Silika esaslı biyoaktif bir cam için, silika bileşenini elde etmek için kullanılan alkoksit öncüsü TEOS'tur. TEOS ilk olarak sol adı verilen bir sıvı içinde bir koloidal süspansiyonun oluşturulduğu su ile reaksiyona sokulur. Bu aşamada hidroliz, suyun alkoksit üzerindeki nükleofilik saldırısı ile meydana gelir. Bu reaksiyon genellikle asitler veya alkaliler ilave edilerek katalize edilir. Daha sonra, silisyum bağları (Si-O-Si) üreten silanol gruplarının (Si-OH) yoğunlaşması meydana gelir. Bu nedenle, TEOS ağ oluşturucu görevi görür ve silikat ağı Si-O-Si'nin oluşturulması için yaşlanma üzerine polikondensatlaşır ve bu reaksiyondan yan ürün olarak su ve C₂H₅OH salınır. Sol-jel kimyasının iki ana aşaması denklem 3.3, 3.4 ve 3.5'te özetlenmiştir. İlk olarak, suyun alkoksit grubunu (OR) OH grubu ile değiştirdiği hidroliz meydana gelir. Daha sonra, silanol gruplarının Si-O-Si bağları oluşturmak için birbirine bağlandığı, su ve alkol salınan yoğunlaşma meydana gelir.



ve/veya

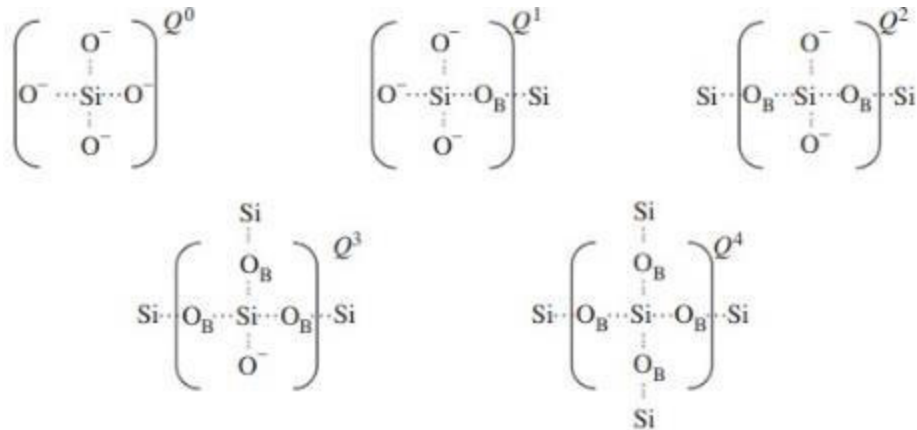


Sol-jel biyoaktif camlar ikili, üçlü veya kuarterner sistemler şeklinde bulunur. Örneğin, bir ikili cam (SiO₂-CaO) oluşturmak için Ca(NO₃)₂.4H₂O öncüleri eklenir ve üçlü (SiO₂-CaO-P₂O₅) biyoaktif cam sistemi oluşturmak için sole TEP eklenebilir. Biyoaktif cama yeni özellikler kazandırmak veya sağlamak için MgO, Ag₂O ve ZnO gibi başka katyon kalıntıları da eklenebilir. Bu araştırmada kullanılan silika bazlı biyoaktif camlar üçlü sisteme aittir. Bu nedenle, bu silika camların, HCA oluşumunu etkileyen çözünme hızları gibi camın özelliklerinin daha net anlaşılmasını sağlayacak olan atomik yapısını anlamak önemlidir.



Şekil 3.10. Sol-jel biyoaktif cam sentezinde yer alan farklı aşamalar

Silika bazlı camlar, bir 3D ağ yapısı oluşturmak için oksijen atomu aracılığıyla bağlanan birçok SiO_4 tetrahedron biriminden oluşur (Martin vd., 2012; Neel vd., 2009). SiO_4 tetrahedral, diğer silikat tetrahedral ile paylaşılan oksijen atomlarının sayısına göre sınıflandırılır. Bu paylaşılan oksijen atomlarına yaygın olarak köprülenen oksijen (O-Si-O) denir. Silikat başına dört oksijen atomu, Şekil 3.11'de gösterildiği gibi Q (0-4) ile sınıflandırılan dört taneye kadar olası köprüleme oksijen bağı önerir.



Şekil 3.11. OB'nin köprülenen oksijen bağlarını temsil ettiği silikat ağına atanan Q yapıları (Martin vd., 2012)

Bir cam içindeki Q yapılarının tipi ve nispi miktarı, açı eğirme katı hal nükleer manyetik rezonansı (NMR) ile belirlenebilir. Hem eriyikten türetilen hem de sol-jel camlar

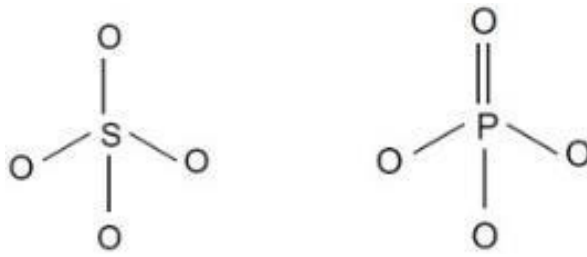
için Q değeri, camların ağ bağlantısını açıklamak için kullanılabilir. Bir yapıdaki Q'nun ortalama değerini anlayarak, cam ağının çözünmesi belirlenebilir. NMR yoluyla, sol-jel camların, tipik olarak tek bir Q2 yapısı sergileyen eriyik türevi camlardan farklı olan bir Q yapıları (Q4, Q3 ve Q2) karışımına sahip olduğu belirlenmiştir. Ölçülen toplam Q yapılarının ortalamasını alarak, ortalama Q değeri çok yüksekse (>2,4), camdaki yüksek ağ bağlantısının bağların kopmasını önleyeceğini ve böylece fizyolojik sıvıya sokulduğunda iyon değişimini engelleyeceğini öne sürülmüştür. Öte yandan, çok düşük bir Q değeri son derece hızlı çözünmeye yol açar (Martin vd., 2012).

Bununla birlikte, sol-jel cam sisteminin çözünmesini tamamen Q değeri modeline dayandırmak yetersizdir. Isıl işlem görmüş sol-jel camların, sol-jel camın sulu sentezi nedeniyle hala OH grupları içerdiği bulunmuştur. Bu -OH grupları, silikat tetrahedralde Si-OH oluşturur ve camın ağ bağlantısını azaltarak camın hızlı çözünmesine yol açar. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, 700°C'lik ısı işleminden sonra bile, Si atomu başına hala 0,38 -OH bağları olduğu belirlendi. Bu, -OH grubunun cam çözünme hızlarındaki etkilerinin oldukça önemli olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada üçlü camın ikinci bileşeni olan CaO, osteogenez için çok önemli olan Ca²⁺ iyonları sağlar. Atomik yapısal seviyede, cama sokulan kalsiyum ağ değiştirici görevi görür ve (Si-O-Ca) birleştirici olmayan oksijen bağları oluşturur. Ca²⁺ iyonlarının bu difüzyonu 400°C ile 560°C arasındaki sıcaklıklarda meydana gelir. Ca²⁺ iyonlarının cama dahil edilmesi ağ bağlantısını azaltır ve çözünmede bir artışa neden olur. Li vd. % 1-45 mol CaO'luk bir bileşim aralığıyla, sol-jel camlardaki CaO'daki bir artış, çözünme hızını destekleyen camın daha düşük ağ bağlantısına bağlanan HCA oluşumunda bir artışa yol açtığını buldu (Li vd., 1991).

Üçüncü bileşen olan fosfor pentoksitte (P₂O₅) bir ağ oluşturucudur. Oksijene yakınlığı ile fosfor (PO₄), bir fosfat 3D ağı oluşturmak için birçok tetrahedron ile birbirine bağlanan bir tetrahedral oluşturur. Bununla birlikte, bir silikat cam ağı ve bir fosfat cam ağı arasındaki fark, yapı taşlarının (SiO₄ tetrahedral birimler) dört oksijen atomunu da paylaşabilmeleri, fosfor (PO₄) dört oksijen atomunun tümünü paylaşmamasıdır. Böylece paylaşılmamış oksijen fosfat tetrahedronlar arasındaki atomlar terminal çift bağlar oluşturur (Şekil 3.12). Oksijenin bu terminal ucu fosfat cam ağının bağlantısını azaltır.

Böylece camın sulu ortamlarda çözünmesini arttırır. Biyoaktif camın üçlü sisteminde, P_2O_5 ortofosfat formunda bulunur ve silikat ağı ile herhangi bir bağ oluşturmaz. Isı stabilizasyon işleminden sonra bile, fosforun silikat ağından ayrı olduğu bulunmuştur. Böylece, cam fizyolojik bir ortama maruz kaldığında, fosfat hızla kaybolur. Bununla birlikte, üçlü camın izole edilmiş P_2O_5 bileşeninin HCA oluşumunda etkili olduğu bulunmuştur (Neel vd., 2009). NMR çalışmaları, cam ağına P_2O_5 'in sokulmasının, ağdan izole edilen ACP oluşumuna yol açtığını ve sonuç olarak HCA oluşumu için çekirdekleşme yerleri olarak hareket ettiğini göstermiştir.



Şekil 3.12. SiO_4 tetrahedral ve fosfat tetrahedral (Neel vd., 2009)

3.7.3. Sol

Sol-jel biyoaktif cam sentezinin farklı aşamalarında (Şekil 3.10), sol kompozisyonu ve pH seviyeleri, kurutma ve ısı işlem sıcaklıkları gibi çeşitli faktörler reaksiyon hızını, nihai cam ürünün dokusal ve yapısal özelliklerini etkileyebilir. Sol bileşimdeki değişikliklerin, biyoaktif cam nanoparçacıkların nihai SSA'yı, gözenek boyutunu ve gözenek hacmini etkilediği bulunmuştur. Çalışmalar, kalsiyum ve fosforun cam sistemine sokulmasının nanoparçacık SSA ve gözenek hacmini azalttığını göstermiştir. Kompozisyonel değişikliklerin gözenek çapları üzerindeki etkileri, kalsiyumdaki artışın daha yüksek gözenek hacimlerine ve daha geniş gözenek çaplarına yol açtığını bildirirken, diğer raporlar hem gözenek çapında hem de hacminde bir azalmaya yol açtığını bildirmektedir. Çizelge 3.3, yüzey aktif cisimlerinin veya yapı yönlendirme ajanlarının etkisi olmadan üçlü cam nanoparçacık morfolojisi üzerindeki kompozisyon etkilerini özetlemektedir.

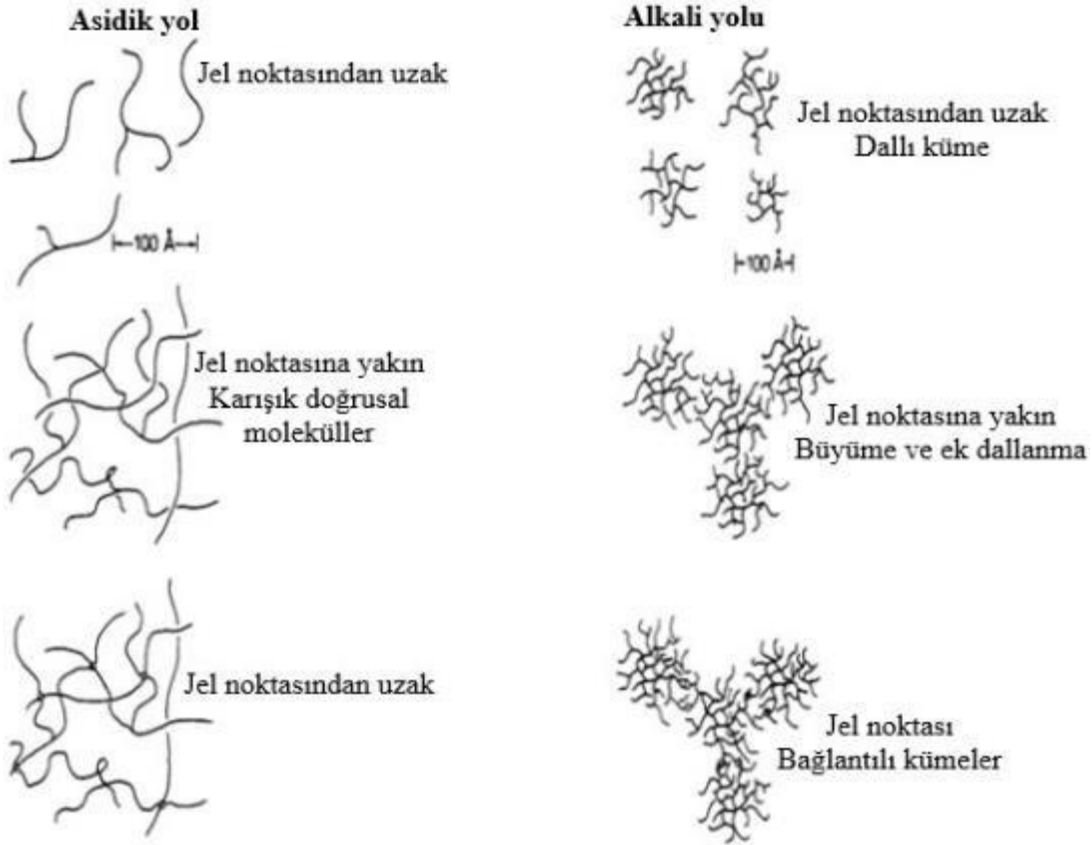
Hidroliz işlemi, silinol içindeki alkoksit grubunun sudaki OH grubuyla değiştirilmesiyle gerçekleşir. Bununla birlikte, bu işlemin gerçekleşme hızı, pH 7'ye

yüksek hidroliz oranları ile birlikte, pH seviyelerine oldukça bağlıdır. Tüm öncülerle homojen bir şekilde karıştırılmış olan solun, jelleşmenin gerçekleşmesi için tipik olarak 3-14 günlük bir süre boyunca yaşlanması gerekir. Bu süre zarfında nanopartiküller, soldaki monomerlerin polimerizasyonundan oluşur. Parçacıklar bu süreç boyunca büyür, zincirlerle birbirine bağlanır ve daha sonra sol boyunca jelleşmeye neden olan bir ağ oluşturulur. Bu işlemi hızlandırmak için, reaksiyona HNO_3 gibi asidik veya bazik bir katalizör ilave edilir. Bununla birlikte, asit ya da baz katalizörü kullanılarak polimer oluşumu ve büyümesi farklılıklar (Brinker ve Scherer, 1990) tarafından gözlenmiştir. Kısaca asit kullanıldığında doğrusal olarak dallanmış polimerlerin oluştuğu, alkali koşullar altında kümelenmiş veya çok dallanmış polimerlerin oluştuğu gözlenmiştir. Şekil 3.13, iki sistem arasındaki farkları göstermektedir.

Stöber vd. 1968'de TEOS'un asit hidrolizi ve alkollü çözeltiler ile yoğunlaşma yoluyla monodisperslenmiş silis partiküllerini üretmiştir (Stöber vd., 1968) Stöber yöntemi olarak bilinen bu yöntem, çapı 50 nm ile 2000 nm arasında değişen küresel partikülleri başarıyla sentezledi. Su bazlı, morfolojik bir katalizör olarak kullanıldı. Onsuz, silika kolloidin heterojen şekilli ve büyüklükte parçacıklar halinde toplandığı bulunmuştur. Daha yakın zamanlarda, sol-jel biyoaktif cam üretmek için daha hızlı alkali aracılı bir yöntem de rapor edilmiştir. Burada solun jelleşme süresi NH_4OH ilavesiyle 2 dakikaya düşürülebilir.

Çizelge 3.3. Kompozisyonun biyoaktif cam nanoparçacık morfolojisi üzerindeki etkileri (Yan vd., 2005; Zhu vd., 2008).

Cam bileşimi (mol %)	Yüzey alanı (m^2/g)	Gözenek çapı (nm)	Gözenek seviyesi (cm^3/g)
80% SiO_2 – 15% CaO – 5% P_2O_5	127	4,4	0,13
60% SiO_2 – 35% CaO – 5% P_2O_5	79	12	0,25
100% SiO_2	384	4,9	0,4
80% SiO_2 – 15% CaO – 5% P_2O_5	351	4,8	0,36
70% SiO_2 – 25% CaO – 5% P_2O_5	303	4,8	0,33



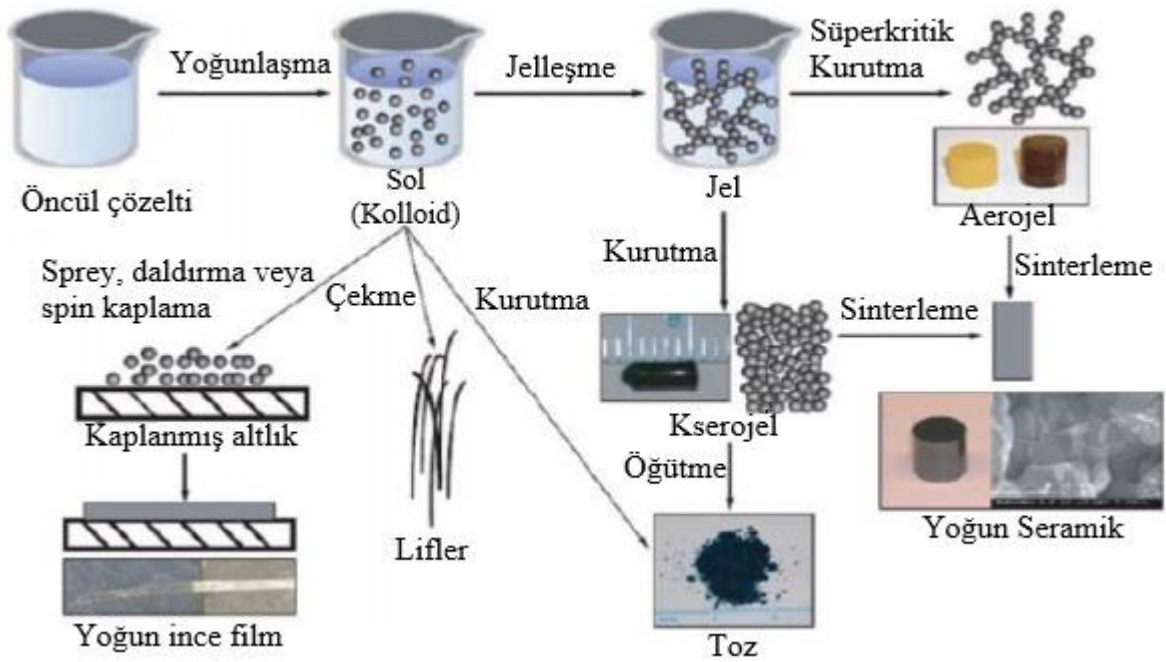
Şekil 3.13. Hidrolize TEOS'un polimer büyümesinin asit veya baz katalizör yoluyla ilerlemesi (Brinker ve Scherer, 1985)

Ayrıca, Hong vd. TEOS ve kalsiyum nitrat içeren solun yavaşça amonyum dibazik fosfat içeren NH_3 'lü suya damlatıldığı iki aşamalı bir sol-jel ve birlikte çökeltme yolundan son derece ince BGN'lerinin (<80 nm çapında) sentezini göstermiştir (Hong vd., 2009) Bundan elde edilen BGN'lerinin homojen küresel olduğu bulundu. Bu yöntem Stöber yöntemini andırırsa da, sonuçlar üçlü sistemin biyoaktif camının bu yolla sentezlenebileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, bu sentez yolunun kullanılmasının biyoaktif camların dokusal, yapısal ve biyoaktif özellikleri üzerindeki etkileri karakterize edilmemiştir. Bu nedenle, çalışmanın amacı nanoparçacık morfolojisinin homojenliğini artırmak ve bir alkali yoldan türetilen nanopartiküllerin nanoyapısını anlamaktır.

3.7.4. Kurutma işlemleri

Sol-jel işleminden elde edilen bir dizi biyoaktif cam ürünü, Şekil 3.14'te gösterildiği gibi elde edilebilir. Başlangıçta bir gözenekli kuru jel (kserojel) film oluşturmak için düz bir yüzey üzerinde solun kaplamasından yoğun bir biyoaktif cam filmi

üretilebilir. Nanometre aralığında biyoaktif camın ince lifleri solun elektrospinnenmesi ile hazırlanabilir. Aerojeller, yapının 3B ağını tutarak, süper kritik CO₂ kullanarak blok jeli dikkatlice kurutmak suretiyle oluşturulabilir. Dondurarak kurutma yoluyla, jel içindeki gözenekli likör (solun polikondensasyon reaksiyonunun yan ürünleri) blok hidrojelinin makro yapısını etkilemeden süblimleşebilir ve böylece bir aerojel oluşturabilir. Sol-jelin son ürününü değiştirmek için kullanılan çeşitli yolların tarifinden, kurutmanın, biyoaktif cam işlemede, içinde gözenek likörünün çıkarıldığı ayrılmaz bir aşama oluşturduğu açıktır.



Şekil 3.14. Malzemelerin sol-jel işlem basamakları ve nihai ürünlerin mikroyapı örnekleri (Chládová vd., 2011)

Zhong ve Greenspan ayrıca üçlü sol-jel biyoaktif jelleri kurutmak için yüksek nemli bir ortam kullanmak için yeni bir yöntem üzerinde çalışmıştır (58S: % 58 SiO₂-% 33 CaO-% 9 P₂O₅ ve 77S:% 77 SiO₂-% 14 CaO-% 9 P₂O₅) (Zhong ve Greenspan, 2000). Jelleri 3 gün boyunca 180°C sıcaklıkta kurutmak için bağıl nemi % 90-95 arasında tutulan bir kurutma fırını kullanılmıştır. Sonuçlar homojen ve kararlı cam tozunun üretildiğini göstermiştir. Ayrıca, ortam kurutması ve yüksek nemli kurutma yoluyla üretilen parçacıklar arasında yapılan bir karşılaştırma, yüksek nemli kurutmanın, bu parçacıkların gözenek çapında ve gözenek hacminde, yüzey alanında bir azalmaya yol açtığını ortaya koymuştur (Çizelge 3.4). Bu parçacıkların gözenek boyutundaki ve gözenek hacmindeki

artış, gözenek likörünün kademeli olarak buharlaşmasına bağlanmıştır. Böylece jel yapısının büzülmesini ve çökmesini azaltmıştır. Biyoaktif cam partiküllerinin sentezi için dondurarak kurutmanın kullanımı Hong vd. tarafından gösterilmiştir, ancak camın morfolojik özellikleri belirsizdir (Hong vd., 2009)

Çizelge 3.4. Farklı kurutma yolları kullanılarak işlenen biyoaktif camların partikül morfolojisi.

Kurutma yolu	Cam türü	Yüzey alanı (m ² /g)	Gözenek çapı (nm)	Gözenek seviyesi (cm ³ /g)	Ref.
Fırın	S70C30	135	9	0,3	(S. Lin, Ionescu, Pike, Smith, ve Jones, 2009)
	100S	400	< 2	0,28	
Ortam	58S	289	3,4	0,49	(Zhong ve Greenspan, 2000)
	77S	431	3,0	0,32	
	100S	650	2,6	0,3	
Yüksek nem	58S	151	13,2	0,45	(Zhong ve Greenspan, 2000)
	77S	389	4,0	0,41	
	100S	471	3,0	0,33	

3.7.5. Sinterleme rejimleri

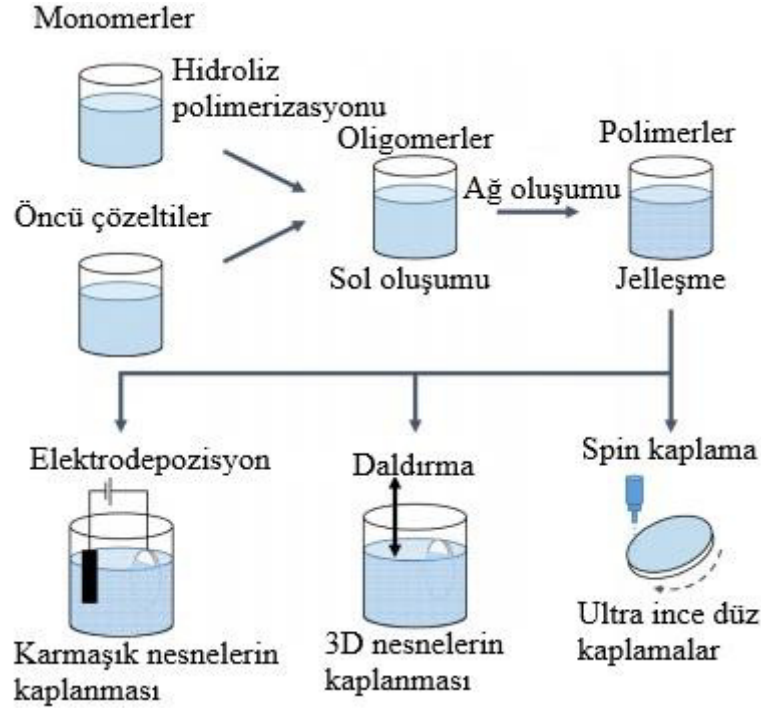
Jel ağı, kalsiyum ve fosfat grupları ve gözenek likörü ile çevrelenmiş silika kolloidal parçacıkların bir karışımıdır. Kurutma işleminden sonra, kalsiyum silika nanoparçacıklarının yüzeyinde birikir. Bu aşamada, zincir benzeri kümeler veya ayrı parçacıklar biçiminde yapısal birimleri olan parçacıklar, 5-8 nm boyutunda ikincil parçacıklar olarak tarif edilir.

Çalışmalar, kalsiyumun silikat ağına füzyonu için minimum 450°C'nin gerekli olduğunu göstermiştir. Organik fazı çıkarmak için 500°C'nin üzerindeki sıcaklıklara ihtiyaç duyulurken, nitratların ve silanol gruplarının artık maddelerini ortadan kaldırmak için 600°C ve üzerinde bir sıcaklık gereklidir. Bununla birlikte, 800°C'nin üzerinde camın amorf hali kristal bir faza geçecektir. Lin vd. ısıtılardan sonra, ikincil parçacıkların yüksek sıcaklıklarda sinterlemenin neden olduğu viskoz akışlardan üçüncül parçacıklar oluşturmak için birbirleriyle birleşeceğini göstermiştir (Lin vd., 2006). Viskoz akış ve

partikül füzyonunun rastgele doğası nedeniyle nanoparçacık şekli, gözenek boyutu ve gözenek hacminin heterojen olduğu ileri sürülmüştür. Bu Saravanapavan ve Hench'in bulgularının aksine, düzenli nanoparçacık morfolojisine işaret etmiştir. Çalışma, boru şeklindeki gözeneklerin, "mürekkep şişeleri" şeklini alan nanopartiküller içinde bulunduğunu göstermiştir. Mürekkep şişesi por şekilli gözeneklerin boğaz boyutlarının yaklaşık 16,6 nm çapında, oyuk büyüklüğünün yaklaşık 29 nm çapında olduğu bulunmuştur.

3.8. Sol-Jel Kullanarak Kaplama Teknolojisi

Bazı olumlu yönler, biyoaktif cam işleme için araştırma alanlarında sol-jel yöntemini en çok kullanılan teknik olarak yerleştirir. Daha önce belirtildiği gibi, sol-jel yöntemi ile daha kontrollü bir bileşim ve homojenliğe sahip biyoaktif camlar elde etmek mümkündür. Ayrıca, sol-jel türevi camlar, eriyik türevi olanlardan daha geniş bir bileşim aralığında biyoaktivite gösterir. Buna ek olarak, kaplama teknolojisi açısından, sol-jel karakteristikleri alt-tabakaya kaplama uygulaması için büyük bir çok yönlülük sunar (Vichery ve Nedelec, 2016). Sol-jel yöntemi, kimyasal bir yolla camları sentezlemek için düşük sıcaklıklı bir tekniktir. Bu yöntem, cam öncüllerinin, tipik olarak metal alkoksitlerin ve metal nitratların bir çözücü içinde çözülmesinden oluşur ve bundan sonra hidroliz ve polikondenzasyon reaksiyonlarının bir sonucu olarak bir jel elde edilir. Bu jeli birleştirmek için, kalan çözücünün çıkarılmasıyla kurutma işlemi gereklidir ve yoğun bir yapı elde etmek için 600°C ile 900°C arasında bir son ısıl işlem gereklidir (Ramila vd., 2002). Dahası, aşağıdan yukarıya ve düşük sıcaklıkta bir sentez göz önünde bulundurularak, bu kimyasal yol genellikle biyoaktif camlara, örneğin nanoparçacıklara, mezo gözeneklere ekstra özellikler kazandırmak için bileşime daha karmaşık elemanlar eklemek için bir araç olarak kullanılır ve antibakteriyel ajanlar eklenebilir (Baino vd., 2017; Galarraga-Vinueza, Mesquita-Guimarães, vd., 2017; Galarraga-Vinueza, Passoni, vd., 2017; Owens vd., 2016). Sonuç olarak, sol-jelin artan başarısı, gerektiğinde protein emilimini ve hücre yapışmasını destekleyen yüksek özgül yüzeye sahip kontrollü gözenekli bir mikroyapı sağlayan çok çeşitli biyoaktif cam kaplamaların üretilmesi olasılığından kaynaklanmaktadır. Sol-jel jelasyon durumu sırasında, birkaç kaplama tekniği uygulanabilir. Şekil 3.15'te üç tekniğin bir örneği gösterilmiştir: elektrodpozisyon, daldırma ve spin (döndürerek) kaplama.



Şekil 3.15. Elektrodepozisyon, daldırma ve spin kaplama teknikleri için bir kaynak olarak biyoaktif sol-jel cam için şematik prosedür (Owens vd., 2016)

Bu tekniklerin her birinin kullanımı altlık şekline ve gerekli kaplama özelliklerine bağlı olacaktır. Örneğin, spin kaplama durumunda, alt tabaka düz olmalıdır. Kalınlık kaplama 40 nm ile 10 μm arasında değişecek ve sol-jel viskozitesi, dönme hızı ve zamana bağlı olacaktır. EPD durumunda, alt tabaka süspansiyon ortamında elektriksel olarak iletken olmalı ve karmaşık bir şekle sahip olabilir. Kaplama kalınlığı malzemelerin yapısına ve birikim parametrelerine yük veya zamana bağlı olarak 1 ile 100 μm arasında değişir. Daldırma kaplama sol-jel yöntemi için çok yönlü kaplama tekniğidir. Ayrıca, altlığın kısa bir süre için sol-jele daldırılmasına ve daha sonra kontrollü bir oranda ekstrakte edilmesine dayanan teknikler nedeniyle büyük bir avantaja sahiptir. Kaplama kalınlığı ve sol-jel viskozitesi kontrol edilebilir. Bu kaplama tekniği 3D nesnelere ve 3D gözenekli yapılarda kullanılabilen ilginç bir tekniktir. Bu durumlara ek olarak, sol-jeli tüm yüzey yapısını kaplamaya zorlamak için vakumda da kullanılabilir (Mesquita-Guimarães vd., 2017).

Örnek olarak çok katmanlı kaplama konstrüksiyonu için spin-kaplama tekniğine sahip olan Mozafari vd. sol-jel spin-kaplama yöntemi ile biyoaktif cam/zirkonyum titanat kompozit ince filmler üretmiştir. Sonuçlar, proses değişkenlerinin optimizasyonu ve

dispersiyon ajanı olarak karboksimetil selülozun uygulanmasıyla başarılı bir şekilde hazırlanan düzgün çok katmanlı ince filmleri göstermektedir. Ayrıca, çok katmanlı kaplamaların kalınlığının ve pürüzlülüğünün, katmanların sayısının artmasıyla doğrusal olmayan bir şekilde arttığı bulunmuştur. Biyoaktif ve inert bileşenleri içeren bu yeni nanokompozit kaplama sınıfının biyo uyumluluk, biyoaktiviteyi artırması, metalik implantların yüzeyini aşınmaya ve korozyona karşı koruması beklenmektedir (Mozafari vd., 2013).

Sol-jel kullanarak EPD örneği olarak Mehdipour vd.'nin çalışmasında sol-jel işlemleriyle submikronik biyoaktif cam parçacıkları sentezlenmiştir. Daha sonra EPD tekniği kullanılarak 316L paslanmaz çelik alt-tabakaya kaplanmıştır. Biyoaktif cam tozlarının C₂H₅OH çözücü içinde stabil süspansiyonu, zeta potansiyelini $16,5 \pm 1,6$ 'dan $20,3 \pm 1,4$ 'e (mV) arttıran trietanol amin (TEA) ilavesiyle hazırlanmıştır. SEM çalışmaları, artan EPD voltajının daha fazla toplanmış parçacıklı, artırılmış gözenekli ve mikro çatlaklı kaplamaya yol açtığını göstermiştir (Mehdipour vd., 2012).

Hamadouche vd. sol-jel biyoaktif, cam kaplı alümina implantların in vitro ve in vivo osteokondüktif özelliklerini araştırmışlardır. 58S ve 77S sol-jel bileşimi, alümina altlıkları üzerinde kaplama olarak kullanılmış ve tavşana implante edilmiştir. 58S sol-jel kaplama, tekli (A58S1) ve çift katmanlı (A58S2) olmak üzere iki konfigürasyonda kullanılmıştır. SBF'ye daldırdıktan 1 hafta sonra yapılan SEM analizi, küçük kristallerin HA formasyonunun başlangıç fazını temsil ettiğini varsaymıştır. A58S1 implantlarının, kemik yüzdesi 3 hafta sonra % 45'ten 24 hafta implantasyondan sonra % 88'e önemli ölçüde artış göstermiştir (Hamadouche vd., 2001).

3.9. Sitotoksosite

BGN'lerin sitotoksitesi, cam bileşimi, kullanılan konsantrasyon, partikül şekli ve boyutu gibi birçok parametre ile ilgilidir (Hoppe vd., 2011; Labbaf vd., 2011). Nanopartiküllerin konsantrasyonu, malzeme özelliklerini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Genel olarak, daha yüksek bir konsantrasyon, hücreler için daha yüksek toksik riske yol açabilir (Ajita vd., 2015; Detsch vd., 2016). Y. Li vd.'nin yaptığı çalışmada daha düşük dozda daha küçük boyutlu (61–327 nm) nano ve mikro biyoaktif

cam (NMBG) parçacıkların daha az sitotoksik olduğu bulunmuştur (Li vd., 2016). Hücreler daha düşük konsantrasyonlarda büyüme ortamına daha kolay adapte olabilir (Rismanchian vd., 2013). Yeni biyomalzemelerin biyouyumluluğu ve sitotoksitesi, klinik öncesi uygulamalardan önce ele alınması gereken önemli bir konudur. Biyoaktif camların 0,5, 1, 1,5, 2, 5, 10, 15 ve 20 mg/mL konsantrasyonlarının sitotoksitesi değerlendirildiğinde sonuçlar, biyoaktif camların 5, 10, 15 ve 20 mg/mL konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklara sahip olduğunu göstermiştir. Nanotoz biyoaktif camın sitotoksitesinin 2 mg/mL konsantrasyonlarda 24 ve 48 saatte mikro toz biyoaktif cama benzer olduğu, ancak uygulamaların ilk 48 saatinde ≥ 5 mg/mL konsantrasyonlarda daha sitotoksik olduğu sonucuna varılmıştır (Rismanchian vd., 2013). Jun vd.'nin çalışmasında % 50 özütte inkübasyonla, özellikle, DC ve BA gruplar neredeyse % 10 hücre canlılığına sahipti. % 25 özütte inkübasyon ile tüm gruplar, kontrolden önemli ölçüde daha az hücre yaşayabilirliği göstermiştir. % 12,5, % 6,25 ve % 3,125 grupları, kontrole kıyasla önemli ölçüde farklı değildi (Jun vd., 2017).

Konsantrasyonun yanı sıra, BGN'nin tane boyutu da etkiler. Bunların toksisiteleri, farklı boyuttaki BGN'nin farklı çözünme hızları ve hücreler tarafından alım koşulları sergilemesiyle ilgilidir. Daha küçük BGN genellikle daha hızlı çözülür ve daha hızlı bir pH değişikliğine veya iyon birikimine yol açar ve bu da hücreleri olumsuz etkileyebilir (Lewinski vd., 2008; Napierska vd., 2009). Ek olarak, nanopartiküllerin alımı hücrelere zarar verebilirken, daha küçük partiküller hücre alımı kolaylaştırabilir (He vd., 2009). Sadece tane boyutu değil, aynı zamanda parçacıkların şekli ve yüzey yükü de hücre alımı etkileyebilir. Daha büyük en-boy oranlarına sahip partiküllerin hücreler tarafından daha büyük miktarlarda alındığı ve daha hızlı içselleştirme oranları sergilediği bildirilmiştir (Huang vd., 2010). Dahası, BGN'nin hücrelere maruz kalma süresi de sitotoksiteyi etkiler (Napierska vd., 2009). Labbaf vd. 85SiO₂-15CaO (% mol) bileşimi ile BGN'nin (~ 250 ± 75 nm) insan MSC'lerine karşı sitotoksitesini araştırmıştır. BGN, kültürde dört gün sonra yalnızca bariz sitotoksite sergilerken, kültürde yedi gün sonra hücre canlılığında önemli bir azalmaya neden olmuştur. Bu zamana bağlı sitotoksite, kültür süresi boyunca salınan iyonların birikmesi ile ilgili olabilir (Labbaf vd., 2011).

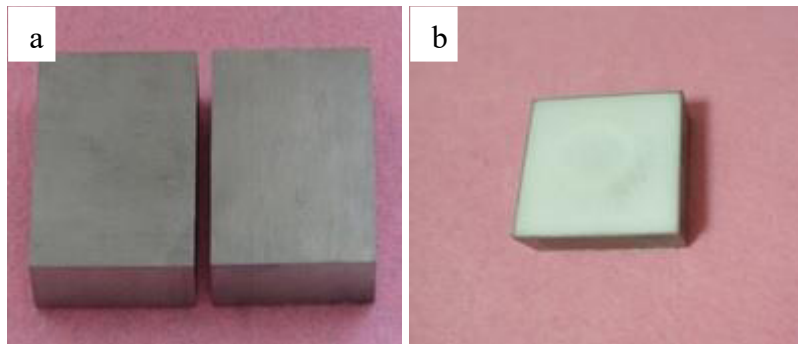
Genellikle sitotoksite, bileşiklerin reaktivitesiyle ilişkilidir. Biyoaktif cam parçacıkları ve çevre arasında iyon değişimi daha fazlaysa, yüzey değişiklikleri numunenin

daha yüksek sitotoksitesine neden olur (Kaur vd., 2014). Biyoaktif malzemeler, kimyasalları zamanla iyonik çözünme ürünü formunda serbest bırakarak hücre büyümesini uyarır (Kumar vd., 2020).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. R8 Kompozisyonunun Hazırlanması

R8 kompozisyonunun hazırlanmasında TEOS Merck, TEP Merck, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Acros organics, HCl Isolab chemicals, PVP Acros organics, Sodyum aljinat Carlo Erba reagents, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ J.T. Baker ve PEG Acros organics firmasından sağlanmıştır. Katılan PVP K90 'nin ortalama molekül ağırlığı 360,000 g/mol'dür. Timed Metal makine ith.ihr.san. ve tic.ltd.şti 'den satın alınan Ti6Al4V altlıklar (10 x 30 x 30 mm) aseton ile temizlenmiştir. Solün hazırlanması için, SiO_2 kaynağı olarak sıvı TEOS, P_2O_5 kaynağı olarak TEP, CaO kaynağı olarak $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ kullanılmıştır. 15 ml TEOS, 3 ml TEP, 1,5 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,25 ml HCl, 0,25 ml distile su, 2 g PVP K 90, 0,05 g sodyum aljinat, ve 10 ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 1 saat karıştırıldıktan sonra yaşlandırılmıştır. Daha sonra elde edilen karışıma 1 g PVP K 90 ve 40 ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ daha ilave edilip karıştırılmaya devam edilmiştir. PVP'nin karışımın içinde tamamen çözünebilmesi için bir gün daha bekletilen karışım püskürterek Ti6Al4V altlıklara uygulanmıştır (Şekil 4.1). Ti6Al4V altlıklara uygulamadan önce homojen çökelmeyen bir çözelti elde edilmiştir. Elde edilen sollar saydam ve homojendi. Kaplamalar 600°C , 300°C , 200°C , 150°C ve 100°C 'de ısıl işleme tabi tutulmuştur. Oluşan yüzeyler öncelikle görsel olarak değerlendirilmiş ardından STA ve FE-SEM analizi yapılmıştır. 600 ve 300°C 'de ısıl işlem gören kaplamaların yüzeyi incelendiğinde polimerin yandığı tespit edilmiştir. Isıl işlem görmemiş, 100 , 150 ve 200°C 'de ısıl işlem gören numunelere FE-SEM analizi yapılmıştır. Çıkan sonuçlar değerlendirilerek kaplamaların ısıl işlem sıcaklığı 200°C olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. (a) Ti6Al4V altlıklar (b) Ti6Al4V altlığın kaplanmış hali

4.2. R13 Kompozisyonu Biyoaktif Cam Tabletlerin Hazırlanması

R13 kompozisyonun hazırlanmasında TEOS Merck, TEP Merck, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Acros organics, HCl Isolab chemicals firmasından sağlanmıştır. Biyoaktif camın bileşenleri (% mol), % 60 SiO_2 , % 36 CaO , % 4 P_2O_5 'tir. Kompozisyonda TEOS, TEP, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, deiyonize su ve HCl kullanılmıştır. Bu çalışmada hazırlanan sol dört adımda yapılmıştır. İlk olarak, biyoaktif camın oranına göre, sırasıyla 15,64 g su ve 2,60 g HCl (2 M) karışımına 20,48 g TEOS, 2,32 g TEP, 14,04 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ katılmıştır. Karışım homojen hale gelinceye kadar sürekli manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra zeta potansiyel ölçümü yapılmış ve ölçüm değeri $-0,0245$ mV olarak bulunmuştur. İkinci olarak, polikondensasyonun hidrolizinin tamamen reaksiyona girmesi için sol, oda sıcaklığında 48 saat yaşlandırılmıştır. Bu süre içinde sol şeffaf jel halinde katılaşmıştır. Şeffaf halde katılaşma monomerleşmenin olduğunun göstergesidir. Üçüncü adımda jel sistemdeki fazla su ve $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 'in çıkarılması için 60°C ve 120°C 'deki etüvde sırasıyla 24 saat boyunca tutulmuştur (Chen vd., 2018). Bu sıcaklıkta ısı işlem gören numune şeffaf halden beyaz renge dönüşmüştür. Bu soldeki polimerizasyonun tamamlandığını gösterir. Son olarak, kurutulmuş jel, reaksiyona girmemiş organik maddenin çıkarılması için 650°C 'deki fırında 3 saat ısı işlemine tabi tutulmuştur. Böylece numunede yanma reaksiyonu olmuştur. 650°C 'de 3 saat tutulan numune havanda öğütüldükten sonra yapılacak her bir tablet için 0,5 şer gram tartılmıştır. Mukavemeti artırmak, biyoaktif cam tabletlerin gerilme derişimi etkisini azaltmak için büyük biyoaktif cam parçacıkların tane boyutunu öğütterek azaltmak gerekir. Daha sonra öğütülmüş 58S biyoaktif cam tozu kullanılarak Carver marka el presinde 22000 pounds (10 metrik ton) basınç uygulanarak tablet formuna getirilmiştir. Şeffaf jel halinde katılaştıran sol ve üretilen biyoaktif cam tabletler Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Şeffaf jel halinde katılaştıran sol, oluşturulan biyoaktif cam tabletler

4.3. R14 Kompozisyonu Biyoaktif Cam-Seramik Tozunun Hazırlanması

R14 kompozisyonunda, 45S5 biyoaktif cam-seramik tozu hazırlanmıştır. Sol-jel 45S5 malzemelerinin sentezi için TEOS, TEP, NaNO₃, Ca(NO₃)₂.4H₂O kimyasalları öncü ve HNO₃ katalizör olarak kullanılmıştır. Hazırlanan 45S5 biyoaktif cam bileşenleri (% mol), % 46,1 SiO₂, % 24,4 Na₂O, % 26,9 CaO ve % 2,6 P₂O₅'dir. Kullanılan TEOS Merck, HNO₃ ISOLAB Chemicals, TEP Merck, Ca(NO₃)₂.4H₂O Acros Organics, NaNO₃ Merck firmasından temin edilmiştir. 1 M HNO₃ çözeltisi oluşturmak için 94,66 ml distile suya 7,04 ml % 65 HNO₃ ilave edilmiştir. Öncülün hidrolizini sağlamak için HNO₃ çözeltisine 67 ml TEOS ilave edilmiş ve 1 saat karıştırılmıştır. Daha sonra sırasıyla 5,8 ml TEP, 40,26 g Ca(NO₃)₂.4H₂O, 27,04 g NaNO₃ ilave edilerek 45 dakika daha karıştırılmıştır. Bu karışımın ağzı kapatılarak jelleşme için 2 gün bekletilmiştir. 70 ve 120°C'de 1 gün kurutulan numune kalıntı nitratları uzaklaştırmak amacıyla 700°C'de 1 gün stabilize edilmiştir (Pirayesh ve Nychka, 2013). Stabilize edilen toz öğütülmüştür. Şekil 4.3'te R14 kompozisyonu biyoaktif cam-seramik tozu gösterilmektedir.



Şekil 4.3. R14 kompozisyonunda biyoaktif cam-seramik tozu

4.4. R15 Kompozisyonunun Hazırlanması

Sol-jel yöntemi ile hazırlanmış cam malzemeler SiO₂-P₂O₅-CaO-ZnO (% mol bazında) (% 64 SiO₂, % 26 CaO, % 5 ZnO ve % 5 P₂O₅) sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Ek olarak, in vitro biyoaktivite, SBF'de daldırılarak incelenmiştir. R15 kompozisyonunu için kullanılan TEOS Merck, HNO₃ ISOLAB Chemicals, TEP Merck, Ca(NO₃)₂.4H₂O Acros Organics, çinko nitrat heksahidrat (Zn(NO₃)₂.6H₂O) Merck firmasından temin edilmiştir. Öncelikle 66,65 g TEOS, 150 mL 0,1 M nitrik aside ilave

edilmiştir. Hidrolizinin tamamlanması için 30 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. 4,55 g TEP 30,7 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve 7,45 g $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck) reaktifleri de karışıma sırasıyla ilave edilmiştir. Son ekleme işleminden sonra, hidroliz reaksiyonunun tamamlanmasını sağlamak için 1 saat 35 dakika boyunca karıştırmaya devam edilmiştir. Solüsyon hidroliz ve polikondensasyon reaksiyonlarının jel oluşana kadar gerçekleşmesini sağlamak için oda sıcaklığında ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Jel yapısındaki suyun uzaklaştırılması için 70°C 'de 3 gün ve 120°C 'de 2 gün bekletilmiştir. Kurutulmuş jel daha sonra camı stabilize etmek ve kalıntı nitrati uzaklaştırmak için 24 saat 700°C 'de ısıtılmasına tabi tutulmuştur (Oki vd., 2004). Stabilize edilmiş cam tozu öğütüldükten sonra görüntüsü Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Oluşturulan biyoaktif camların in vitro biyoaktivitesi 14, 21 ve 30 gün 37°C 'de SBF'de bekletilerek değerlendirilmiştir. Toz numuneler 7, 14, 21 ve 30 gün sonunda SBF'den çıkartılırken saf suyla durulanmıştır. Etüvde kurutulan numunelere XRD ve FTIR analizleri yapılmıştır.



Şekil 4.4. R15 kompozisyonunda biyoaktif cam tozu

4.5. R16 Kompozisyonunun Hazırlanması

Bu R16 kompozisyonda başlangıç malzemeleri olarak TEOS, TEP, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, NH_3 ve HNO_3 kullanılmıştır. Dağıtıcı olarak $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ kullanımı, jelasyon sırasında koloidal parçacıkların büyümesini önlemiştir. Tipik 58S biyoaktif camının hazırlanmasında alkali aracılı sol-jel yöntemi kullanılmıştır ($\text{SiO}_2:\text{CaO}:\text{P}_2\text{O}_5 = 58:23:9$, ağırlık oranı). Asit hidrolizini tamamlamak için 43,2 ml TEOS, 27,8 ml distile su ve 2 M HNO_3 (5,6 ml), 100 ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ içinde çözüldü ve oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Daha sonra TEP (4,4 ml) hazırlanan asit silika solünde çözülmüştür. Homojenleşinceye karıştırıldıktan sonra asit çözeltisine 28,08 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ilave edilmiştir. Belli bir

konsantrasyon 2 M NH_3 çözeltisi (20 ml), asit çözeltisine, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ tamamen çözüldükten sonra kuvvetlice karıştırılmıştır. Sol hızlı bir şekilde jelleşmiştir. Daha sonra elde edilen jel, kalan suyu ve $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 'i çıkarmak için 2 gün boyunca 80°C 'de fırında tutulmuştur. Kuru jel tozları, 3 saat boyunca 700°C 'de havada kalsine edilmiştir (El-Kady vd., 2010; Xia ve Chang, 2007).

Biyoaktif cam hazırlama sürecinde jelleşme süresi sol-jelde birkaç saattir. Sol-jel işleminde jelasyon süresini önemli ölçüde düşürülebilmek için NH_3 çözeltisi eklenmiştir. Kompozisyonda 2 M NH_3 çözeltisi kullanıldığından jelasyon süresi, NH_3 çözeltisinin konsantrasyonuna bağlı olarak azalmıştır. Bu çalışmada, NH_3 çözeltisi, $\equiv\text{Si-OH}$ polikondensasyonu için katalizör görevi görmüştür. Polikondensasyon oranı, pH artışı ile artmıştır. NH_3 çözelti konsantrasyonu, alkoksit tipi (metil, etil vb.) faktörler tane boyutunu belirleyen hidroliz ve polikondensasyon kimyasal sürecini kontrol eder. Ek olarak, dağıtıcı olarak $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ilavesi, jelleşme sırasında kolloidin büyümesini önler. NH_3 çözeltisinin kullanılması jelasyon süresini büyük ölçüde azaltmakla kalmaz, aynı zamanda biyoaktif camların boyutunu da etkiler.

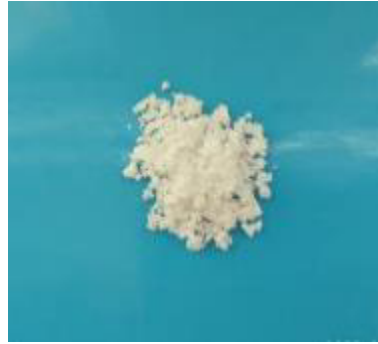


Şekil 4.5. R16 kompozisyonunda biyoaktif cam tozu

4.6. R17 Kompozisyonunun Hazırlanması

Biyoaktif seramik toz sentezlenmesinde (ağırlıkça%) % 45 SiO_2 , % 24,5 CaO , % 24,5 Na_2O ve % 6 P_2O_5 kompozisyonu kullanılmıştır. SiO_2 kaynağı olarak TEOS (Merck), P_2O_5 kaynağı olarak TEP (Merck), CaO kaynağı olarak $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Acros organics), HNO_3 (ISOLAB Chemicals), NaNO_3 (Merck) ve NH_3 (Riedel-de-Haën) firmalarından satın alınmıştır. Sentezlenen biyoaktif seramik tozu, 49,936 g TEOS ve 4,928 g TEP, 120

ml distile suyun manyetik karıştırıcıda karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Karışımın pH değeri, HNO_3 çözeltisi kullanılarak 1,5'e ayarlandıktan sonra 33,016 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve 21,504 g NaNO_3 sırasıyla karışıma ilave edilmiştir. Son olarak, 24 damla % 26 NH_3 çözeltisi ilave edilerek karıştırılmaya devam edilmiştir (Bùi, 2017). Oluşturulan çözeltide NH_3 kullanılması jelleşme süresini azaltmıştır. Elde edilen jel buzdolabında dondurularak jeldeki artık suyun uzaklaşması sağlanmıştır. Oluşturulan kuru jel 1000°C 'de 2 saat ısıtılma tabi tutularak biyoaktif özellikte seramik toz elde edilmiştir. İn vitro biyoaktivite SBF'ye daldırılarak değerlendirilmiş ve numune yüzeyinde apatit oluşumu araştırılmıştır. SBF'ye batırılan numuneler 30 gün boyunca 37°C 'de tutulmuştur. Tozların yüzeyinde apatit tabakasının oluşumu FE-SEM, EDS, XRD ve FTIR kullanılarak doğrulanmıştır.



Şekil 4.6. R17 kompozisyonunda biyoaktif cam-seramik tozu

4.7. SBF'nin Hazırlanması

SBF, biyoaktif maddelerin çözünme hızını test etmek için yaygın olarak kullanılan, insan kan plazmasına benzer bir iyonik bileşime sahiptir. SBF'nin biyoaktif cam ile reaksiyonu, vücut sıvısına benzerdir. Cam yüzeyinde HA veya HCA osteo üretimi için gerekli olan formları oluşturur. SBF literatürde belirtildiği gibi yapılmıştır ve numuneler SBF'de 30 gün bekletilmiştir (ISO standart 23317:2014) (Boccardi vd., 2019; Kokubo ve Takadama, 2006; Menci vd., 2019). Öncelikle Çizelge 4.1'deki sodyum klorür (NaCl), sodyum hidrojen karbonat (NaHCO_3), potasyum klorür (KCl), dipotasyum hidrojen fosfat trihidrat ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), magnezyum klorür heksahidrat ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) kimyasallar sırasıyla 700 ml deiyonize su içinde tamamen çözülmüştür. Yapay vücut sıvı çözeltisinin hazırlanması sırasında pH 7,4 olarak ayarlaması için 39 ml 1 M HCl çözeltisi $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'ın ilave edilmesinden sonra katılmıştır.

Çizelge 4.1. SBF yapımında kullanılan kimyasallar ve miktarları

Sıra	Bileşik	Miktar
1	NaCl	8,035 g
2	NaHCO ₃	0,355 g
3	KCl	0,225 g
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,231 g
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,311 g
6	1M HCl	39 ml
7	Kalsiyum klorür (CaCl ₂)	0,292 g
8	Sodyum sülfat (Na ₂ SO ₄)	0,072 g
9	Tris(hidroksimetil) amino metan ((CH ₂ OH) ₃ CNH ₂)	6,118 g
10	1M HCl	pH 7,4'e ayarlanması için 0-5 ml arasında uygun miktar

SBF'nin pH'ı 7,4'e ayarlanmıştır. Daha sonra Çizelge 4.1'deki sırayla CaCl₂, Na₂SO₄, ((CH₂OH)₃CNH₂) kimyasalları da katılmıştır. Nihai çözelti 37°C, deiyonize su eklenerek 1000 ml, 1 M HCl kullanılarak pH 7,4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Tüm kompozisyonların SBF ile yapılan mineralizasyon deneyi 7, 14, 21 ve 30 günlük farklı süreler boyunca 37°C'de gerçekleştirilmiştir. R13 kompozisyonunda SBF'den çıkartırken aseton tabletlerin mineralizasyon işlemini sonlandırmak için kullanılmıştır. Sırasıyla C₂H₅OH ve deiyonize su ile yıkanan tabletler son olarak kurutmak için 60°C'lik fırında 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra yeni oluşturulan HA'in tablet yüzeyindeki morfolojisi FE-SEM ile gözlenmiştir. HA'in mineral bileşimi ve kristal yapısı, XRD ve Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. R8 kompozisyonunda oluşturulan biyoaktif cam kaplamalar ve R14, R15, R16, R17 kompozisyonlarındaki biyoaktif cam tozları SBF'ye 37°C'de 7, 14, 21 ve 30 gün boyunca daldırılmıştır. Son olarak, kaplamalar ve tozlar SBF ile etkileşimi kesmek için deiyonize su ile durulanmış ve daha sonra etüvde kurutulmuştur. Numunelerin çözünme hızı, SBF'ye jel türevi tozların 7, 14, 21 ve 30 gün boyunca daldırılmasıyla ölçülmüş ve HA oluşumu incelenmiştir. Daldırılmış tozlar üzerinde XRD, FTIR ve FE-SEM, EDS uygulanmıştır. Tozların biyoaktivitesi, SBF'ye daldırma ile değerlendirilmiştir.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

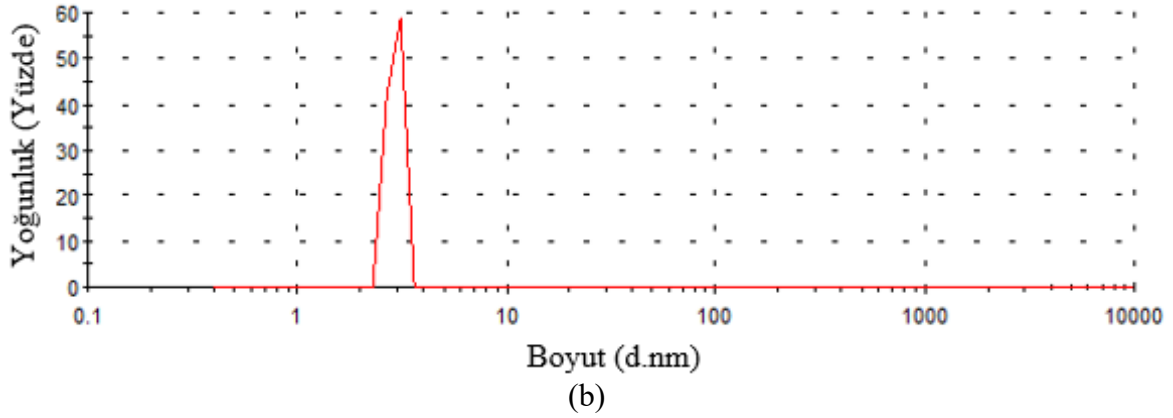
5.1. R8 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları

5.1.1. Zeta-potansiyeli ölçümü

Kolloidal stabilitenin analiz ölçümlerinde Malvern marka, Malvern Instrument ZEN3600 model, Zetasizer Nano ZS zeta potansiyel cihazı kullanılmıştır. Zeta potansiyel ölçümleri 25°C sıcaklıkta ve çözücü olarak su kullanılarak yapılmıştır. Ölçüm sonucunda zeta potansiyel değeri 0,151 mV olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.1 (a)). Bu zeta potansiyeline sahip sol ile homojen, çatlak içermeyen ve düzgün yüzeyli kaplamalar elde edilmiştir. Oluşturulan çözeltide aljinat içeriği düşük olduğundan oluşturulan solün zeta potansiyel değeri pozitif çıkmıştır. Aljinat çözelti içinde negatif bir yük oluşturan anyonik bir biyopolimerdir ve zeta potansiyelini negatif değerlere kaydırır (Cordero-Arias vd., 2015). Dinamik ışık saçılımı (DLS) boyut dağılım analizi için numune hazırlama solün suyla seyreltilmesiyle gerçekleştirildi. Nihai sol, oda sıcaklığında 10 dakika sonikleştirilmiştir. Şekil 5.1 (b), oluşturulan solün boyut dağılımını göstermektedir. Grafikte görüldüğü gibi, parçacıklar sol içinde homojen olarak dağılmıştır. DLS methodu kullanılarak yoğunluğa göre boyut dağılımı 2,945 nm olarak bulunmuştur. DLS ile boyut dağılım analizinde ortalama parçacık boyutunun ise 9,069 nm olduğu bulunmuştur.



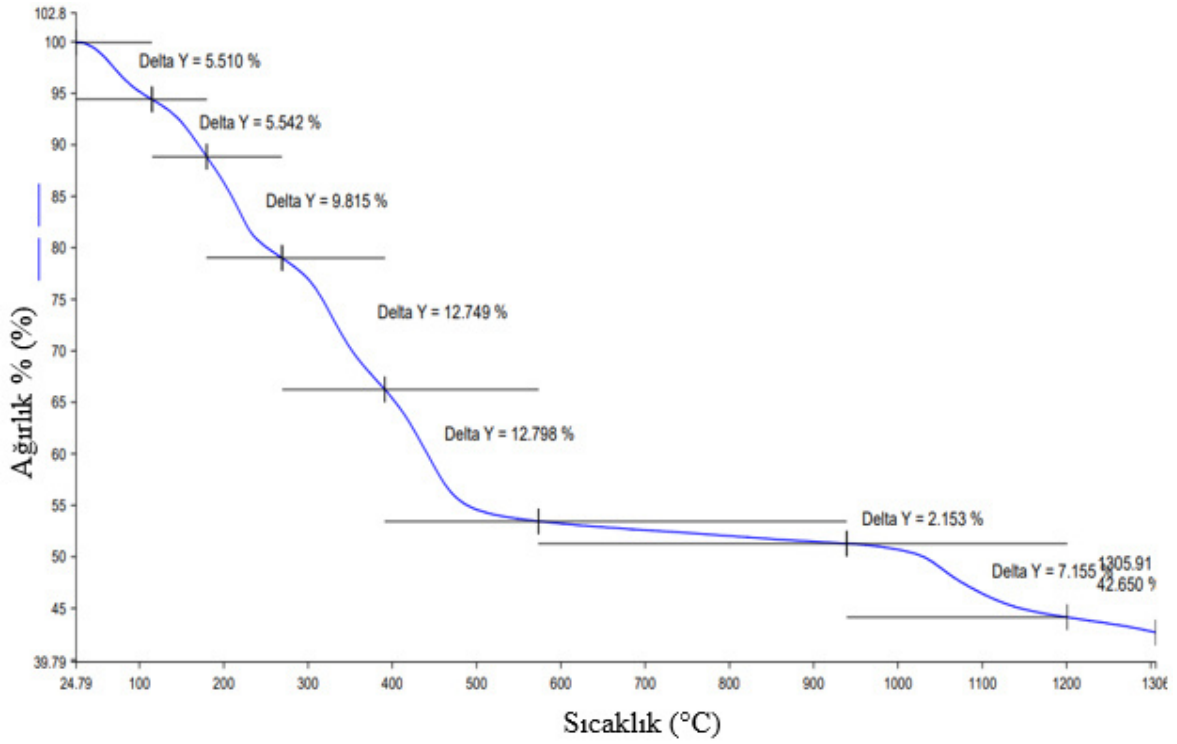
(a)



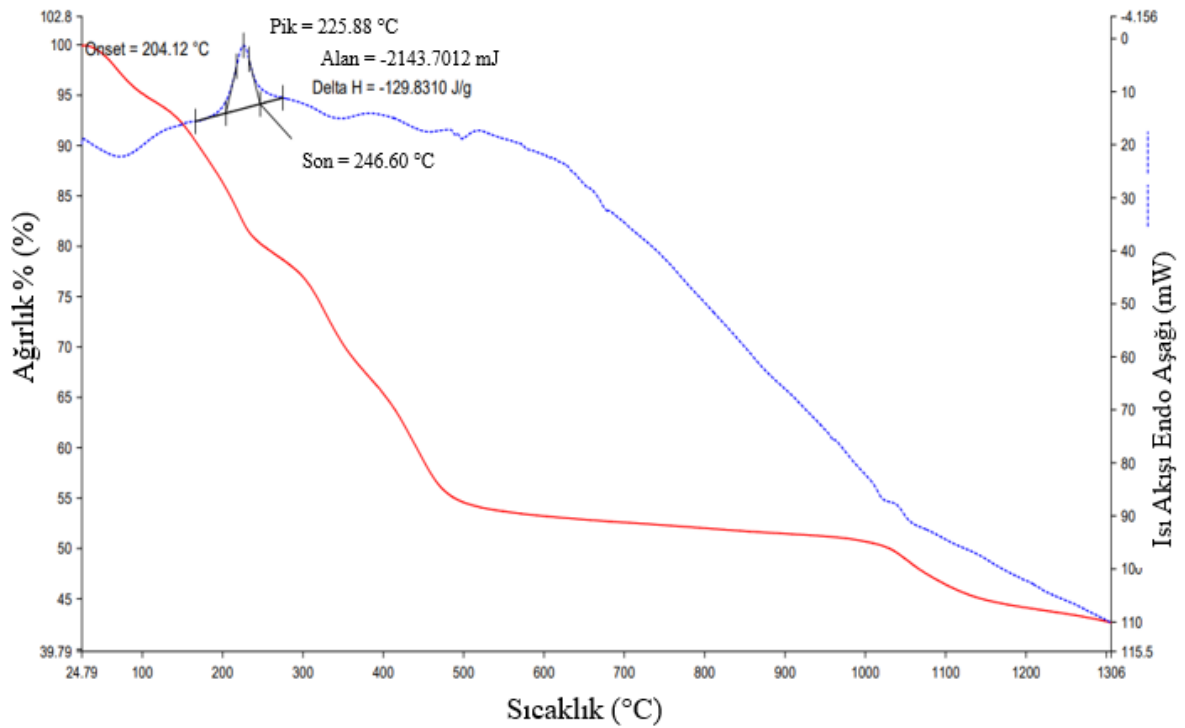
Şekil 5.1. (a) Solün zeta potansiyel dağılımı, (b) yoğunluğa göre boyut dağılımı

5.1.2. STA

STA (Perkin Elmer STA 8000) ile numunenin ısı özellikleri tespit edilmiştir. Hazırlanan biyoaktif cam kaplamanın ısı davranışı, dakikada 10°C sıcaklık artışıyla 1300°C 'ye kadar incelenmiştir. Numunenin termal davranışının grafiksel gösterimi Şekil 5.2 ve Şekil 5.3'de sunulmaktadır. Şekil 5.2'de gösterilen TGA eğrisinden kütle kaybının 8 aşamadan oluştuğu bulunmuştur. Yaklaşık 110°C 'ye kadar toplam ağırlık kaybı % 5,510'dur. 110°C ile 180°C arasında, toplam ağırlık kaybı % 5,542'dir. Üçüncü aşamada, 180 ile 280°C sıcaklık aralığında ağırlık kaybı % 9,815'dir. DTA eğrisi üzerindeki endotermik tepe ile belirtilen ilk geçiş bölgesi, artan çözücünün ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ moleküllerinin) ve fiziksel adsorbe edilmiş suyun buharlaşarak yapıdan ayrılmasını temsil eder. 580°C 'ye kadar hızlı bozulma meydana gelen TGA eğrisinde esasen artık metal alkoksitlerin yoğunlaşmasıyla ilişkili organik bileşiklerin kaybı nedeniyledir. Bu sıcaklık aralığında hem endotermik hem de ekzotermik diferansiyel termal analiz (DTA) zirveleri sırasıyla karbonizasyon ve oksidasyona bağlanabilir. DTA eğrisi üzerinde yaklaşık 960°C 'de gözlemlenen endotermik pik az miktarda artan CaCl_2 veya malzemenin cam geçişine bağlanabilir (Hatcher vd., 2003). R8 kompozisyonunda termo gravimetrik/diferansiyel termal analizi (Tg/DTA) ısı işlem görmemiş numuneye yapılmış, buna göre uygulanması gereken ısı işlem sıcaklığı belirlenmiştir. DTA grafiğindeki ekzotermik reaksiyon incelenmiştir. En yüksek ekzotermik pik sıcaklığı 225°C ve yapıda bozunmanın başladığı sıcaklık olan on set sıcaklığı 204°C olarak tespit edilmiştir. Kaplamalara uygulanacak ısı işlem sıcaklığının yapıda bozunma başlamadan önce olması gerektiği tespit edilmiştir.



Şekil 5.2. R8 kompozisyonuna ait TGA eğrisi

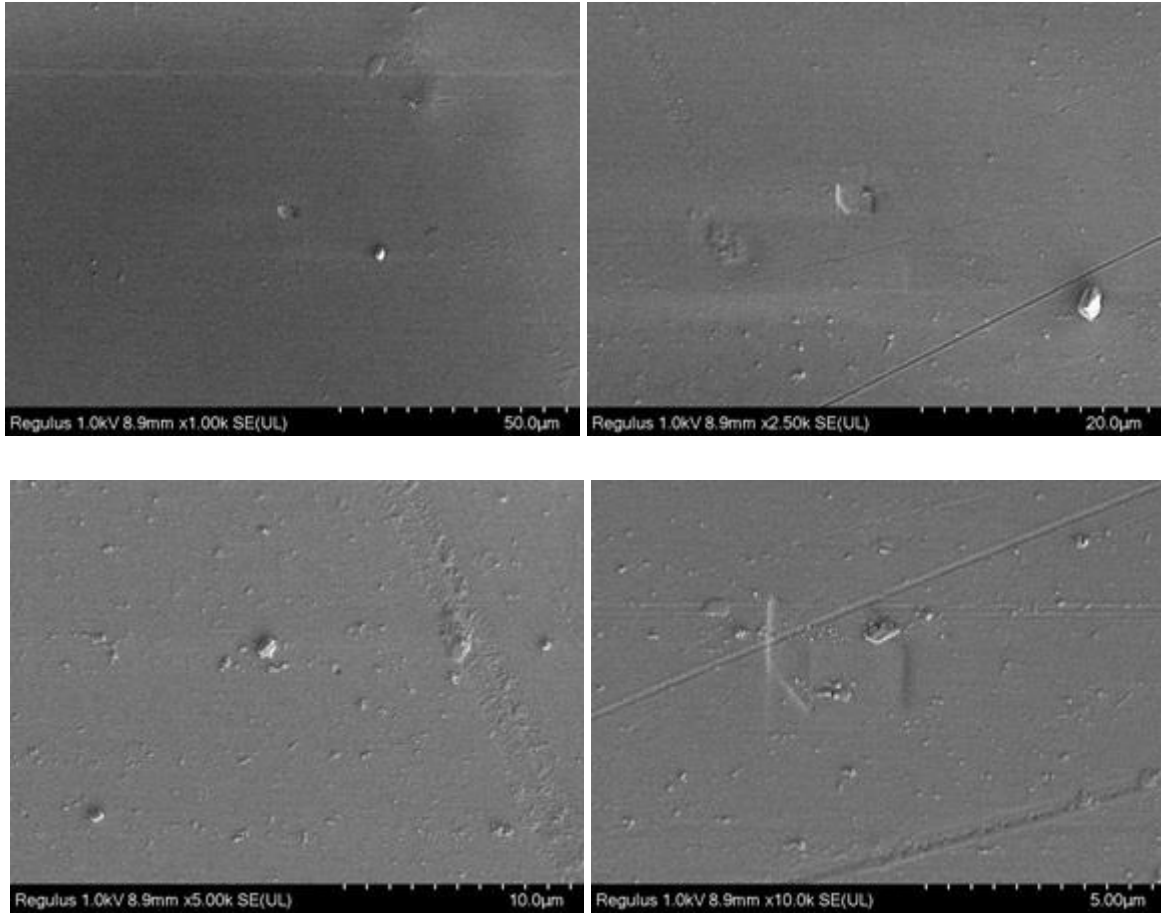


Şekil 5.3. R8 kompozisyonunun STA sonucu

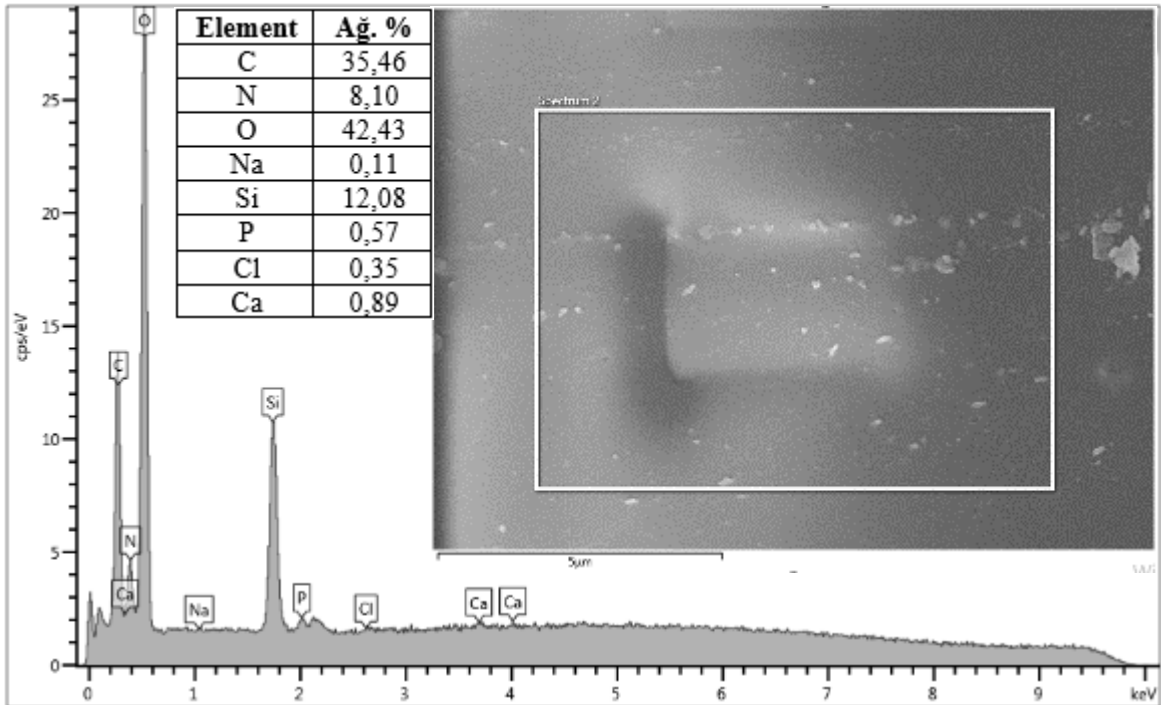
Ayrıca ısıtıl işlem görmemiş, 100°C, 150°C ve 200°C’de ısıtıl işlem görmüş numunelerin FE-SEM ve EDS analizleri incelenmiştir. Yapıda kristallerin oluşum sıcaklığının 200°C olması nedeni ve organik bileşenleri elimine etmek için ısıtıl işlem sıcaklığı 200°C olarak belirlenmiştir. Numunede meydana gelen parçalanma reaksiyonu sonucu enerji açığa çıkmıştır.

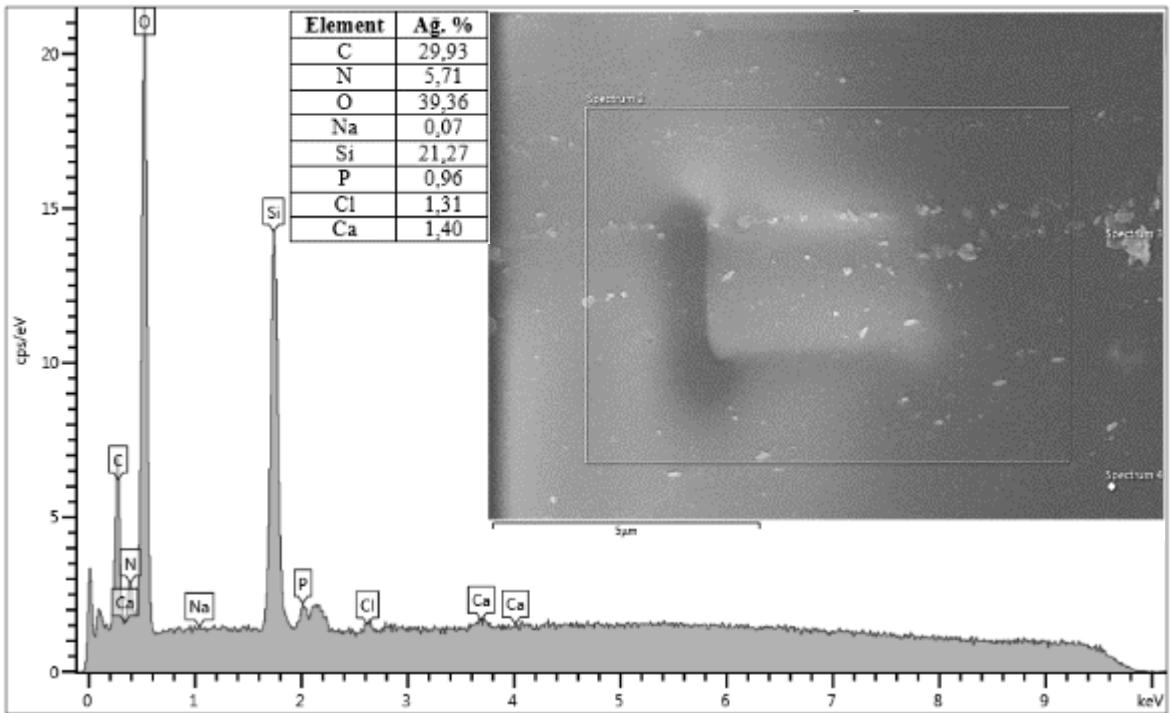
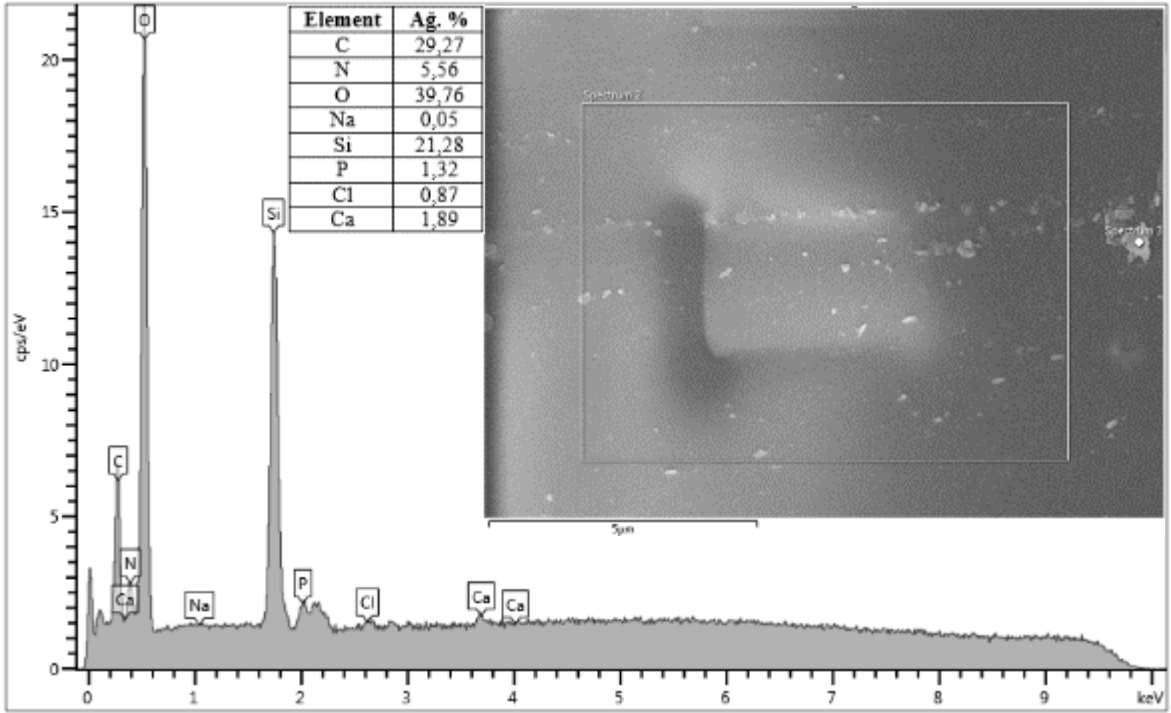
5.1.3. FE-SEM analizleri

FE-SEM analizleri ısıtıl işlem görmemiş, 100, 150 ve 200°C’de ısıtıl işlem gören numunelere Hitachi Regulus 8230 marka cihaz ile yapılmıştır (Şekil 5.4, Şekil 5.6, Şekil 5.8, Şekil 5.10). ısıtıl işlem görmemiş numunenin EDS analizinde kalsiyum/fosfat (Ca/P) oranı sırasıyla 1,56, 1,43 ve 1,46 olarak bulunmuştur (Şekil 5.5). 100°C’de yarım saat ısıtıl işleme tabi tutulan numuneye yapılan EDS analizlerinde fosfata rastlanmamıştır. Ca oranı ise Şekil 5.7’de 8,61, 2,72, 0,77 olarak tespit edilmiştir. 150°C’de yarım saat ısıtıl işleme tabi tutulan numunenin yapılan EDS analizinde Ca/P oranı 4,8, 6,65 ve 13,8 olarak belirlenmiştir (Şekil 5.9). 100 ve 150°C’de yapılan mikro yapı incelemelerinde herhangi bir çubuksu yapıya rastlanmazken 200°C’de yapıda çubuksu yapıların oluştuğu tespit edilmiştir. Görüntüler incelendiğinde sıcaklığın 200°C’ye artmasıyla birlikte kaplamada kristallerin oluştuğu tespit edilmiştir. Kaplama yüzeyinde kristallerin oluşumu yüksek tepkisellik olarak ta yorumlanabilir. 200°C’de yarım saat ısıtıl işleme tabi tutulan numunenin yapılan EDS analizinde Ca/P oranı Şekil 5.11’de 2,96, 4,5, 8,12, 2, 2,2 ve 1,8 olarak tespit edilmiştir. SBF’de 7 gün bekletilen numunelerin FE-SEM analizinde çubuksu yapıların daha da belirgin hale geldiği tespit edilmiştir (Şekil 5.12). Mikro yapı incelemelerinde SBF’de 14, 21 ve 30 gün bekletilen numunelerde çubuksu yapıların yayılma eğiliminde olduğu belirlenmiştir (Şekil 5.14, Şekil 5.16, Şekil 5.18). SBF’de 7 gün bekletilen numunenin EDS analizinde Ca/P oranı 2,20, 2,84 ve 2,1 olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.13). 14 gün bekletilen numunenin Ca/P oranı 6, 11, 4,5, 18 ve 1,8 olarak bulunurken 21 gün bekletilen numunenin oranı 6,2, 2,05, 2,33, 2,06 bulunmuştur (Şekil 5.15, Şekil 5.17). SBF’de 30 gün bekletilen numunenin Ca/P oranı daha da çok artış göstermiştir (Şekil 5.19). Ayrıca bu numunede oluşan HA parçacıkları açıkça görülebilmektedir.

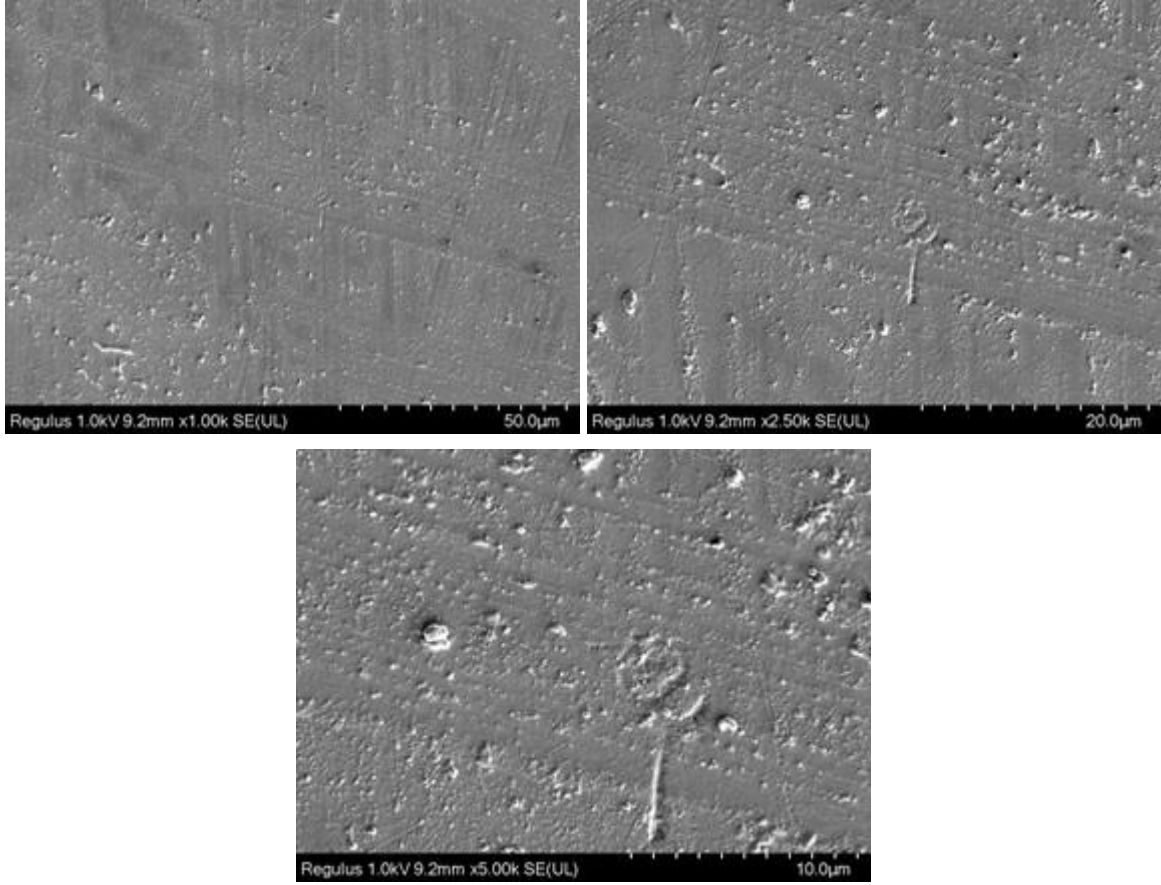


Şekil 5.4. R8 kompozisyonu ısıtılmış numunenin FE-SEM analizleri

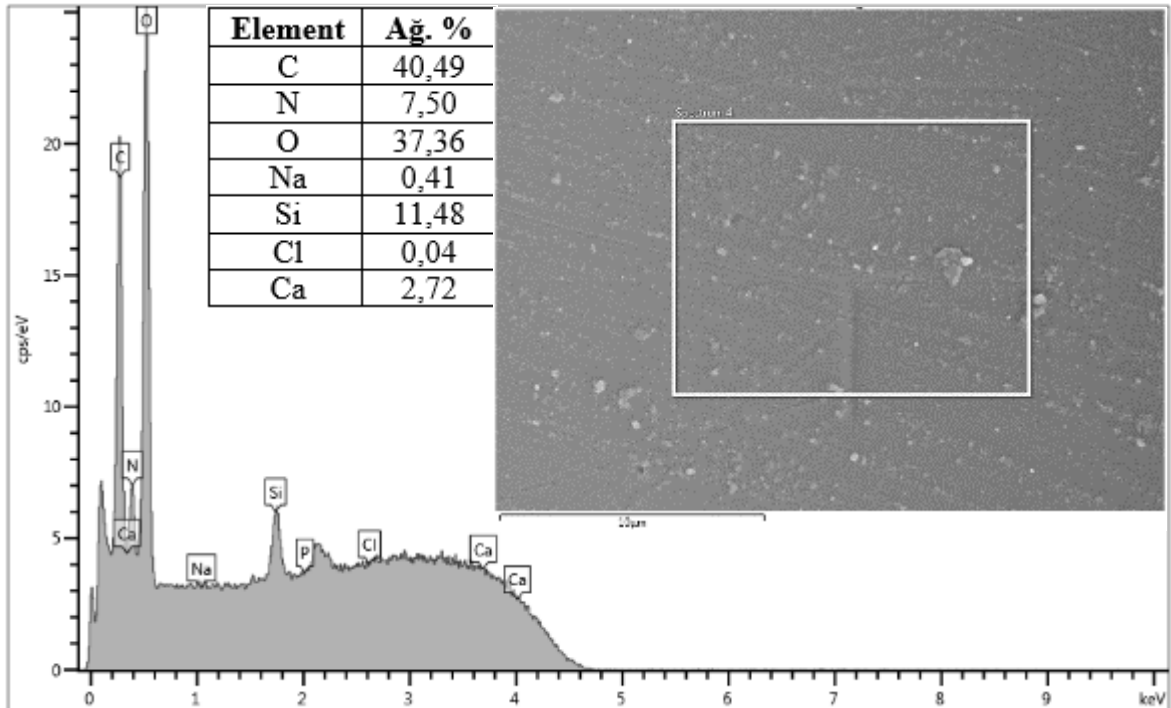


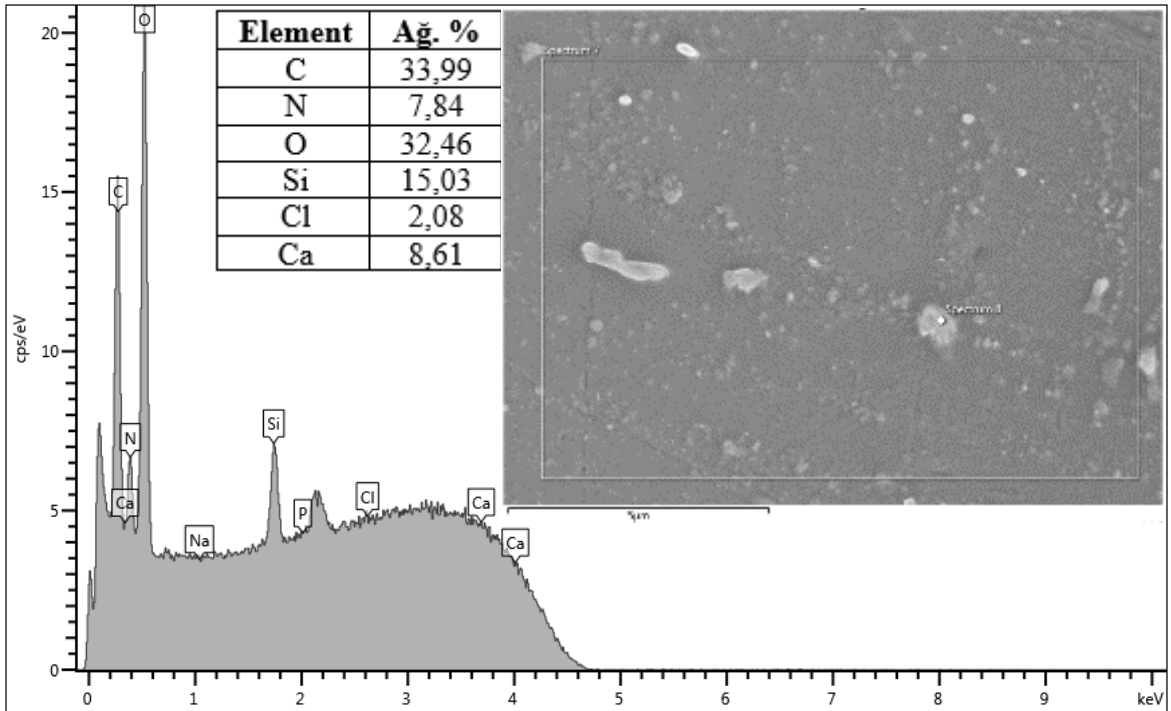
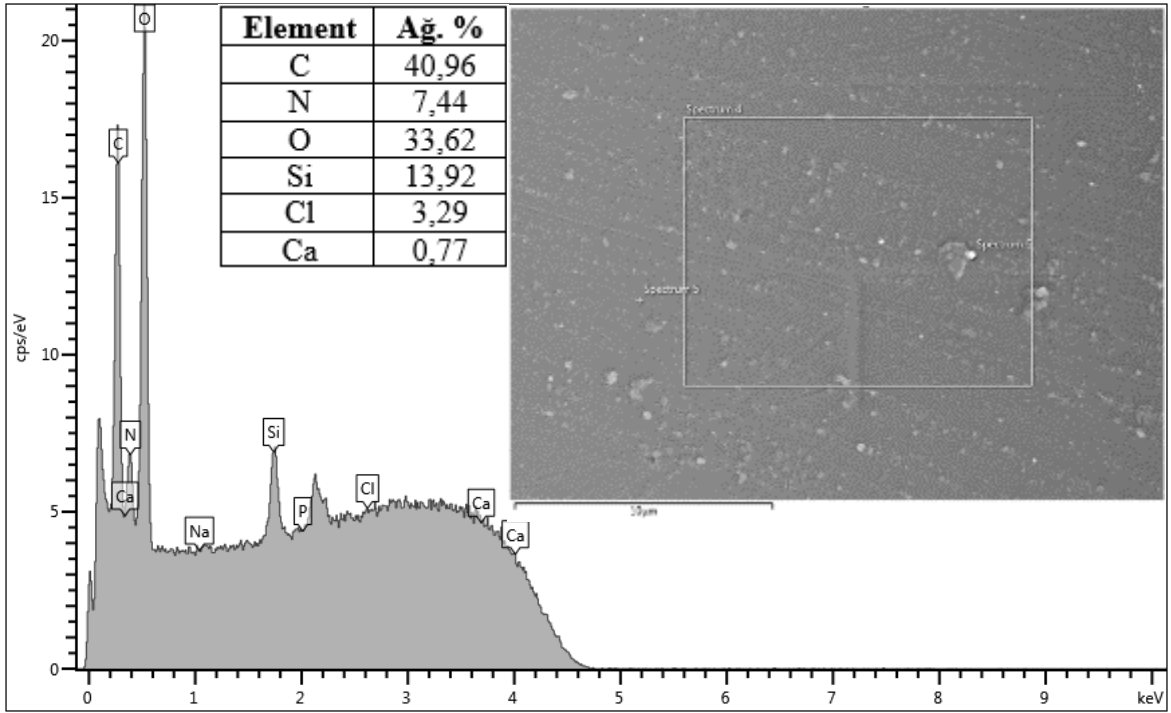


Şekil 5.5. R8 kompozisyonu ısı işlem görmemiş numunenin EDS analizleri

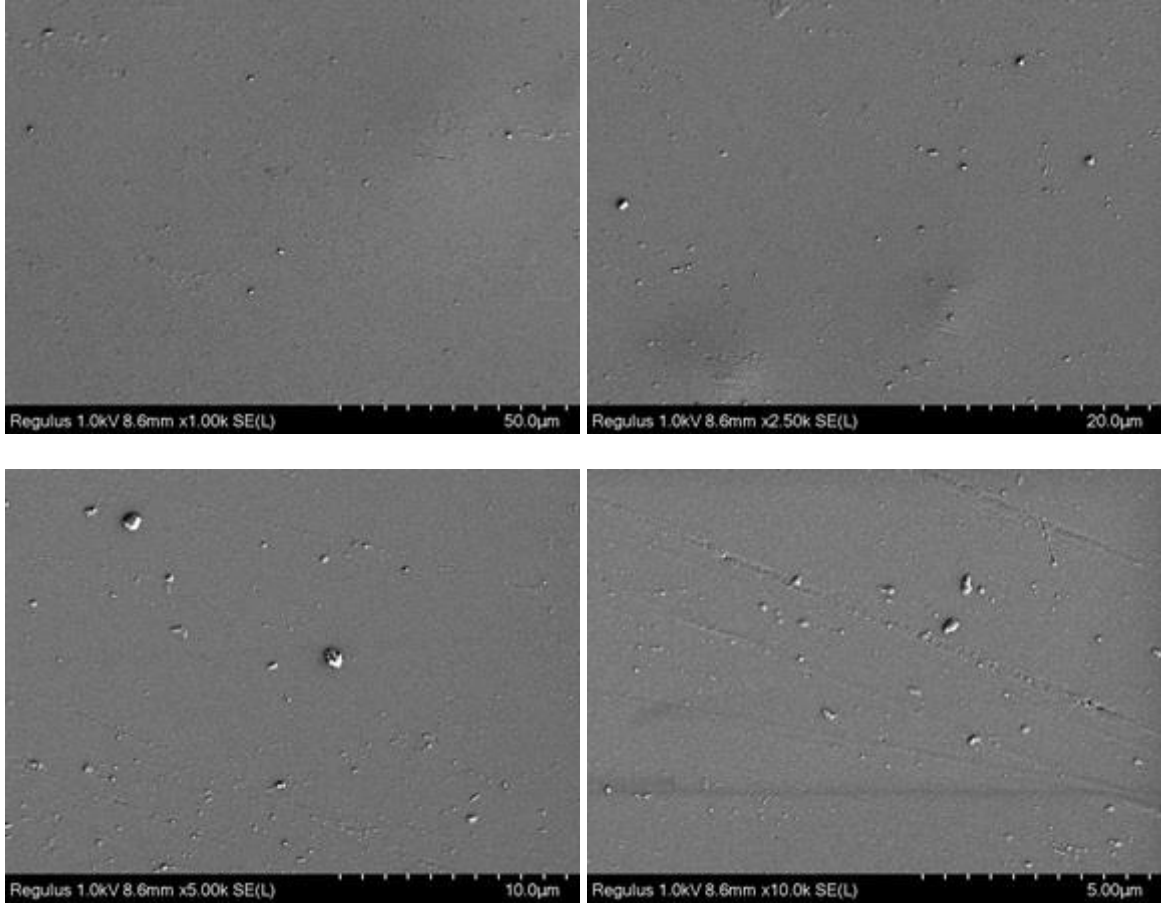


Şekil 5.6. R8 kompozisyonu 100°C’de yarım saat ısıtılma işlemi gören numunenin FE-SEM analizleri

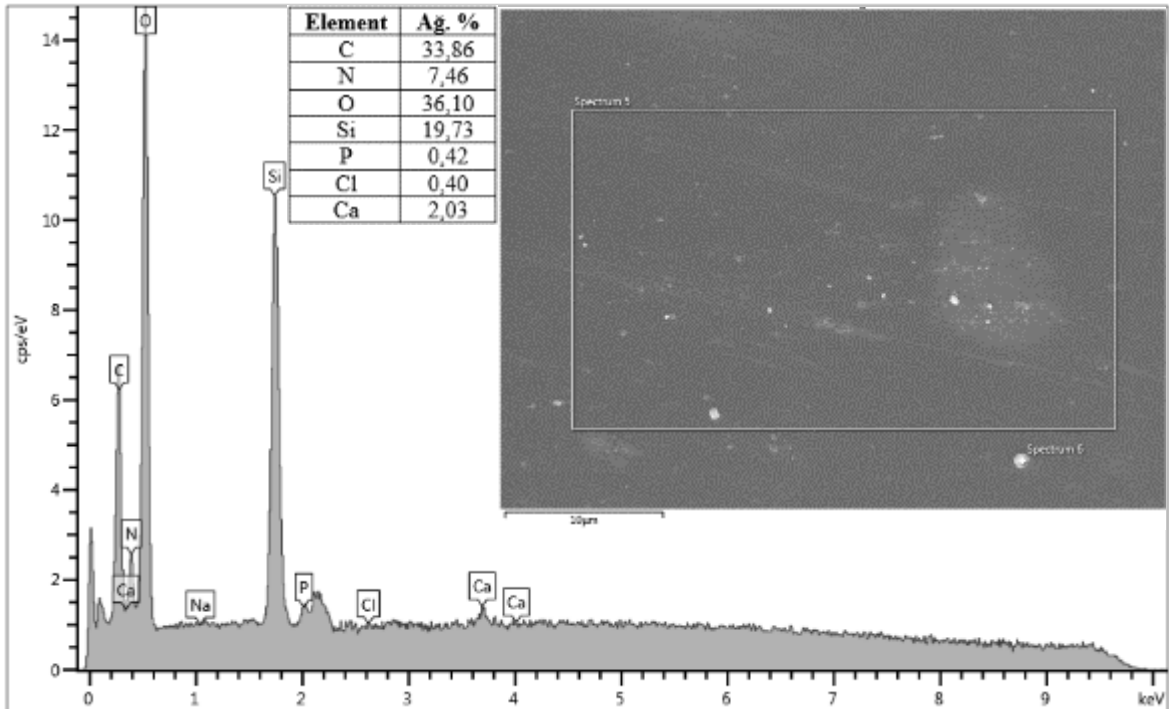


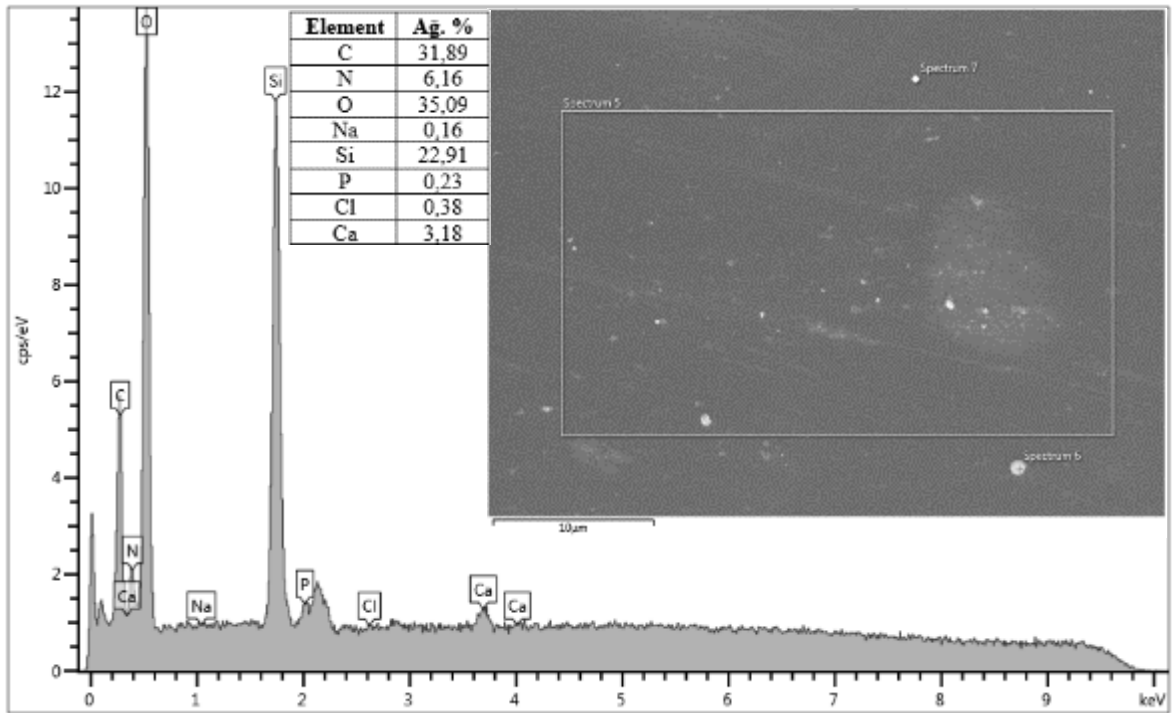
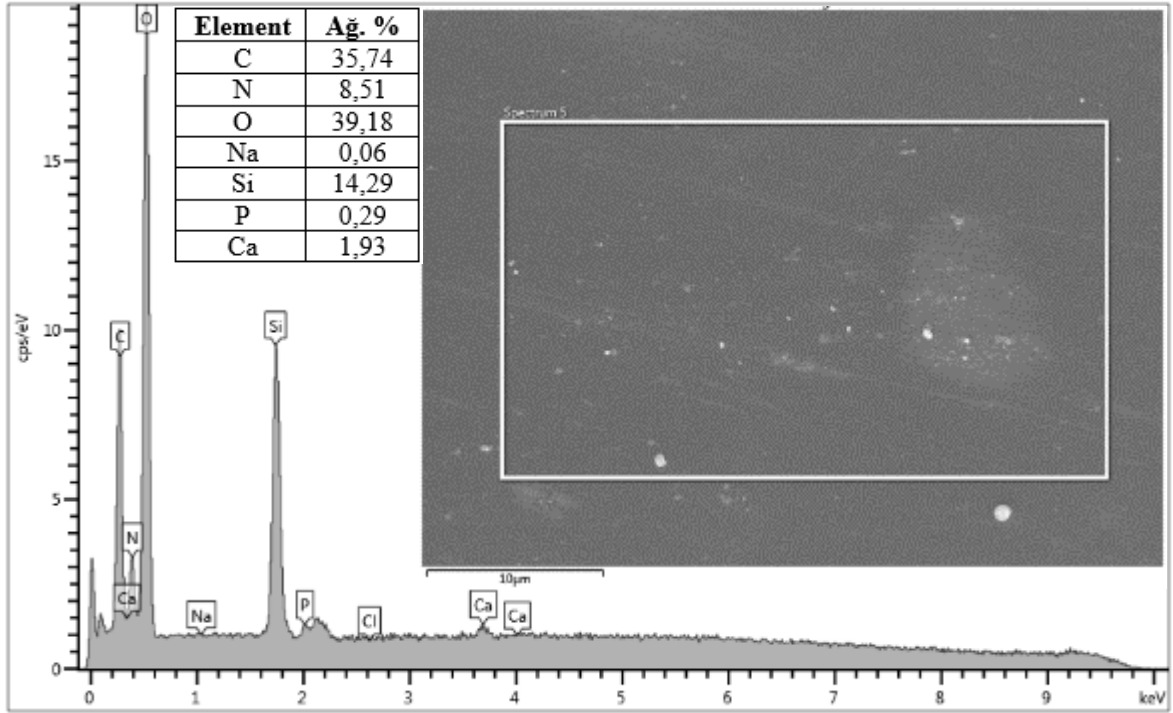


Şekil 5.7. R8 kompozisyonu 100°C’de yarım saat ısıl işleme tabi tutulan numunenin EDS analizleri

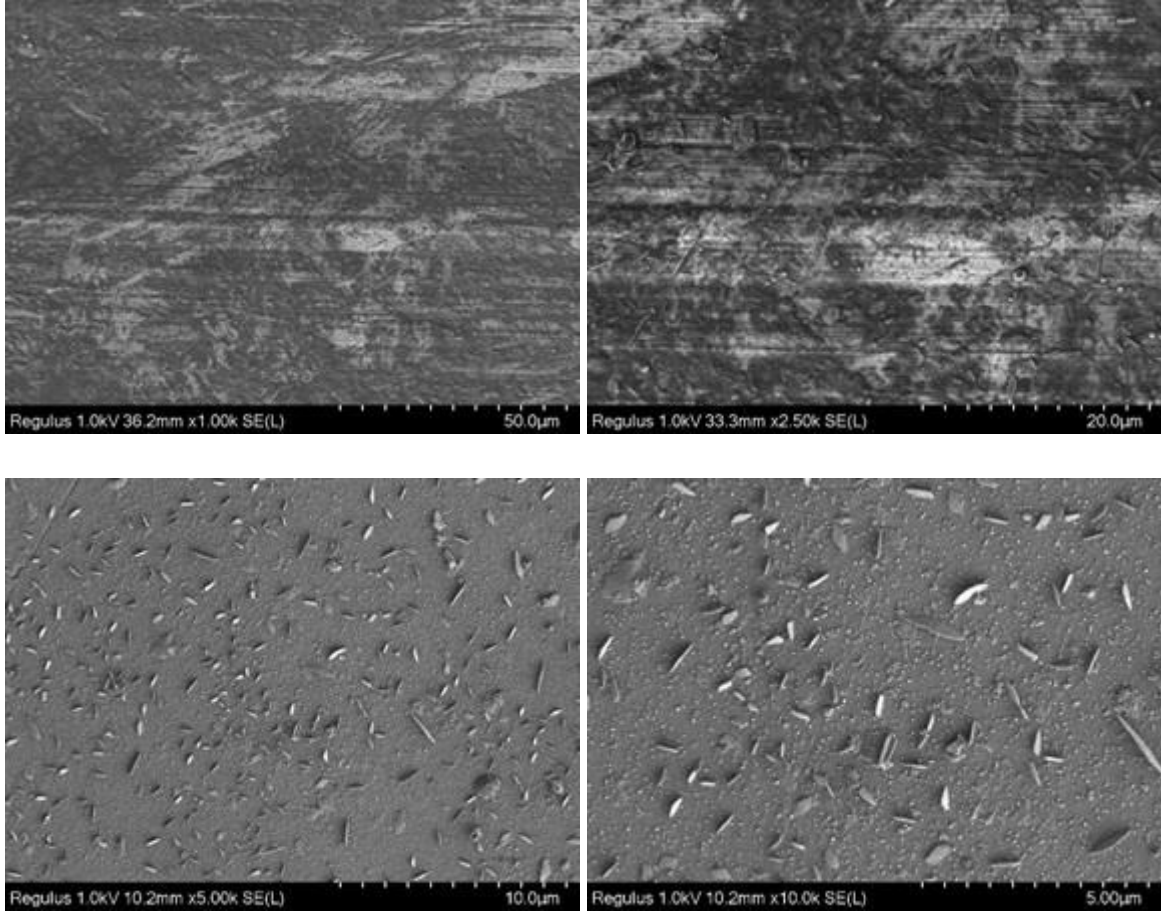


Şekil 5.8. R8 kompozisyonu 150°C'de yarım saat ısıtılma işlemine tabi tutulan numunenin FE-SEM analizleri

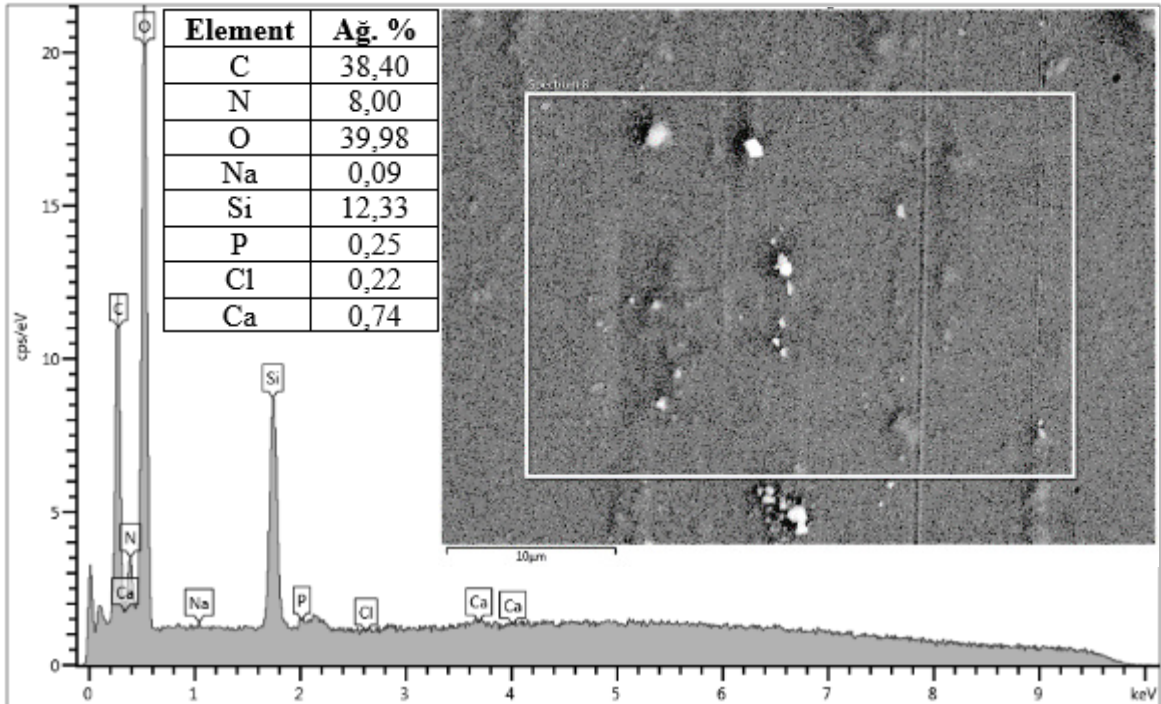


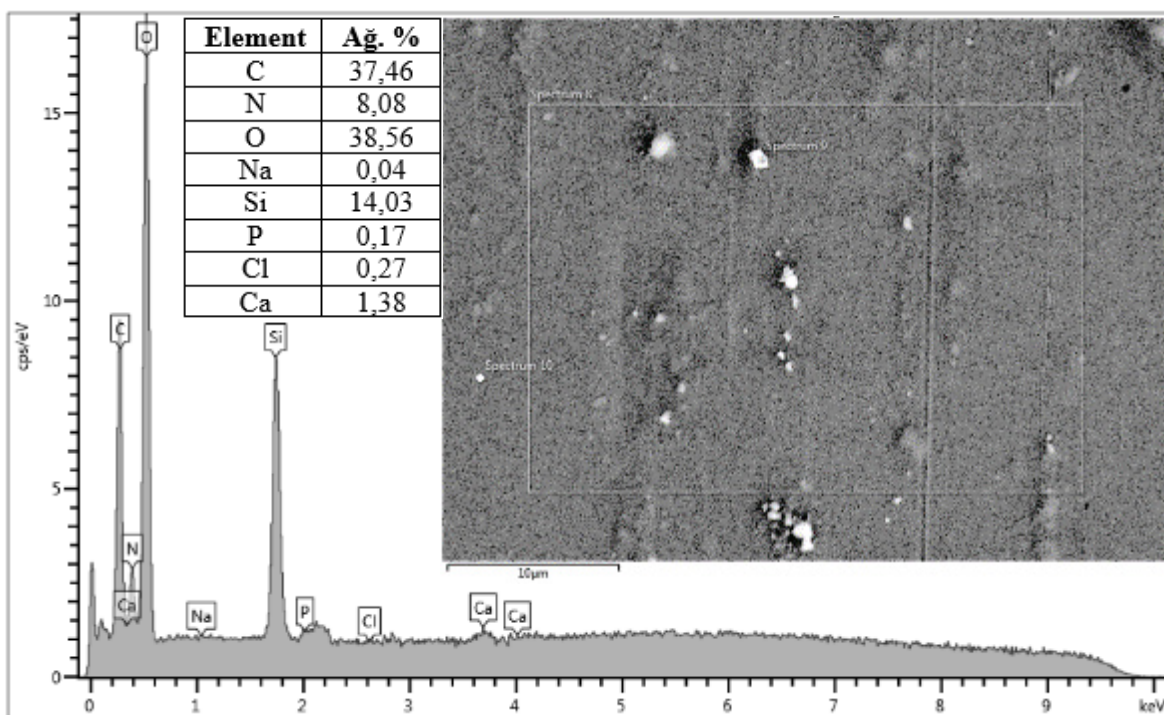
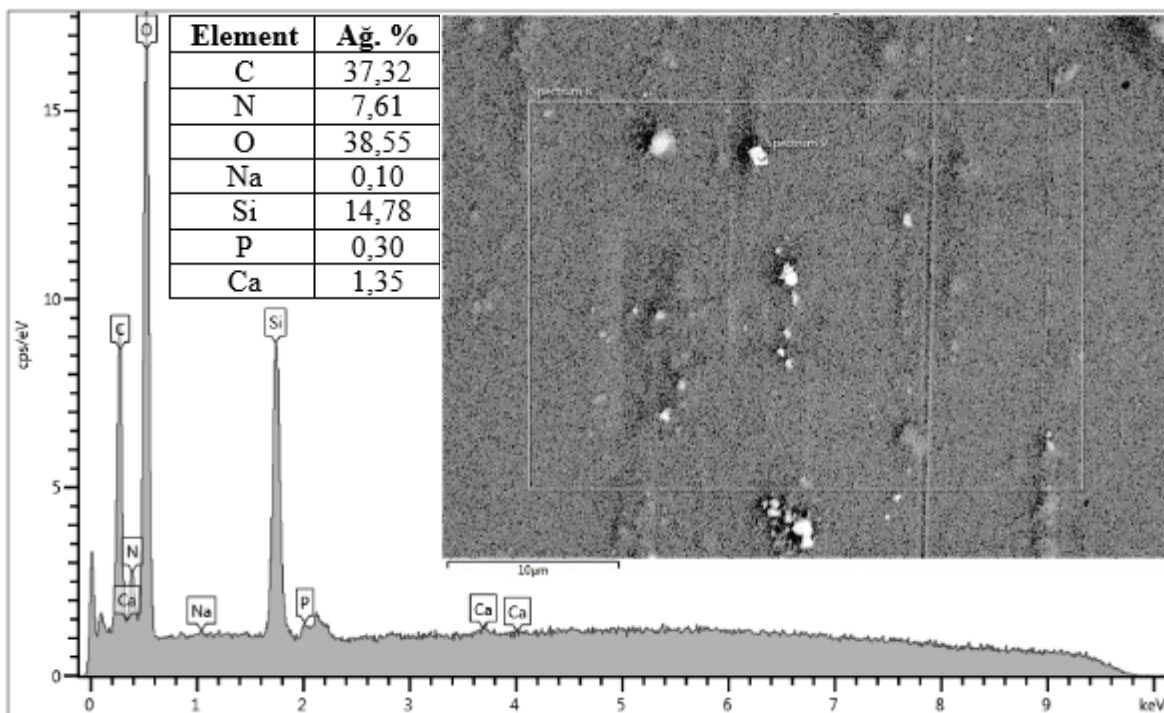


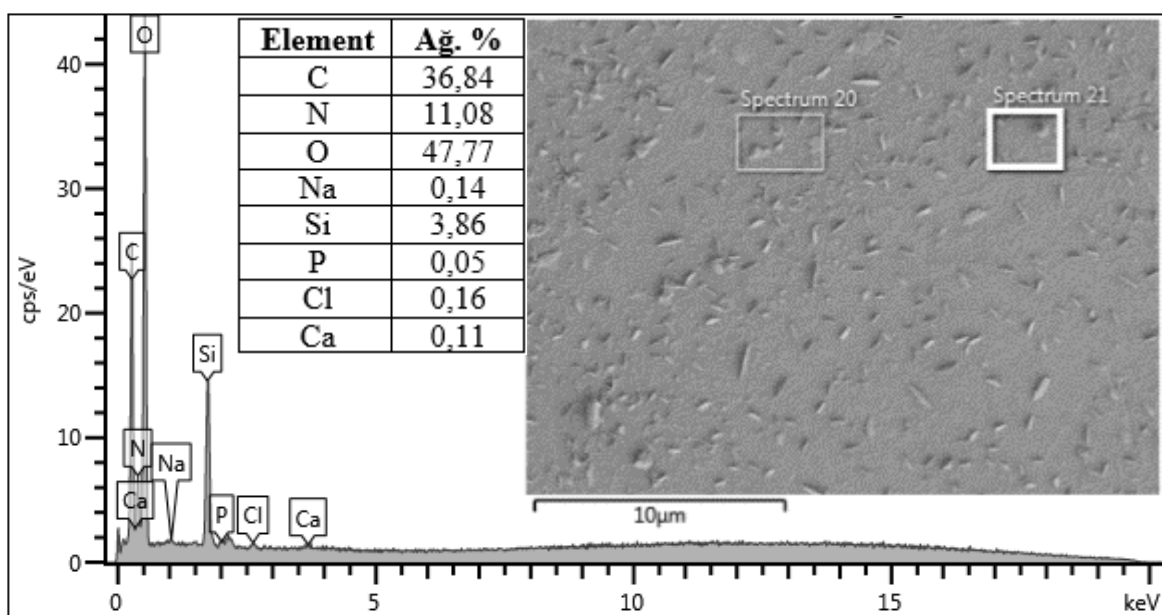
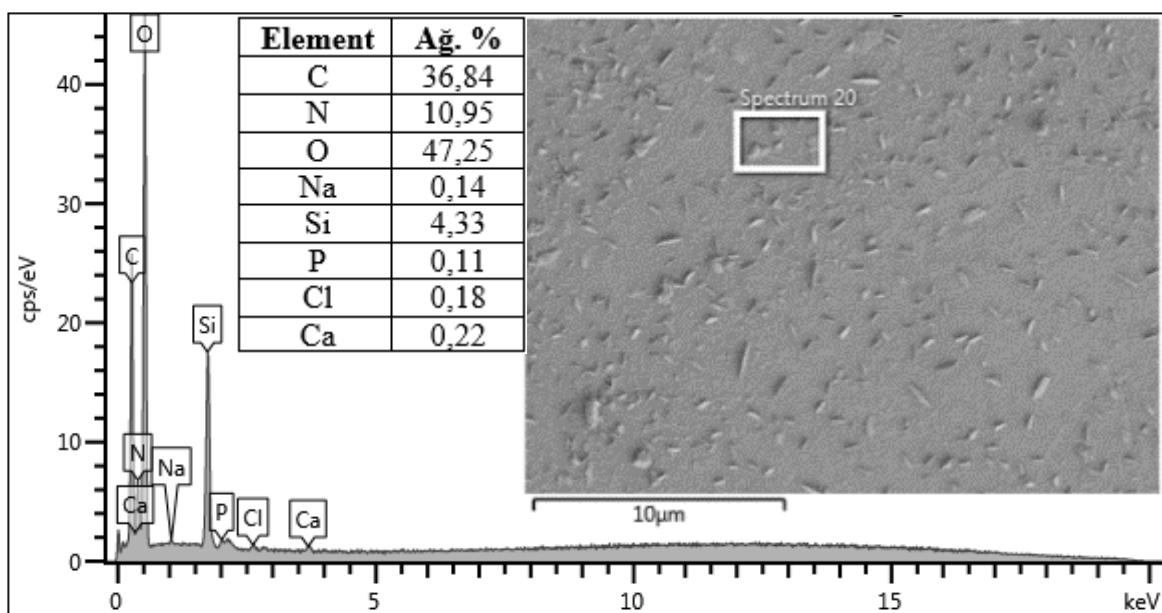
Şekil 5.9. R8 kompozisyonu 150°C’de yarım saat ısıtılma gören numunenin EDS analizleri

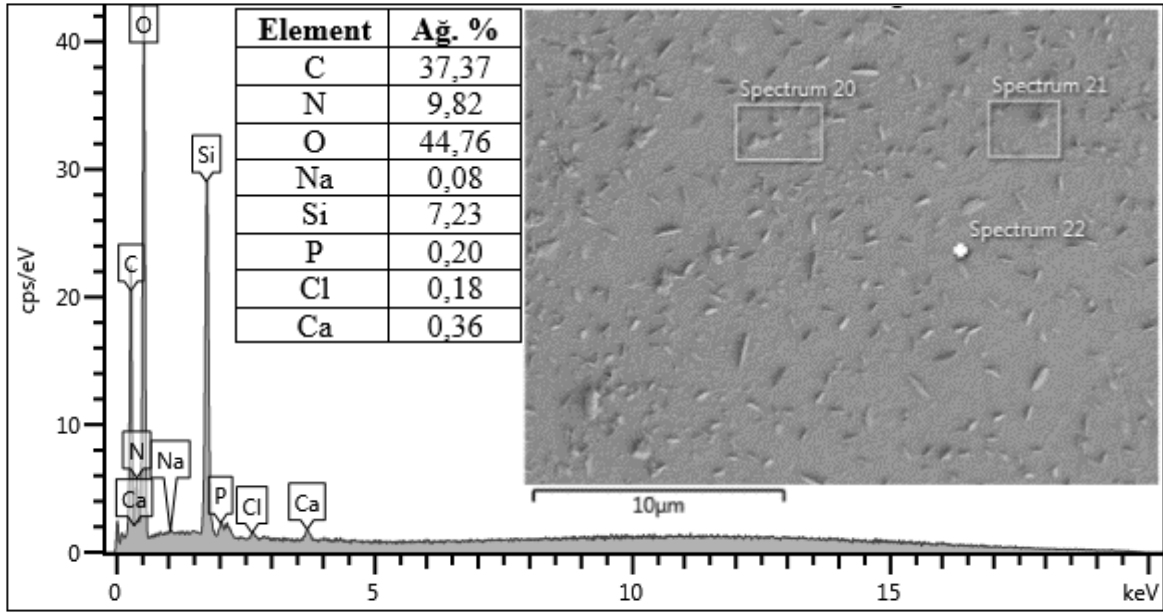


Şekil 5.10. R8 kompozisyonu 200°C’de yarım saat ısıtılma tabi tutulan numunenin FE-SEM analizleri

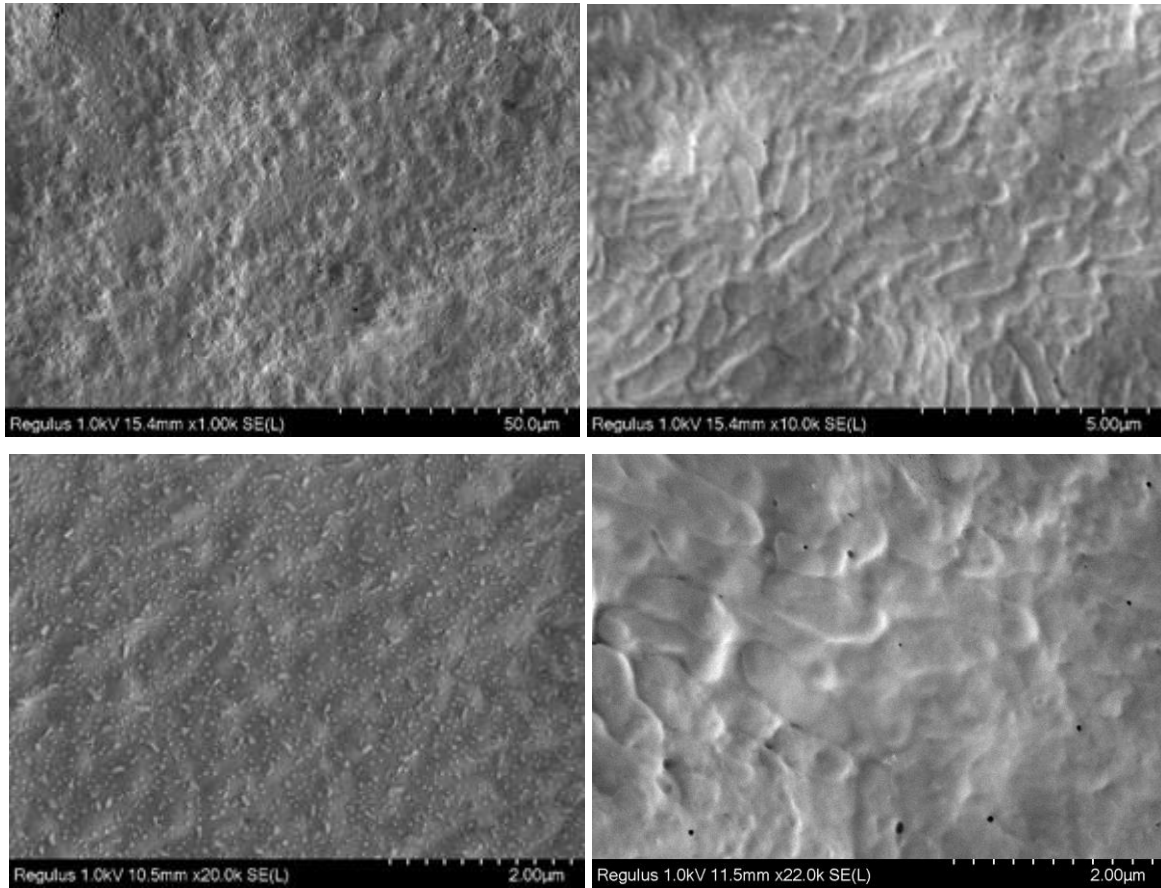


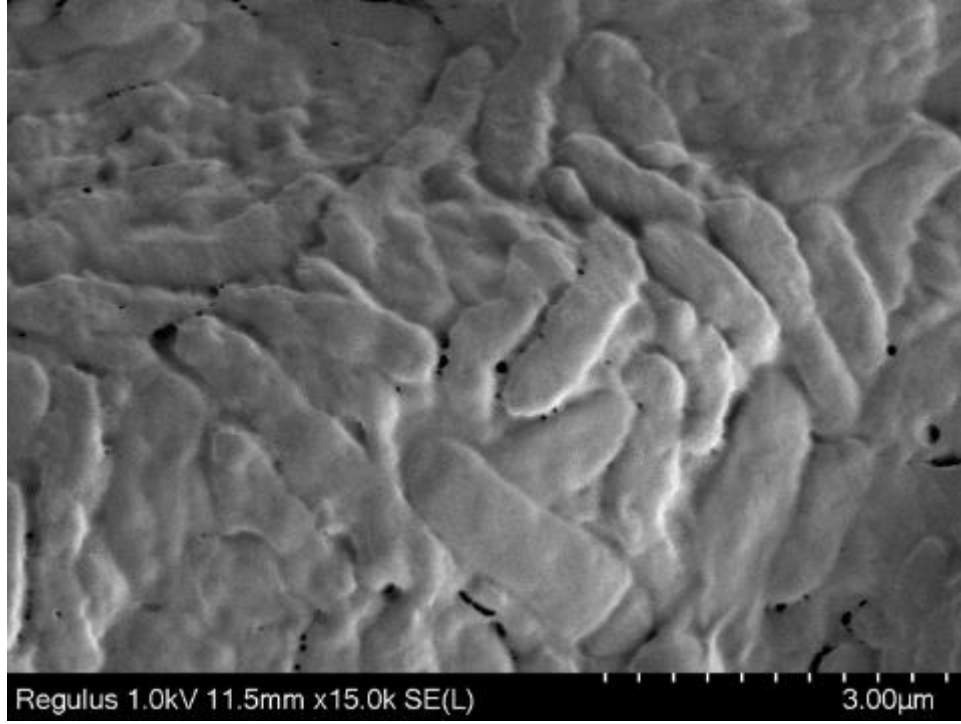




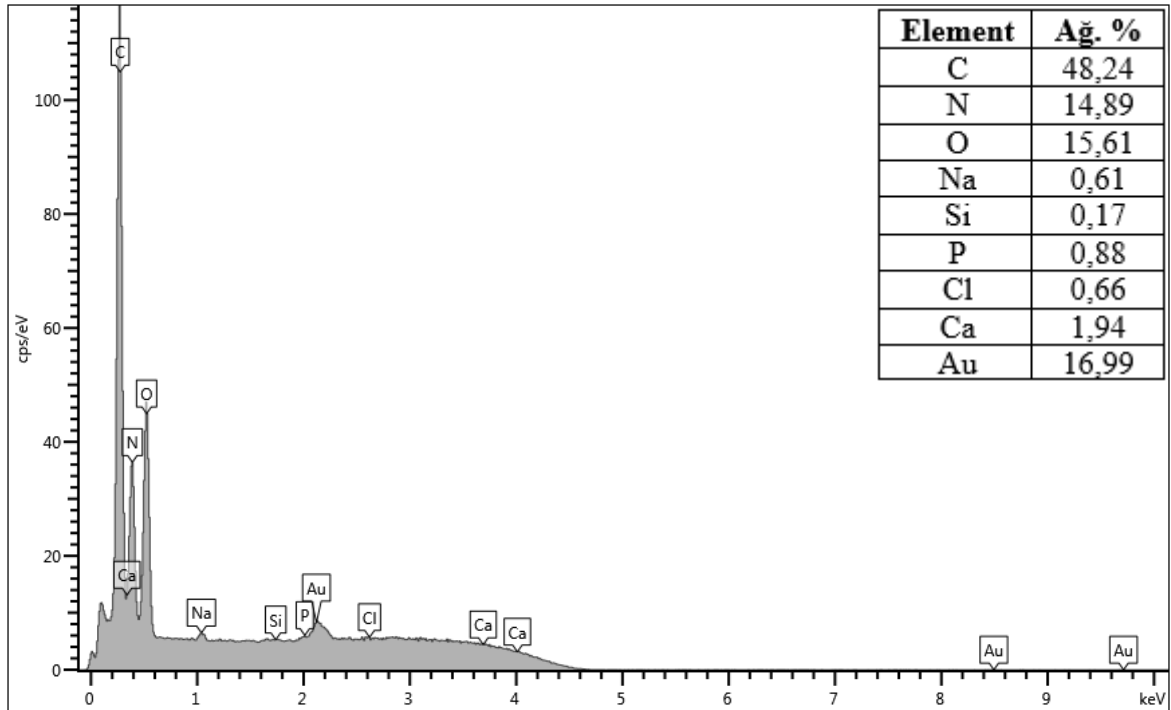


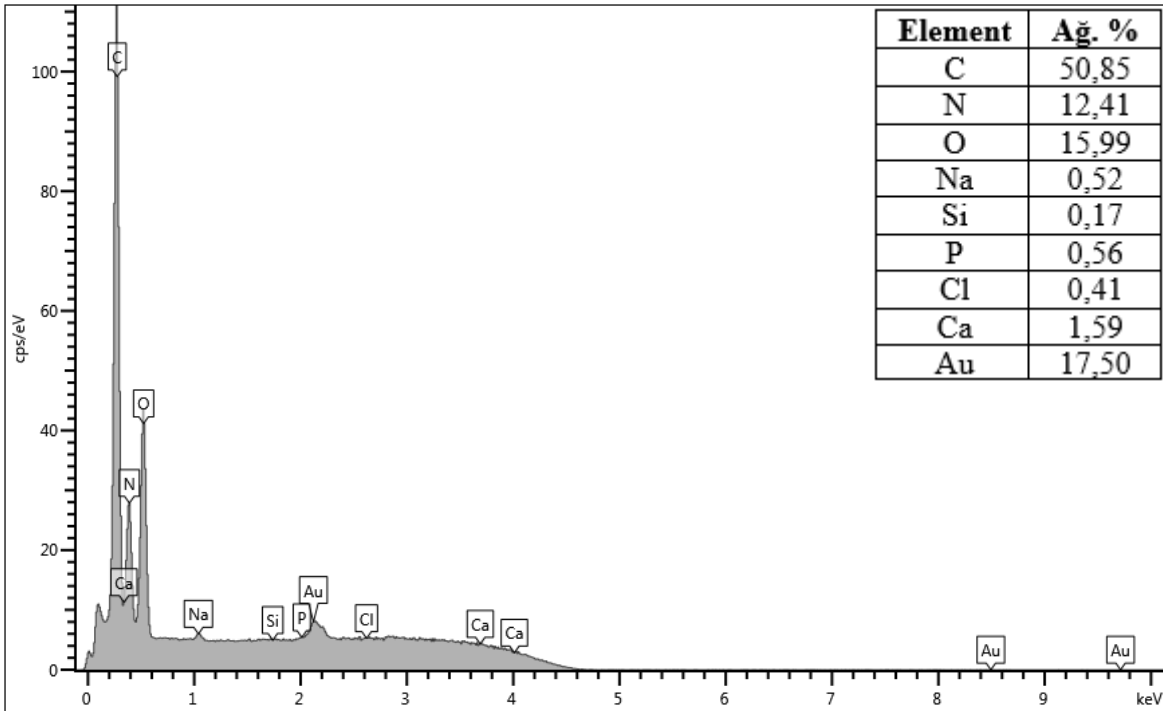
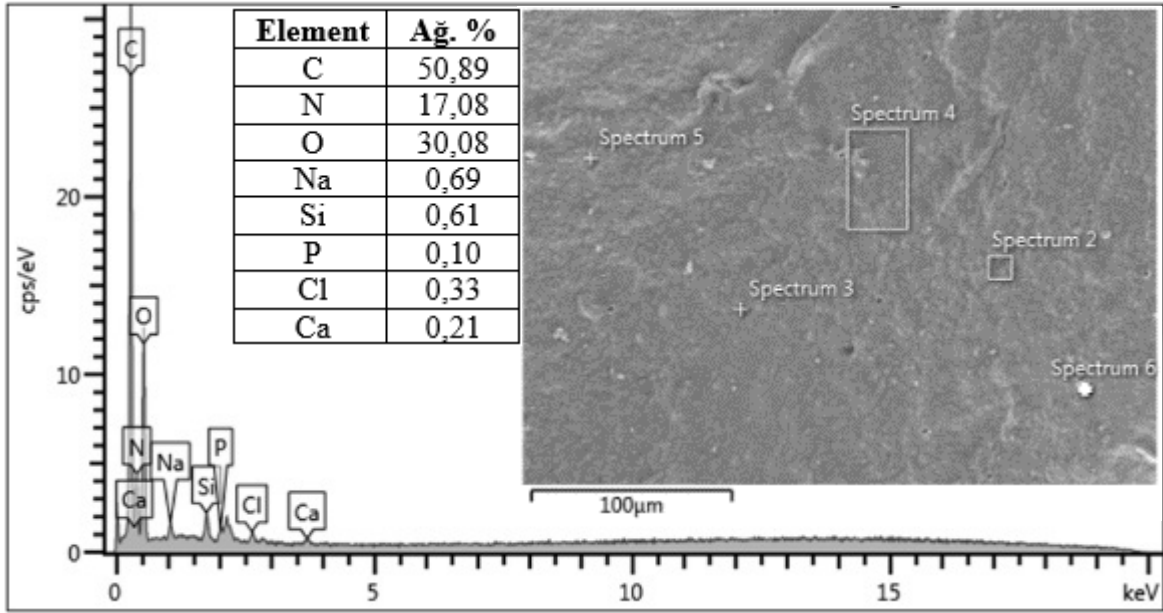
Şekil 5.11. R8 kompozisyonu 200°C’de yarım saat ısıtılma tabi tutulan numunenin EDS analizleri



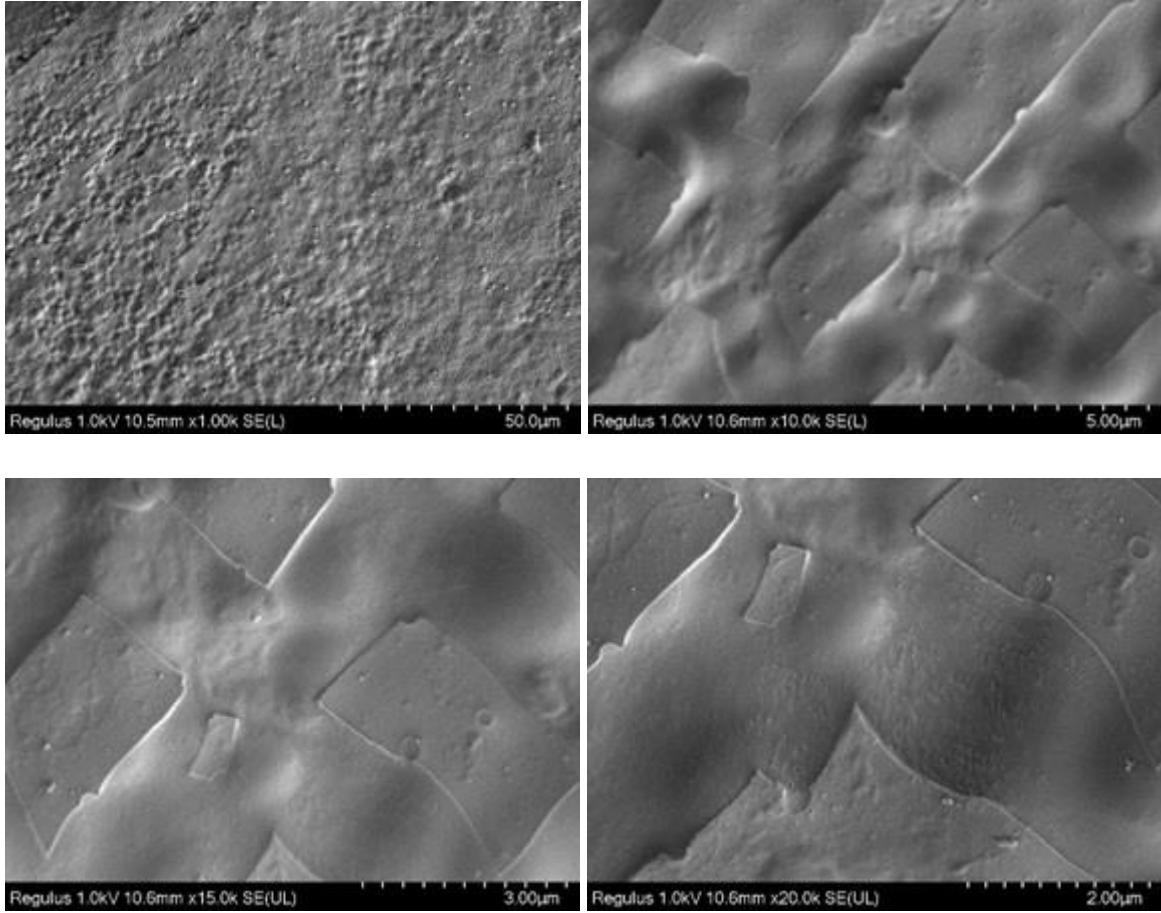


Şekil 5.12. R8 kompozisyonu SBF’de 7 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

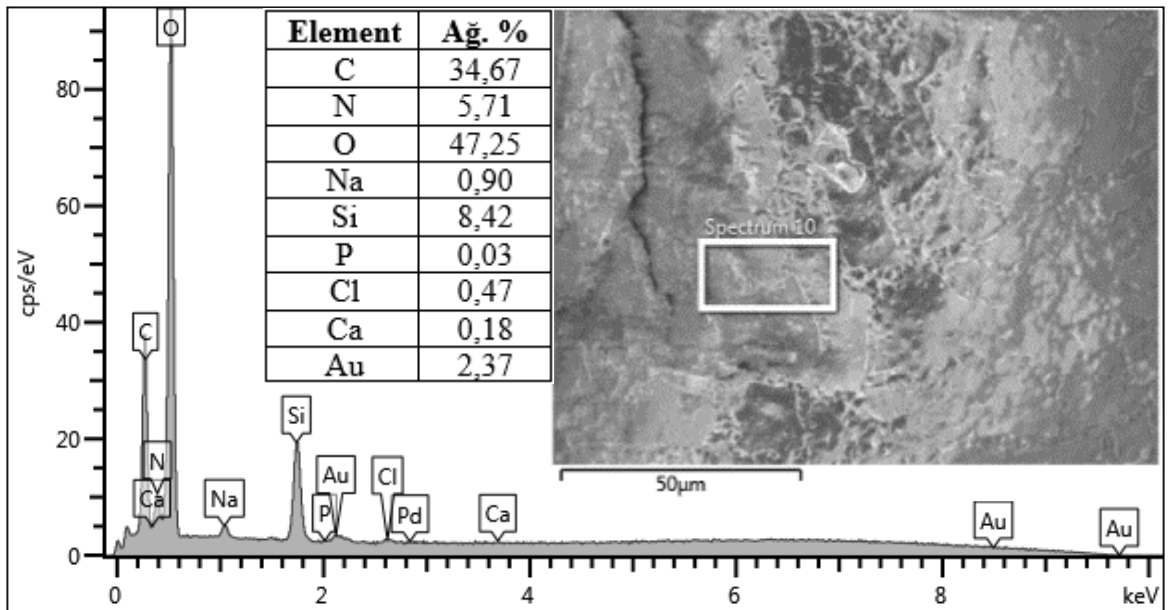


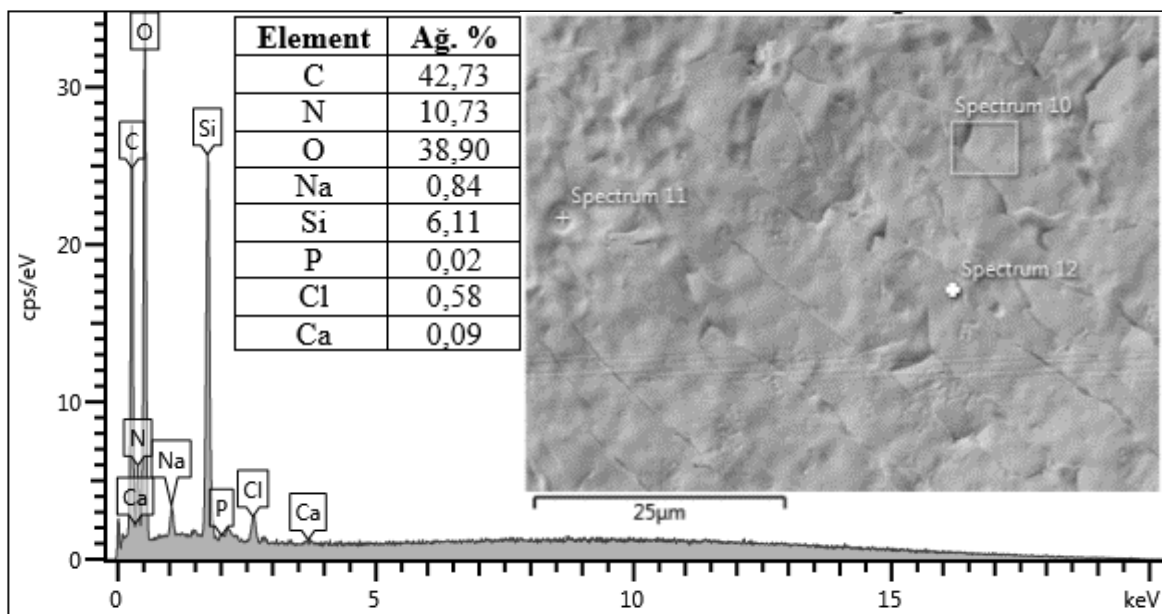
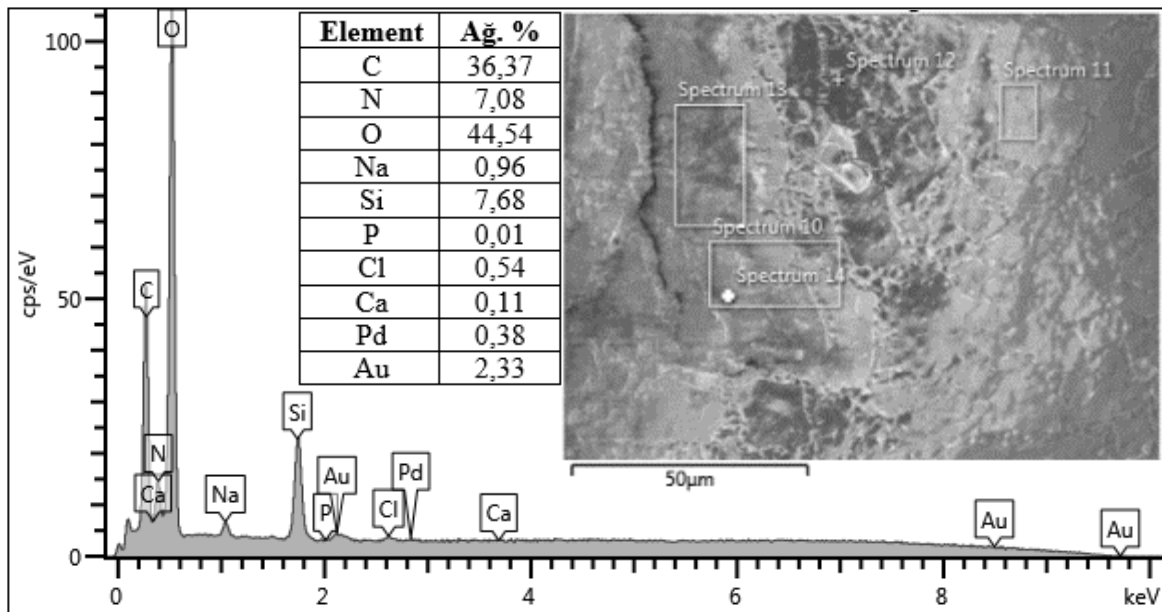


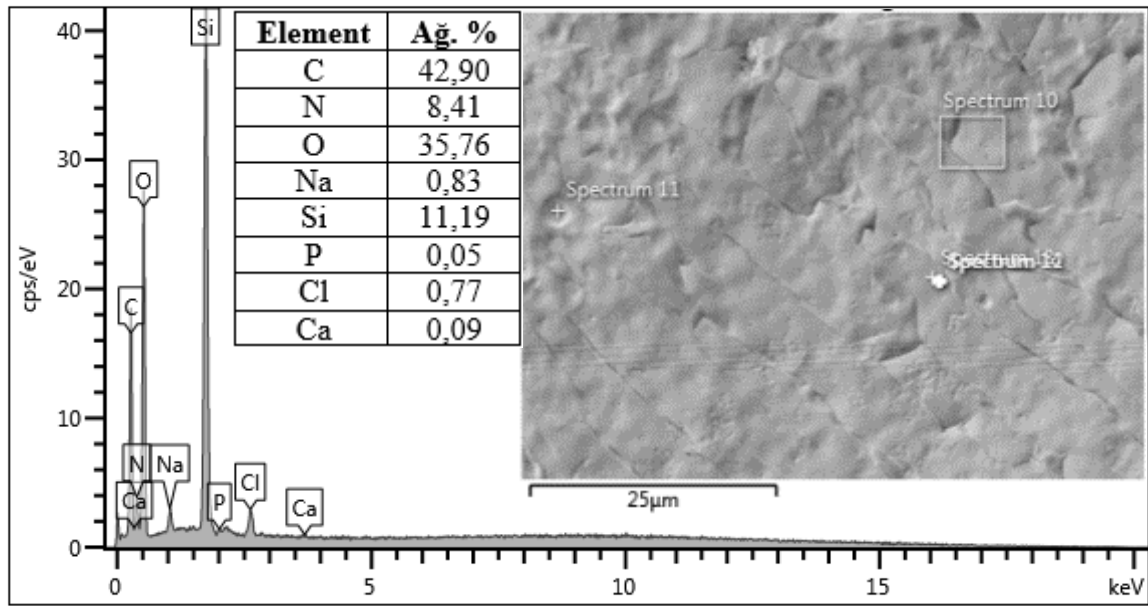
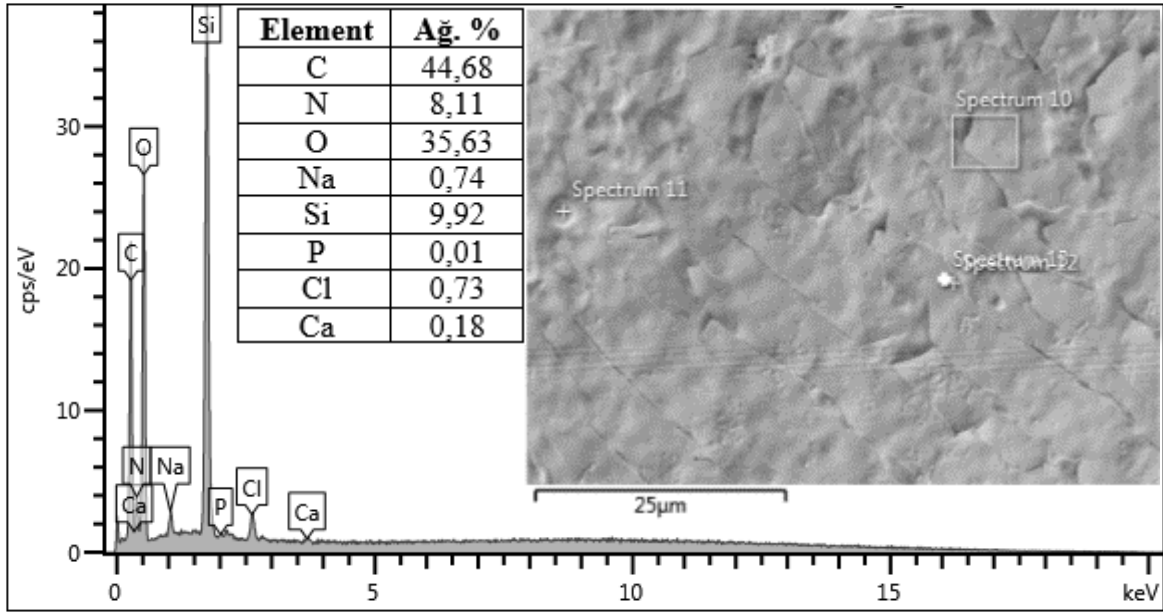
Şekil 5.13. R8 kompozisyonu SBF'de 7 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri



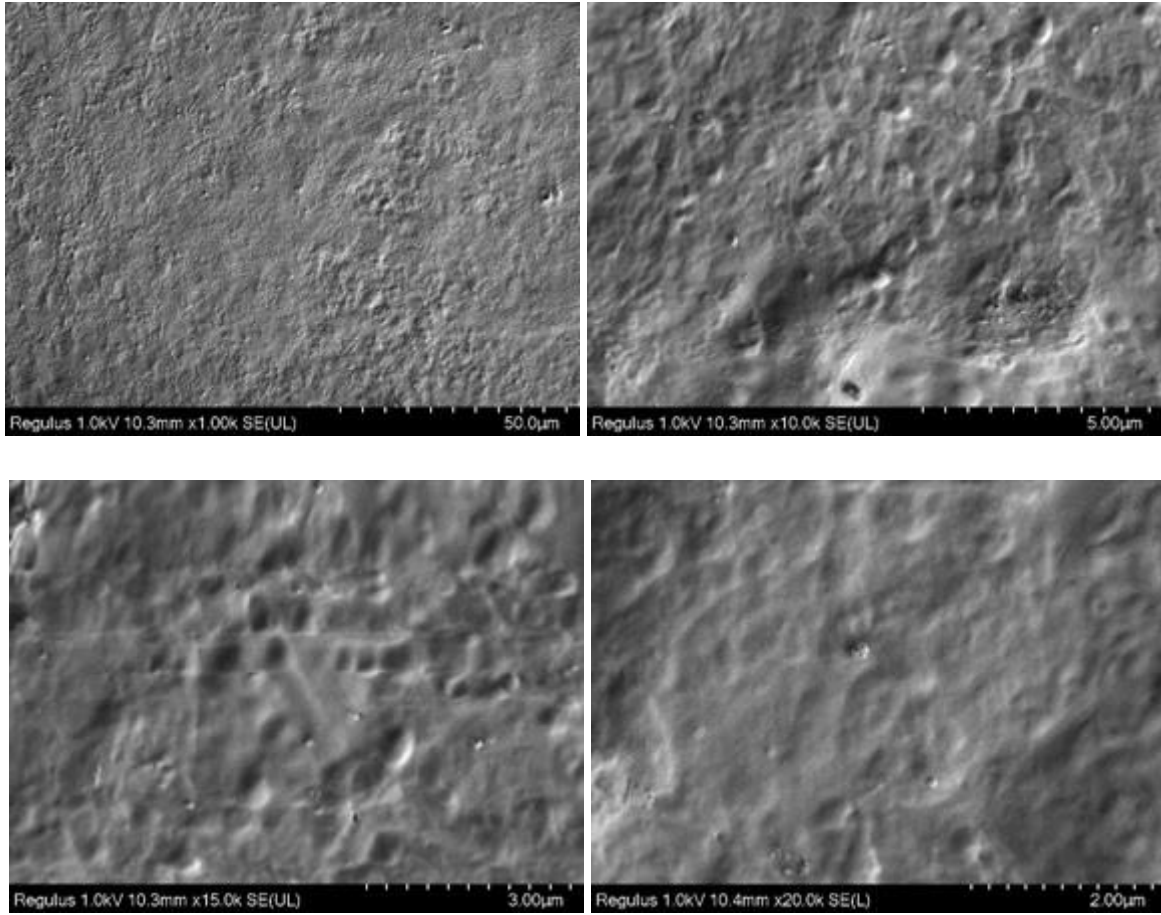
Şekil 5.14. R8 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri



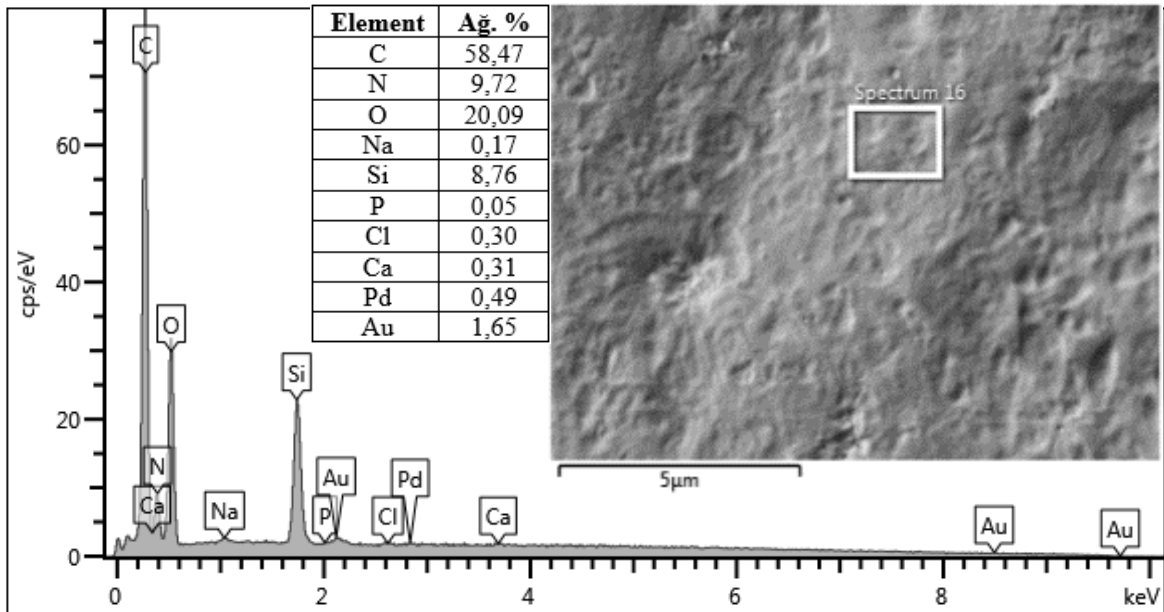


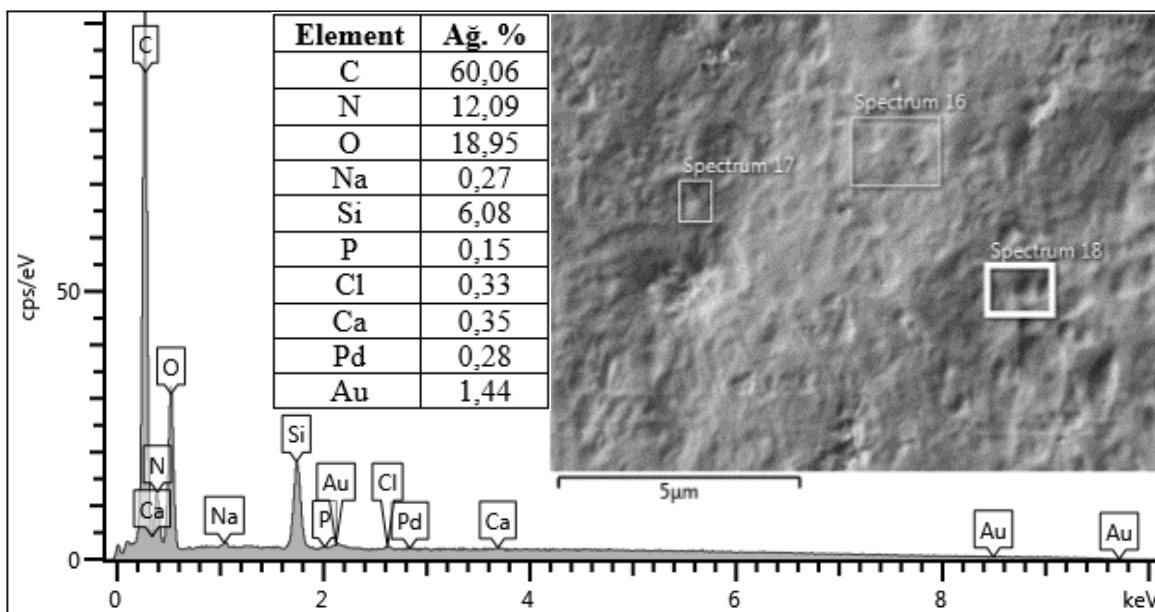
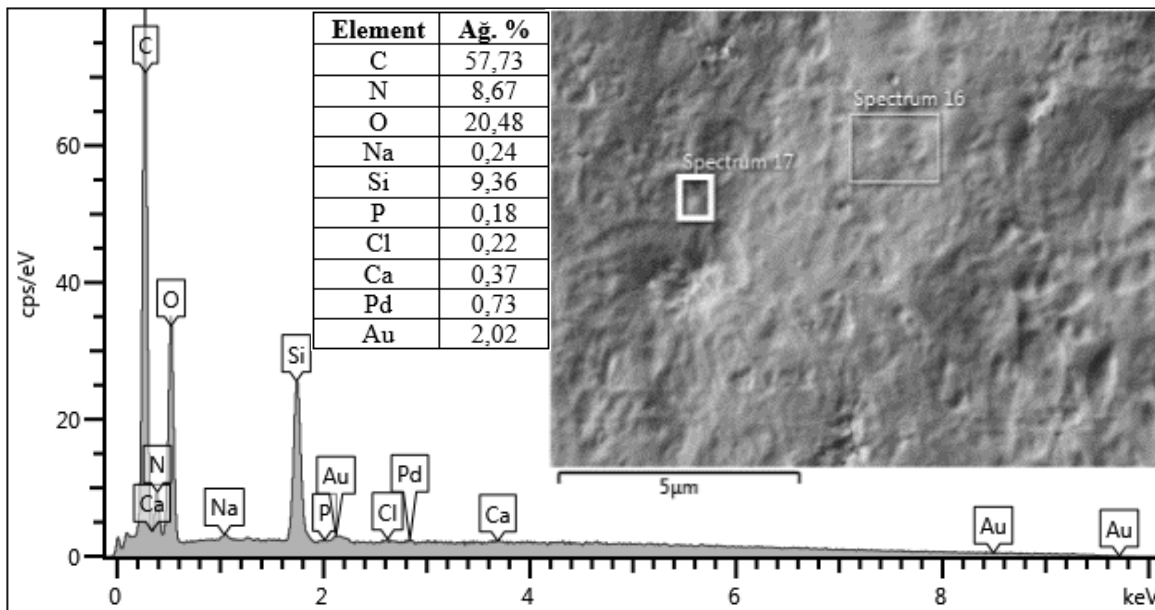


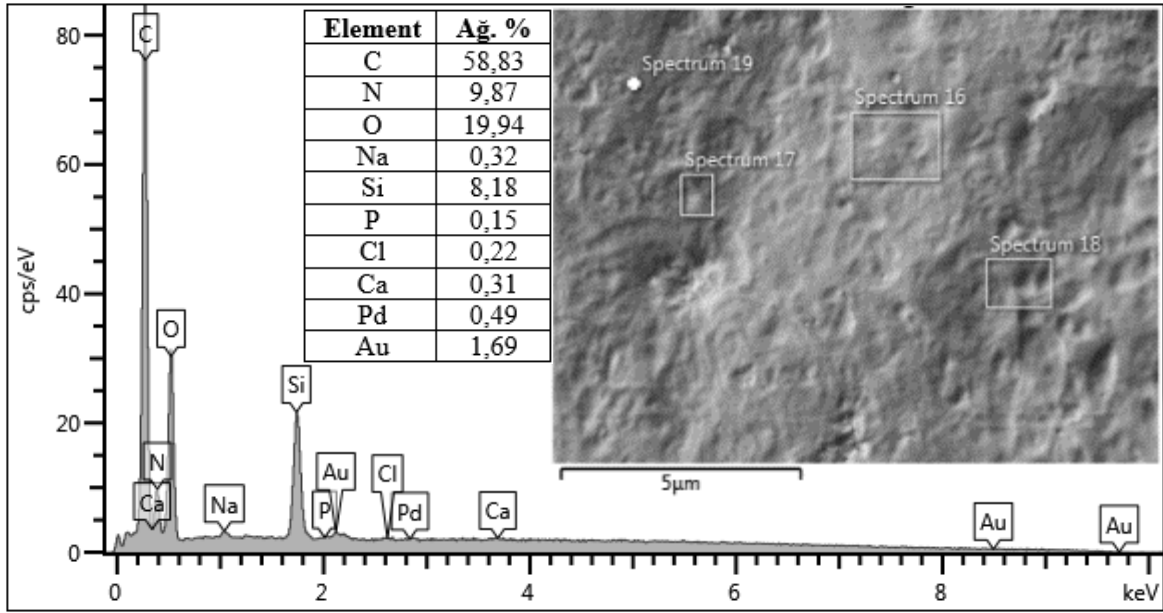
Şekil 5.15. R8 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri



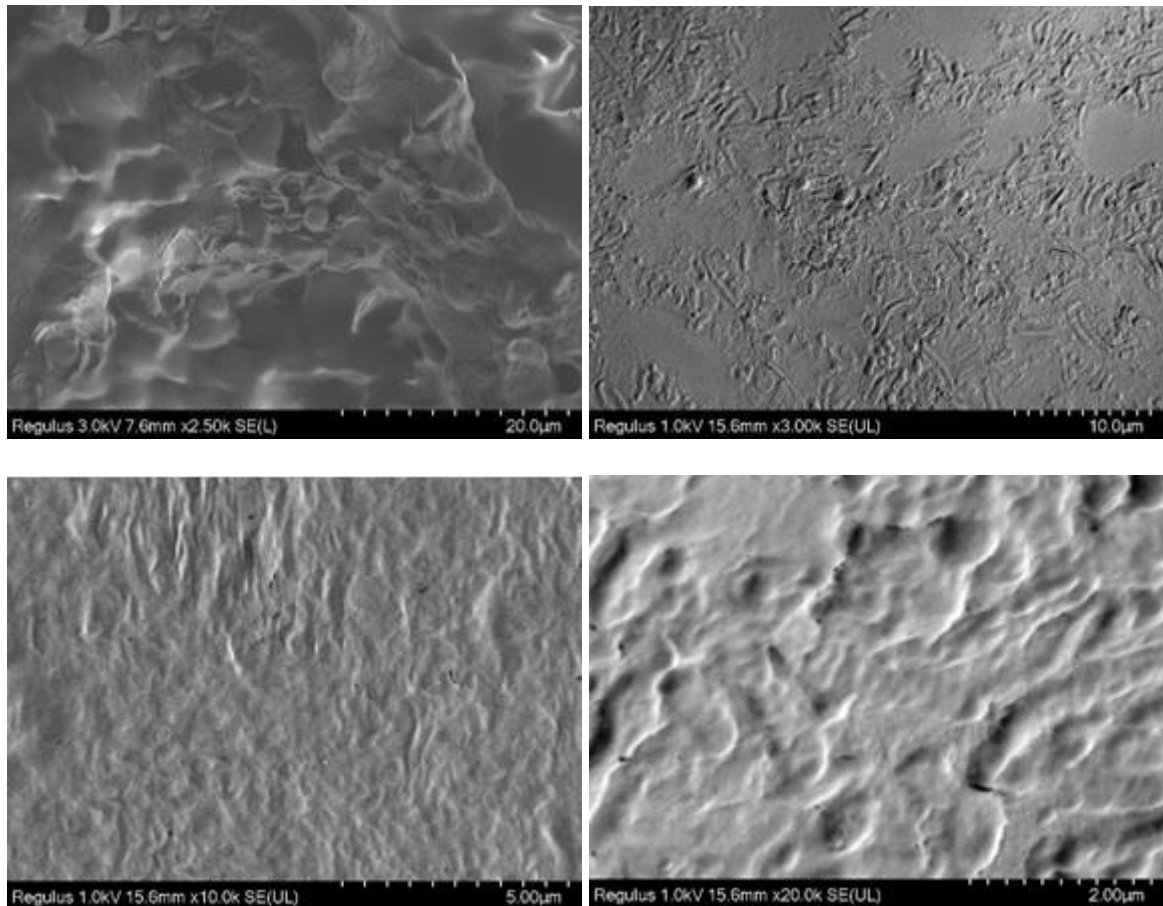
Şekil 5.16. R8 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri



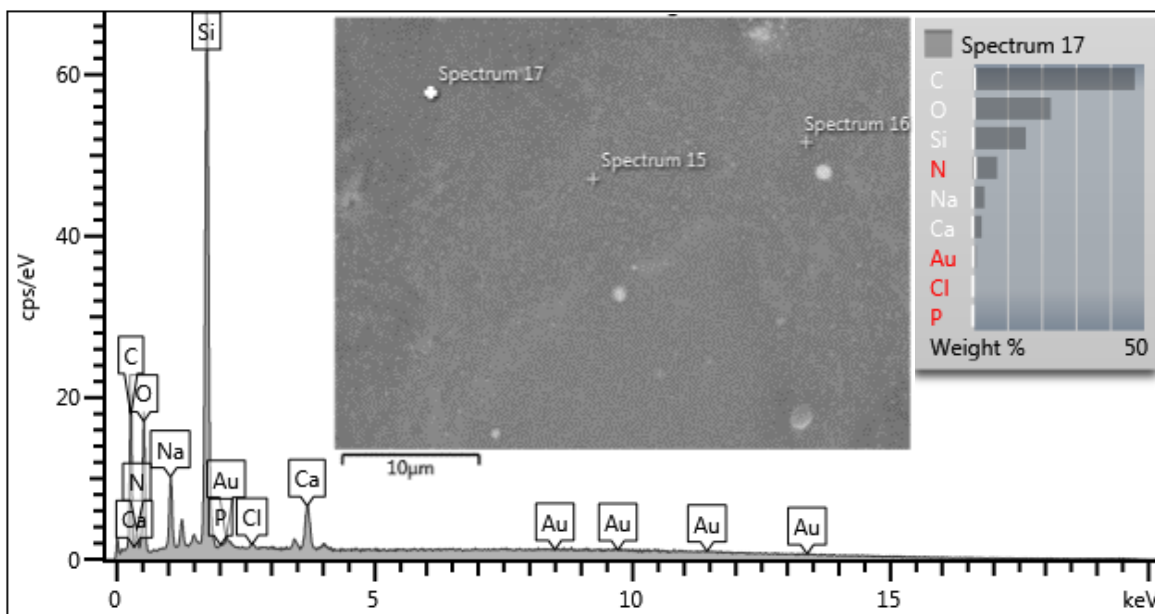
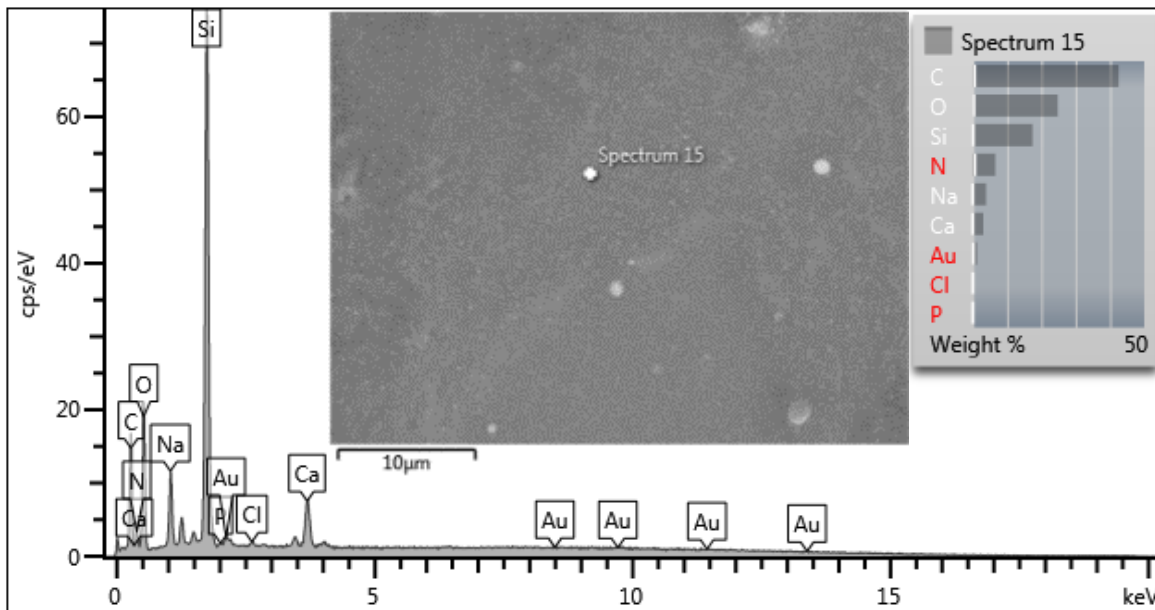


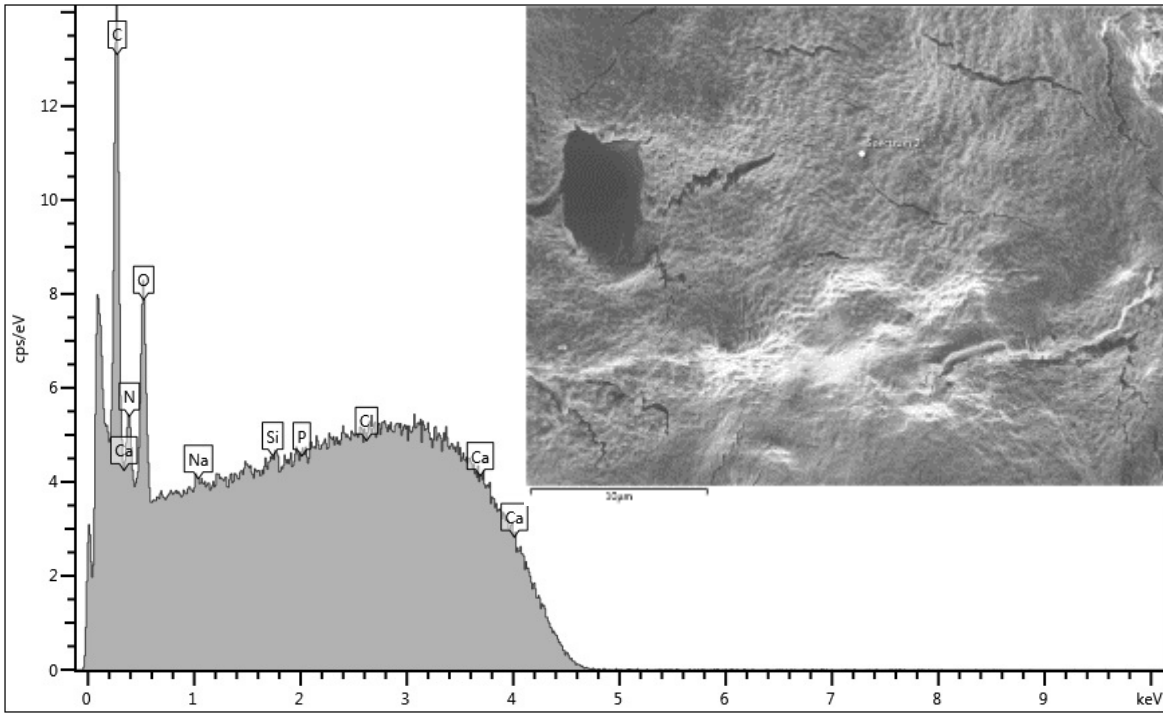
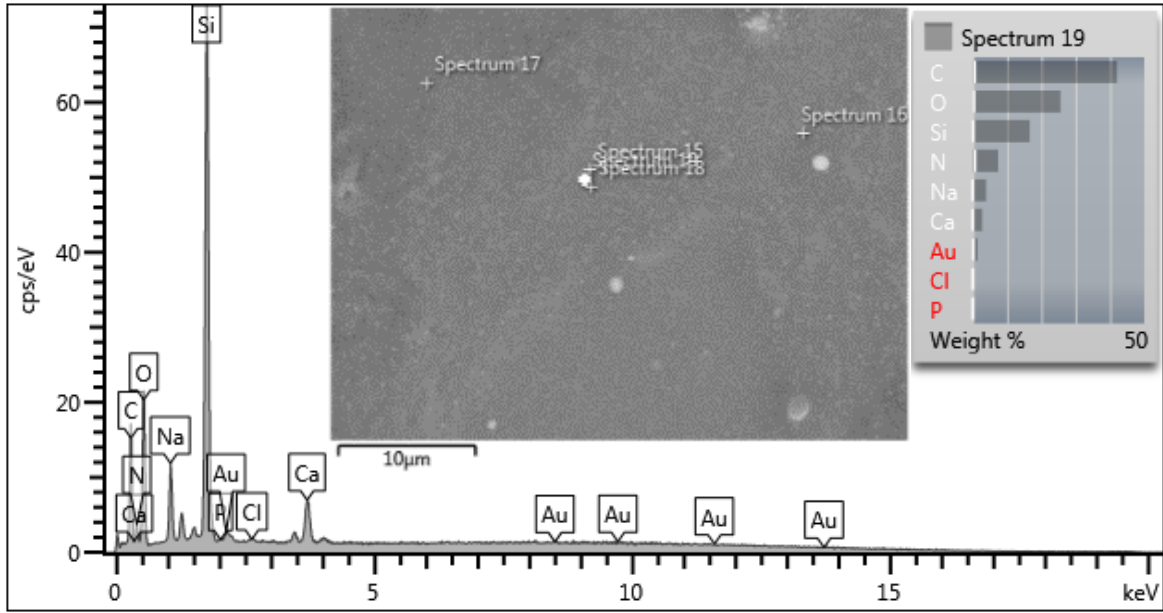


Şekil 5.17. R8 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri



Şekil 5.18. R8 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri



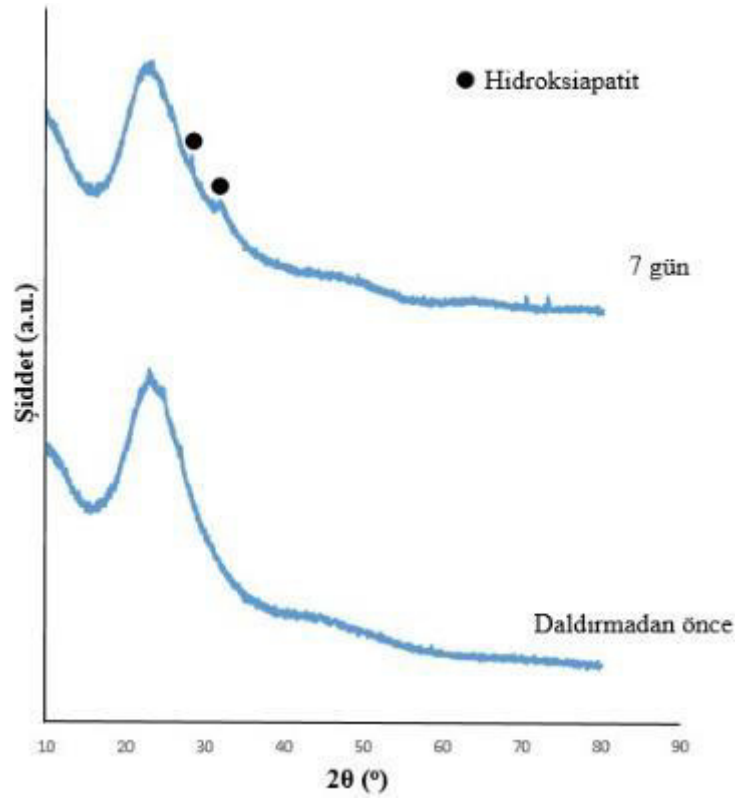


Şekil 5.19. R8 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri

5.1.4. XRD analizleri

Numunenin XRD faz analizleri Panalytical Empyrian marka cihazda yapılmıştır. Ölçüm 10-80° yapılmış olup sonuç Şekil 5.20’da gösterilmektedir. Elde edilen biyoaktif

cam kaplamaların literatürle uyumlu olarak amorf yapıya sahip olduğu belirlenmiştir (Chen vd., 2018). 2 tetada (2θ) 23° civarında silikat camının tipik amorf yapısında karakteristik geniş piki gözlemlenmiştir (Hench, 1994). Kaplamanın amorf yapısı XRD analizi ile doğrulanmıştır. SBF'ye daldırılıp 7 gün bekletilen numunede $31,7^\circ$ 'de (211) $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ pikinin olduğu analiz sonuçlarından doğrulanmıştır. Diğer karakteristik HA piki ise $28,1^\circ$ 'de (102) görünmüştür.

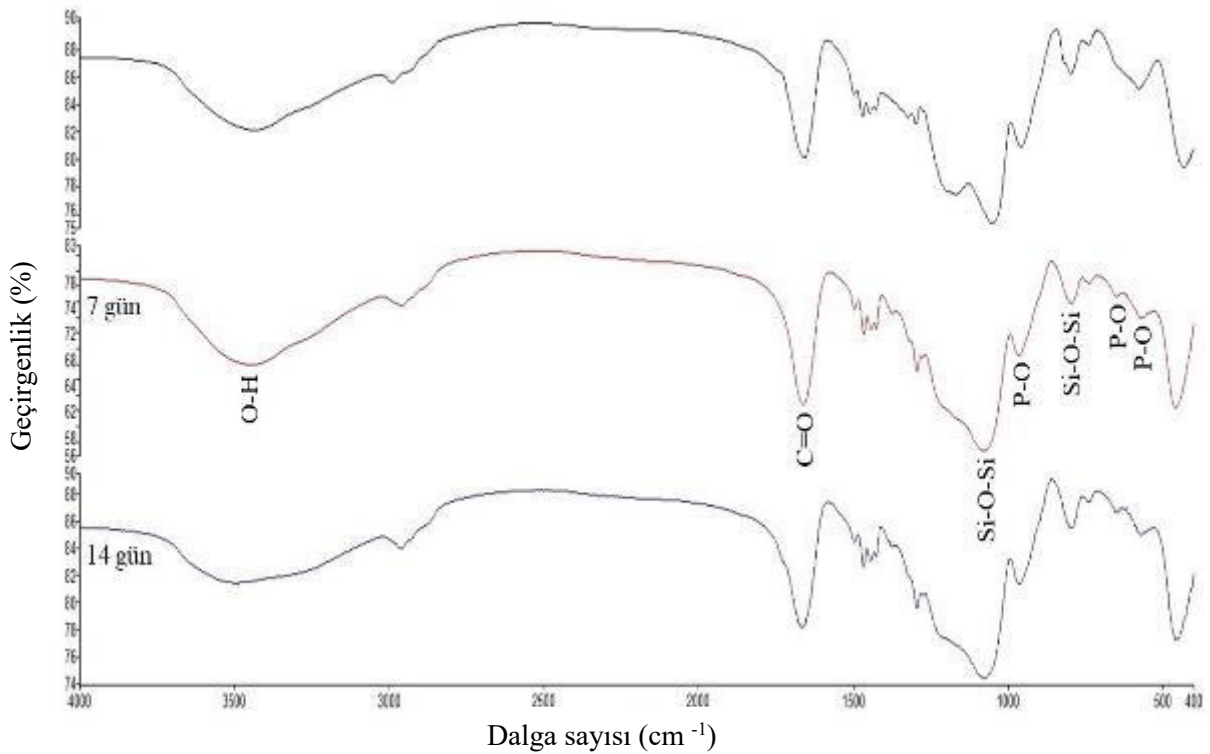


Şekil 5.20. Biyoaktif cam kaplamaların XRD desenleri

5.1.5. FTIR analizleri

FTIR analizleri Perkin Elmer Spectrum Two marka cihazla yapılmıştır. Veriler $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ dalga aralığında toplanmıştır. FTIR cihazı bileşenler arasındaki kimyasal etkileşimleri incelemek için kullanılmıştır. Şekil 5.21, yarım saat boyunca 200°C 'de ısıtılma işlemine tabi tutulmuş biyoaktif cam kaplamanın SBF'ye daldırmadan önce ve daldırdıktan 7 ve 14 gün sonra FTIR spektrumlarını gösterir. O-H grubunun $3440,15\text{ cm}^{-1}$ gerilmesi, SBF'ye daldırılmadan önce numunede geniş bir pik şeklinde gözlenir. Bu zirveler, 7 ve 14 gün boyunca daldırılan numunelerde sırasıyla $3442,47\text{ cm}^{-1}$ ve $3496,40\text{ cm}^{-1}$ 'de

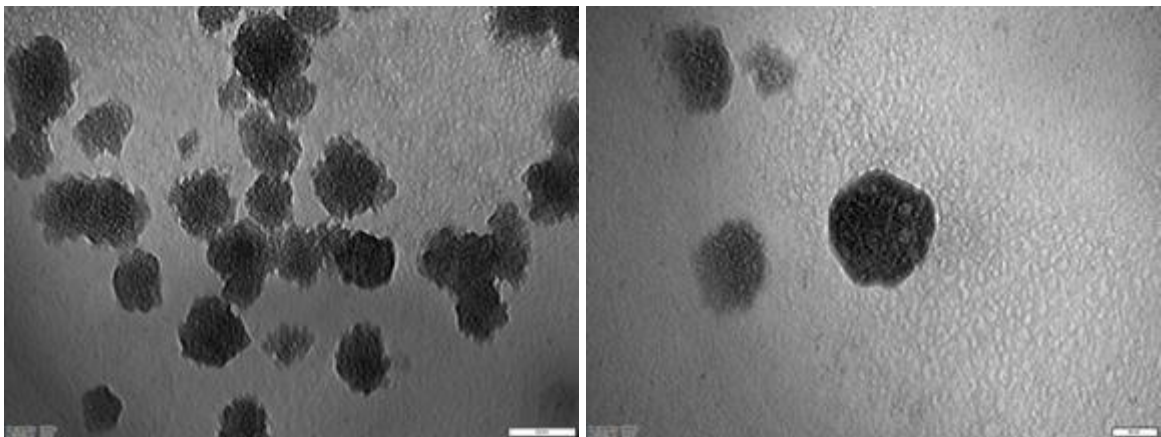
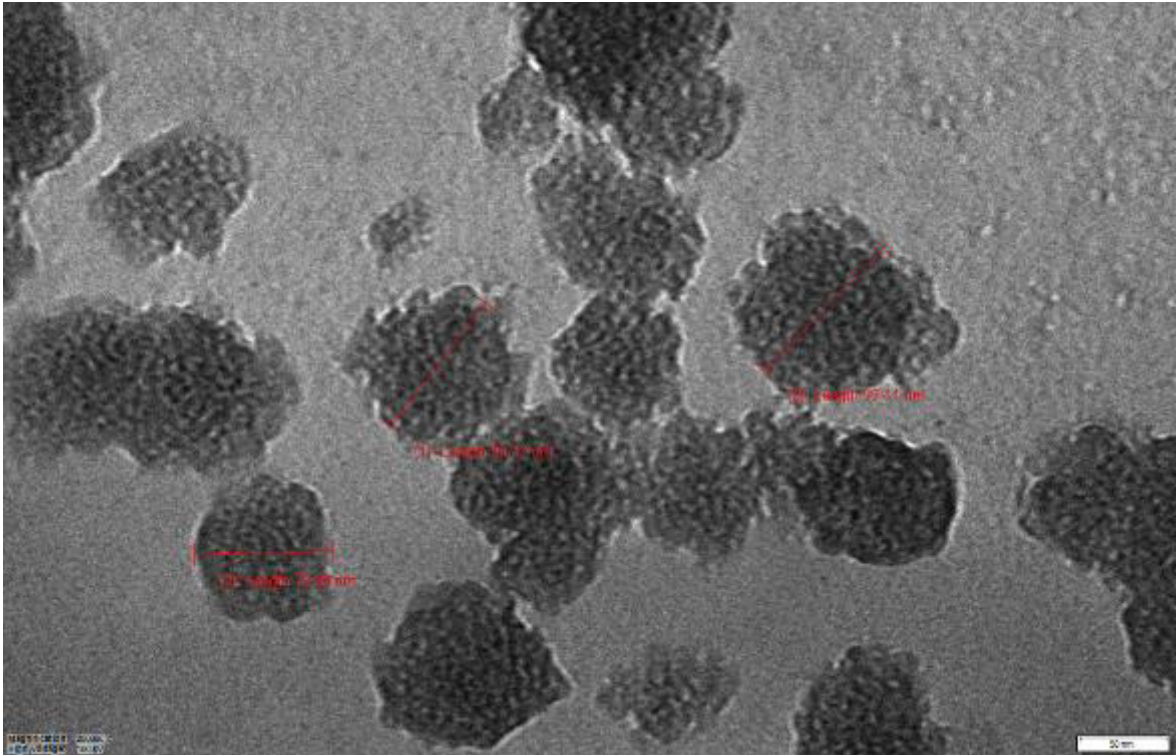
gözlenmiştir. İkili bağ bölgesinde C=O grubunun bükülmesi, daldırılmamış kaplama için $1656,07 \text{ cm}^{-1}$, 7 gün daldırılmış kaplama için $1663,01 \text{ cm}^{-1}$ ve 14 gün daldırılmış kaplama için $1667,16 \text{ cm}^{-1}$ 'de oldukça sivri bir pik olarak gözlemlenmiştir. SBF'ye daldırmadan önce $956,14 \text{ cm}^{-1}$ 'de, daldırdıktan 7 gün sonra $965,66 \text{ cm}^{-1}$ 'de ve daldırdıktan 14 gün sonra $961,27 \text{ cm}^{-1}$ 'de çok güçlü ve belirgin pikler P-O gerilme titreşimine karşılık gelir. $796,42 \text{ cm}^{-1}$ ve $1054,96 \text{ cm}^{-1}$ 'deki bantlar, daldırılmamış numune için silikat grubunun Si-O-Si bağlarıyla ilgilidir. 7 ve 14 gün bekletilen örneklerde bu bağlar sırasıyla $797,06 \text{ cm}^{-1}$, $1076,59 \text{ cm}^{-1}$, $800,25 \text{ cm}^{-1}$ ve $1076,71 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir. P-O piki, SBF'ye daldırılmadan önce yalnızca $575,36 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülmüştür. FTIR analizinde numunelerin SBF'ye 7 ve 14 gün daldırılmasıyla $573,08 \text{ cm}^{-1}$, $647,63 \text{ cm}^{-1}$, $572,44 \text{ cm}^{-1}$ ve $654,68 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülen P-O pik şiddetindeki artış, HA oluşumunun bir göstergesidir. Piklerin uzunluğu, numunenin SBF'ye 7 ve 14 gün boyunca daldırılmasıyla uzamıştır. FTIR analiz sonuçları, kaplamaların biyoaktivitesini XRD analiz sonuçlarıyla uyumlu olarak doğrulamıştır.



Şekil 5.21. Biyoaktif cam kaplamaların FTIR analizleri

5.1.6. TEM analiz sonuçları

Solün mikro yapısı TEM kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 5.22). Hazırlanan sol karbon kaplı Cu ızgara üzerine damlatılır ve grid üzerine konulan madde tam olarak kuruyana kadar beklenmiştir. TEM analizi 0,05 g sodyum aljinat içerikli oluşturulan çözeltinin homojenliği kanıtlamıştır. TEM görüntülerinden, çözelti içindeki taneciklerin çapı 99,41 nm, 90,37 nm ve 79,89 nm olarak ölçülmüştür.

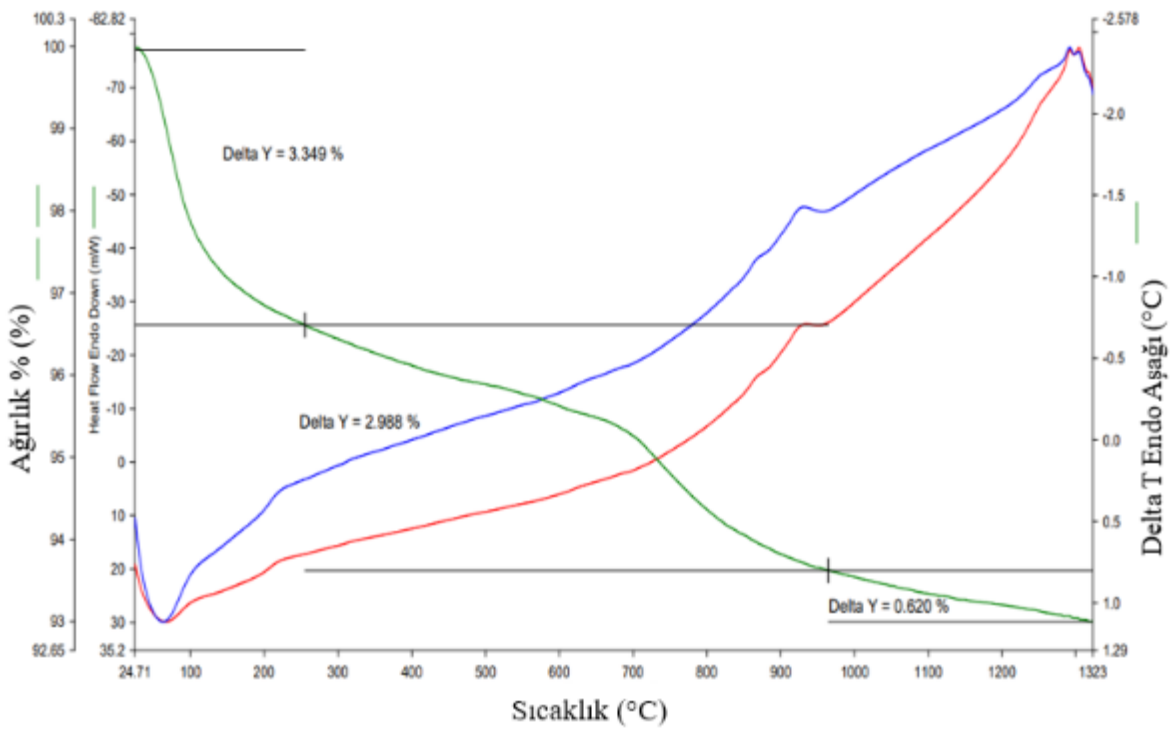


Şekil 5.22. R8 kompozisyonunun TEM analiz sonuçları

5.2. R13 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları

5.2.1. STA

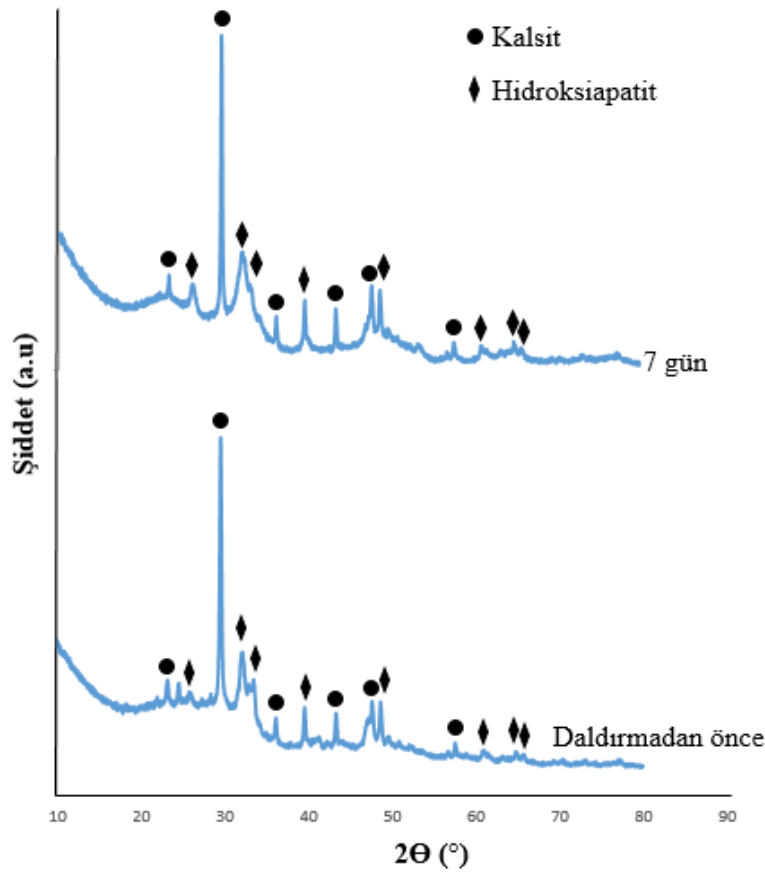
R13 kompozisyonunda bu analiz 650°C'de 3 saat ısıl işlem görmüş numuneye yapılmıştır ve sonuç Şekil 5.23'de verilmektedir. TGA'da üç aşamada ağırlık kaybı gerçekleşmiştir ve parçalanma reaksiyonu olmuştur. Çünkü analiz azot atmosferi altında yapılmıştır.



Şekil 5.23. Oluşturulan tabletin STA sonucu

5.2.2. XRD analizleri

Elde edilen tabletlerin fazları Panalytical Empyrian marka XRD cihazı ile karakterize edilmiştir. Ölçüm 5-80° aralığında yapılmış olup oluşan fazlar kalsit ve HA'tır (Şekil 5.24). $2\theta=25,8^\circ, 31,7^\circ, 39,8^\circ, 46,7^\circ, 48,6^\circ, 60,4^\circ, 65^\circ, 66,4^\circ$ de gözlenen kırılma pikleri HA kristallerinin (002), (211), (310), (222), (320), (331), (511), (422) yansımalarına karşılık geldi. Daldırma süresi arttıkça HA'in kristallliği artmıştır. XRD sonuçları, biyoaktif cam tabletlerinin in vitro iyi biyoaktiviteye sahip olduğunu ve mineralizasyon ürünlerinin HA olduğunu göstermiştir.

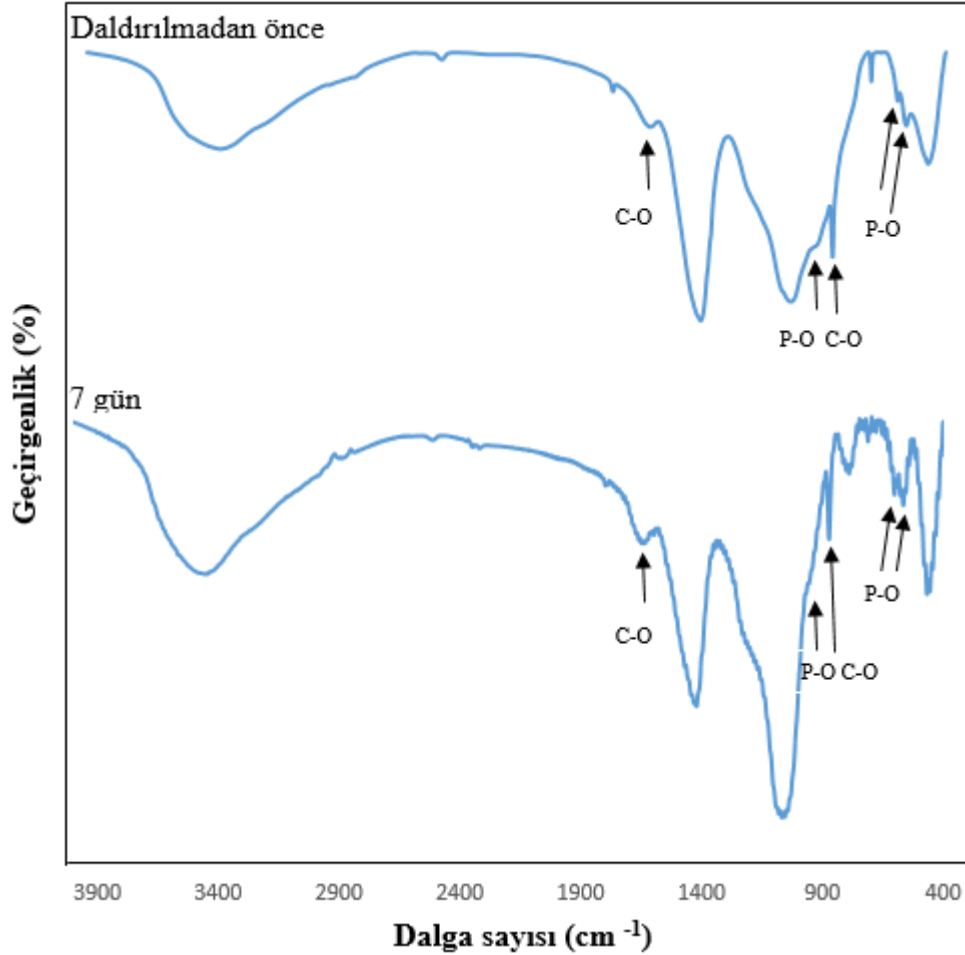


Şekil 5.24. XRD analizleri

5.2.3. FTIR analizleri

Numunelerin kimyasal karakterizasyonu, 400-4000 cm^{-1} aralığında Perkin Elmer Spectrum Two marka FTIR kullanılarak gerçekleştirildi. Şekil 5.25, biyoaktif cam tabletlerin SBF'ye daldırılmadan önce ve sonraki FTIR spektrumları HA'in yüzey kompozisyonunu ve yapısını yansıtabilir. SBF'ye daldırılmadan önce 603 cm^{-1} ve 565 cm^{-1} 'de görünen iki pik P-O bükülme titreşimine bağlanır. İki parçalı pikin ortaya çıkmasının nedeni, kristal kafesteki moleküllerin, güçlendirilmiş moleküller arası etkileşime bağlı olarak düzenli bir şekilde düzenlenmiş olması ve sonunda bant bölünmesine yol açmasıdır. SBF'ye 7 gün daldırıldıktan sonra bölünmüş fosfat bandındaki bu piklerin boyu büyümüştür. Mineralleşme süresi 7 güne çıkartıldığında HA kristalizasyon süreci hızlanarak piklerin yoğunluğu mineralleşme süresi arttıkça güçlenmiştir. Aynı zamanda birbirine yaklaşan bu pikler 571 cm^{-1} ve 569 cm^{-1} 'de görülmüştür. Ayrıca SBF'ye daldırılmadan önce P-O gerilme titreşimine karşılık gelen pik 941 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır ve belirgin şekilde görülmektedir. 875 cm^{-1} ve 1644 cm^{-1} 'de ortaya çıkan pikler, C-O

gerilme titreşimine karşılık gelir. Bu da mineralizasyon ürününün karbon elementi içerdiğini gösterir. Sonuç olarak, biyoaktif cam tabletlerin mineralizasyon ürünü, SBF'ye çözeltilisine batırıldıktan sonra HA olmuştur.

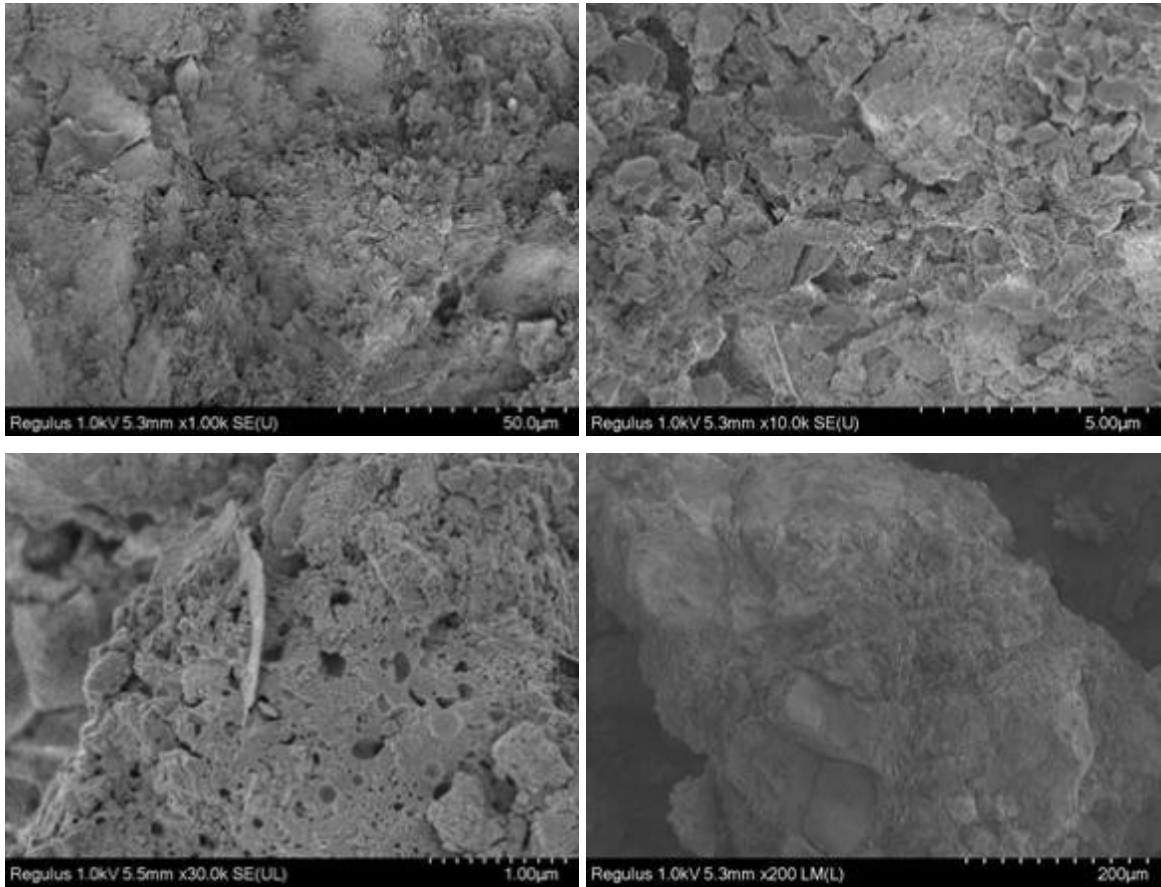


Şekil 5.25. SBF'de 7 gün bekletilen ve bekletilmeyen numunenin FTIR analizleri

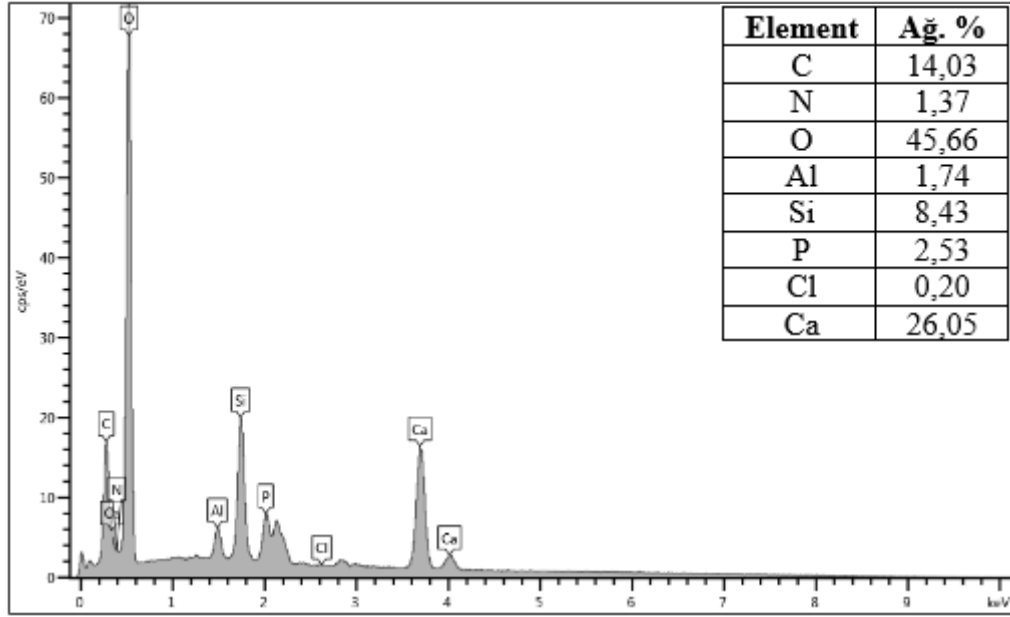
5.2.4. FE-SEM analizleri

58S biyoaktif cam tabletinin mikro yapısı FE-SEM kullanılarak incelenmiştir. Şekil 5.26 biyoaktif cam tabletinin heterojen ve düzensiz morfolojiye sahip olduğunu kanıtlamıştır. Kurutma işleminde, parçacıklar arasında buhar-sıvı ara yüzeyleri vardır. Ara yüzey geriliminin etkisiyle, parçacıklar arasında, sıvı yüzey eğriliği ortaya çıkmıştır. Bu da jel iskeletinin çökmesine neden olan kuvvetli çekme kuvveti yaratmıştır. Sonunda parçacıklar yakından temas etmiştir. Bu da yumuşak ve sert parçacıkların bir araya gelmesine neden olmuştur. Bu nedenle hazırlanan biyoaktif cam partiküllerinin kuru

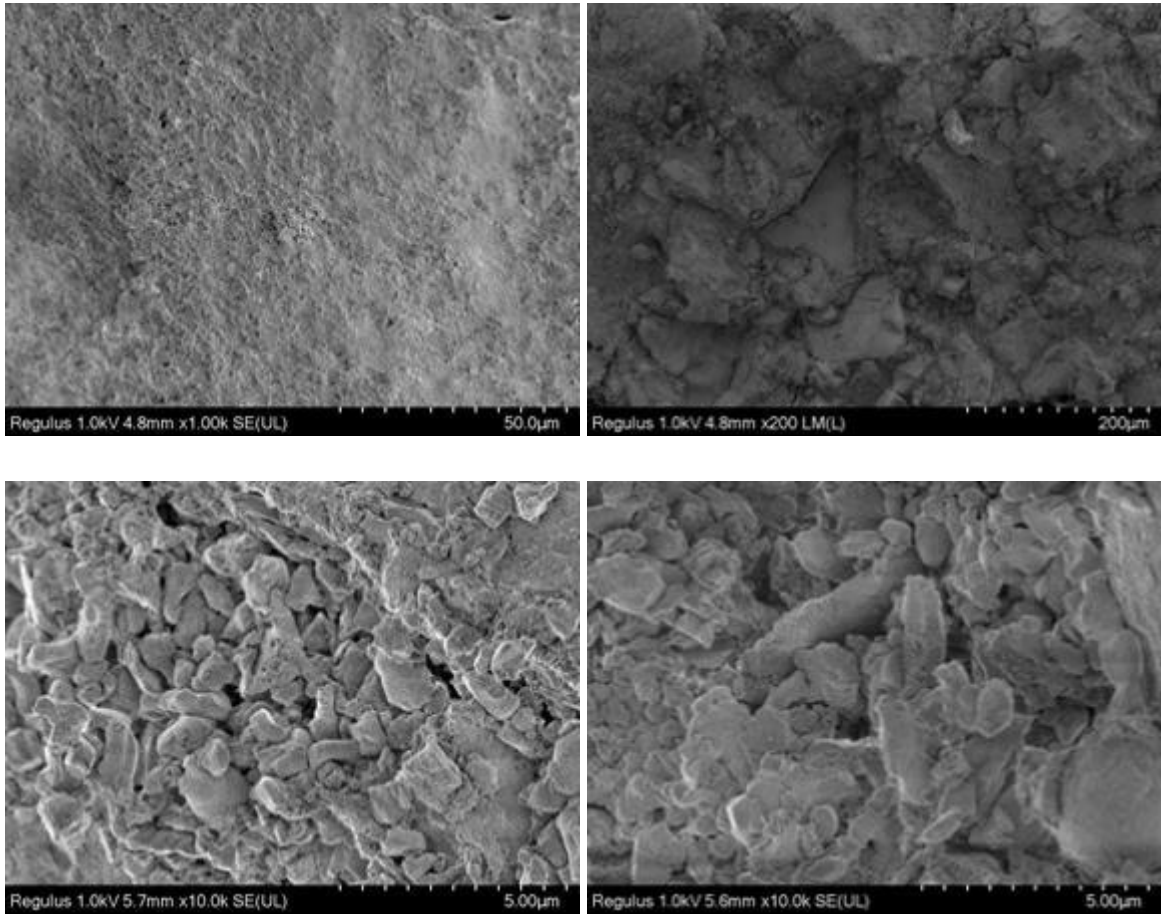
preslemeli kalıplamadan önce toz haline getirilmesi gerekir. FE-SEM analizinde biyoaktif cam tabletlerin yüzeyinde çok sayıda homojen olmayan nanopartiküle rastlanmıştır (Şekil 5.26). Başlangıçta mikroyapıda çatlak gözlemlenmemiştir. SBF'ye 30 gün daldırılan numune yüzeyinde oluşan çekirdekler büyümüştür. Yüzey oluşturulmuş HA kümeleri ile tamamen kaplanmıştır. Fakat 30 gün SBF'ye daldırılan numunede büyük biyoaktif cam partikülleri parçalanmaya başlamıştır. Tabletleri oluşturan parçacıkların homojen olmaması nedeniyle biyoaktif cam tabletlerin yüzeyinde birçok mikro çatlak ortaya çıkmıştır (Şekil 5.30). Tabletler SBF'ye batırıldıktan sonra stres konsantrasyonu üretmiş ve şişmiştir. Biyoaktif cam tabletler ve SBF çözeltisi arasında su erozyonu ve iyon değişiminin etkisi altında, fiziksel ve kimyasal reaksiyonların sonucunda çatlaklar oluşmuştur. SBF'ye 7 gün batırılmış numunenin FE-SEM analiz sonuçları Şekil 5.28'de gösterilmektedir. SBF'ye daldırılmadan önce Ca/P oranı 10,30 çıkarken 7 gün daldırılmış örnekte bu oran 18,18 ve 7,42 olarak belirlenmiştir (Şekil 5.27, Şekil 5.29). 30 gün daldırılan numunenin Ca/P oranı ise 3,58, 2,88 ve 3,07 olarak bulunmuştur (Şekil 5.31).



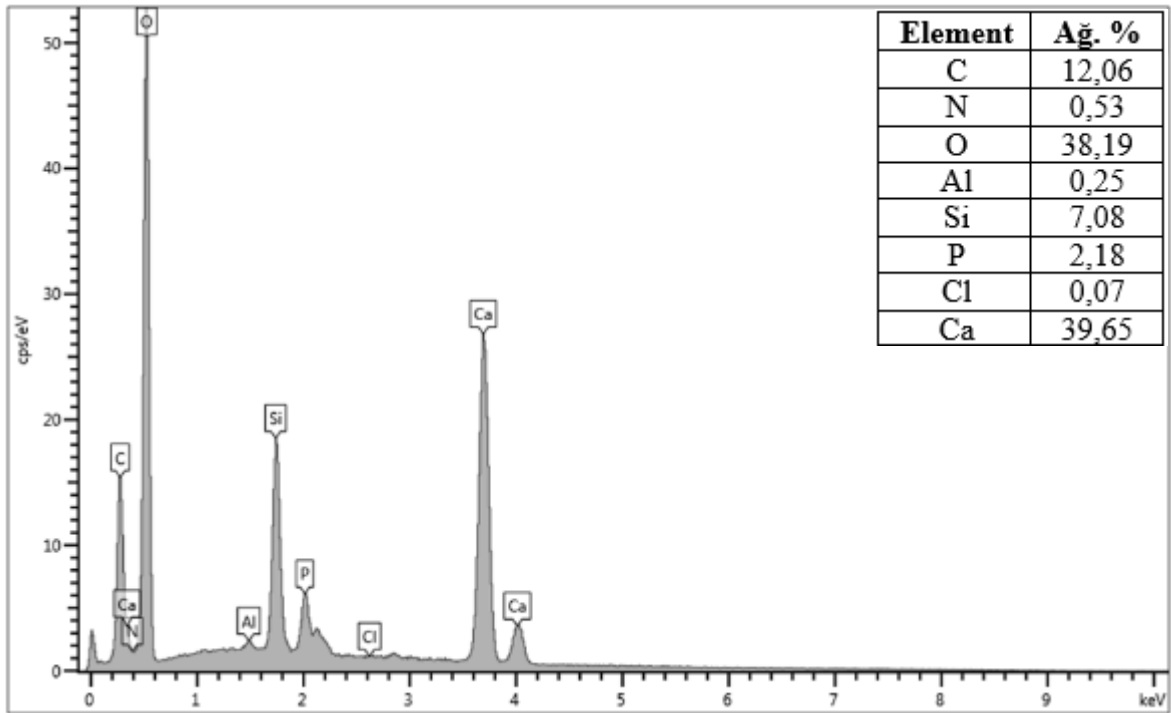
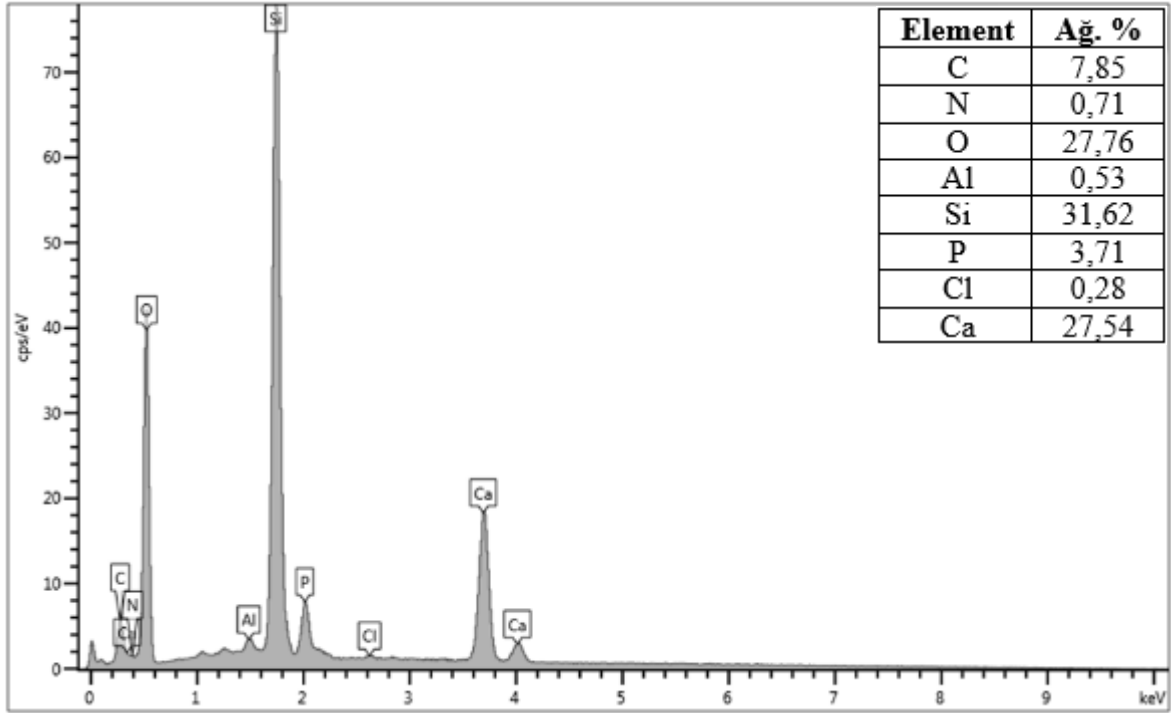
Şekil 5.26. R13 kompozisyonu 650°C'de 3 saat ısıl işleme tabi tutulan numunenin FE-SEM analizleri



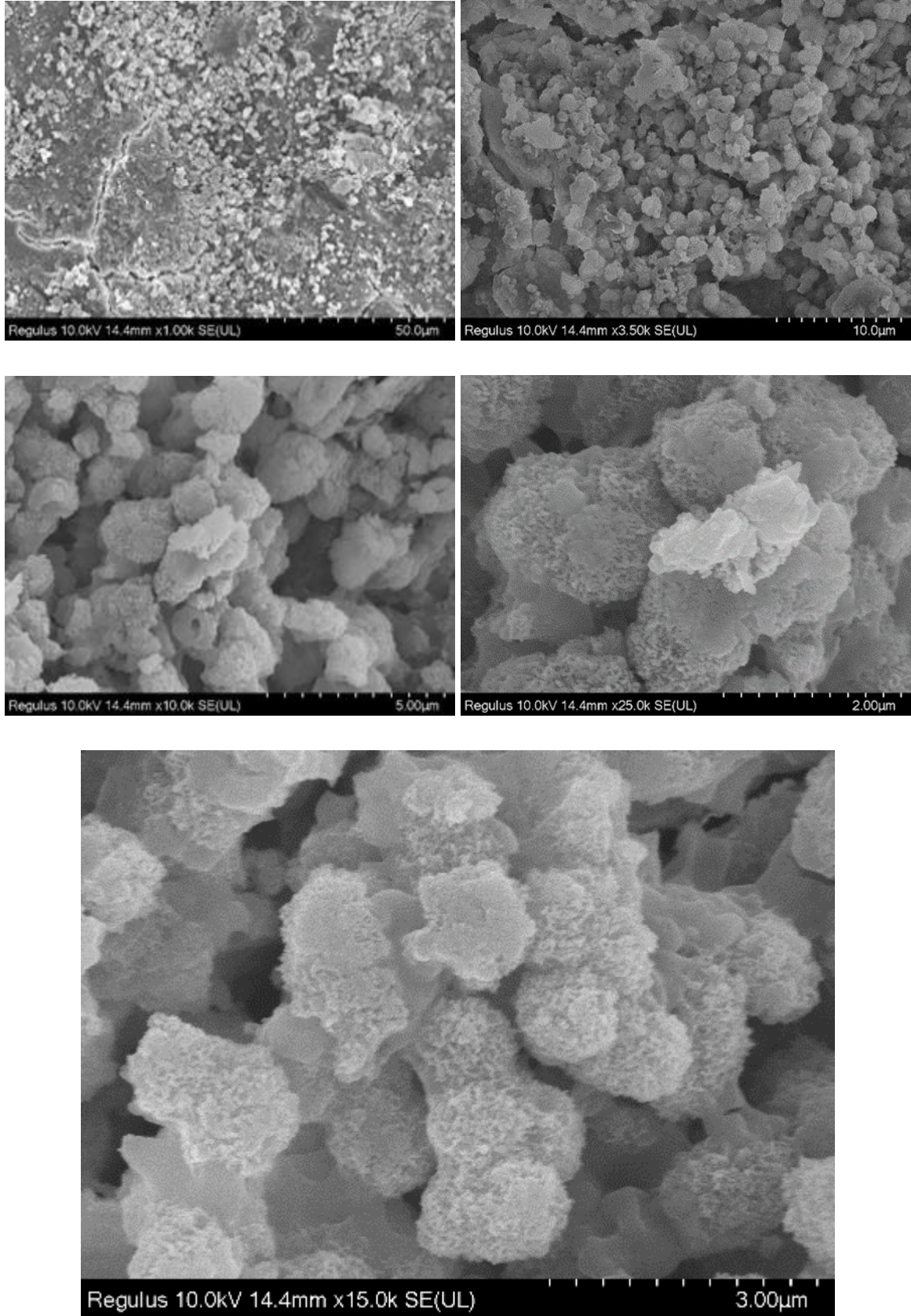
Şekil 5.27. R13 kompozisyonu 650°C’de 3 saat ısıl işleme tabi tutulan numunenin EDS analizi



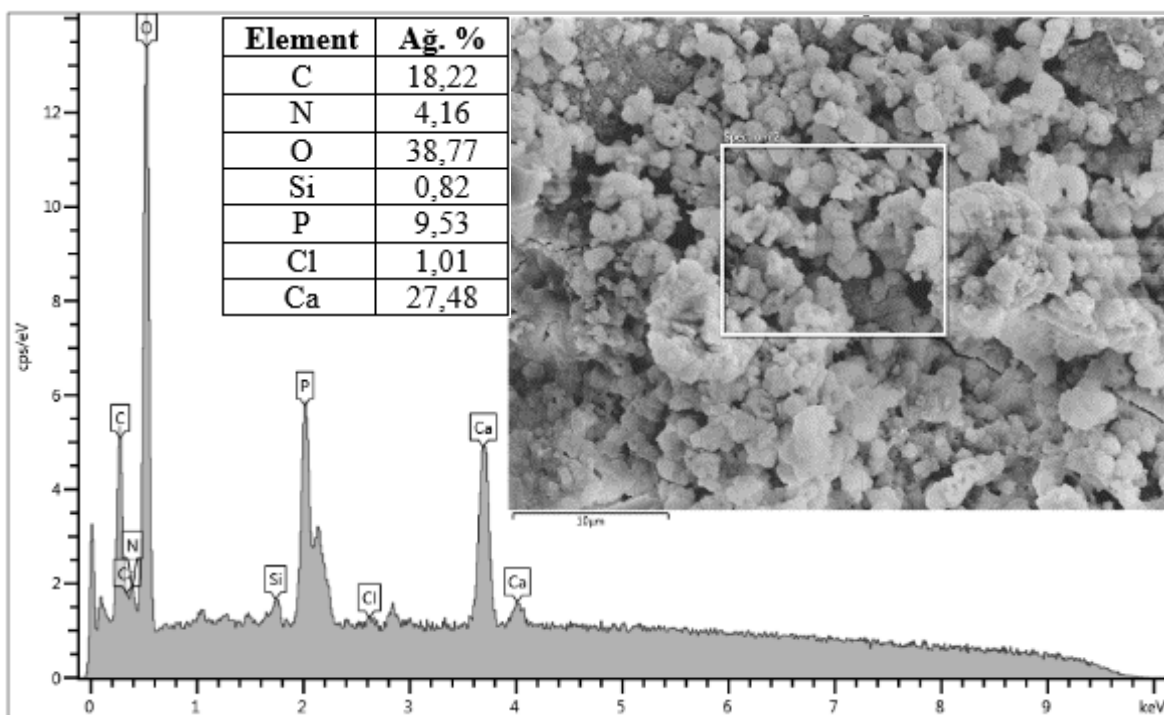
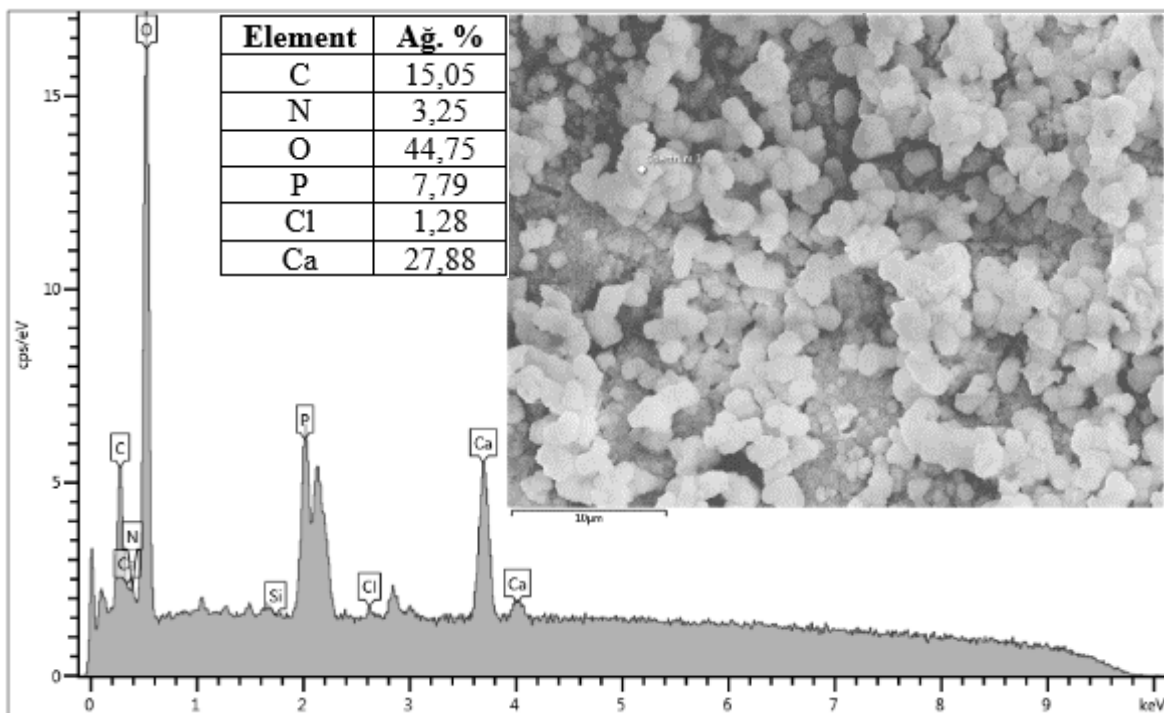
Şekil 5.28. R13 kompozisyonu SBF’de 7 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

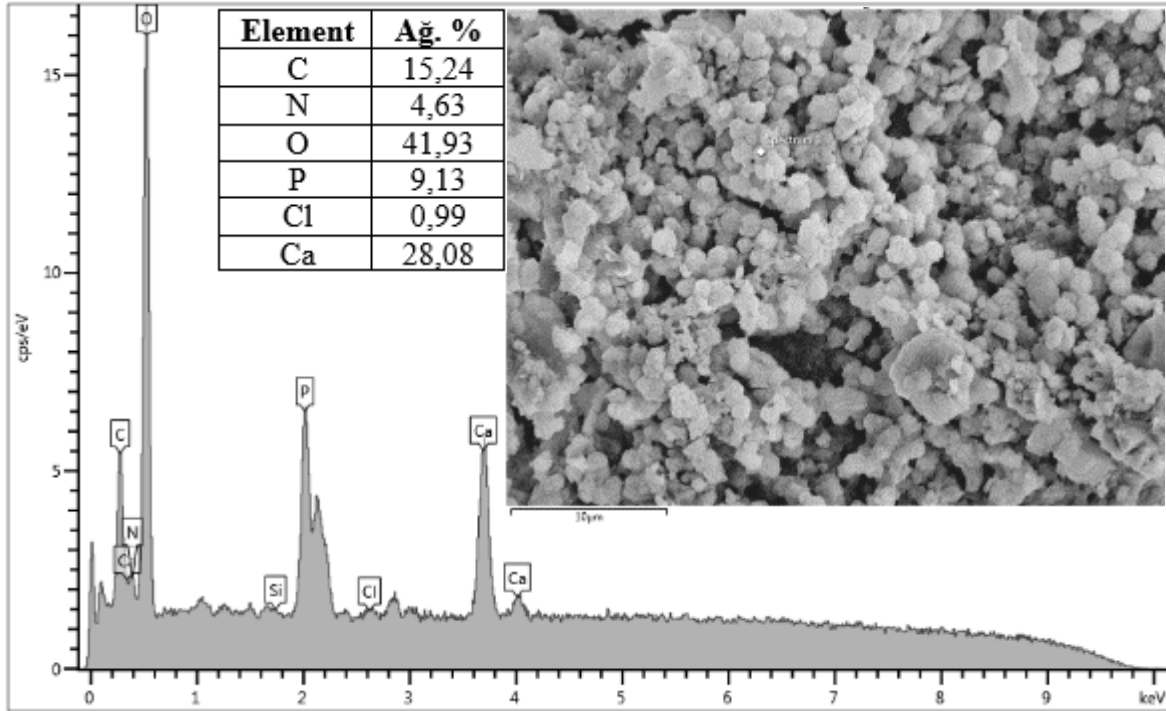


Şekil 5.29. R13 kompozisyonu SBF’de 7 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri



Şekil 5.30. R13 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri



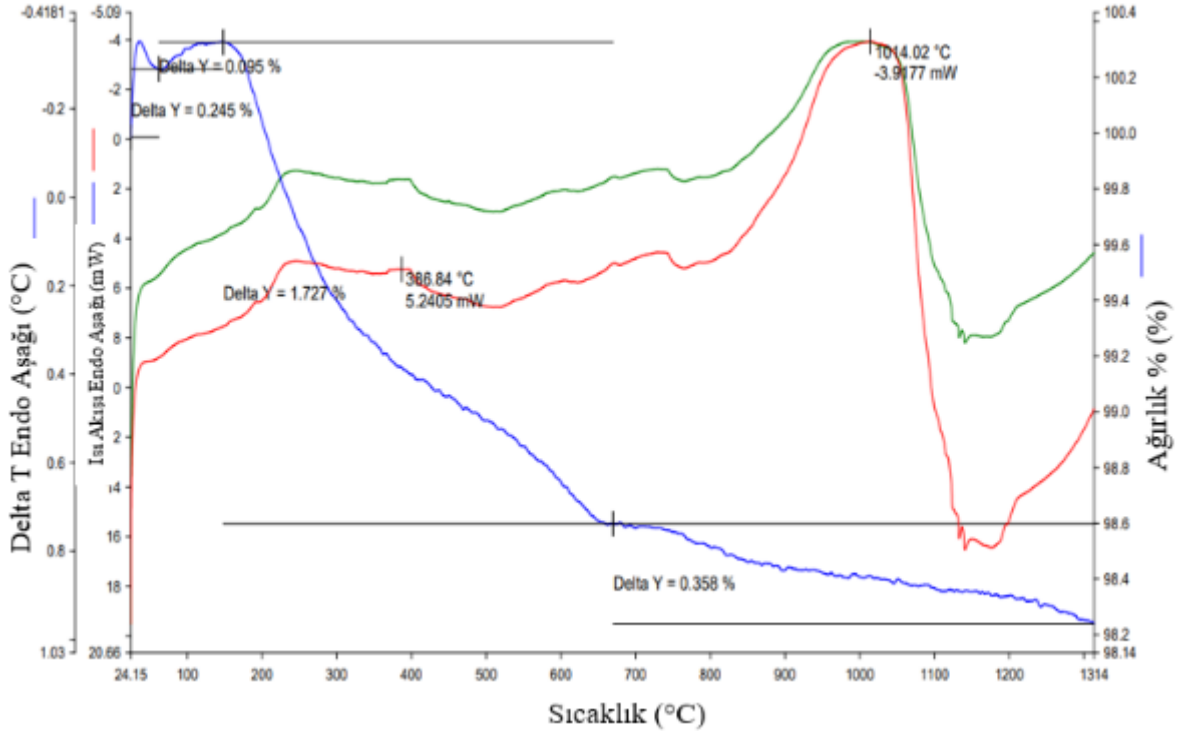


Şekil 5.31. R13 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri

5.3. R14 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları

5.3.1. STA

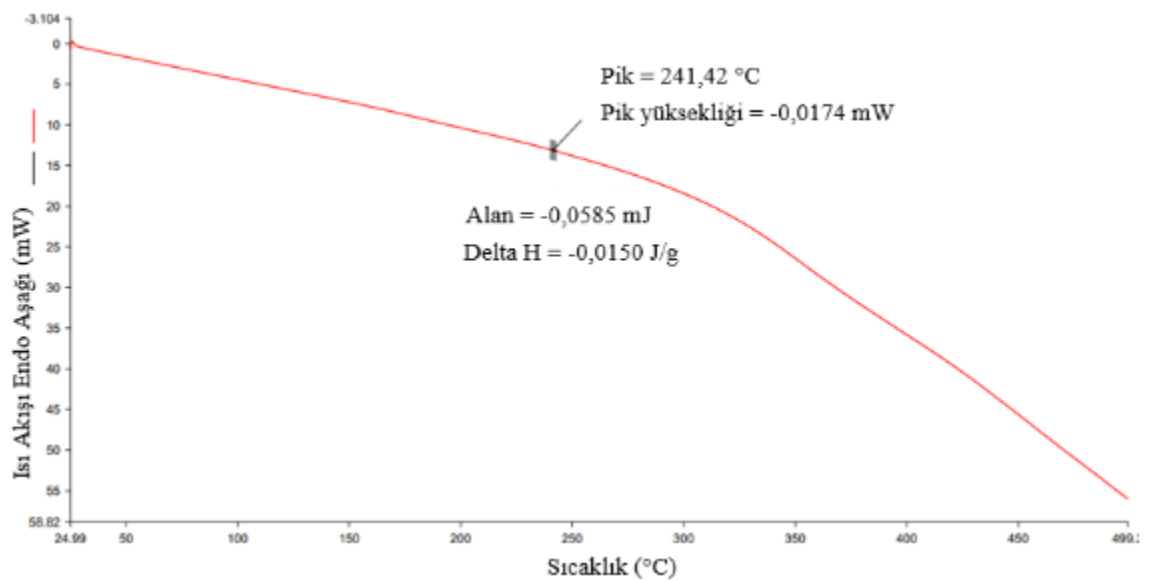
Numunenin kütle kayıplarını ve ortaya çıkan enerji değişimlerini belirlemek için Perkin Elmer STA 8000 STA cihazı kullanılmıştır (Şekil 5.32). TGA ile 1314°C’ye kadar olan ağırlık kaybı DTA eğrisinde ise endotermik ve ekzotermik pik sıcaklıkları ölçülmüştür. Tg/DTA grafiğinde ilk ağırlık kaybı emilen suyun ve silanollerin kurutulmuş jelden uzaklaştırılmasına karşılık gelir. DTA eğrisinde görülen ekzotermik pikler 386°C ve 1014°C’de görülmektedir. Bu sıcaklıklar biyoaktif camların kristalleşme sıcaklıklarını temsil etmektedir. Yaklaşık 1200°C’de görülen endotermik pik, camın bu sıcaklık çevresinde erimesine karşılık gelir. 600°C ile 750°C aralığında endotermik ve ekzotermik pik jel türevli 45S5’in kristalleşmesinde önemli rol oynamaktadır. Endotermik zirveler, sodyum nitrit ve diğer azot içeren bileşimlerin uzaklaştırılmasına karşılık gelir. Öte yandan, ekzotermik zirveler, faz dönüşümünü ve kristal oluşumlarını temsil eder.



Şekil 5.32. Sol-jel yöntemiyle hazırlanan numunenin STA sonucu

5.3.2. DSC analizi

Dönüşüm sıcaklıklarını belirlemek için DSC (Perkin Elmer DSC8000) kullanılmıştır (Şekil 5.33).

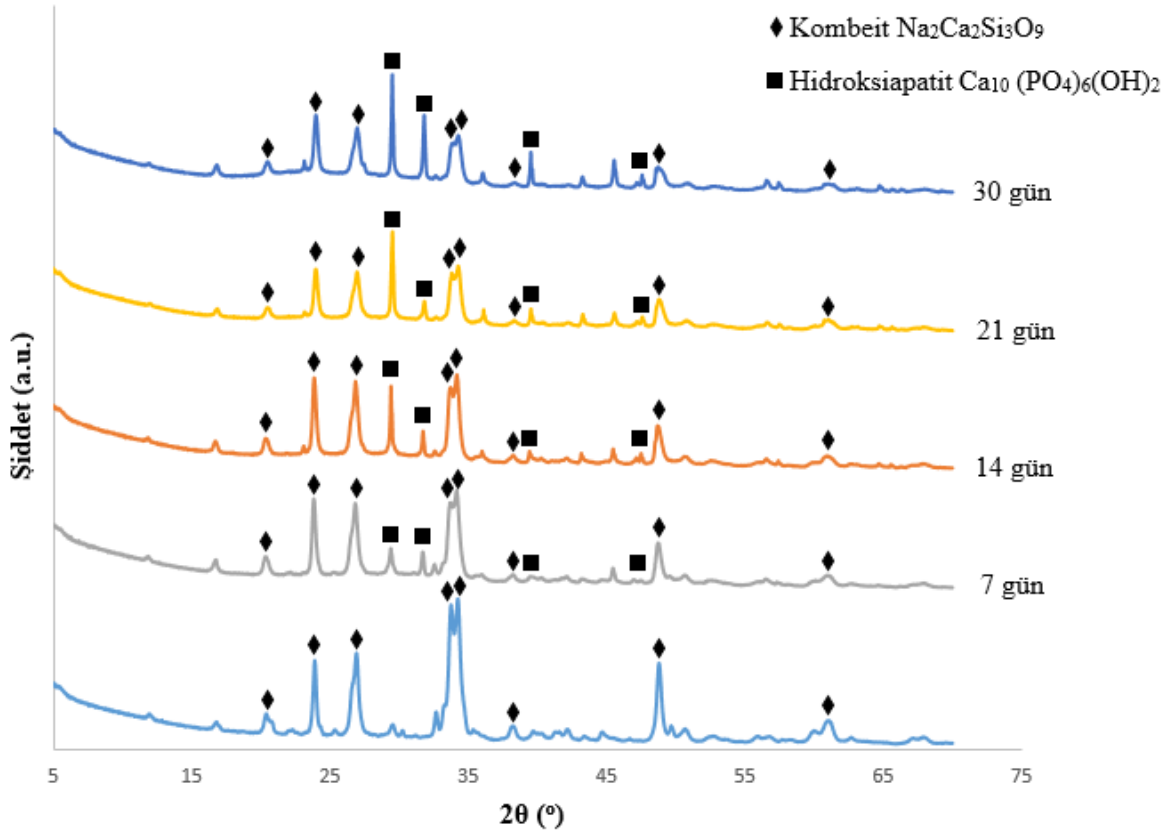


Şekil 5.33. 45S5 numunesinin DSC analiz sonucu

DSC eğrisinde 241°C’de görülen pik öncüllerin ve katalizörlerin daha fazla yoğunlaştırmasından uzaklaştırılan sudan kaynaklanmaktadır.

5.3.3. XRD analizleri

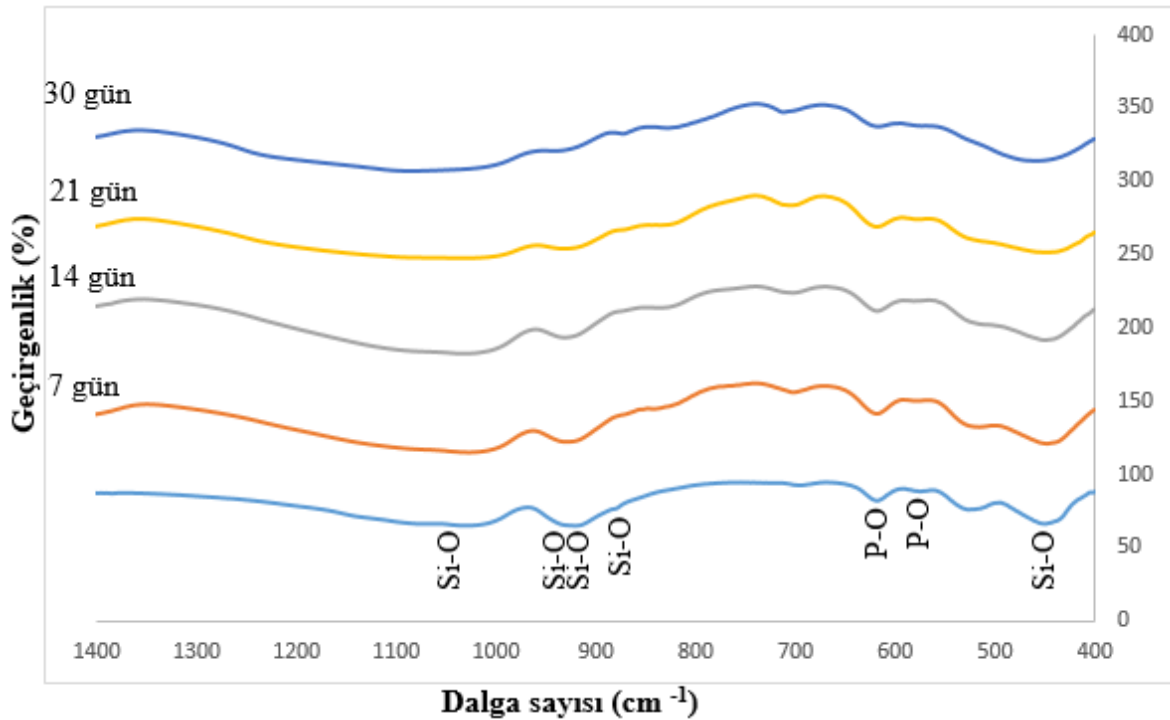
SBF’ye daldırmadan önce ve sonra numunelerde mevcut olan kristal fazları belirlenmesinde XRD tekniği (Panalytical Empyrian) kullanılmıştır. SBF’ye 7, 14, 21 ve 30 gün boyunca batırılmış numunelerin XRD sonuçları, Şekil 5.34’de gösterilmiştir. Jelden türetilen toz, SBF’ye daldırmadan önce $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ ’un kristal zirvelerini gösterir. 7 günde, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ HA oluşmaya başlamış ve bu nedenle başka hiçbir yapı tespit edilememiştir. Sistemde sodyum varlığı 700°C’de ısıl işlem gören malzemede kristal fazlı $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ oluşumuna neden olmuştur. XRD spektrumları, $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ kristal piklerin jel türevi numunenin SBF’ye daldırılmasından sonra da devam ettiğini gösterir. Ayrıca tozların yüzeyinde ilk HA tabakaları oluşur. Daldırma süresi arttıkça HA pik şiddeti artmış $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ pik şiddeti ise azalmıştır.



Şekil 5.34. Zamanın fonksiyonu olarak SBF’ye batırılmış jel türevi 45S5’in XRD analizleri

5.3.4. FTIR analizleri

SBF'ye daldırdıktan sonra apatit tabakasının oluşumu ile ilgili dönüşümler incelenmiş ve FTIR (PerkinElmer Spectrum Two) ile doğrulanmıştır. Sonuçlar 1400–400 cm^{-1} arasında gösterilmiştir. Ayrıca FTIR, XRD'de ayırt edilemeyen amorf fazların karakterizasyonunda kullanılmıştır. $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ 'den gelen Si-O tepe noktalarının varlığını gösteren FTIR sonuçları, XRD sonuçlarını doğrular. FTIR testleri, XRD sonuçlarını doğrulamak, amorf yapıyı daha spesifik olarak incelemek ve HA büyümesinin yarı kantitatif çalışmasına yardımcı olmak için yapılmıştır. Sonuçlar, Şekil 5.35'teki geçirgenlik modunda gösterilmektedir.



Şekil 5.35. Zamanın bir fonksiyonu olarak SBF içine daldırılmış jel türevi 45S5'in FTIR spektrumları

45S5'i temsil eden ana emme bağları 450 cm^{-1} 'de Si-O bükme ve 880 ve 915 cm^{-1} 'de Si-O gerilmedir. FTIR sonuçlarında 915 cm^{-1} 'deki pik fosforca zengin fazın silisyum bağına bağlanan Si-O gerilmesine, 575 ve 620 cm^{-1} 'deki pikler ise P-O bükülmesine karşılık gelir. Jel türevi toz, çoğunlukla kristal yapıyla ilgili olan diğer pik noktalarını gösterir. 450 cm^{-1} 'daki kuvvetli pik, gelişmiş kristallerin Si-O bükülme bağlarına karşılık

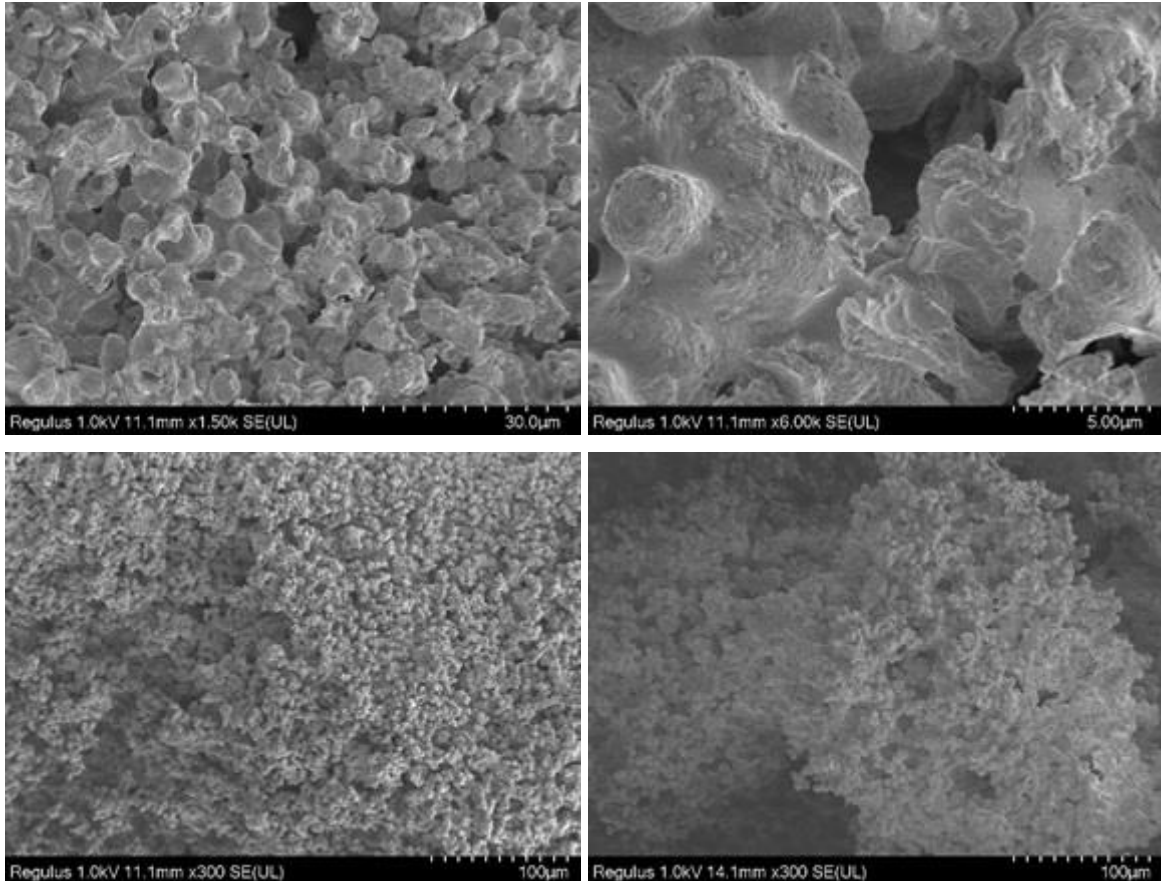
gelir. Bu nedenle bu kuvvetli pik noktasının, amorf veya kristal yapı ile ilişkili olabileceğini gösterir. 575 cm^{-1} 'deki küçük pik ve 620 cm^{-1} 'deki küçük pik, kristalli bir fosfat bakımından zengin fazı gösteren P-O bağlarını belirtir. Son olarak, 935 ve 1040 cm^{-1} 'deki pikler, Si ve köprüleme yapmayan oksijen spektrumu arasındaki gerilme bağına bağlanır ve jelden türetilmiş 45S5'te kristalleşme meydana geldiği anlamına gelir.

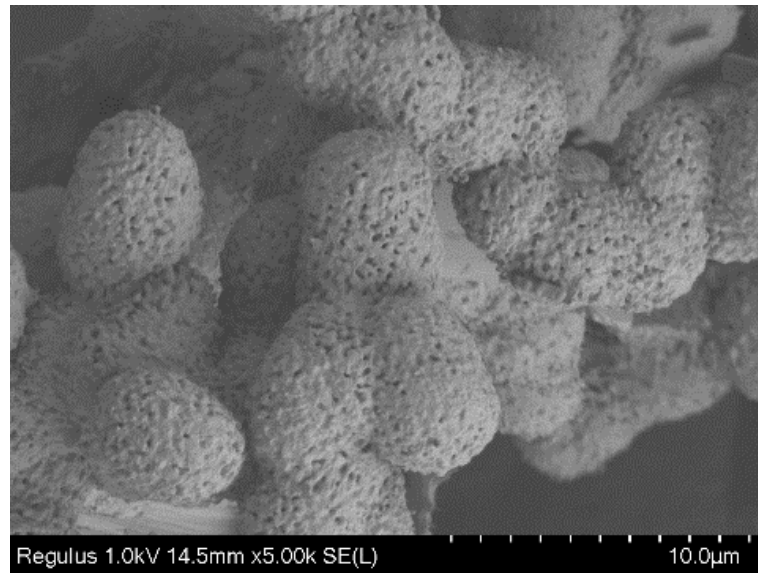
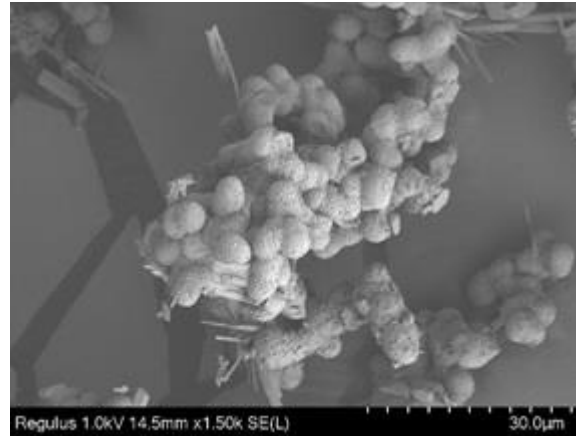
5.3.5. FE-SEM analizleri

Oluşturulan jel türevi tozlarının daldırma işleminden sonra oluşan HA'nin morfolojisini anlamak için FE-SEM ve EDS analizi yapılmıştır. Şekil 5.42 SBF'ye 30 gün batırıldıktan sonra jel türevli numunenin FE-SEM görüntülerini ve yüzeylerinde HA'nin büyümesini göstermektedir. SBF'ye daldırmadan önce 45S5 jelleşmiş tozun yüzey alanı yüksektir (Şekil 5.36). SBF'de 14 ve 21 gün bekletilmiş numunelerin FE-SEM analiz sonuçları Şekil 5.38 ve Şekil 5.40'de gösterilmektedir. SBF'ye daldırmadan önce numunenin Ca/P oranı 2,08, 4,96, 7,5 ve 9,60 olarak bulunmuştur (Şekil 5.37). SBF'de 14 gün bekletilen numunenin Ca/P oranı 3,73, 7,44, 9,04 ve 7,67 olarak çıkarken 21 gün bekletilen numunede bu oran 5,03, 3,86, 5,20 ve 8,69'dur (Şekil 5.39, Şekil 5.41). SBF'ye 30 gün daldırılan numunede Ca/P oranı 13,48, 9,21, 9,25 ve 14,14 olarak belirlenmiştir (Şekil 5.43). SBF'ye daldırdıktan sonra jelleşmiş 45S5'in yüzeyindeki bölgelerde küresel çekirdekler ve küçük iğne benzeri partiküller HA oluşumuyla ilişkilidir. Oluşturulan jel kaynaklı tozlar üzerinde gözeneklilik olması beklenir. Bu nedenle, yüzeydeki küçük HA çekirdeklerinin varlığı, çekirdeklenme bölgeleri olarak işlev gören ince gözeneklilikte gerçekleşebilir. Jelden türetilmiş numunenin yüzeyinde tespit edilen küçük iğne benzeri ince HA'ler önemli bir role sahiptir. Bu küçük parçacıkların, jel türevi tozun alt tabakasının daha yüksek yüzey alanı nedeniyle CaP mikro parçacıklarından daha hızlı çekirdekleşmesi beklenir. Daha yüksek bir SSA'ya ve görünüşte daha pürüzlü bir yüzeye sahip olan HA'nin genel oluşum oranı, daha yüksek çekirdeklenme oranı nedeniyle jel türevi toz üzerinde hızlıdır.

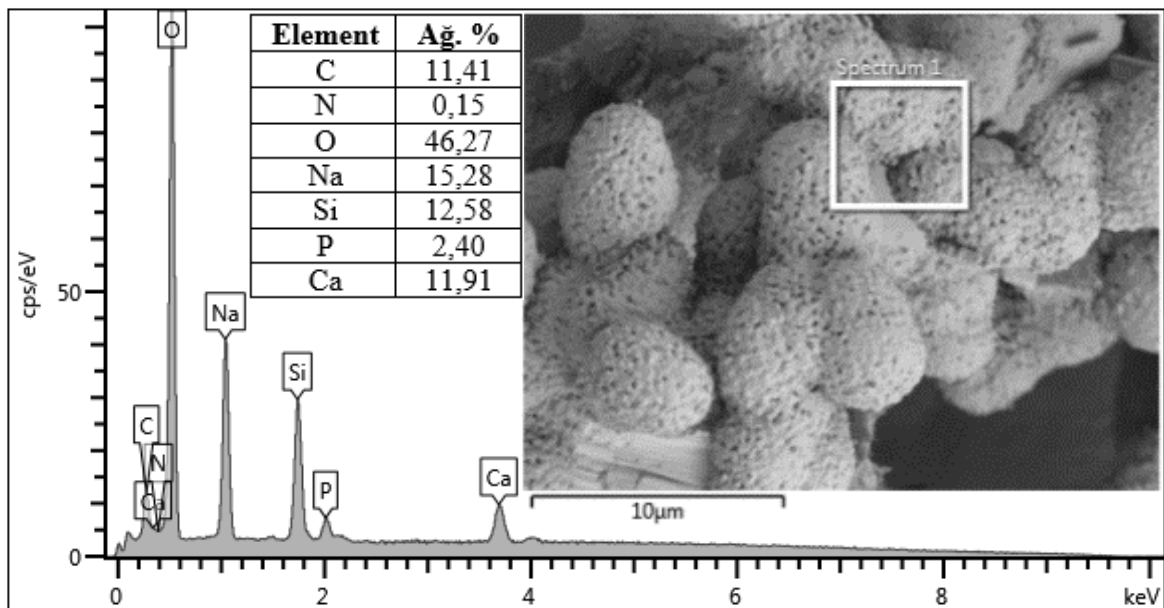
Jel türevi taneciklerin yüksek yüzey alanı ve gözenekli yapısı nedeniyle bu numunede iğnemsiz ince HA yapıların oluşumuna yol açar. Raporlar, sonraki HA tabakalarının daha önce çekirdeklendirilmiş HA'nin mevcut yüzeyleri üzerinde büyümeyi oluşturduğunu ve dolayısıyla HA'nin kendi kendine çekirdekleşme için uygun bir yüzey

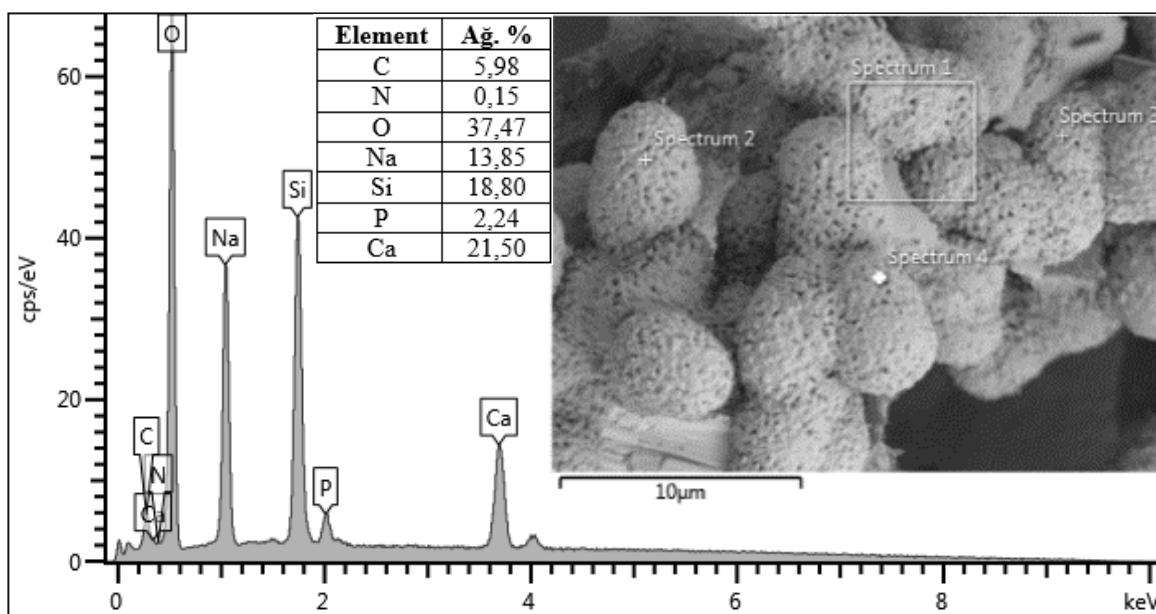
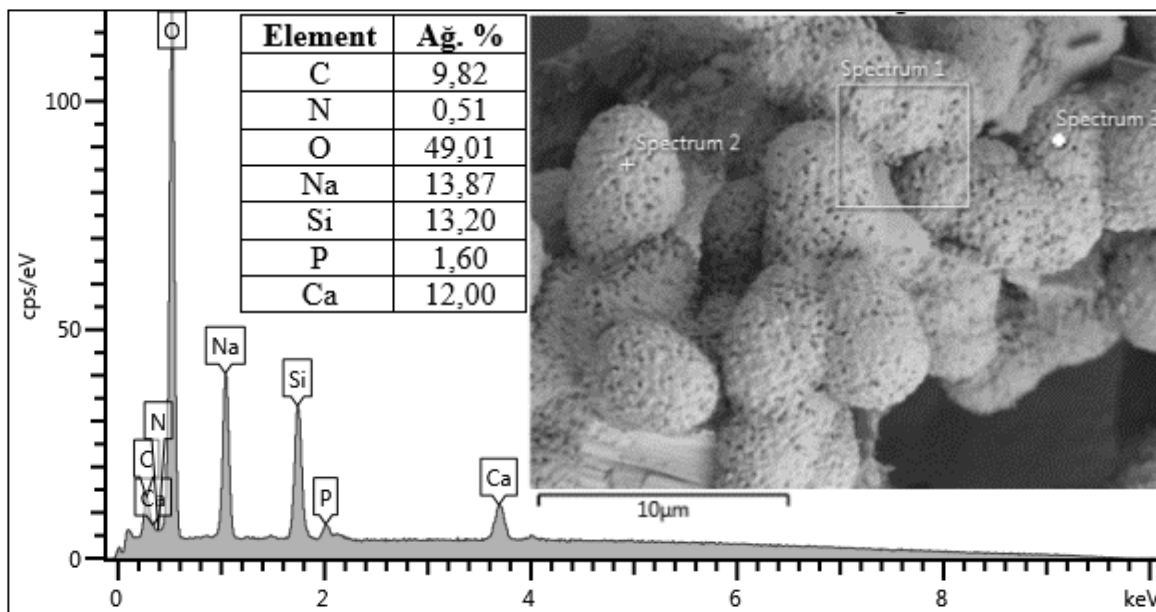
olduğunu göstermektedir (Murugan vd., 2006). HA iğnemi yapıları daha ince görüldükçe, arkadan gelen katmanlar daha yüksek çekirdeklenme bölgesi yoğunluğu nedeniyle daha hızlı oluşur. Jel türevi numunenin iğnemi ince yapıları fazla çekirdeklenme bölgesi oluşturur ve sonuçta HA oluşum hızının yüksek olması beklenir. Çekirdeklenme bölgesi yoğunluğu tozların morfolojisi ile ilgili olup FE-SEM ve EDS ile incelenebilir. Çekirdeklenme bölgesi yoğunluğu ve morfolojisinin ara yüzey reaksiyon kinetiği üzerinde etkilidir. SBF'ye daldırmadan sonra, yüksek gözeneklilik ve sonuç olarak yüzey üzerinde yüksek çekirdeklenme bölgesi yoğunluğu, jel türevi tozların yüzeyinde ince HA oluşumuna yol açar. Yüksek gözenekli jel türevi 45S5'in yüzeyindeki ince HA'nın kaba HA'ten daha hızlı büyümesi ve nihayetinde CaP ve kaba HA'ı örtmesi beklenir. Bu nedenle, yüzey dokusu HA oluşumu oranında önemli bir rol oynar. Ara yüz ve vücut sıvısı arasındaki ara yüzey reaksiyonunun sonraki aşamalarının, daha ince morfolojiden dolayı jel türevi tozda hızlı olması da beklenir. Ayrıca, daha önceki araştırmalar daha ince HA'nın yüzey pürüzlülüğü yaptığını, böylece vücut dokularıyla bağlantıyı kolaylaştırdığını ve mekanik bağlantıların da iyileştiğini göstermiştir (Bahniuk vd., 2012; Chun ve Webster, 2009; Xia ve Chang, 2007).

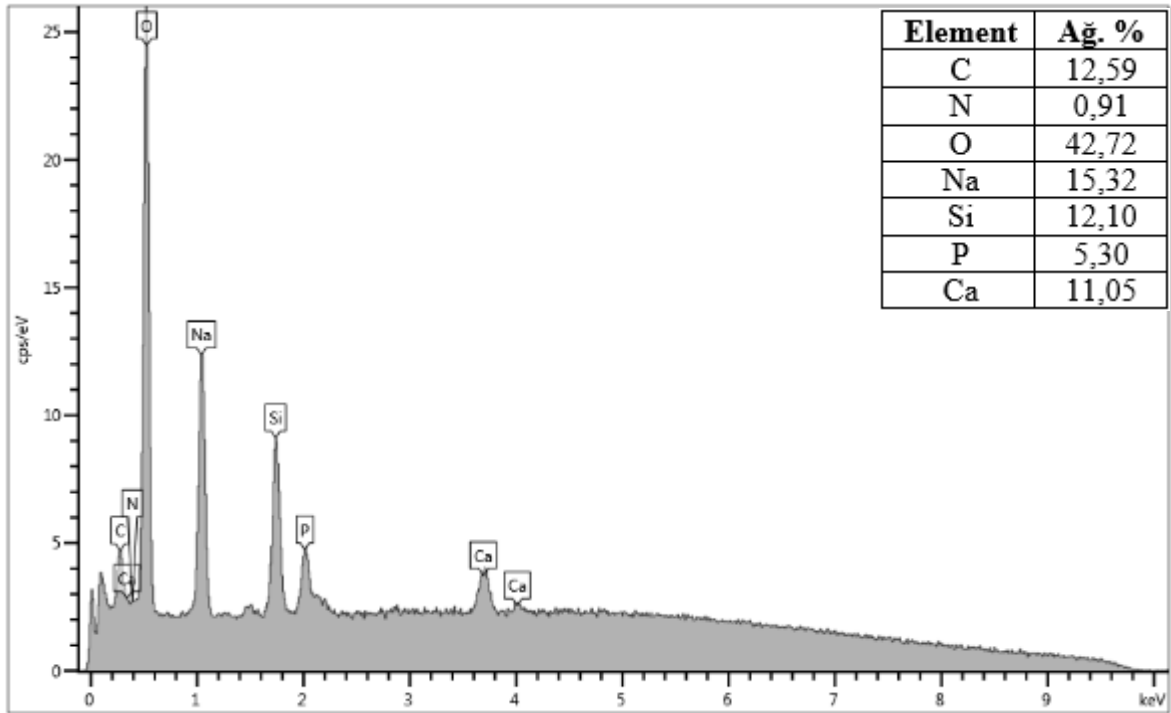




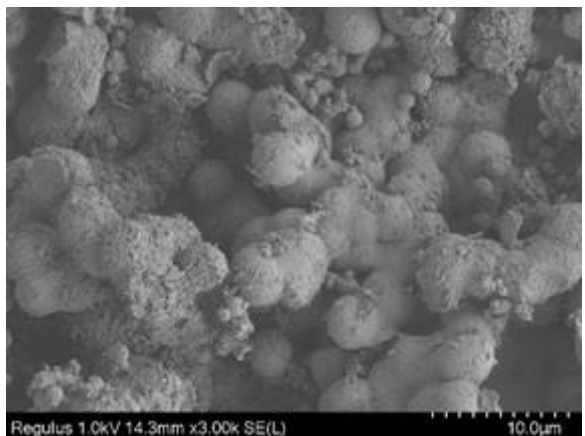
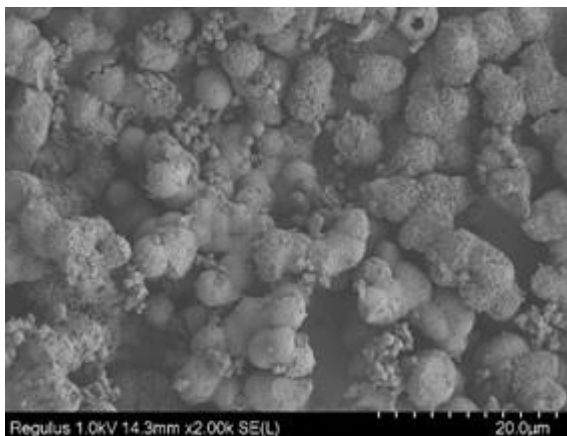
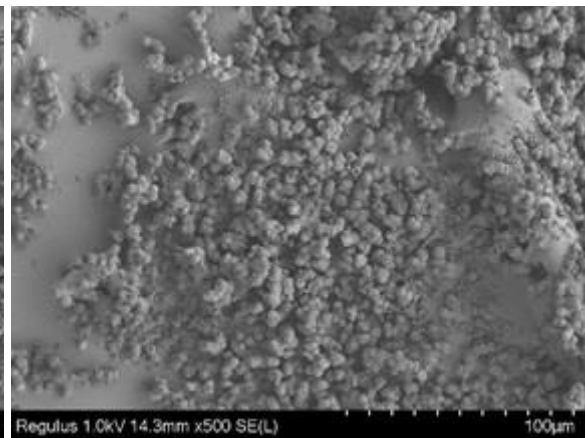
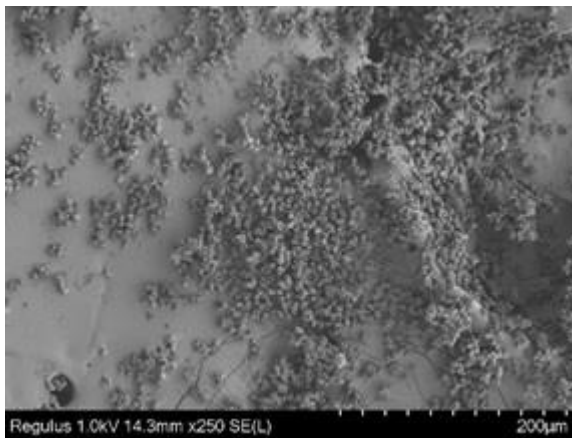
Şekil 5.36. R14 kompozisyonu biyoaktif camın FE-SEM analizleri

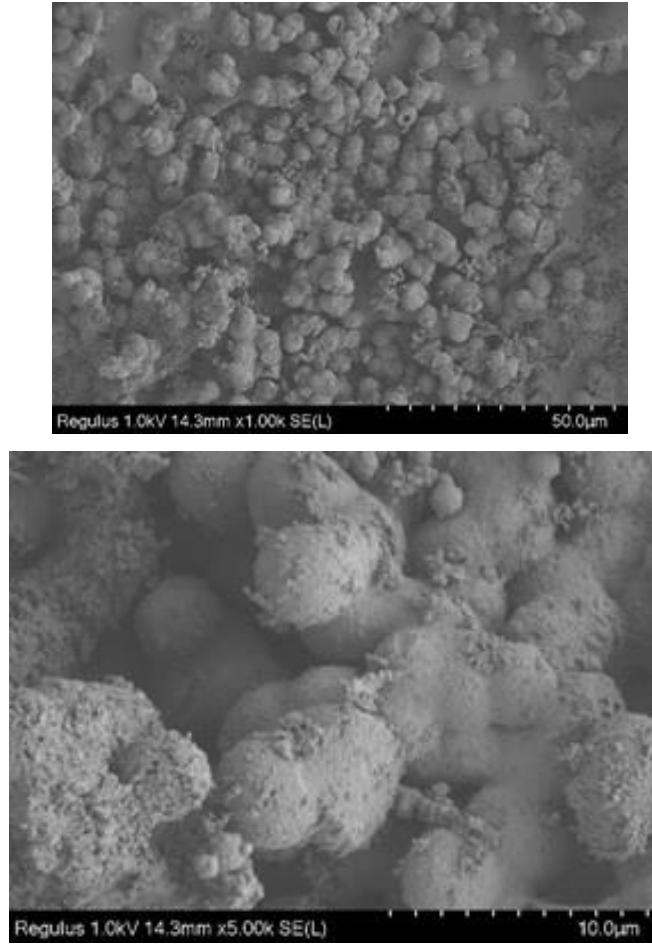




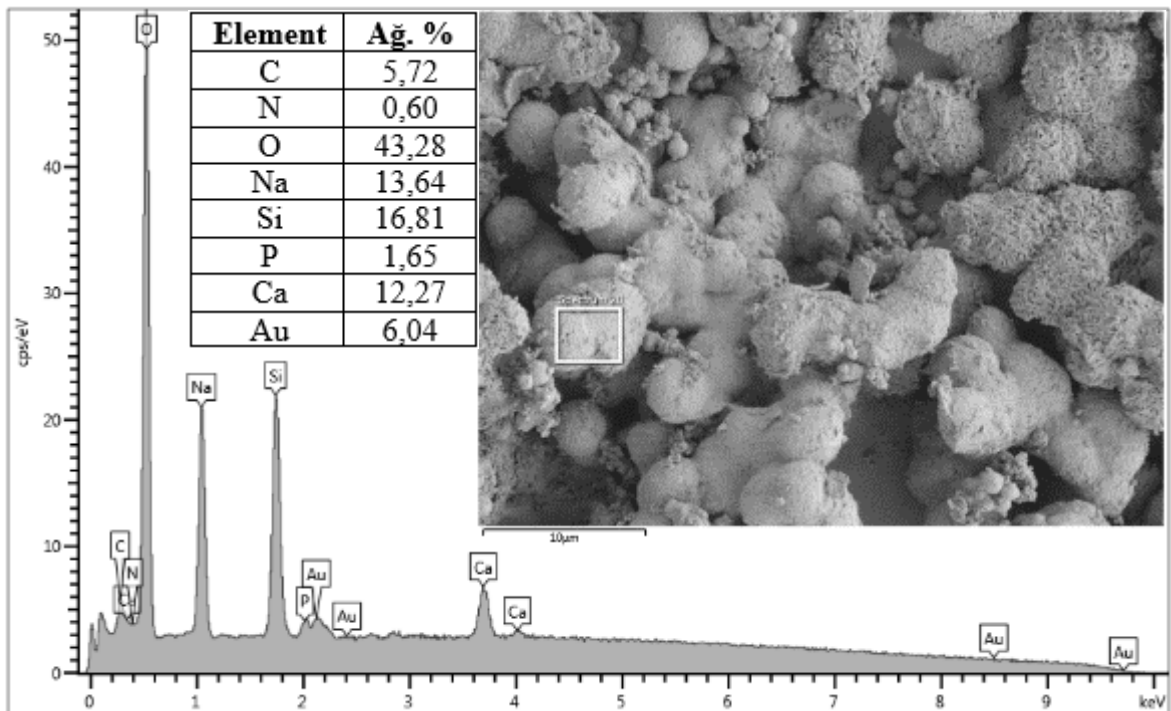


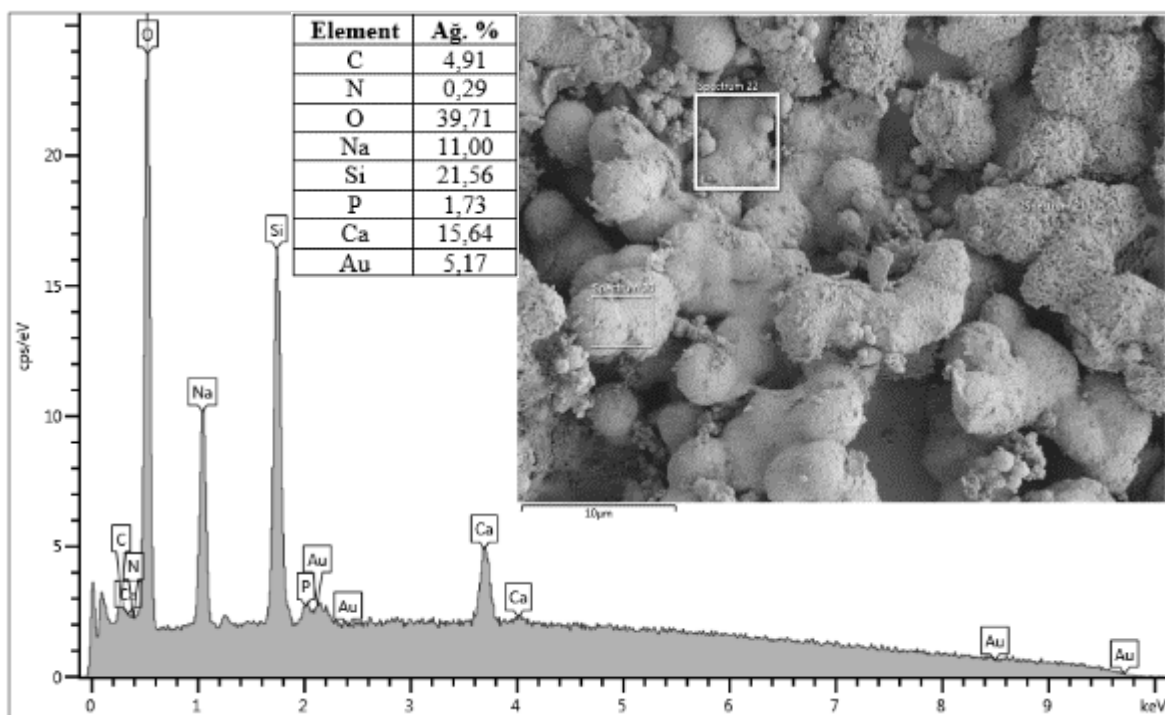
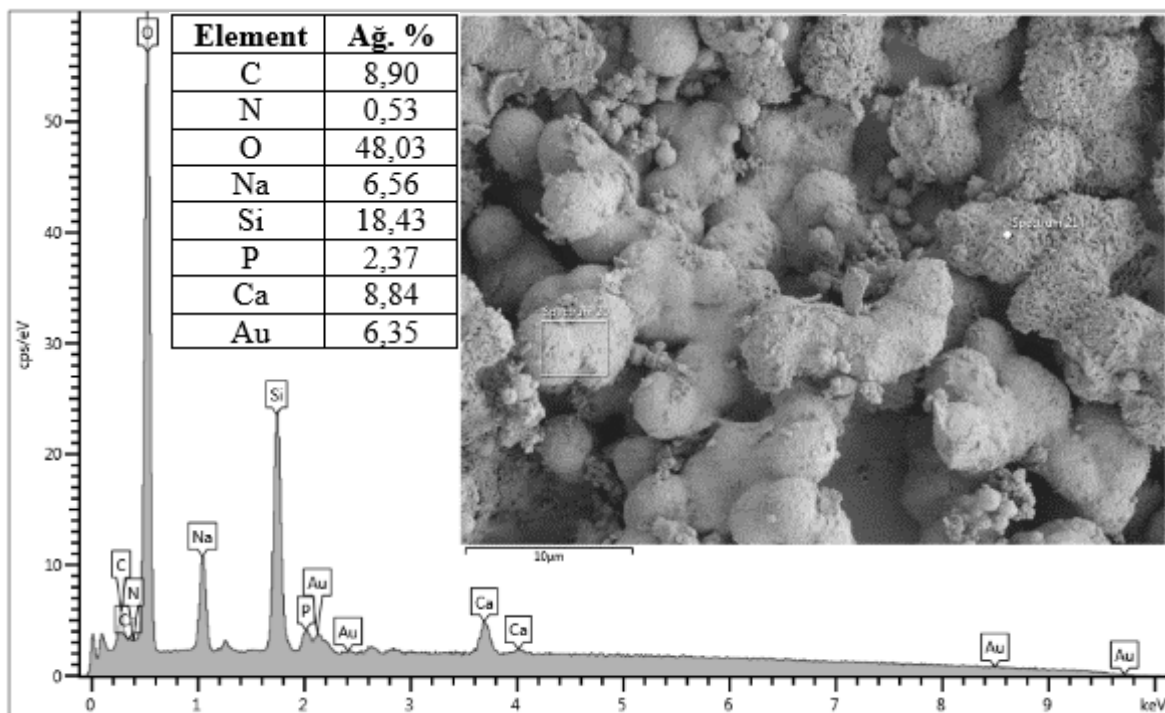
Şekil 5.37. R14 kompozisyonu biyoaktif camın EDS analizleri

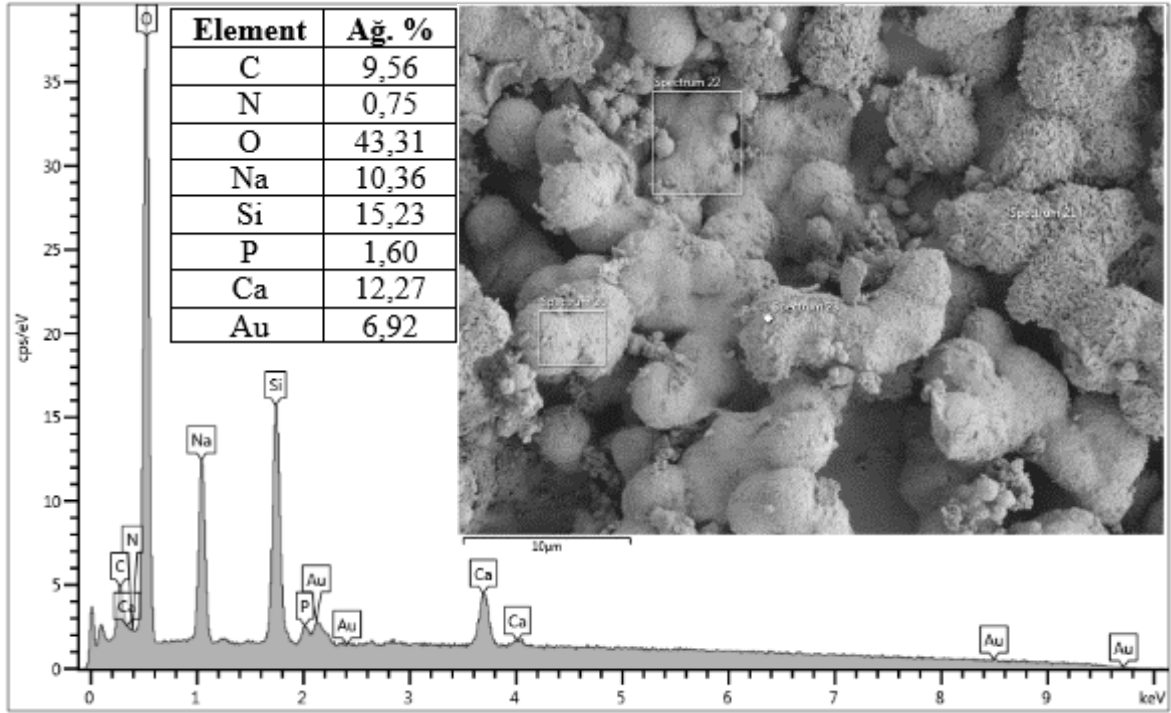




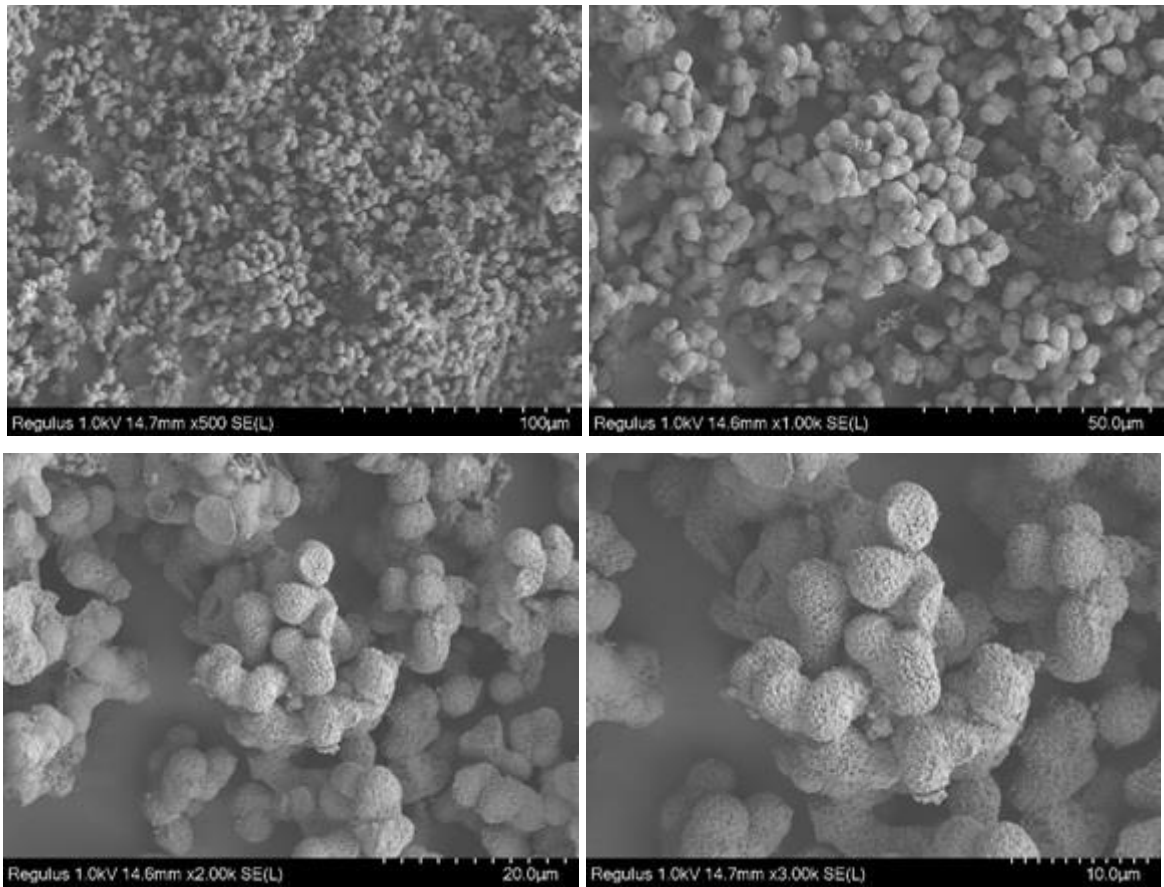
Şekil 5.38. R14 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

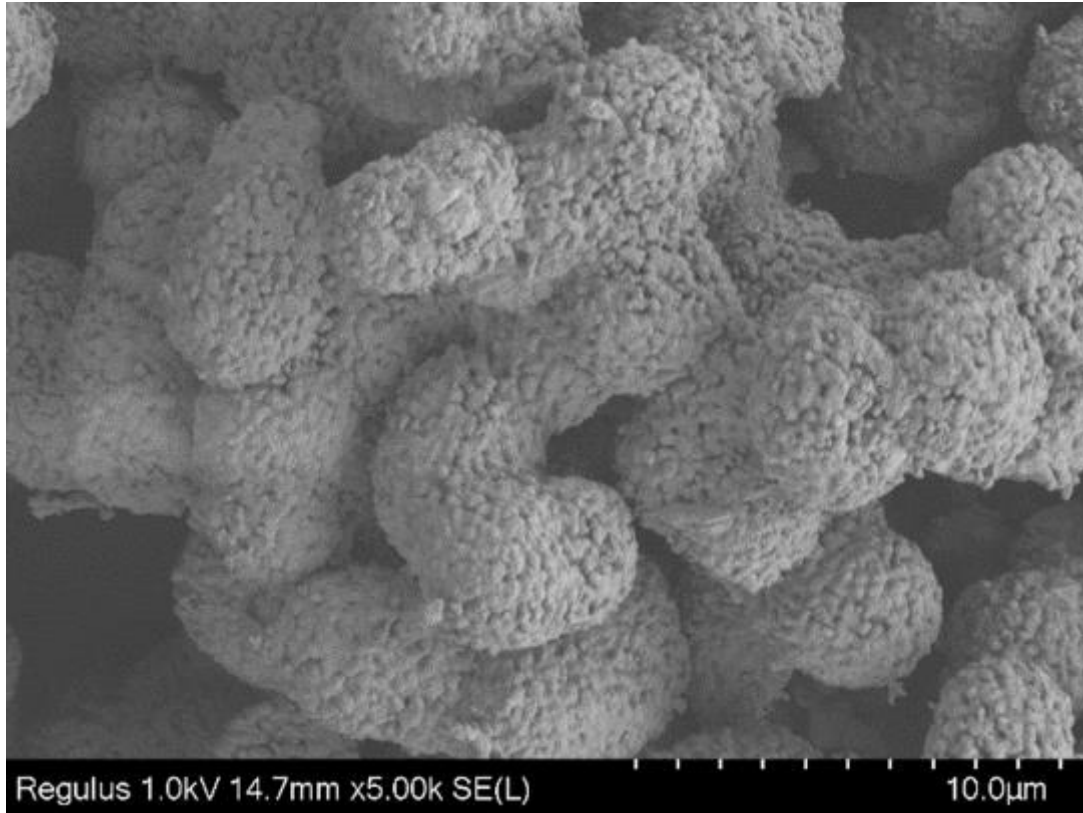




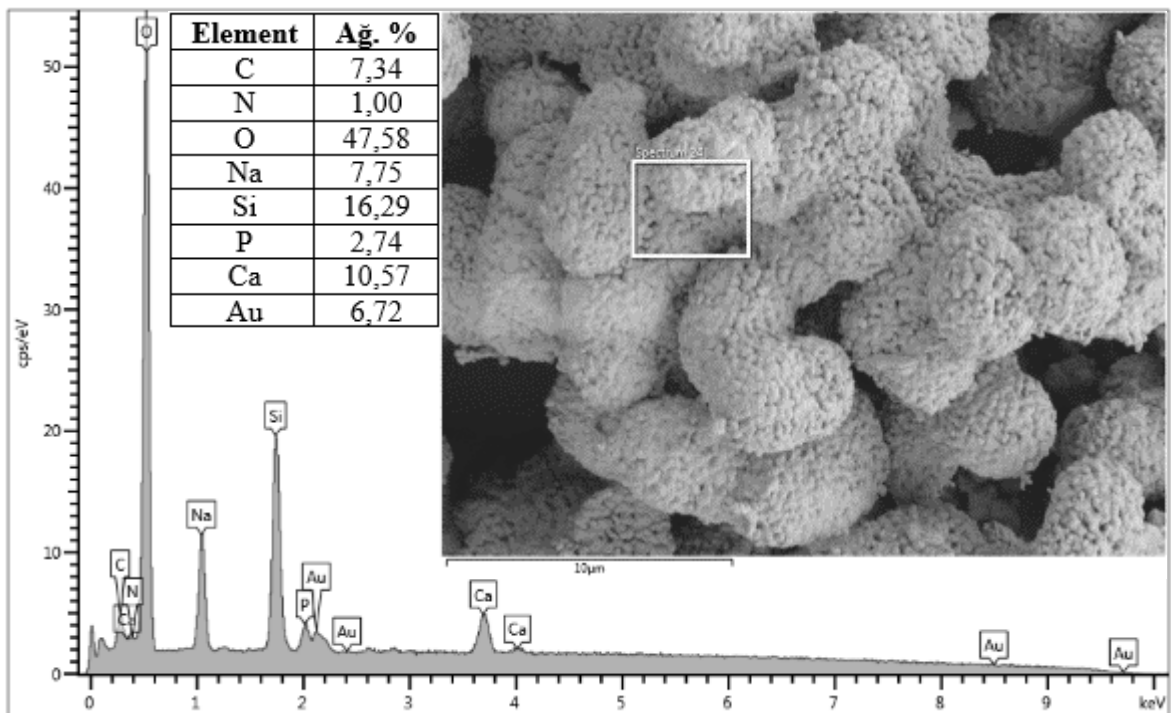


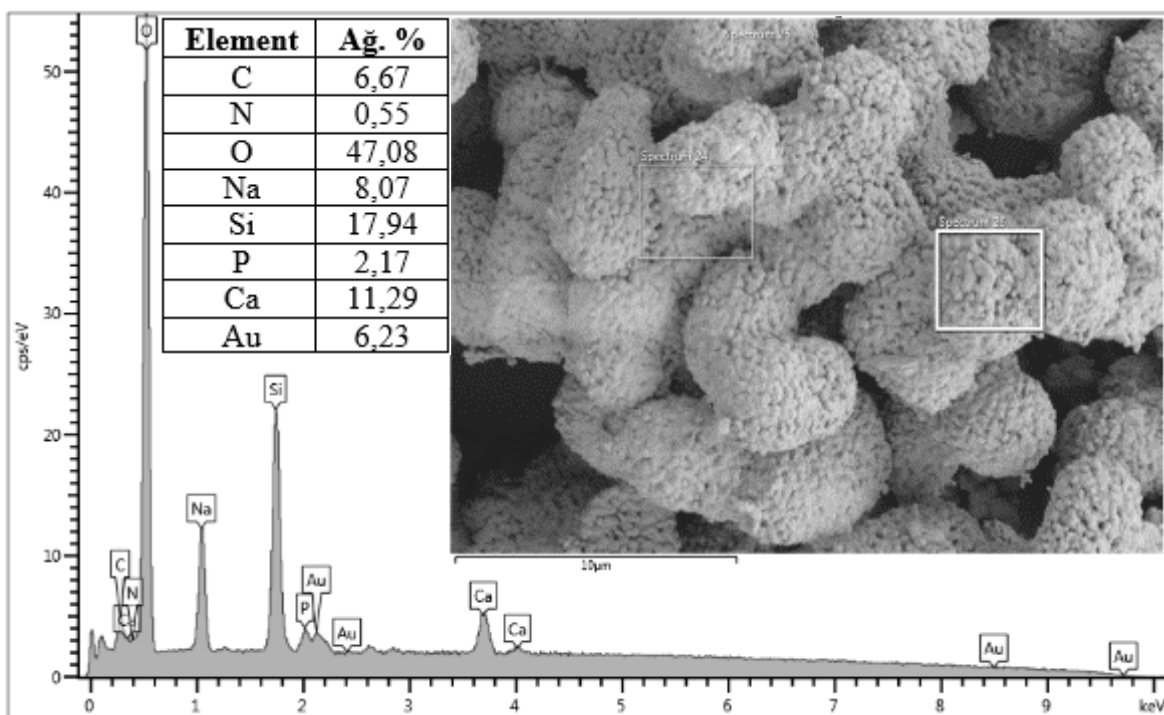
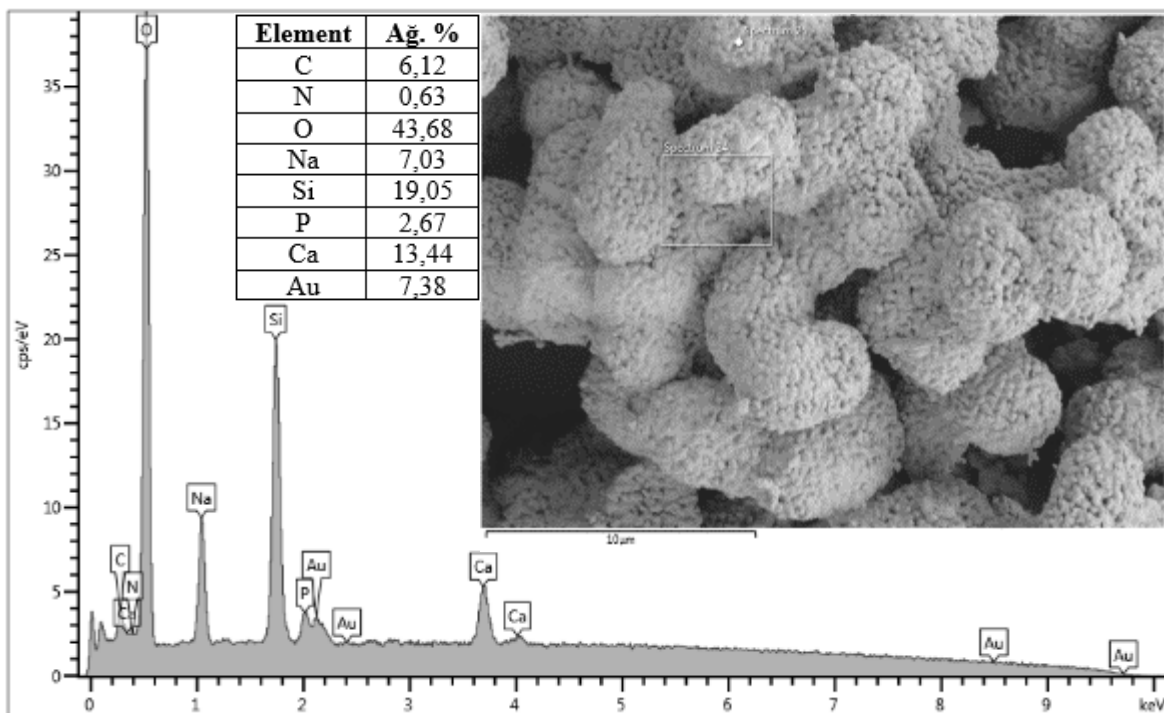
Şekil 5.39. R14 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri

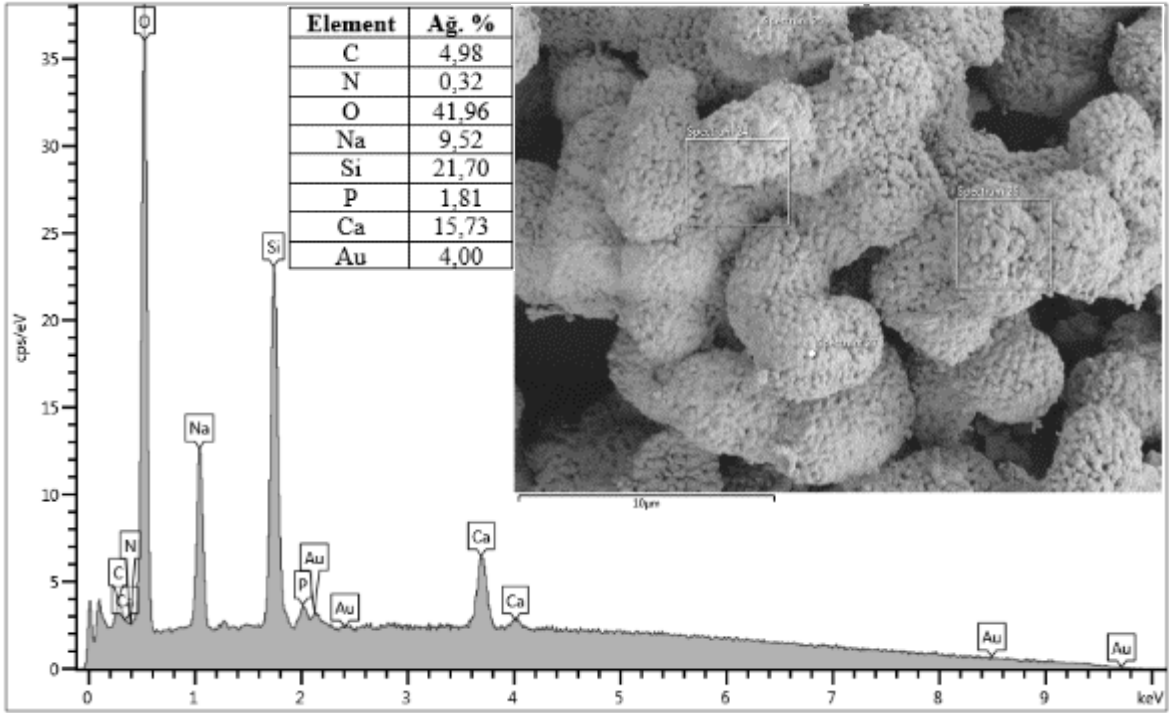




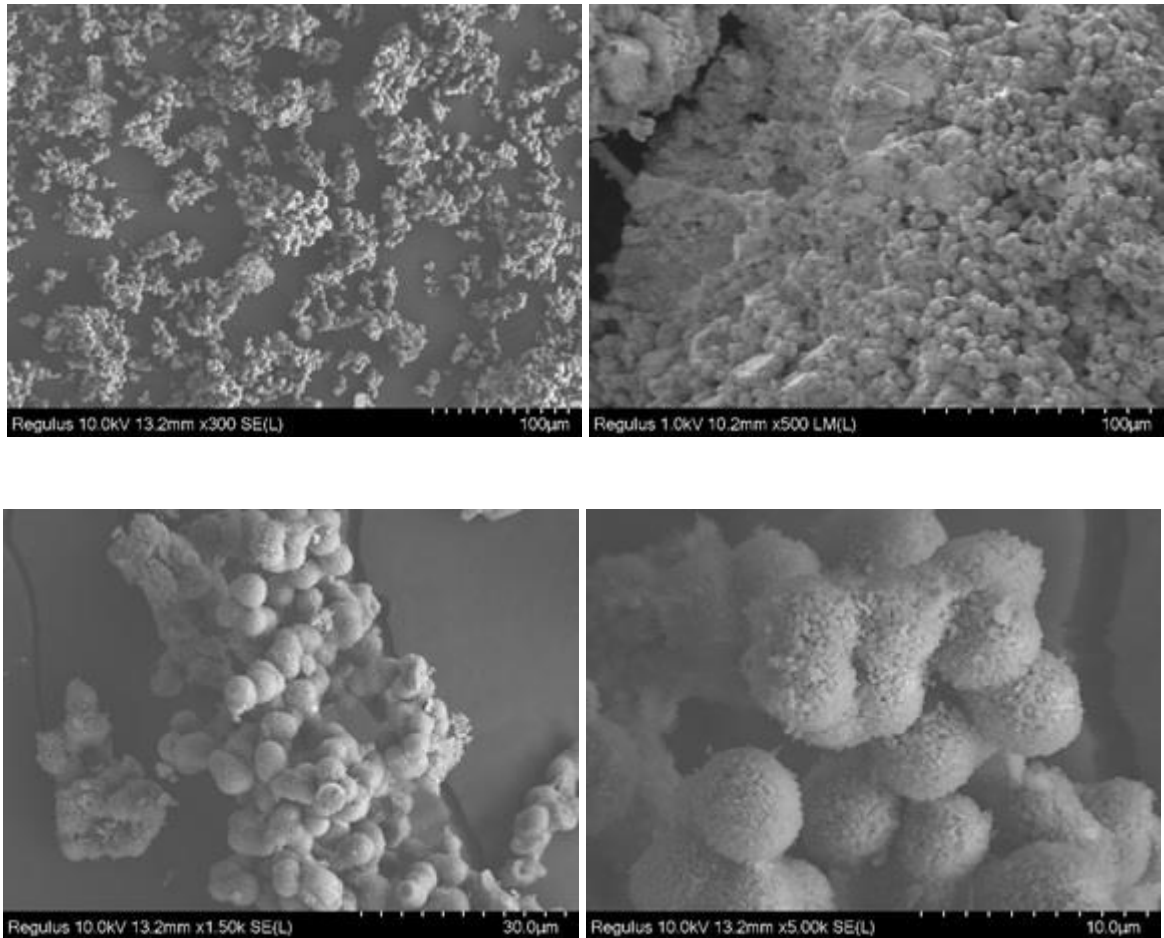
Şekil 5.40. R14 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

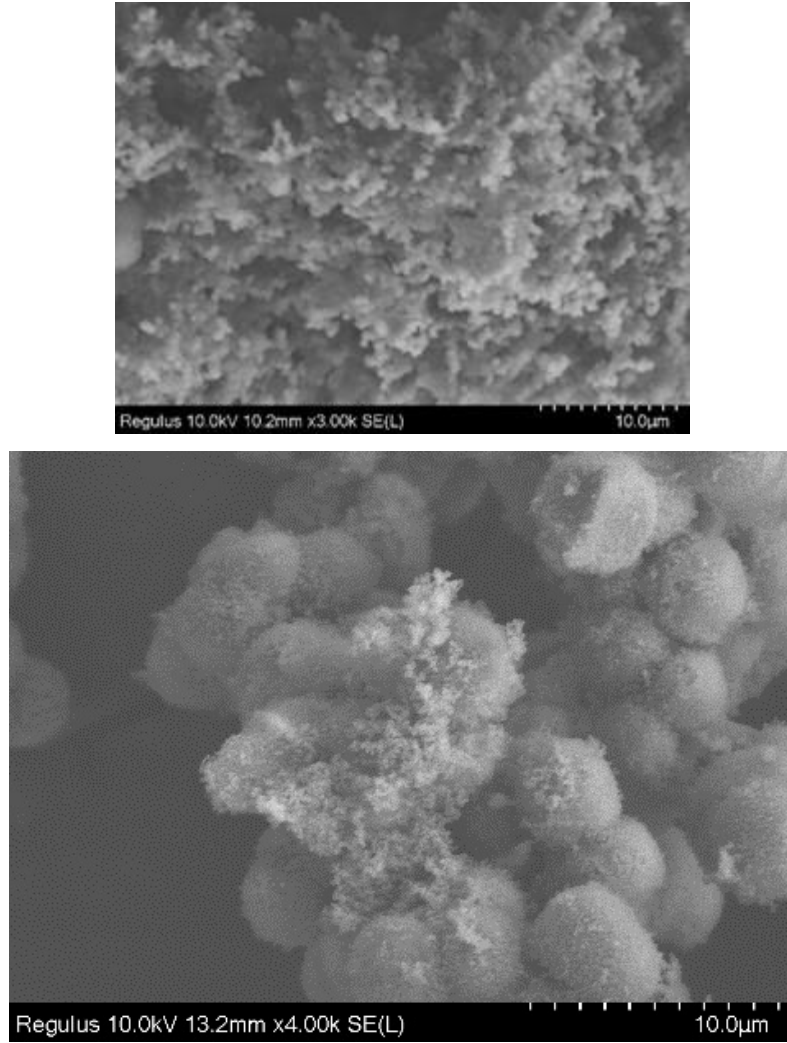




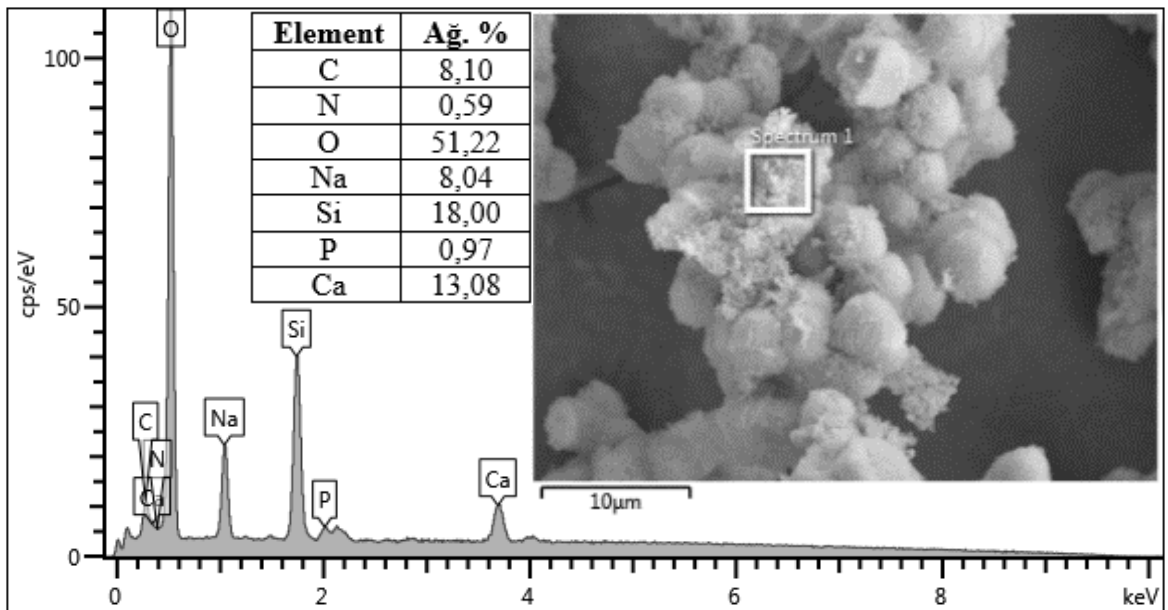


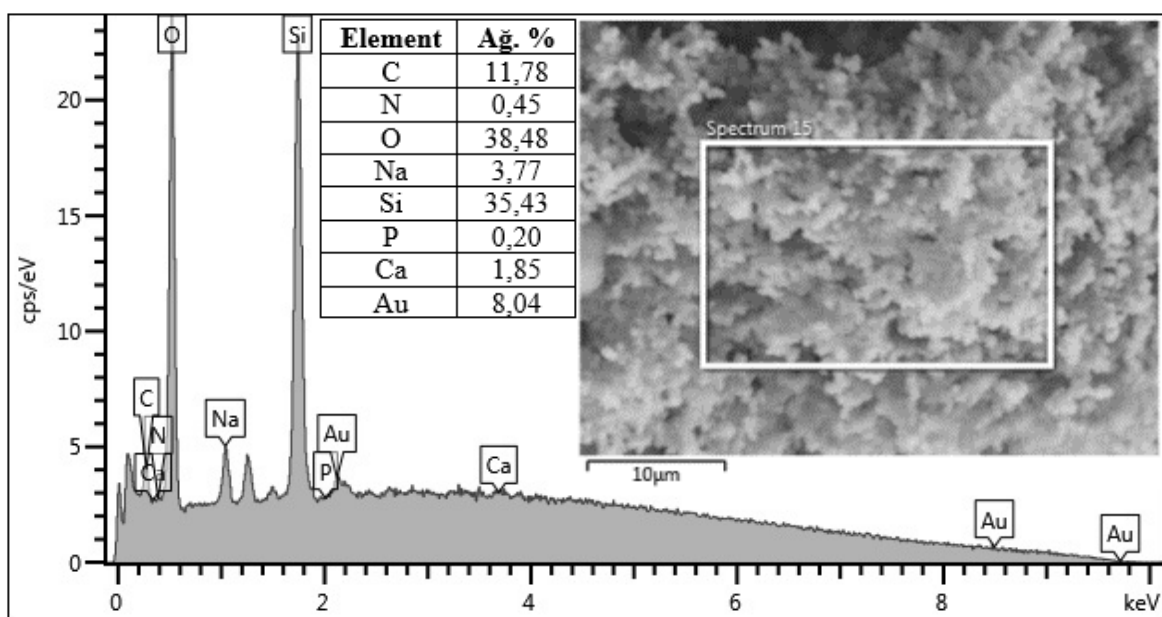
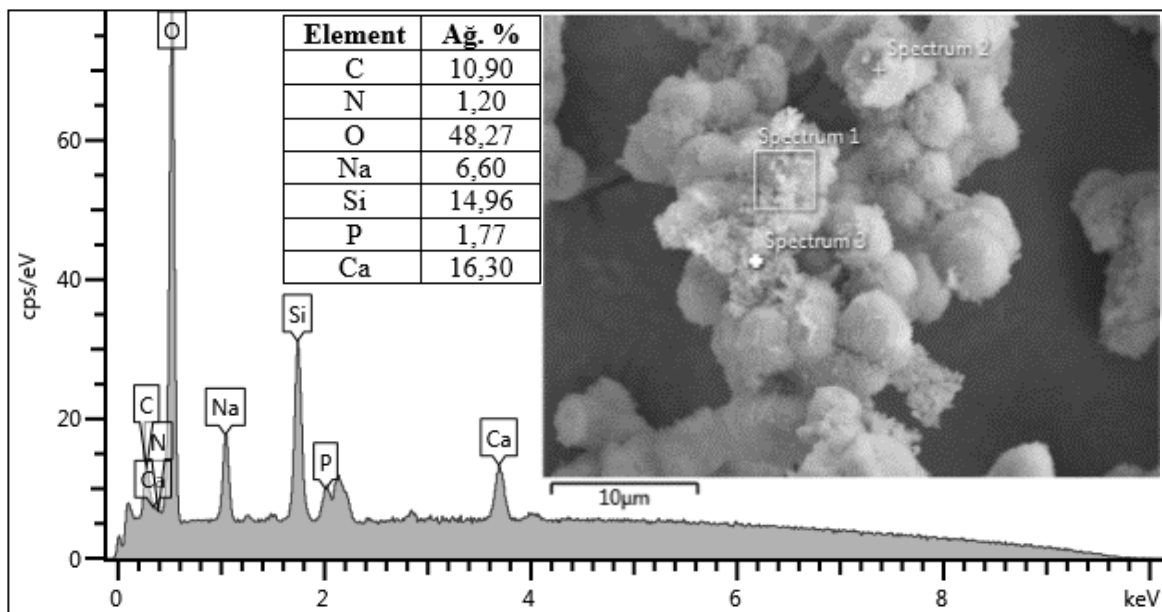
Şekil 5.41. R14 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri

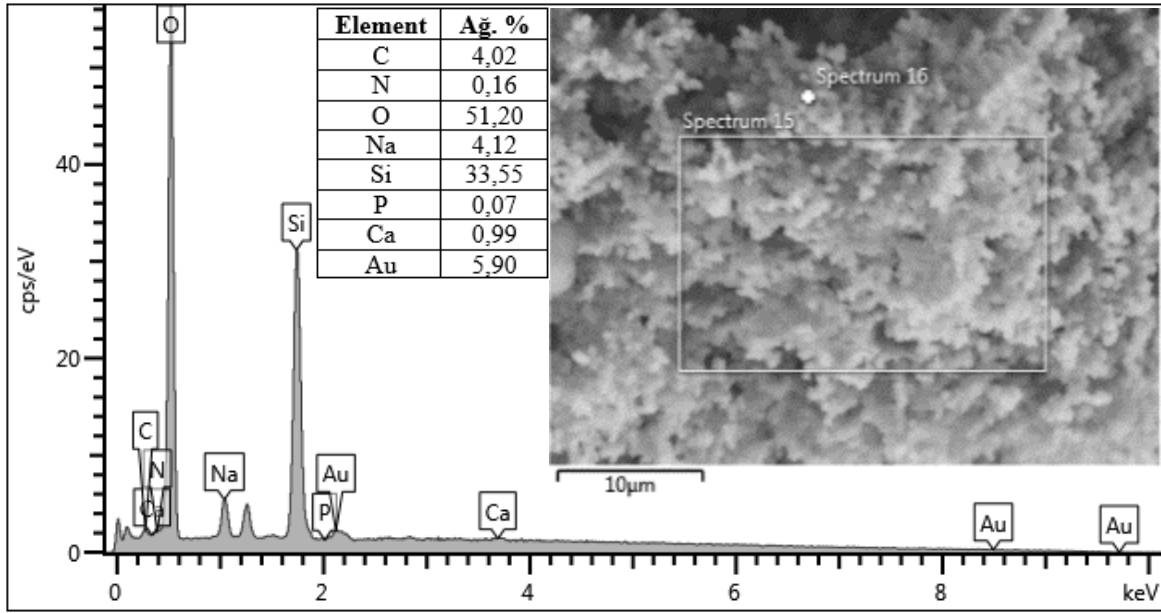




Şekil 5.42. R14 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri





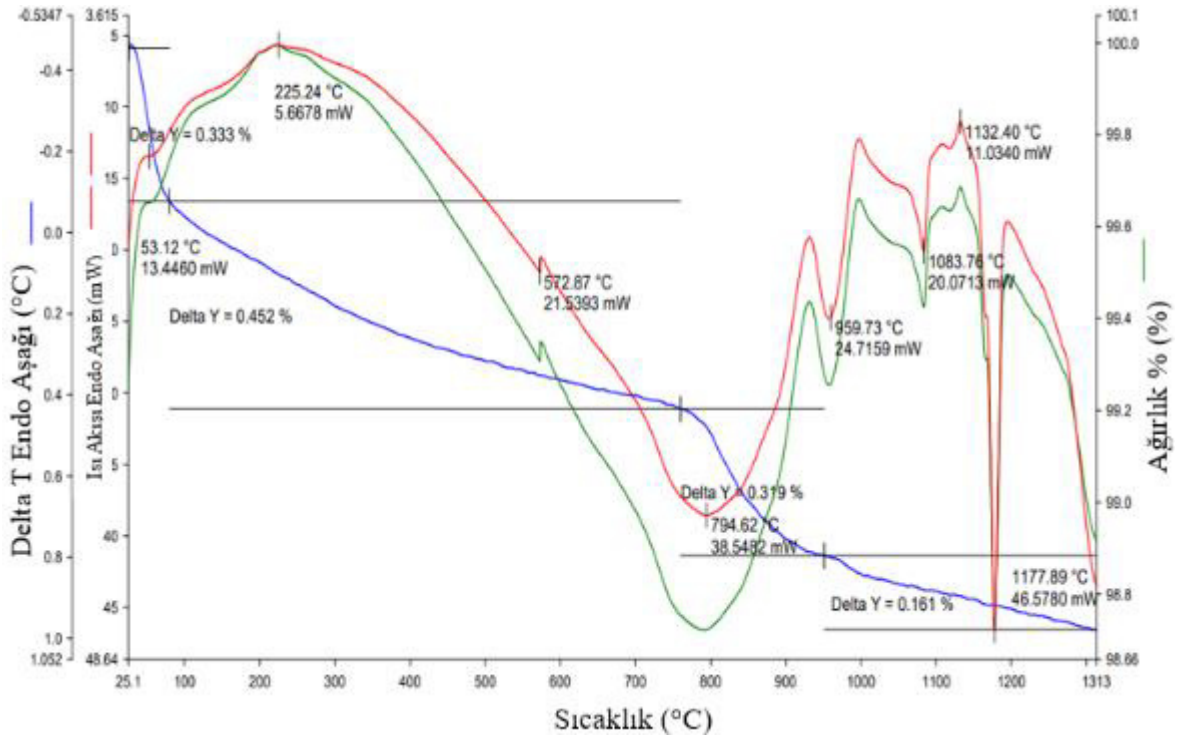


Şekil 5.43. R14 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri

5.4. R15 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları

5.4.1. STA

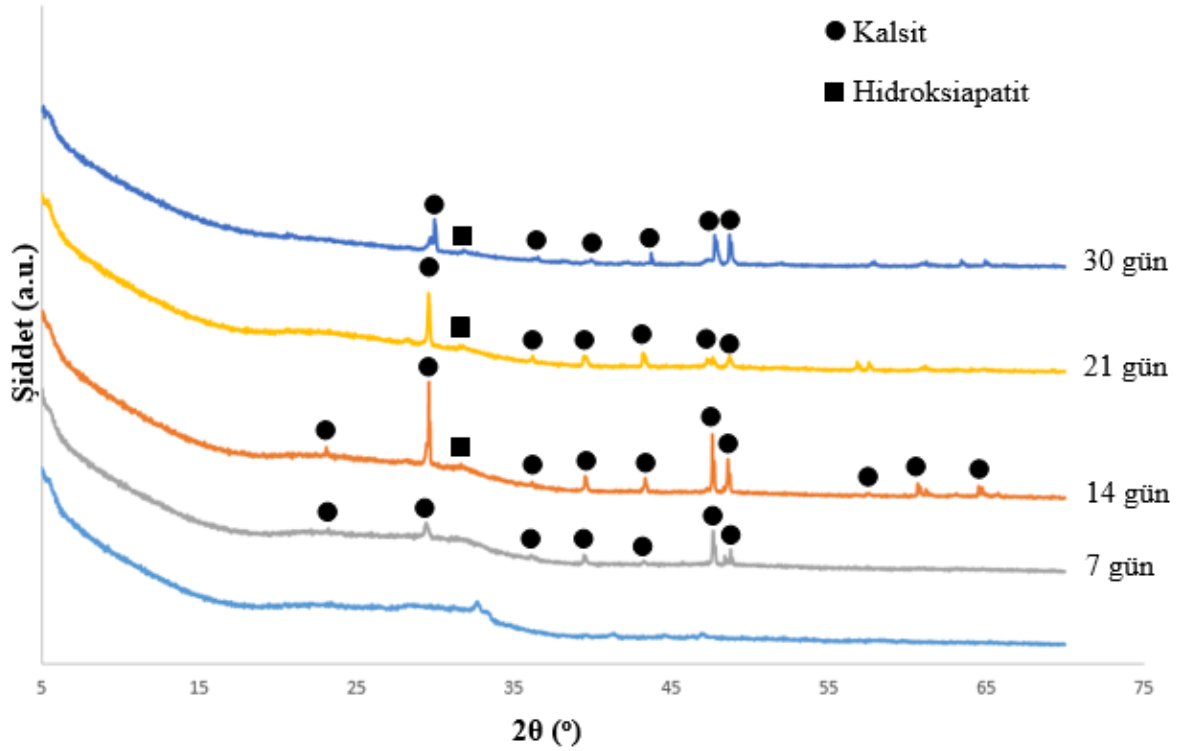
Biyoaktif camların termal analizi simültane termal analizör (STA-Tg/DTA), PerkinElmer STA8000) kullanılarak belirlenmiştir. Doğru sinterleme sıcaklığını belirlemek için jelin termogravimetrik ve DSC analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.44 hazırlanan bileşiğin TGA eğrisini göstermektedir. TGA’da ağırlık kaybı dört aşamada meydana gelmiştir. İlk kütle kaybı, yaklaşık 25°C ile 100°C arasında meydana gelmiştir. Bu, fiziksel olarak adsorbe edilmiş suyun uzaklaştırılması ile ilişkilidir ve DTA grafiğinde 53°C endotermik pike tekabül etmiştir. İkinci ağırlık kaybında ilk ağırlık kaybının sonundan yaklaşık 300°C’ye kadar görülen kısım kimyasal olarak adsorbe edilmiş suyun desorpsiyonuna bağlanır. Bu DTA eğrisinde 225°C’de ekzotermik bir pik ile ilişkilendirilebilir. İkinci ağırlık kaybının diğer kısmındaki ağırlık kaybı solun hazırlanmasında metal nitrat olarak sokulan artık nitratların giderilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu DTA eğrisinde 572°C’de gerçekleşen keskin endotermik zirve olarak kendini göstermiştir. 794°C’de ise geniş bir endotermik pik belirlenmiştir. DTA eğrisinde belirlenen diğer endotermik pikler 959°C ve 1083°C’de ekzotermik pik ise 1132°C’dedir. Tg/DTA eğrisinden elde edilen sonuç, oluşturulan biyoaktif cam tozunun stabilizasyon sıcaklığının 700°C olabileceğidir.



Şekil 5.44. Numunenin STA sonucu

5.4.2. XRD analizleri

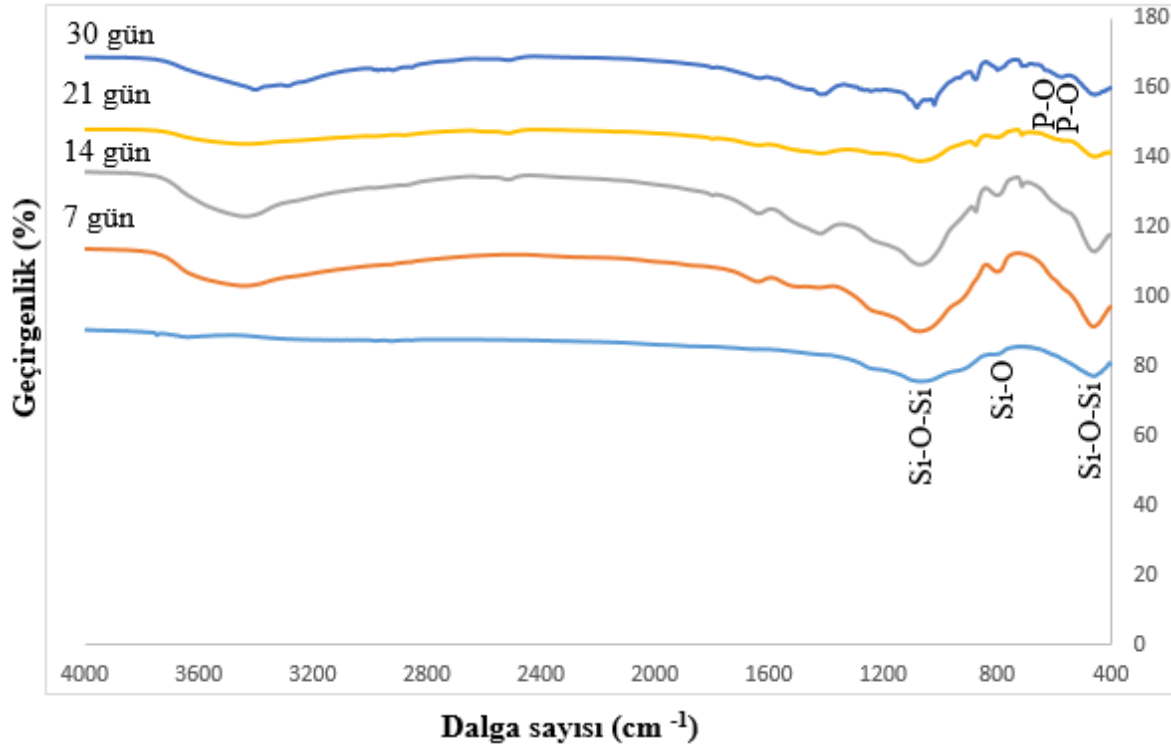
SBF çözeltisine daldırıldıktan sonra biyoaktif cam numunesinin yüzeyi üzerinde bir HA tabakasının oluşumu, XRD Panalytical Empyrian marka cihaz kullanılarak araştırılmıştır. SBF'ye daldırmadan önce ve daldırıldıktan sonra Zn içeren cam kompozisyonunu XRD desenleri Şekil 5.45'te verilmiştir. Daldırılmadan önce amorf yapıya sahip olan numune üzerinde SBF'ye 14 gün daldırıldıktan sonra HA fazı belirlenmiştir. Daldırma süresi artmasına rağmen ZnO'nun HA tabakası oluşum hızını baskılamasından dolayı HA fazı pik şiddetinde artış gözlenmemiştir. Biyoaktif camların SBF'de HA oluşturma yeteneği biyoaktivitenin kanıtıdır. Ayrıca biyomalzemenin canlı kemiğe bağlanması için ana parametre yüzeyde HA tabakasının oluşmasıdır.



Şekil 5.45. SBF'ye daldırılmadan önce ve daldırıldıktan sonra biyoaktif cam tozun X-ışını kırınım spektrumları

5.4.3. FTIR analizleri

Şekil 5.46, SBF'ye daldırılmadan önce ve daldırıldıktan 7, 14, 21 ve 30 gün sonra olan FTIR spektrumlarını göstermektedir. SBF'ye daldırılmadan önce, bileşiğin FTIR spektrumlarında Si-O-Si germe ve bükme bantları sergilenmiştir. Yaklaşık 1080 cm^{-1} 'deki bant, Si-O-Si'nin asimetrik gerilmesinin titreşim moduna karşılık gelmiştir. 802 cm^{-1} 'deki bant, Si-O'nun simetrik gerilmesinden kaynaklanmıştır. 470 cm^{-1} 'deki güçlü bant, Si-O-Si'nin bükülmesinin titreşim moduna karşılık gelmiştir. SBF'ye 30 gün daldırıldıktan sonra, FTIR spektrumunda $570\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ civarında ek pikler ortaya çıkmıştır. P – O'nun antisimetrik titreşim moduna karşılık gelen 570 cm^{-1} ve 600 cm^{-1} (P-O bantları) ikiz bantlar SBF'de HA oluşumunun göstergesidir.

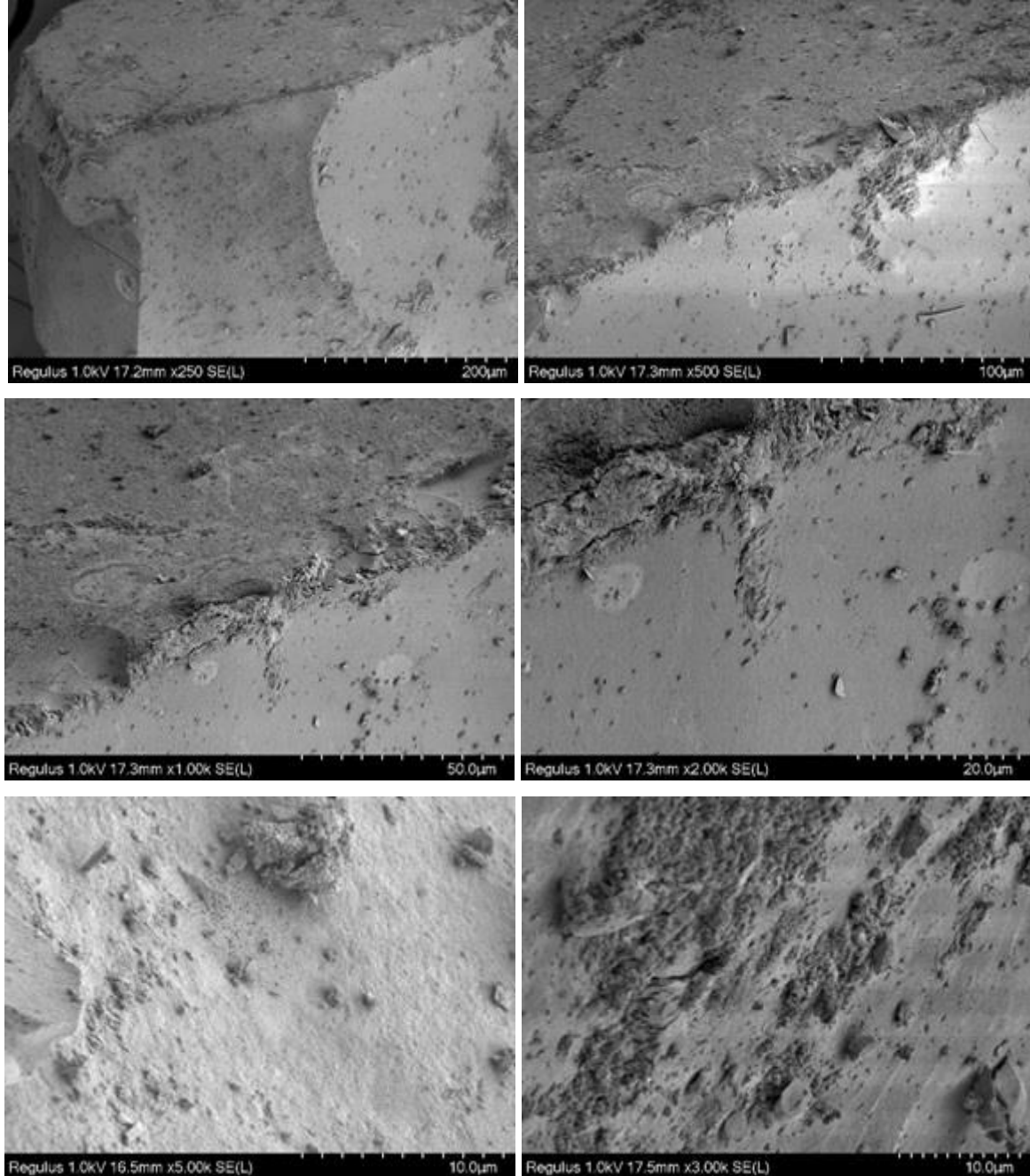


Şekil 5.46. Biyoaktif camın SBF'ye maruziyet öncesi ve sonrası FTIR spektrumları

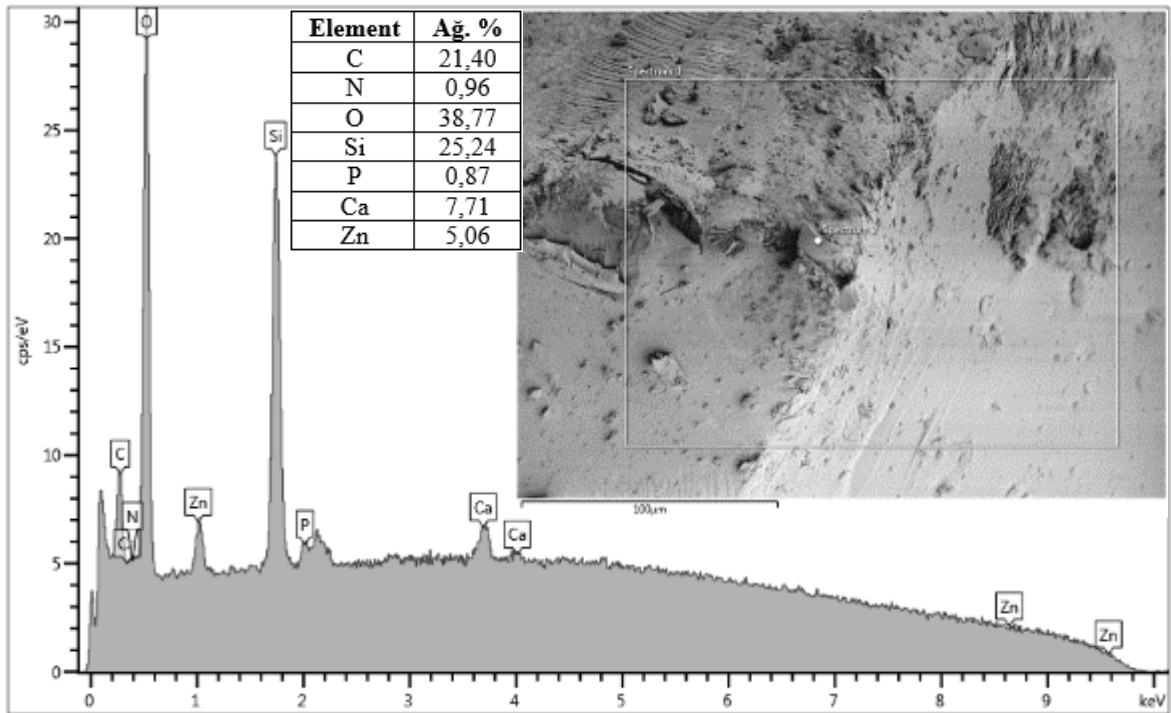
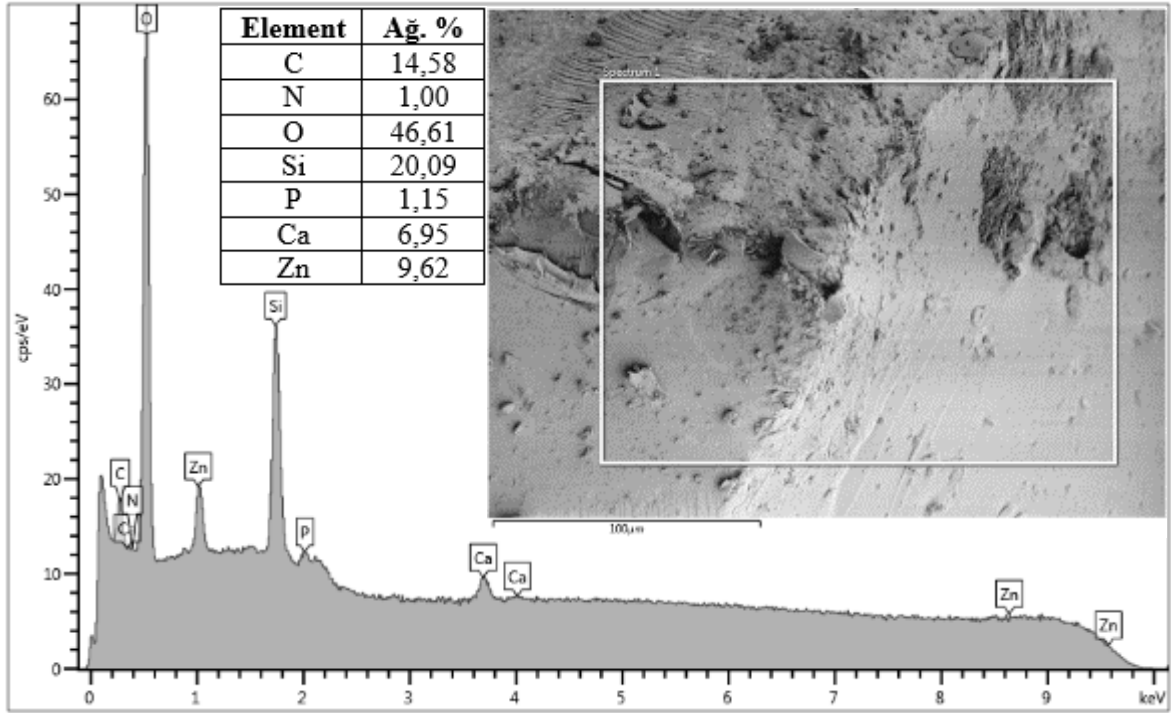
5.4.4. FE-SEM analizleri

Hazırlanan biyoaktif camların morfolojisi ve kompozisyon analizi, Hitachi Regulus 8230 marka FE-SEM kullanılarak analiz edilmiştir. Altın paladyum kaplanan numunelerin görüntüleri farklı büyütmelerde çekilmiştir. FE-SEM, yapay vücut sıvı çözeltisine daldırılmış numunelerin mikro-yapısal gelişimini incelemek ve numune yüzeyinde oluşan HA tabakasının oluşum süreci hakkında bilgi almak için yapılmıştır. Şekil 5.47-5.54'de SBF'ye çözeltisine daldırmadan önce ve sonra Zn içeren biyoaktif cam numunesinin FE-SEM ve EDS görüntüleri gösterilmiştir. Örnekler daldırmadan önce heterojen ve rastgele boyutta parçacıklara sahip yüzeylerden oluşmuştur. SBF'ye 14 gün daldırılan numune yüzeyinde çubuk şeklinde yapıların oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.49). 30 gün daldırılan numunede ise daldırılmadan önceki mikro yapıdan tamamen farklı pul benzeri yapılardan oluşan HA tabakası ile kaplanmıştır (Şekil 5.53). FE-SEM ve EDS sonuçları numunelerin yüzeyinde HA tabakasının varlığını doğrulamıştır. EDS analizinde Ca/P oranı numuneler SBF'ye daldırılmadan önce 6,04, 8,86 ve SBF'ye 14 gün daldırıldıktan sonra 5,19, 5,61, 6,06 olarak bulunmuştur (Şekil 5.48, Şekil 5.50). 21 gün daldırıldıktan sonra Ca/P oranı 1,88, 2,09 olarak bulunmuştur (Şekil 5.52). Bu oranlar kemikteki doğal apatit

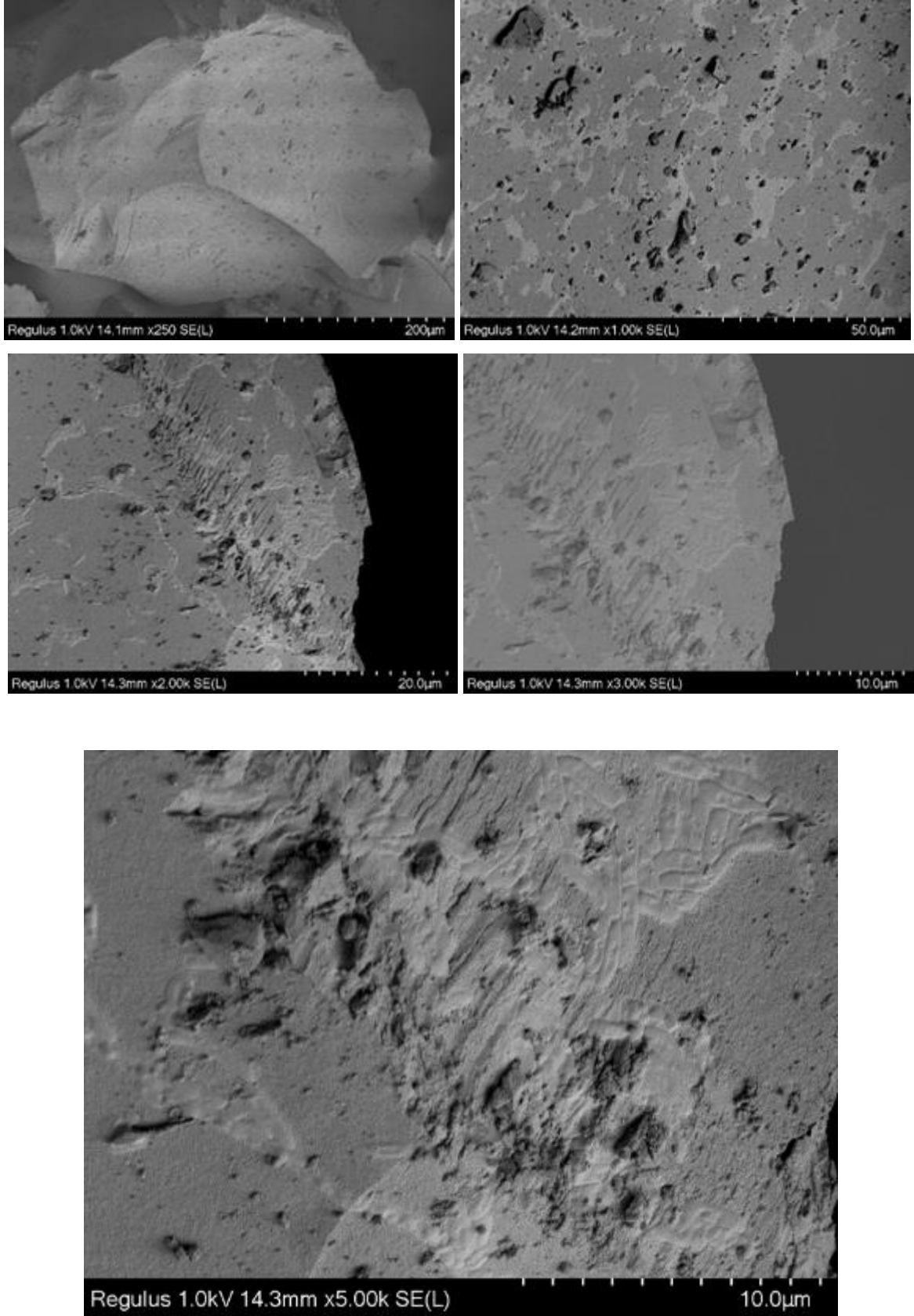
oranına benzerdir. 30 gün daldırıldıktan sonra ise 3,90, 3,88, 4,06 olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.54). Elde edilen bu Ca/P oranları numunelerin biyoaktifliğini ispatlamıştır. Daldırma süresinin artmasıyla numunelerin yüzeyinde oluşan apatit tabakasının büyümesi de FE-SEM ve EDS sonuçları ile doğrulanmıştır.



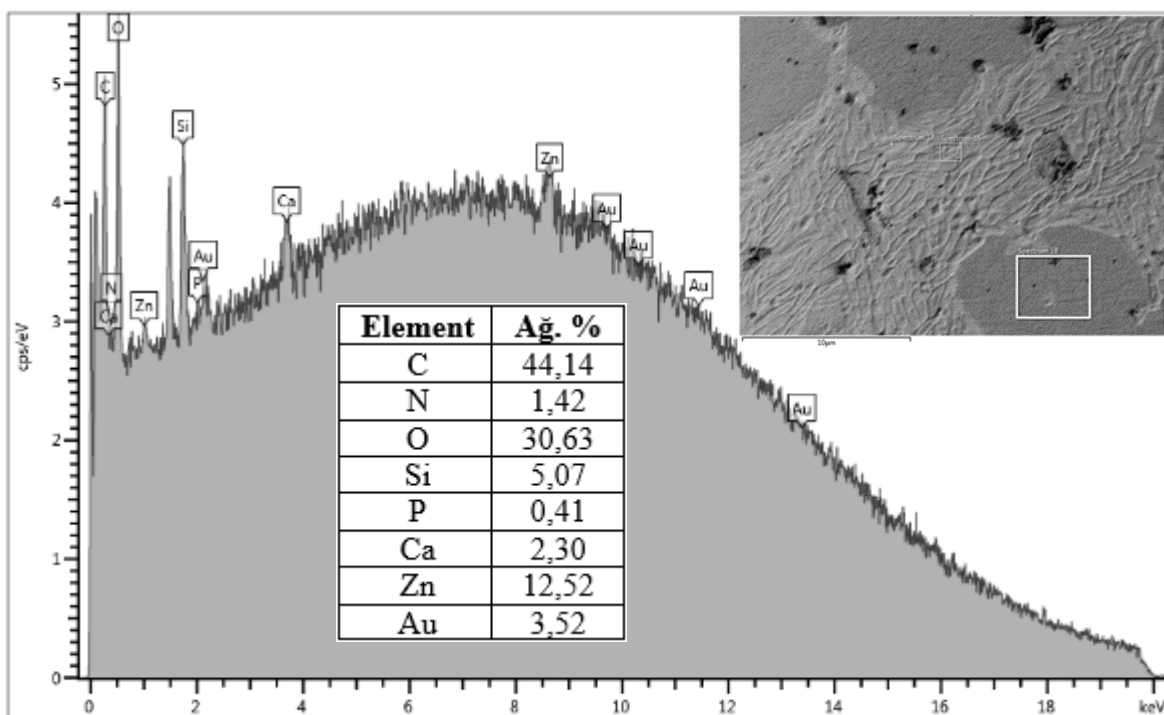
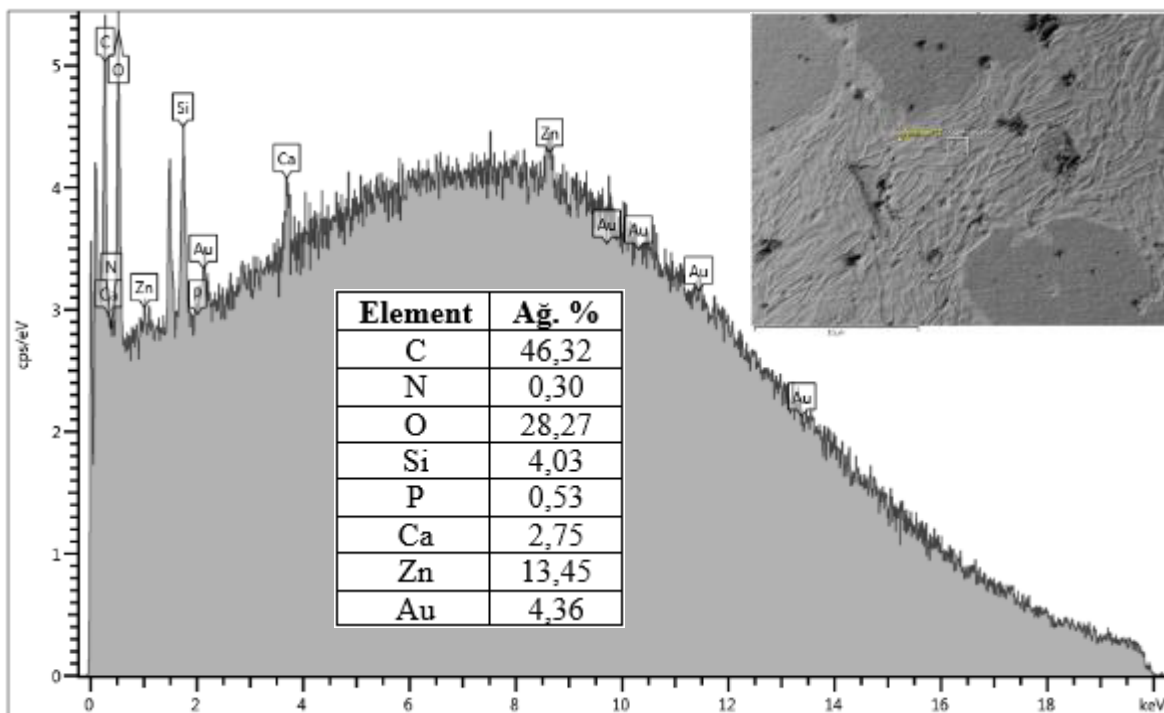
Şekil 5.47. R15 kompozisyonu biyoaktif camın FE-SEM analizleri

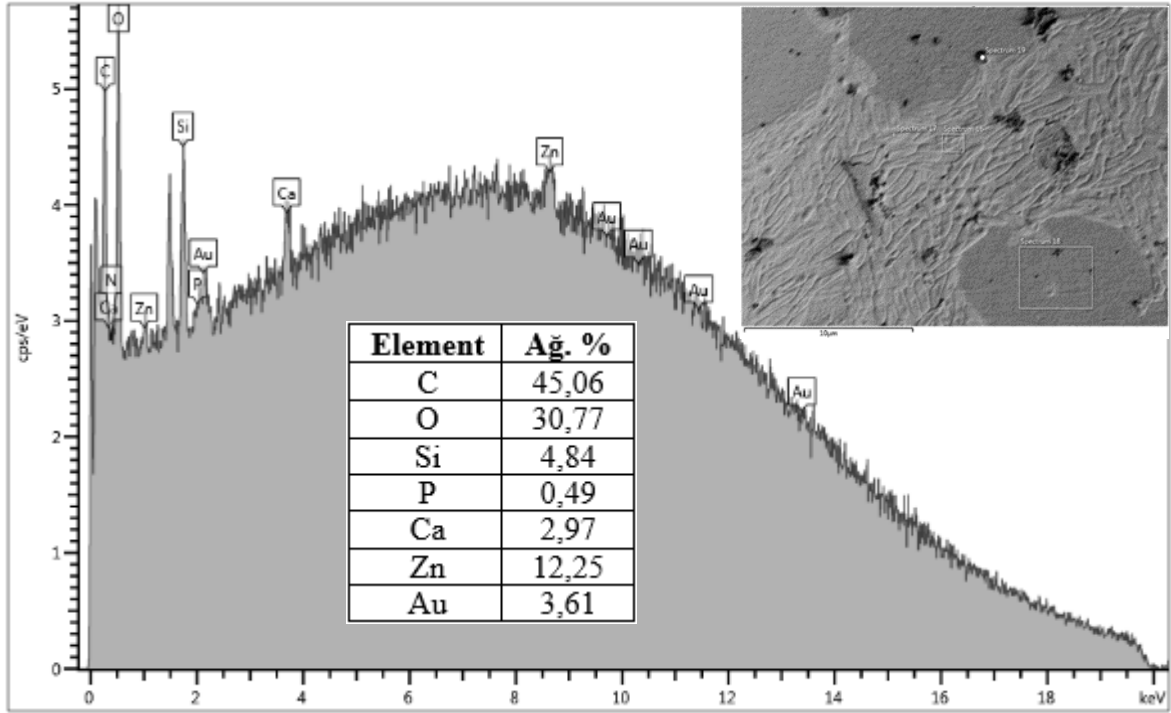


Şekil 5.48. R15 kompozisyonu biyoaktif camın EDS analizleri

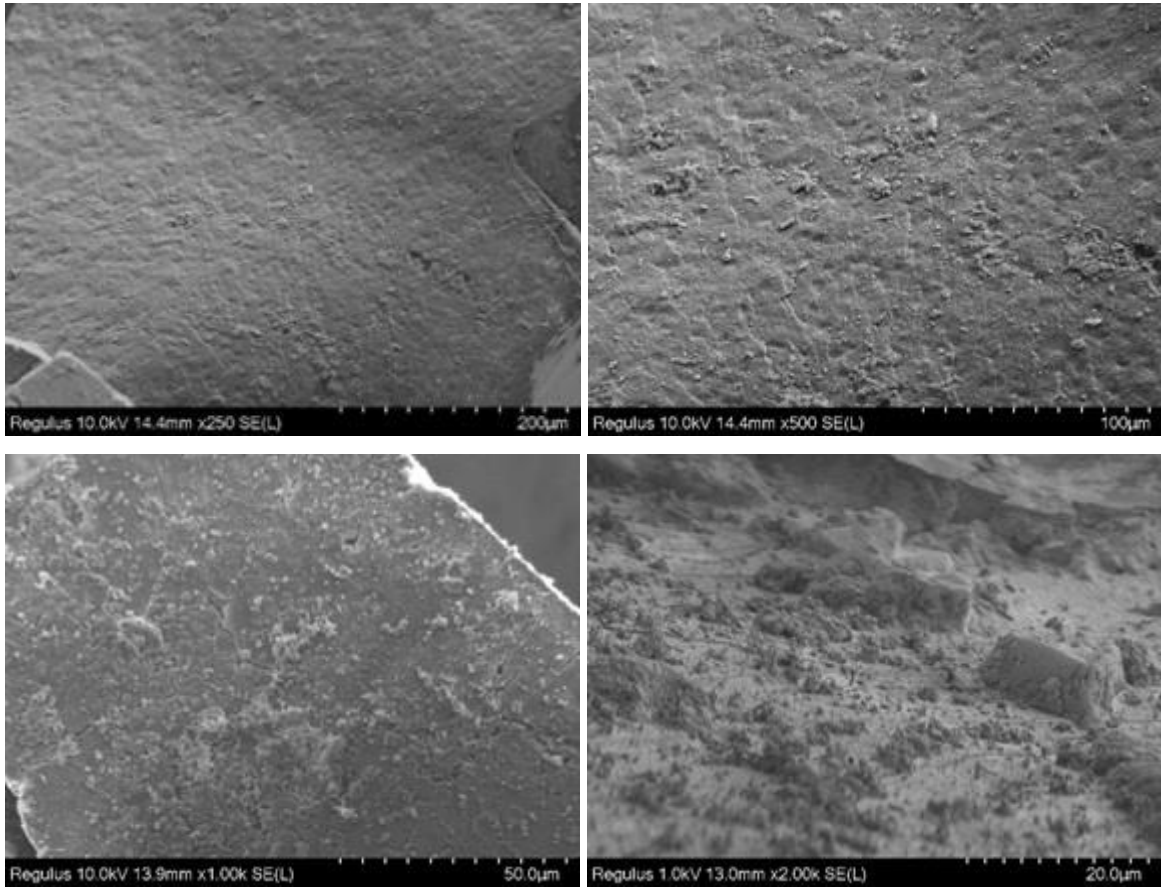


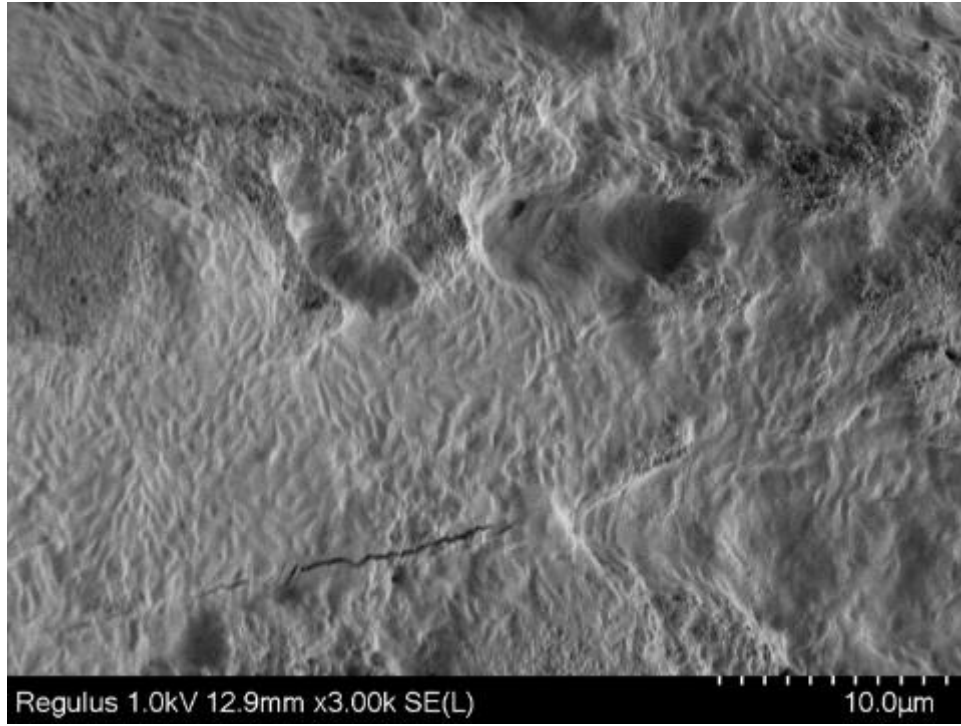
Şekil 5.49. R15 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri



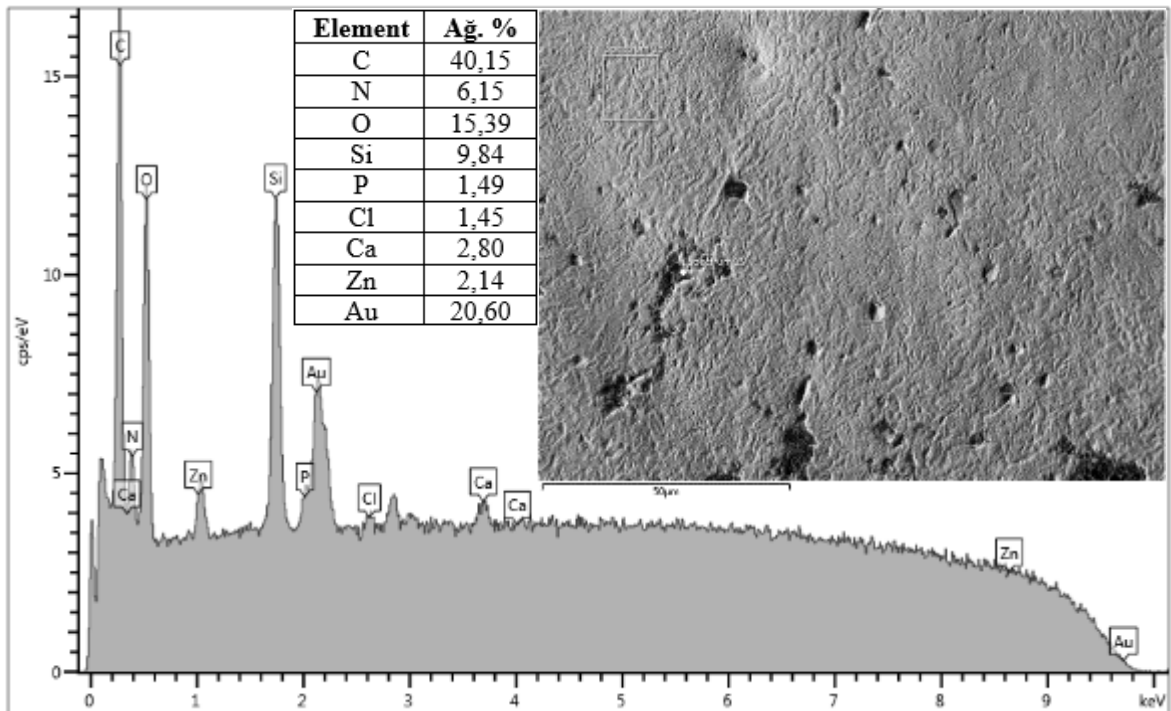


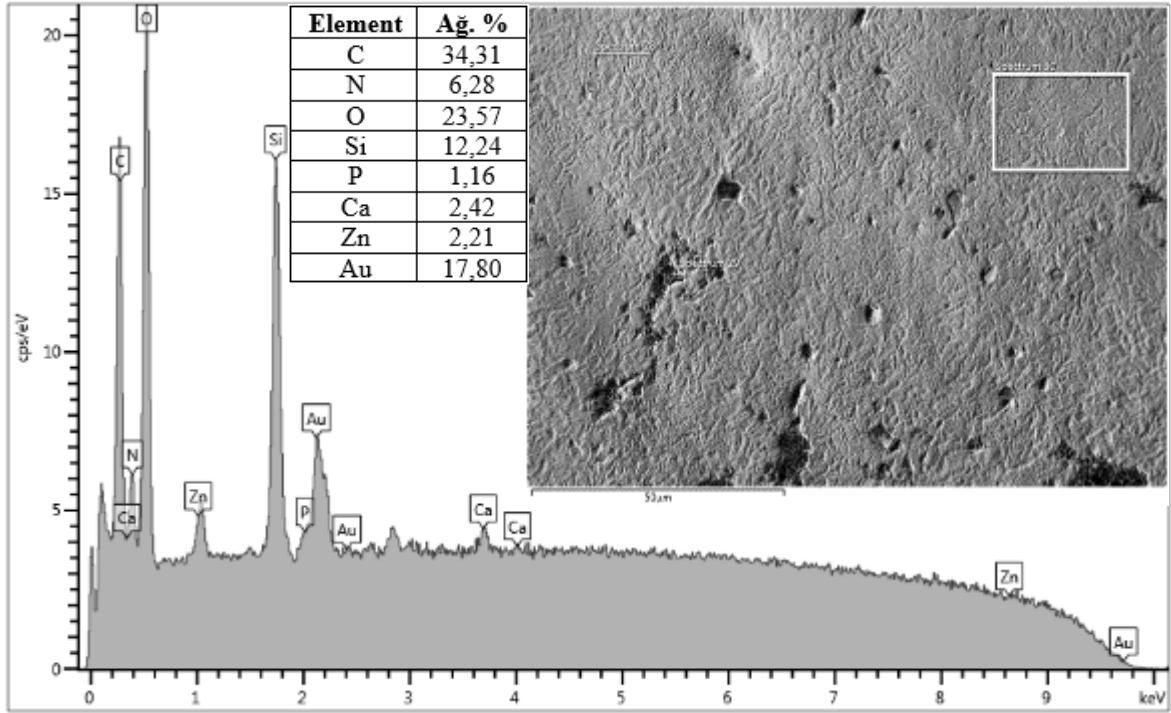
Şekil 5.50. R15 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri



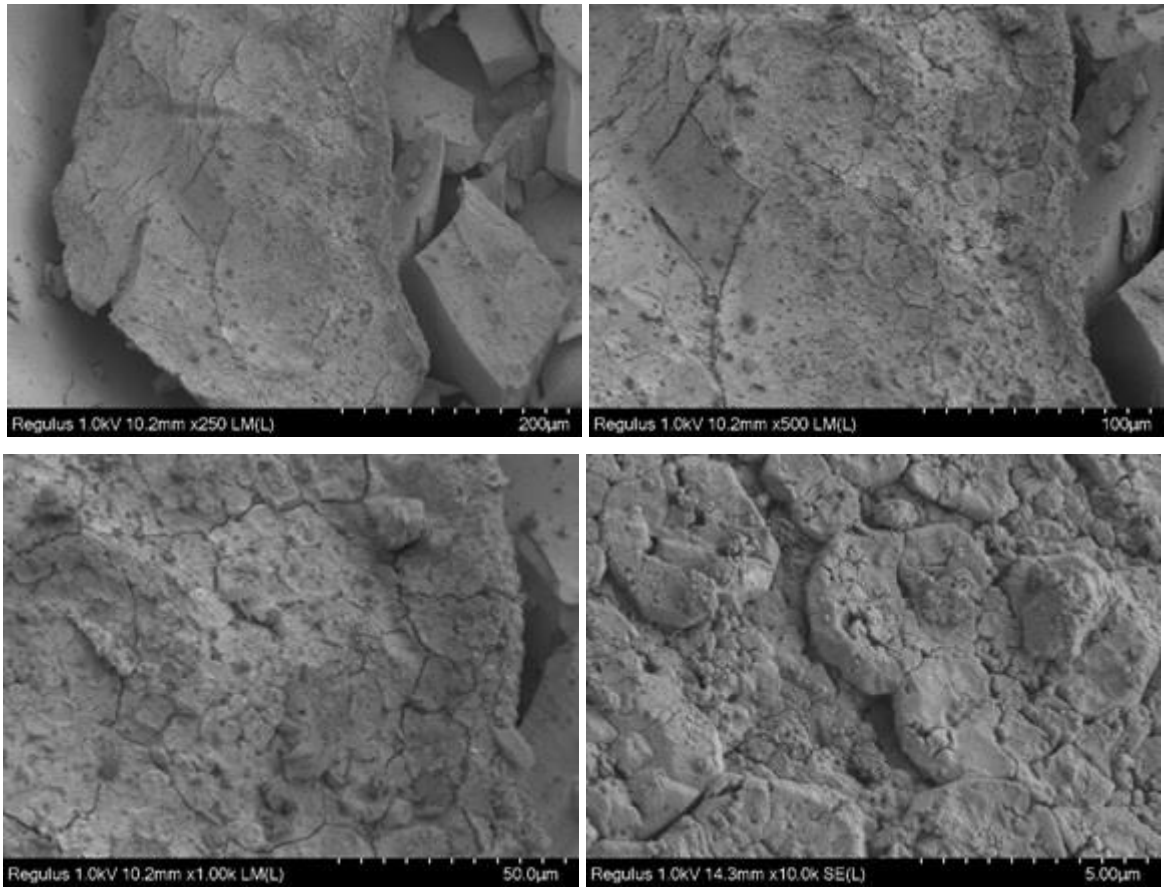


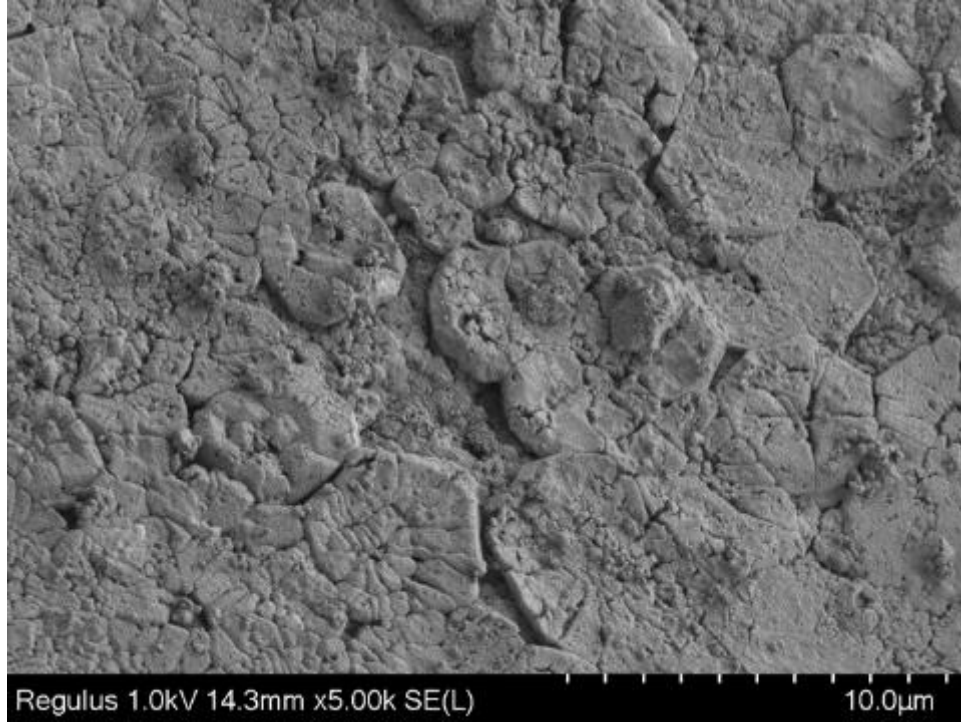
Şekil 5.51. R15 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri



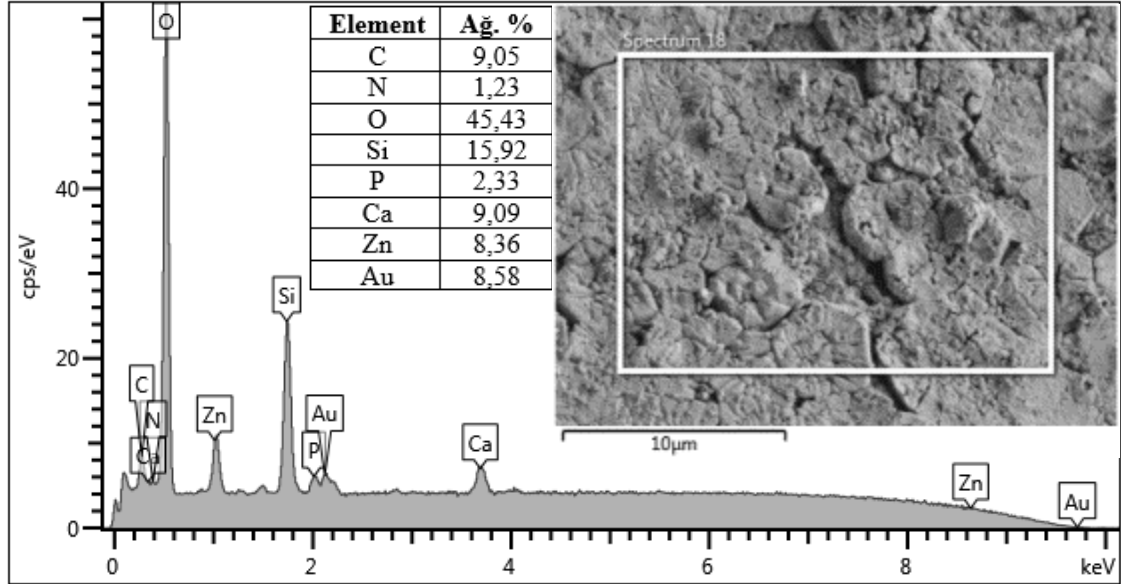


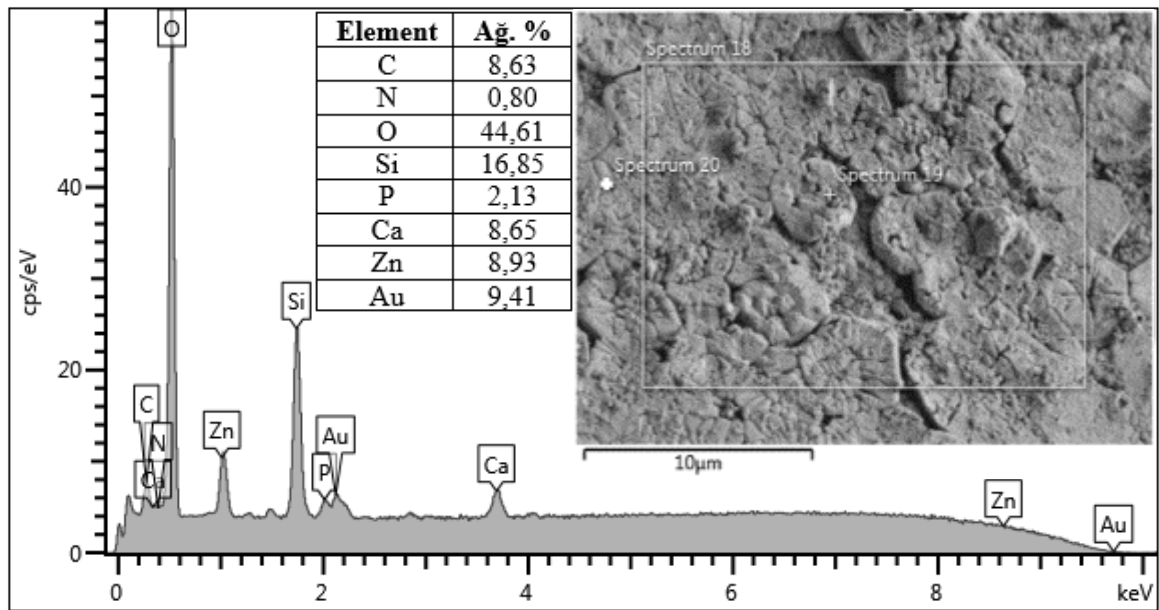
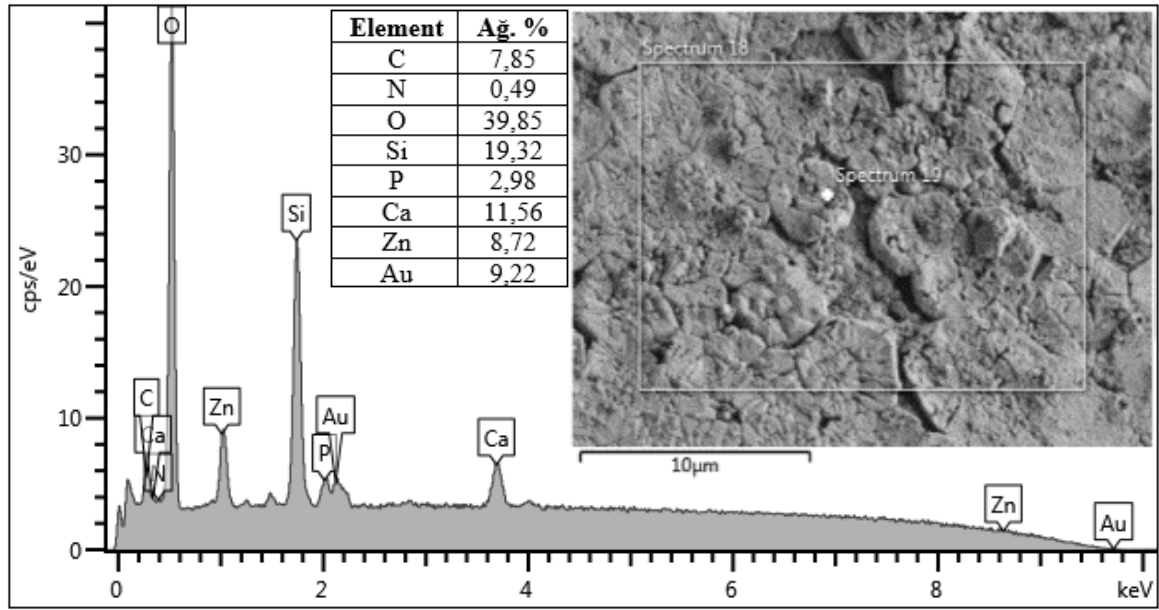
Şekil 5.52. R15 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri





Şekil 5.53. R15 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri





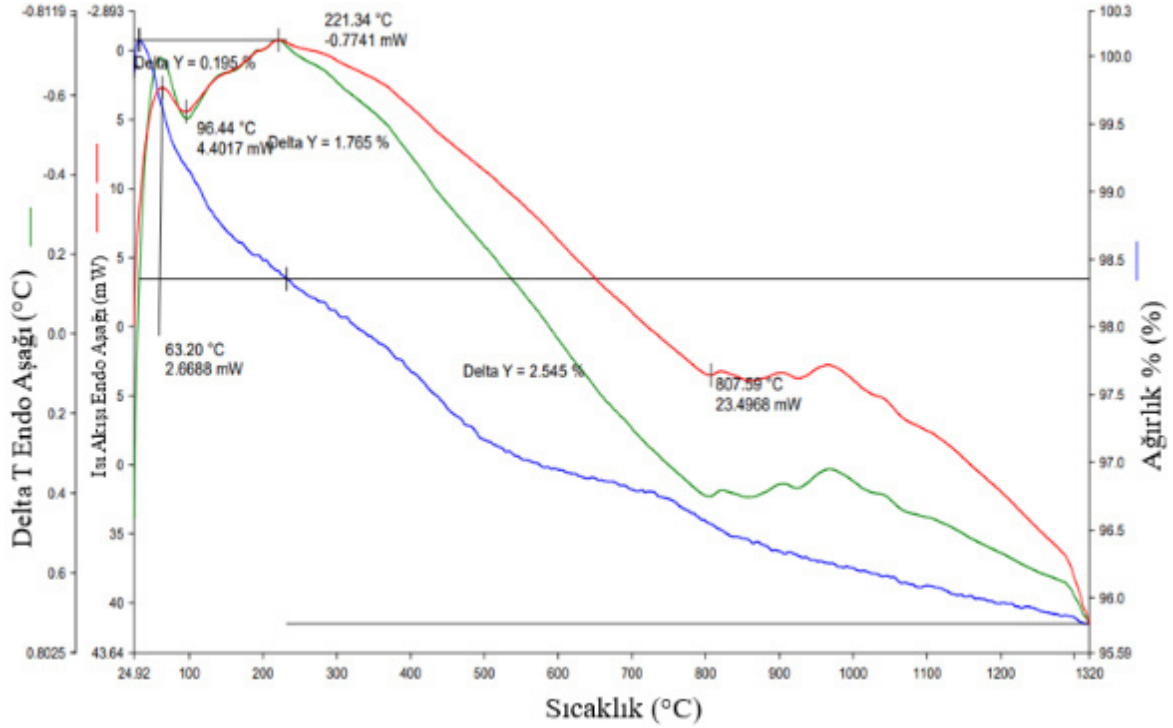
Şekil 5.54. R15 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri

5.5. R16 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları

5.5.1. STA

Numunenin STA eğrisi, Şekil 5.55’te gösterilmiştir. Isıtma işlemi oda sıcaklığından 1320°C’ye ilerlerken TGA eğrisinde gözlenen ilk ağırlık kaybı, artık alkolün ve fiziksel olarak emilen nem suyunun jelin gözeneklerinden çıkarılmasından kaynaklanmıştır. Diğer

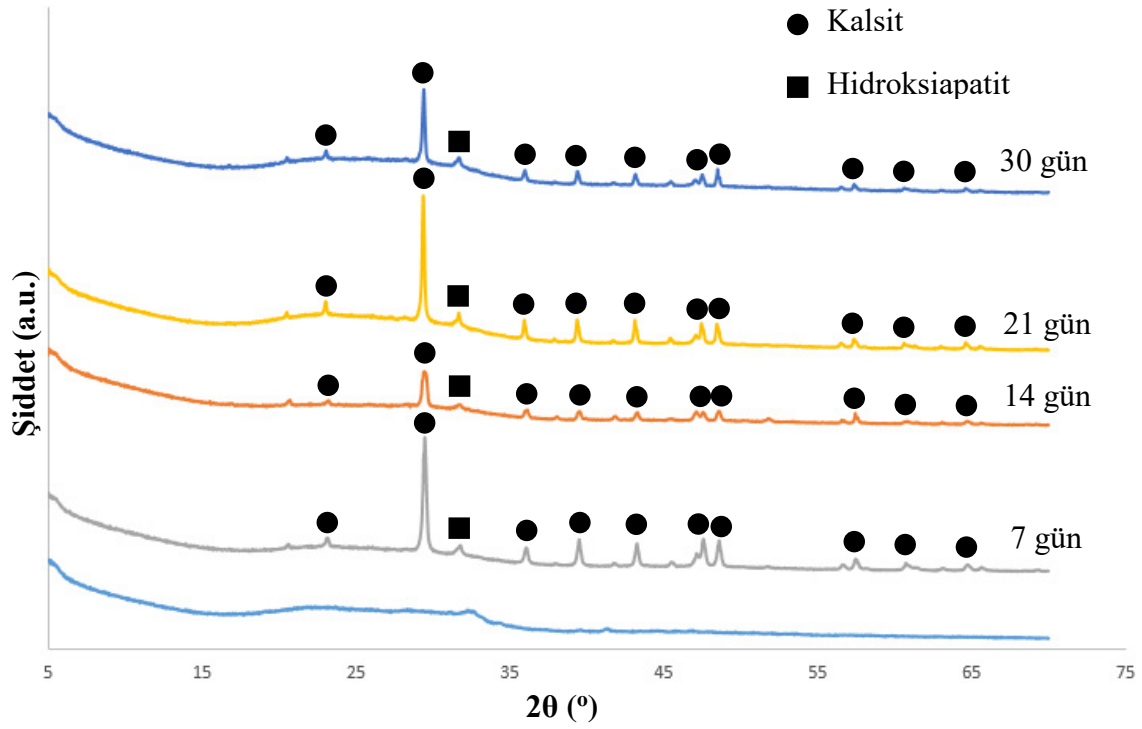
ağırlık kayıpları sırasıyla kimyasal olarak adsorbe edilmiş suyun desorpsiyonuna ve NO_3 nitratların ayrışmasına bağlı olarak gözlenir. Biyoaktif cam numune için endotermik pikler 96 ve 807°C 'de görülmüştür. Kristalizasyon sıcaklığına karşılık gelen ekzotermik pik ise 221°C 'dedir. Tg/DTA eğrisinde yaklaşık 980°C 'de gözlemlenen ekzotermik pik cam kristalleşmesinden kaynaklanmıştır.



Şekil 5.55. Numunenin STA sonucu

5.5.2. XRD analizleri

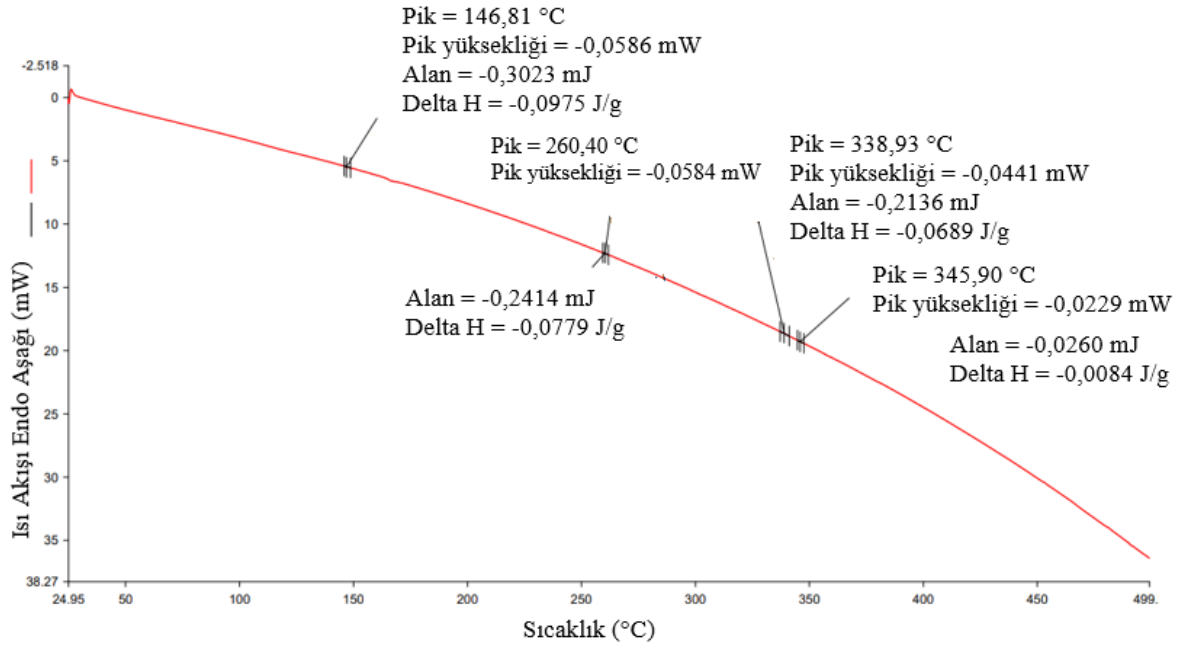
Şekil 5.56'te numunelerin SBF'ye daldırmadan önce ve sonra XRD modelleri gösterilmektedir. SBF'de bekletilmeden önce gözlenen sonuç numunenin amorf doğasını gösterir. SBF'ye batırıldıktan sonra, kristalin HA'in kırınım piki belirlenmiştir.



Şekil 5.56. SBF'ye daldırılmadan önce ve daldırıldıktan sonra biyoaktif cam tozunun X-ışını kırınım spektrumları

5.5.3. DSC analizi

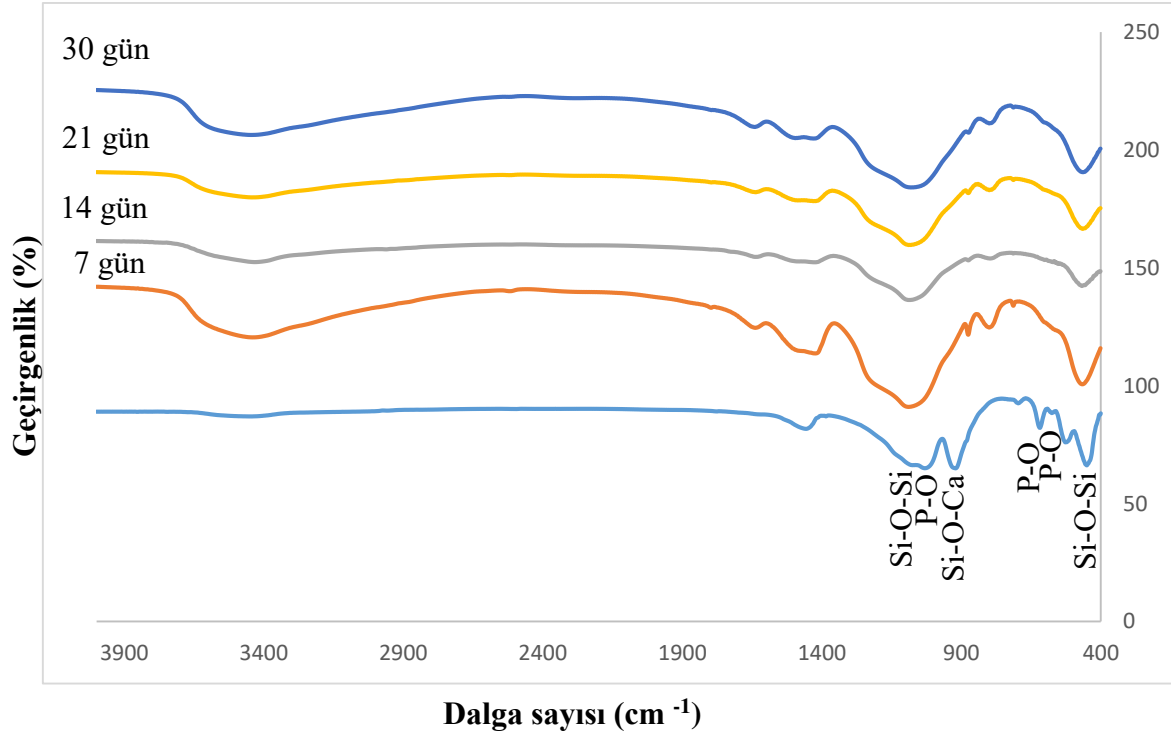
DSC eğrisinde artık alkolün ve fiziksel olarak emilen nem suyunun jelin gözeneklerinden çıkarılmasına bağlı olarak $146,8^{\circ}\text{C}$ 'de endotermik pik gözlenmiştir (Şekil 5.57). Kimyasal olarak adsorbe edilmiş suyun desorpsiyonuna bağlı olarak DSC eğrileri üzerinde $260,4$ ve $338,9^{\circ}\text{C}$ 'de ekzotermik pikler oluşmuştur. Son olarak $345,9^{\circ}\text{C}$ 'da gözlemlenen endotermik pikin NO_3 nitratların ayrışmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sonuçlar, tüm artıkların 700°C 'den önce çıkarılabileceğini doğrulamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada cam tozunun dengelenmesi için 700°C sıcaklık seçilmiştir.



Şekil 5.57. Numunenin DSC analiz sonucu

5.5.4. FTIR analizleri

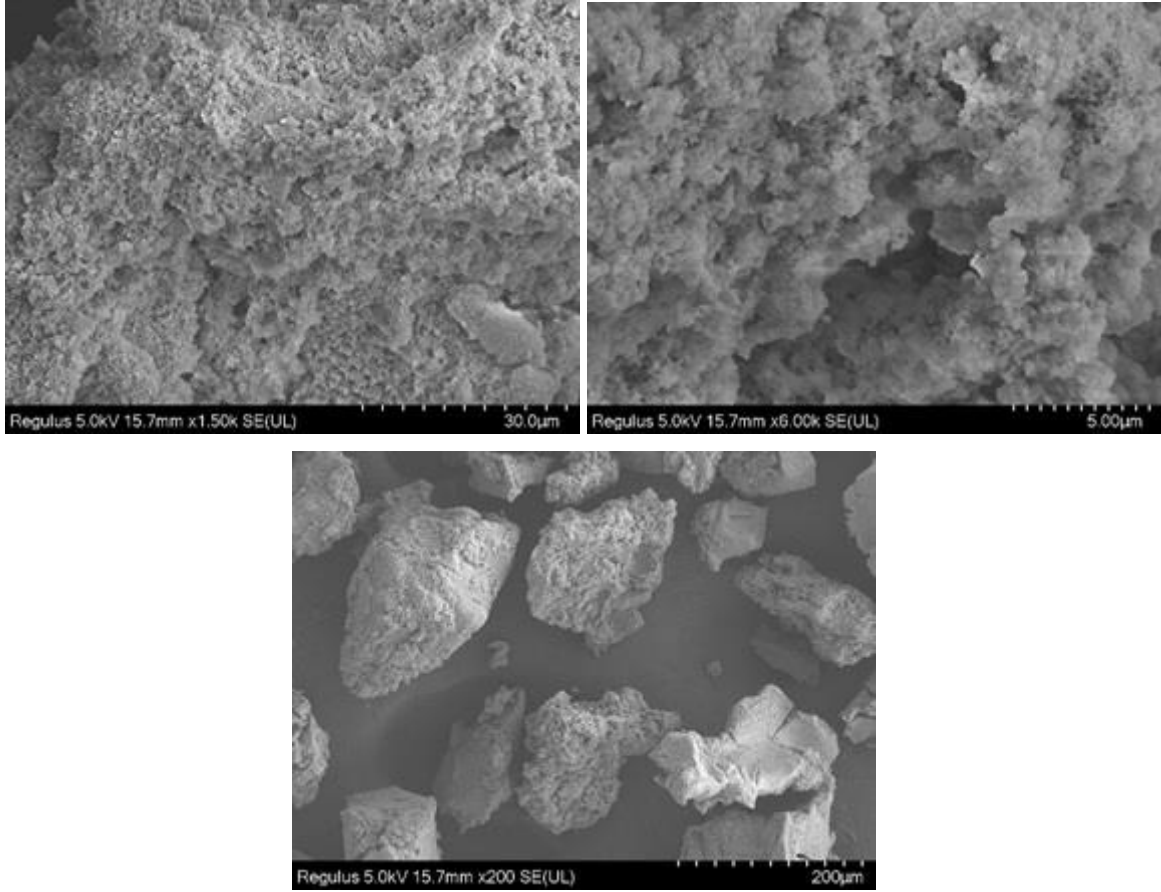
Hazırlanan camların kızılötesi spektrumları, Perkin Elmer Spectrum Two marka FTIR kullanılarak, 400-4000 dalga sayısı aralığında kaydedilmiştir. Şekil 5.58, 700°C kalsine edilmiş biyoaktif cam tozunun FTIR spektrumlarını göstermiştir. 448 cm^{-1} 'deki titreşim bandı ve 1120 cm^{-1} 'deki omuz Si-O-Si bükme moduna karşılık gelir. 915 cm^{-1} 'deki omuz Si-O-Ca titreşim bükmesiyle ilişkilidir (Pereira vd., 1994). 1000 cm^{-1} 'deki titreşim bandı ve 619, 553 cm^{-1} 'deki bir çift, fosfat gruplarının gerilme titreşimi ile ilişkilidir (Andersson vd., 2005). Numunenin SBF'ye 7, 14, 21 ve 30 gün daldırılmasıyla 1000 cm^{-1} 'deki P-O pik şiddeti artmıştır.



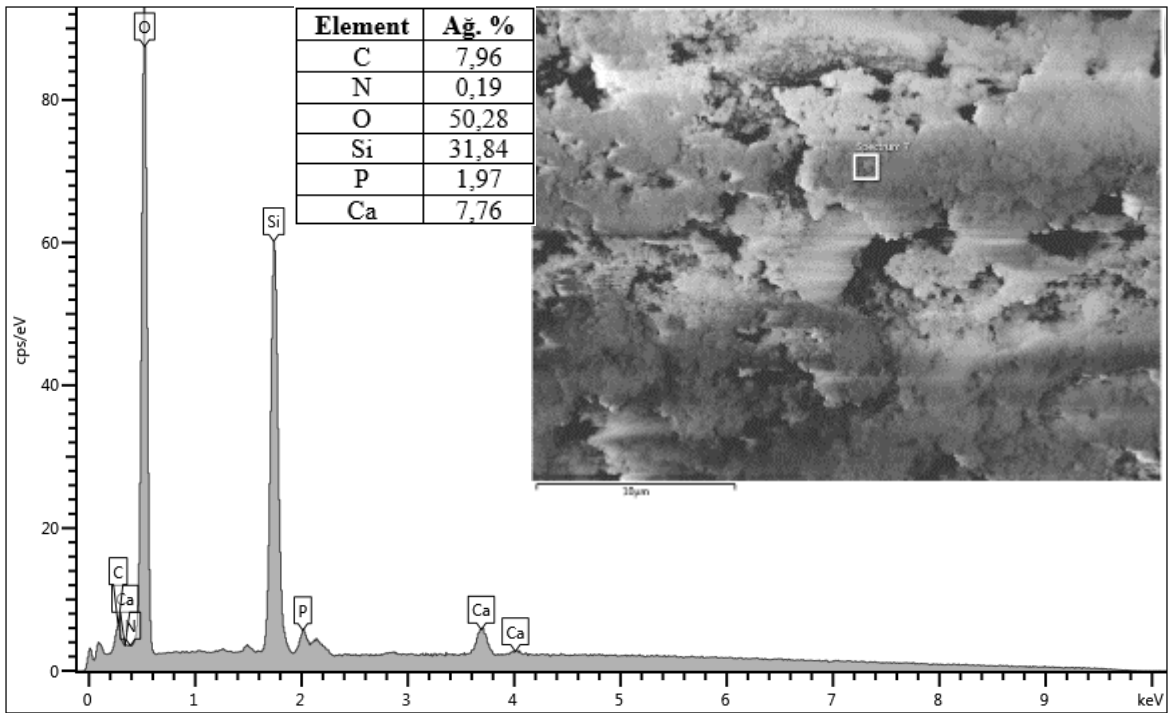
Şekil 5.58. Numunenin FTIR analiz sonuçları

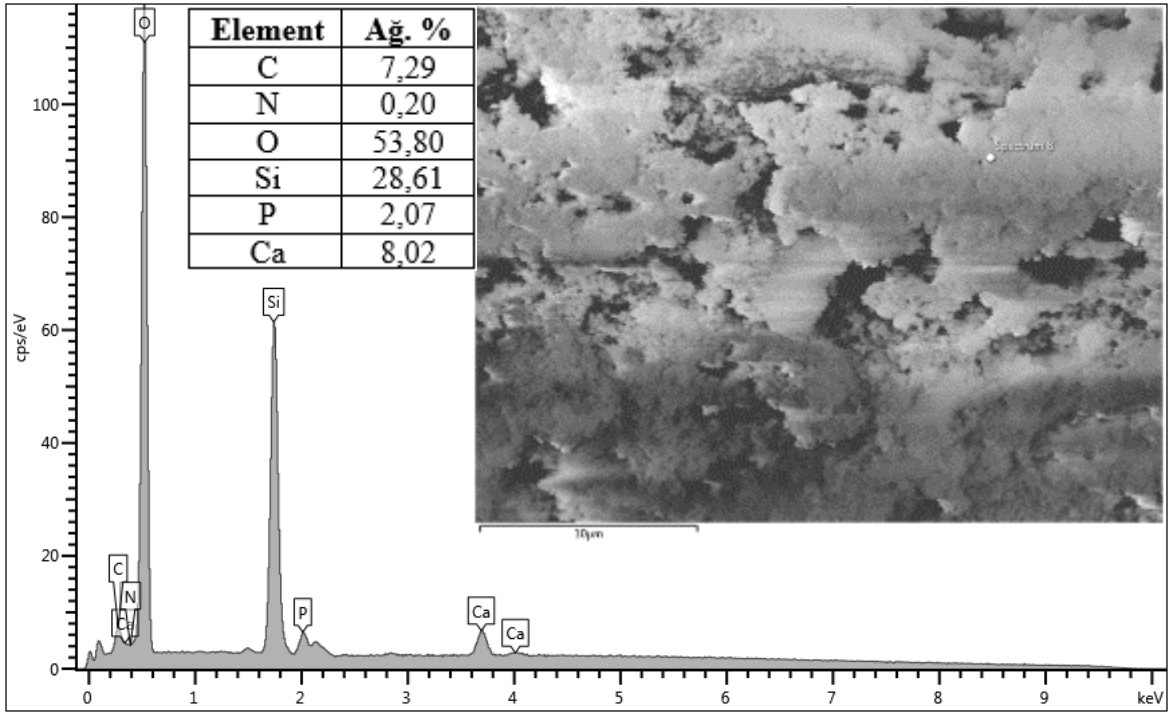
5.5.5. FE-SEM analizleri

Numunelerin FE-SEM analizleri farklı büyütme oranlarında yapılmıştır. SBF'ye daldırılmadan önce ve daldırıldıktan 14, 21 ve 30 gün sonra numunelerde meydana gelen değişiklikler Şekil 5.59-5.64'te gösterilmektedir. Daldırılmadan önce mikro yapıda gözlemlenen biyoaktif camların gözenekli yapısı su ve C₂H₅OH buharlaşmasının yanı sıra, stabilizasyon işlemi sırasında nitrat ayrışmasına bağlanabilir (Şekil 5.59). SBF'ye 21 daldırılan numune yüzeyinde çekirdekleşme meydana geldiği, 30 gün daldırılan numunede ise oluşan çekirdeklerin büyüdüğü net bir şekilde görülmüştür (Şekil 5.62, Şekil 5.64). Numuneler SBF'ye daldırılmadan önce Ca/P oranı 3,87 ve 3,94 olarak bulunurken, SBF'de 21 gün bekletildikten sonra bu oran 8,09, 9,69, 7,90, 6,79 olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.60, Şekil 5.63).

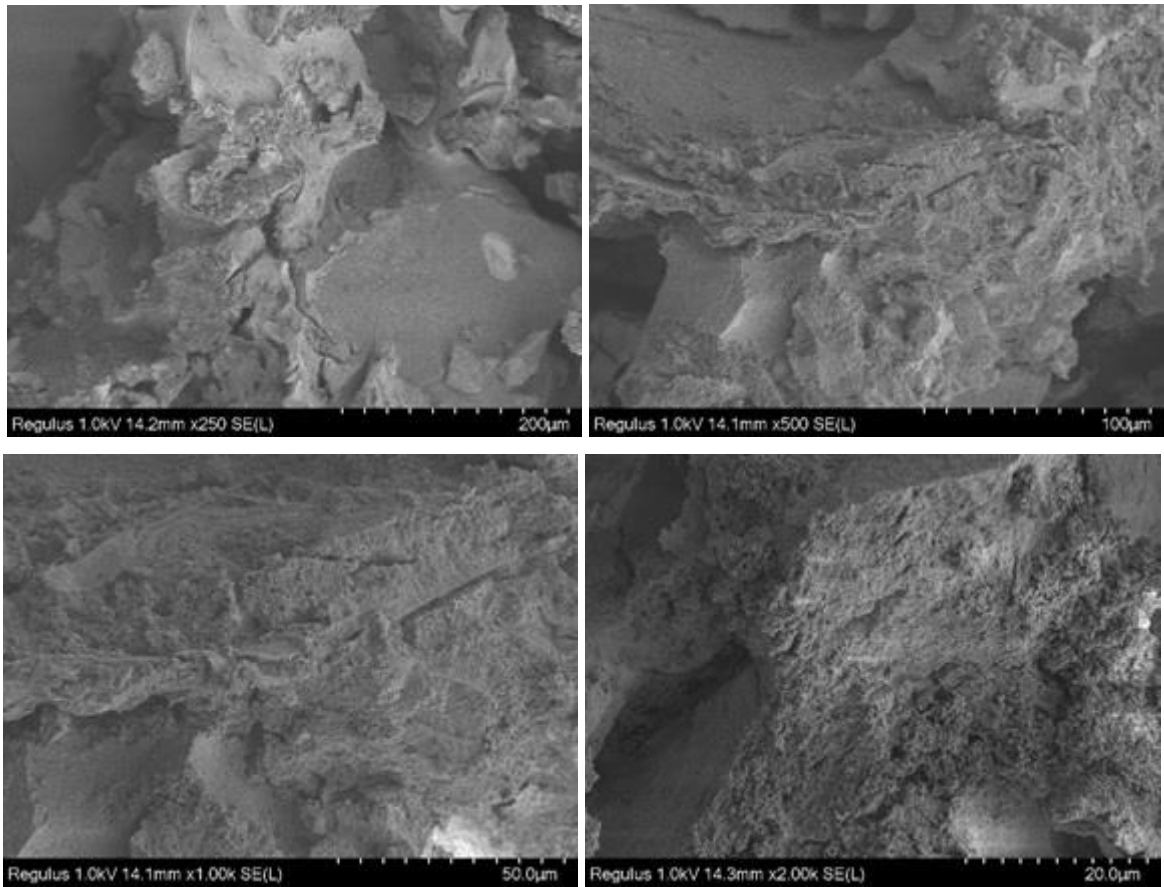


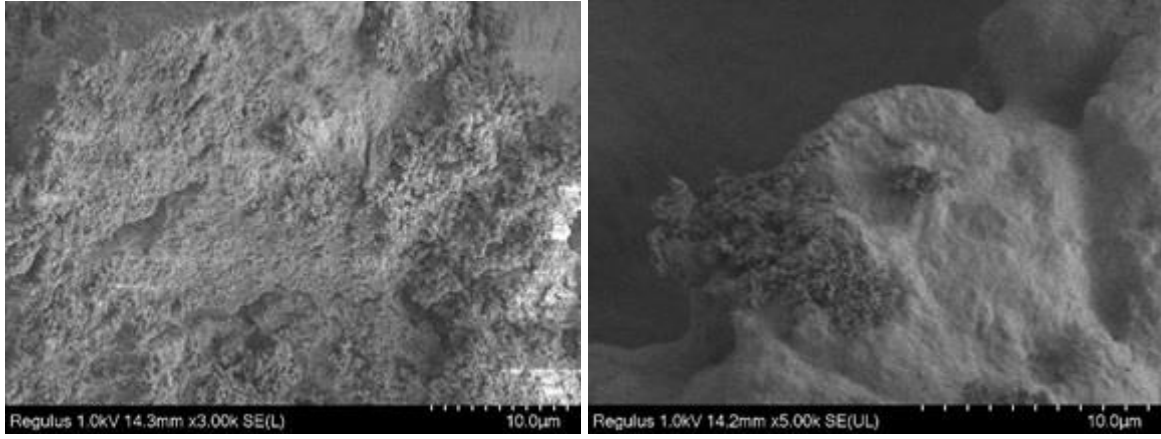
Şekil 5.59. R16 kompozisyonu biyoaktif camın FE-SEM analizleri



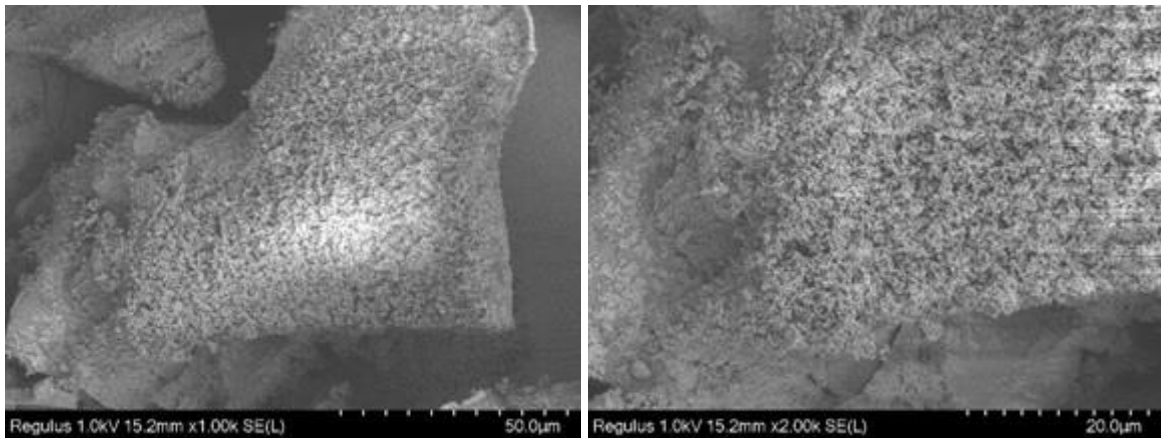
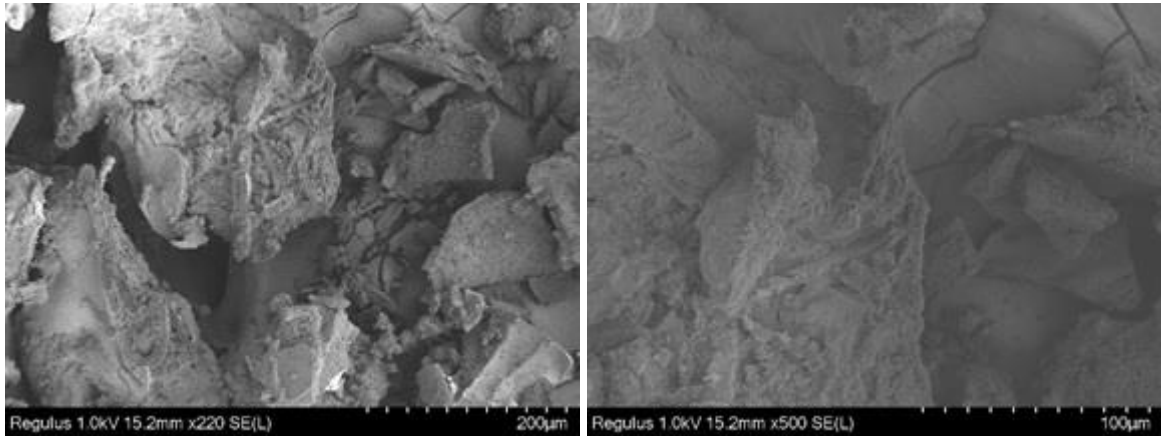


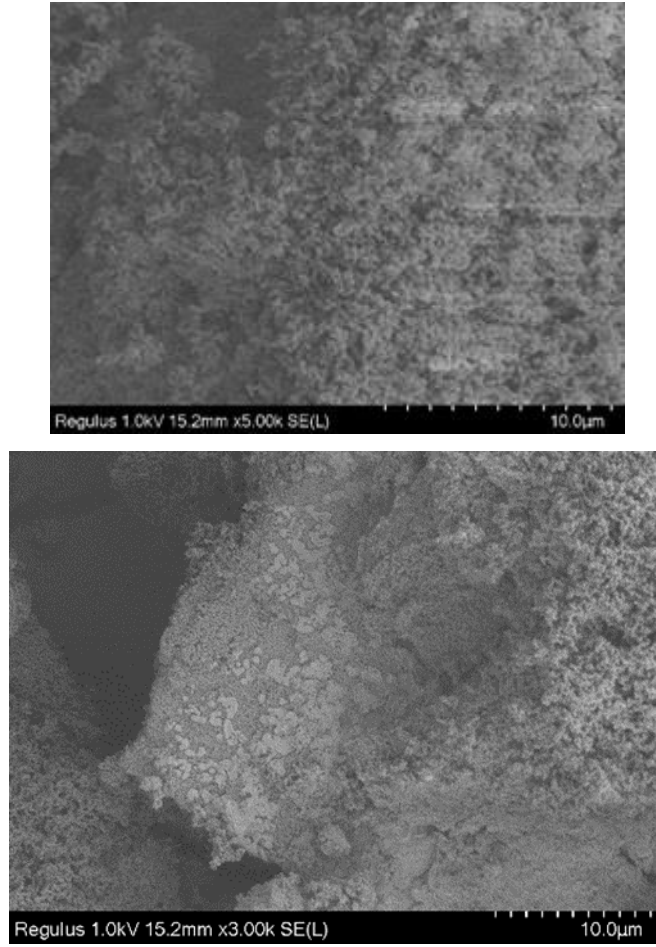
Şekil 5.60. R16 kompozisyonu biyoaktif camın EDS analizleri



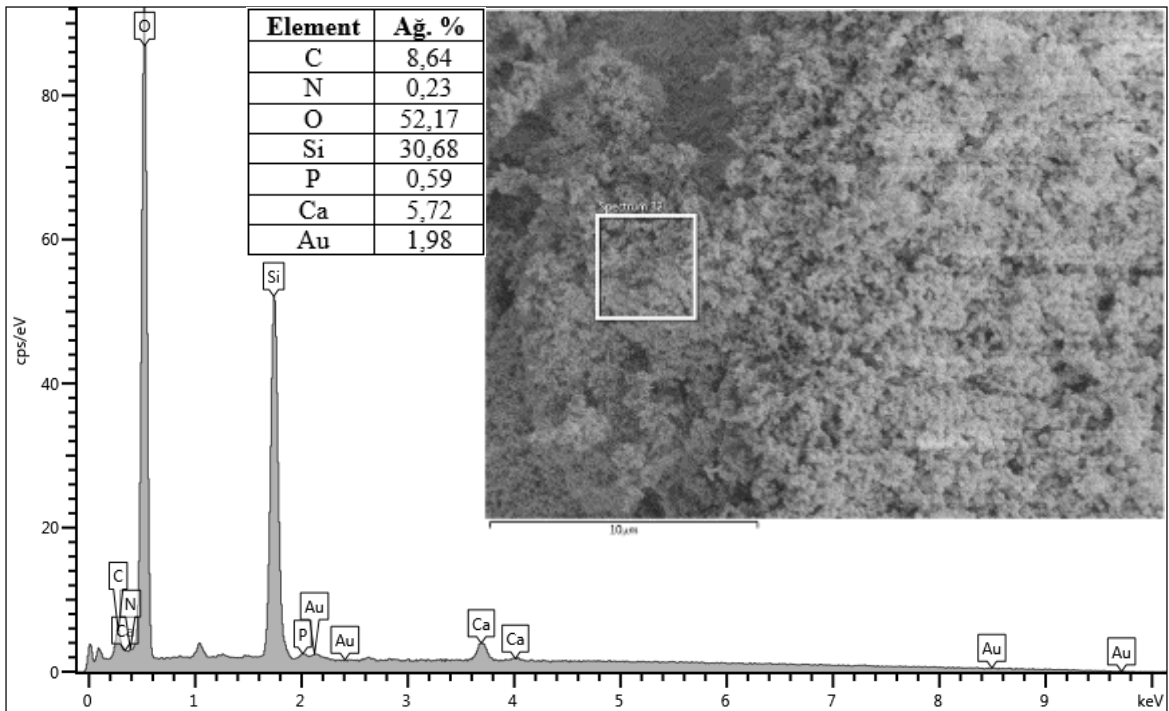


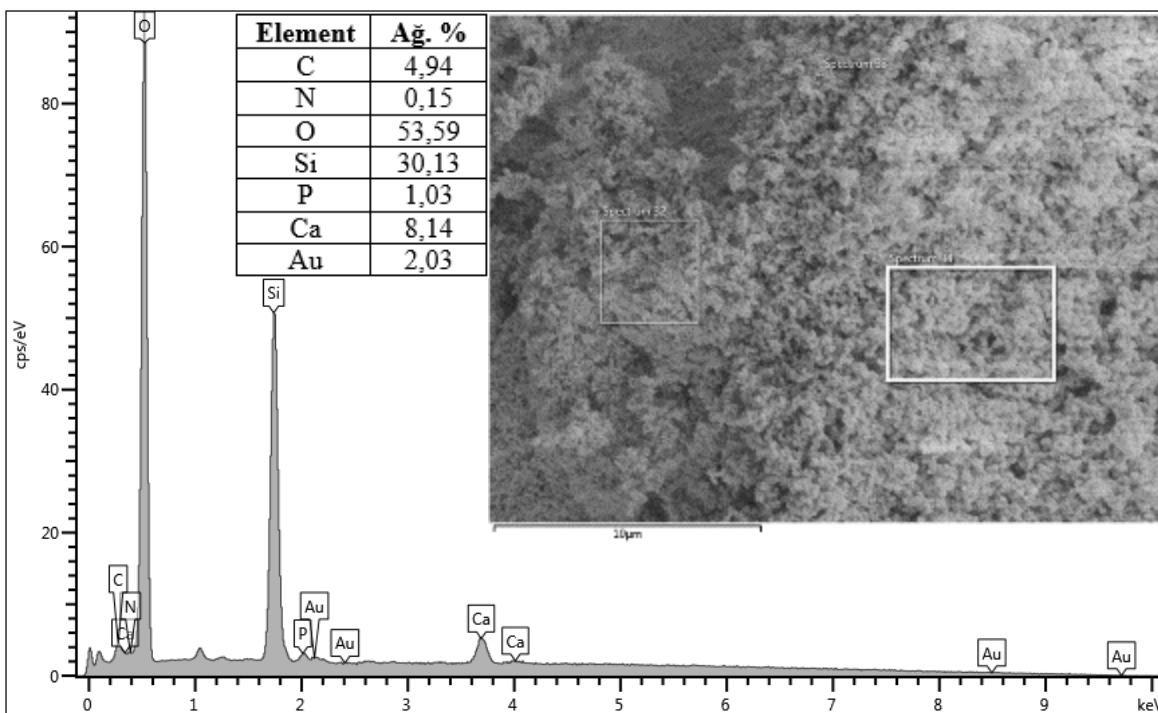
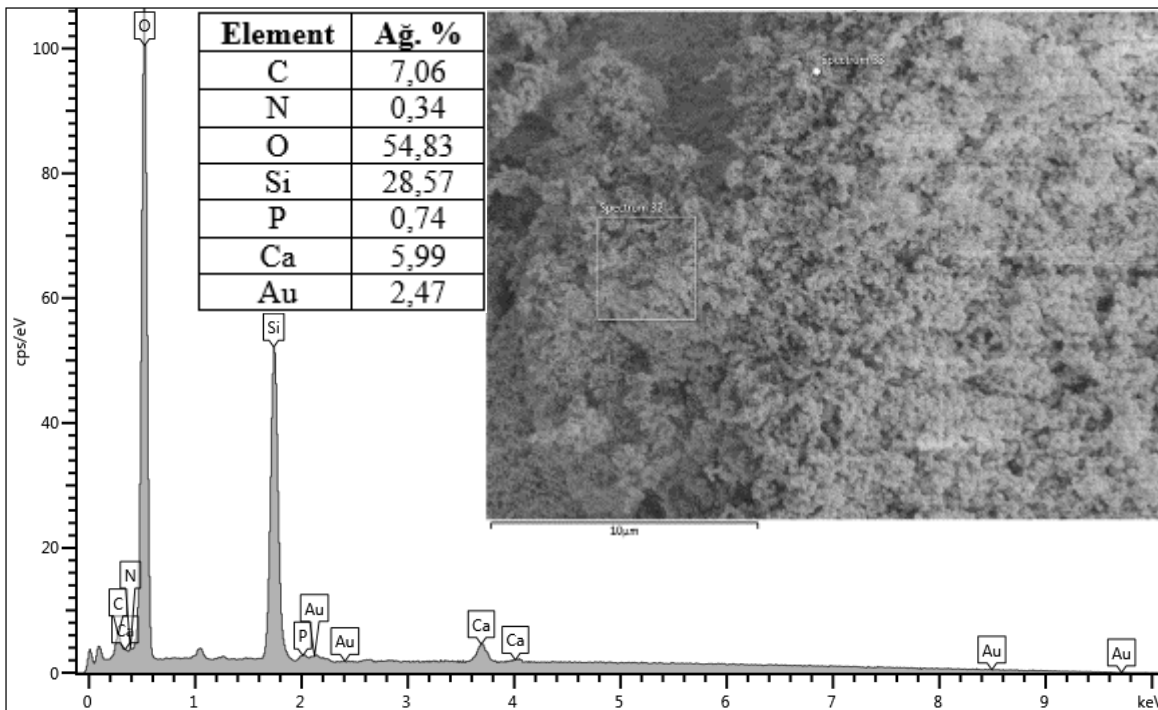
Şekil 5.61. R16 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

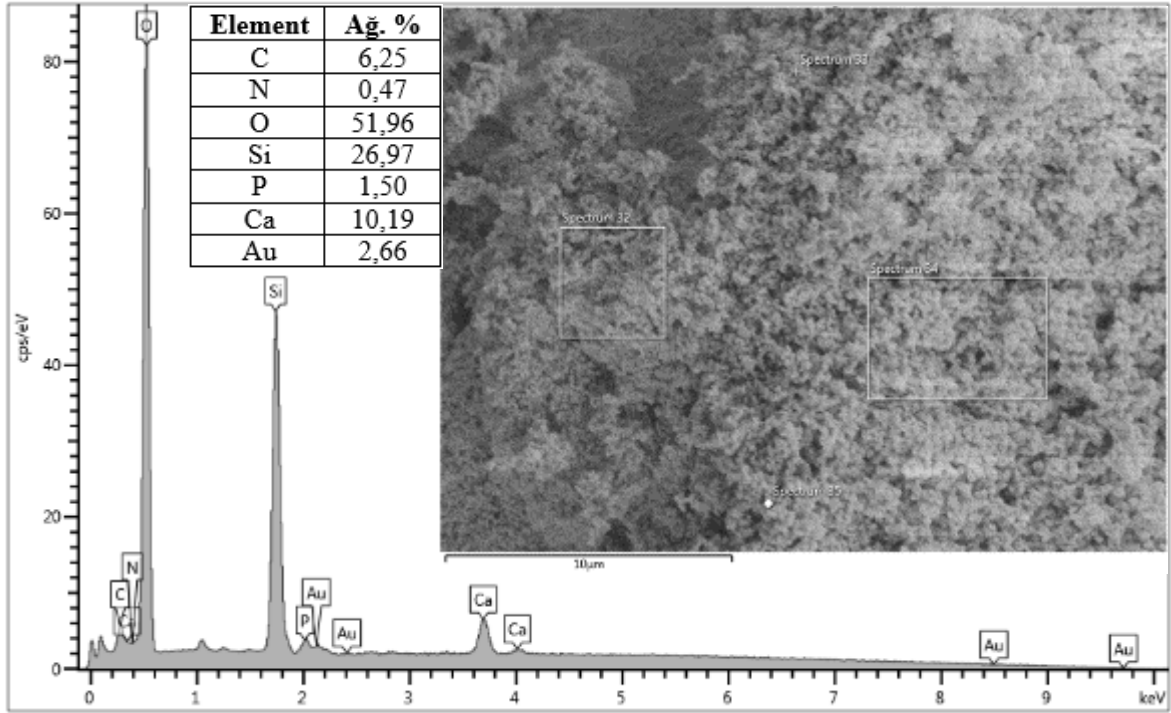




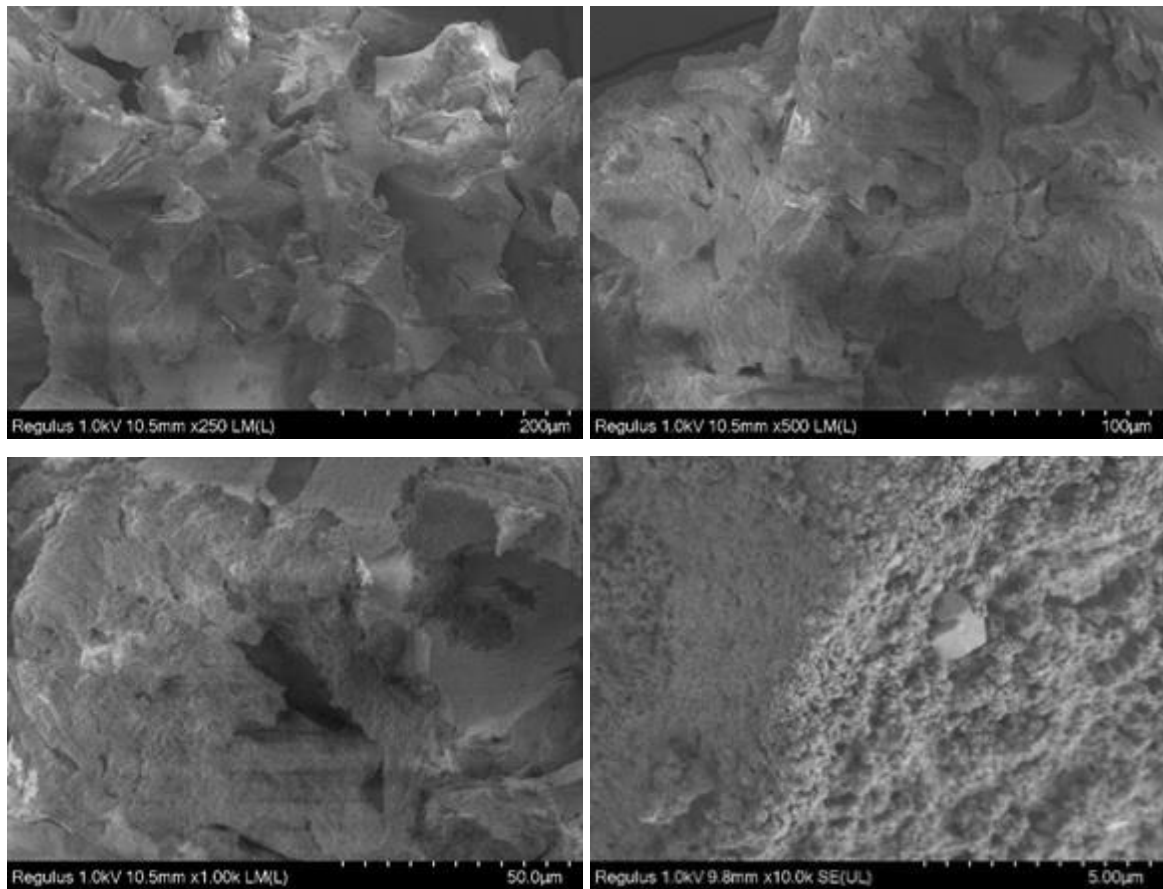
Şekil 5.62. R16 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

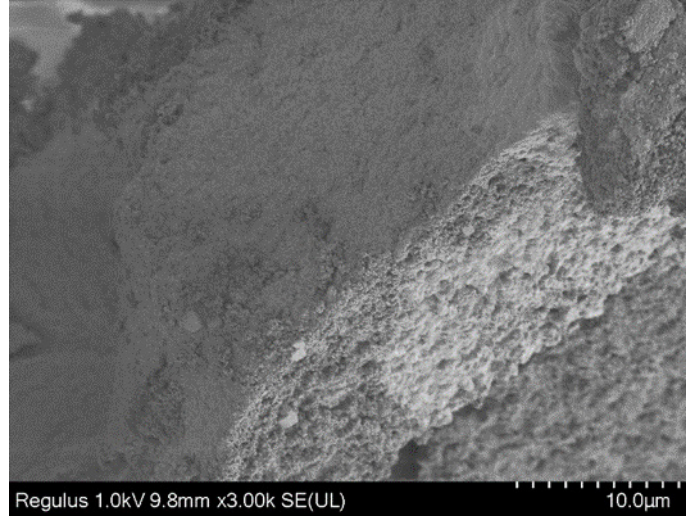






Şekil 5.63. R16 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri



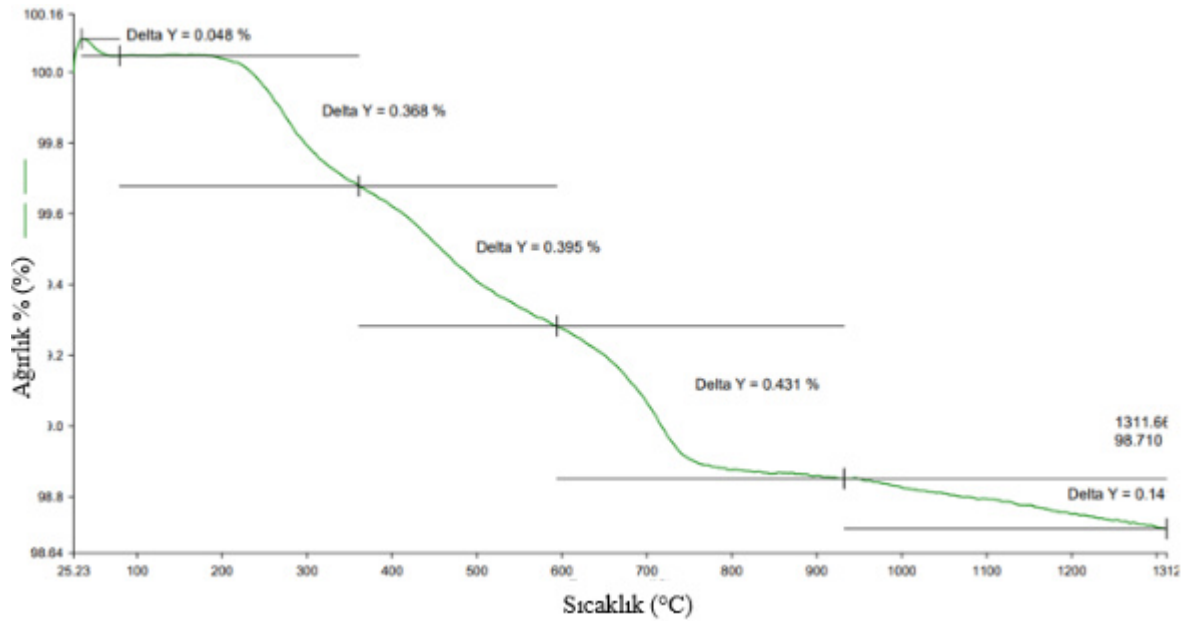


Şekil 5.64. R16 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

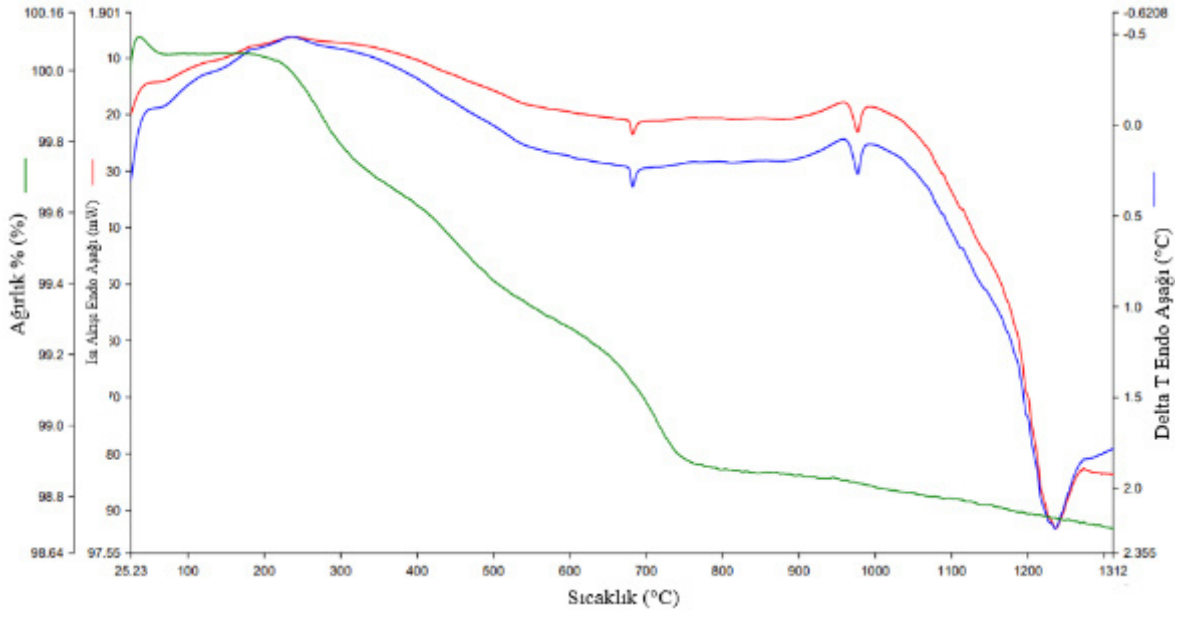
5.6. R17 Kompozisyonunun Analiz Sonuçları

5.6.1. STA

Numunenin TGA eğrisi, ısıtma işlemi 25°C’den 1300°C’ye ilerlerken beş aşamalı kütle kaybı göstermiştir (Şekil 5.65). TGA eğrisi organik ve inorganik öncüllerin yapıdan 750°C’den önce tamamen ayrıldığını göstermiştir. Numunenin STA sonucu Şekil 5.66’da gösterilmiştir.



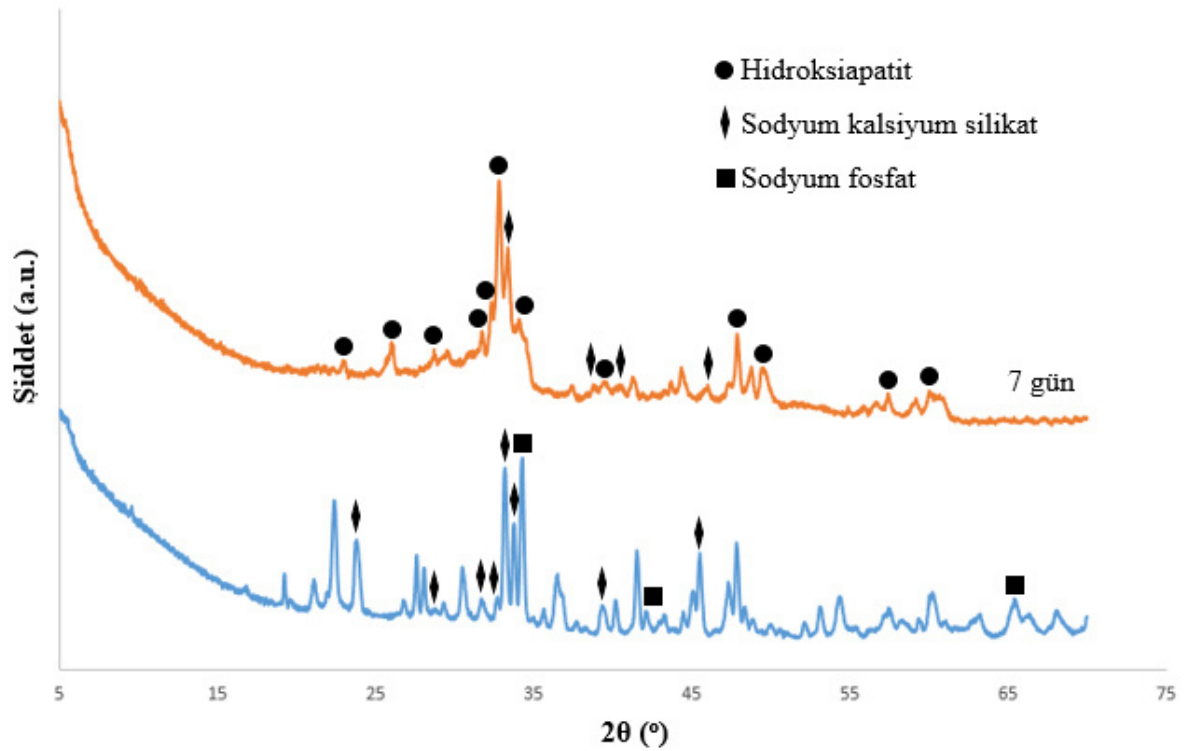
Şekil 5.65. Numunenin TGA sonucu



Şekil 5.66. Numunenin STA sonucu

5.6.2. XRD analizleri

XRD ölçümleri 5-70° (2θ) aralığında gerçekleştirilmiştir(Şekil 5.67).

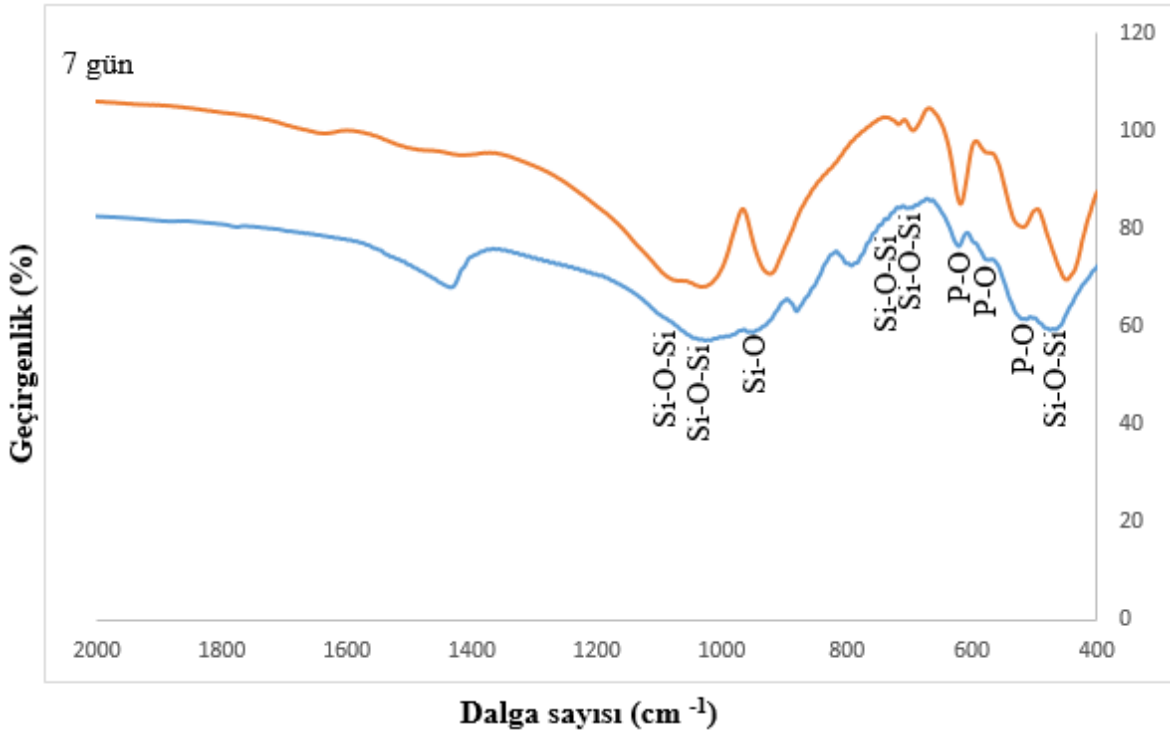


Şekil 5.67. SBF'ye daldırmadan önce ve sonra seramik tozunun XRD diyagramları

XRD analizi sonucunda SBF'ye daldırılmadan önce sodyum kalsiyum silikat, sodyum fosfat, SBF'de 7 gün bekletildikten sonra sodyum kalsiyum silikat ve HA fazları tespit edilmiştir. SBF'ye 7 gün daldırıldıktan sonra sodyum kalsiyum silikat karakteristik pikleri zayıflamıştır. Sodyum kalsiyum silikat karakteristik piklerinin yerini HA pikleri almıştır. Daldırma sonucu HA piklerinin oluşmasıyla oluşan tozun biyoaktivitesi kanıtlanmıştır.

5.6.3. FTIR analizleri

Numunede bulunan fonksiyonel gruplarını belirlemede 400 ve 4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında Perkin Elmer Spectrum Two marka FTIR kullanılmıştır (Şekil 5.68).



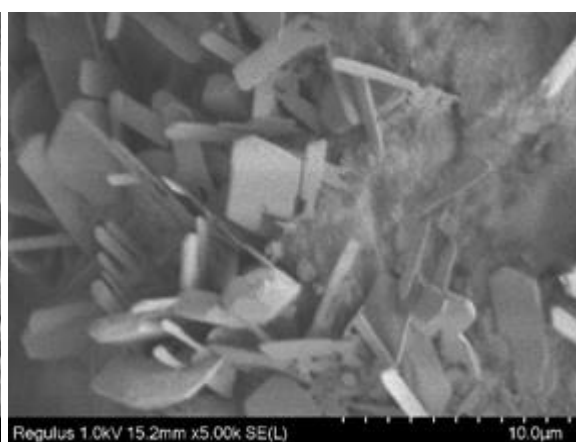
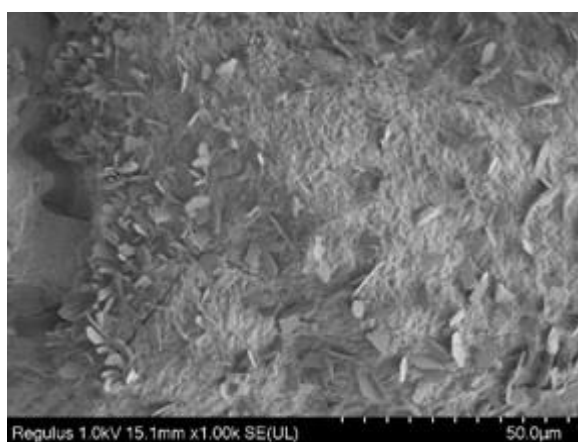
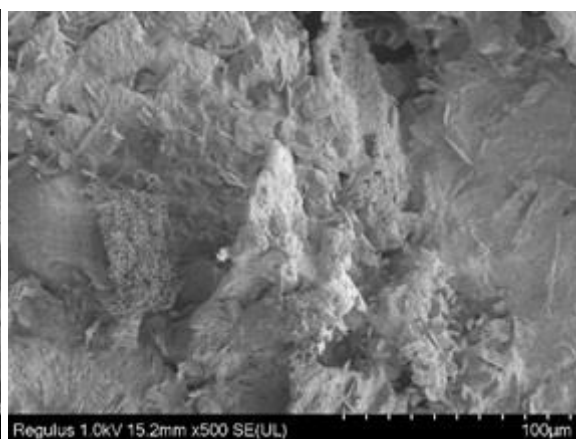
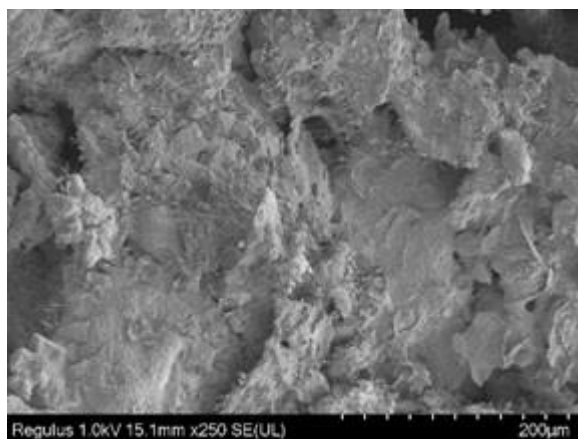
Şekil 5.68. SBF'ye daldırmadan önce ve sonra seramik tozunun FTIR spektrumları

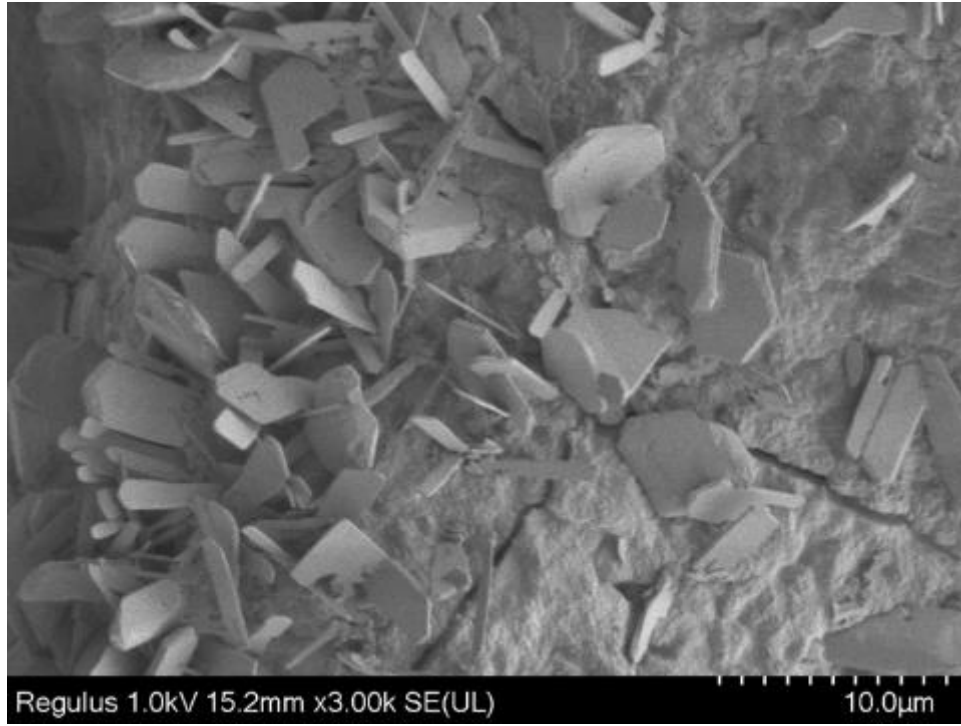
SBF'ye daldırıldıktan 7 gün sonra seramik tozunun başlangıç yapısı, malzeme ve fizyolojik çözelti arasındaki arayüzey etkileşimleri nedeniyle önemli ölçüde değişmiştir. 7 gün SBF'ye daldırılıp çıkartılan numunede 1080, 717 ve 694 cm^{-1} 'deki üç bant, simetrik germe Si-O-Si titreşimlerine bağlanır. 920 cm^{-1} 'deki bant Si-O bağına karşılık gelir. 450 cm^{-1} 'deki bant, açılmalı Si-O-Si deformasyon titreşimine atfedilir. Sodyum fosfatın varlığı 620, 570 ve 525 cm^{-1} 'deki karakteristik bant ile ortaya çıkar. XRD ile tanımlanan sodyum

fosfat kristal fazındaki P-O bağlarına bağlanır. Daldırılmadan önce 1030 cm^{-1} 'deki bant asimetrik germe Si-O-Si titreşimine bağlanırken 7 gün daldırıldıktan sonra 1030 cm^{-1} 'deki aynı bant fosfat bandı içerir. Yapay vücut sıvı çözeltisine daldırılmadan önce numunede 880 ve 1432 cm^{-1} 'de iki karbonat bandı da gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, in vitro analizden sonra seramik partiküllerinin yüzeyi üzerinde HA tabakasının oluşumunu doğrulamıştır.

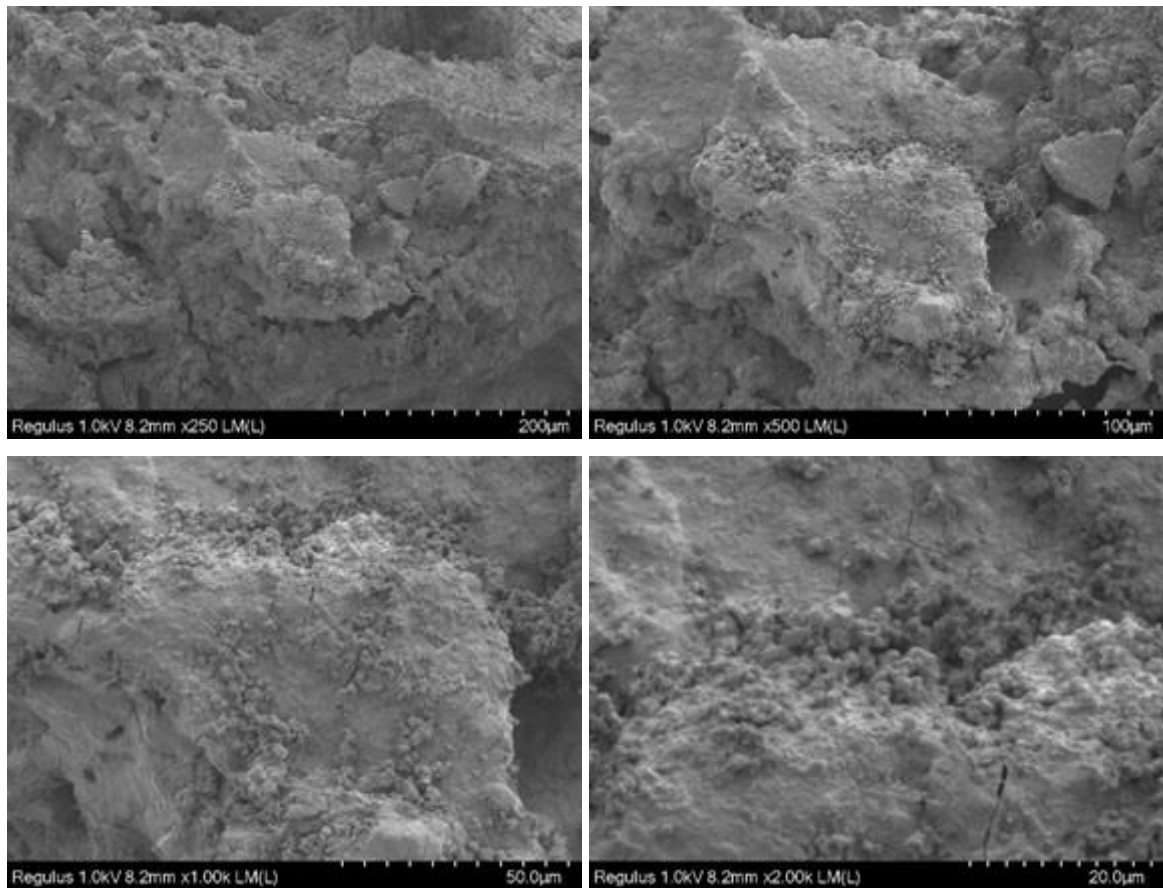
5.6.4. FE-SEM analizleri

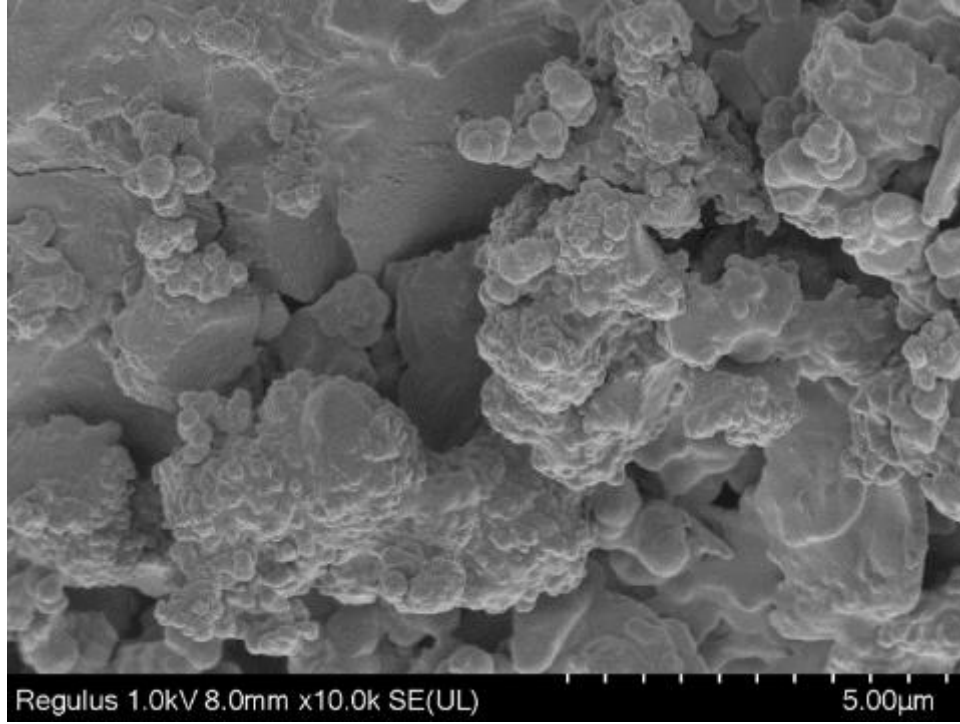
Şekil 5.69-5.75, yapay vücut sıvı çözeltisine batırılmadan önce ve sonra seramik tozunun FE-SEM ve EDS görüntülerini göstermektedir. SBF'ye daldırılmadan önce biyoaktif seramiklerde iğneye benzer parçacıkların kristalizasyonu meydana gelmiştir (Şekil 5.69). Ayrıca mikro yapıda pul benzeri yapılar tespit edilmiştir. SBF'ye daldırıldıktan sonra, seramik tozu ve fizyolojik çözelti arasındaki ara yüzey kimyasal reaksiyonları nedeniyle seramik parçacıkların yüzeyinde çok büyük değişiklikler gözlenmiştir. Numune SBF içinde 14 gün sonra görünür bir apatit tabakası oluşturarak sentetik seramiğin biyoaktivitesini doğrulamıştır (Şekil 5.70). 21 gün boyunca SBF'ye batırılan numunenin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri incelendiğinde net morfoloji farkı gözlenmektedir. Biyoaktif cam numune yüzeylerinde küresel partiküller ve karnabahar benzeri yapılara sahip apatit benzeri tabaka belirgin bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 5.72). 21 gün SBF'ye daldırıldıktan sonra FE-SEM görüntüleri numunelerin yüzeylerini tamamen kaplayan küresel partiküllerin çekirdeklenmesini ve büyümesini göstermiştir. SBF'ye 14 gün daldırılan numunede Ca/P oranı 8,86, 4,85 ve 4,46 olarak belirlenmiştir (Şekil 5.71). Ca/P oranı 21 ve 30 gün daldırılan numunede sırasıyla 2,52 ve 3,62 olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.73, Şekil 5.75). EDS spektrumu sonuçlarından elde edilen Ca/P oranları apatit oluşumunu doğrulamıştır.



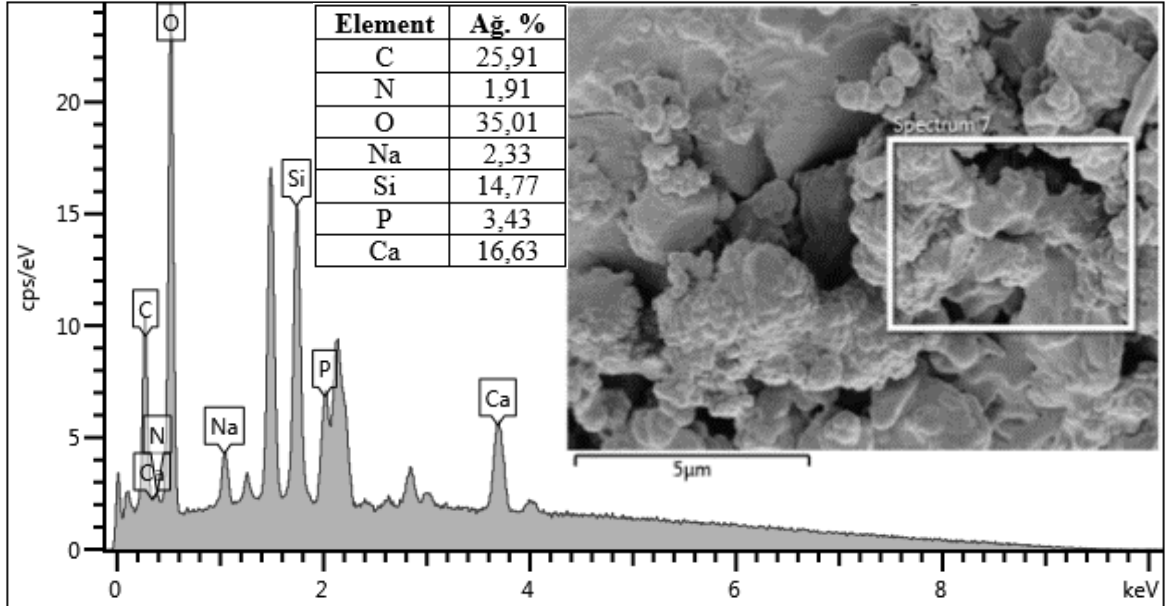


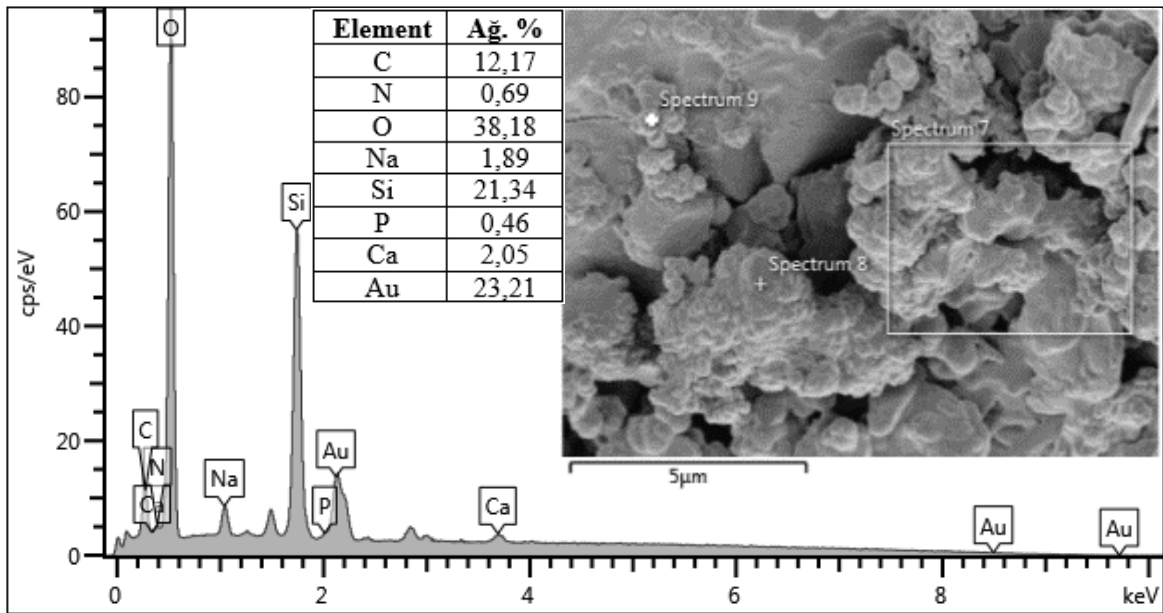
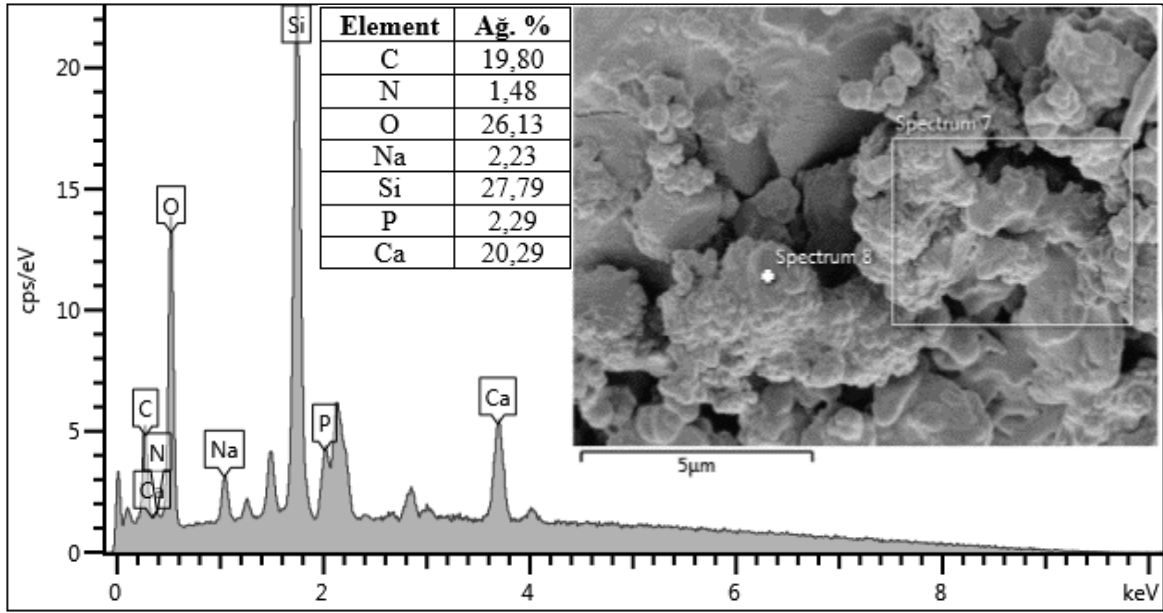
Şekil 5.69. R17 kompozisyon numunesinin FE-SEM analizleri



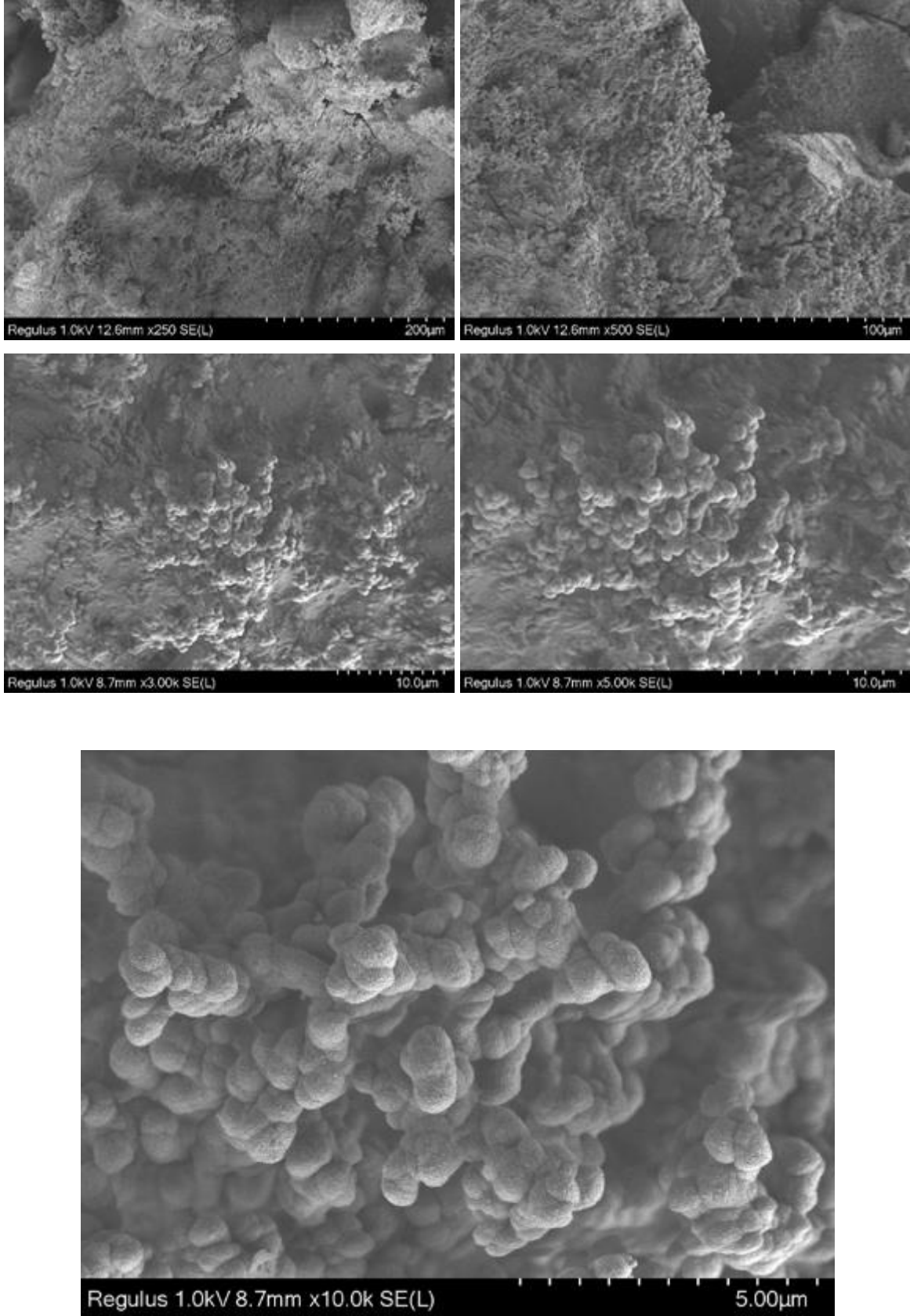


Şekil 5.70. R17 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

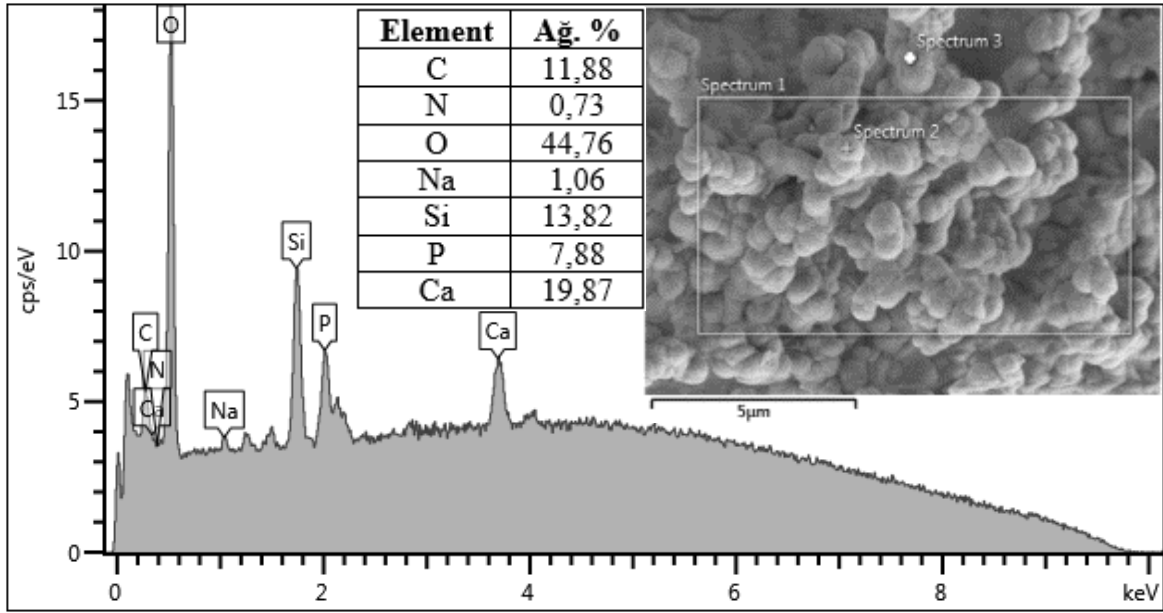




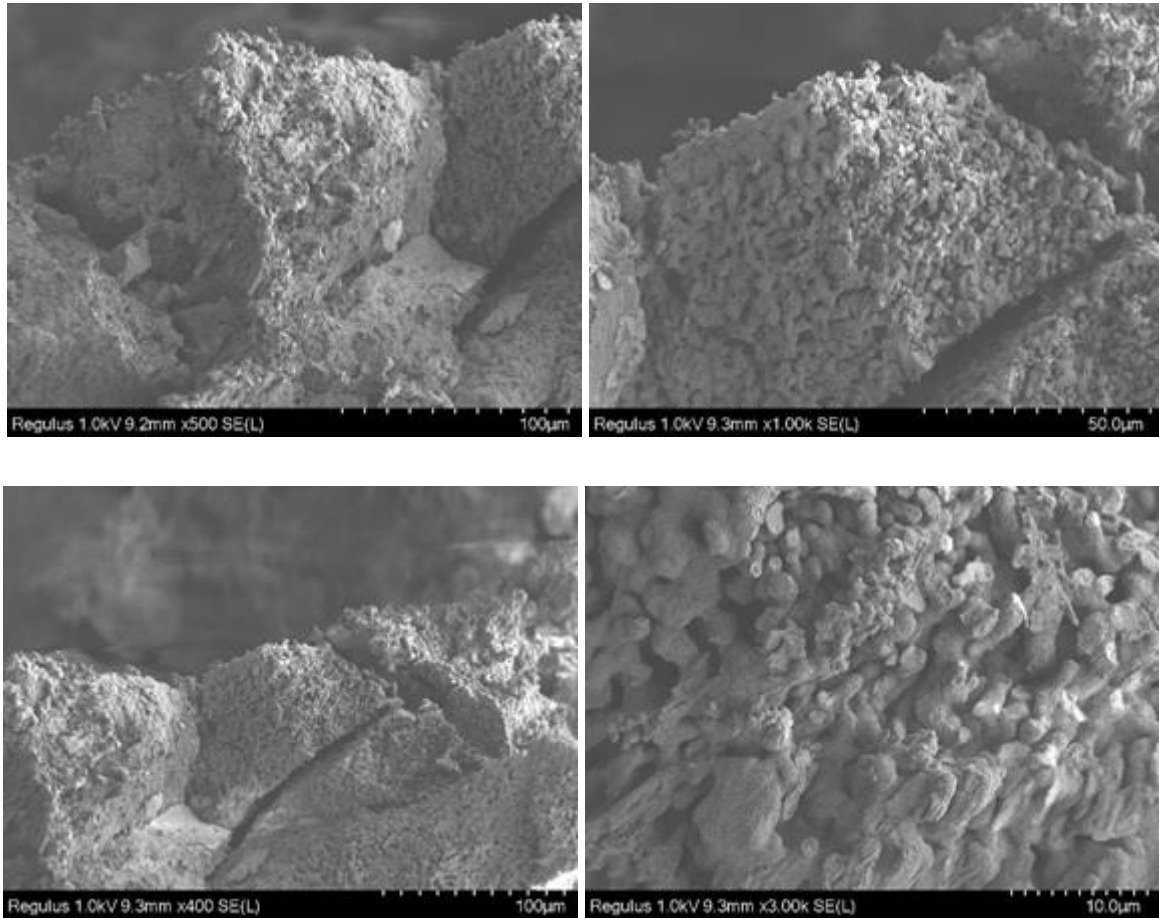
Şekil 5.71. R17 kompozisyonu SBF’de 14 gün bekletilmiş numunenin EDS analizleri

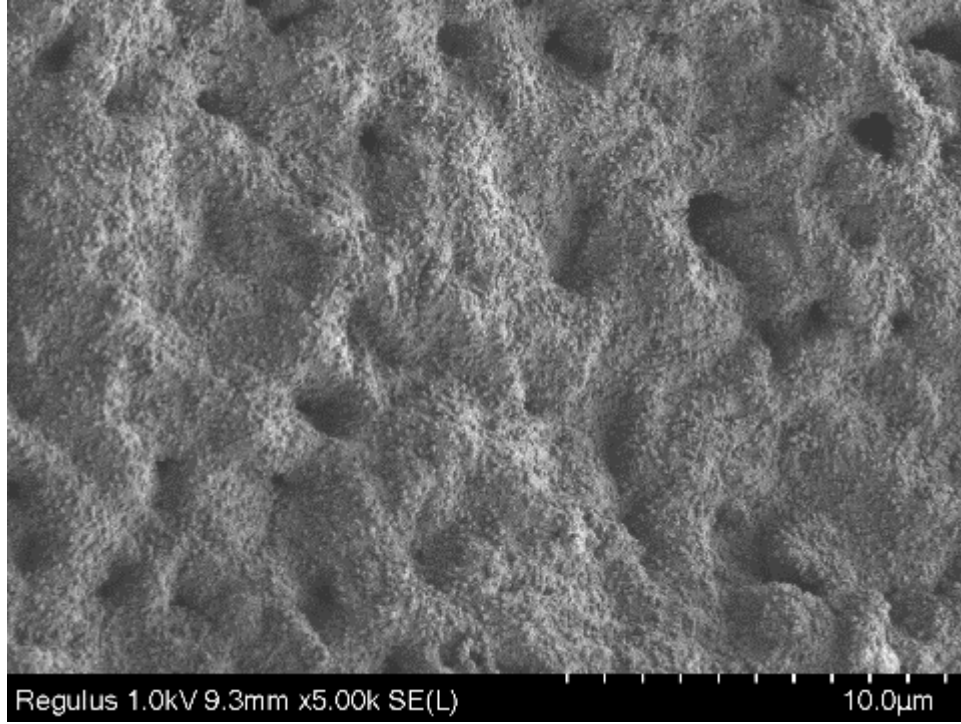


Şekil 5.72. R17 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri

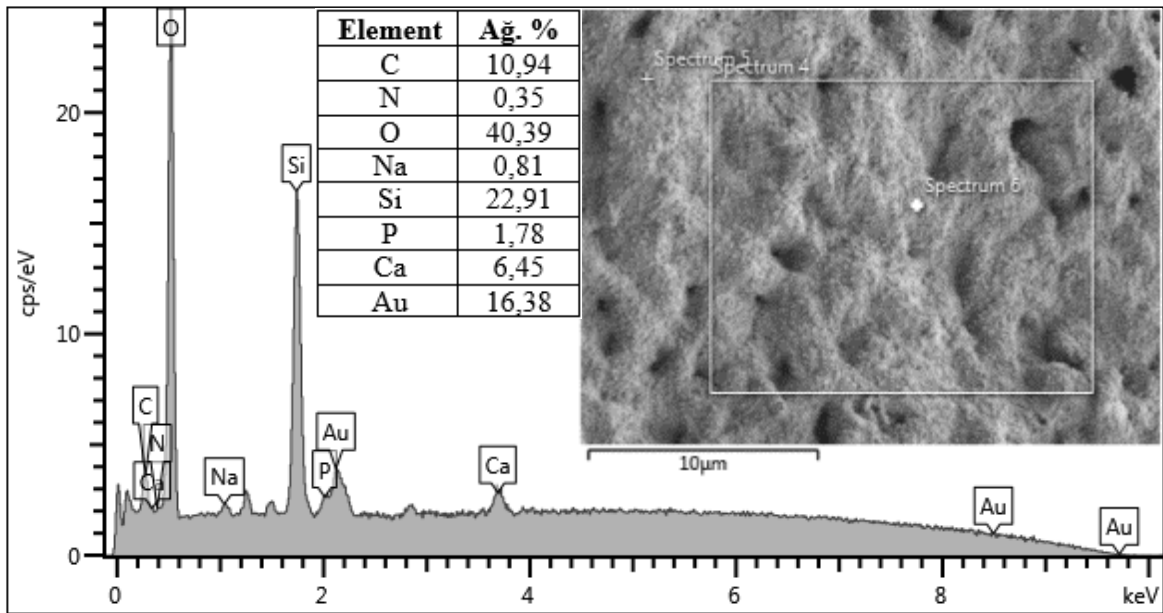


Şekil 5.73. R17 kompozisyonu SBF’de 21 gün bekletilmiş numunenin EDS analizi





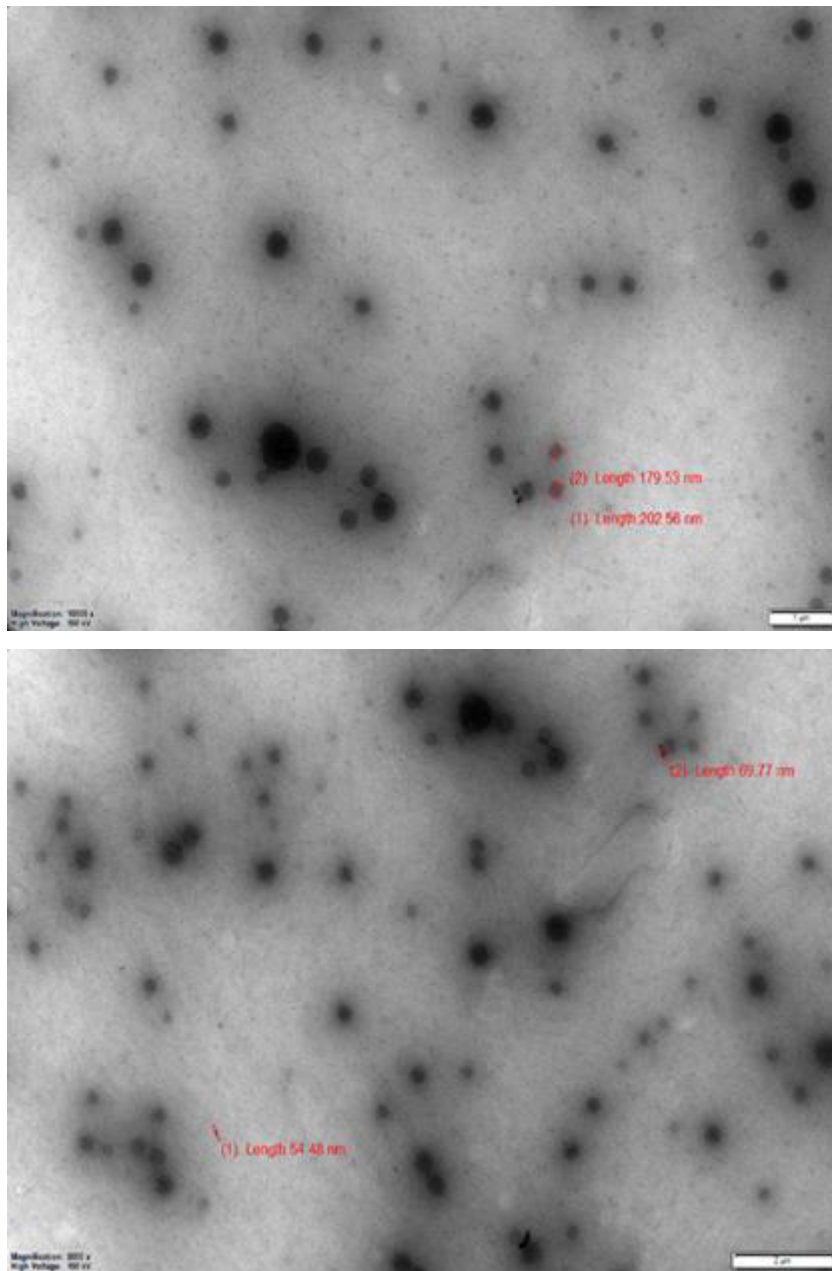
Şekil 5.74. R17 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin FE-SEM analizleri



Şekil 5.75. R17 kompozisyonu SBF’de 30 gün bekletilmiş numunenin EDS analizi

5.6.5. TEM analiz sonuçları

Hazırlanan camların TEM mikrograflarında tam çözünmeyen topaklanmış NH_3 parçacıkları gösterilmektedir (Şekil 5.76). Oluşturulan kompozisyonda çözeltiye NH_3 ilave edilerek polikondensasyon kontrol edilmiştir. Hazırlanan kompozisyonda NH_3 çözeltisi tane boyutunu etkiler ve polikondensasyon hızını artırır. TEM görüntülerinden, çözelti içinde tam olarak çözünmeyen NH_3 parçacıklarının çapı 54,48 nm, 69,77 nm, 179,53 nm ve 202,56 nm olarak ölçülmüştür.



Şekil 5.76. R17 kompozisyonunun TEM analiz sonuçları

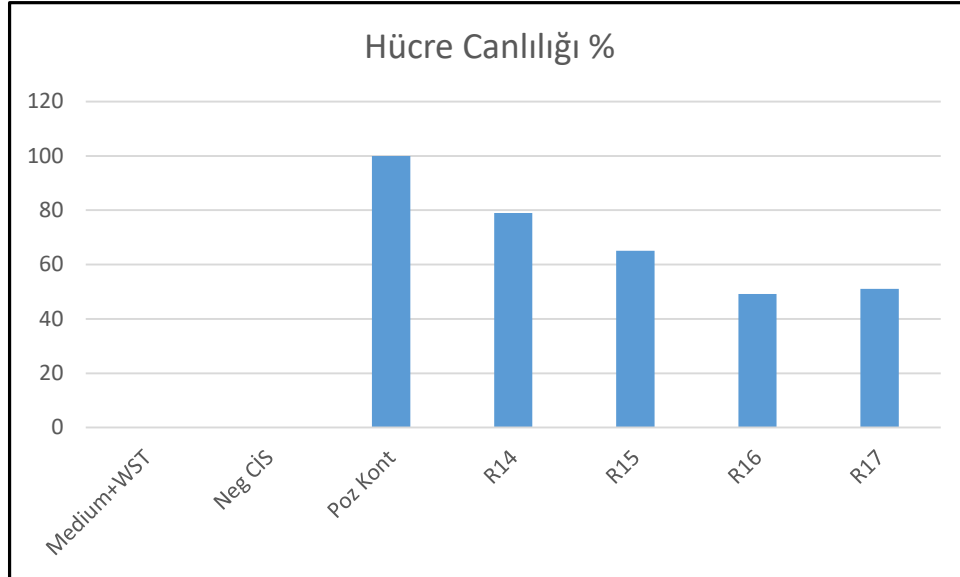
5.7. R8, R14, R15, R16 ve R17 Kompozisyonlarının Hücre Canlılık Testi Protokolü

Biyoaktif cam ve cam seramiklerinin in vitro olarak biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde sitotoksosite testi kullanılmıştır. Sitotoksosite testi 10993-5 standardı kullanılmış, numunelerin L929 fare fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerine etkileri incelenmiştir. L929 hücreleri DMEM + %10 fetal sığır serumu (FBS) içeren besiyerinde 25T flasklarda çoğaltıldıktan sonra %70 ve üzeri konfluenside iken hücreler tripsinize edilerek sayıma alınmıştır. Hücre canlılığının %90 ve üzerinde olduğu durumlarda hücreler 10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde kuyulara dağıtılmış ve 37°C'deki CO₂'li inkübatörde 24 saat bekletilmiştir. Numuneler kodlandıktan sonra her numune 100 mg/mL besiyeri olacak şekilde ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon prosedüründe 10 mg numune ve 1 mL FBS içermeyen besiyerine eklenmiştir. Karışım sağlandıktan sonra 37°C'deki CO₂'li inkübatörde 24 saat bekletilen numuneler 2500xg'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra üstte kalan besiyeri kullanılmıştır. Kuyucuklardaki besiyeri uzaklaştırılarak yerine ekstrakte edilen besiyerleri eklenmiştir. Her kuyucuğa %10 FBS eklemesi yapıldıktan sonra 37°C'deki CO₂'li inkübatörde 22 saat bekletilmiştir. Bekletilme sonrasında her kuyucuğa %10 WST-1 solusyonu eklenmiş ve 37°C'deki CO₂'li inkübatörde 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra ELISA okuyucuda 450 nm ve 600 nm okumalar yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Blank referans, Medium+WST referans kuyucukların okumalarına bakılmıştır. Blank 0,010, Medium+WST referansı 0,400 kadar kabul edilmiştir. Bu değerler geçilirse deney tekrarlanmalıdır. Sitotoksosite testlerinde, hücre canlılığı numune miktarından etkilenir.

Sitotoksik potansiyel, kantitatif olarak IC_{50(%)} (sitotoksosite indeksi) olarak ifade edilebilir. Bu, hücre kontrolüne ve ekstraktın konsantrasyonuna göre hücre canlılığı yüzdesi grafik üzerinde çizilerek kolayca belirlenir. IC_{50(%)} analizde hücre popülasyonunun yarısını öldürmek için gerekli ekstrakt konsantrasyonu veya hücre popülasyonunun yarısını yaralayan veya öldüren ekstrakt konsantrasyonudur (Daguano vd., 2012).

Sitotoksosite testi analiz sonuçları Şekil 5.77'de gösterildiği gibidir. Sitotoksosite testinde tek bir konsantrasyon oranında (10 mg numune) hücre canlılığı belirlenmiştir. R14, tüm numuneler arasında en yüksek canlılığı sergilemiştir. R14 kodlu numune 10 mg'da maksimum % 78,9 hücre canlılığı göstermiştir ve bu numune sitotoksik değildir.

R15 kodlu numune 10 mg'da % 65,1 maksimum canlılık sergilemiştir. R16 ve R17 kodlu numuneler bu değerler sırasıyla % 49,2 ve % 51,1'dir. 10 mg konsantrasyonda R14, R15 ve R17 kodlu numunelerin hücre popülasyonunun ölümüne veya yaralanmasına neden olmadığını gözlemlemek mümkündür.



Şekil 5.77. Kompozisyonların sitotoksosite test sonuçları

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

R8 kompozisyonunda Ti6Al4V altlıklar üzerine biyoaktif cam kaplamalar sol-jel yöntemiyle başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Polimerlerin sole eklenmesi, püskürtme işlemini büyük ölçüde kolaylaştırmış ve reolojik özelliklerin kontrolünü arttırmıştır. Kaplamaların biyoaktif olduğu gösterilmiştir. Sol-jel yönteminin, biyoaktif camların geleneksel sentezine iyi bir alternatif olduğu belirlenmiştir. Böylece daha düşük ısı işlem sıcaklığında biyoaktif cam kaplamaların elde edilmesi mümkün olmuştur. Sonuçlar HA oluşumunu doğrulamaktadır. Elde edilen kaplamaların yüzeylerinde HA tabakası oluşturma ve kemik ile bağlanma yeteneği vardır. Üretilen biyoaktif cam kaplamalar, fizyolojik sıvıyla temasa tepki olarak HA tabakası ile kaplanmıştır. Bu tabaka, yeni kemik oluşumunu ve büyümesini desteklemek için hareket edecektir. İmplant ile kemik arasında başka hiçbir doku bulunmaksızın, yapısal ve fonksiyonel bağlanmayı iyileştirecektir. Elde edilen sonuçlar ve biyoaktivite avantajı kaplamanın kemik rejenerasyonunda iyi bir aday olabileceğini düşündürmektedir. Karakterizasyon çalışmaları, SBF'ye daldırıldıktan sonra kaplamalarda HA'in oluştuğunu göstermiştir. Çalışmanın devamı olarak deney hayvanları üzerindeki in-vivo araştırmalar yapılmalıdır.

R13 kompozisyonunda, biyoaktif cam parçacıkları başarıyla sol-jel yöntemi ile sentezlenmiştir. Biyoaktif cam tabletleri kuru preslemeli kalıplama teknolojisi ile hazırlanmıştır. Kuru presleme teknolojisi ile yapılan biyoaktif cam tabletlerin hap benzeri ve homojen bir şekilde yapılandırıldığı görülebilir ve yüzey biraz pürüzlüdür. Bu çalışmada 58S biyoaktif cam tabletlerin hazırlanarak karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Oluşturulan tabletlerin biyoaktivitesi in vitro olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, SBF'ye daldırıldıktan sonra biyoaktif cam tabletlerinin yüzeyinde yoğun bir HA tabakasının oluştuğunu ve bu da biyoaktif cam tabletlerinin mükemmel biyoaktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Sonuçlar oluşturulan biyoaktif cam tabletlerin doku mühendisliğinde biyolojik iskele olarak kullanma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan FTIR analizleri sonucunda, numunelerin yapılarındaki P-O bağlarının oluşumu tespit edilmiştir. SBF içerisinde bekleme süresinin artmasıyla pikleri keskinleşmiştir. Diğer bir deyişle, HA oluşumunun arttığı belirlenmiştir.

R14 kompozisyonunda sol-jel yöntemi kullanılarak, 45S5 biyoaktif cam seramikler sentezlenmiştir. 45S5 numunesinin stabilizasyon sıcaklığının 700°C olması 45S5 cam seramikte ana kristal yapı olarak $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ oluşumuna yol açmıştır. Biyoaktif cam tozları üzerinde HA tabakasının oluşumunu doğrulamak için XRD kullanılmıştır. SBF'ye 7, 14, 21 ve 30 gün daldırılan numunelerde daldırma süresi artıkça HA fazının pik şiddeti artarken $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ fazının pik şiddeti azalmıştır. Jel türevli 45S5 tozunun çözülme ve apatit oluşum hızı SBF'de 30 gün daldırılmasından sonra değerlendirilmiştir. Jelden türetilmiş tozların yüzeyinde oluşan HA'lerin morfolojisi ince iğnemsli HA'leri göstermiştir. Bunun anlamı, devitrifiye edilmiş camın yüzey reaksiyon oranının hızlı olmasıdır. SBF'ye 7, 14, 21 ve 30 gün boyunca daldırılan jel türevli numunelerin çözünme hızı ve HA oluşumu incelenmiştir. EDS sonuçları, FTIR sonuçları ile uyumlu olarak SBF'ye daldırıldıktan sonra silisyum içeriğinde bir artış göstermektedir. Toz yüzeyinde zamanın bir fonksiyonu olarak HA oluşmuş ve yayılmıştır. EDS ve diğer analizler, ara yüzey reaksiyonlarının her aşamasında reaksiyonların kinetiğini anlamaya yardımcı olmuştur. Sonuç olarak oluşturulan biyoaktif cam seramikler kemiğe bağlanmada önemli olan mükemmel HA oluşturma yeteneği sergilemiştir.

R15 kompozisyonunda in vitro çalışmalar, sol-jelleştirilmiş biyoaktif cam örneklerinin yüzeyleri üzerinde bir HA tabakasının oluştuğunu göstermiştir. ZnO'nun camdaki ana etkisi, HA tabakası oluşum hızını yavaşlatmasıdır. Cam numunelerin XRD analiz sonuçları da bu sonucu doğrulamıştır.

R16 kompozisyonunda biyoaktif camların hazırlanmasına yönelik hızlı bir sentez yolu sunularak in vitro karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ek olarak, jelleşme süresi, NH_3 çözeltisi nedeniyle azalmıştır. Oluşturulan biyoaktif cam, FE-SEM, XRD ve FTIR analizinde doğrulandığı gibi, SBF'ye daldırıldıktan sonra yüzeylerinde apatit tabakası oluşturmuştur. Biyoaktif camlar, kemik implant malzemeleri, ilaç verme sistemi, kemik bütünleştirilmesinde ve kemik dokusu mühendisliği yapı iskelelerinin potansiyel uygulamalarında kullanılabilir.

R17 kompozisyonunda % 45 SiO_2 , % 24,5 CaO , % 24,5 Na_2O ve % 6 P_2O_5 (ağırlıkça%) içeren biyoaktif seramik tozu, sol-jel yöntemiyle başarılı bir şekilde yapılmıştır. XRD analizi sonucunda daldırılmadan önce oluşan fazlar sodyum kalsiyum

silikat ve sodyum fosfattır. Jelleşme süresi, kompozisyona NH_3 çözeltisinin ilave edilmesiyle azalmıştır. Amonyanın yoğunlaşma hızını arttırdığı ve jelleşme süresini birkaç dakikaya düşürdüğü bulunmuştur. SBF'de 7 gün bekletilen numunede oluşan fazlar sodyum kalsiyum silikat ve HA'tir. Seramik numunelerin in vitro biyoaktivitesi SBF'ye daldırılarak belirlenmiştir. Seramik tozun biyoaktivitesi kemik benzeri apatit tabakasının varlığından dolayı FTIR, FE-SEM ve XRD cihazlarından elde edilen sonuçlar ile ispatlanmıştır.

Sitotoksisite testlerinde R14 kompozisyonu, tüm numuneler arasında en yüksek canlılığı göstermiştir. Sonuçlar, sentezlenen R14 kodlu malzemenin biyoaktif ve biyoyumlu olduğunu göstermiştir. R14 kompozisyonunun sitotoksisite testlerinde toksik olmayan bir davranış gözlemlendiğinden, cam seramiklerin klinik uygulamalar için uygun biyoaktif malzeme olduğu varsayılabilir. Yine de, bu alanda daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği kabul edilmelidir.

Sitotoksisite testleri osteoblast hücreleri kullanılarak, çeşitli iyon konsantrasyonlarının hücresel büyüme üzerindeki etkisi ve hücrelerin iyonlarla temas halinde olduğu süre değiştirilerek başka çalışmalar yapılması gerekir. Gelecekteki çalışmalarda sitotoksisiteyi, osteojenik farklılaşmayı analiz eden spesifik hücre yanıtını değerlendirmek için osteoblast benzeri hücreler kullanılmalıdır ve in vivo çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aguiar, H., Serra, J., González, P., and León, B. (2009). Structural study of sol–gel silicate glasses by IR and Raman spectroscopies. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 355(8), 475-480.
- Ajami, E., Mahno, E., Mendes, V., Bell, S., Moineddin, R., and Davies, J. (2014). Bone healing and the effect of implant surface topography on osteoconduction in hyperglycemia. *Acta Biomaterialia*, 10(1), 394-405.
- Ajita, J., Saravanan, S., and Selvamurugan, N. (2015). Effect of size of bioactive glass nanoparticles on mesenchymal stem cell proliferation for dental and orthopedic applications. *Materials Science and Engineering: C*, 53, 142-149.
- Albrektsson, T., and Johansson, C. (2001). Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *European spine journal*, 10(2), S96-S101.
- Almeida, R., Gama, A., and Vueva, Y. (2011). Bioactive sol–gel scaffolds with dual porosity for tissue engineering. *Journal of sol-gel science and technology*, 57(3), 336-342.
- Anand, A., Lalzawmliana, V., Kumar, V., Das, P., Devi, K. B., Maji, A. K., Nandi, S. K. (2019). Preparation and in vivo biocompatibility studies of different mesoporous bioactive glasses. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 89, 89-98.
- Andersson, J., Areva, S., Spliethoff, B., and Lindén, M. (2005). Sol–gel synthesis of a multifunctional, hierarchically porous silica/apatite composite. *Biomaterials*, 26(34), 6827-6835.
- Arcos, D., and Vallet-Regí, M. (2010). Sol–gel silica-based biomaterials and bone tissue regeneration. *Acta Biomaterialia*, 6(8), 2874-2888.
- Ashuri, M., Moztarzadeh, F., Nezafati, N., Hamedani, A. A., and Tahriri, M. (2012). Development of a composite based on hydroxyapatite and magnesium and zinc-containing sol–gel-derived bioactive glass for bone substitute applications. *Materials Science and Engineering: C*, 32(8), 2330-2339.
- Atabaki, M. M., and Rabi'atuladawiyah Jafar, J. I. (2010). Sol–Gel Bioactive Glass Coating For Improvement of Biocompatible Human Body Implant. *Metalurgija*, 6(3), 49-163.
- Avnir, D., Coradin, T., Lev, O., and Livage, J. (2006). Recent bio-applications of sol–gel materials. *Journal of Materials Chemistry*, 16(11), 1013-1030.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bahniuk, M. S., Pirayesh, H., Singh, H. D., Nychka, J. A., and Unsworth, L. D. (2012). Bioactive glass 45S5 powders: effect of synthesis route and resultant surface chemistry and crystallinity on protein adsorption from human plasma. *Biointerphases*, 7(1), 41.
- Baino, F., Ferraris, S., Miola, M., Verné, E., Evans, I., and Bretcanu, O. (2019). Multifunctional Bioactive Glasses and Glass-Ceramics: Beyond ‘Traditional’ Bioactivity *Biomedical, Therapeutic and Clinical Applications of Bioactive Glasses* (pp. 35-67): Elsevier.
- Baino, F., Fiorilli, S., and Vitale-Brovarone, C. (2017). Composite biomaterials based on sol-gel mesoporous silicate glasses: A review. *Bioengineering*, 4(1), 15.
- Baino, F., Hamzehlou, S., and Kargozar, S. (2018). Bioactive glasses: where are we and where are we going? *Journal of functional biomaterials*, 9(1), 25.
- Balamurugan, A., Balossier, G., Michel, J., Kannan, S., Benhayoune, H., Rebelo, A., and Ferreira, J. (2007). Sol gel derived SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅ bioglass system—Preparation and in vitro characterization. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 83(2), 546-553.
- Beherei, H. H., Mohamed, K. R., and El-Bassyouni, G. T. (2009). Fabrication and characterization of bioactive glass (45S5)/titania biocomposites. *Ceramics International*, 35(5), 1991-1997.
- Bellucci, D., Sola, A., Salvatori, R., Anesi, A., Chiarini, L., and Cannillo, V. (2014). Sol-gel derived bioactive glasses with low tendency to crystallize: Synthesis, post-sintering bioactivity and possible application for the production of porous scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 43, 573-586.
- Beltrán, A. M., Begines, B., Alcudia, A., Rodríguez-Ortiz, J. A., and Torres, Y. (2020). Biofunctional and Tribomechanical Behavior of Porous Titanium Substrates Coated with a Bioactive Glass Bilayer (45S5–1393). *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(27), 30170-30180.
- Best, S., Porter, A., Thian, E., and Huang, J. (2008). Bioceramics: past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*, 28(7), 1319-1327.
- Boccardi, E., Liverani, L., and Boccaccini, A. R. (2019). Bioactive behavior of mesoporous silica particle (MCM-41) coated bioactive glass-based scaffolds. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 16(5), 1753-1761.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Borges, R., Mendonça-Ferreira, L., Rettori, C., Pereira, I. S., Baino, F., and Marchi, J. (2020). New sol-gel-derived magnetic bioactive glass-ceramics containing superparamagnetic hematite nanocrystals for hyperthermia application. *Materials Science and Engineering: C*, 111692.
- Bramhill, J., Ross, S., and Ross, G. (2017). Bioactive nanocomposites for tissue repair and regeneration: a review. *International journal of environmental research and public health*, 14(1), 66.
- Brinker, C., and Scherer, G. (1990). *Sol Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol Gel Processing*, Academic Press, USA, p 108.
- Brinker, C. J., and Scherer, G. W. (1985). Sol→ gel→ glass: I. Gelation and gel structure. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 70(3), 301-322.
- Brinker, C. J., and Scherer, G. W. (2013). *Sol-gel science: the physics and chemistry of sol-gel processing*: Academic press.
- Bùi, V. X. (2017). Bioactive ceramic powder prepared using a new sol-gel process. *Processing and Application of Ceramics*, 11(2), 87-92.
- Cacciotti, I., Lombardi, M., Bianco, A., Ravaglioli, A., and Montanaro, L. (2012). Sol-gel derived 45S5 bioglass: synthesis, microstructural evolution and thermal behaviour. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23(8), 1849-1866.
- Carlisle, E. M. (1970). Silicon: a possible factor in bone calcification. *Science*, 167(3916), 279-280.
- Carta, D., Pickup, D. M., Knowles, J. C., Smith, M. E., and Newport, R. J. (2005). Sol-gel synthesis of the P₂O₅-CaO-Na₂O-SiO₂ system as a novel bioresorbable glass. *Journal of Materials Chemistry*, 15(21), 2134-2140.
- Cashman, K., Baker, A., Ginty, F., Flynn, A., Strain, J., Bonham, M., Sandström, B. (2001). No effect of copper supplementation on biochemical markers of bone metabolism in healthy young adult females despite apparently improved copper status. *European journal of clinical nutrition*, 55(7), 525-531.
- Catauro, M., Bollino, F., and Gloria, A. (2016). *Sol-gel silica-based nanocomposites containing a high PEG amount: Chemical characterization and study of biological properties*. Paper presented at the AIP Conference Proceedings.
- Catauro, M., Bollino, F., and Papale, F. (2014). Biocompatibility improvement of titanium implants by coating with hybrid materials synthesized by sol-gel technique. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(12), 4473-4479.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Catauro, M., Bollino, F., Renella, R., and Papale, F. (2015). Sol–gel synthesis of SiO₂–CaO–P₂O₅ glasses: influence of the heat treatment on their bioactivity and biocompatibility. *Ceramics International*, 41(10), 12578-12588.
- Chapin, R. E., Ku, W. W., Kenney, M. A., McCoy, H., Gladen, B., Wine, R. N., Elwell, M. R. (1997). The effects of dietary boron on bone strength in rats. *Toxicological Sciences*, 35(2), 205-215.
- Chen, J., Zeng, L., Chen, X., Liao, T., and Zheng, J. (2018). Preparation and characterization of bioactive glass tablets and evaluation of bioactivity and cytotoxicity in vitro. *Bioactive materials*, 3(3), 315-321.
- Chen, Q.-Z., Li, Y., Jin, L.-Y., Quinn, J. M., and Komesaroff, P. A. (2010). A new sol–gel process for producing Na₂O-containing bioactive glass ceramics. *Acta Biomaterialia*, 6(10), 4143-4153.
- Chen, Q., Rezwani, K., Armitage, D., Nazhat, S. N., and Boccaccini, A. R. (2006). The surface functionalization of 45S5 Bioglass®-based glass-ceramic scaffolds and its impact on bioactivity. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(11), 979-987.
- Chen, Q. Z., Thompson, I. D., and Boccaccini, A. R. (2006). 45S5 Bioglass®-derived glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(11), 2414-2425.
- Chen, X., Meng, Y., Li, Y., and Zhao, N. (2008). Investigation on bio-mineralization of melt and sol–gel derived bioactive glasses. *Applied Surface Science*, 255(2), 562-564.
- Chládová, A., Wiener, J., Luthuli, J. M., and Zajícová, V. (2011). Dyeing of glass fibres by the sol gel method. *Autex Research Journal*, 11(1), 18-23.
- Cho, S., Miyaji, F., Kokubo, T., Nakanishi, K., Soga, N., and Nakamura, T. (1998). Apatite formation on silica gel in simulated body fluid: effects of structural modification with solvent-exchange. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 9(5), 279-284.
- Chun, Y. W., and Webster, T. J. (2009). The role of nanomedicine in growing tissues. *Annals of biomedical engineering*, 37(10), 2034-2047.
- Clupper, D., and Hench, L. (2003). Crystallization kinetics of tape cast bioactive glass 45S5. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 318(1-2), 43-48.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Colby, M. W., Osaka, A., and Mackenzie, J. D. (1986). Effects of temperature on formation of silica gel. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 82(1-3), 37-41.
- Cordero-Arias, L., Cabanas-Polo, S., Goudouri, O., Misra, S. K., Gilibert, J., Valsami-Jones, E., Boccaccini, A. R. (2015). Electrophoretic deposition of ZnO/alginate and ZnO-bioactive glass/alginate composite coatings for antimicrobial applications. *Materials Science and Engineering: C*, 55, 137-144.
- Costa, R. C., Souza, J. G., Cordeiro, J. M., Bertolini, M., de Avila, E. D., Landers, R., da Cruz, N. C. (2020). Synthesis of bioactive glass-based coating by plasma electrolytic oxidation: Untangling a new deposition pathway toward titanium implant surfaces. *Journal of colloid and interface science*, 579, 680-698.
- Cousins, R. J. (1998). A role of zinc in the regulation of gene expression. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57(2), 307-311.
- Daguano, J., Strecker, K., Ziemath, E., Rogero, S., Fernandes, M., and Santos, C. (2012). Effect of partial crystallization on the mechanical properties and cytotoxicity of bioactive glass from the 3CaO. P₂O₅-SiO₂-MgO system. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 14, 78-88.
- Daguano, J. K., Milesi, M. T., Rodas, A. C., Weber, A. F., Sarkis, J. E., Hortellani, M. A., and Zanotto, E. D. (2019). In vitro biocompatibility of new bioactive lithia-silica glass-ceramics. *Materials Science and Engineering: C*, 94, 117-125.
- Damen, J., and Ten Cate, J. (1992). Silica-induced precipitation of calcium phosphate in the presence of inhibitors of hydroxyapatite formation. *Journal of dental Research*, 71(3), 453-457.
- Das, I., De, G., Hupa, L., and Vallittu, P. K. (2016). Porous SiO₂ nanofiber grafted novel bioactive glass-ceramic coating: A structural scaffold for uniform apatite precipitation and oriented cell proliferation on inert implant. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 206-214.
- De Bonis, A., Curcio, M., Fosca, M., Cacciotti, I., Santagata, A., Teghil, R., and Rau, J. (2016). RBP1 bioactive glass-ceramic films obtained by pulsed laser deposition. *Materials Letters*, 175, 195-198.
- Deliormanli, A., and Yıldırım, M. (2016). Sol-gel synthesis of 13-93 bioactive glass powders containing therapeutic agents. *Journal of the Australian Ceramic Society*, 52(2), 9.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Deshmukh, K., Kovářík, T., Křenek, T., Docheva, D., Stich, T., and Pola, J. (2020). Recent advances and future perspectives of sol–gel derived porous bioactive glasses: a review. *RSC Advances*, 10(56), 33782-33835.
- Detsch, R., Rübner, M., Strissel, P. L., Mohn, D., Strasser, E., Stark, W. J., Boccaccini, A. R. (2016). Nanoscale bioactive glass activates osteoclastic differentiation of RAW 264.7 cells. *Nanomedicine*, 11(9), 1093-1105.
- Dietrich, E., Oudadesse, H., Lucas-Girot, A., and Mami, M. (2009). In vitro bioactivity of melt-derived glass 46S6 doped with magnesium. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 88(4), 1087-1096.
- Dimitriadis, K., Moschovas, D., Tulyaganov, D. U., and Agathopoulos, S. (2020). Development of novel bioactive glass-ceramics in the Na₂O/K₂O-CaO-MgO-SiO₂-P₂O₅-CaF₂ system. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 533, 119936.
- Dimitriou, R., Jones, E., McGonagle, D., and Giannoudis, P. V. (2011). Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC medicine*, 9(1), 1-10.
- Dou, Y., Cai, S., Ye, X., Xu, G., Huang, K., Wang, X., and Ren, M. (2013). 45S5 bioactive glass–ceramic coated AZ31 magnesium alloy with improved corrosion resistance. *Surface and Coatings Technology*, 228, 154-161.
- Duée, C. (2007). *Elaboration de nouvelles compositions de bioverres destinés à la chirurgie réparatrice*. Valenciennes.
- Duran, A., Serna, C., Fornes, V., and Navarro, J. F. (1986). Structural considerations about SiO₂ glasses prepared by sol-gel. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 82(1-3), 69-77.
- Dvir, T., Timko, B. P., Kohane, D. S., and Langer, R. (2011). Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nature nanotechnology*, 6(1), 13.
- Dzondo-Gadet, M., Mayap-Nzietchueng, R., Hess, K., Nabet, P., Belleville, F., and Dousset, B. (2002). Action of boron at the molecular level. *Biological trace element research*, 85(1), 23-33.
- El-Kady, A. M., and Ali, A. F. (2012). Fabrication and characterization of ZnO modified bioactive glass nanoparticles. *Ceramics International*, 38(2), 1195-1204.
- El-Kady, A. M., Ali, A. F., and Farag, M. M. (2010). Development, characterization, and in vitro bioactivity studies of sol–gel bioactive glass/poly (L-lactide) nanocomposite scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 30(1), 120-131.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- El-Kheshen, A., Khaliifa, F., Saad, E., and Elwan, R. (2008). Effect of Al₂O₃ addition on bioactivity, thermal and mechanical properties of some bioactive glasses. *Ceramics International*, 34(7), 1667-1673.
- Epinette, J.-A., and Manley, M. T. (2013). *Fifteen years of clinical experience with hydroxyapatite coatings in joint arthroplasty*: Springer.
- Erol, M., Mouriño, V., Newby, P., Chatzistavrou, X., Roether, J., Hupa, L., and Boccaccini, A. R. (2012). Copper-releasing, boron-containing bioactive glass-based scaffolds coated with alginate for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 8(2), 792-801.
- Erol, M., Özyuguran, A., and Çelebican, Ö. (2010). Synthesis, characterization, and in vitro bioactivity of sol-gel-derived Zn, Mg, and Zn-Mg Co-doped bioactive glasses. *Chemical engineering and technology*, 33(7), 1066-1074.
- Fathi, M., and Doostmohammadi, A. (2009). Bioactive glass nanopowder and bioglass coating for biocompatibility improvement of metallic implant. *Journal of materials processing technology*, 209(3), 1385-1391.
- Fathi, M., and Mohammadi, A. D. (2008). Preparation and characterization of sol-gel bioactive glass coating for improvement of biocompatibility of human body implant. *Materials Science and Engineering: A*, 474(1-2), 128-133.
- Faure, J., Drevet, R., Lemelle, A., Jaber, N. B., Tara, A., El Btaouri, H., and Benhayoune, H. (2015). A new sol-gel synthesis of 45S5 bioactive glass using an organic acid as catalyst. *Materials Science and Engineering: C*, 47, 407-412.
- Ferraris, S., Yamaguchi, S., Barbani, N., Cristallini, C., di Confiengo, G. G., Barberi, J., Spriano, S. (2020). The mechanical and chemical stability of the interfaces in bioactive materials: The substrate-bioactive surface layer and hydroxyapatite-bioactive surface layer interfaces. *Materials Science and Engineering: C*, 116, 111238.
- Filho, O. P., La Torre, G. P., and Hench, L. L. (1996). Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 30(4), 509-514.
- Finney, L., Vogt, S., Fukai, T., and Glesne, D. (2009). Copper and angiogenesis: unravelling a relationship key to cancer progression. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 36(1), 88-94.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fiume, E., Barberi, J., Verné, E., and Baino, F. (2018). Bioactive glasses: from parent 45S5 composition to scaffold-assisted tissue-healing therapies. *Journal of functional biomaterials*, 9(1), 24.
- Freeman, E. S. (1956). The kinetics of the thermal decomposition of sodium nitrate and of the reaction between sodium nitrite and oxygen. *The Journal of Physical Chemistry*, 60(11), 1487-1493.
- Fu, Q., Saiz, E., Rahaman, M. N., and Tomsia, A. P. (2011). Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives. *Materials Science and Engineering: C*, 31(7), 1245-1256.
- Fu, T., Alajmi, Z., Shen, Y., Wang, L., Yang, S., and Zhang, M. (2017). Sol-gel preparation and properties of Ag-containing bioactive glass films on titanium. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 14(6), 1117-1124.
- Galarraga-Vinueza, M., Mesquita-Guimarães, J., Magini, R., Souza, J., Fredel, M., and Boccaccini, A. (2017). Anti-biofilm properties of bioactive glasses embedding organic active compounds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 105(2), 672-679.
- Galarraga-Vinueza, M., Passoni, B., Benfatti, C., Mesquita-Guimarães, J., Henriques, B., Magini, R., Souza, J. (2017). Inhibition of multi-species oral biofilm by bromide doped bioactive glass. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 105(7), 1994-2003.
- Gallardo, J., Galliano, P., and Duran, A. (2001). Bioactive and protective sol-gel coatings on metals for orthopaedic prostheses. *Journal of sol-gel science and technology*, 21(1-2), 65-74.
- Gao, C., Deng, Y., Feng, P., Mao, Z., Li, P., Yang, B., Peng, S. (2014). Current progress in bioactive ceramic scaffolds for bone repair and regeneration. *International journal of molecular sciences*, 15(3), 4714-4732.
- Ge, F., Lin, J., Huang, X., Cheng, K., Wang, H., and Weng, W. (2015). Preparation and drug release behavior of TiO₂ nanorod films with incorporating mesoporous bioactive glass. *Thin Solid Films*, 584, 2-8.
- Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R., and Gogia, A. K. (2009). Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review. *Progress in materials science*, 54(3), 397-425.
- Gérard, C., Bordeleau, L.-J., Barralet, J., and Doillon, C. J. (2010). The stimulation of angiogenesis and collagen deposition by copper. *Biomaterials*, 31(5), 824-831.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ghosh, S., Dandapat, N., and Balla, V. (2015). Preparation and in vitro characterization of fluoroapatite based bioactive glass-ceramics for biomedical applications. *Materials Today: Proceedings*, 2(4-5), 1326-1331.
- Gil-Albarova, J., Salinas, A. J., Bueno-Lozano, A. L., Roman, J., Aldini-Nicolo, N., García-Barea, A., Vallet-Regí, M. (2005). The in vivo behaviour of a sol-gel glass and a glass-ceramic during critical diaphyseal bone defects healing. *Biomaterials*, 26(21), 4374-4382.
- Goh, Y.-F., Alshemary, A. Z., Akram, M., Kadir, M. R. A., and Hussain, R. (2013). In vitro study of nano-sized zinc doped bioactive glass. *Materials Chemistry and Physics*, 137(3), 1031-1038.
- Gomez-Vega, J., Iyoshi, M., Kim, K., Hozumi, A., Sugimura, H., and Takai, O. (2001). Spin casted mesoporous silica coatings for medical applications. *Thin Solid Films*, 398, 615-620.
- Gomez-Vega, J., Hozumi, A., Saiz, E., Tomsia, A., Sugimura, H., and Takai, O. (2001). Bioactive glass-mesoporous silica coatings on Ti6Al4V through enameling and triblock-copolymer-templated sol-gel processing. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 56(3), 382-389.
- Gorustovich, A. A., Steimetz, T., Nielsen, F. H., and Guglielmotti, M. B. (2008). A histomorphometric study of alveolar bone modelling and remodelling in mice fed a boron-deficient diet. *Archives of oral biology*, 53(7), 677-682.
- Greenspan, D. C. (1999). Bioactive glass: mechanisms of bone bonding. *Tandläkartidningen Ark*, 91(8), 1-32.
- Griffith, L. G., and Naughton, G. (2002). Tissue engineering--current challenges and expanding opportunities. *Science*, 295(5557), 1009-1014.
- Hamadouche, M., Meunier, A., Greenspan, D., Blanchat, C., Zhong, J., La Torre, G., and Sedel, L. (2001). *Bioactivity of bioactive sol-gel glasses coated alumina implants*. Paper presented at the Key Engineering Materials.
- Harb, S. V., Bassous, N. J., de Souza, T. A., Trentin, A., Pulcinelli, S. H., Santilli, C. V., Hammer, P. (2020). Hydroxyapatite and β -TCP modified PMMA-TiO₂ and PMMA-ZrO₂ coatings for bioactive corrosion protection of Ti6Al4V implants. *Materials Science and Engineering: C*, 111149.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hatcher, B. M., Seegert, C. A., and Brennan, A. B. (2003). Polyvinylpyrrolidone modified bioactive glass fibers as tissue constructs: In vitro mesenchymal stem cell response. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 66(4), 840-849.
- He, Q., Zhang, Z., Gao, Y., Shi, J., and Li, Y. (2009). Intracellular localization and cytotoxicity of spherical mesoporous silica nano-and microparticles. *Small*, 5(23), 2722-2729.
- Henao, J., Poblano-Salas, C., Monsalve, M., Corona-Castuera, J., and Barceinas-Sanchez, O. (2019). Bio-active glass coatings manufactured by thermal spray: a status report. *Journal of Materials Research and Technology*, 8(5), 4965-4984.
- Hench, L. (1994). Bioactive ceramics: Theory and clinical applications *Bioceramics* (pp. 3-14): Elsevier.
- Hench, L., Polak, J., Xynos, I., and Buttery, L. (2000). Bioactive materials to control cell cycle. *Material Research Innovations*, 3(6), 313-323.
- Hench, L. L. (1991). Bioceramics: from concept to clinic. *Journal of the american ceramic society*, 74(7), 1487-1510.
- Hench, L. L. (1993). *An introduction to bioceramics* (Vol. 1): World scientific.
- Hench, L. L. (1997). Sol-gel materials for bioceramic applications. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 2(5), 604-610.
- Hench, L. L. (2006). The story of Bioglass®. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(11), 967-978.
- Hench, L. L. (2009). Genetic design of bioactive glass. *Journal of the European Ceramic Society*, 29(7), 1257-1265.
- Hench, L. L. (2013). Chronology of bioactive glass development and clinical applications.
- Hench, L. L., Day, D. E., Höland, W., and Rheinberger, V. M. (2010). Glass and medicine. *International Journal of Applied Glass Science*, 1(1), 104-117.
- Hench, L. L., and Polak, J. M. (2002). Third-generation biomedical materials. *Science*, 295(5557), 1014-1017.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W., and Greenlee, T. (1971). Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of biomedical materials research*, 5(6), 117-141.
- Hench, L. L., and West, J. K. (1990). The sol-gel process. *Chemical reviews*, 90(1), 33-72.
- Hench, L. L., Wheeler, D. L., and Greenspan, D. C. (1998). Molecular control of bioactivity in sol-gel glasses. *Journal of sol-gel science and technology*, 13(1-3), 245-250.
- Hench, L. L., Xynos, I. D., and Polak, J. M. (2004). Bioactive glasses for in situ tissue regeneration. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 15(4), 543-562.
- Hollinger, J. O. (2011). *An introduction to biomaterials*: CRC press.
- Holloway, W., Collier, F., Herbst, R., Hodge, J., and Nicholson, G. (1996). Osteoblast-mediated effects of zinc on isolated rat osteoclasts: inhibition of bone resorption and enhancement of osteoclast number. *Bone*, 19(2), 137-142.
- Hong, Z., Liu, A., Chen, L., Chen, X., and Jing, X. (2009). Preparation of bioactive glass ceramic nanoparticles by combination of sol-gel and coprecipitation method. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 355(6), 368-372.
- Hoppe, A. (2014). Bioactive Glass Derived Scaffolds with Therapeutic Ion Releasing Capability for Bone Tissue Engineering.
- Hoppe, A., Güldal, N. S., and Boccaccini, A. R. (2011). A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*, 32(11), 2757-2774.
- Hu, G. f. (1998). Copper stimulates proliferation of human endothelial cells under culture. *Journal of cellular biochemistry*, 69(3), 326-335.
- Huang, K., Cai, S., Xu, G., Ren, M., Wang, X., Zhang, R., . . . Zhao, H. (2014). Sol-gel derived mesoporous 58S bioactive glass coatings on AZ31 magnesium alloy and in vitro degradation behavior. *Surface and Coatings Technology*, 240, 137-144.
- Huang, W., Day, D. E., Kittiratanapiboon, K., and Rahaman, M. N. (2006). Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(7), 583-596.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Huang, X., Teng, X., Chen, D., Tang, F., and He, J. (2010). The effect of the shape of mesoporous silica nanoparticles on cellular uptake and cell function. *Biomaterials*, 31(3), 438-448.
- Iler, R. K., and Iler, R. (1979). The chemistry of silica: solubility, polymerization, colloid and surface properties, and biochemistry.
- Izquierdo-Barba, I., Salinas, A., and Vallet-Regí, M. (1999). In vitro calcium phosphate layer formation on sol-gel glasses of the CaO-SiO₂ system. *Journal of biomedical materials research*, 47(2), 243-250.
- Jaiswal, S., McHale, P., and Duffy, B. (2012). Preparation and rapid analysis of antibacterial silver, copper and zinc doped sol-gel surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94, 170-176.
- Jmal, N., and Bouaziz, J. (2017). Synthesis, characterization and bioactivity of a calcium-phosphate glass-ceramics obtained by the sol-gel processing method. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 279-288.
- Jones, J. R. (2009). New trends in bioactive scaffolds: The importance of nanostructure. *Journal of the European Ceramic Society*, 29(7), 1275-1281.
- Jones, J. R. (2013). Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomaterialia*, 9(1), 4457-4486.
- Jones, J. R., Sepulveda, P., and Hench, L. L. (2001). Dose-dependent behavior of bioactive glass dissolution. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 58(6), 720-726.
- Joy-anne, N. O., Su, Y., Lu, X., Kuo, P.-H., Du, J., and Zhu, D. (2019). Bioactive glass coatings on metallic implants for biomedical applications. *Bioactive materials*, 4, 261-270.
- Jugdaohsingh, R., Tucker, K. L., Qiao, N., Cupples, L. A., Kiel, D. P., and Powell, J. J. (2004). Dietary silicon intake is positively associated with bone mineral density in men and premenopausal women of the Framingham Offspring cohort. *Journal of Bone and Mineral Research*, 19(2), 297-307.
- Julien, M., Khoshniat, S., Lacreusette, A., Gatius, M., Bozec, A., Wagner, E. F., Beck, L. (2009). Phosphate-dependent regulation of MGP in osteoblasts: Role of ERK1/2 and Fra-1. *Journal of Bone and Mineral Research*, 24(11), 1856-1868.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jun, S.-H., Lee, E.-J., Yook, S.-W., Kim, H.-E., Kim, H.-W., and Koh, Y.-H. (2010). A bioactive coating of a silica xerogel/chitosan hybrid on titanium by a room temperature sol–gel process. *Acta Biomaterialia*, 6(1), 302-307.
- Jun, S.-K., Lee, J.-H., and Lee, H.-H. (2017). The biomineralization of a bioactive glass-incorporated light-curable pulp capping material using human dental pulp stem cells. *BioMed research international*, 2017.
- Kashyap, S., Griep, K., and Nychka, J. A. (2011). Crystallization kinetics, mineralization and crack propagation in partially crystallized bioactive glass 45S5. *Materials Science and Engineering: C*, 31(4), 762-769.
- Katti, K. S. (2004). Biomaterials in total joint replacement. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 39(3), 133-142.
- Kaur, G., Kumar, V., Bains, F., Mauro, J. C., Pickrell, G., Evans, I., and Bretcanu, O. (2019). Mechanical properties of bioactive glasses, ceramics, glass-ceramics and composites: State-of-the-art review and future challenges. *Materials Science and Engineering: C*, 104, 109895.
- Kaur, G., Pickrell, G., Kimsawatde, G., Homa, D., Allbee, H., and Sriranganathan, N. (2014). Synthesis, cytotoxicity, and hydroxyapatite formation in 27-Tris-SBF for sol-gel based CaO-P₂O₅-SiO₂-B₂O₃-ZnO bioactive glasses. *Scientific Reports*, 4, 4392.
- Kim, M.-H., Bae, Y.-J., Choi, M.-K., and Chung, Y.-S. (2009). Silicon supplementation improves the bone mineral density of calcium-deficient ovariectomized rats by reducing bone resorption. *Biological trace element research*, 128(3), 239.
- Kokubo, T., Ito, S., Sakka, S., and Yamamuro, T. (1986). Formation of a high-strength bioactive glass-ceramic in the system MgO-CaO-SiO₂-P₂O₅. *Journal of materials science*, 21(2), 536-540.
- Kokubo, T., and Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907-2915.
- Kollath, V. O., Chen, Q., Mullens, S., Luyten, J., Traina, K., Boccaccini, A. R., and Cloots, R. (2016). Electrophoretic deposition of hydroxyapatite and hydroxyapatite–alginate on rapid prototyped 3D Ti6Al4V scaffolds. *Journal of materials science*, 51(5), 2338-2346.
- Kumar, A., and Murugavel, S. (2020). Influence of textural characteristics on biomineralization behavior of mesoporous SiO₂-P₂O₅-CaO bioactive glass and glass-ceramics. *Materials Chemistry and Physics*, 242, 122511.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kumar, M., Gnansounou, E., and Thakur, I. S. (2020). Synthesis of bioactive material by sol–gel process utilizing polymorphic calcium carbonate precipitate and their direct and indirect in-vitro cytotoxicity analysis. *Environmental Technology and Innovation*, 18, 100647.
- Kwun, I.-S., Cho, Y.-E., Lomeda, R.-A. R., Shin, H.-I., Choi, J.-Y., Kang, Y.-H., and Beattie, J. H. (2010). Zinc deficiency suppresses matrix mineralization and retards osteogenesis transiently with catch-up possibly through Runx 2 modulation. *Bone*, 46(3), 732-741.
- Labbaf, S., Tsigkou, O., Müller, K. H., Stevens, M. M., Porter, A. E., and Jones, J. R. (2011). Spherical bioactive glass particles and their interaction with human mesenchymal stem cells in vitro. *Biomaterials*, 32(4), 1010-1018.
- Lai, Y. L., and Yamaguchi, M. (2005). Effects of copper on bone component in the femoral tissues of rats: anabolic effect of zinc is weakened by copper. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(12), 2296-2301.
- Laurencin, C. T., Ambrosio, A., Borden, M., and Cooper Jr, J. (1999). Tissue engineering: orthopedic applications. *Annual review of biomedical engineering*, 1(1), 19-46.
- Lefebvre, L., Chevalier, J., Gremillard, L., Zenati, R., Thollet, G., Bernache-Assollant, D., and Govin, A. (2007). Structural transformations of bioactive glass 45S5 with thermal treatments. *Acta Materialia*, 55(10), 3305-3313.
- Lefebvre, L., Gremillard, L., Chevalier, J., and Bernache-Assollant, D. (2008). *Sintering Behavior of 45S5 Bioglass®*. Paper presented at the Key Engineering Materials.
- Lewinski, N., Colvin, V., and Drezek, R. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*, 4(1), 26-49.
- Li, R., Clark, A., and Hench, L. (1991). An investigation of bioactive glass powders by sol-gel processing. *Journal of Applied Biomaterials*, 2(4), 231-239.
- Li, Y., Hu, Q., Miao, G., Zhang, Q., Yuan, B., Zhu, Y., Mao, C. (2016). Size-dependent mechanism of intracellular localization and cytotoxicity of mono-disperse spherical mesoporous nano-and micron-bioactive glass particles. *Journal of biomedical nanotechnology*, 12(5), 863.
- Lin, A. Y. M., Meyers, M. A., and Vecchio, K. S. (2006). Mechanical properties and structure of *Strombus gigas*, *Tridacna gigas*, and *Haliotis rufescens* sea shells: a comparative study. *Materials Science and Engineering: C*, 26(8), 1380-1389.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lin, S., Ionescu, C., Pike, K. J., Smith, M. E., and Jones, J. R. (2009). Nanostructure evolution and calcium distribution in sol–gel derived bioactive glass. *Journal of Materials Chemistry*, 19(9), 1276-1282.
- Logeart-Avramoglou, D., Anagnostou, F., Bizios, R., and Petite, H. (2005). Engineering bone: challenges and obstacles. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9(1), 72-84.
- Lossdörfer, S., Schwartz, Z., Lohmann, C., Greenspan, D., Ranly, D., and Boyan, B. (2004). Osteoblast response to bioactive glasses in vitro correlates with inorganic phosphate content. *Biomaterials*, 25(13), 2547-2555.
- Ma, J., Wang, C., Ban, C., Chen, C., and Zhang, H. (2016). Pulsed laser deposition of magnesium-containing bioactive glass film on porous Ti–6Al–4V substrate pretreated by micro-arc oxidation. *Vacuum*, 125, 48-55.
- Ma, Z., Ji, H., Hu, X., Teng, Y., Zhao, G., Mo, L., Zhang, M. (2013). Investigation of bioactivity and cell effects of nano-porous sol–gel derived bioactive glass film. *Applied Surface Science*, 284, 738-744.
- Maeno, S., Niki, Y., Matsumoto, H., Morioka, H., Yatabe, T., Funayama, A., Tanaka, J. (2005). The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture. *Biomaterials*, 26(23), 4847-4855.
- Mahlooji, E., Atapour, M., and Labbaf, S. (2019). Electrophoretic deposition of Bioactive glass–Chitosan nanocomposite coatings on Ti-6Al-4V for orthopedic applications. *Carbohydrate polymers*, 226, 115299.
- Marcacci, M., Kon, E., Moukhachev, V., Lavroukov, A., Kutepov, S., Quarto, R., Cancedda, R. (2007). Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6-to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue engineering*, 13(5), 947-955.
- Marie, P. J. (2010). The calcium-sensing receptor in bone cells: a potential therapeutic target in osteoporosis. *Bone*, 46(3), 571-576.
- Marques, D. M., Oliveira, V. d. C., Souza, M. T., Zanotto, E. D., Issa, J. P. M., and Watanabe, E. (2020). Biomaterials for orthopedics: anti-biofilm activity of a new bioactive glass coating on titanium implants. *Biofouling*, 36(2), 234-244.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Martin, R. A., Yue, S., Hanna, J. V., Lee, P., Newport, R. J., Smith, M. E., and Jones, J. R. (2012). Characterizing the hierarchical structures of bioactive sol–gel silicate glass and hybrid scaffolds for bone regeneration. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 370(1963), 1422-1443.
- Matinmanesh, A., Li, Y., Clarkin, O., Zalzal, P., Schemitsch, E., Towler, M., and Papini, M. (2017). Quantifying the mode II critical strain energy release rate of borate bioactive glass coatings on Ti6Al4V substrates. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 75, 212-221.
- Mehdipour, M., Afshar, A., and Mohebali, M. (2012). Electrophoretic deposition of bioactive glass coating on 316L stainless steel and electrochemical behavior study. *Applied Surface Science*, 258(24), 9832-9839.
- Menci, P. F., Mari, A., Charbonneau, C., Lefebvre, L.-P., and De Nardo, L. (2019). Aging of Bioactive Glass-Based Foams: Effects on Structure, Properties, and Bioactivity. *Materials*, 12(9), 1485.
- Mesquita-Guimarães, J., Henriques, B., and Silva, F. (2018). Bioactive glass coatings *Bioactive Glasses* (pp. 103-118): Elsevier.
- Mesquita-Guimarães, J., Leite, M., Souza, J., Henriques, B., Silva, F., Hotza, D., Fredel, M. (2017). Processing and strengthening of 58S bioactive glass-infiltrated titania scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 105(2), 590-600.
- Migonney, V. (2014). History of biomaterials. *Biomaterials*, 1-10.
- Miguez-Pacheco, V., Hench, L. L., and Boccaccini, A. R. (2015). Bioactive glasses beyond bone and teeth: Emerging applications in contact with soft tissues. *Acta Biomaterialia*, 13, 1-15.
- Miola, M., Verné, E., Ciraldo, F. E., Cordero-Arias, L., and Boccaccini, A. R. (2015). Electrophoretic deposition of chitosan/45S5 bioactive glass composite coatings doped with Zn and Sr. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 3, 159.
- Moghaniyan, A., Zohourfazeli, M., and Tajer, M. H. M. (2020). The effect of zirconium content on in vitro bioactivity, biological behavior and antibacterial activity of sol-gel derived 58S bioactive glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 546, 120262.
- Mokhtari, H., Ghasemi, Z., Kharaziha, M., Karimzadeh, F., and Alihosseini, F. (2018). Chitosan-58S bioactive glass nanocomposite coatings on TiO₂ nanotube: Structural and biological properties. *Applied Surface Science*, 441, 138-149.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Montazerian, M., and Dutra Zanotto, E. (2016). History and trends of bioactive glass-ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 104(5), 1231-1249.
- Mozafari, M., Salahinejad, E., Shabafrooz, V., Yazdimamaghani, M., Vashae, D., and Tayebi, L. (2013). Multilayer bioactive glass/zirconium titanate thin films in bone tissue engineering and regenerative dentistry. *International journal of nanomedicine*, 8, 1665.
- Mubina, M. K., Shailajha, S., Sankaranarayanan, R., and Saranya, L. (2019). In vitro bioactivity, mechanical behavior and antibacterial properties of mesoporous SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅ nano bioactive glass ceramics. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 100, 103379.
- Murugan, R., Ramakrishna, S., and Rao, K. P. (2006). Nanoporous hydroxy-carbonate apatite scaffold made of natural bone. *Materials Letters*, 60(23), 2844-2847.
- Nabian, N., Jahanshahi, M., and Rabiee, S. M. (2011). Synthesis of nano-bioactive glass-ceramic powders and its in vitro bioactivity study in bovine serum albumin protein. *Journal of Molecular Structure*, 998(1-3), 37-41.
- Nakamura, T., Yamamuro, T., Higashi, S., Kokubo, T., and Itoo, S. (1985). A new glass-ceramic for bone replacement: Evaluation of its bonding to bone tissue. *Journal of biomedical materials research*, 19(6), 685-698.
- Napierska, D., Thomassen, L. C., Rabolli, V., Lison, D., Gonzalez, L., Kirsch-Volders, M., Hoet, P. H. (2009). Size-dependent cytotoxicity of monodisperse silica nanoparticles in human endothelial cells. *Small*, 5(7), 846-853.
- Neel, E. A. A., Pickup, D. M., Valappil, S. P., Newport, R. J., and Knowles, J. C. (2009). Bioactive functional materials: a perspective on phosphate-based glasses. *Journal of Materials Chemistry*, 19(6), 690-701.
- Nielsen, F. H. (2008). Is boron nutritionally relevant? *Nutrition reviews*, 66(4), 183-191.
- Nychka, J. A., Mazur, S. L., Kashyap, S., Li, D., and Yang, F. (2009). Dissolution of bioactive glasses: the effects of crystallinity coupled with stress. *Jom*, 61(9), 45-51.
- Oki, A., Parveen, B., Hossain, S., Adeniji, S., and Donahue, H. (2004). Preparation and in vitro bioactivity of zinc containing sol-gel-derived bioglass materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 69(2), 216-221.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Omar, S. A., Ballarre, J., and Ceré, S. (2016). Protection and functionalization of AISI 316 L stainless steel for orthopedic implants: hybrid coating and sol gel glasses by spray to promote bioactivity. *Electrochimica Acta*, 203, 309-315.
- Omar, S. A., Castro, Y., Ballarre, J., Schreiner, W. H., Durán, A., and Ceré, S. M. (2017). Magnesium alloys implants coated with 58S sol-gel bioactive glass to retard first stage corrosion. *Corrosion*, 73(12), 1448-1460.
- Omid-Bakhtiari, M., Nasr-Esfahani, M., and Nourmohamadi, A. (2014). TiO₂-bioactive glass nanostructure composite films produced by a sol-gel method: In vitro behavior and UV-Enhanced bioactivity. *Journal of materials engineering and performance*, 23(1), 285-293.
- Ordikhani, F., and Simchi, A. (2014). Long-term antibiotic delivery by chitosan-based composite coatings with bone regenerative potential. *Applied Surface Science*, 317, 56-66.
- Owens, G. J., Singh, R. K., Foroutan, F., Alqaysi, M., Han, C.-M., Mahapatra, C., Knowles, J. C. (2016). Sol-gel based materials for biomedical applications. *Progress in materials science*, 77, 1-79.
- Palangkaraya, A., and Yong, J. (2009). Population ageing and its implications on aggregate health care demand: empirical evidence from 22 OECD countries. *International Journal of Health Care Finance and Economics*, 9(4), 391.
- Patel, N., Best, S., Bonfield, W., Gibson, I. R., Hing, K., Damien, E., and Revell, P. (2002). A comparative study on the in vivo behavior of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13(12), 1199-1206.
- Pereira, M. d. M., Clark, A., and Hench, L. (1994). Calcium phosphate formation on sol-gel-derived bioactive glasses in vitro. *Journal of biomedical materials research*, 28(6), 693-698.
- Philippart, A. (2016). Design and development of mesoporous glassbased biomaterials for bone tissue engineering and drug release systems. *Ph.D. thesis, The Faculty of Technology, The Friedrich Alexander University Erlangen Nuremberg*.
- Pierre, A. C. (2013). *Introduction to sol-gel processing* (Vol. 1): Springer Science and Business Media.
- Pirayesh, H., and Nychka, J. A. (2013). Sol-gel synthesis of bioactive glass-ceramic 45S5 and its in vitro dissolution and mineralization behavior. *Journal of the american ceramic society*, 96(5), 1643-1650.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pishbin, F., Mourino, V., Gilchrist, J., McComb, D., Kreppel, S., Salih, V., Boccaccini, A. R. (2013). Single-step electrochemical deposition of antimicrobial orthopaedic coatings based on a bioactive glass/chitosan/nano-silver composite system. *Acta Biomaterialia*, 9(7), 7469-7479.
- Ramila, A., Balas, F., and Vallet-Regi, M. (2002). Synthesis Routes for Bioactive Sol–Gel Glasses: Alkoxides versus Nitrates. *Chemistry of materials*, 14(2), 542-548.
- Rau, J., Teghil, R., Fosca, M., De Bonis, A., Cacciotti, I., Bianco, A., Ravaglioli, A. (2012). Bioactive glass–ceramic coatings prepared by pulsed laser deposition from RKKP targets (sol–gel vs melt-processing route). *Materials Research Bulletin*, 47(5), 1130-1137.
- Reffitt, D., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H., Evans, B. A. J., Thompson, R., Hampson, G. (2003). Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone*, 32(2), 127-135.
- Rismanchian, M., Khodaeian, N., Bahramian, L., Fathi, M., and Sadeghi-Aliabadi, H. (2013). In-vitro comparison of cytotoxicity of two bioactive glasses in micropowder and nanopowder forms. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(3), 437.
- Rude, R., Gruber, H., Wei, L., Frausto, A., and Mills, B. (2003). Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse. *Calcified tissue international*, 72(1), 32-41.
- Rude, R. K., Gruber, H. E., Norton, H. J., Wei, L. Y., Frausto, A., and Kilburn, J. (2005). Dietary magnesium reduction to 25% of nutrient requirement disrupts bone and mineral metabolism in the rat. *Bone*, 37(2), 211-219.
- Saltman, P. D., and Strause, L. G. (1993). The role of trace minerals in osteoporosis. *Journal of the American College of Nutrition*, 12(4), 384-389.
- Saravanapavan, P., Jones, J. R., Pryce, R. S., and Hench, L. L. (2003). Bioactivity of gel–glass powders in the CaO–SiO₂ system: A comparison with ternary (CaO–P₂O₅–SiO₂) and quaternary glasses (SiO₂–CaO–P₂O₅–Na₂O). *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 66(1), 110-119.
- Saravanapavan, P., Jones, J. R., Verrier, S., Beilby, R., Shirtliff, V. J., Hench, L. L., and Polak, J. M. (2004). Binary CaO–SiO₂ gel-glasses for biomedical applications. *Bio-medical materials and engineering*, 14(4), 467-486.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Satyanarayana, T., Babu, M. V., Nagarjuna, G., Reddy, D. R. K., Rao, P. V., and Prasad, P. S. (2017). Structural investigations on P_2O_5 -CaO- Na_2O - K_2O : SrO bioactive glass ceramics. *Ceramics International*, 43(13), 10144-10150.
- Scholze, H. (1988). Glass-water interactions. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 102(1-3), 1-10.
- Sepulveda, P., Jones, J., and Hench, L. (2002). In vitro dissolution of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactive glasses. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 61(2), 301-311.
- Sepulveda, P., Jones, J. R., and Hench, L. L. (2001). Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 58(6), 734-740.
- Sergi, R., Bellucci, D., and Cannillo, V. (2020). A Comprehensive Review of Bioactive Glass Coatings: State of the Art, Challenges and Future Perspectives. *Coatings*, 10(8), 757.
- Shruti, S., Andreatta, F., Furlani, E., Marin, E., Maschio, S., and Fedrizzi, L. (2016). Cerium, gallium and zinc containing mesoporous bioactive glass coating deposited on titanium alloy. *Applied Surface Science*, 378, 216-223.
- Smith, B. J., King, J. B., Lucas, E. A., Akhter, M. P., Arjmandi, B. H., and Stoecker, B. J. (2002). Skeletal unloading and dietary copper depletion are detrimental to bone quality of mature rats. *The Journal of nutrition*, 132(2), 190-196.
- Sola, A., Bellucci, D., Cannillo, V., and Cattini, A. (2011). Bioactive glass coatings: a review. *Surface engineering*, 27(8), 560-572.
- Stöber, W., Fink, A., and Bohn, E. (1968). Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of colloid and interface science*, 26(1), 62-69.
- Su, Y., Cockerill, I., Zheng, Y., Tang, L., Qin, Y.-X., and Zhu, D. (2019). Biofunctionalization of metallic implants by calcium phosphate coatings. *Bioactive materials*, 4, 196-206.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Subramanian, U. M., Kumar, S. V., Nagiah, N., and Sivagnanam, U. T. (2014). Fabrication of polyvinyl alcohol-polyvinylpyrrolidone blend scaffolds via electrospinning for tissue engineering applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 63(9), 476-485.
- Tada, S., Timucin, E., Kitajima, T., Sezerman, O. U., and Ito, Y. (2014). Direct in vitro selection of titanium-binding epidermal growth factor. *Biomaterials*, 35(11), 3497-3503.
- Taherkhani, S., and Moztafzadeh, F. (2016). Influence of strontium on the structure and biological properties of sol-gel-derived mesoporous bioactive glass (MBG) powder. *Journal of sol-gel science and technology*, 78(3), 539-549.
- Tehrani, M. M., and Sobhani, M. (2017). Synthesis of Bioactive Glass Powder using Sol-Gel Method and Shaping using Plasma Spark Sintering. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14(4), 1523.
- Teng, S.-H., Wang, P., and Dong, J.-Q. (2014). Bioactive hybrid coatings of poly (ϵ -caprolactone)-silica xerogel on titanium for biomedical applications. *Materials Letters*, 129, 209-212.
- Theodorou, G., Goudouri, O., Kontonasaki, E., Chatzistavrou, X., Papadopoulou, L., Kantiranis, N., and Paraskevopoulos, K. (2011). Comparative bioactivity study of 45S5 and 58S bioglasses in organic and inorganic environment. *Bioceramics Development and Applications*, 1.
- Thompson, I., and Hench, L. (1998). Mechanical properties of bioactive glasses, glass-ceramics and composites. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 212(2), 127-136.
- Uysal, T., Ustidal, A., Sonmez, M. F., and Ozturk, F. (2009). Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits. *The Angle Orthodontist*, 79(5), 984-990.
- Valerio, P., Pereira, M., Goes, A., and Leite, M. F. (2009). Effects of extracellular calcium concentration on the glutamate release by bioactive glass (BG60S) preincubated osteoblasts. *Biomedical Materials*, 4(4), 045011.
- Valerio, P., Pereira, M. M., Goes, A. M., and Leite, M. F. (2004). The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. *Biomaterials*, 25(15), 2941-2948.
- Vallet-Regí, M. (2010). Evolution of bioceramics within the field of biomaterials. *Comptes Rendus Chimie*, 13(1-2), 174-185.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vallet-Regí, M., and Salinas, A. J. (2019). Ceramics as bone repair materials *Bone repair biomaterials* (pp. 141-178): Elsevier.
- Valliant, E. M., Romer, F., Wang, D., McPhail, D. S., Smith, M. E., Hanna, J. V., and Jones, J. R. (2013). Bioactivity in silica/poly (γ -glutamic acid) sol-gel hybrids through calcium chelation. *Acta Biomaterialia*, 9(8), 7662-7671.
- Vichery, C., and Nedelec, J.-M. (2016). Bioactive glass nanoparticles: from synthesis to materials design for biomedical applications. *Materials*, 9(4), 288.
- Vijayalakshmi, U., Balamurugan, A., and Rajeswari, S. (2005). Synthesis and characterization of porous silica gels for biomedical applications. *Trends Biomater Artif Organs*, 18(2), 101-105.
- Wang, D., and Bierwagen, G. P. (2009). Sol-gel coatings on metals for corrosion protection. *Progress in organic coatings*, 64(4), 327-338.
- Wang, X., Li, X., Onuma, K., Ito, A., Sogo, Y., Kosuge, K., and Oyane, A. (2010). Mesoporous bioactive glass coatings on stainless steel for enhanced cell activity, cytoskeletal organization and AsMg immobilization. *Journal of Materials Chemistry*, 20(31), 6437-6445.
- Wu, X., Meng, G., Wang, S., Wu, F., Huang, W., and Gu, Z. (2015). Zn and Sr incorporated 64S bioglasses: material characterization, in-vitro bioactivity and mesenchymal stem cell responses. *Materials Science and Engineering: C*, 52, 242-250.
- Xia, W., and Chang, J. (2007). Preparation and characterization of nano-bioactive-glasses (NBG) by a quick alkali-mediated sol-gel method. *Materials Letters*, 61(14-15), 3251-3253.
- Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D., Hench, L. L., and Polak, J. M. (2000). Ionic products of bioactive glass dissolution increase proliferation of human osteoblasts and induce insulin-like growth factor II mRNA expression and protein synthesis. *Biochemical and biophysical research communications*, 276(2), 461-465.
- Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D., Hench, L. L., and Polak, J. M. (2001). Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass® 45S5 dissolution. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 55(2), 151-157.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yamaguchi, M. (1998). Role of zinc in bone formation and bone resorption. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans*, 11(2-3), 119-135.
- Yamaguchi, M., Inamoto, K., and Suketa, Y. (1986). Effect of essential trace metals on bone metabolism in weanling rats: comparison with zinc and other metals' actions. *Research in experimental medicine*, 186(5), 337-342.
- Yan, X., Deng, H., Huang, X., Lu, G., Qiao, S., Zhao, D., and Yu, C. (2005). Mesoporous bioactive glasses. I. Synthesis and structural characterization. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 351(40-42), 3209-3217.
- Yan, X., Huang, X., Yu, C., Deng, H., Wang, Y., Zhang, Z., Zhao, D. (2006). The in-vitro bioactivity of mesoporous bioactive glasses. *Biomaterials*, 27(18), 3396-3403.
- Zhang, E., Zou, C., and Yu, G. (2009). Surface microstructure and cell biocompatibility of silicon-substituted hydroxyapatite coating on titanium substrate prepared by a biomimetic process. *Materials Science and Engineering: C*, 29(1), 298-305.
- Zhang, J., Huang, J., Xu, S., Wang, K., and Yu, S. (2003). Effects of Cu^{2+} and pH on osteoclastic bone resorption in vitro. *Progress in Natural Science*, 13(4), 266-270.
- Zheng, K., Lu, M., Rutkowski, B., Dai, X., Yang, Y., Taccardi, N., Boccaccini, A. R. (2016). ZnO quantum dots modified bioactive glass nanoparticles with pH-sensitive release of Zn ions, fluorescence, antibacterial and osteogenic properties. *Journal of Materials Chemistry B*, 4(48), 7936-7949.
- Zhong, J., and Greenspan, D. C. (2000). Processing and properties of sol-gel bioactive glasses. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 53(6), 694-701.
- Zhu, Y., Wu, C., Ramaswamy, Y., Kockrick, E., Simon, P., Kaskel, S., and Zreiqat, H. (2008). Preparation, characterization and in vitro bioactivity of mesoporous bioactive glasses (MBGs) scaffolds for bone tissue engineering. *Microporous and Mesoporous Materials*, 112(1-3), 494-503.
- Zreiqat, H., Howlett, C., Zannettino, A., Evans, P., Schulze-Tanzil, G., Knabe, C., and Shakibaei, M. (2002). Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 62(2), 175-184.