

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**PEEK ESASLI SPİNAL İMPLANTLARIN ANTİBAKTERİYEL
ÖZELLİKLERİNİN VE OSTEOKONDÜKTİVİTESİNİN
NANO-YAPILI KAPLAMALARLA GELİŞTİRİLMESİ**

SERAP GÜMÜŞ

KOCAELİ 2017

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

PEEK ESASLI SPİNAL İMPLANTLARIN ANTİBAKTERİYEL
ÖZELLİKLERİNİN VE OSTEOKONDÜKTİVİTESİNİN
NANO-YAPILI KAPLAMALARLA GELİŞTİRİLMESİ

SERAP GÜMÜŞ


Doç. Dr. Şeyda POLAT
Danışman, Kocaeli Üniversitesi


Prof. Dr. Ahmet ÜNAL
Jüri Üyesi, Yıldız Teknik Üniversitesi

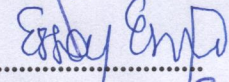
Doç. Dr. Ersoy ERİŞİR
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi

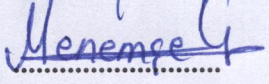
Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Jüri Üyesi, Hacettepe Üniversitesi

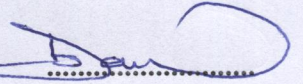
Prof. Dr. Sibel ZOR
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi


.....


.....


.....


.....


.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 29.05.2017

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Başarı, özveri, zaman ve sabır ister. Bu tez çalışmasının tamalanmasında, bu uzun yolculukta her zaman yanımda olan, çalışmayı titizlikle yöneten, her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen, akademik gelişimimde büyük payı olan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Şeyda POLAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu tez çalışması boyunca maddi ve manevi desteğinden dolayı, implant ve numune üretimini gerçekleştiren, proje yürütücümüz Dopa İlaç San. Tic. Ltd. Şti.'nin sahibi Dr. Kadir İNAL'a, kendisi ile tesadüfî tanışmam ile hayatımın dönüm noktasını oluşturan, engin bilgisi ve yönlendirmesinden faydalandığım DDr. M. Jürgen LACKNER'e minnet ve şükranlarımı sunarım.

Her altı ayda sunduğum tez izleme sunumumda her defasında beni yüreklendiren Tez İzleme Komitesi üyelerinden saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ahmet ÜNAL'a, tez kapsamındaki çalışmalarımın yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen, engin bilgilerinden faydalandığım Prof. Dr. Sibel ZOR'a ve Doç. Dr. Halime KENAR'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tezimin kapsamında, elektrokimyasal çalışmalarımda bana yardımcı olan Doç. Dr. Hatice ÖZKAZANÇ'a, ICP ölçümlerine destek veren Prof. Dr. İrfan YOLCUBAL'a, AFM çalışmalarında destek sağlayan NanoManyetik Bilimsel Cihazlar firmasına, özellikle Dr. Münir DEDE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SEM çalışmalarında büyük desteğini gördüğüm, doktora sürecini birlikte sürdürdüğümüz doktora kader dostum Yük. Müh. Attila ALKAN'a teşekkür ederim. Ayrıca yine yarın bu doktora süreci yıllarına baktığımızda birçok güleceğimiz anılarımızın olduğu, şu anda aramızda olmayan ve Ocak 2014 yılında kaybettiğimiz Kezban ONAY arkadaşımın nurlar içinde yatmasını diliyorum.

Bu tez çalışması, E!7691 referans no'lu AB 7.Çerçeve Eurostars Programı projesi kapsamındadır. Dolayısıyla finansal kaynak sağlayıcısı EUROSTARS programına, yine AB 7. Çerçeve Eurostars Programı çerçevesinde TÜBİTAK Teknoloji ve Yenilik Destek Programları Başkanlığı'na (TÜBİTAK TEYDEB 9130033 no'lu

proje) teŖekkürlerimi sunarım. Bilim insanların yetişmesine büyük önem veren Kocaeli Üniversitemiz'in Bilimsel AraŖtırmalar Proje Birimi'ne, doktora öğrencilerini destekleme programı çerçevesinde tezimde (Proje No: 2013/031) maddi destek sağladığından dolayı teŖekkür ederim.

Her zaman arkamda desteğini hissettiğim hayat arkadaşım Mümin Gümüş'e teŖekkür ederim. En önemlisi, bu tez çalışmamı, beni her zaman yüreklendiren ve gururlandıran, yaşları küçük ama yürekleri kocaman olan, hayatımın anlamları kızım BAŞAK ve oğlum YUSUFKAAN'a ithaf ediyorum. Bu vesile ile onlara bir kez daha sabır, özveri ve destekleri için sonsuz teŖekkür ediyorum.

Mayıs – 2017

Serap GÜMÜŞ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ÖZET.....	xvi
ABSTRACT	xvii
GİRİŞ	1
1. BİYOMALZEMELER.....	5
1.1. Biyomalzemenin Tanımı	6
1.2. Biyomalzeme Türleri.....	8
1.2.1 Metalik biyomalzemeler.....	8
1.2.2. Seramik biyomalzemeler.....	10
1.2.3. Polimerik biyomalzemeler	12
1.2.4. Kompozit biyomalzemeler	13
1.2.5. Biyomalzeme gruplarının karşılaştırılması.....	14
1.3. Biyoyumluluk.....	17
1.4. Biyomalzeme-Biyolojik Ortam Etkileşimi.....	20
2. SPİNAL CERRAHİSİNDE KULLANILAN BİYOMALZEMELER.....	25
2.1. Spinal Cerrahisinde Kullanılan Teknikler.....	27
2.2. Mevcut Interbody Füzyon Cihazları.....	29
2.2.1. Metal cihazlar	29
2.2.2. Kompozit cihazlar	30
2.2.3. Biyolojik cihazlar	31
2.3. Titanyum ve PEEK Esaslı Spinal İmplantların Karşılaştırılması.....	31
2.4. Spinal Cerrahide Enfeksiyon Problemleri	35
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	38
3.1. Kaplama Süreci	40
3.2. Kaplamaların Mikroyapısal ve Topografik Özelliklerinin Belirlenmesi	43
3.2.1. XRD analizi.....	43
3.2.2. SEM/EDS analizi	44
3.2.3 AFM analizi.....	44
3.3. Kaplamaların Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi	45
3.3.1. Ultra-mikro sertlik ölçümleri	46
3.3.2. Çizik testi.....	49
3.4. Kaplamaların Biyobozunma Davranışının Belirlenmesi.....	50
3.4.1. Daldırma deneyi	51
3.4.2. Elektrokimyasal deneyler	51
3.5. <i>In vitro</i> Deneyler	52
3.5.1. Antibakteriyel test	52
3.5.2. Osteokondüktivite testi.....	53
3.5.3. Sitotoksosite testi	53
3.5.4. Genotoksosite testi	55

3.6. <i>In vivo</i> Deneyler	58
3.6.1. Deri içi iritasyon testi	58
3.6.2. Cilt sensitizasyon testi	60
3.6.3. Akut sistemik toksisite testi.....	62
3.6.4. Subakut sistemik toksisite testi	65
3.6.5. İmplantasyon	67
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	70
4.1. Mikroyapısal ve Topografik Özellikler	70
4.2. Mekanik Özellikler	90
4.2.1. Ultra-mikro sertlik ölçümleri	90
4.2.2. Çizik testi.....	91
4.3. Kaplamaların Çözünme Davranışı	104
4.3.1. Daldırma deneyi	104
4.3.2. Elektrokimyasal deneyler	125
4.4. <i>In vitro</i> Biyolojik Değerlendirme	139
4.4.1. Antibakteriyel davranış	139
4.4.2. Osteokondüktivite testi.....	144
4.4.3. Sitotoksisite testi	163
4.4.4. Genotoksisite testi	164
4.5. <i>In vivo</i> Biyolojik Değerlendirmeler.....	167
4.5.1. Deri içi iritasyon testi	167
4.5.2. Cilt sensitizasyon testi	168
4.5.3. Akut sistemik toksisite testi.....	169
4.5.4. Subakut sistemik toksisite	171
4.5.5. İmplantasyon	175
5. SONUÇLAR	178
KAYNAKLAR	186
KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER	207
ÖZGEÇMİŞ	209

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	İmplantların insan vücudaki kullanım alanları.	6
Şekil 1.2.	Biyouyumluluğun şematik gösterimi.....	18
Şekil 1.3.	Biyomalzeme-doku (İmplant-kemik) etkileşimine ait zaman- boyut skalasının şematik gösterimi.....	22
Şekil 2.1.	(a) Spinal kolon, (b) intervertebral diskin şematik gösterimi.	26
Şekil 2.2.	(a) BAK kafes, (b) Ray Dişli Füzyon Kafes, (c) LT-Kafes, (d) INTER FIX Cihazı, (e) Harms Kafes, (f) PEEK kafes, (g) JAGUAR I/F Kafes, (h) BOOMERANG II Cihaz, (i) Kemik Dübelleri, (j) Femoral Halkalar.	30
Şekil 3.1.	Vakum kaplama sisteminin (a) genel görünümü, (b) iç haznesinin şematik olarak gösterimi.....	40
Şekil 3.2.	Çok katmanlı kaplamanın (a) Pt dope edilmemiş (b) Pt dope edilmiş yapısının şematik gösterimi.	41
Şekil 3.3.	Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamanın (a) Pt dope edilmemiş (b) Pt dope edilmiş yapısının şematik gösterimi.	42
Şekil 3.4.	(a) Disk numunelerin (b) implant malzemelerin kaplama haznenin içine yerleştirilme şeklinin gösterimi.	42
Şekil 3.5.	Kaplanmış implantların nihai makro görüntüleri.....	43
Şekil 3.6.	Berkovich uç ile alınan tipik bir yük-yer değişimi eğrisinin şematik gösterimi.	47
Şekil 3.7.	Boşaltma aşamasındaki temas yüzeyinin geometrisinin şematik gösterimi.	47
Şekil 3.8.	Çizik Testi platformunun bir şematik gösterimi.....	50
Şekil 3.9.	Deney hayvanında örneklerin uygulandığı bölgelerin şematik gösterimi.	59
Şekil 3.10.	Deney hayvanları üzerinde tatbik edilen uygulama planı.....	61
Şekil 3.11.	Negatif kontrolün deney hayvanları üzerinde tatbik edilen uygulama planı.....	62
Şekil 4.1.	PEEK altlık malzemesinin (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları.	70
Şekil 4.2.	Ti kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları.	70
Şekil 4.3.	Ti+Mg kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları.	71
Şekil 4.4.	Ag kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları.	71
Şekil 4.5.	Ag/Pt kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları.	71
Şekil 4.6.	Çok tabakalı (Ti+ML) kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları.	72
Şekil 4.7.	Pt dope edilmiş çok tabakalı (Ti+ML/Pt) kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları.	72

Şekil 4.8.	Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş (Ti+GL) kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difragtogramları.	72
Şekil 4.9.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş (Ti+GL/Pt) kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difragtogramları.	73
Şekil 4.10.	Ti tek tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	75
Şekil 4.11.	Ti + Mg tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	75
Şekil 4.12.	Ag tek tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	76
Şekil 4.13.	Ag/Pt tek tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	76
Şekil 4.14.	Ti + ML çok tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	77
Şekil 4.15.	Ti + ML/Pt çok tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	77
Şekil 4.16.	Ti + GL fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	78
Şekil 4.17.	Ti + GL/Pt fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi.	78
Şekil 4.18.	Ti tek tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	80
Şekil 4.19.	Ti + Mg tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	81
Şekil 4.20.	Ag tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	82
Şekil 4.21.	Ag/Pt tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	83
Şekil 4.22.	Ti + ML çok tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	84
Şekil 4.23.	Ti + ML/Pt çok tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	85
Şekil 4.24.	Ti + GL çok tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	86
Şekil 4.25.	Ti + GL/Pt çok tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram.	87

Şekil 4.26.	Çok tabakalı kaplama için çizik testi sürecinde uygulanan yük ve mesafe ile (a) sürtünme katsayısının (b) batma derinliğinin ve (c) plastik batma derinliğinin değişimi.	92
Şekil 4.27.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü.	93
Şekil 4.28.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada düşük yüklerde görülen asperit deformasyonuna ait (a-c) SEM görüntüleri ve (d-e) EDS analizi.	94
Şekil 4.29.	Çizik testi sırasında iz boyunca oluşan yüzey çatlakları; (a) açısal çatlaklar, (b) paralel çatlaklar, (c) enine yarıdairesel çatlaklar, (d) kaplamada talaş kalkması, (e) kaplamada dökülme, (f) kaplamanın tamamen kalkması.	94
Şekil 4.30.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada SEM ve EDS haritalama.	95
Şekil 4.31.	Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü.	96
Şekil 4.32.	Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada düşük yüklerde görülen asperit deformasyonuna ait (a-c) SEM görüntüleri ve (d-e) EDS analizi.	97
Şekil 4.33.	Yumuşak altlık üzerinde sert gevrek bir kaplamanın çatlaması, ucun temas alanı etrafında malzemenin yığılma gösterdiği bölgede gerçekleşmektedir. Oklar malzemenin akış yönünü göstermektedir.	97
Şekil 4.34.	Ucun ilerlemesi sırasında kaplamada meydana gelen (a) pullanma (b) buruşma ve (c) altlık malzemeye gömülme hasarlarının şematik gösterimi.	98
Şekil 4.35.	Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplama için çizik testi sürecinde uygulanan yük ve mesafe ile (a) sürtünme katsayısının (b) batma derinliğinin ve (c) plastik batma derinliğinin değişimi.	100
Şekil 4.36.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü.	101
Şekil 4.37.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada ilk çatlakların görüldüğü bölgelere ait (a-b) SEM görüntüleri.	101
Şekil 4.38.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada görülen çatlakların SEM görüntüleri; (a) artan yük ile birlikte oluşan açısal çatlaklar birleşerek (b) enine yarı dairesel çatlaklar (çekme çatlakları) oluşturmaktadır.	101
Şekil 4.39.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada nihai hasarın (a) SEM ve (b) EDS haritalaması.	102
Şekil 4.40.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü.	102
Şekil 4.41.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada (a) asperitlerin tepelerinden kopan parçacıkların abrazyon aşınmaya katkısı (b) ilk açısal çatlakların oluşumu.	103
Şekil 4.42.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada (a) oluşan açısal çatlakların birleşerek (b) enine yarı dairesel çatlakların oluşturması ve ilk hasar.	103

Şekil 4.43.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada nihai yükte oluşan mekanik alaşımlanmış bölgenin (a) farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (b-c) ve EDS analizi (d-e).	104
Şekil 4.44.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (a-b).	105
Şekil 4.45.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h).	106
Şekil 4.46.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h).	107
Şekil 4.47.	Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (a-b).	108
Şekil 4.48.	Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h).	109
Şekil 4.49.	Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h).	110
Şekil 4.50.	Çok katmanlı kaplamada Ag-Mg galvanik çiftin oluşturduğu karma potansiyelin şematik gösterimi (Evans Diagramı).	112
Şekil 4.51.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada bir saatlik daldırma testi sonrası Ag üst tabakasının kalkması (a) ikincil elektron (Secondary electron, SE) (b) Geri saçılmış elektron (Backscattered electron, BSE) ile alınmış elektron mikroskobu görüntüleri (c) seçilen alanda elementel haritalama (SEM/EDS).	113
Şekil 4.52.	Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada bir saatlik daldırma testi sonrası Ag üst tabakasının çatlamasının farklı büyütme oranlarında SE ile görüntülenmesi (a-b).	114
Şekil 4.53.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamaların SBF içerisinde Ti, Mg, ve Ag miktarının daldırma süresi ile değişimi.	115
Şekil 4.54.	Ag-Pt galvanik eşlemede anot-katot yüzey alanlarının etkisi.	116
Şekil 4.55.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (a-b).	117
Şekil 4.56.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h).	118
Şekil 4.57.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h).	119
Şekil 4.58.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (a-b).	120
Şekil 4.59.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h).	121

Şekil 4.60.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h).	122
Şekil 4.61.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde Ti, Mg, ve Ag miktarının daldırma süresi ile değişimi.	124
Şekil 4.62.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok katmanlı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde Mg, ve Ag miktarının daldırma süresi ile değişiminin karşılaştırması.	125
Şekil 4.63.	Aktif-pasif geçiş gösteren bir metalin polarizasyon eğrisi.	126
Şekil 4.64.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamaların SBF içerisinde alınan Tafel eğrileri.	127
Şekil 4.65.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde alınan Tafel eğrileri.	127
Şekil 4.66.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok katmanlı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde alınan Tafel eğrilerinin karşılaştırılması.	128
Şekil 4.67.	Aktif-pasif geçiş gösteren bir metalin korozyon akımı ve potansiyeline farklı katodik reaksiyonların etkisi.	129
Şekil 4.68.	Fe-Cr alaşımının %10 H ₂ SO ₄ içindeki anodik polarizasyonuna krom miktarının etkisi.	130
Şekil 4.69.	Ti-Pd alaşımında Pd'nin (at.-% 2) pasivasyona etkisinin elektrokimyasal temeli.	131
Şekil 4.70.	Pt dope edilmesinin Ag'un pasivasyonu geliştirmesinin elektrokimyasal esasın şematik gösterimi.	132
Şekil 4.71.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş tek tabakalı Ag kaplamaların SBF içerisinde alınan polarizasyon eğrileri.	132
Şekil 4.72.	Pt dope edilmiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamalara ait Nyquist eğrileri.	134
Şekil 4.73.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Nyquist eğrileri.	135
Şekil 4.74.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamalara ait Bode eğrileri.	135
Şekil 4.75.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Bode eğrileri.	136
Şekil 4.76.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamalara ait Bode eğrileri.	136
Şekil 4.77.	Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Bode eğrileri.	137
Şekil 4.78.	EIS verileri ile atanan basit eşdeğer devre.	138
Şekil 4.79.	EIS verileri ile atanan ve yüzey hatalarını kapsayan karmaşık eşdeğer devre.	139
Şekil 4.80.	Kaplamaların yüzeyinden yıkanan (a) <i>S. aureus</i> ve (b) <i>E.coli</i> bakteri koloni sayımlarının gerçekleştirildiği petri görüntüleri.	141
Şekil 4.81.	24 saatte çözünen Ag ile canlı organizma sayısı (10 ⁴ kob/cm ²) arasındaki ilişki.	142
Şekil 4.82.	24 saatte çözünen Ag ile canlı organizma sayısı (10 ⁵ kob/cm ²) arasındaki ilişki.	143

Şekil 4.83.	Filopodia'nın radyal büyüme aşaması.	145
Şekil 4.84.	(a) Hücrenin sitoplazma ağının gelişiminin son aşaması (x4700) (b), sitoplazma içinde filopodia ağının oluşumu (x8900).	146
Şekil 4.85.	Tamamen yapışmış ve yayılmış hücrelerin (a) x1700, (b) x4400 büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri.	146
Şekil 4.86.	Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, b) Ti+ML, (c, d) Ti+ML/Pt, (e, f) Ti+GL, (g, h) Ti+GL/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri.	147
Şekil 4.87.	Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, c) Ti+ML ve (b, d) Ti+ML/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri. Kırmızı ok ile hücre bölünmesi gösterilmiştir.	149
Şekil 4.88.	Hücre ekiminden 72 saat sonra (a) Ti+ML'de üst tabakanın kabarması ve kalkması sonucu hücrelerin iki farklı bölgede toplanması gözlenirken (b) hücreler Ti+ML/Pt'nin yüzeyinde homojen bir şekilde yayılmıştır.	150
Şekil 4.89.	Hücre ekiminden 72 saat sonra (a ve b)Ti+ML'de en üst Ag tabakasının kalkmasının farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri.	150
Şekil 4.90.	Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, c) Ti+GL ve (b, d) Ti+GL/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin daha yüksek büyütmelerde alınan SEM görüntüleri.	151
Şekil 4.91.	Filopodia'nın hücre göçü sırasındaki işlevi.	152
Şekil 4.92.	Hücre ekiminden 72 saat sonra (a) Ti+ML ve (b) Ti+GL kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri.	153
Şekil 4.93.	Hücre ekiminden 72 saat sonra Ti+GL kaplamasının yüzeyinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri.	154
Şekil 4.94.	Hücre ekiminden 72 saat sonra Ti+GL/Pt kaplamasının yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri. Kırmızı ok ile kolajen yapı gösterilmiştir.	155
Şekil 4.95.	Hücre ekiminden 72 saat sonra Ti+GL/Pt kaplamasının yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri.	156
Şekil 4.96.	Bir integrin hücre-yüzey matris reseptörünün alt-birimi yapısı.	158
Şekil 4.97.	Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, c, e, g) Ti disk ve (b, d, f, h) Ti+ML/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri.	160
Şekil 4.98.	Örneklerden hazırlanan ekstraktlar ile yapılan canlılık analizleri.	164

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1	Biyomalzemelerin kullanımı.....	7
Tablo 1.2.	Biyomalzemelerin organların yerine kullanımı.....	7
Tablo 1.3.	Biyomalzemelerin vücut sistemlerinde kullanımı.....	7
Tablo 1.4.	Biyomalzeme amaçlı kullanılan malzemeler.....	8
Tablo 1.5.	Sert dokuların mekanik özellikleri.....	16
Tablo 1.6.	Yumuşak dokuların mekanik özellikleri.....	16
Tablo 1.7.	Metalik ve seramik biyomalzemelerin mekanik özellikleri.....	16
Tablo 1.8.	Polimerik biyomalzemelerin mekanik özellikleri.....	16
Tablo 3.1.	Deneyisel çalışmada kullanılan kaplamaların kodlanması ve yapıları.....	41
Tablo 3.2.	Sitotoksosite testi için değerlendirme kriterleri ve puanlama.....	54
Tablo 3.3.	<i>S.typhimurium</i> suşlarının genotip bilgileri.....	56
Tablo 3.4.	<i>S.typhimurium</i> kültürlerinin hücre sayısı.....	56
Tablo 3.5.	Fenotip doğrulama plate'inde beklenen gözlemler.....	57
Tablo 3.6	Pozitif kontroller.....	57
Tablo 3.7.	Değerlendirme kriterleri ve puanlama.....	60
Tablo 3.8.	Değerlendirme kriterleri ve puanlama.....	62
Tablo 3.9.	Gözlem ve değerlendirme kriterleri.....	64
Tablo 3.10.	Gözlem ve değerlendirme kriterleri.....	66
Tablo 3.11.	Hücre tipi/ cevaplar bakımından histolojik değerlendirmeler ve puanlama.....	69
Tablo 4.1.	XRD analizinden elde edilen değerler.....	74
Tablo 4.2.	XRD ve AFM analizlerinden elde edilen değerler.....	89
Tablo 4.3.	Ultra-mikro sertlik indentasyon test sonuçları.....	90
Tablo 4.4.	Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları.....	105
Tablo 4.5.	Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları.....	108
Tablo 4.6.	Elementlerin deniz suyu içindeki elektrot potansiyelleri.....	111
Tablo 4.7.	Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları.....	117
Tablo 4.8.	Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları.....	120
Tablo 4.9.	Elektrokimyasal deney sonuçları.....	128
Tablo 4.10	Bode eğrisinden elde edilen veriler.....	137
Tablo 4.11.	Basit eşdeğer devreden elde edilen veriler.....	138
Tablo 4.12.	Karmaşık eşdeğer devreden elde edilen veriler.....	139
Tablo 4.13.	Örneklerin ISO 22196'ya göre <i>S. aureus</i> ve <i>E.coli</i> bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite sonuçları (10^4 kob/cm ²).....	141
Tablo 4.14	Örneklerin ISO 22196'ya göre <i>S. aureus</i> ve <i>E.coli</i> bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite sonuçları (10^5 kob/cm ²).....	143
Tablo 4.15.	<i>In vitro</i> hücre tutunmasının gelişimi ve evreleri.....	144

Tablo 4.16.	Örneklere su temas açısı ölçümleri.....	162
Tablo 4.17.	Kontrol ve kaplama numunelerinin sitotoksosite derece sonuçları	163
Tablo 4.18.	<i>S.typhimurium</i> suşlarına ait spontan geri mutant koloni sayıları	165
Tablo 4.19.	TA1535 suşu'na ait sonuçlar	165
Tablo 4.20.	TA97a suşu'na ait sonuçlar	165
Tablo 4.21.	TA98 suşu'na ait sonuçlar	166
Tablo 4.22.	TA100 suşu'na ait sonuçlar	166
Tablo 4.23.	TA102 suşu'na ait sonuçlar	166
Tablo 4.24.	Değerlendirme kriterleri ve puanlama	168
Tablo 4.25.	Genel ortalama skor değerleri.....	168
Tablo 4.26.	Kaplama numunesi için ortalama skor değerleri	168
Tablo 4.27.	Doz uygulaması yapılan deney hayvanlarına ait ağırlık takip sonuçları (ET; erkek test, EK ; erkek kontrol, DT; dişitest, DK; dişi kontrol).....	170
Tablo 4.28.	Test süresince erkek deney ve kontrol grubu farelerde gözlenen ağırlık değişimleri.	172
Tablo 4.29.	Test ve kontrol grubu farelere ait kan değerleri (K = Kontrol, T= Test, D = Dişi, E = Erkek).	173
Tablo 4.30.	Test ve kontrol grubu farelere ait biyokimya değerleri	174
Tablo 4.31.	Skorlama Sistemi	176

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Temas alanı
A_a	: Anot yüzey alanı, (cm^2)
A_k	: Katot yüzey alanı, (cm^2)
At:	: İşlem görmüş örnekte 24. saatteki logaritmik canlı mikroorganizma sayısı, kob/ cm^2
B	: Maksimum pikin yarı yüksekliğindeki genişliği, (rad)
β	: Düzeltme faktörü
C_{dl}	: Çift tabaka kapasitansı, (F)
D	: Kristalit boyutu, (nm)
E	: Elastik modül
ϵ	: Batıcı ucun geometrisine bağlı bir sabit
$E_{\text{çift}}$: Karma potansiyeli, (mV)
E_{etkin}	: Etkin elastik modül, (GPa)
E_{kor}	: Korozyon potansiyeli, (mV)
E_{pp}	: Birincil pasiflik potansiyeli, (mV)
E_t	: Pasiflik bozulma (transpasivasyon) potansiyeli, (mV)
E_{tp}	: Tam pasifleşme potansiyeli, (mV)
F(d)	: Batıcı ucun kesit alanını veren “alan fonksiyonu”
h	: Zaman, (saat)
h	: Toplam batma derinliği
H	: Sertlik, (GPa)
h_c	: Temas derinliği
h_f	: Boşaltma sonrası nihai derinlik
h_{maks}	: Maksimum yükteki derinlik
h_s	: Batma derinliği
i_a	: Anodik akım yoğunluğu, ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
i_k	: Katodik akım yoğunluğu, ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
i_{kor}	: Korozyon akım yoğunluğu, ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
i_o	: Denge tepkimesi akım yoğunluğu, ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
i_p	: Kritik akım yoğunluğu, ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
i_{tp}	: Pasiflik akım yoğunluğu, ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
I	: Akım, (Amper)
L_{c1}	: Kritik yük 1, (N)
L_{c2}	: Kritik yük 2, (N)
λ	: X-ışını dalgaboyu, (nm)
N	: Canlı mikroorganizma sayısı, kob/ cm^2
v	: Poisson oranı
P	: Uygulanan yük
P_{maks}	: Maksimum yük
pH	: Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması
R	: Antibakteriyel aktivite (logaritmik azalma)
R_{Ω}	: Elektrolit direnci, (ohm)
R_p	: Polarizasyon direnci, (ohm)

R_t	: Yük transfer direnci, (ohm)
S	: Rijitlik
S_a	: Ortalama pürüzlülük, (nm)
S_{ku}	: Pürüzlülük basıklığı
S_q	: Ortalama karekök pürüzlülüğü, (nm)
S_{sk}	: Pürüzlülük çarpıklığı
t	: Batma derinliği, (nm)
θ	: Difraksiyon açısı, ($^\circ$)
t_p	: Pasivasyon süresi, (s)
T_s	: Altlık malzemenin sıcaklığı, (K)
T_m	: Hedefin ergime sıcaklığı, (K)
Ut	: İşlem görmemiş örnekte 24. saatteki logaritmik canlı mikroorganizma sayısı, kob/cm ²
Z'	: Gerçek empedans, (ohm)
Z''	: Sanal empedans, (ohm)

Kısaltmalar

3D	: Three Dimensional (Üç boyutlu)
AC	: Alternating Current (Alternatif Akım)
AFM	: Atomic Force Microscope (Atomik Kuvvet Mikroskobu)
ALS	: Anode Layer Ion Source (Anot İyon Kaynağı)
ALT	: Alanin Transaminaz
AR-GE	: Araştırma ve Geliştirme
AST	: Aspartat Transaminaz
BAK	: Bagby ve Kuslich Kafesi
BMP	: Bone Morphogenetic Protein (Kemik Morfojenik Protein)
BSE	: Backscattered Electron (Gerisatılmış Elektron)
CFR-PEEK	: Carbon-Fiber-Reinforced Polyether Ether Ketone (Karbon Fiber Takviyeli Polieter Eter Keton)
CNC	: Computer Numerical Control (Bilgisayarlı Sayısal Denetim)
CT	: Computed Tomography (Bilgisayarlı Tomografi)
ECM	: Extracellular Matrix (Hücre Dışı Matriks)
EDS	: Energy Dispersive Spectrometer (Enerji Dağılım Spektrometresi)
EIS	: Electrochemical Impedance Spectroscopy (Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi)
EPS	: Extracellular Polymeric Material (Hücre Dışı Polimerik Malzeme)
ETO	: Ethylene Oxide (Etilen Oksit)
FCA	: Freund's Complete Adjuvant (Freud'un Tamamlama Adjuvanı)
FDA	: United States Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FWHM	: Full Width at Half Maximum (Maksimum Pikin Yarı Yüksekliğindeki Genişliği)
GMP	: Good Manufacturing Practices (İyi Üretim Uygulamaları)
HA	: Hidroksiapatit
HGB	: Hemoglobin
HCT	: Hematokrit
hsp	: Hekzagonal Sıkı Paket
HU	: Universal Hardness (Üniversal Sertlik)

ICDD	: The International Centre for Diffraction Data (Uluslararası Difraksiyon Veri Merkezi)
ICP-MS	: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)
IVD	: Intervertebral Disc (İntervertebral Disk)
MR	: Magnetic Resonance (Manyetik Rezonans)
MRSA	: Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus Aureus</i> (Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus Aureus</i>)
MCHC	: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (Ortalama Hemoglobin Yoğunluğu)
PA	: Polyamide (Poliamid)
PAEK	: Polyaryletherketone (Poliariletil Keton)
PBS	: Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuz)
PDMS	: Polydimethylsiloxane (Polidimetilsiloksan)
PE	: Polyethylene (Polietilen)
PEEK	: Polyether Ether Ketone (Polieter Eter Keton)
PEKEKK	: Polyetherketoneetherketoneketone (Polieterketoneterketonketon)
PET	: Polyethylene Terephthalate (Polietilen Tereftalat)
PGA	: Polyglutamic Acid (Poliglikolik Asit)
PLA	: Polylactic Acid (Polilaktik Asit)
PLT	: Platelet (Kan pulcuğu)
PMA	: Premarket Approval (Ön pazar onayı)
PMMA	: Polymethyl Methacrylate (Polimetil Metakrilat)
PP	: Polypropylene (Polipropilen)
PS	: Polysulfone (Polisülfon)
PTFE	: Polytetrafluoroethylene (Politetrafloroetilen)
PU	: Polyurethane (Poliüretan)
PVC	: Polyvinyl Chloride (Polivinil Klorür)
RCB	: Red Blood Cell (Kırmızı kan hücresi)
RGD	: Arginineglycine Aspartic Acid (Arginin Glisin Aspartik Asit)
rhBMP-2	: Recombinant human Bone Morphogenetic Protein-2 (İnsan Kemik Morfogenetik Proteini-2)
rpm	: Rotation Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
SBF	: Simulated Body Fluid (Simule Edilmiş Vücut Sıvısı)
SCE	: Saturated Calomel Electrode (Doymuş Kalomel Elektrot)
SE	: Secondary Electron (İkincil Elektron)
SEM	: Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
SR	: Silicone Rubber (Silikon Kauçuk)
SZM	: Structure Zone Model (Yapı Bölgesi Modeli)
TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta (Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta)
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotel Büyüme Faktörü)
WBC	: White Blood Cell (Beyaz Kan Hücresi)
XRD	: X-Ray Diffraction (X-Işımı Difraksiyonu)
ymk	: Yüzey Merkezli Kübik

PEEK ESASLI SPİNAL İMPLANTLARIN ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN VE OSTEOKONDÜKTİVİTESİNİN NANO-YAPILI KAPLAMALARLA GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Spinal rahatsızlıklar, dünyada birçok insanı etkileyen önemli tıbbi bir problem olup çeşitli cerrahi müdahaleler uygulanmaktadır. Kronik bel ağrısının en büyük nedenlerden birinin dejeneratif disk hastalığı olduğu bildirilmiştir. İntervertebral disk, omurga için şok emici olarak görev yapmaktadır. Dolayısıyla dejenere olmuş disk omurganın işlevini kısıtlayacaktır.

Disk hernisi sonrası omurlar arasındaki deforme olmuş diskler yerine yerleştirilen intervertebral disk implantları genelde titanyum ve PEEK esastır. Ancak metaller kemiğe göre daha yüksek elastik modüle sahip olduklarından implantın çevresinde gerilme yığılmasına neden olurlar. Ayrıca metallerin radyopak davranışları CT ve MR ile görüntülemeye artifaklara yol açmaktadır. PEEK-kafeslerin elastik modülü kortikal kemiğe daha yakın bir değerde olup yük paylaşımı ve gerilme dağılımı açısından daha çok avantaj sağlamaktadır. Ayrıca, X-ışınlarını geçirebilmesi nedeniyle çevresinde bulunan dokuların görüntülenmesini sağlar. Ancak, iyi özelliklerinin yanı sıra, oldukça düşük osteokondüktivitesi nedeniyle PEEK implantların kemik dokularına adezyonu oldukça yavaştır.

Bunun yanında, kemik ve implant arasındaki bağın çok kuvvetli ve hızlı oluşması, implant tarafından bakteriyel enfeksiyonun bastırılması cerrahi açıdan önemlidir. Bu enfeksiyonlar genelde uzun süreli antibiyotik tedavisi, tekrarlanan cerrahi müdahale, implantın çıkarılması, uzun süreli hastane yatışı gerektirmekte ve maliyet açısından büyük bir yük getirmektedir.

Bu çalışmada, yukarıda belirtilen sorunlara çözüm olarak daha güvenli spinal cerrahisi için biyoinert olan PEEK esaslı intervertebral füzyon kafes implantlarına antibakteriyel ve osteokondüktif davranış sağlamak amacıyla yüzeyinde vakum kaplama yöntemiyle biyofonksiyonel, kimyasal olarak derecelendirilmiş kademeli nano yapılı Ti-Mg-Ag/Pt esaslı kaplama üretilmiştir. Kaplamalar çeşitli karakterizasyon metotlarıyla kimyasal, yapısal, mekanik ve biyouyumluluk açısından test edilmiştir. Tez kapsamında yapılan çalışmalar doğrultusunda PEEK esaslı implantlara antibakteriyel ve osteokondüktif özellikler başarılı bir şekilde Ti-Mg-Ag/Pt esaslı kaplamalarla kazandırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel, Biyomalzeme, Nanokaplama, Osteokondüktivite, PEEK.

IMPROVEMENT OF THE ANTIBACTERIAL PROPERTIES AND OSTEOCONDUCTIVITY OF PEEK BASED SPINAL IMPLANTS BY NANO-STRUCTURED COATINGS

ABSTRACT

Spinal diseases affect many people in the world and are treated by surgical interventions. One of the main causes of chronic back pain is degenerative disk disease. The intervertebral disc serves as a shock absorber for the spine. Therefore, a degenerated disc will restrict the function of spinal column.

Intervertebral disc implants used for replacing intervertebral discs after disc herniation are generally based on titanium and PEEK materials. However, the high elastic modulus of metals compared to bone leads to stress shielding. Furthermore, radiopaque behavior of metals causes artifacts in CT and MR imaging. Since elastic modulus of the PEEK-cages is similar to that of cortical bone, they provide more advantages in terms of load sharing. Additionally, PEEK is X-ray translucent enabling the medical imaging of surrounding tissue. Despite its good mechanical properties, the adhesion of PEEK implants to bone tissue proceeds slowly because of their relatively low osteoconductivity.

In addition to high and quickly establishing bonding between bone and implant, suppressing bacterial infection at the implant site is a surgical request. Generally, such infections require long-term antibiotic therapy, revision surgery, implant removal, long-term hospitalization and bring burden.

In this study, in order to overcome these problems, biofunctional, chemically graded, nanostructured Ti-Mg-Ag/Pt based coating on PEEK based intervertebral disc implants were produced by vacuum coating method. The coatings were tested for chemical, structural, mechanical and biocompatibility by characterization methods. In the scope of this thesis, antibacterial and osteoconductive properties on PEEK based implants were successfully achieved with Ti-Mg-Ag/Pt based coatings.

Key Words: Antibacterial, Biomaterial, Nanocoating, Osteoconductive, PEEK.

GİRİŞ

Gelişmiş ve sanayileşmiş ülkelerde sıkça görülen kronik sırt ağrıları çalışmama, rehabilitasyon ve erken emekliliğe neden olup ciddi ekonomik problemlere yol açmaktadır. Bu sırt ağrılarının %80-90'ı 8 haftaya kadar iyileşirken, %20-50 arasındakiler tekrarlayabilmekte ve %5'i kadarı ise kronik hale gelebilmektedir. İstatiksel sonuçlar, bu tür sağlık sorunlarının getirdiği yüksek maliyetleri açıkça göstermektedir [1- 4].

Sırt ağrıları genelde dejeneratif değişikliklerin bir sonucudur. Bunlar, çoğunlukla (>%60), omurganın hareket segmentleri olan ve maruz kaldıkları yükleri sönmleyen elastik intervertebral diskleri etkilemektedir [5]. Fizyolojik yaşlanma sürecinde, intervertebral diskler su kaybederek elastisite kaybına, disk aralığında daralmalara neden olmakta ve diskojenik instabilite (discogenic instability) ile sonuçlanmaktadır [6]. Nihai olarak bunlar, osteokondroz (osteocondrosis) ve düzensiz kemik çıkıntılarının oluşumlarına, spondiloza (spondylosis), yol açmaktadır. Azalan "segmental stabilite" ile, dorsal ventriküler yönde artmış translasyon ve bunlara eşlik eden patolojik hareketler gibi mekanik anormallikler oluşmaktadır [7,8].

Bu tür radyolojik veya semptomatik instabilitelerde klinik müdahale ancak ilgili semptomlar oluştuğunda yapılmaktadır. Tedavide ilk olarak fizik tedavi ile kasların güçlendirilmesi, antienflamatuar ilaçlar, epidural enjeksiyonlar ve kas gevşeticiler ile ağrıları azaltmak gibi geleneksel yöntemlere başvurulur. Bu tür tedavi yöntemleri, intervertebral diskin deformasyonu sonucu oluşan disk çıkıntısı ve buna bağlı akut bel ağrılarının (lumbago) eşlik ettiği 1. evrede ve bu ağrılarının kronikleştiği 2. evredeki vakalarda uygulanmaktadır. Ancak 3. evrede artan kasılmalar, omur (vertebra) kayması (spondilolistezis, spondylolisthesis) ve omurilikteki daralmalar (spinal canal stenoses) [6] ile bunlara eşlik eden inatçı ağrılar cerrahi müdahalenin gerekliliğini göstermektedir.

Spinal füzyon (spinal fusion) yöntemi, çeşitli cerrahi süreçlerin gelişimi ile son zamanlarda kayda değer ilerlemeler gösteren bir cerrahi müdahaledir. Bu cerrahi müdahale ile amaç, orijinal intervertebral disk yüksekliğini, konveksivitesini (lordozu) yeniden kazandırmak ve fizyolojik yük dağılımını sağlayarak mekanik deformasyonu düzeltmektir [9]. Füzyon teknikleri anterior, posterior ve transforaminal yaklaşım ile gerçekleştirilmektedir [10].

En yüksek füzyon oranına sahip (altın standart) ve olası yabancı cisim reaksiyonları olmayan cerrahi teknik, pelvik kanaldaki otolog kemik materyali kullanılarak uygulanan yöntemdir. Ancak, uzun süren cerrahi müdahale süreci (operasyon), kanama, yara iyileşme bozuklukları, sinirlerin hasar görmesi ve osteomyelit (osteomyelitis) vakaların oluşması gibi yan etkileri nedeniyle hasta üzerine büyük bir stres oluşturduğundan artık tercih edilmemektedir. Allojenik kemik malzemeleri (greftleri), oldukça düşük füzyon oranları, yüksek yabancı cisim ve enflamatuar reaksiyonlar riski gösterdiğinden bunlara alternatif implant kafesler geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, titanyumun biyoyumlu olması ve kararlılığı nedeniyle kafes malzemesi için uygun olduğunu göstermiştir. Ancak sahip olduğu ve kortikal kemiğe göre 10 kat yüksek olan 105 GPa değerindeki elastik modülü, düzgün olmayan yük dağılımı nedeniyle (stress shielding) kafesin hasar görmesine neden olmaktadır.

Yarıkristalin, termoplastik bir polimer olan Polieter Eter Keton (PEEK), sahip olduğu kimyasal ve radyasyon direnci, yüksek mekanik mukavemeti, biyoyumluluğu nedeniyle “kafes” malzemesi olarak giderek büyük önem kazanmakta ve metalik malzemelere alternatif olarak kullanılmaktadır. 2000-2010 yıllarındaki istatistiksel verilere göre özellikle spinal cerrahide %65 oranında titanyumun yerini PEEK almıştır [11, 12]. PEEK’in elastik modülü (3-4 GPa) kortikal kemiğe yakın olduğundan “gerilme kalkanı etkisi” düşüktür [13]. Bununla birlikte, PEEK’in en büyük dezavantajı biyoinert davranış sergilemesi (düşük osteokondüktivite), diğer bir deyişle kemik hücrelerin (osteoblast) PEEK’e adezyonu ve büyümeleri titanyuma göre oldukça yavaş olmasıdır [14]. Bu da, hasta için daha uzun stabilizasyon fazı ve rehabilitasyon süresi anlamına gelmektedir.

Osteokondüktivite yüzey özelliklerine bağlıdır (yüzey pürüzlülüğü, ıslanabilirlik, kimyasal özellikleri gibi) ve bu nedenle son zamanlarda osteokondüktivitesini

artırmak amacıyla PEEK implantların yüzey modifikasyonu için birçok çalışma yapılmaktadır [15-17]. Yüzeyin, plazma biriktirme [18-21] , plazma sprey biriktirme [22-25] ve *in vitro* çöktürme [26, 27] gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal metodlarla, biyoaktif bir malzeme ile kaplanması PEEK implantların yüzey modifikasyonuna olanak sağlamaktadır.

PEEK, titanyumun yanı sıra, daha yüksek biyoaktiviteye sahip hidroksiapatit (HA), kalsiyum fosfat, biyocam gibi biyoseramikler ile kaplanmış, bilimsel ve teknolojik olarak incelenmiştir. Bu seramik malzemelerin en büyük dezavantajı düşük sünekliğe (ductility) sahip olmalarıdır. Mikron boyutunda süneklik ve bölgesel (lokal) plastik deformasyon, implant yüzeyinde kaplamanın delaminasyonu şeklinde gerçekleşen kemik-implant bağı azalmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, PEEK gibi polimerler, yüzeylerinde biriktirilmiş seramik kaplamaların adhezyon problemleri ile karşı karşıyadırlar.

Kemik ve implant arasındaki bağı çok kuvvetli ve hızlı oluşması, implant tarafından bakteriyel enfeksiyonun bastırılması cerrahi açıdan oldukça büyük bir taleptir [28]. *Staphylococcus aureus*, epidermidis, *Escherichia coli*, *Propionibacterium acnes* ve *Pseudomonas* nedenli bakteriyel enfeksiyon riski (~%2-5) nörolojik hasara, iyileşme süresinde ve maliyette yüksek artışlara neden olabilmektedir. Bu, morbidite, mortalite, hastanede kalma süresinde artış [5,6] ve ek maliyetler ile hastalara ve hastanelere büyük yük getirmektedir [7]. Spinal ve intervertebral disk implantlarında enfeksiyon, felç ile sonuçlanan sinir hasarına yol açabilmekte ve hasta için ciddi risk taşımaktadır [29]. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) ve epidermidis gibi nosocomial çoklu dirençli bakterinin biyofilm oluşturması asıl problemdir. Oluşan biyofilm, farmasötik antibiyotik ilacın infiltrasyonunu engellemektedir. Bu durumlarda, osseointegrasyon bakteriyel endotoksinler tarafından durdurulduğundan implantın değişimi için hızlı bir revizyon ameliyatı yapılması gerekmektedir. Son on yılda bakteriyel enfeksiyonu engellemeye yönelik çeşitli girişimler geliştirilmiştir [30-51].

Sonuç olarak, nosocomial enfeksiyon risklerini azaltmak amacıyla çoklu dirençli bakterilere karşı anti-bakteriyel özellik kazandırılmış implantlar için stratejiler gelecekte zorunlu olacaktır.

Sunulan bu tezin amacı, yarı-saydam PEEK implantlara geliştirilmiş osseointegrasyon özellikler ve anti-bakteriyel davranış ve kazandırmaktır.

Tezde, PEEK esaslı spinal disk implantlar üzerine vakum kaplama ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş nano yapıli kaplamalar geliştirilmiştir. Bu amaçla, hiçbir şekilde biyobozunma göstermeyen kararlı Ti, yüksek biyoresorpsiyon ve osteokondüktivite gösteren, kemik oluşumunu teşvik eden Mg ve antibakteriyel etkisinden dolayı Ag, Ag'ün çözünürlüğünü artırmak için Pt kullanılmıştır.

Tez kapsamında yapılan olan çalışmalar sonucu spinal disk implant amaçlı (spinal kafes) kullanılacak PEEK esaslı malzemeye aşağıda belirtilen yenilikçi özellikler kazandırılmıştır:

- PEEK'in yüzeyinde tıbbi gereklilik amaçlı oluşturulan topografıyı değiştirmeden, kaplamanın PEEK'e yüksek mukavemette yapışması
- Titanyuma (Grade 2) benzer osteokondüktivite
- Staphylococcus aureus and E. Coli'ye karşı antibakteriyel etki
- Cerrahi müdahale sırasında çizilmeye karşı mekanik direnç (çizilme direnci)

Bu doğrultuda, PEEK esaslı implantlar, yüzey topografisinden ve şeklinden beklenen özellikleri karşılayacak şekilde, yüksek sıcaklıkta enjeksiyon kalıplama ile üretilmiştir. Bu yöntemin seçilmesinin amacı geleneksel CNC mekanik işleme göre daha ekonomik, çevre dostu oluşudur. İmplantta osteokondüktif, antibakteriyel davranış kazandırmak amacıyla yüzeyinde Magnetron sputterlama kaplama yöntemi ile Ti-Mg-Ag/Pt esaslı nano yapıli kaplamalar üretilmiştir. Bu üretilen kaplamalar kimyasal, yapısal, mekanik ve biyouyumluluk açısından test edilmiştir.

1. BİYOMALZEMELER

Biyomalzemeler, canlı organizmanın tamamlayıcı bir parçası olup insan vücudundaki canlı dokuların yerine destek veya yenileme amacıyla kullanılan doğal veya yapay kökenli malzemelerdir. Biomalzemelerin kullanımı antikçağ uygarlıklarına dayanmaktadır. Yapay gözler, kulaklar, dişler ve burunlar Mısır mumyalarında görülmüştür. Çinli ve Hintliler, vücuttaki kusurlu veya eksik parçaların yerine balmumu, zambak ve dokular kullanmışlardır. Biyomalzemeler, doğal veya yapay olabilmektedir. Biyomalzemeler, metal, seramik, polimer veya bunların çeşitli bileşimlerinden oluşan kompozit bazlı malzemelerdir. Genelde doku onarımında, kalp kapakçığı ve implantlar gibi medikal alanlarda kullanılmaktadırlar. Biyomalzemelerin birçok avantajları yanında dezavantajları da bulunduğundan, her malzeme nihai kullanımda istenilen özelliklere uygun seçilmektedir.

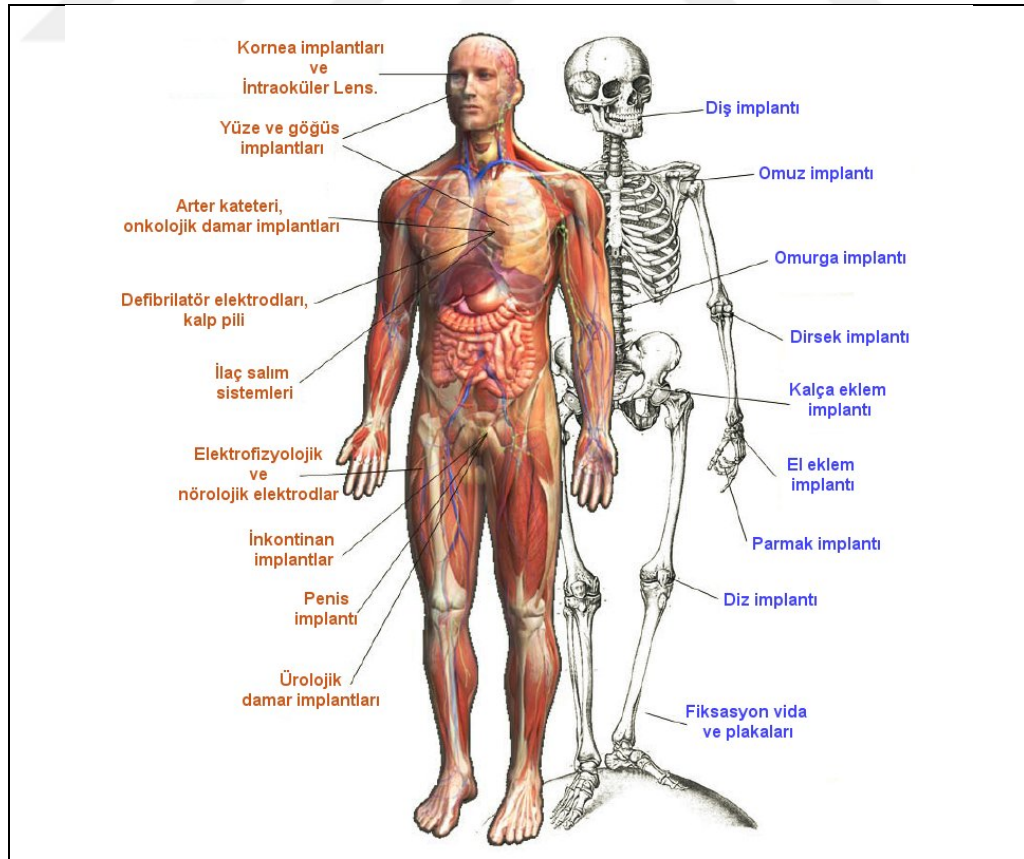
Biyomalzemelerin kullanımı, Dr. J. Lister'in 1860'lı yıllarda aseptik cerrahi tekniğini buluşuna kadar uygulamalı hale gelmemiştir. Daha önceki cerrahi müdahaleler, biyomalzeme içersin veya içermesin, genelde enfeksiyondan dolayı başarısız olarak gerçekleşmekteydi. Biyomalzemelerin varlığında enfeksiyon sorunları şiddetlenebilir, çünkü implant bir vücudun bağışıklığından sorumlu hücrelerin erişemeyeceği bölgeler oluşturabilir. İlk başarılı implantlar iskelet sisteminde uygulanmıştır. 1900'lu yıllarının başlarında kemik plakaları uzun kemik kırıklarının fiksasyonunda (sabitlenmesinde) kullanılmıştır. Bu plakaların birçoğu, mekanik tasarım hatasından dolayı kırılmıştır.

Biyolojik ortam ile temas eden medikal cihazlar, metal, polimer, seramik ve doğal malzemeler gibi birçok farklı malzemelerden üretilmektedir. Buna rağmen şu anda mevcut olan biyomalzemeler optimum performans sağlamamaktadır. Klinik uygulamalarda, implantın uygun olmayan yüzeyi nedeniyle iltihabi reaksiyonlar oluşmaktadır. Daha sonra kemik implantın (yapay kalça kemiği, diş implantı vb.) etrafında kemiğin yerine mekanik olmayan kararlı bağ dokusu oluşmakta veya stent etrafında pıhtılaşma gerçekleşmektedir. Daha az hasar veya rahatsızlık veren yüzeyler, implant olmadığı durumlarda olduğu gibi kemik iyileşme sürecine ve kan

akışına neden olabilmektedir. Biyomalzeme araştırmalarda en büyük amaç farklı teknikler ile bu tür yüzeylerin üretimidir.

1.1. Biyomalzemenin Tanımı

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da yapay malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler. Birçok cihaz ve malzemeler hastalık veya yara tedavisinde kullanılmaktadır. Cerrahi dikiş iplikleri, diş dolguları, iğneler, kateterler, kemik plakaları en bilinen örneklerdir. Biyomalzeme, canlı doku ile yakın temasta bulunan, canlı bir sistemin parçası yerine kullanılan veya fonksiyonlarını destekleyen yapay bir malzeme şeklinde tanımlanır. Biyomalzemelerin nihai hedefi doğal canlı dokuların ve organların işlevlerini yerine getirerek insan sağlığını geliştirmek olduğundan malzeme özellikleri, işlevi ve yapısını anlamak gerekir. Bunun için biyomalzemler konusundaki çalışmalarda biyolojik ortam, implant malzeme ve bu ikisi arasındaki etkileşim göz önünde tutulmalıdır.



Şekil 1.1. İmplantların insan vücudundaki kullanım alanları [52]

Şekil 1.1’de verilen insan vücudu incelendiğinde implantların vücuttaki kullanım alanlarının oldukça geniş olduğu görülmektedir [52].

Malzemenin vücut içindeki başarısı birçok yolla sınıflandırılabilir. Öncelikle, biyomalzeme çözülmesi gereken problemler alan açısından dikkate alınmalıdır (Tablo 1.1). İkincisi, vücut doku, organ (Tablo 1.2) veya sistem seviyesinde (Tablo 1.3) değerlendirilmelidir. Üçüncüsü, Tablo 1.4’de de görüldüğü gibi malzemeler açısından polimer, metal, seramik ve kompozit olarak sınıflandırılabilir [53].

Tablo 1.1 Biyomalzemelerin kullanımı [53]

Sorunlu Bölge	Örnekler
Hasta veya hasar görmüş parçanın yerini alması	Yapay kalça eklemi, böbrek diyaliz cihazı
İyileşme sürecinde destek amaçlı	Cerahi iplikler, kemik plakaları ve vidaları
Fonksiyon geliştirme amaçlı	Kalp pili, intraoküler lens
Normal olmayan fonksiyonların düzeltilmesi	Kalp pili
Kozmetik sorunların düzeltilmesi	Meme plastiği, çene
Teşhiste yardımcı	Prob ve kateterler
Tedavide yardımcı	Kateterler, dren

Tablo 1.2. Biyomalzemelerin organların yerine kullanımı [53]

Organ	Örnekler
Kalp	Kalp pili, yapay kalp valfi, yapay kalp
Akciğer	Oksijen üreten cihaz
Göz	Kontakt lens
Kulak	Yapay stape, cochlea implantı
Kemik	Kemik plakası, intrameduler çubuk
Böbrek	Böbrek diyaliz cihazı
İdrar kesesi	Katater ve stent

Tablo 1.3. Biyomalzemelerin vücut sistemlerinde kullanımı [53]

Sistem	Örnekler
İskelet	Kemik plakası, eklem protezleri
Kas	Cerahi iplikler, kas stimulator
Dolaşım	Yapay kalp valfi, damar
Solunum	Oksijen üreten cihaz
Deri	İplikler, yanık giydirmesi, yapay deri
Boşaltım	Kateter, stent, böbrek diyaliz cihazı
Sinir	Dren, kalp pili, sinir stimulatorü
İç salgı bezleri, endokrin	Mikroenkapsüllü pankreatik islet hücreleri
Üreme	Meme ve diğer kozmetik amaçlı değişimler

Bu bağlamda, biyomalzemelerin rolü, malzeme ile vücut arasındaki etkileşim tarafından, yani vücut ortamının malzeme üzerine ve malzemenin vücut üzerine etkisi üzerinden kontrol edilmektedir.

Tablo 1.4. Biyomalzeme amaçlı kullanılan malzemeler [53]

Malzeme türü	Avantajları	Dezavantajları	Kullanım Yeri
Polimer (nylon, silikon, polyester, politetrafloroetilen vb.)	Rezilyansı yüksek, Kolay üretilebilir	Kuvvetli değil Zamanla deforme olmakta Bozunabilir	Cerrahi dikiş iplikleri, kan damarı, diğer yumuşak dokular, kulak, burun, kalça kemiği socketi
Metal (Ti ve alaşımları, CoCr alaşımları, Au, Ag, paslanmaz çelik vb.)	Kuvvetli, sağlam, Tok	Korozyona uğrayabilir Yoğun Üretilmesi zor	Eklem protezleri, dental kök implantları, pil ve dikiş telleri, kemik plaka ve vidalar
Seramik (alümina zirkonya, hidroksiapatit□ içeren kalsiyum fosfat, karbon)	Yüksek biyouyumluluk	Gevrek Rezilyansı düşük Çekme dayanımı düşük	Dental ve ortopedik implantlar
Kompozit (karbon-karbon, tel veya fiber takviyeli kemik çimentosu)	Kuvvetli, uygulamaya özel üretilebilir	Üretilmesi zor	Kemik çimentosu, Dental reçine

1.2. Biyomalzeme Türleri

Biyomedikal uygulamalarda kullanılan çeşitli malzemeler, metaller, seramikler, polimerler ve bunların farklı bileşimlerinden oluşan kompozitler olarak gruplandırılmıştır. Klinik deneyimler, şu anda ticari olan (günümüzde kullanılan mühendislik malzemeleri) malzemelerin hepsinin biyomedikal uygulamalar için uygun olmadığını göstermiştir [54].

1.2.1 Metalik biyomalzemeler

Kristal yapıları ve sahip oldukları güçlü metalik bağlar nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan metal ve metal alaşımlarının biyomalzeme alanındaki payı büyüktür. Bir yandan ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak kullanılırken, diğer yandan yüz ve çene cerrahisinde, örneğin diş implantı gibi, ya da kalp-damar cerrahisinde yapay kalp parçaları, kateter, vana, kalp

kapakçığı olarak da kullanılmaktadırlar. Metallerin biyomalzeme pazarındaki en büyük payını ise teşhis ve tedavi amaçlı aygıtların metalik aksamaları oluşturmaktadır.

Paslanmaz çelikler (medikal grade) günümüzde en yaygın kullanılan implant alaşımıdır. Bunun nedeni, üretimlerinin kolay olması ile birlikte mekanik ve korozyon davranışlarının istenen doğrultuda olmasıdır. Metalik implant malzemeleri arasında paslanmaz çeliklerin yanında kobalt-krom alaşımları ve titanyum alaşımları da sayılabilir [55]. Cerrahi implantlar açısından paslanmaz çeliklerin mekanik özellikleri ve düşük maliyetleri gibi özellikleri ön plana çıkmaktadır. Klor iyonları içeren ve bu nedenle oldukça korozif bir ortam olan vücut sıvısında gerekli direnci gösterebilirler. Ortopedik implantlar açısından ise mekanik gerilmeler ve aşınma da önemlidir. Korozyon ve aşınma ile birlikte oluşan metal parçacıkları ve toksik iyonlar implantın vücut tarafından kabul edilmemesine neden olabilmektedir [56].

316L paslanmaz çeliği cerrahi implantlarda en yaygın kullanılan biyomalzeme olmasına rağmen, oyuklaşma (pitting) korozyonu açısından kobalt ya da titanyum alaşımlarına göre korozyona karşı daha hassastır. Vücut sıvısı gibi klor içeren ortamlarda paslanmaz çeliklerin yüzeyinde korozyonla çukurcuklar oluşur. Bu çukurcuklar oluşurken Fe^{2+} , Cr^{3+} , Ni^{2+} ve Mo^{3+} gibi iyonlar üretilir [57]. Paslanmaz çeliklerden yapılan implantlarda oluşan hasarların yaklaşık olarak % 90'ı oyuklaşma (pitting) ve yarık (crevice) korozyonundan kaynaklanmaktadır [58].

Titanyum ve alaşımları da biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Paslanmaz çeliklere göre daha yüksek biyouyumluluk gösterirler. Ticari saflıkta Ti, $\alpha+\beta$ titanyum alaşımları ve β titanyum alaşımları olmak üzere biyomedikal alanda kullanılan 3 tip grup bulunur. İlk olarak saf Ti ve Ti-6Al-4V alaşımı kullanılmıştır. Vanadyumun uzun vadede toksik sorunlar yaratması nedeniyle $\alpha+\beta$ titanyum alaşımları denenmiştir. Daha sonra 1990'larda β titanyum alaşımlarında özellikle kalça implantlarında gerekli olan yüksek yorulma mukavemeti ve düşük elastik modül gibi özelliklerin $\alpha+\beta$ titanyum alaşımlarına göre daha üstün olduğu fark edilmiştir. Bu amaçla Nb, Mo, Ta ve Zr gibi β fazı oluşturu elementlerle alaşımlar geliştirilmiştir. Denemeler sırasında stabilize hassas döküm β alaşımlarının deforme edilmiş ve tavllanmış β alaşımlarına benzer özelliklerde kolay bir şekilde üretilebildiği görülmüştür [59].

Kobalt-krom alaşımları ise özellikle aşınma dayanımları ile öne çıkarlar. Bunun yanında, yorulma mukavemetleri ve biyouyumlulukları oldukça yüksektir. Bu alaşımlar Cr_2O_3 tabakası oluşumu üzerinden yüksek korozyon dayanımı ve biyouyumluluk gösterirler. En çok kullanılan Co-Cr alaşımları ASTM F75, F799 ve F562'dir. Bunlardan F75 (hassas döküm) ve F799 (dövme) kobalt-krom-molibdenyum alaşımı iken, F562 kobalt-krom-nikel-molibdenyum alaşımı olarak tanımlanmaktadır [60, 61].

Bir metalik implant insan vücudu içinde saldırgan elektrolitik ortama yerleştirildiğinde malzemenin elektrokimyasal olarak kademeli bozunması söz konusudur. Bu malzemeler su, sodyum, klor, protein, plazma, amino asit içeren vücut sıvısı ve kan gibi birçok korozif ortamlar ile yüz yüze gelmektedir. İnsan vücudundaki sulu ortam, düşük molekül ağırlıklı Na^+ , K^+ , Ca^+ , Mg^+ vb. kation ve klorür, fosfat, bikarbonat yanında yüksek molekül ağırlıklı polimerik bileşikler ve çözülmüş oksijen içermektedir. Biyolojik moleküller, anodik ve katodik reaksiyon ürünlerini tüketerek implant malzemesinin korozyon reaksiyon dengesini bozarlar. Proteinler ise metal iyonlarına bağlanarak iyonları uzaklaştırır ve yüzeydeki dengeyi bozarlar. Ayrıca yüzeyde absorblanan proteinler belirli bölgelerde oksijen difüzyonunu engelliyerek bu bölgelerde tercihli korozyona neden olurlar. Katodik reaksiyon sonucu oluşan hidrojen korozyon inhibitörü olarak etki etse de, ortamda bakterinin varlığı bu davranışı değiştirmektedir ve implant çevresindeki hidrojeni absorblayarak korozyonu artırmaktadır. Korozyonu etkileyen bir diğer faktör ise pH'daki değişimdir. İnsan vücudunun pH değeri genelde 7'dir. Kazalar, yaralanmalar, hastalıklardan kaynaklanan biyolojik sistemdeki dengesizlikler, enfeksiyon ve diğer faktörler pH değerinin 3 ile 9 arasında değişmesine neden olmaktadır. Cerrahi operasyon sonucu implant malzemesinin yakınlarında pH 5.3 ile 5.6 değerleri arasına düşmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda, korozyon direncini artırmak amacıyla yüzeyinde oksit tabaka oluşturulan malzemeler kullanıldığında, ortamda çözülmüş metal iyonlarına rastlanmıştır [62].

1.2.2. Seramik biyomalzemeler

Milyonlarca yıl öncesinde ateşin keşfiyle, kilin seramik çanak çömleğe dönüştürülmesi, insan topluluklarının göçebe avcılıktan yerleşik tarımsal yaşama geçişinde en büyük faktör olmuştur. Seramiklerin insan yaşamında yarattığı bir diğer

büyük devrimse, geçtiğimiz 40 yılda vücudun zarar gören veya işlevini yitiren parçalarının tamiri, yeniden yapılandırılması ya da yerini alması için özel tasarımı seramiklerin geliştirilmesi ve kullanımıyla gerçekleşmiştir. Bu amaçla kullanılan seramikler, “biyoseramikler” olarak adlandırılmaktadır. Biyoseramikler, polikristalin seramik (alümina ve hidroksiapatit), biyoaktif cam, biyoaktif cam seramik veya biyoaktif kompozit (polietilen–hidroksiapatit) şeklinde hazırlanabilmektedir. İnorganik malzemelerin önemli bir grubunu oluşturan bu malzemeler, sağlık sektöründe çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Örneğin, gözlük camları, teşhis cihazları, termometreler, doku kültür kapları, endoskopide kullanılan fiber optikler, bunlar arasında sayılabilir. Çözünmez gözenekli camlar, enzim, antikor ve antijen taşıyıcı olarak da kullanılmaktadır. Mikroorganizmalara, sıcaklığa, çözücülere, pH değişimlerine ve yüksek basınçlara olan dirençleri bu uygulamalar açısından büyük avantaj sağlamaktadır [63].

Seramikler, dişçilikte dolgu malzemesi, altın-porselen kaplama ve protez parçaları olarak yaygın bir biçimde kullanılmakta ve “diş seramikleri” olarak adlandırılmaktadır.

Biyoseramikler, diş tedavisi dışında da sert doku implantı olarak kullanılmaktadırlar. Biyoseramikler, “biyo inert” ve “biyoaktif” olmak üzere iki grupta incelenebilir. Biyoaktif seramik, doku ve implant arasında kimyasal bağ oluşumuna izin veren seramiktir. Yapısal işlevlerine göre seramiklerin üç türünden söz edilebilir:

Oksit Seramikleri:

Bunlar inert yapıda olan ve oksijen iyonlarının oluşturduğu düzlemde metal iyonlarının dağılmasıyla oluşan polikristalin seramiklerdir. İki önemli türü alümina (Al_2O_3) ve zirkonyadır (ZrO_2).

Kalsiyum-fosfat seramikleri:

Bunlar kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılardır. Hidroksiapatit, $Ca_5(PO_4)_3OH$, trikalsiyum fosfat, $Ca_3(PO_4)_2$ (emilebilir) ve oktakalsiyum fosfat $Ca_8(PO_4)_3.2OH$ bu yapılara örnek verilebilir.

Kalsiyum fosfat bazlı biyoseramikler tıpta ve dişçilikte 20 yıldan beri kullanılmaktadır. Bu malzemeler, ortopedik kaplamalar ve diş implantlarında, yüz kemiklerinde, kulak kemiklerinde, kalça ve diz protezlerinde “kemik tozu” olarak kullanılmaktadırlar. Tüm kalsiyum fosfat seramikleri değişen hızlarda biyolojik olarak bozunurlar.

Cam ve cam-seramikler:

Silika (SiO_2) temelli seramiklerdir. Cam seramikler lityum/alüminyum veya magnezyum/alüminyum kristalleri içeren camlardır. Biyocamda ise silika gruplarının bazıları kalsiyum, fosfor veya sodyum ile yer değiştirmiştir (SiO_2 , Na_2O , CaO , P_2O_5). Böylece doku ve implant arasında kimyasal bağlanma gerçekleşir.

1.2.3. Polimerik biyomalzemeler

Polimer, küçük, tekrarlanabilir birimlerin oluşturduğu uzun-zincirli moleküllere denir. Tekrarlanan birimler, “mer” olarak adlandırılır. Senteze başlarken kullanılan küçük molekül ağırlıklı birimlere ise “monomer” adı verilir. Polimerizasyon sırasında, monomerler doygun hale gelerek (zincir polimerizasyonu) veya küçük moleküllerin yapıdan ayrılmasıyla (H_2O veya HCl) değişir ve “mer” halinde zincire katılırlar. Polimerlerin özellikleri, yapı taşları olan monomerlerden büyük farklılık gösterir. Bu nedenle, uygulama alanına yönelik olarak uygun biyomalzeme seçimi, biyotıp mühendisi tarafından dikkatlice yapılmalıdır. Nişasta, selüloz, doğal kauçuk ve DNA (genetik materyal), doğal polimerler grubuna girer. Günümüzde çok sayıda sentetik polimer de bulunur [63].

Poliyeten (PE), poliüretan (PU), politetrafloroetilen (PTFE), poliamid (PA), polimetil metakrilat (PMMA), poliyeten tereftalat (PET), silikon kauçuk (SR), polisülfon (PS), polieter eterketon (PEEK), poli(laktikasit) (PLA) ve poli (glikolik asit) (PGA) gibi çok sayıdaki polimer çeşitli biyomedikal alanlarda kullanılmaktadır [54].

Tıbbi uygulamalarda yüksek-yoğunluklu poliyeten (PE) kullanılır, çünkü, alçak yoğunluklu PE sterilizasyon sıcaklığına dayanamaz. PE, tüp formundaki uygulamalarda ve kateterlerde, çok yüksek molekül ağırlıklı olanı ise yapay kalça protezlerinde kullanılır. Malzeme yağlara dirençlidir ve ucuzdur. Polipropilen (PP),

PE'e benzer, ancak daha serttir. Kimyasal direnci yüksek ve çekme dayanımı yeterlidir. PE'nin yer aldığı uygulamalarda PP de kullanılabilir. Politetrafloroetilen (PTFE), Teflon ticari adıyla bilinir. PE benzeri yapıda olup, PE'deki hidrojenlerin, flor atomlarıyla yer değiştirmesi sonucu sentezlenir. PTFE, hem ısısal, hem de kimyasal açıdan çok kararlı ancak, işlenmesi zor bir polimerdir. Çok hidrofobik (sudan çekinir) ve mükemmel kayganlığa sahip olma özelliği taşır. Gore Tex olarak bilinen hidrofobik formu, damar protezlerinde kullanılır. Polivinilklorür (PVC), tıbbi uygulamalarda tüp formunda kullanılır. Bu uygulamalar, kan nakli, diyaliz (kanın makineyle süzülmesi) ve beslenme amaçlı olabilir. PVC, sert ve kırılabilir bir malzeme olmasına karşın, plastikleştirici ilavesiyle yumuşak ve esnek hale getirilebilir. PVC, uzun süreli uygulamalarda, plastikleştiricinin yapıdan uzaklaşması nedeniyle problemlere yol açar. Plastikleştiriciler düşük zehirliliğe sahiptir. Yapıdan uzaklaşması ile, PVC'nin esnekliği azalır. Polidimetilsiloksan (PDMS) yaygın olarak kullanılan bir diğer polimer olup, karbon ana zinciri yerine silisyum-oksijen ana zincirine sahiptir. Özelliği ise, diğer kauçuklara nazaran sıcaklığa daha az bağımlı olmasıdır. PDMS, drenaj tüplerinde ve kateterlerde, bazı damar protezlerinde ve yüksek oksijen geçirgenliği nedeniyle membran oksijenatörlerinde (solunum cihazları) kullanılır. Mükemmel esneklik ve kararlılığından dolayı ise parmak eklemleri, kan damarları, kalp kapakçıkları, göğüs implantları, dış kulak, çene ve burun implantları gibi çok sayıda protezde kullanılır. Bisfenol A ve fosgenin polimerizasyonu sonucu sert bir malzeme olan polikarbonat sentezlenir. Yüksek darbe dayanımı nedeniyle gözlük camlarında ve emniyet camlarında, oksijenatörler ve kalp-akciğer makinelerinde kullanılır. Naylon (nylon), Du Pont tarafından poliamid ailesine verilen isimdir. Naylonlar, diaminlerin, dibazik asitlerle reaksiyonu sonucu oluşurlar, ya da laktomların halka açılması polimerizasyonu ile hazırlanırlar. Naylonlar ameliyat ipliği olarak kullanılır. Poliüretanlar, "yumuşak" ve "sert" segmentlerden oluşan blok kopolimerlerdir. Kanla uyusabilirlikleri çok iyi olduğundan, özellikle kalp-damar uygulamalarında tercih edilirler.

1.2.4. Kompozit biyomalzemeler

"Kompozit", farklı kimyasal yapıdaki iki ya da daha fazla sayıda malzemenin, sınırlarını ve özelliklerini koruyarak oluşturduğu çok fazlı malzeme olarak tanımlanabilir [54, 63]. Dolayısıyla kompozit malzeme, kendisini oluşturan

bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere sahiptir. Kompozit malzeme, “matriks” olarak adlandırılan bir malzeme içerisine çeşitli güçlendirici malzemelerin katılmasıyla hazırlanır. Matriks olarak çeşitli polimerler, güçlendirici olarak ise çoğunlukla cam, karbon ya da polimer lifer, bazen de mika ve çeşitli toz seramikler kullanılır. Polimer kompozitler mekanik özellikleri açısından ortopedik uygulamalar için öngörülmektedirler. Ayrıca, kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek, implantın vücuttaki kullanım alanlarına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması kolaylaştırılabilir. Kompozit malzemeler, homojen malzemelere oranla, yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlıdır. Polimer kompozitlerin sağlayabileceği diğer üstünlükler, korozyona direnç, metal yorulmasının ve metal iyonlarının salımının görülmemesi ve kırılmanın düşük olmasıdır. Metal iyon salımı, örneğin nikel ve krom, implantı zayıflatmanın yanısıra alerjik reaksiyonlara da neden olur. Kompozitler, ortopedi ve diş hekimliği uygulamaları dışında, yumuşak doku implantı olarak da kullanılırlar. Polimer kompozitler manyetik özellik taşımadıklarından, manyetik rezonans (MR) ve tomografi (CT) gibi modern tanı sistemleriyle de uyumludurlar. Metal alaşımları ve seramikler radyo-opak olduklarından x-ışınları radyografisinde problem yaratırlar. Oysa ki kompozit malzemelerde radyo-şeffaflık ayarlanabilir. Hafif oluşları ve üstün mekanik özellikleri göz önüne alındığında, kompozitler bu tür görüntüleme cihazlarının yapısal bileşenleri olarak son derece uygundur.

1.2.5. Biyomalzeme gruplarının karşılaştırılması

Metaller, yüksek mukavemet, tokluk ve aşınma direnci ile tanınmaktadır. Metallerin dezavantajları düşük biyoyumluluk, korozyon, dokulara göre çok yüksek rijitlik, yüksek yoğunluk ve alerjik doku reaksiyonlarına neden olabilecek metal iyon salınımlarıdır. Seramikler iyi biyoyumlulukları, korozyon direnci ve yüksek basma dirençleri ile tanınmaktadır. Gevreklik, düşük kırılma direnci, üretim zorluğu, düşük mekanik dayanıklılık, düşük elastikiyet ve yüksek yoğunluk seramiklerin dezavantajlarıdır. Çeşitli uygulamalarda çok sayıda polimer kullanılmaktadır. Bunun en büyük nedeni bileşim, özellikler ve hal (katı, fiber, kumaş, film ve jel) açısından çeşitliliğe sahip olmaları ve kompleks şekil ve yapılarda üretilebilmeleridir. Buna rağmen çok elastik ve zayıf olma eğilimlerinden dolayı belirli uygulamalarda, örneğin ortopedik implantlarda, istenen mekanik gereksinimleri

karşılayamamaktadırlar. Ayrıca uygulama ve kullanıma bağlı olarak sıvı absorbe ederek şişmekte, ortama istenmeyen ürünler (monomerler, dolgu maddeleri, plastikleştiriciler, antioksidantlar) salmaktadırlar. Diğer yandan sterilizasyon işlemleri (otoklav, etilen oksit ve ⁶⁰Co ışınlama) polimerin özelliklerini etkileyebilmektedir [54].

Genelde dokular sert ve yumuşak olarak gruplandırılır. Kemik ve diş sert doku, deri, damar, kıkırdak (kartilaj) ve ligamentler yumuşak doku için örneklerdir. Adından da anlaşıldığı gibi sert dokular yumuşak dokulara göre genelde daha sert (elastik modülü yüksek) ve kuvvetlidir (çekme mukavemeti yüksek) (Tablo 1.5 ve 1.6). Doku ile yapısal ve mekanik uyumluluk açısından dikkate alındığında, metal ve seramikler sert doku uygulamaları için seçilmektedir (Tablo 1.5 ve 1.7). Polimerler yumuşak dokular için seçilmektedir (Tablo 1.6 ve 1.8). Tablo 1.5 ve 1.7'den görüldüğü gibi metal ve seramiklerin elastik modülü sert dokularinkine göre 10-20 kat daha yüksektir. Kemik ile metalik veya seramik implantların rijitliği (stiffness) arasındaki bu uyumsuzluk ortopedik uygulamalarda en büyük problemlerden biridir. Kemik ve implant arasındaki gerilme paylaşımında herbirinin taşıdığı gerilme miktarı direkt rijitlikleri ile ilgilidir. Bu nedenle, kemik implant malzemeye göre yeterli derecede yüklenmemektedir. Bu olay “gerilme kalkanı” (stress shielding) veya gerilme koruması (stress protection) olarak adlandırılmaktadır. Birçok araştırmacı, gerilme koruma derecesinin rijitlik uyumsuzluğu ile orantılı olduğunu göstermiştir. Gerilme kalkanı, kemik gözeneginin artmasına (kemik atrofi, bone atrophy) yol açarak, kemiğin yeniden şekillenme ve iyileşme sürecini etkilemektedir. İmplant ve ilgili dokunun rijitlik uyumu, gerilme kalkan etkisini sınırlamakta ve dokunun istenen şekil değiştirmesini sağlamaktadır.

Tablo 1.4'de, implantasyon uygulamalarında kullanılan sentetik dört malzeme grubunun avantajı, dezavantaj ve uygulama alanları verilmiştir [53, 64].

Tablo 1.5. Sert dokuların mekanik özellikleri [54]

Sert doku	E modül, GPa	Çekme Mukavemeti, MPa
Kortikal kemik (boyuna)	17,7	133
Kortikal kemik (enine)	12,8	52
Süngerimsi kemik	0,4	7,4
Diş minesini	84,3	10
Dentin	11,0	39,3

Tablo 1.6. Yumuşak dokuların mekanik özellikleri [54]

Yumuşak doku	E modül, MPa	Çekme Mukavemeti, MPa
Eklem kıkırdağı	10,5	27,5
Fibro kıkırdak	159,1	10,4
Ligament	303,0	29,5
Tendon	401,5	46,5
Cilt	0,1-0,2	7,6
Damar dokusu (boyuna)		0,1
Damar dokusu (enine)		1,1
İntraoküler lens	5,6	2,3

Tablo 1.7. Metalik ve seramik biyomalzemelerin mekanik özellikleri [54]

Malzeme	E modül, GPa	Çekme Mukavemeti, MPa
Metal alaşımı		
Paslanmaz çelik	190	586
Co-Cr alaşımı	210	1085
Ti alaşımı	116	965
Amalgam	30	58
Seramik		
Alumina	380	300
Zirkonya	220	820
Biyocam	35	42
Hidroksiapatit	95	50

Tablo 1.8. Polimerik biyomalzemelerin mekanik özellikleri [54]

Malzeme	E modül, GPa	Çekme Mukavemeti, MPa
Polietilen (PE)	0,88	35
Poliüretan (PU)	0,02	35
Politetrafloretillen (PTFE)	0,5	27,5
Polyamid (PA)	2,1	67
Polimetilmetaakrilat (PMMA)	2,55	59
Polietilen terftalat (PET)	2,85	61
Polietereterketon (PEEK)	8,3	139
Silikon kauçuk	0,008	7,6
Polisülfon	2,65	75

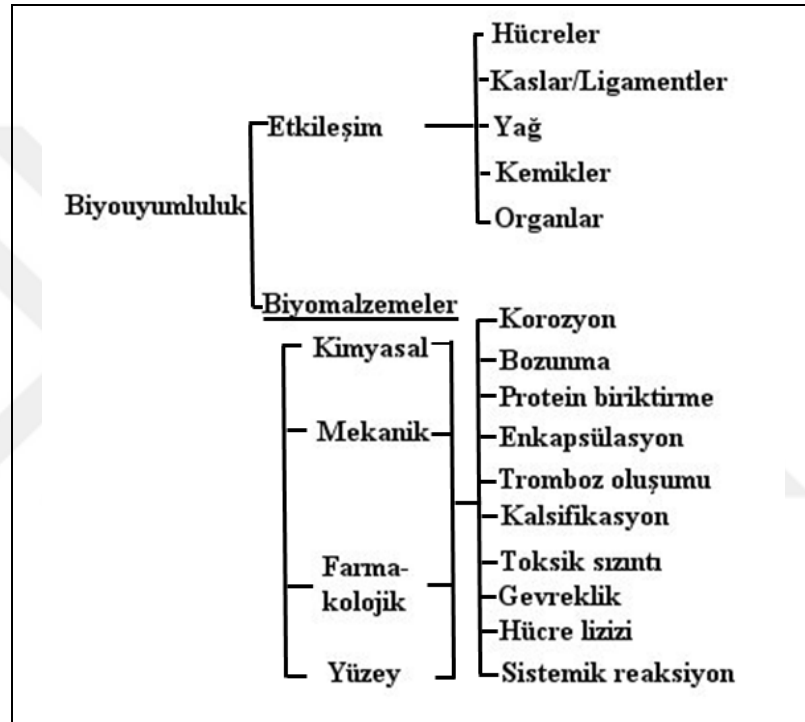
1.3. Biyouyumluluk

Biyomalzemelerin çok saldırgan olan vücut içinde içsel bir ortam oluşturması beklenir. Örneğin vücut sıvısının pH'ı farklı dokular içinde 1-9 aralığında değişmektedir. Günlük faaliyetler sırasında kemikler yaklaşık 4 MPa gerilmeye maruz kalırken lifler (tendon) ve bağlar 40-80 MPa arasında bir gerilmeye maruz kalmaktadır. Ortalama vücut ağırlığının 3 katı kadar (3000 N) kalça eklemine yük yüklenmektedir. Sıçrama esnasında bu yük vücut ağırlığının 10 katından daha fazla olabilmektedir. Daha önemlisi, bu yükler durma, oturma, koşma, gerinme ve tırmanma gibi yapılan faaliyetlere bağlı olarak tekrarlayan ve dalgalı yüklerdir. Bir yılda, parmak veya kalça eklem hareketinin yük çevrimi 1×10^6 , tipik kalp için ise $0,5 \times 10^7$ - 4×10^7 çevrim tahmin edilmektedir. Bu bilgiler, biyomalzemelerin dayanması gereken akut ve anlık biyolojik ortamı kabaca göstermektedir [54].

Son 30 yıldır doku ve malzemeler arasındaki etkileşimi anlamak için önemli girişimler yapılmıştır. Cansız (avital) ve canlı (vital) malzemeler arasında önemli farklılıklar olduğu anlaşılmıştır. Araştırmacılar malzemelerin performansını belirtmek için “biyomalzemeler” ve “biyouyumluluk” kelimelerini türetmişlerdir [52, 54]. Biyouyumluluk gösteren malzemeler biyomalzemelerdir. Biyouyumluluk ise bir malzemenin belirli uygulamada vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneğini belirten bir terimdir [52, 65]. Basitçe açıklanacak olursa, biyomalzemenin canlı sistem ile uyumluluğu ve harmonisini ima etmektedir. Ramakrishna ve arkadaşları, bir implantın yüzey ve yapısal uyumluluğu arasındaki farkı göstererek bu tanımları genişletmişlerdir. Yüzey uyumluluk, bir implant yüzeyinin dokuya kimyasal, biyolojik ve fiziksel (yüzey morfolojisini de içerir) uygunluğu anlamına gelmektedir. Yapısal uyumluluk ise dokunun mekanik davranışına optimal adaptasyonudur. Bu nedenle yapısal uyumluluk, elastik modülüs (veya E, Young modülüs) ve mukavemet, implantın tasarımı (rijitlik, elastik modülüs E'nin ve alanın ikinci momenti I'nın bir ürünü olan) ve implant/doku arayüzeyindeki optimal yük geçişi (minimum arayüzey gerilme uyumsuzluğu) gibi implant malzemenin mekanik özelliklerini kastetmektedir. Yüzey ve yapısal uyumluluk çakışırsa biyomalzeme ve taşıyıcı (host) arasındaki optimal etkileşime ulaşılmış olmaktadır. Ayrıca, biyomalzemenin başarısı cerrahi teknik (implantasyon sırasındaki travma derecesi,

sterilizasyon metodu vb.), hastanın sağlık durumu ve faaliyetleri gibi birçok faktöre bağlıdır [54].

Biyomalzemelerin nihai hedefi doğal canlı dokuların ve organların işlevlerini yerine getirerek insan sağlığını geliştirmek olduğundan malzeme özellikleri, işlevi ve yapısını anlamak gerekir. Bunun için biyomalzemler konusundaki çalışmalarda biyolojik ortam, implant malzeme ve bu iki arasındaki etkileşim göz önünde tutulmalıdır (Şekil 1.2) [64] .



Şekil 1.2. Biyoyumluluğun şematik gösterimi [64]

Bir biyomalzemenin canlı doku üzerine etkisi ve hücre fonksiyonları ile etkileşimleri genelde *in vitro* deneyler ile incelenmektedir. Bu deneyler *in vivo* deneylerine benzetilerek, daha basit ve kontrol edilebilir şekilde tasarlanır. Bu nedenle biyoyumluluk, malzeme yüzeyinde hücrelerin yaşayabilirliği ve biyofonksiyonlitesi gözlemlenerek *in vitro* çalışmaları ile değerlendirilir. Biyoaktivite veya osteoiletimi (osteoconduction) deneyleri de *in vitro* olarak gerçekleştirilmektedir [66].

Birçok teknik alanlarda kullanılan malzemelerde olduğu gibi biyomalzemelerde de malzeme yüzeyinden (vücuttaki organ ve dokular ile etkileşen temas yüzeyi) içyapıdan farklı özellikler beklenmektedir [67, 68].

Biyouyumluluk aşağıda verilen dört faktörle belirlenmektedir:

Taşıyıcı (çevresinde biyolojik sistem bulunan)

- doku tipi ve yeri
- yaşı ve cinsi
- sağlık durumu

İmplant malzemesi

- hem içyapı hem de yüzeydeki kimyasal bileşimi, kimyasal kararlılığı ve oluşabilecek çözünme ürünleri
- yüzey pürüzlülüğü, yüzey enerjisi ve yükü
- fiziksel kararlılık

İmplant

- boyut ve şekli
- mekanik özellikleri (elastikiyet)

Sistem

- cerrahi teknik-implantın dokuya bağlanması

İmplantın biyouyumlu olmaması halinde genelde bölgesel inflamasyon reaksiyonları, enfeksiyon ortaya çıkmaktadır [69].

Biyomalzeme bulunduğu ortamdaki hücre ve vücut sıvısına karşı kimyasal ve biyolojik olarak inert olmalıdır. Ayrıca kullanım amacına göre sert ve aşınma direnci yüksek, düşük sürtünme katsayısına sahip olmalıdır. Korozyon direnci yanında insan vücuduna toksik ve kanserojen elementler salmamalıdır [70].

In vivo olarak kullanılacak malzemeler FDA (United States Food and Drug Administration) tarafından onaylanmış olması gerekmektedir [64]. Önerilen bir malzeme 1976 FDA mevzuatı öncesi kullanılan malzeme ile eşdeğer özelliklere sahip ise FDA bu malzemenin Pazarlama Öncesi onay (Premarket Approval, PMA) bazında kullanımına izin vermektedir. Bu süreç ile benzer malzemede kazanılan tecrübe ile onay doğrulanmakta ve böylece önerilen malzemenin kullanımı için

harcanacak olan zaman ve gider azaltılmış olmaktadır. Aksi takdirde malzemenin bir dizi “biyouyumluluk” testlerden geçmesi gerekmektedir.

Genelde biyouyumluluk gereklilikleri şunlardır:

1. Akut sistemik toksisite
2. Sitotoksisite
3. Hemoliz
4. İntravenöz (damar içi) toksisite
5. Mutajenite
6. Oral toksisite
7. Pirojenite
8. Alerjik reaksiyonlar

Tüm biyouyumluluk testleri için veri toplama ve belgelendirme (dökümantasyon) iyi kayıt tutma önemini göstermektedir. Ayrıca canlı içinde kullanılacak olan malzemelerin ve cihazların üretimi esnasında oluşturulan dökümanların İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practices, GMP) doğrultusunda kayd edilmesi de çok önemlidir. Bu doğrultuya göre implant ve cihazların üretimi tamamen izole edilmiş temiz odalarda gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Nihai ürün genelde ambalajlama sonrası sterilize edilmektedir. Ambalajlı ürünler γ -ışını (radyasyonu) veya ETO (etilen oksit gazı) ile toplu şekilde sterilize edilmektedir.

Biyomalzemeler biyolojik ortamda maruz kaldıkları etkiler ve gerçekleşen reaksiyonlar malzeme seçimindeki ve implantaların tasarımındaki karmaşıklığı göstermektedir. Malzemenin kimyasal yapısı yanında arayüzeydeki nanometre-boyutta proteinlerin ve mikrometre-boyutta hücrelerin tutunmasını etkileyen diğer fizikokimyasal özelliklerin de (topografi, yüzey kimyası, elastikiyet, pürüzlülük, hidrofilik, yük vb.) dikkate alınması gerekmektedir. Beklentiler daha çok malzeme yüzeyi ile ilgili olduğundan, biyomalzemelerin yüzey modifikasyonları büyük önem taşımaktadır.

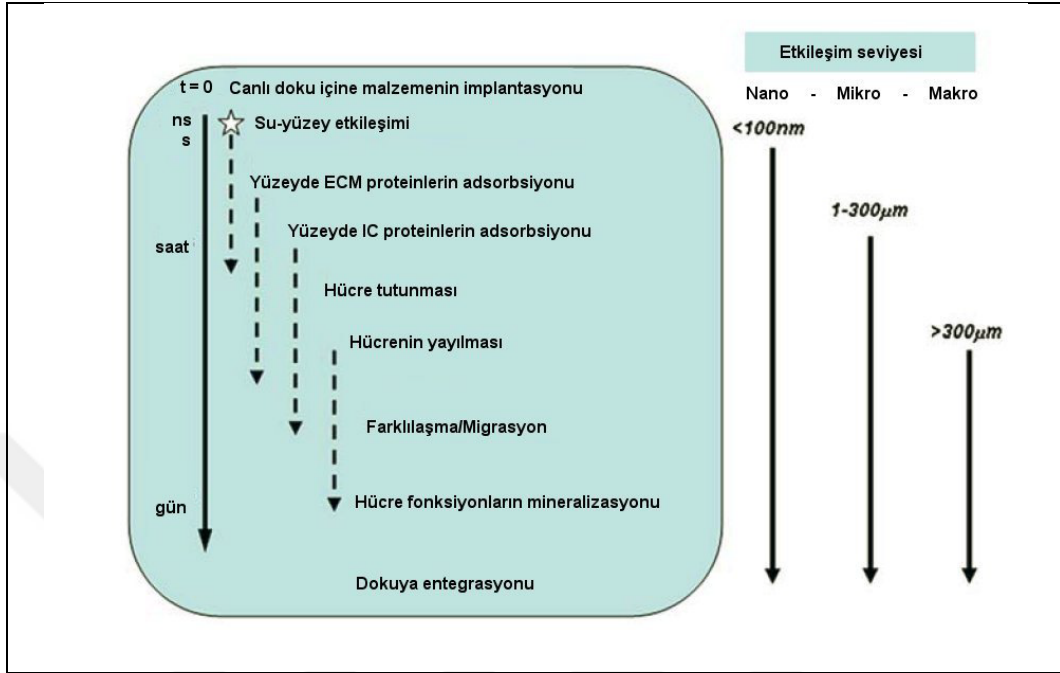
1.4. Biyomalzeme-Biyolojik Ortam Etkileşimi

Bir biyomalzeme geliştirirken, ilgili hücrenin tutunmasını (attachment), göçünü (migration), çoğalmasını (proliferation), farklılaşmasını (differentiation), uzun süreli

canlılığını ve işlevini sağlayacak ortam oluşturulmalıdır. Hücrelerin biyomalzeme yüzeyine yapışması ve sonraki başarısı, vitronektin, fibronektin, kolajen, laminin ve fibrin gibi hücre dışı matriksi (extracellular matrix, ECM) proteinleri aracılığıyla gerçekleşmektedir [71]. Bu proteinler, hücre kültürü ortamı, kan gibi biyolojik sıvıdan yüzeye aniden adsorbe olur, özel aktif bölgeleri hücrelerin adezyon reseptörleri (genelde integrinler) tarafından tanınır ve bağlanır. Proteinlerin adsorpsiyon davranışları, polarite, ıslatılabilirlik, elektriksel yük ve iletkenlik, pürüzlülük ve topografi gibi biyomalzemenin yüzey özelliklerinden etkilenmektedir [72-74]. Biyomalzeme yüzeyine adsorplanan bu proteinler, 1-10 nm kalınlıkta bir protein tabakası oluşturmaktadır. Bu tür tabakalar ile hücre morfolojisinin oluşumu, hücre çoğalma ve farklılaşması, fonksiyonelleşmesi için gerekli olan yüzey-hücre iletişimi sağlanmaktadır [75].

Bir biyomalzeme, bir biyolojik sıvı ortamına yerleştirildiğinde ilk etkileşim, nano saniyeler içinde su moleküllerinin yüzeye ulaşması ve su tabakası ile kaplanmasıdır. Su moleküllerinin yüzey ile etkileşimi yüzeyin özelliklerine bağlıdır. Bu özellik, ayrıca hidrasyon tabakasının oluşumu müteakiben hangi proteinin ve moleküllerin yapışacağını belirlemektedir. İmplantasyondan sonra saniyeler içinde başlayıp saatlerce süren ikinci aşamada, biyomalzemenin yüzeyi hücre dışı matriks içinde bulunan proteinler ile örtülür (kaplanır). Üçüncü aşamada, hücreler adsorbe olan proteinler vasıtasıyla yüzeye ulaşırlar ve bu şekilde hücre-yüzey etkileşimi başlamış olur. Bu aşama implantasyon sonrası dakikalar içinde başlayıp günlerce sürebilmektedir. İlerleyen zaman ile hücre adezyonu, göçü ve farklılaşması gerçekleşir. Biyolojik moleküller (hücre dışı matriks proteinleri, hücre zarı proteinleri ve iskelet proteinleri), biyofiziksel çevre, biyomalzeme yüzeyinin fizikokimya (kimyasal, nano ve mikro topografi) özellikleri, mikroyapısı ve salım yaptığı çözünebilir maddeler bu üçüncü aşamadaki süreçleri etkilemektedir [66]. Pıhtılaşma, fibröz kapsül oluşumu vb. gibi olumsuz yanıtlar ve implant hasarı gibi etkilerde gerçekleşebilmektedir. Dolayısıyla bir biyomalzeme geliştirirken bu tür etkileri azaltmak, kontrollü ve hızlı bir iyileşme ile birlikte implant integrasyonu sağlamaya dikkat edilmelidir. Bir biyomalzemenin vücut içindeki uzun vadeli başarısı, kontrollü makro fonksiyonel özellikleri (mekanik ve doku uyumu) ve malzemenin nano ve mikron boyuttaki fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır.

Biyomalzeme ve bir mineralize doku arasındaki etkileşim için zaman-boyut skalası şematik olarak Şekil 1.3'te gösterilmiştir .



Şekil 1.3. Biyomalzeme-doku (İmplant-kemik) etkileşimine ait zaman-boyut skalasının şematik gösterimi [66]

Hücreler karmaşık yapıya sahip olup, dış duvarlarında bulunan reseptörler vasıtasıyla çevre ile iletişim kurmaktadır. Antikor veya antijenlerin bu reseptörlere bağlanması hücre içinde uygun bir tetikleme tepkisinin başlamasına neden olur. Bu tür bir hücre reseptörü olan ‘integrin’ler, fibronektin, vitronektin ve laminin gibi hücre adeziv proteinlerinde bulunan (bilhassa) arginineglycine–aspartic acid (RGD) tripeptide bağlanır ve malzeme yüzeyine tutunur [76, 77].

Hücreler çevrelerini, “lamellipodia” diye adlandırılan çıkıntılar ile algırlar. Bunlar mikron boyutlu düz tabaka vari (sheet-like) yapılara sahip olup yüzeye paralel olan aktin filaman örgülerden (actin filaman mesh) oluşmaktadır. Bu lamellipodia’nın kenarlarında, uzun, ince aktin filaman demetlerinden oluşan “filopodia” denilen daha küçük ince kıl şeklinde çıkıntılar bulunur [78]. Bunlar, hücre dışı matriksi ve malzeme yüzeyini algılayan duyurga (anten) olarak görev yaparlar. Filopodia, uygun bağlanma noktalar (bölgeler) bulunduğu, hücre içinde bir geri bildirim sinyalleme yolu ile daha fazla integrin reseptörlerin bu bölgeye bağlanmasını sağlar. Ön hücre kenarı boyunca lamellipodia kademeli olarak yayılarak, kuvvetli çekme gerilmeler

iletken fokal noktaların oluşumunu ve bu şekilde hücrenin yüzey üzerinde hareket etmesini sağlar [79, 80]. Hücrenin yüzeye tutunması ve yüzeyden ayrılması, bir integrin geribildirim döngüsü tarafından kontrol edilmektedir.

Malzemenin yüzey pürüzlülüğü ve topografisi ile hücre yanıtı modifiye etmek en önemli kriterlerden birisidir, çünkü hücre-malzeme etkileşimi ve malzemenin çevresindeki doku ile integrasyonunda belirleyici rol oynamaktadır [81, 82]. Biyomalzeme yüzeyini hücresel gelişimi, doku integrasyonu açısından daha cazip hale getirmek için birçok yüzey modifikasyon yöntemlerine başvurulmuştur [71]. Bunlardan birisi, malzeme yüzeyine nano boyutlu pürüzlülük ve topografi oluşturmaktır. 100 nm'den daha küçük düzensizlikler içeren nano yapıları yüzeyler, ECM moleküllerin boyutu veya bu moleküller üzerindeki düzensizlikler (dallanma, katlanma), hücre adezyon reseptörleri gibi doğal dokunun nano mimarisini taklit ettiği düşünülmektedir. Hücre adezyonuna aracılık eden ECM molekülleri nano yapıları yüzeylere daha tercihli adsorplanmaktadır. Ayrıca, nano yapıları yüzeyler tüm ECM molekülleri arasında vitronektini daha küçük, lineer ve karmaşık olmayan molekül yapısı nedeniyle tercihli olarak adsorbe etmektedir. Bu protein, osteoblast hücre tarafından tercihli olarak tanınmaktadır [83, 84].

Mikro ve nano boyutlu malzeme yüzey topografisinin farklı hücreler üzerindeki etkisi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır [85-90]. Bu çalışmalardan çoğu, nano boyutlu topografinin kemik hücrelerinin çoğalmasını geliştirdiğini göstermiştir. Bu sonuç, malzeme yüzeyinde bulunan nano boyutlu düzensizlikler ile adsorbe olmuş hücre adezyonunu sağlayan moleküller arasındaki olumlu etkileşim ile açıklanmaktadır. Bu şekilde, daha sonraki hücresel gelişim aşaması olan çoğalma için bir ön şart olarak kabul edilen osteoblast hücre adezyonu ve yayılmasının geliştiği bildirilmektedir [91, 92, 88, 89]. Mikro boyutlu düzensizlikler hücre yayılmasını engelleyebilmekte ve dolayısıyla hücre çoğalmasını azaltmaktadır [86, 93-94]. Başka bir çalışmada, titanyum malzemesi yüzeyinde oluşturulan mikronaltı ve mikron boyutlu pürüzlülüğünün insan kemik hücre gelişimine etkisi araştırılmış ve artan yüzey pürüzlülüğü ile birlikte hücre yapışması ve çoğalmasının azaldığı görülmüştür [95].

Yüzey düzensizliklerin sadece boyutu değil, şekli ve dağılımı da hücre-malzeme etkileşimi açısından önemlidir. Yüzeyde farklı pürüzlülüğe ve farklı çapta yapılara, fakat aynı gözenek şekline sahip bir titanyum yüzeyde hücre tutunması, filopodia gibi morfolojik özellikler açısından hiçbir fark görülmemiştir [96]. Yüzeyde bulunan düzensizliklerin yoğunlukları hücre-malzeme etkileşimi açısından önemlidir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, yüzeyde bulunan nano tanecik yoğunluklarının artmasıyla osteoblast hücre yayılmasının ve çoğalmasının azaldığı ancak hücrede osteokalsin (osteocalcin) sentezinin arttığı belirlenmiştir [97]. Benzer sonuç Kunzler ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada görülmüştür [98]. Buna göre, yüzeyde düzensizlik yoğunluklarının artması, düzensizliklerin boyutlarının artması ile aynı etkiyi göstermektedir.

Bir malzemenin yüzey kimyası değiştirilerek hücre yapışması ve yayılması geliştirilebilir [66]. Yüzey kimyası ile hücre sinyalleşmenin kontrolünün, direkt protein adezyonun kontrolü ile mümkün olduğu gösterilmiştir [99]. Bu konu ile ilgili literatürde birçok çalışma mevcuttur [100–102].

2. SPİNAL CERRAHİSİNDE KULLANILAN BİYOMALZEMELER

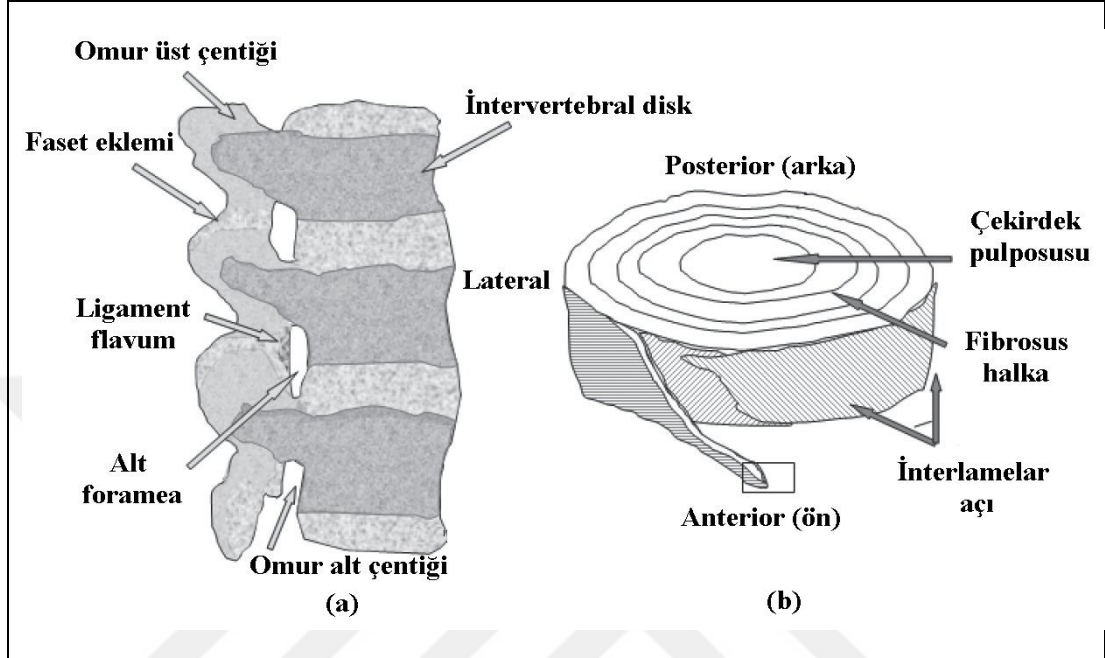
Omurga, insanın boynundan kalçasına kadar uzanan, vücudun dik durmasını, hareketini sağlayan, vücudun sırt bölümünü oluşturan temel destek ve hareket sisteminin bir bölümüdür. Omurganın en büyük görevi biyomekanik dengeyi sağlamak ve içerdiği omuriliğini en iyi şekilde korumaktır. Omurga, omur (vertebra) denilen kemiklerden oluşmaktadır. Bu herbir omur arasında disk denilen ve yastık görevi yapan yapılar bulunmaktadır. Bunlar omurları birbirine bağlayan, omurların hareketini sağlayan, vücudun boyun ve bellerini büküp çevirmelerini sağlayan yapılardır. Omurga, servikal (boyun), torasik (göğüs) ve lomber (bel) olmak üzere 3 bölgeye ayrılmaktadır. Herbir bölgenin işlevi ve hareket tipi değişmektedir. Bunlardan servikal omurga, her yöne hareketi sağlayan aktif bölgedir. Torasik, kalp ve akciğerleri koruyan, çok sert olan, kaburga bölgesidir. Öne ve arkaya eğilme hareketini sağlayan ise lomber (bel) omurgasıdır.

Yukarıda da belirtildiği gibi, esas hareketi ve omurganın stabilitesini iki komşu omur, bu omurlar arasındaki disk, ligamanlar, faset eklemleri ve diskden oluşan omurganın en küçük hareketli segmenti sağlamaktadır.

Spinal (omurga) rahatsızlıklar, dünyada birçok insanı etkileyen önemli tıbbi bir problem olup çeşitli cerrahi müdahale uygulanmaktadır [103]. Spinal kolon, gövde esnekliğini sağlayan, omurilik ve sinir köklerini koruyan ve birlikte hareket eden, çalışan elementlerin (intervertebral disk, ligamentler, vertebra, faset eklemleri) bir sistemi olarak düşünülebilir (Şekil 2.1a).

İntervertebral disk (IVD), omurgadaki kemiksi omurların arasında bulunan fibrokartilaj (fibrocartilage) pedlerdir (yastıklar) [104]. İnsan IVD'leri, spinal kolonun esnekliğini ve hareketini sağlarken omurganın bükülmesi veya açılması (uzaması) sırasında uygulanan yükleri omur gövdeleri üzerinde dağıtacak şekilde tasarlanmıştır [105-107]. IVD'ler heterojenik bir yapıya sahip olup ona özgün yapı ve biyomekanik özellikler veren karakteristik hücre tipi ve hücre dışı matriksi sergilemektedir [108]. Herbir IVD, çevresi bir fibrosus halka (annulus fibrosus) ile

çevrili merkezi ve jelatimsi çekirdek pulposusu (nucleus pulposus) içermektedir (Fig. 2.1b). Üstünde (superiorly) ve altında (inferiorly) iki ince tabaka şeklinde kırıkdağı uç plakalar (omur çentikleri) bulunmaktadır [109].



Şekil 2.1. (a) Spinal kolon, (b) intervertebral diskin şematik gösterimi [103]

Çekirdeği, jelimsi bir matriks oluşturan su ve proteoglikanlardan (proteoglcans) meydana gelen yarı sıvımsı bir küttür. Anulus, içerdiği proteoglikan-su jeli içinde gömülü, yönlenmiş kolajen fiberler ile yüksek derecede yapısal organizasyon ve çok katmanlı bir yapı sergilemektedir [108, 110]. Anulusun konsantrik tabakasındaki, kolajen fiberlerin omurga eksenine göre oryantasyonları kenardan çekirdeğe doğru değişmektedir. Bu, anulusa yapısal olarak derecelendirilmiş bir mimari, anizotropik mekanik özellikler ve lineer olmayan gerilme-gerinme davranış vermektedir.

Çekirdek (nucleus) ve anulus, biyolojik, biyokimya ve mekanik açısından birbirinden farklı olsalarda diske işlev sağlamak için sinerjik çalışmaktadırlar [111]. Çekirdek, IVD'nin basma özelliklerinden sorumluyken anulus kayma ve çekme özellikleri sağlayan çekirdeği içermektedir.

Kronik bel ağrısının en büyük nedenlerden birinin dejeneratif disk hastalığı olduğu bildirilmiştir [112]. Diskin dejenere olması ve/veya hasar görmesi özellikle 50'li yaşlardaki nüfusun %97'sinden fazlasını etkilemektedir [108]. IVD'nin

dejenerasyonu sırasında çekirdek dehidre (dehidrasyona) olmakta ve anulus üzerine etki eden yük artmaktadır. Bu, küçük yırtılmalara ve delaminasyona neden olarak anulusun mekanik ve yapısal hasarlanmasına yol açmaktadır. İntervertebral disk, omurga için bir şok emici (absorlayıcı) olarak görev yapmaktadır. Dolayısıyla dejenere olmuş bir disk omurganın işlevini kısıtlayacaktır [112].

Dejenere olmuş diskin tedavisi için günümüzdeki cerrahi yaklaşım diskektomi (discectomy) ve spinal füzyondur (spinal fusion). Ancak, bu iki cerrahi süreç de omurganın biyomekaniğini değiştirmekte ve bitişik (komşu) disk üzerindeki mekanik gerilmeyi artıran, ilgili omurga segmentin hareketini sınırlayan belirsiz uzun süreli sonuçlara neden olmaktadır [113].

Bunun üzerine, intervertebral disk alanı ile ilgili araştırmalar spinal cerrahi için farklı malzemelerin (metal, seramik, polimer ve kompozit) kullanımı ve geliştirilmesi, gen tedavisi, büyüme faktörleri, doku mühendisliği ve hücreler kullanarak IVD'nin biyolojik yenilenmesi üzerine odaklanmıştır [114-117].

2.1. Spinal Cerrahisinde Kullanılan Teknikler

Uzun yıllardır, lomber omurganın stabil olmayan (unstable) kısmını onarmak (kaynaştırmak, fusing) veya ağrıyan omur (vertebra) hareket segmentini sabitlemek için cerrahi teknikler kullanılmaktadır. Lomber füzyon süreci önceleri, enfeksiyonu (tüberküloz spondilit, tuberculous spondylitis) veya omurgada hizalama bozukluğu olan hastaların tedavisinde kullanılmaktaydı [10]. Herhangi bir enstrüman (cihaz) kullanmadan sadece otojen kemik greftler ile gerçekleştirilen önceki teknikler, yapısal bütünlüğünün sağlanamaması ve istenmeyen yan etkilerin oluşması nedeniyle başarısızlıkla sonuçlanıyordu. Kemik grefti veya posterior pedikül vidaları (posterior pedicle screws) ile gerçekleştirilen önceki füzyon süreçlerindeki yüksek başarısızlık oranları nedeniyle disk yüksekliğini koruyacak daha başarılı olabilecek yaklaşımlara geçiş yapılmıştır.

Lomber interbody füzyon, dejeneratif disk rahatsızlığı ve diskojenik ağrı sendromları olan hastaların tedavisinde kullanılmaktadır [10, 118]. ABD'nde yılda 300000'den fazla lomber omurga füzyon süreçlerin (lumbar spine fusion) gerçekleştirildiği bildirilmiştir [119]. 1940 yılında Cloward tarafından gerçekleştirilen posterior

lomber interbody füzyon (posterior lumbar interbody fusion) ileriki yıllarda artan interbody cihaz sayısı ile artmıştır [10, 120-127]. Bu cihazlar geometrik konfigürasyon ve duvar kalınlığı açısından farklı olup çoğunlukla titanyum veya PEEK esaslı üretilmektedir. Bunun yanında, insan allogreft kemik dübelleri (human allograft bone dowels) ve allogreft kemik diskler (allograft bone spacers) de interbody füzyon sürecinde kullanılmaktadır.

Interbody füzyon, birçok farklı cerrahi yaklaşımlar ile gerçekleştirilebilmektedir. Posterior lomber interbody füzyon, anterior lomber interbody füzyon ve transforaminal lomber interbody füzyon tekniklerin birçok eşsiz avantajları yanında bazı zorlukları (komplikasyonlar) da bulunmaktadır. Herbir teknik kendi başına ya da tamamlayıcı segmental posterior enstrümantasyon (posterior çubuk ve pedikül vida gibi) kullanılarak yapılabilmektedir. Tüm interbody füzyon cihazların amacı, disk aralığının yüksekliğini ve normal sagittal konturların (lordoz) yenilemek ve desteklemek (korumak), müdahale edilen segment veya segmentlerin stabilitesini artırmaktır [10, 123]. Stabilite ve lordoz, annulusu çekerek (gererek, stretching) ve disk aralığını tekrar eski haline getirerek yeniden kazanılmaktadır. Bu segment germe işlemi “ligamentotaxis” olarak adlandırılmakta ve biyomekanik stabilite sağlamaktadır. Disk aralığını yerine getirerek indirekt olarak foramina üzerindeki bası kaldırılmaktadır.

Interbody füzyon teknikleri, cerrahın deneyimi ve anatomiye aşinalığı temeline dayanmaktadır. Posterior lomber interbody füzyon, genelde sinir kökü üzerindeki basının kaldırılmasının gerektiği durumlarda uygulanır. Tranforaminal lomber interbody füzyon, modifiye edilmiş posterior tekniği olup foraminal üzerindeki basıyı kaldırmaya izin vermektedir. Ayrıca bu teknik ile disk aralığına daha güvenli ve geniş aralıkta ulaşılabilindiği için posteriora bir alternatif sunmaktadır. Anterior lomber interbody füzyon, disk aralığına ulaşmak için optimal bir yaklaşım olup interbody füzyon gerçekleştirmektedir. Ancak bu yaklaşım yetenekli, deneyimli bir cerrah tarafından uygulanmalı ve sinir köklerine ulaşmak, yapısal desteği sağlamak için tamamlayıcı posterior yaklaşıma ihtiyaç duyulabilmektedir. Tüm tekniklerde, temiz, kanayan uç plakalar elde etmek için dairesel bir pencere açılır ve total diskektomi uygulanır. Bu temiz kemik yüzeyi füzyon için gerekli optimal ortamı oluşturmaktadır.

2.2. Mevcut Interbody Füzyon Cihazları

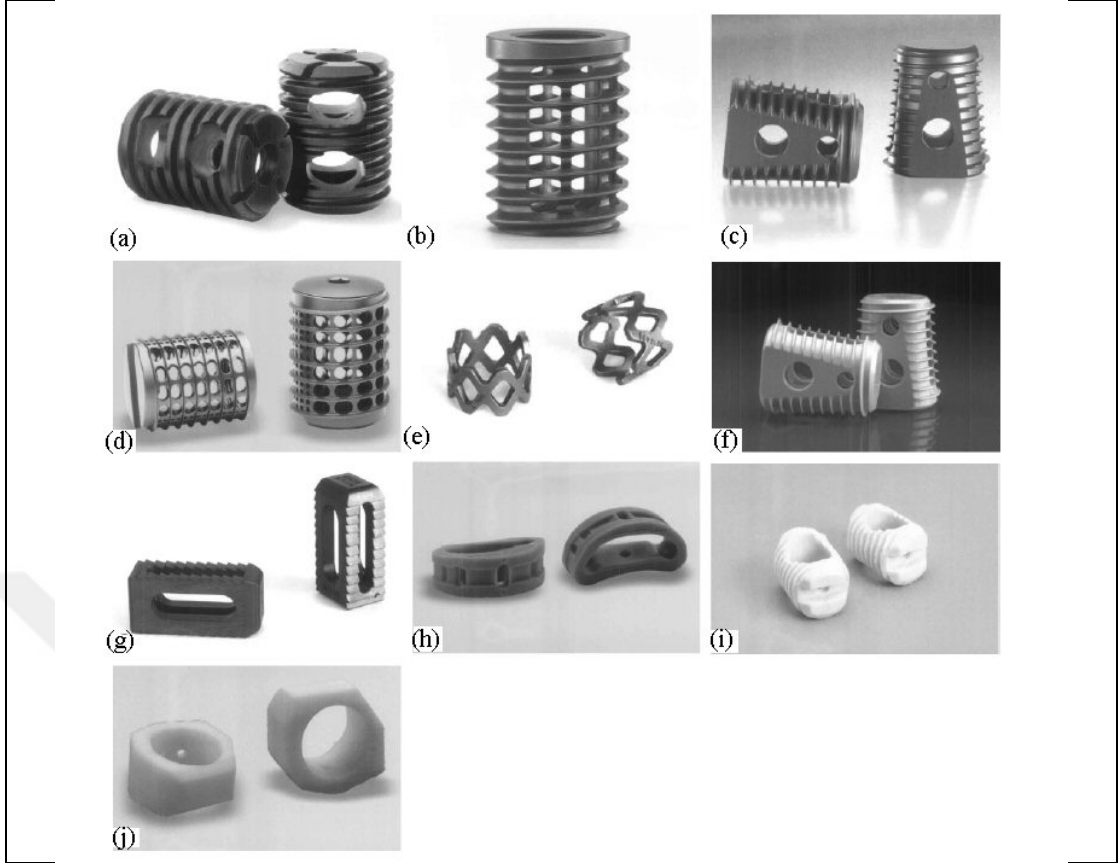
Birinci nesil cihazları silindirik olup posterior lomber interbody füzyon veya anterior lomber füzyon yaklaşım ile yerleştirilmekte idi. Sonraki ikinci nesil cihazlar, disk aralığına uyumu, hizalama olanağı ve geliştirilmiş füzyon sağlayacak farklı şekillerde ve boyutlarda üretilmiştir.

2.2.1. Metal cihazlar

BAK (Bagby ve Kuslich) Kafesleri: Önceleri, salınım sendromu (servikal spinal stenoz) olan at yarışlarını tedavi etmek amacıyla geliştirilmiş BAK kafesleri (Zimmer Spine, Warsaw, IN), silindirik, delikli, kare dişli, titanyum alaşım esaslı bir kafes olup disk aralığına (boşluğuna) vidalanmaktadır (Şekil 2.2a) [10, 126-127]. Anterior lomber interbody füzyon veya posterior füzyon yöntemi ile implante edilebilmektedir. Avantajları, donör boyutu veya erişilebilirliği ile ilgili güçlüklerin olmaması, gelişmiş (raf) ömür (shelf life) ve hastalık iletim sorunlarının (the lack of disease transmission issues) olmamasıdır. Birinci nesil kafes hala kullanılmaktadır. Sonrakilere göre daha kalın olup MR ve CT görüntüleme artefaktlarına neden olmaktadır. BAK kafesler, daha yeni nesillere göre kemik büyümesi için daha fazla alana sahiptir.

Ray Dişli Füzyon Kafesler : Charles Ray tarafından geliştirilen ikinci nesil kafes olan Ray dişli Füzyon kafes (Ray Threaded Fusion Cage, Stryker Spine, Allendale, NJ), silindirik, delikli, titanyum esaslı dişli bir cihaz olup daha az metal içermektedir (Şekil 2.2b). BAK kafese benzer avantajlar sağlarken, Ray kafes görüntüleme daha az artefakt oluşturmaktadır. Ray kafes posterior lomber interbody füzyon veya anterior lomber interbody füzyon teknikleri ile implante edilebilmektedir.

LT-Kafes, Lomber Konik Füzyon Cihaz (Lumbar Tapered Fusion Device): LT-Kafes (Medtronic Sofamor Danek, Memphis, TN), üçüncü nesil cihaz olup Kuzey Amerika'da en çok kullanılan interbody implanttır. Yamuk konfigürasyonundan (ön uzun, kısa arka) dolayı sadece anterior yaklaşım ile yerleştirilmektedir. Sahip olduğu şekli nedeniyle kemik büyümesi için geniş yüzey alanı sunmaktadır (Şekil 2.2c). Konik konfigürasyonu lordozun (lordosis) yenilenmesini kolaylaştırmaktadır [124]. LT-kafes ince duvarları, yan duvarları kesik (truncated) dişli bir kafes olup implant içi ve dışındaki yeni kemik oluşumunu radyografik değerlendirmesini sağlamaktadır.



Şekil 2.2. (a) BAK kafes, (b) Ray Dişli Füzyon Kafes, (c) LT-Kafes, (d) INTER FIX Cihazı, (e) Harms Kafes, (f) PEEK kafes, (g) JAGUAR I/F Kafes, (h) BOOMERANG II Cihaz, (i) Kemik Dübelleri, (j) Femoral Halkalar [10].

INTER FIX Dişli Füzyon Cihazı ve INTER FIX RP Dişli Füzyon Cihazı: INTER FIX ve INTER FIX RP (Medtronic Sofamor Danek), silindirik, fenestrat, titanyum esaslı ikinci nesil cihazlar olup düşük duvar kalınlıkları nedeniyle CT görüntülemeye izin vermektedir (Şekil 2.2d). Bu cihazlar posterior lomber interbody füzyon veya anterior lomber interbody füzyon teknikleri ile implante edilebilmektedir.

Harms Kafes: Cerrahi bir titanyum örgü kafes olan Harms kafese (DePuy Spine, Raynham, MA), kemik greft alanını maksimize etmek ve yük paylaşımı sağlamak amacıyla açık elmas benzeri konfigürasyon verilmiştir (Şekil 2.2e). Aksenal mukavemet sağlamak için 1 mm'lik duvar kalınlıklarına sahip olup posterior veya anterior teknik ile yerleştirilmektedir.

2.2.2. Kompozit cihazlar

PEEK Kafes: PEEK, kortikal kemiğe benzer biyomekanik özelliklerine sahiptir. PEEK, istenilen şekil ve boyuta işlenebilir ve CT ve düz radyograflarda

radyolüsendir (X-ışını geçirgendir). Şekline bağlı olarak herhangi bir teknik ile yerleştirilebilmektedir. PEEK kafes (Medtronic Sofamor Danek), hiç su içermediğinden MR görüntülerinde çok iyi görüntülenebilmektedir (Şekil 2.2f).

JAGUAR I/F Kafes (Brantigan Device) : Jaguar I/F kafes, karbon takviye edilmiş polimer kompozit olup, istenilen şekil ve boyuta üretilebilmektedir. Radyolüsen olup CT ve MR görüntülerinde daha az artefakt oluşturmaktadır (Şekil 2.2g). Jaguar I/F kafes dikdörtgen tipi bir kafes olup disk aralığına yerleştirilmektedir. Bu cihaz sadece posterior lomber interbody füzyon tekniğine uygun olarak tasarlanmakta ve her zaman ilave posterior enstrümantasyon ile yerleştirilmektedir [120]. Posterior teknik ile yerleştirilen bir dikdörtgen kafesin dezavantajı segmental kifoza (segmental kyphosis) eğilimli olmasıdır.

BOOMERANG II Cihaz: İkinci nesil bir cihaz olan Boomerang II (Medtronic Sofamor Danek), bikonveks yüzeyler içeren yay şeklinde bir implant olup greft yerleştirme için geniş aralıklar sağlamaktadır. Genelde transforaminal lomber interbody füzyon yöntemi ile implante edilmektedir. Boomerang II'nin radyolüsen olması, CT görüntülemesinde herhangi bir artefakta neden olmaması, disk aralığına enine yerleştirilmesi (biyomekanik stabiliteyi artırmak için) sağladığı diğer avantajlardır (Şekil 2.2h).

2.2.3. Biyolojik cihazlar

Kemik Dübelleri/Femoral Halkalar: MDII Dişli Kortikal Kemik Dübelleri (Medtronic Sofamor Danek), femoral allogreftten üretilmiş dişli parçalar olup disk aralığına vidalanmaktadır (Şekil 2.2i). Precision Greft Femoral Halkalar (Medtronic Sofamor Danek), allogreft femurdan kesilmiş parçalar olup disk aralığına sıkıştırılmaktadır (Şekil 2.2j). Bu cihazlar, posterior lomber interbody füzyon, anterior lomber interbody füzyon veya transforaminal lomber interbody füzyon teknikleri ile yerleştirilebilmektedir. Bu kemik esaslı cihazların avantajları görüntülemesinde artefakt oluşturmamaları ve tamamen biyolojik esaslı olmalarıdır.

2.3. Titanyum ve PEEK Esaslı Spinal İmplantların Karşılaştırılması

Önceden de belirtildiği gibi, lomber interbody füzyon (lumbar interbody fusion), iki omur arasındaki aralığa bir implant yerleştirilerek gerçekleştirilmektedir. Interbody

füzyon tekniği, spinalin hizalanmasını ve nöroforamenden (neuroforamen) basının kaldırılmasını sağlayarak yüksek füzyon oranları ile sonuçlanmaktadır [128, 129]. Günümüzde, bu amaçla en çok kullanılan implantlar PEEK veya allogreft kemik esaslıdır. İşlenmiş Ti kafesler geçmişte kullanılmıştır, ancak titanyum ile görüntüleme karşılaşılan zorluklar ve oluşan hasarlar (çökmeler) nedeniyle birçok cerrah tarafından kullanımı tercih edilmemektedir.

Yüzeyleri nano pürüzlendirilmiş yeni sınıf Ti implantları daha yüksek osteoblast farklılaşması (differentiation) göstermektedir [130]. Titanyum diş implantı olarak çok kullanılmakta olup detaylı bir literatür geçmişe sahiptir. Özellikle nano pürüzlü yüzey özelliklerine sahip titanyum, uygun kemik-implant temas yüzeyi oluşturmaktadır ve etrafındaki kemik ile üstün osseointegrasyon sağladığı birçok çalışma ile gösterilmiştir [131, 132, 133]. Olgunlaşmamış osteoblastların pürüzlü ve düz titanyum yüzeylere karşı yanıtı ile ilgili *in vitro* çalışmalar, mikron boyutta belirli bir tekstüre sahip yüzeylerde hücre farklılaşmasının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu, mezenkimal kök hücrelerin uyarıldığı ölçektir. İki kere asit ile işlenmiş titanyum yüzeyin, lokal, fizyolojik kemik morfojenik protein (bone morphogenetic protein, BMP) üretimini, beta-büyüme faktörü (growth factor beta, TGF- β) dönüşümünü ve vasküler endotel büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor, VEGF) dönüşümünü teşvik ettiği görülmüştür. Bütün bunlar doğal osteojenik çevreyi oluşturmakta ve kemik integrasyonunu kolaylaştırmaktadır [131,132, 133].

İntervertebral disk aralığının (yüksekliğinin) yeniden yapılanması için kullanılan titanyum ve PEEK esaslı kafesler, anterior servikal diskektomi ve füzyon (anterior cervical discectomy and fusion) için kabul gören greftlerdir [134-141]. Ortopedik cerrahide en büyük problemlerden birisi, kemik ve metalik veya seramik implantların arasındaki rijitlik uyumsuzluğudur. Metallerin ve seramiklerin modülü yüksek seviyelerde iken implant edilebilir PEEK'in modülü ayarlanabilmektedir. Böylece gerinme kalkanı gibi komplikasyonlar engellenebilmektedir. Gerinme kalkanı, resorbsiyon yoluyla kemikte poroziteyi artırarak destekleyici kemikte kırılmalara veya implantın yerinden çıkmasına neden olabilmektedir. Ti-kafesler de, daha yüksek elastik modülü nedeniyle kemik greftlerine göre klinik açıdan daha başarısızlık ve hasarlar ile sonuçlanabilmektedir [142]. Bununla beraber yapısal

özellikleri nedeniyle Ti implantlar iyi osseointegrasyon sergilemektedir [134]. PEEK-kafeslerin elastik modülü kortikal kemiğe daha yakın bir değerde olup yük paylaşımı ve gerilme dağılımı açısından daha fazla avantaj sağlamaktadır. Bu daha az segmental kayıplara ve potansiyel olarak daha yüksek füzyona neden olmaktadır [143-145]. Son yapılan birçok çalışma, PEEK esaslı implantların servikal disk aralık yüksekliğini korumada ve radyografik füzyona ulaşmada üstün başarılar gösterdiğini [145,146], hatta servikal spinal cerrahide Ti-kafeslerin yerini tamamen almaları için önerildiği belirtmektedir [145].

1980'li yıllarından itibaren poliariletik ketonlar (PAEK), travma, ortopedik ve spinal implantlar gibi birçok medikal malzeme üretiminde kullanılmaktadırlar. PAEK, keton ve eter fonksiyonel grup ile birbirine bağlanmış aromatik moleküler ana zincirden oluşan yüksek sıcaklık termoplastik polimerlerin oldukça yeni bir ailesidir. PAEK polimerlerinden poli(aril-eter-eterketon) (poly(aryl-ether-etherketone), PEEK) ve poli(arilt-eter-keton-eter-keton-keton) (poly(aryl-ether-ketone-ether-ketone-ketone, PEKEKK) ortopedik ve spinal implantlarda sıkça kullanılmaktadır. Poli aromatik ketonlar, kimyasal yapıları nedeniyle yüksek sıcaklıkta kararlı (300°C üstünde) olup kimyasal ve radyasyona dirençli, birçok takviye malzemesi ile uyumlu (cam ve karbon fiber gibi) ve birçok metalden daha yüksek mukavemete sahiptir. PEEK, bir amorf faz ve bir kristalin faz içermesiyle iki fazlı yarı kristalin modeline uymaktadır. PEEK'in suda çözünübilirliği (w/w) % 0,5'dir, ancak uzun süreli suya maruz kalmada, hatta 260°C'ye kadar, kimyasal olarak hiçbir şekilde bozunmamaktadır [103, 147].

1990'lı yıllarda poliariletereterketonlar (polyaryletherketones, PAEK) esaslı biyomalzemeler spinal kafeslerde AcroMed (Cleveland, OH, şu an DePuy Spine,Raynham, MA) tarafından kullanılmaya başlanmıştır [148]. Kafesler, lomber ve servikal omurganın anterior (ön) kolonunu stabilize etmek ve dejeneratif disk hastalığı ve/veya spinal instabileden kaynaklanan inatçı sert ağrısının tedavisinde füzyonu kolaylaştırmak amacıyla geliştirilmiştir. Kalıcı implantlarında mekanik yüklenmenin karşılanması gerekliliği nedeniyle, ilk posterior lomber interbody füzyon kafes titanyum esaslı olarak üretilmiştir. Ancak, ilk sunulan bu titanyum esaslı tasarımda iki sorun ile karşılaşmıştır. Bunlardan biri, gerilme kalkanı etkisi oluşturan titanyumun rijitliği ve diğeri ise cerrahi müdahale sonrası kemik

büyümesinin teşhis edilmesini engelleyen radyoopaksitesidir. Bunun üzerine AcroMed'de çalışan Carl McMillin adındaki bir polimer mühendisi, bu iki sınırlamaların üstesinden gelmek amacıyla yüksek performans termoplastik olan PAEK'i önermiştir. Brantigan kafes olarak bilinen bu medikal cihazın ilk klinik başarısı, PEEK'in spinal implantlarında yaygın bir şekilde kullanımı için temel oluşturmuştur. PEKEKK ve PEEK esaslı spinal implantların radyolüseni ile ilgili birçok çalışma, *in vivo* olarak füzyonun radyografik teşhisi geliştirdiğini göstermiştir. PAEK polimerlerinin klinik tanı görüntüleme ile uyumluluğu, polimerlerin spinal uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanımının önünü açmıştır. Birçok çalışmanın CFR-PEEK esaslı implantlar ile ilgili olmasına rağmen, takviyesiz PEEK esaslı servikal ve lomber spinal kafesler üzerine de birçok araştırma mevcuttur [148-151]. Takviyesiz PEEK esaslı spinal implantlarla ilgili çalışmalar çok yeni olduğundan, ilgili literatür sadece *in vitro* biyomekanik çalışmalar ile sınırlıdır [152-154]. Son zamanlardaki çalışmalar, PEEK esaslı kafeslere HA [137], %40 b-CP/%60 HA [151] veya rhBMP-2 [155] ilavesinin füzyonu geliştirdiğini ve hızlandırdığını göstermiştir.

İmplant edilebilir PEEK'in yüksek mukavemeti, partikül veya fiberler gibi takviye malzemeler ile daha da geliştirilebilir. Kısa karbon fiber takviyesi ile rijitliği yaklaşık 4'den 18 GPa'a ve mukavemeti de 100'den 230 MPa'a çıkartılarak modifiye edilebilmektedir. İmplant edilebilir PEEK polimerler, doğası gereği radyolüsent, diğer bir deyişle x-ışınları geçirgenliğine sahiptir. Aynı zamanda manyetik ve iletken değildir. Ancak, kolay modifikasyonlar ile radyoopak haline getirilebilmektedir. Doku ve kemik gelişimi açısından incelemeleri engelleyen ve metalik implantlarda oluşan görüntüleme artefaktları (artifacts) ve saçılmalar, x-ışını, MR teknolojisi ve CT gibi geleneksel görüntüleme tekniklerinde radyografik kaliteyi belirlemektedir. *In vivo* kullanılan medikal cihazlar, gamma radyasyonu, etilen oksit gazı ve buharı gibi çeşitli yöntemler ile sterilize edilmelidir. Birçok polimer, kırılma veya hidrolitik bozunma gibi yapısında gerçekleşebilecek değişimler nedeniyle bu metotlar ile sterilize edilememektedir. Bunların aksine implante edilebilir PEEK polimer, mekanik özelliğini veya biyouyumluluğunu olumsuz etkilemeden tekrarlı olarak bu yöntemler ile sterilize edilebilmektedir. PEEK'in çok çeşitliliği nedeniyle, implante edilebilir PEEK polimer esaslı cihazlar uzun süreli kullanılan implantlar olarak da

kullanılmaya başlanmıştır. Cihaz üreticileri, bu polimeri spinal füzyon kafeslerin, parmak eklemlerin, diz ve kalça kemiği (femoral bone) protezlerin, kemik vida ve pinlerin, kalp pompaların üretiminde kullanmaktadır. İmplant edilebilir PEEK polimerler, mukavemet, tokluk, geniş biyouyumluluk, ideal görüntüleme özellikleri, optimal modülüs, kimyasal direnç ve tekrarlı sterilize edilebilir özelliklerinin üstün kombinasyonu ile uzun süreli implant edilebilir medikal cihazlar için ideal bir çözüm sunmaktadır [103].

2.4. Spinal Cerrahide Enfeksiyon Problemleri

İmplant nedenli enfeksiyonların görülme sıklığı düşük olmasına rağmen, artan implantasyon sayısı ve implant nedenli enfeksiyonların tedavilerindeki zorluklar nedeniyle ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır. İmplant nedenli enfeksiyonlar, implant yüzeyine bakterinin yapışması ile başlar. Bunu bakteri çoğalması izler ve nihai olarak biyofilm oluşur [156]. Yüzeye tutunan ve çevreleyen bakteriler, polisakkarid ve protein içeren matriks içinde çoğalarak biyofilmi oluştururlar.

Biyofilmler her yerde bulunur ve mikroorganizmalar (bakteri, maya, alg, mantar veya protozoa) yüzeylere yapıştıklarında oluşurlar. Bir kere yapıştığında, planktonik bakteriler fenotipik değişime giderler ve dakikalar içinde sulu bir matriks (slime), hücre dışı polimerik malzeme (extracellular polymeric material, EPS) veya biyofilm matriksi, biriktirirler [157]. Antibiyotikler, fagositler (phagocytes) ve diğer humoral bağışıklık yanıtlayıcılar (humoral immune responders) bu oluşan biyofilmden dolayı bakterilere ulaşamadığından, bu tür enfeksiyonlar konak savunma mekanizması ve antibiyotik tedaviye karşı oldukça dirençli olmaktadır. Bu nedenle bu tür enfeksiyonlardan kurtulmak için implantların vücuttan çıkarılması gereklidir [158-160]. Bakteriyel yapışma ve biyofilm oluşumu, mikroorganizma türüne ve sayısına [161-163], implant malzemesine, implant yüzeyinin fiziksel ve elektrokimyasal özelliklerine göre farklılık gösterebilmektedir [164-167]. *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*, çoğunlukla implant nedenli enfeksiyona yol açan mikroorganizmalardır.

Spinal cerrahisinde, ameliyat sonrası gelişen enfeksiyon, en bilinen komplikasyonlardandır [168-173]. Literatürde, spinal cerrahisinde bu tür enfeksiyon oranını %0,7-%16 olarak bildirilmektedir [174]. Bu enfeksiyonlar genelde uzun

sürelî antibiyotik tedavisi, tekrarlanan cerrahi müdahale, implantın çıkarılması ve uzun süreli hastane yatışı gerektirmektedir [175]. Birçok karmaşık süreçler içeren müdahaleler daha yüksek enfeksiyon oranları ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, spinal cerrahisi, diğere ortopedik süreçlere göre daha yüksek enfeksiyon riski taşımaktadır [176]. Spinal cerrahisindeki diğere bir problem, ameliyet süresidir [177-178]. Cerrahi etkenler yanında hastanın ameliyat öncesi durumu (ilerlemiş yaş, yüksek vücut kitle endeksi, sigara, diyabet, steroid kullanımı vb.) da ameliyat sonrası komplikasyonları artırıcı etki oluşturabilmektedir.

Spinal füzyon ameliyatlardaki dramatik artış ile birlikte bu enfeksiyonlarda da artış beklenmektedir [118, 179]. Bu da, hasta morbiditesi (hastalık) ve nadir olarak mortalitesi (hasta ölümü), sağlık kaynaklarının kullanımı ve maliyeti açısından büyük bir yük getirmektedir. Spinal implant enfeksiyonları diyagnostik (tanısal) ve tedavi yönden birçok zorluklar içermektedir [180-182]. Spinal implant enfeksiyonlarının tedavisinde amaç, stabil omurga ve iyileşmiş bir enfeksiyonun yanında ağrısı geçmiş bir hastadır. Bu amaca ulaşmak için ilgili tedavi stratejileri, omurganın stabilitesi yanında konağın komorbiditesi, patojen faktörleri, mevcut tıbbi ve cerrahi olanaklar göz önünde tutularak geliştirilmelidir. Erken enfeksiyon implantasyondan haftalar sonrasına tekabül ederken geç enfeksiyon yıllar sonraki, çoğunlukla kronik ağrı, implant hasarı veya yetersiz spinal füzyon ile gelişen enfeksiyondur. Erken başlangıçlı yara enfeksiyonu (early-onset wound infections) ve geç başlangıçlı enfeksiyonlar (late-onset wound infections) mikrobiyolojik özellikler ve yönetim stratejileri açısından birbirinden farklıdır [181, 183]. Spinal implantlar, vertebral vücut füzyonundan önce ameliyat sonrası erken dönem boyunca gerekli stabilizeyi sağlamaktadır. Bu nedenle, prensiplere bağlı kalarak enfekte olmuş yabancı cisim çıkarılmak istenmeyen sonuçlara yol açabilmektedir. Geç başlangıçlı enfeksiyonları olan hastalarda, teşhis sırasında füzyon olmuş (kaynamış), stabil bir omurga ile karşılaşma olasılığı daha yüksektir. Dolayısıyla, bu hastalarda implant çıkarılabilir ve sistemik antimikrobiyal tedavi uygulanabilir. Tıbbi ve cerrahi tedavi stratejileri açısından, özellikle erken başlangıçlı enfeksiyonlar için, herhangi bir standart süreç ve fikir birliği bulunmamaktadır.

İmplant yüzeyinde bakteri yapışması, doku rejenerasyonu (hücre tutunması ve gelişimi) olmadan önce meydana gelirse, konak savunma mekanizması genelde

biyofilm oluşturabilen bakteri turlerinin kolonizasyonu engelleyemez. Bu nedenle, implant nedenli enfeksiyonu engellemek amacıyla bakteriyel yapışmanın önlenmesi çok önemlidir, çünkü biyofilm bağışıklık sistemi ve antibiyotiklere karşı oldukça dirençlidir [184-186]. Dolayısıyla, ortopedik implantlarda başarı sağlamak için, implant malzemeleri kemik oluşturucu hücreler için yaşanabilir olmalı (osteoblast hücrelerin yapışması teşvik edilmeli), yumuşak doku oluşumu (fibroblast hücrelerin yapışması) engellenmeli ve anti-enfektif (bakteriyel yapışmasını önleyen) olmalıdır [187]. Bir implant yüzeyinde biyofilm oluştuğunda, genelde implantın yerinden çıkarılması ve antibiyotik tedaviye başlanması gerekmektedir. Bu nedenle, bu tür oluşumları önlemek için biyofilm oluşumundan önce profilaktik antibiyotikler veya kolonizasyonu önleyen veya antimikrobiyal özelliklere sahip “akıllı” yüzeyler gibi yeni stratejiler geliştirilmelidir. Bu yüzeyler genelde çeşitli kaplama yöntemleri ile oluşturulmaktadır. Özellikle, uzun vadeli koruma için, inorganik Ag, çok düşük ppb konsantrasyonlarında geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olduğundan birçok kaplamada kullanılmaktadır [31-35]. Ag, bakteriyel tutunmayı engelleyerek [36], uzun süreli etki sağlamakta ve gerekli dozlarda düşük sitotoksiste, düşük bakteriyel direnç gelişim riski göstermektedir [37, 38]. Saf Ag kaplamalar yanında, Ti-Ag [34], TiN-Ag [39, 40], TaN-Ag [41, 42], DLC-Ag [43, 44], Ti-Mg-Ag(Pt) [45] vb. kaplamaların bazıları gelişim ve klinik çalışma aşamalarında iken bazıları kullanılmaktadır. Ancak, metalik Ag insan dokusunda bir inert malzeme olarak davranmakta ve herhangi bir antibakteriyel etki göstermemektedir [46, 47]. Ag’ün mikroorganizmalara karşı etkili olabilmesi (öldürebilmesi) için iyonik, Ag⁺, formda olması gerekmektedir. Bu şekilde biyolojik moleküllerin elektron donör gruplarına bağlanarak etkisini gösterebilmektedir [31, 48]. Ag içeren malzemelerin antibakteriyel etki sağlayabilmeleri için biyolojik ortama Ag⁺ salımı yapmaları gerekmektedir. Ag’nin en büyük dezavantajı, elektrokimyasal esalarına dayanan salım kinetiğidir ve hasarlı dokuda bakteriyel kolonizasyonu engellemek için düşük olabilmektedir [49]. Birçok alışma, gümüşe platin dope edilmesi ile bir Ag-Pt arasında bir galvanik etki oluşturarak Ag⁺ salımı artırılabil-diğini göstermiştir [50, 51].

3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu tez çalışması bir Avrupa Birliği projesi olan Eurostars programı tarafından desteklenmiş olup pazar odaklı bir AR-GE proje çalışmasıdır. Çalışmanın amacı, PEEK implantlara antibakteriyel davranış ve geliştirilmiş osseointegrasyon özellikler kazandırmaktır. Bu amaçla PEEK esaslı implantlar, yüzey topografisinden ve şeklinden beklenen özellikleri karşılayacak şekilde, yüksek sıcaklıkta enjeksiyon kalıplama ile üretilmiştir. İmplantta osteokondüktif, antibakteriyel davranış kazandırmak amacıyla yüzeyinde vakum kaplama yöntemi ile kademeli nano yapıli kaplamalar üretilmiştir. Bu üretilen kaplamalar doğru seçilmiş karakterizasyon metotları ile, kimyasal, yapısal, mekanik ve biyouyumluluk açısından test edilmiştir. Bu kapsamda yapılan testlerin iş akışı ve uyulacak standartlar detaylı bir şekilde aşağıda verilmiştir.

PEEK esaslı numune ve intervertebral disk implantlar (lumbar & cervical interbody fusion devices) DOPA İlaç San.Tic. Ltd. Şti. (DOPA) tarafından enjeksiyon kalıplama yöntemi ile üretilmiştir (geleneksel CNC mekanik işlemeleme göre daha ekonomik, çevre dostu).

Numune ve implant yüzeyinde, farklı mimaride nano yapıli kaplama JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH tarafından üretilmiştir. Bunun için yeterli kaplama yapışmasını (adhesion) sağlamak amacıyla lineer iyon kaynak plazma ile PEEK yüzeyinin aktivasyonu sağlanmış ve daha sonra magnetron sputterlama ile nanoyapılı Ti-Mg-Ag kaplamalar gerçekleştirilmiştir.

Üretilen kaplamalar aşağıda verilen karakterizasyon yöntemleri ile incelenmiştir.

Film kalınlığı, topografi ve yapı;

- mekanik profilometre ile film kalınlığının belirlenmesi
- x-ışını difraksiyonu (XRD, X-Ray Diffraction) ile yapı analizi
- taramalı elektron mikroskopu (SEM, Scanning Electron Microscope) ile yüzey kalitesinin incelenmesi ve enerji dağılım spektrometresi (EDS, Energy Dispersive Spectrometer) ile mikroanaliz

- atomik kuvvet mikroskobu (AFM, Atomic Force Microscope) ile nanoboyutta yüzey pürüzlülüğünün ölçülmesi

Mekanik özellikler;

- çizik testi (scratch test) ile yapışma karakterizasyonu
- ultra-mikro sertlik ölçümü ile elastik modül ve sertliğin belirlenmesi

Islatılabilirlik;

- su temas açısı ölçümleri ile yüzey hidrofobisite/hidrofilisite özelliğinin belirlenmesi

Kaplamaların biyobozunma davranışı;

- ISO 10993-15'e göre simule edilmiş (yapay) vücut sıvısı (SBF, Simulated Body Fluid) içinde biyobozunma davranışının belirlenmesi

In vitro olarak biyolojik değerlendirme;

- ISO 22196 göre antibakteriyel etkinin (*Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*) belirlenmesi
- osteokondüktivite özelliğinin belirlenmesi (osteoblast veya osteosarcoma hücre yapışması, çoğalması, farklılaşması)
- ISO 10993-5'e göre sitouyumluluk (cytocompatibility) özelliğinin belirlenmesi
- ISO 10993-3'e göre genotoksisite özelliğinin belirlenmesi

In vivo olarak biyolojik değerlendirme

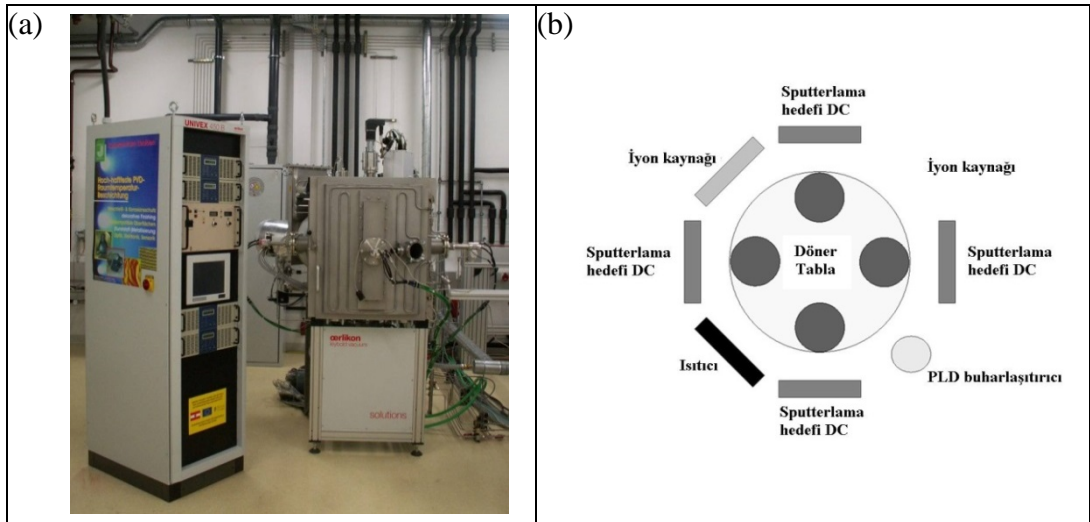
- ISO 10993-10'a göre deri içi iritan ve sensitif özelliklerinin belirlenmesi
- ISO 10993-11'e göre akut, subakut, kronik ve sistemik toksisite özelliklerinin belirlenmesi
- ISO 10993-6'e göre implantasyon ve bölgesel patolojik etkilerin histolojik incelemesi

Bu tür projeler sanayiye yönelik olduğundan kaplamaların biyolojik değerlendirme kapsamında *in vitro* ve *in vivo* test çalışmaları akredite bir laboratuvar olan TÜBİTAK'a (TÜBİTAK MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü), antibakteriyel test ise Egemikal Laboratuvarı'na (Ege Üniversitesi Egemikal Analiz Laboratuvarı) yaptırılmıştır.

3.1. Kaplama Süreci

Kaplamaların geliştirilmesi ve üretimi Joanneum Research'de gerçekleştirilmiştir. Kaplamalar, yüksek vakum altında ve düşük sıcaklıkta (maks. 50°C) magnetron sputterlama yöntemi ile hazırlanmıştır. Bu yöntem, hedef (target) bir malzemenin iyonize edilmiş inert gaz parçacıklar (örneğin Argon gazı) tarafından atomize edilmesine dayanmaktadır. Bu iyonlar, hedefin arkasına yerleştirilmiş mıknatıslar vasıtasıyla oluşturulan magnetik alan sonucu hedef malzemenin etrafında oluşturulan elektriksel alan içinde yoğunlaşmaktadır. Yüksek vakum (~0.005 mbar Argon-basıncı) altında çarpışma sonucu oluşan iyonizasyon, tabaka oluşumlarına yol açmaktadır.

JR'da, magnetron sputterlama, plazma ve iyon destekli ön işleme süreçleri ile kombine edilerek iyi bir kaplama yapışması sağlanmaktadır (Şekil 3.1). Ayrıca kaplama öncesi altlık malzeme yüzeyinin kirlilik ve oksit tabakalardan temizlenmesi için magnetron sputterlamadakine benzer bir iyon kaynağı (Anode Layer Ion Source, ALS) kullanılmaktadır. Bu iyon kaynağı ile inert gaz, elektriksel ve magnetik alan içine gönderilerek iyonize edilmekte ve yüksek enerjiye sahip iyonlar oluşturulmaktadır. Bu kaplama yönteminin alternatifi olan plazma sprej kaplamalar PEEK'e yetersiz yapışma getirmekte, ark ile biriktirme, darbeli lazer biriktirme, vb. gibi diğer vakum biriktirme teknikleri ise ya çok pürüzlü yüzey ve düşük süreç kontrolüne neden olmakta ya da herhangi bir maliyet etkinliği sağlamamaktadır.

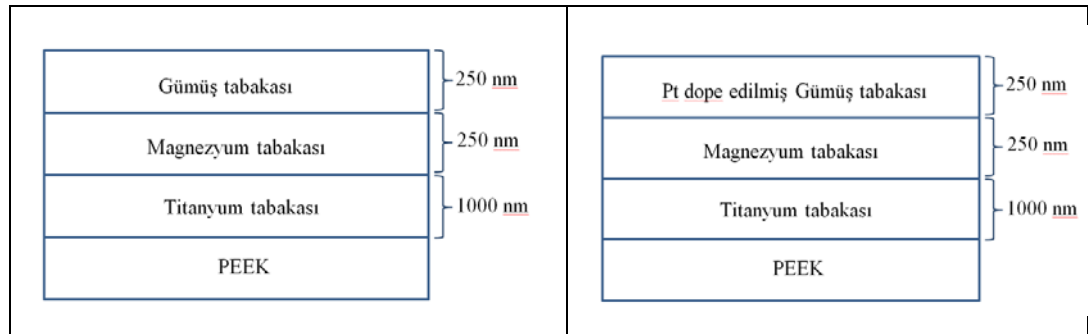


Şekil 3.1. Vakum kaplama sisteminin (a) genel görünümü, (b) iç haznesinin şematiki olarak gösterimi

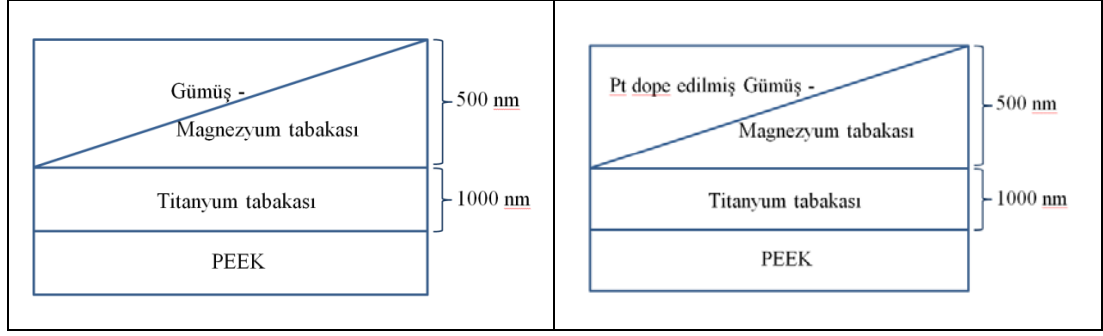
Çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş olmak üzere iki farklı kaplama çeşidi hazırlanmıştır. Bu kaplamaları oluşturan tabakaların her biri tek tabakalı olarak da hazırlanmış ve incelenmiştir. Kaplama çeşitleri ve kalınlıkları Tablo 3.1’de, kaplama yapıları çok tabakalı kaplamalar için Şekil 3.2’de ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalar için Şekil 3.3’de ayrıntılı bir şekilde verilmiştir. Her iki kaplamada en alt tabakayı 1000 nm kalınlığında, osteokondüktif, uzun süreli kararlı titanyum tabaka oluşturmaktadır. Çok tabakalı kaplamada ara tabaka 250 nm magnezyum ve en üst tabaka 250 nm gümüş/platin dope edilmiş gümüş tabakadan oluşmaktadır. Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada ise Ti’un üstünde, Mg ve Ag’ün derişimlerinin kalınlık boyunca değiştiği fonksiyonel olarak derecelendirilmiş bir tabaka bulunmaktadır. Mg’un derişimi Ti’un hemen üstünde %100 iken kalınlık boyunca yüzeye doğru azalmaktadır. Ag ve Ag/Pt ise tam aksine yüzeyde % 100 iken arayüzeye doğru azalmaktadır.

Tablo 3.1. Deneysel çalışmada kullanılan kaplamaların kodlanması ve yapıları

Örnek kodu	Nominal kalınlık (nm)	Ölçülen toplam kalınlık (nm)	Hesaplanan tabaka kalınlıkları (nm)
Ti	1000	1009	1009 nm Ti
Ti + Mg	1500	1533	1022 nm Ti + 511 nm Mg
Ag	1000	1043	1043 nm Ag
Ag/Pt	500	140	140 nm Ag/Pt
Ti+ML	1500	1548	1030 nm Ti + 259 nm Mg + 259 nm Ag
Ti+ML/Pt	1500	1406	938 nm Ti + 234 nm Mg + 234 nm Ag/Pt
Ti+GL	1500	1560	1040 nm Ti + 520 nm Grad (Mg+Ag)
Ti+GL/Pt	1500	1550	1034 nm Ti + 516 nm Grad (Mg+Ag/Pt)

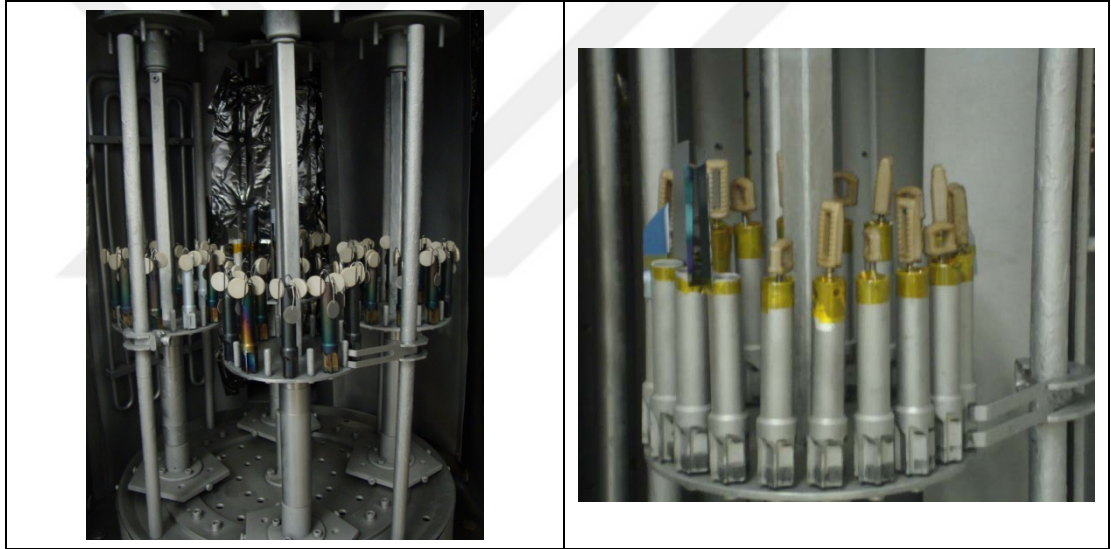


Şekil 3.2. Çok katmanlı kaplamanın (a) Pt dope edilmemiş (b) Pt dope edilmiş yapısının şematik gösterimi



Şekil 3.3. Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamanın (a) Pt dope edilmemiş (b) Pt dope edilmiş yapısının şematik gösterimi

Homojen ve verimli bir kaplama sağlamak amacıyla disk numuneler (Şekil 3.4a) ve implantlar (Şekil 3.4b), kaplama haznenin içinde bulunan 3 eksenli dönen taşıyıcılara (planetary) yerleştirilir.



Şekil 3.4. (a) Disk numunelerin (b) implant malzemelerin kaplama haznenin içine yerleştirilme şeklinin gösterimi

Şekil 3.5’de kaplanmış implantların görüntüleri verilmiştir. Alt ve üst yüzeyde bulunan testere dişleri, omurgaya mekanik olarak tutunmayı sağlamakta olup tıbben gerekli yüzey yapılarıdır. İçinde bulunan boşluklar otolog kemik malzemesi (autologous bone material) ile doldurulabilir. Ön tarafta bulunan yarık benzeri açıklıklar, cerrahi müdahale sırasında implantın vücut içerisine yerleştirilmesinde aletler ile tutulmasını sağlamaktadır.



Şekil 3.5. Kaplanmış implantaların nihai makro görüntüleri

3.2. Kaplamaların Mikroyapısal ve Topografik Özelliklerinin Belirlenmesi

Kaplamaların mikroyapısal ve topografik özelliklerin incelemeleri üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada XRD analizi ile kaplamaların kristalin yapısı belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen difraktogramlardan kaplamalarda bulunan fazların kristalit boyutları hesaplanmıştır. İkinci aşamada SEM/EDS analizi ile kaplamaların yüzey morfolojileri incelenmiştir. Üçüncü aşamada kaplamaların topografik özellikleri AFM ile araştırılmış ve yüzey pürüzlülük parametreleri belirlenmiştir.

3.2.1. XRD analizi

Kaplamaların yapısal analizi, X-ışını difraksiyon cihazı (XRD, Rigaku RINT Ultima+ difraktometre) ile yapılmıştır. İncelemeler, 40 kV'da, CuK_α radyasyonu kullanılarak, $1^\circ\text{C}/\text{dak}$ tarama hızında, $10-90^\circ$ tarama aralığında Bragg-Brentano tarama geometrisi (theta-theta) ile gerçekleştirilmiştir. Kaplamaları oluşturan fazların kristalit boyutu, D, aşağıda verilen Scherrer eşitliğinden hesaplanmıştır [188, 189].

$$D = \frac{0,9 \times \lambda}{B \times \cos \theta} \quad (3.1)$$

Burada, λ , CuK_α x-ışını dalgaboyunu ($1,514 \text{ \AA}$), B, maksimum pikin yarı yüksekliğindeki genişliğini (FWHM, Full Width at Half Maximum) ve θ difraksiyon açısını göstermektedir. Kaplamaların tabakalı yapısı gereğince XRD analizinde, arka plandan (background) gelen küçük geniş piklerden ve birbiri ile çakışan piklerden kaynaklanan hataları engellemek amacıyla kristalit boyut hesaplamalarında en kuvvetli pikler kullanılmıştır.

3.2.2. SEM/EDS analizi

Kaplama yüzeylerinin morfolojik incelemeleri EDS (I-XRF) donanımlı SEM (Jeol, JSM6060) ile gerçekleştirilmiştir. Daldırma testi ve osteokondüktivite testi sonrası, görüntüleme sırasında yüzeyde oluşabilecek herhangi bir elektron yüklenme (şarj etkisi, charge effect) etkisine neden olmamak için kaplama yüzeyleri görüntüleme öncesi altın ile kaplanmıştır. Görüntülemeler hem topografik kontrastta ikincil elektronlar (SE, Secondary Electrons) ile hem de materyal kontrasta geri saçılmış elektronlar (BSE, Backscattered Electrons) ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 AFM analizi

Kaplama yüzeylerinin topografik incelemeleri AFM (NanoMagnetics Instruments, ezAFM) ile yapılmıştır. İncelemeler tapping modunda, PPP-NCLR cantilever (NANOSENSORS™) ile topografik ve faz olmak üzere iki farklı kontrastta gerçekleştirilmiştir. Görüntüler ezAFM v3.30 programı ile işlemlenmiş ve yüzey pürüzlülük parametreleri belirlenmiştir.

AFM, keskin bir prob (uç, <10 nm) ile çok kısa mesafedeki (0.2-10 nm) bir yüzey arasındaki kuvvetleri ölçerek yüzeyin nano boyutta üç boyutlu (3D, 3 Dimensional) profilini verir. Prob esnek bir cantilevere tutturulmuştur. AFM ucu, yumuşak bir şekilde yüzeye temas ederek prob ve yüzey arasındaki küçük kuvveti ölçer. Üç boyutlu AFM topografi görüntüleri, pürüzlülük, kusurlar, amorf ve kristalin faz, çekirdeklenme ve büyüme modları gibi kaplama yapısı hakkında nano boyutta bilgi vermektedir. Topografik görüntüleme genelde tapping modda yapılır. Bu modda, cantilever kendi rezonans frekansına yakın bir değerinde salınım (oscillation) yaptırılarak prob ucu sadece belli aralıklardaki salınım çevriminde yüzeye temas eder. Bu şekilde, kontakt (contact) moda göre hem uca hem de numune yüzeyine daha az hasar vermiş olur. Tapping moddaki uzaysal (spatial) çözünürlük çok ince uçlarda dolayısıyla çok küçük uç-yüzey temas alanında artmaktadır. Böylece atomik ve kristal yapı dahi çözülebilmektedir.

Pürüzlülük parametreleri, topografi görüntüsünden elde edilen karmaşık 3D bilgilerini özetlemektedir. Yüzey pürüzlülüğü; ortalama pürüzlülük (S_a , average roughness), karekök ortalama pürüzlülüğü (S_q , root mean square roughness), pürüzlülük çarpıklığı (S_{sk} , roughness skewness), pürüzlülük basıklığı (S_{ku} , roughness

kurtosis) gibi genlik parametreleri ile tanımlanmaktadır [190]. Bu genlik parametreleri, bir yüzeyin topografisi ile ilgili istatistiksel ortalama değerleri, histogram yükseklikleri ve şekilleri gibi özellikleri hakkında bilgi verir. S_a , ölçülen uzunluk/alan boyunca ortalama yüksekliği verir. S_q , ölçülen uzunluk/alan boyunca yükseklik değerinin karelerin ortalamasının kareköküdür. S_q , S_a 'ya göre daha hassas bir değer olup ortalama profil yüksekliğinden standart sapmayı ifade etmektedir. S_{sk} , profil/yüzey yüksekliklerinin simetrisini ölçmek için kullanılır. S_{sk} değeri, ortalama çizginin üstünde ve altındaki sivri tepelerin dağılımını göstermektedir. Pozitif S_{sk} , tornalanmış bir yüzeye benzer, ortalamanın üzerinde oldukça yüksek çıkıntılara sahip bir yüzeyi ifade etmektedir. Gözenekli bir yüzey gibi negatif bir S_{sk} değeri gösteren bir yüzey daha düz bir platoda oldukça derin vadiler içermektedir. Daha gelişigüzel (random) yüzeyler 0'a yakın bir değer vermektedir. S_{sk} değeri 1,5'un (negatif veya pozitif) üzerinde olanlar karmaşık yüzeylere sahip olup, yüzeyin yapısını tanımlamak için daha fazla parametreye gerek duyulur. S_{ku} , ortalama çizgi/düzlemin üstünde ve altındaki tepelerin sivriliklerinin (peakedness) bir ölçüsüdür. Çok sivri tepeler (çıkıntılar) içeren yüzeyler için $S_{ku} > 3$; yumrumsu (bumpy) yüzeyler için $S_{ku} < 3$, mükemmel kusursuz yüzeyler için $S_{ku} = 3$ 'dür. Gaussian dağılım gösteren bir yüzey için çarpıklık 0 ve basıklık 3 değerini alır.

3.3. Kaplamaların Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Biyomalzemelerde yüzeyin yapısal, kimyasal özellikleri yanında mekanik kararlılığı ve tribolojik performansı da önemlidir. Özellikle cerrahi müdahale sırasında vücut içerisine yerleştirirken herhangi bir deformasyona, çizilmelere uğramaması gerekmektedir. Dolayısıyla kaplamaların mekanik özelliklerin belirlenmesinde kullanılan testler bu doğrultuda seçilmiştir. Kaplamaların sertlik ve elastik modülleri ultra-mikrosertlik yöntemi ile belirlenirken, yapışma mukavemeti ve tribolojik performansı için çizik testi kullanılmıştır. Kaplamaların yapışma mukavemetini belirlemek için ayrıca Rockwell indentasyon testi kullanılmıştır. Ancak yüksek elastik deformasyon sergileyen kaplamalarda yapışma bu yöntem ile belirlenmemektedir. Bu nedenle çizik testi uygulanmış ve kaplama ile altlık malzeme arasındaki yapışma optik, akustik, derinlik profili ve SEM ile belirlenmiştir.

3.3.1. Ultra-mikro sertlik ölçümleri

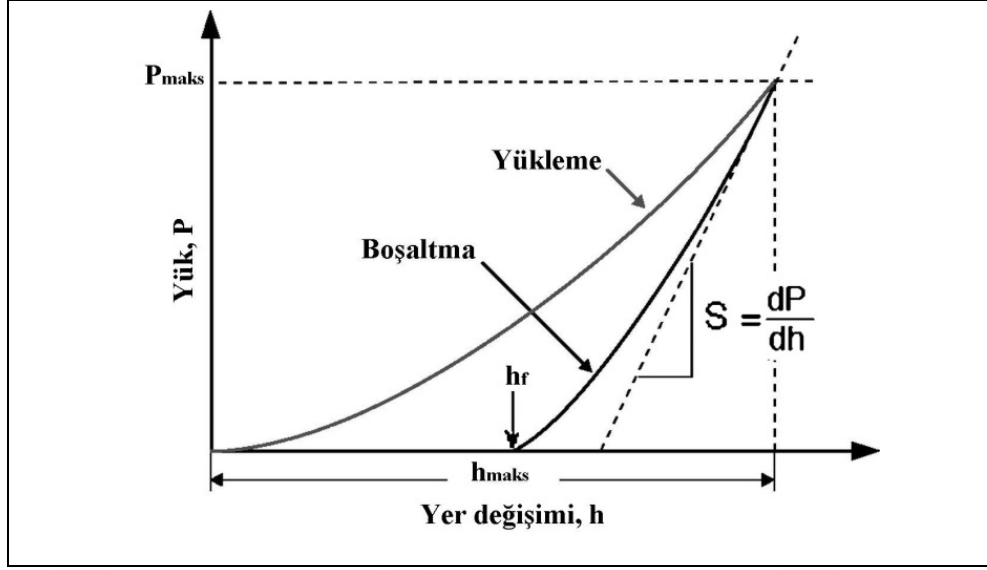
Malzeme üzerine batıcı bir uç (indenter) ile yapılan yükleme ve boşaltma sırasında yük ve yer değişimi algılanarak yapılan indentasyon tekniği, ince film, kaplama vb. yapıların mekanik özelliklerinin belirlenmesine izin vermektedir [191, 192]. Indentasyon testinin en büyük avantajı, test sonrası izin görüntüsünü almadan sertlik, elastik modül gibi mekanik özelliklerin direkt ölçülebilmesidir. Ayrıca oluşan indentasyon izinin değerlendirilmesi ile malzemenin kırılma tokluğu gibi deformasyon davranışı incelenebilmektedir.

İnentasyon tekniği ile 20 nm'den daha düşük penetrasyon derinliklerinde mekanik özellikler belirlenebilmektedir. İnentasyon tekniğinde batıcı ucun geometrisi önemli bir parametredir. Mükemmel bir uç şekli elde etmek çok güçtür. Berkovich uç, üç kenarlı bir piramit olup keskin sivri bir uç sağlamaktadır. Vickers uç, dört kenarlı bir piramit olup hafif bir offset sergilemektedir. Bu nedenle indentasyon testlerinde daha çok Berkovich uç kullanılmaktadır.

Bu yöntemde, bir indentasyon sırasında kaydedilen yük-yer değişimi verilerinden bir malzemenin sertlik ve elastik modülü ölçülebilmektedir [193]. Genelde bu yöntem Berkovich uçlar için geliştirilmesine rağmen diğer uçlar için de kullanılabilir.

Şekil 3.6'da şematik olarak Berkovich uç ile alınan tipik bir yük-yer değişimi eğrisi verilmiştir.

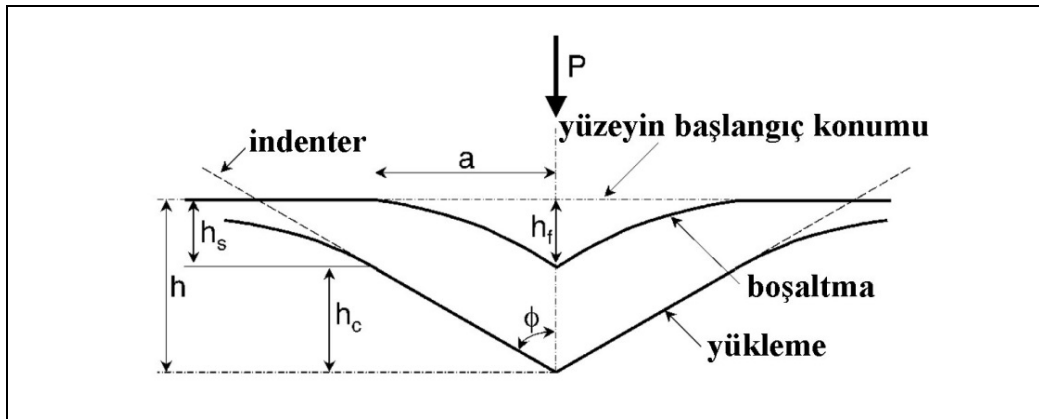
Burada P uygulanan yükü, h ilk konumuna göre yer değişimini (batma derinliğini) ifade etmektedir. Yükleme sırasında hem elastik hem de plastik deformasyon söz konusu iken boşaltma sırasında sadece elastik yer değişiminin geri kazanıldığı kabul edilir.



Şekil 3.6. Berkovich uç ile alınan tipik bir yük-yer değişimi eğrisinin şematik gösterimi [193]

P-h eğrisinden üç önemli değer ölçülebilir; maksimum yük, P_{maks} , maksimum yer değişimi, h_{maks} ve boşaltmanın ilk evrelerinde kaydedilen boşaltma eğrisinin üst kısmının eğimi olarak tanımlanan elastik boşaltma rijitliği (stiffness), $S = dP/dh$. Diğer önemli değer ise, tamamen boşalıktan sonraki kalıcı batma derinliği olan nihai derinlik, h_f 'dir.

H ve E'yi ölçmek için kullanılan ve temeli boşaltma aşamasına dayanan yöntem şematik olarak Şekil 3.7'de gösterilmiştir. Bu modellemede temas yüzeyi rijit bir zımba (punch) olarak kabul edilmiştir. Bu yöntemde, bazı elastik-plastik davranış sergileyen malzemelerde gerçekleşen yığılma (pile-up) ihmal edilmiştir.



Şekil 3.7. Boşaltma aşamasındaki temas yüzeyinin geometrisinin şematik gösterimi (193)

Buna göre, batma derinliği aşağıda verilen eşitliğe göre verilmiştir:

$$h = \epsilon \cdot \frac{P_{maks}}{S} \quad (3.2)$$

Burada, ϵ ucun geometrisine bağlı bir sabittir. Konik bir zımba için $\epsilon = 0,72$ parabolik için $\epsilon = 0,75$ ve düz zımba için $\epsilon = 1$ 'dir. Eşitlik (3.2)'yi kullanarak temas ucun dikey yer değişiminin hesaplanması Şekil 3.7'de verilen geometriye göre aşağıdaki eşitlikle verilir:

$$h_c = h_{maks} - h_s \quad (3.3)$$

ve

$$h_c = h_{maks} - \epsilon \cdot \frac{P_{maks}}{S} \quad (3.4)$$

F(d), ucun kesit alanını veren "alan fonksiyonu" olarak tanımlandığında temas alanı A, $A = F(d)$ ifadesi ile verilir. Genelde ucun şekil fonksiyonu olarak da adlandırılan alan fonksiyonun, ideal uçdan sapmaları hesaba katmak amacıyla dikkatli bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir.

Alan fonksiyonunu belirledikten sonra, sertlik aşağıda verilen eşitlikten hesaplanır:

$$H = \frac{P_{maks}}{A} \quad (3.5)$$

Elastik modül, temas alanı ve ölçülen boşaltma rijitliği ile ilişkili olup aşağıda verilen eşitlikten hesaplanmaktadır:

$$S = \beta \cdot \frac{2}{\sqrt{\pi}} \cdot E_{etkin} \cdot \sqrt{A} \quad (3.6)$$

Burada E_{etkin} , etkin elastik modülü verir ve aşağıda verilen eşitlikten hesaplanır:

$$\frac{1}{E_{etkin}} = \frac{1-\nu^2}{E} + \frac{1-\nu_i^2}{E_i} \quad (3.7)$$

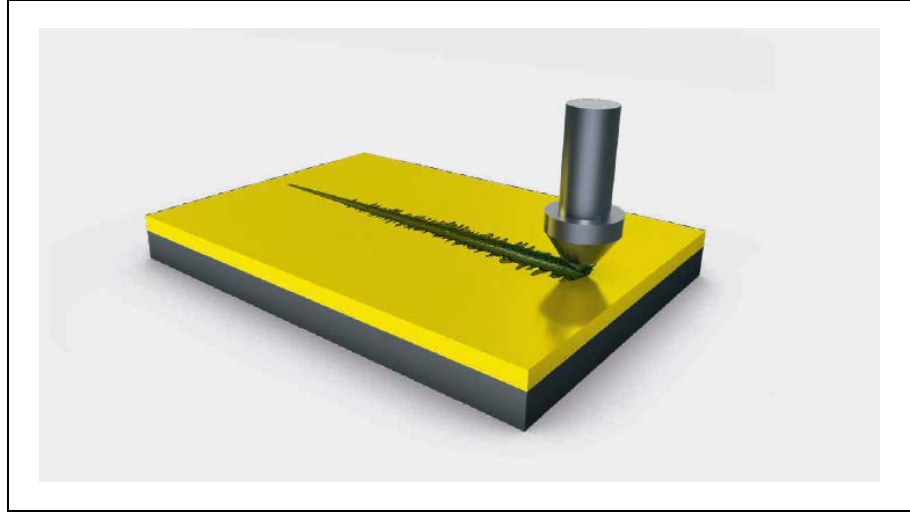
Etkin elastik modül, elastik yer değişiminin hem elastik modülü, E ve Poisson oranı, ν olan numune hem de elastik modülü, E_i ve Poisson oranı, ν_i olan uçlarda gerçekleştiği gerçeğini kabul eder.

Eşitlik 3.6'da verilen düzeltme faktörü, β , ideal şekle (eksen simetriği) sahip olmayan uç için hesaplanan bir sabittir. Rijit ve eksen simetriği olan zımbanın elastik bir malzemede oluşturduğu küçük deformasyonlar için uygulanan β değeri 1 olarak alınır. Çok küçük deformasyonlar ancak yarı açısı 90° 'ye yakın uçlarda olur. W.C. Oliver ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Berkovich uç için $\beta = 1.05$ (hata payı ± 0.05) olarak bulunmuştur [193].

Kaplamaların sertlik ve elastik modül özellikleri ultra-mikro sertlik indentasyon cihazı (Fischerscope HV100) ile gerçekleştirilmiştir. Uç olarak Berkovich elmas uç kullanılmıştır. Altlık malzemeden gelen etkiyi kaldırmak için ultra-mikro sertlik ölçümleri silikon plakalara kaplanmış tabakalar üzerinde, kaplama kalınlığının 1/10 kuralına uyularak gerçekleştirilmiştir. İndentasyon testinde uygulanacak yük en düşük kalınlığa sahip $1 \mu\text{m}$ Ag tek tabakalı kaplama üzerinden 1,2 mN olarak belirlenmiştir.

3.3.2. Çizik testi

Çizik testi, kaplamaların yapışma mukavemetinin bir ölçüsü olan kritik yükleri belirlemede yaygın bir biçimde kullanılan, hızlı ve etkili bir metottur. Bir elmas uç (stylus), doğrusal olarak artan bir yükü bir numune yüzeyinde hareket eder (Şekil 3.8). Bu hareket esnasında kaplama-altlık malzeme arayüzeyinde veya kaplamayı oluşturan tabakalar arasında oluşan gerilmeler sonucu kaplamada pullanma (spalling), talaş kalkma (chipping) gibi hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarların oluştuğu kritik yükler (L_c), yatay (tangential) kuvvetteki, akustik emisyon sinyaldaki dalgalanmalar veya ışık mikroskobu ile belirlenebilen yüzeydeki deformasyonlardan ölçülebilmektedir. Genelde daha düşük değerlerde olan kritik yük (L_{c1}), kaplama içindeki kohezif hasarı belirtirken daha yüksek değerlerdeki kritik yük (L_{c2}) ise kaplama ve altlık malzeme arasındaki adhezif hasara işaret etmektedir [194].



Şekil 3.8. Çizik Testi platformunun bir şematik gösterimi [195]

Nano çizik testi (NST, NanoScratch Tester CSM-Instruments) ile kademeli olarak artan yükler altında kaplamaların yapışma dayanımı belirlenmiştir. Çizik testi çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara uygulanmıştır. Çizik testi 100 µm Rockwell elmas uç ile 0,03 – 3 N artan yük aralığında 3 mm'lik çizik izi oluşturularak yapılmıştır. Çizik testlerinde, her bir kaplama numunesi için 6,06 mm/dak çizme hızı ve 6000 mN/dak yükleme hızı kullanılmıştır. Kaplamaların hasar mekanizmalarını incelemek amacıyla uygulanan yük aralığında çizik test izleri SEM/EDS ile görüntülenmiştir. Kaplamanın yapışma mukavemetini gösteren L_{c1} ve L_{c2} kritik yükleri belirlenmiştir.

3.4. Kaplamaların Biyobozunma Davranışının Belirlenmesi

Bu çalışmanın amacı, PEEK'in osteokondüktivitesini geliştirmenin yanında antibakteriyel özellik kazandırmaktır. Bu doğrultuda osteokondüktif özelliğinin geliştirilmesi amacıyla hiçbir şekilde biyobozunma göstermeyen, osteokondüktif ve kararlı Ti seçilmiştir. Ancak sadece bu amaçla kullanılan saf titanyum kaplamalar yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, implant ve kemik arasında daha hızlı ve kuvvetli bağ oluşumu, hastanın hızlı iyileşmesi amacıyla biyobozunur, biyoaktif olan Mg da kullanılmıştır. Kaplamaya antibakteriyel davranış kazandırmak ise Ag ile amaçlanmıştır. Ag'ün çözünürlüğünü artırarak antibakteriyel etkisini geliştirmek amacıyla Ag'e Pt dope edilmiştir.

Yukarıda da açıklandığı gibi kaplamayı oluşturan tabakalarda Ti tabaka kararlı ve çözünmesi istenmezken, Mg ve Ag/Ag-Pt'un çözünmesi istenmektedir. Burada biyolojik ortam söz konusu olduğundan biyobozunma/biyočözünme terimi kullanılmıştır. Kaplamalardaki çözünme elektrokimyasal bir süreç olduğundan kullanılan testler bu doğrultuda seçilmiştir. Kaplamanın biyobozunma mekanizmasını açıklamak için daldırma testi ve elektrokimyasal test kullanılmış ve ISO-10993-15'e göre gerçekleştirilmiştir.

Biyolojik ortam olarak % 0,9'luk NaCl serum fizyolojik çözeltisi kullanılmış ve tüm deneyler $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir.

3.4.1.Daldırma deneyi

Bu deneyde Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların simule edilmiş vücut sıvısı (Simulated Body Fluid, SBF, PF %0,9 İzotonik, Polifarma) içerisinde çözünmesi farklı sürelerde $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de daldırma yöntemi ile incelenmiştir. Kaplamalar, bir çalkalayıcı içine yerleştirilmiş 100 ml SBF içeren erlenler içinde 1, 2, 6, 12, 24, 48, 96 ve 168 saat bekletilmiştir. Her sürenin sonunda kaplamalar SBF'den çıkarılmış ve yüzeyler SEM/EDS ile incelenmiştir. SBF içindeki elementlerin konsantrasyonu İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometeresi (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer, ICP-MS, Perkin Elmer Elan DRC-e) ile belirlenmiş ve çözeltilerin pH değerleri ölçülmüştür.

3.4.2. Elektrokimyasal deneyler

Kaplamaların biyobozunma mekanizmalarını açıklayabilmek için farklı elektrokimyasal testler gerçekleştirilmiştir. Bunun için, VersaSTAT 4 potansiyotat/galvanostat tarafından kontrol edilen üç elektrotlu bir hücre kullanılmıştır. Elde edilen eğriler VersaStudio programı (version 2.42.3) ile işlemlenmiş ve ilgili değerler hesaplanmıştır. Çalışma elektrodu olarak ilgili kaplamalar, referans elektrot olarak doygun kalomel elektrot (Saturated Colamel Electrot) ve karşıt elektrot olarak da platin kullanılmıştır. Ölçümler yapılmadan önce kaplamalar 1 saat SBF içinde bekletilmiştir.

Korozyon (çözünme) akım yoğunluğu i_{kor} , korozyon potansiyeli E_{kor} , ve polarizasyon direnci R_p Tafel ekstrapolasyon yöntemi ile belirlenmiştir. Test, 1

mV/s tarama hızı ile -250 mV ile 250 mV (SCE'ye karşı) arasında gerçekleştirilmiştir.

Pt'nin Ag'ün biyoçözünmesine etkisi, sadece Ag ve Ag/Pt tek tabakalı kaplamalarda 1.0 mV/s tarama hızında, -200 to 2000 mV arasında gerçekleştirilen potansiyodinamik test ile belirlenmiştir.

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS) ölçümleri, 100 kHz ile 10 mHz aralığında, 10 mV AC genlikde açık devre potansiyelinde gerçekleştirilmiştir. ZSimpWin 3.21 programı kullanarak elde edilen deneysel eğrilere eşdeğer devre tanımlanmış, elektrolit direnci R_{Ω} , yük transfer direnci R_t , ve çift tabaka kapasitansı C_{dl} , gibi empedans parametreleri hesaplanmıştır.

3.5. In vitro Deneyle

3.5.1. Antibakteriyel test

Antibakteriyel test, çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalar ve karşılaştırma amacıyla referans numune olarak kaplanmamış PEEK disk numunelerine uygulanmıştır. Test, Egemikal Çevre Sağlığı Laboratuvarı'nda (Ege Üniversitesi, İzmir) yaptırılmış olup, kaplamaların ISO 22196 (Plastics — Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces)'a göre Staphylococcus aureus ATCC 6538 ve Escherichia coli ATCC 8739 bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri tespit edilmiştir. Bu amaçla referans kültürler, Nutrient Agar besiyerinde, 35°C'de 24 saat geliştirilmiştir. Bu kültürlerden 10^4 kob/ml olacak şekilde süspansiyon hazırlanarak disklere aktarılmıştır. Disklerin üzeri, kültürlerin kurumasını önlemek amacıyla steril film ile kaplanmıştır. İnokülasyon sonrası örnekler 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından örnekler nötralizer içerisine aktarılmış ve vortekleme işlemi ile disklerin üzerinde bulunan organizmaların sıvı ortama geçmesi sağlanmıştır. Referans örnek ve kaplamalarda canlı kalan mikroorganizma sayısını belirlemek üzere dilüsyonlar hazırlanıp petri kaplarına 1'er ml aktarılmış, üzerine 15 ml Plate Count Agar dökülmüştür. 35°C'de 48 saatlik inkübasyonun ardından koloniler sayılmıştır. Aynı işlem daha yüksek bakteri sayıları için (10^5 kob/ml) tekrarlanmıştır.

3.5.2. Osteokondüktivite testi

Osteokondüktivite testi için hücre ekimi TÜBİTAK (Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda Ti tek tabakalı kaplama, Ti+ML, Ti+ML/Pt, Ti+GL ve Ti+GL/Pt kaplamalar üzerine ekilen osteoblast hücrelerin 72 saat sonraki adezyon ve proliferasyon potansiyeli SEM/EDS ile incelenmiştir. Ayrıca, implant malzeme üretiminde kullanılan Ti (grade 2) disk numunesi de aynı koşullarda hazırlanarak karşılaştırılmıştır.

Çalışmada MC3T3-E1 osteoblast hücre hattı kullanılmıştır. MC3T3-E1, fare kalvariden türetilen bir osteoblast öncü hücre hattıdır. MC3T3-E1, kalvariyal osteoblastlarda transkripsiyonel kontrol çalışmaları için fizyolojik olarak uygun hücre hattıdır. MC3T3-E1 hattı, yayılma (proliferation), farklılaşma (differentiation) ve matris mineralizasyonu açısından insan osteoblastına benzer özellikler gösterdiğinden *in vitro* çalışmaları için uygun osteoblast modeli olmaktadır [196].

Bu kapsamda 1 vial pasaj 1 MC3T3-E1 osteoblast hücresi (DSMZ, ACC-210) sıvı azottan alınarak (-196°C) 37°C'lik su banyosunda eritilmiştir. Eritilen hücreler içerisinde besiyeri (DMEM Gigh Glucose + %10 FCS + %1 Antibiyotik) bulunan 15 ml'lik tüplere alınmış ve 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjün ardından üst sıvı aspire edilmiş ve allta kalan hücre peleti besiyeri ile sulandırılarak 100 mm çapındaki petri kaplarına ekilmiştir. Hücrelerin petri yüzeyini kaplamasının (konfluent) ardından hücreler pasajlanmış ve yeniden ekilmiştir.

Kaplamalar üzerine hücre ekimi yapıldıktan 72 saat sonra hücreler fikse edilmiştir. Fiksasyon için; besiyerinin uzaklaştırılmasını takiben steril fosfat tamponlu tuz çözeltisi (Phosphate buffered saline, PBS) ile yıkama gerçekleştirilmiştir. Yıkamayı takiben PBS içerisinde hazırlanmış olan %2,5 gluteraldehit solüsyonu ile hücreler +4°C'de 1 saat boyunca fikse edilmiştir. SEM/EDS analizi için, kaplamalar %30, %50, %70, %90 ve %100'lük (v/v) etanol çözeltisi ile yıkanmıştır. Analiz öncesi kaplamalar altın ile kaplanmıştır.

3.5.3. Sitotoksisite testi

Sitotoksisite testi, "Medikal ürünlerin biyolojik değerlendirilmesi: ISO 10993-5 Test for *in vitro* sitotoksisite" standartları dikkate alınarak TÜBİTAK tarafından

gerçekleştirilmiştir. Testte L929 fare hücre soyu kullanılmıştır. ISO 10993-5 tarafından tavsiye edilen hücre soylarından biri olduğu için ve memeli sistemini temsil etmeye uygunluğu dolayısıyla seçilmiştir. Besi yeri olarak DMEM/F12 (Sigma Cat # D0547-10X-1, lot # SLBH5487) + %10 Fetal bovin serum (Biochrom AG Cat # S0115, lot # 1241W) + penisilin streptomisin (Sigma, Cat # P4333-20ML, lot # SLBC1092V) kullanılmıştır. Test metodu olarak ekstraksiyon metodu seçilmiş olup, sıvı içinde katı maddelerin hücre ile teması sonucu oluşabilecek toksik etkisi analiz edilmiştir.

Numunelerin sitotoksisite testinde kullanılan nitel değerlendirme kriterleri ve puanlaması Tablo 3.2’de verilmiştir.

Ti+ML, Ti+ML/Pt, Ti+GL, Ti+GL/Pt ve kaplamasız PEEK disk numuneler, ISO 10993-12’de belirtilen kalınlığı > 1,0 mm olan numunenin yüzey alanı ekstrakt hacmine oranı 3cm²/ml esasına göre önerilen oranda ekstrakt edilmiştir. Örnekler steril olarak temin edilmiş, tekrar bir sterilizasyon işlemine tabi tutulmamıştır. Hazırlanan örnekler belirtilen hacimde, serum içeren besi yeri içinde, 120 rpm’de 72 saat süre ile çalkalanarak 37°C’de inkübe edilmiş ve ekstraktları hazırlanmıştır.

Tablo 3.2. Sitotoksisite testi için değerlendirme kriterleri ve puanlama

Sitotoksisite derecesi	Reaktivite	Durumu
0	Yok	İntrasitoplazmik granüller belirgin, hücre lizisi yok, hücre büyümesinde etkilenme yok
1	Az	Yuvarlaklaşmış, zayıf tutunma gösteren ve/veya intrasitoplazmik granülleri olmayan, morfolojik değişiklik gösteren, aralarda lize olmuş hücrelerin varlığı %20’nin altında
2	Hafif	Yuvarlaklaşmış, intrasitoplazmik granülleri hiç olmayan hücre oranı %50’nin altında, kapsamlı hücre lizisi yok; büyüme inhibisyonu %50’nin altında
3	Orta	Hücrelerin %70’inden azı yuvarlanmış veya lize olmuş durumda; ve büyüme inhibisyonu %50’den fazla değil
4	Ciddi	Hücrelerin hepsi veya tümüne yakını tahrip olmuş durumda

L929 hücreleri sayılarak 1×10^4 hücre/kuyu olacak şekilde 96'lık kuyulara ekilmiştir ve 37°C 'de %5 CO_2 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Hazır olan 2 saat örnek ekstraktları ve kontroller hiç bekletilmeden hücrelerin üzerine eklenmiş ve 24 saat 37°C 'de %5 CO_2 'de inkübe edildikten sonra %10 (v/v) WST-1 ajanı kuyulara eklenmiş ve 2-3 saat sonra canlılık testi için mikropate okuyucuda 450 nm'de ve 650 nm referans dalga boyunda absorbans ölçümü kolorimetrik olarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.4. Genotoksisite testi

Genotoksisite testi uygunluğu nedeniyle sadece Ti+GL/Pt kaplamada gerçekleştirilmiştir. ISO 10993-12: 2012 "Sample Preparation and Reference Materials Standart" protokolüne göre numunenin sahip olduğu form ve yapı dikkate alınarak, $3 \text{ cm}^2/\text{ml}$ yüzey/alan hacim oranı uygulanmış, 37°C 'de 72 saat inkübasyonla ekstraksiyon eldesi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon için PBS kullanılmıştır. Numune ekstraktı bekletilmeksizin teste alınmış olup plate başına 100 μl ekstrakt kullanılmıştır.

Bakteriyel geri mutasyon testi, *S. Typhimuriumi* TA1535, TA97a, TA98, TA100 ve TA102 suşlarında numunenin mutajenisitesini değerlendirmek üzere metabolik aktivasyon sisteminin varlığında ve yokluğunda "standart plate incorporation yöntemi"ne göre gerçekleştirilmiştir.

Buna göre Bakteriyel Geri Mutasyon Testi - AMES testi "OECD Guideline for Testing of Chemicals: Bacterial Reverse Mutation Test (No: 471, Adopted: 21st July 1997)"e göre Molecular Toxicology (Moltox) Firması'ndan temin edilen test materyalleri ve Salmonella suşları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizde kullanılan *S.typhimurium* suşlarının genotip bilgileri Tablo 3.3'de verilmiştir.

Testte kullanılan *S.typhimurium* kültürleri aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır:

- *S. typhimurium* TA1535 diski 20 ml Oxoid#2 Nutrient Broth'a,
- *S.typhimurium* TA97a, TA98 ve TA100 disklerinin her biri son konsantrasyonu 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olacak şekilde ampisilin antibiyotiği içeren 20'şer ml Oxoid#2 Nutrient Broth'a,

- *S.typhimurium* TA102 diski ise sırasıyla son konsantrasyonları 25 µg/ml ve 2 µg/ml olacak şekilde ampisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerini içeren 20 ml Oxoid#2 Nutrient Broth'a atılmıştır.

Tablo 3.3. *S.typhimurium* suşlarının genotip bilgileri

Suş*	Etkilenen Gen	DNA onarımı	Lipopolisakkarit	Plazmitler	Mutasyon Tipi
<i>S.typhimurium</i> TA1535	hisG46	uvrB	rfa	Plazmit içermez	Baz-çifti değişimi
<i>S.typhimurium</i> TA97a	hisD6610 hisO1242	uvrB	rfa	pKM101	Çerçeve kayması
<i>S.typhimurium</i> TA98	hisD3052	uvrB	rfa	pKM101	Çerçeve kayması
<i>S.typhimurium</i> TA100	hisG46	uvrB	rfa	pKM101	Baz-çifti değişimi
<i>S.typhimurium</i> TA102	hisG428	-	rfa	pKM101 pAQ1	Baz-çifti değişimi

*Bu suşlar büyümek için esansiyel bir amino asit olan histidinin varlığına gerek duyarlar. Analizde gerekli olan eser miktarda histidin top agara katılarak sağlanmaktadır. Geri mutasyon gerçekleştiğinde glikoz içeren minimal bakteri besi ortamlarında geri mutant koloni oluşumu gözlenir.

Başlatılan kültürler 37°C'de 100 rpm'de gece boyu üremeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası, her bir kültürün 660 nm'de absorbansı belirlenerek, absorbans 1.0-1.2 aralığında iken teste başlanmıştır. Deney boyunca kültürler termal şoktan etkilenmemeleri için oda sıcaklığında tutulmuş olup, ışıktan korumak üzere kültür flaskları alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Deneyde her bir plate için 100 µl kültür kullanılmıştır.

Teste alınan *S.typhimurium* kültürlerinin içerdiği canlı hücre sayıları Tablo 3.4'de verilmiştir.

Tablo 3.4. *S.typhimurium* kültürlerinin hücre sayısı

Suş	Hücre sayısı/ml
<i>S.typhimurium</i> TA1535	0,32x10 ⁹
<i>S.typhimurium</i> TA97a	1,14x10 ⁹
<i>S.typhimurium</i> TA98	0,44x10 ⁹
<i>S.typhimurium</i> TA100	0,42x10 ⁹
<i>S.typhimurium</i> TA102	2,1x10 ⁹

Kullanılan suşlar fenotip açıdan dört bölmeli fenotip doğrulama plate'inde kontrol edilmiştir. Bu plate'in farklı bölmelerinde beklenen gözlemler Tablo 3.5'de verilmiştir.

Tablo 3.5. Fenotip doğrulama plate'inde beklenen gözlemler

Bölme	Beklenen Gözlem	Genoti
1	Hiçbir suşta büyüme gözlenmez.	his-
2	Bütün suşlar için, rifampisin emdirilmiş kristal viole (CV) diskin çevresinde zonal inhibisyon gözlenir.	rfa
3	<i>S.typhimurium</i> TA1535 suşu dışında tüm suşlarda büyüme gözlenir.	pKM101
4	Sadece TA102 suşu büyür	pAQ1 (tetrasiklin direnç geni taşıyıcı)

Analizde herbir suş için bir fenotip doğrulama plate'i kullanılmıştır. Plate'de yer alan her bölmeyle ilgili suşa ait kültürden çizim yapılmıştır. Her plate'de 2 no'lu bölmeyle rifampisin diski (CV disk) bırakılmıştır. Plate'ler 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir.

Testte kullanılan pozitif kontrollerin dozları ve metabolik aktivasyon bilgileri Tablo 3.6'de yer almaktadır.

Tablo 3.6 Pozitif kontroller

Pozitif Kontrol	<i>S.typhimurium</i> suşu	Doz (µg/plate)	Metabolik Aktivasyon
Sodium Azide	TA1535 ve TA100	1,5	-S9
ICR 191 Acridine	TA97a	1,0	-S9
Mitomycin	TA102	0,5	-S9
Daunomycin	TA98	6,0	-S9
2-Aminoanthracene (aktivasyon kontrolü)	Tüm suşlar	10,0	+S9
Benzo(a)pyrene (aktivasyon kontrolü)	TA98 ve TA100	20,0	+S9

S.typhimurium TA1535 ve TA100 suşları Sodium Azide (CAS no. 26628-22-8), TA97a suşu için ICR 191 Acridine (CAS no. 17070-45-0), TA98 suşu için Daunomycin (CAS no. 23541-50-6), TA102 suşu için Mitomycin C (CAS no. 50-07-7) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Metabolik aktivasyon

kontrolünü gerçekleştirmek üzere ise S9 karışımının varlığında test edilen tüm *S.typhimurium* suşları için 2-Aminoanthracene (CAS no. 613-13-8), TA98 ve TA100 suşları için Benzo(a)pyrene (CAS no. 50-32-8) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Negatif kontrol olarak numune ekstraktın hazırlanmasında kullanılan steril PBS kullanılmıştır.

Testte metabolik aktivasyon sistemi olarak, NADPH Regensys™ A (0,1 M fosfat tamponu, pH 7,4 içinde glukoz-6-fosfat, MgCl₂/KCl içerir) ve NADPH Regensys™ B (NADPH) ko-faktörleriyle desteklenen Aroclor 1254 ile indüklenmiş erkek Sprague Dawley sıçanın karaciğerinden hazırlanmış post-mitokondriyel S9 fraksiyonu kullanılmıştır. Analiz %10'luk (v/v) S9 karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, plate başına 500 µl S9 karışımı kullanılmıştır.

3.6. In vivo Deneyleler

Kaplamalarda iritasyon, sensitizasyon, akut sistemik toksisite, subakut sistemik toksisite ve implantasyon in vivo testleri yine sadece Ti+GL/Pt'ye uygulanmıştır.

3.6.1. Deri içi iritasyon testi

Deri içi iritasyon testi "ISO 10993-10: 2010 Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity" uluslararası protokolünün "Annex B" kısmında açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bunun dışında, "ISO 10993-2: 2006 Animal Welfare Requirements" ve "ISO-10993-12: 2012 Sample Preparation and Reference Materials" standartları da dikkate alınmıştır.

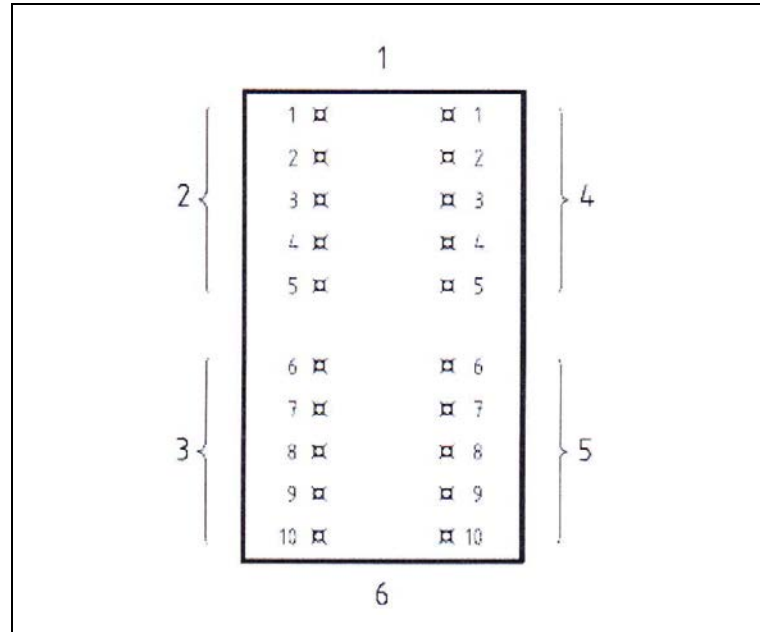
Standart protokolünde önerildiği üzere deney hayvanı olarak 8-12 haftalık (ağırlıkları arasındaki fark \pm %20'den az) ve 2 kg'dan az olmayan 3 adet dişi Yeni Zelanda albino tavşanı kullanılmıştır. Deneyde kullanılan tavşanlar tesadüfen seçilerek tek tek işaretlenip uygulamadan 24 saat önce ayrı kafeslere alınmıştır. Uygulamaya alınmadan önce deney hayvanlarında herhangi bir deformasyon olup olmadığı ve genel sağlık durumları kontrol edilmiştir.

Barınma koşulları oda sıcaklığı 22°C (\pm 3°C), nem %30-%70 arasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Beslenme için normal

laboratuvar diyeti ve sınırsız su sağlanmıştır. Deneyde kullanılan tavşanlar test süresince ayrı kafeslerde tutulmuştur.

ISO 10993-12:2012 başlıklı belgede belirtildiği üzere doğrudan uygulanmayacak numuneler için önerilen ekstraksiyon protokolü tatbik edilmiştir. Bunun için ürünün, form ve yapısına uygun olarak 3cm²/ml yüzey alanı/hacim oranı uygulanmış olup 37°C'de 72 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Polar çözücü olarak PBS ve non-polar çözücü olarak mısır yağı (corn oil) kullanılmıştır.

Deney hayvanları yeterli uygulama alanı sağlanacak kadar traş edildikten sonra örnekler Şekil 3.9'da gösterildiği gibi intradermal enjeksiyonla uygulanmıştır. Burada 1, deney hayvanının baş tarafını, 2, test bölgesini, 3, negatif kontrol bölgesini, 4, test bölgesini, 5, pozitif kontrol bölgesini, 6, deney hayvanının kuyruk tarafını temsil etmektedir. Her test bölgesinde 5 farklı noktaya toplam 0,2 ml madde tatbik edilmiştir. Yine Şekil 3.9'da görüldüğü üzere 2 no'lu bölgeye polar ekstrakt, 4 no'lu bölgeye non-polar ekstrakt, 3 no'lu bölgeye polar çözücü kontrol, 5 no'lu bölgeye non-polar çözücü kontrol uygulanmıştır. Enjeksiyon alanlarının çevresi işaretlenerek belirlenmiştir. Uygulamayı takiben 24, 48 ve 72'nci saatlerde her enjeksiyon bölgesi gözlenerek Tablo 3.7'de belirtilen kriterlere göre değerlendirilerek skorlanmıştır.



Şekil 3.9. Deney hayvanında örneklerin uygulandığı bölgelerin şematik gösterimi

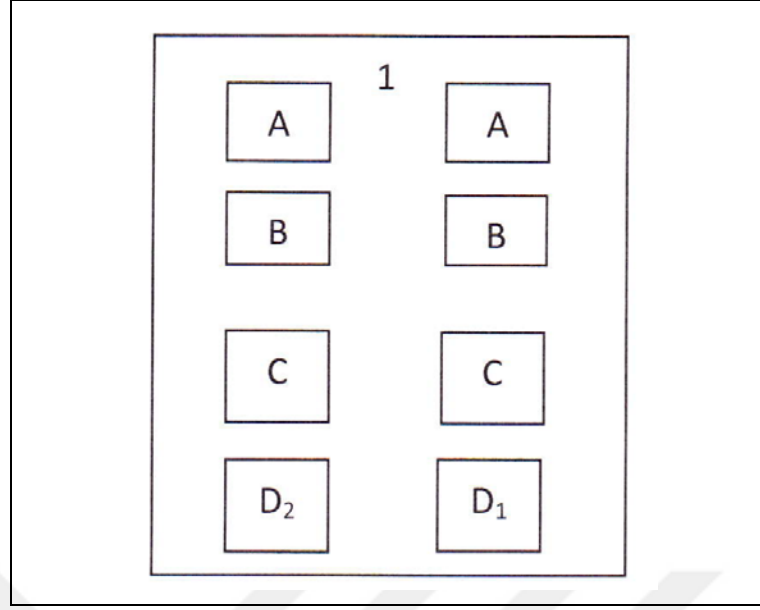
Tablo 3.7. Değerlendirme kriterleri ve puanlama

Reaksiyon	Skor
Kızarıklık ve skar formasyonu	
Kızarıklık yok	0
Çok hafif kızarıklık (zorlukla fark edilir)	1
Fark edilir derecede kızarıklık	2
Orta derece kızarıklık	3
Ciddi derecede kızarıklık ve skar formasyonu	4
Ödem	
Ödem yok	0
Çok hafif ödem (zorlukla fark edilir)	1
Fark edilir derecede ödem	2
Orta derece ödem (yaklaşık 1 mm)	3
Ciddi derecede ödem (1 mm'den büyük)	4
İritasyon için olabilecek toplam skor	8
Deride gözlemlenebilecek istenmeyen diğer değişiklikler de kaydedilmeli ve raporlanmalıdır.	

3.6.2. Cilt sensitizasyon testi

Sensitizasyon testi “ISO 10993-10: 2010 Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity” standart protokolü dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.

Ürün doğrudan teste alınacak forma sahip olmadığından, 37°C’de 72 saat inkübasyon uygulanmış olup, ekstraksiyon hazırlama oranı ise 3 cm²/ml olarak kabul edilmiştir. Sensitizasyon testi 300-500 g arası guinea pig (cavia porcellus) soyuna ait erişkin dişi kobaylar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ISO 10993-10: 2010 başlıklı belgede belirtildiği üzere test edilecek materyal deri altına 0,1 ml miktarda muamele edilerek deneyler gerçekleştirilmiştir. Topikal uygulama ise deri altına enjeksiyon (intradermal indüksiyon fazı) yapılmamış bölgeye testin 7. gününde hayvanın sol bölgesine ve 14. gününde sağ bölgesine olmak üzere uygulanmıştır. Bunun için deney hayvanları üzerinde tatbik edilen uygulama planı Şekil 3.10’ da gösterilmiştir. Burada 1; deney hayvanın baş tarafını, A; Freund’s Complete Adjuvant (FCA) ve serum fizyolojik çözeltisi 50:50 oranında karıştırılarak muamele edilen test bölgelerini, B; sadece test materyali ile muamele edilen test bölgelerini, C; A bölgesinde uygulanan örnek ile B bölgesinde uygulanan test materyalin 50:50 oranında karıştırılarak muamele edilen test bölgelerini göstermektedir. D; Topikal uygulaması intraskapular bölgeye 0,3 ml olmak üzere test materyali uygulanmıştır.



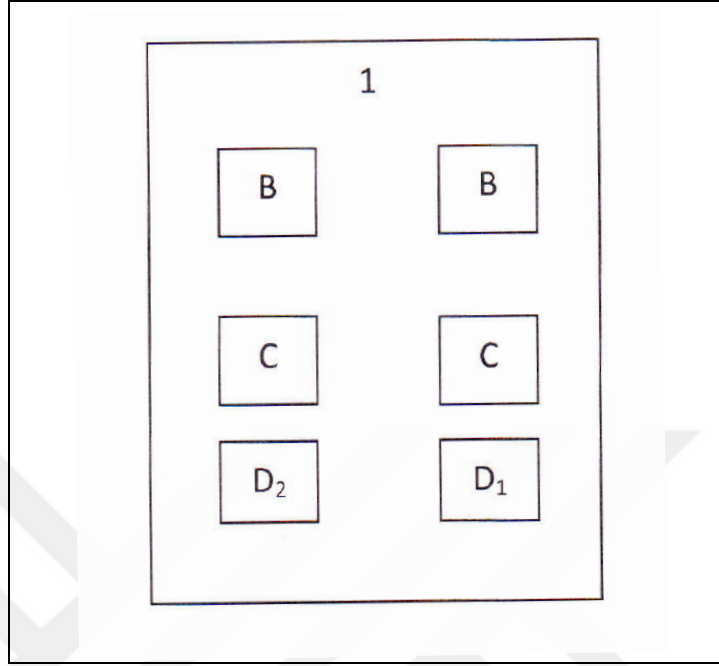
Şekil 3.10. Deney hayvanları üzerinde tatbik edilen uygulama planı

A, B, C bölgelerine yapılan uygulamalar her bir hayvana sağ ve sol bölgelere olmak üzere çift 0,1 ml'lik enjeksiyon yapılmıştır. D bölgesinde ise 7. günde sol bölgeye (D₁) 14. günde ise sağ topikal bölgeye (D₂) uygulama yapılmıştır.

Negatif kontrol 2 farklı bölgede 2 farklı uygulamada karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.11). Burada 1; Deney hayvanının baş tarafını göstermektedir. B bölgesine 0,1 ml serum fizyolojik, C bölgesine (FCA) ve serum fizyolojik çözeltisi 50:50 oranında karıştırılarak uygulanmıştır. D, Topikal bölgelere 0,3 ml serum fizyolojik uygulanmıştır.

Deney hayvanları yeterli uygulama alanı sağlanacak şekilde traş edildikten bir gün sonra test materyalleri Şekil 3.10 gösterildiği gibi, kontrol hayvanlarında ise Şekil 3.11'de gösterildiği gibi uygulanmıştır. Tüm uygulamalar deri altına 0,1 ml olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Uygulama sonrası bölgeler herhangi bir şekilde kapatılmamıştır. Topikal uygulamada ise deney hayvanlarında test materyali, kontrol hayvanlarında ise 0,3 ml serum fizyolojik deri üzerine uygulanmış olup, uygulama sonrası bölge steril gazlı bez ile kapatılmış ve tüm uygulama alanları elastik bandaj ile sarılmıştır. Gazlı bezlerin bölgeye 48 saat süre teması sağlanmıştır. Uygulama süresi sonunda bandajlar açılmış ve deri üzerinde oluşan reaksiyonlar not edilmiştir.

İkinci topikal uygulama bundan 7 gün sonra gerçekleştirilmiş olup aynı deneysel işlemler takip edilmiştir.



Şekil 3.11. Negatif kontrolün deney hayvanları üzerinde tatbik edilen uygulama planı

Uygulamada test materyali için 10 adet, kontrol için 5 adet hayvan kullanılmıştır. Bir adet test materyali olduğu için bu testte toplam 15 adet hayvan kullanılmıştır.

Test ve kontrol numuneleri için Tablo 3.8’de verilen değerlendirme ve puanlama kriterleri göz önünde alınarak gözlemler skorlanmıştır.

Tablo 3.8. Değerlendirme kriterleri ve puanlama

Reaksiyon	Sınıflandırma Skalası
Gözle görülür bir değişim yok	0
Belirli ya da yamalı kızarıklık	1
Orta veya konfluent kızarıklık	2
Yoğun kızarıklık ve kabarma oluşumu	3

3.6.3. Akut sistemik toksisite testi

Akut Sistemik Toksikite testleri, “ISO 10993-11:2006 Biological evaluation of medical device-systemic toxicity”, “ISO 10993-2:2006 Biological evaluation of medical device-Part 2: Animal welfare requirements” ve “ISO 10993-12:2012

Biological evaluation of medical device-Part 12: Sample preparation” protokollerine göre gerçekleştirilmiştir.

Belirtilen standartlara göre takip edilen test protokolü *in vivo* deney hayvan modeli kullanılarak medikal malzemelerin akut sistemik toksisite açısından test edilmesi ve değerlendirilmesi esasına dayanır. Akut sistemik toksisite testi önerilen bir hayvan modelinde tıbbi cihazın, materyalin ve/veya bunların ekstraktlarının 24 saatten daha az bir süre için tekli ya da çoklu maruz kalmada potansiyel zararlı etkileri hakkında bilgi vermektedir.

Söz konusu protokolde önerildiği üzere gerçekleştirilen testte deney hayvanı olarak CB6 ırkı fare kullanılmıştır. Deney protokolünde önerildiği üzere numune 8-12 haftalık (ağırlıkları arasındaki fark \pm %20'den az) 5 erkek ve 5 dişi CD1 fare kullanılarak test edilmiştir. Deneyde kullanılan fareler tesadüfen seçilmiş olup, tek tek işaretlenmiş ve uygulamadan 5 gün önce bireysel konvansiyonel euro tip-1 kafeslere ayrılmıştır.

ISO 10993-11: 2006 deney protokolünde önerildiği üzere negatif kontrol için 8-12 haftalık (ağırlıkları arasındaki fark \pm %20'den az) 5 erkek ve 5 dişi CD1 fare kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ekstraksiyon için PBS kullanılmıştır. Aynı şekilde vücut ağırlığına göre deney hayvanlarına verilmesi gereken miktar hesaplandıktan sonra test protokolü taklit edilmiştir.

Barınma koşulları oda sıcaklığı 22°C (\pm 3°C), nem %30-%70 arasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Beslenme için Ad-libtum ticari rodent pellet yem ile normal laboratuvar diyeti ve sınırsız su sağlanmıştır. Aynı doza maruz kalan hayvanlar aynı kafeste muhafaza edilmiş, fakat kafesteki hayvan sayısı gözlemleri etkilemeyecek düzeyde tutulmuştur.

ISO 10993-11: 2006 ve ISO 10993-12: 2012'ye göre sistemik etkiler Tablo 3.9'da belirtilen klinik gözlem kriterlerine göre takip edilmiştir.

Tablo 3.9. Gözlem ve değerlendirme kriterleri

Klinik Gözlem	Gözlemler	İzlenecek Sistemler
Solunum	Dyspnea (abdominal solunum), apnoe. cynosis. taşipnea	Merkezi sinir sistemi (MSS), dolaşım, kardiak
Motor aktiviteler	Azalan/artan somnians, aneztesiza, ataxia, belirsiz hareketler, tremorlar	Merkezi sinir sistemi (MSS), somatomotor, sensory, otonomik, kas-sinir
Konvulsiyon	Klonik, tonik, tonik-klonik asphvxial, opisthotonos	Merkezi sinir sistemi (MSS), solunum, kas-sinir, otonomik
Refleksler	Korneal, righting, myotact, hafif, başlangıç refleksi	Merkezi sinir sistemi (MSS), sensory, otonomik, kas-sinir
Okuler İşaretler	Lakrimasyon, miosis, mydriasis, exophthalmos, ptosis, opacity, iritis, konjiktivitis, chromocvarhea	Otonomik, irritasyon
Kardiovaskuler İşaretler	Bradikardi, taşikardi, aritmi, vasod ilatasvon, vasokonstriksiyon	Merkezi sinir sistemi (MSS), otonomik, kardiak, dolaşım
Salivasvon	Aşırı	Otonomik
Pilaoereksiyon	Kaba tüvler	Otonomik
Analqesia	Reaksiyon azalması	Merkezi sinir sistemi (MSS), sensory
Kas tonusu	Hypotonia. hypertonia	Otonomik
Gastrointestinal	Soft dışkı, diarrhea, emesis, diuresis. rhinosis	Merkezi sinir sistemi (MSS), otonomik, sensory. böbrek, DI motilitesi
Deri	Ödem, kızarıklık	Doku yaralanması, irritasyon

Uygulanacak olan dozaj yolu ve miktarı ISO 10993-11: 2006 standart test protokolü Tablo B1’de verilmiştir. Gereken uygun doz (ml/kg vücut ağırlığı) hesaplanmasında hayvan türü, vücut ağırlığı/yüzey alanı, test örneği fiziksel-kimyasal ve biyolojik özellikleri göz önünde bulundurulur. Bu ayarlama faktörleri dikkate alınarak, dozaj hacmini en aza indirgeyen uygulama yollarından biri seçilir. Tablo B1’e göre farelerde intraperitoneal yolla 50ml/kg doz uygulanmıştır.

ISO 10993-11: 2006 ve ISO 10993-12: 2012 standart test protokolünde belirtildiği üzere üründen ekstrakt hazırlama yöntemi seçilmiştir. 10993-12: 2012 standart protokolün 10.3.1 kısmına göre 37°C’de 72 saat inkübasyon uygulanmış olup,

10.3.3. başlığı altında yer aldığı üzere ekstraksiyon hazırlama oranı 3 cm²/ml olarak kabul edilmiştir.

3.6.4. Subakut sistemik toksisite testi

Subakut Sistemik Toksikite testi, “ISO 10993-11: 2006 Biological evaluation of medical device: Systemic toxicology”, “ISO 10993-2: 2006 Biological evaluation of medical device: Animal welfare Requirements” ve “ISO 10993-12: 2012 Biological evaluation of medical device: Sample Preparation” protokollerine göre gerçekleştirilmiştir.

Tekrar eden maruz kalma temelinde gerçekleştirilen subakut sistemik toksisite, uzun süreli maruz kalma sebebiyle şekillenebilecek toksisite tablosunun belirlenmesi amacıyla kullanılır. Söz konusu protokol aynı zamanda test edilen maddenin toksik etkisinin karakteri, etkilenen hedef organ, etkinin geri dönüşümlü olup olmadığı ve buna benzer özellikleri hakkında da detaylı verinin elde edilmesini sağlar.

Söz konusu protokolde önerildiği üzere gerçekleştirilen testte deney hayvanı olarak laboratuvar CD1 ırkı fare kullanılmıştır. Deney protokolünde önerildiği üzere numune 8-12 haftalık 5 erkek ve 5 dişi CD1 fare kullanılarak test edilmiştir. Deneyde kullanılan fareler tesadüfen seçilmiş olup, tek tek işaretlenmiş ve uygulamadan 5 gün önce bireysel konvansiyonel euro tip-1 kafeslere ayrılmıştır.

ISO 10993-11 deney protokolünde önerildiği üzere negatif kontrol için 8-12 haftalık (ağırlıkları arasındaki fark \pm %20'den az) 5 erkek ve 5 dişi CD1 fare kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ekstraksiyon için PBS kullanılmıştır. Aynı şekilde vücut ağırlığına göre deney hayvanlarına verilmesi gereken miktar hesaplandıktan sonra test protokolü taklit edilmiştir.

Barınma koşulları oda sıcaklığı 22°C (\pm 3°C), nem %30-%70 arasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Beslenme için Ad-libtum ticari rodent pellet yem ile normal laboratuvar diyeti ve sınırsız su sağlanmıştır. Aynı doza maruz kalan hayvanlar aynı kafeste muhafaza edilmiş, fakat kafesteki hayvan sayısı gözlemleri etkilemeyecek düzeyde tutulmuştur.

Uygulanacak olan dozaj yolu ve miktarı ISO 10993-11: 2006 standart test protokolü Tablo B1’de verilmiştir. Gereken uygun doz (ml/kg vücut ağırlığı) hesaplanmasında hayvan türü, vücut ağırlığı/yüzey alanı, test örneği fiziksel-kimyasal ve biyolojik özellikleri göz önünde bulundurulur. Bu ayarlama faktörleri dikkate alınarak, dozaj hacmi en aza indirgeyen uygulama yollarından biri seçilir. Tablo B1’e göre farelerde intraperitoneal yolla 50 ml/kg doz uygulanmıştır.

Tablo 3.10. Gözlem ve değerlendirme kriterleri

Klinik Gözlem	Gözlemler	İzlenecek Sistemler
Solunum	Dyspnea (abdominal solunum), apnoe. cynosis. taşipnea	Merkezi sinir sistemi (MSS), dolaşım, kardiak
Motor aktiviteler	Azalan/artan somnans, aneztesiza, ataxia, belirsiz hareketler, tremorlar	Merkezi sinir sistemi (MSS), somatomotor, sensory, otonomik, kas-sinir
Konvulsiyon	Klonik, tonik, tonik-klonik asphvxial, opisthotonos	Merkezi sinir sistemi (MSS), solunum, kas-sinir, otonomik
Refleksler	Korneal, righting, myotact, hafif, başlangıç refleksi	Merkezi sinir sistemi (MSS), sensory, otonomik, kas-sinir
Okuler İşaretler	Lakrimasyon, miosis, mydriasis, exophthalmos, ptosis, opacity, iritis, konjiktivitis, chromocrrvarhea	Otonomik, irritasyon
Kardiovaskuler İşaretler	Bradikardi, taşikardi, aritmi, vasod ilatasvon, vasokonstriksivon	Merkezi sinir sistemi (MSS), otonomik, kardiak, dolaşım
Salivasvon	Aşırı	Otonomik
Pilaoereksivon	Kaba tüvler	Otonomik
Analqesia	Reaksiyon azalması	Merkezi sinir sistemi (MSS), sensory
Kas tonusu	Hypotonia. hypertonia	Otonomik
Gastrointestinal	Soft dışkı, diarhea, emesis, diuresis. rhinosis	Merkezi sinir sistemi (MSS), otonomik, sensory. böbrek, DI motilitesi
Deri	Ödem, kızarıklık	Doku yaralanması, irritasyon

ISO 10993-11: 2006 ve ISO 10993-12: 2012 standart test protokolünde belirtildiği üzere üründen ekstrakt hazırlama yöntemi seçilmiştir. 10993-12: 2012 standart protokolün 10.3.1 kısmına göre 37°C’de 72 saat inkübasyon uygulanmış olup,

10.3.3. başlığı altında yer aldığı üzere ekstraksiyon hazırlama oranı 3 cm²/ml olarak kabul edilmiştir.

28 günlük test süresince deney grupları ISO 10993-11: 2006 ve ISO 10993-12: 2012’de belirtildiği üzere ürünün sistemik etkileri Tablo 3.10’da belirtilen klinik gözlem kriterlerine göre takip edilmiş olup herhangi bir klinik bulguya rastlanmamıştır.

Ti+GL/Pt ürününe ait ekstrak uygulanan farler, takip edilen ISO 10993-11: 2006 test protokolüne göre 28 gün boyunca gözlenmiştir.

Hematolojik değerlendirme için veteriner tam kan sayım cihazı kullanılarak (Mindray BC2800 Vet) 10 test ve 10 kontrol grubu olmak üzere toplam 20 fareden alınan kan örneklerinde aşağıda verilen parametrelere bakılmıştır:

1. RCB: Red Blood Cell = Kırmızı Kan hücresi = Eritrosit = Alyuvar
2. WBC: White Blood Cell = Kırmızı Kan hücresi = Lökosit = Akyuvar
3. HGB: Hemoglobin
4. HCT: Hematokrit
5. MCHC: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration = Ortalama hemoglobin yoğunluğu
6. PLT: Platelet = Kan pulcuğu

Yarı otomatik klinik kimya analiz cihazı (Mindray BA-88A) kullanılarak 10 test ve 10 kontrol grubuna ait toplam 20 fareden elde edilen serumlarda aşağıdaki parametreler incelenmiştir:

1. ALT: Alanin Transaminaz
2. AST: Aspartat Transaminaz
3. Glukoz
4. Üre

3.6.5. İmplantasyon

İmplantasyon testi, “ISO 10993-6: 2007 Biological evaluation of medical device-Part 6: tests for local effect after implantation”, ISO 10993-2: 2006 Biological evaluation of medical device-Part 2: Animal welfare requirements” ve ISO 10993-12: 2012

Biological evaluation of medical device-Part 12: sample Preparation” protokollerine göre gerçekleştirilmiştir.

İmplantasyon testi kullanılan biyomalzemenin implantasyon sonrası lokal etkilerinin ortaya konmasını amaçlar ve bunun için makroskopik ve mikroskopik histolojik incelemeleri kapsar. Ti+GL/Pt numunesi doğrudan kullanılmıştır.

Negatif kontrol olarak ISO 10993-12: 2012 başlıklı dokümanda önerildiği üzere silikon kullanılmıştır.

Deney hayvanı olarak 3 adet, 250-300 g ağırlığında 3-4 aylık genç erişkin dişi Sprague Dawley sıçanı (rat) kullanılmıştır.

10 adet test materyali ve 3 adet negatif kontrol 3 sıçanın lumbodorsal bölgesine implante edilmiştir.

İmplantasyon testi uygulama süresi sonunda lokal etkiler tespit edilmiş ve değerlendirilmiştir. Bunun için, 28 gün boyunca uygulanan test protokolü sonrasında, 10 adet implantasyon bölgesi, 10 adet test-kontrol bölgesi ve 3 adet negatif kontrol bölgeleri alınarak %4 paraformaldehit ile fiksasyon işlemi yapılmıştır. Fiksasyonu takiben gece boyu yıkama işlemi yapılarak ardından dehidrasyona tabi tutulmuştur. Dehidre edilen dokular parafin bloklar halinde hazırlanmıştır. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında doku kesitleri alınarak hematoksil-eozin boyamaları yapılmıştır. Doku kesitleri 30 dakika ksilol ile muamele edildikten sonra rehidratasyon işlemi (%100-%70 alkol 10'ar dakika) yapılmıştır. Hematoksil boyasında 5 dakika tutulmuş ve ardından 10 dakika çeşme suyu ile yıkandıktan sonra eozin ile 5 dakika muamele edilmiştir. Eozin boyamasının ardından çeşme suyu ile yıkama yapılarak artan alkol serilerinden 5'er dakika geçirilerek dehidratasyon yapılmıştır. Ksilol ile şeffaflandırılarak entellan ile kapatılmış ve inceleme yapılmıştır. Hücre tipi/ cevaplar bakımından histolojik değerlendirmeler ve puanlama Tablo 3.11'e göre yapılmıştır.

Tablo 3.11. Hücre tipi/ cevaplar bakımından histolojik değerlendirmeler ve puanlama

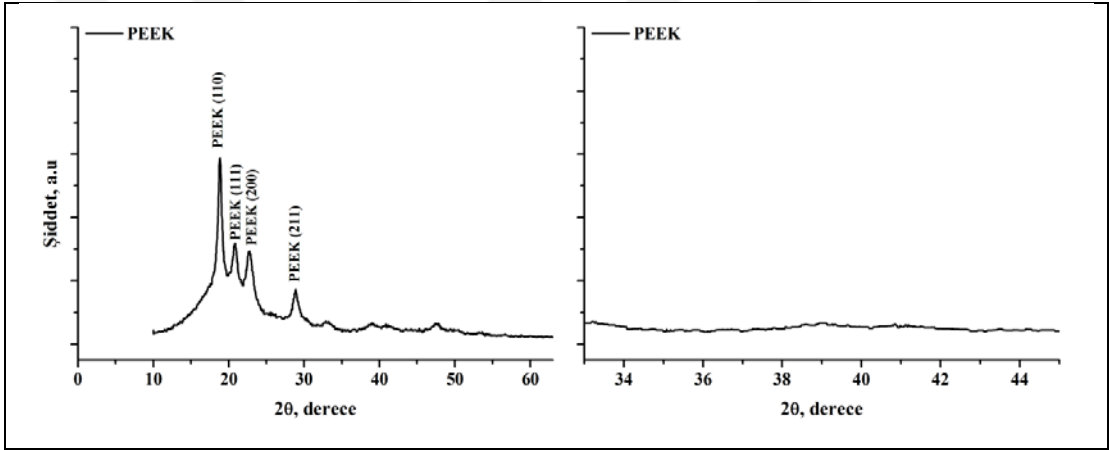
Hücre Tipi/Reaksiyon	Skor				
	0	1	2	3	4
Polimorfonükleer hücreler	0	Nadir, 1-5/yba a	5-10/yba	Ağır İnfiltrasyon	Küme
Lenfositler	0	Nadir, 1-5/yba a	5-10/yba	Ağır İnfiltrasyon	Küme
Plazma hücreleri	0	Nadir, 1-5/yba a	5-10/yba	Ağır İnfiltrasyon	Küme
Makrofajlar	0	Nadir, 1-5/yba a	5-10/yba	Ağır İnfiltrasyon	Küme
Dev hücreler	0	Nadir, 1-5/yba a	5-10/yba	Ağır İnfiltrasyon	Küme
Nekrosiz	0	Nadir, 1-5/yba a	-10/yba	Ağır İnfiltrasyon	Küme
Yeni Damarlanmalar	0	Az miktarda kapiller proliferasyon, fokal, 1-3 tomurcuklanma	4-7 kapiller ile birlikte fibroblastik yapı ile desteklenen gruplar	Geniş bantların olduğu kapiller ile birlikte destekleyici yapılar	Yaygın bantların olduğu kapiller ile birlikte fibroblastik yapı ile desteklenen gruplar
Fibrozis	0	Dar bantlar	Kısmen kalın bantlar	Kalın bantlar	Kapsamlı bantlar
Yağ infiltrasyonu	0	Az miktarda fibrosis ile birlikte yağlanma	Birkaç katman yağ ve fibrosis	İnfiltrasyon bölgesinde yağ hücrelerinin birikimi ile geniş ve uzamış yapılar	İnfiltrasyon bölgesinin tamamını saran yaygın yağ dokusu

a yba = yüksek büyütmedeki (400.) alan başına

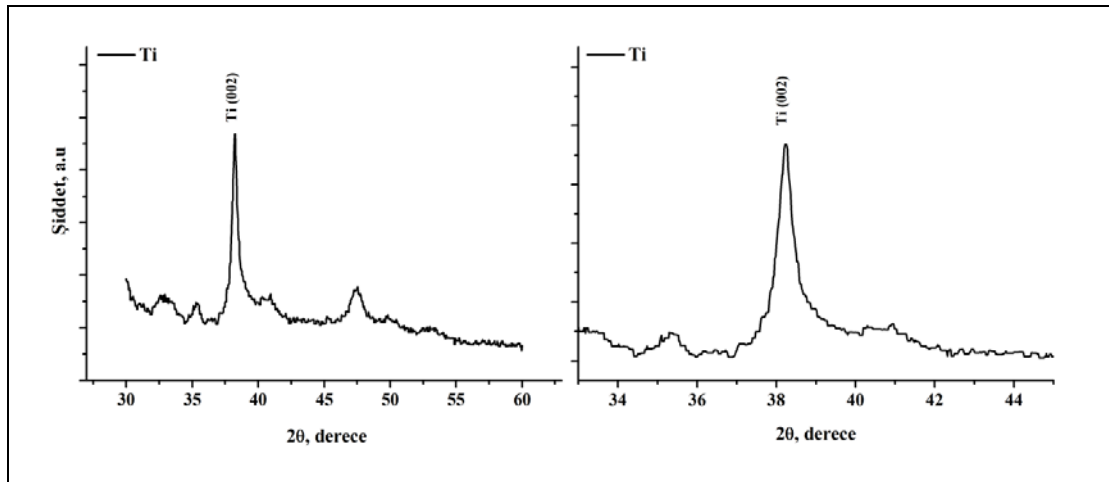
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Mikroyapısal ve Topografik Özellikler

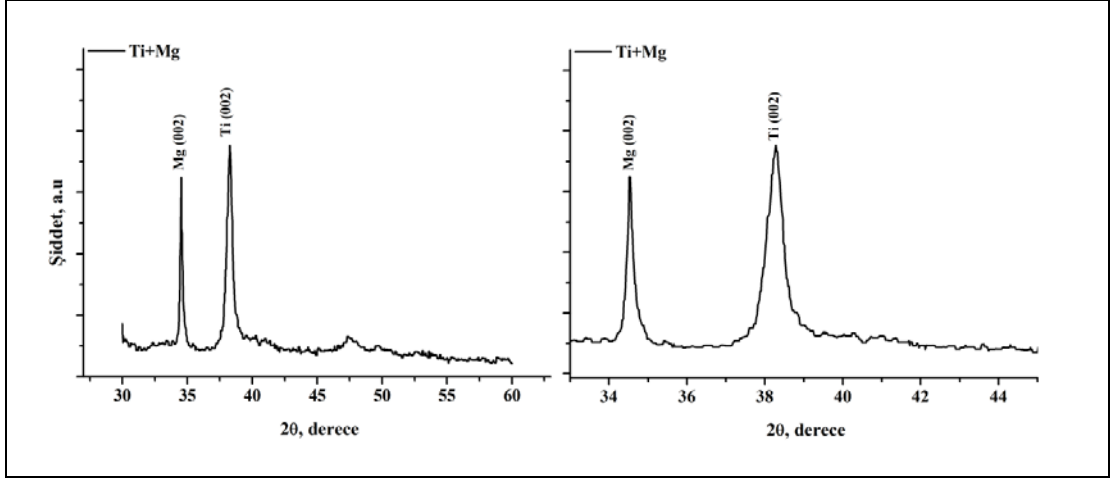
Kaplamaların mikroyapısal ve topografik özelliklerin incelemeleri üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada XRD analizi ile öncelikli olarak çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamayı oluşturan tek tabakalı kaplamalar, daha sonra nihai kaplamaların kristalin yapısı ve içerdikleri fazlar belirlenmiştir. PEEK altlık malzemesinin ve Tablo 3.1’de tanımlanan kaplamaların XRD difraktogramları Şekil 4.1-4.9’da verilmiştir.



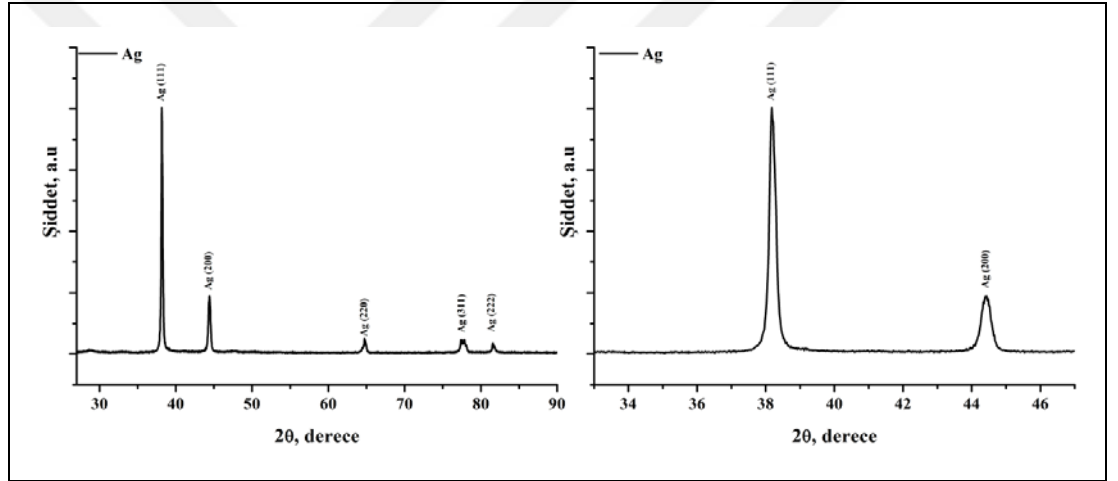
Şekil 4.1. PEEK altlık malzemesinin (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



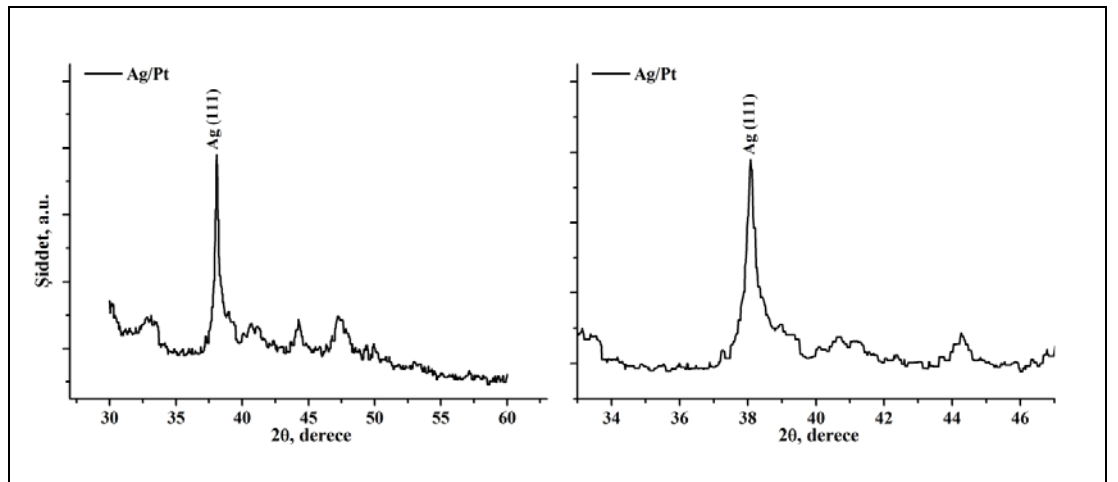
Şekil 4.2. Ti kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



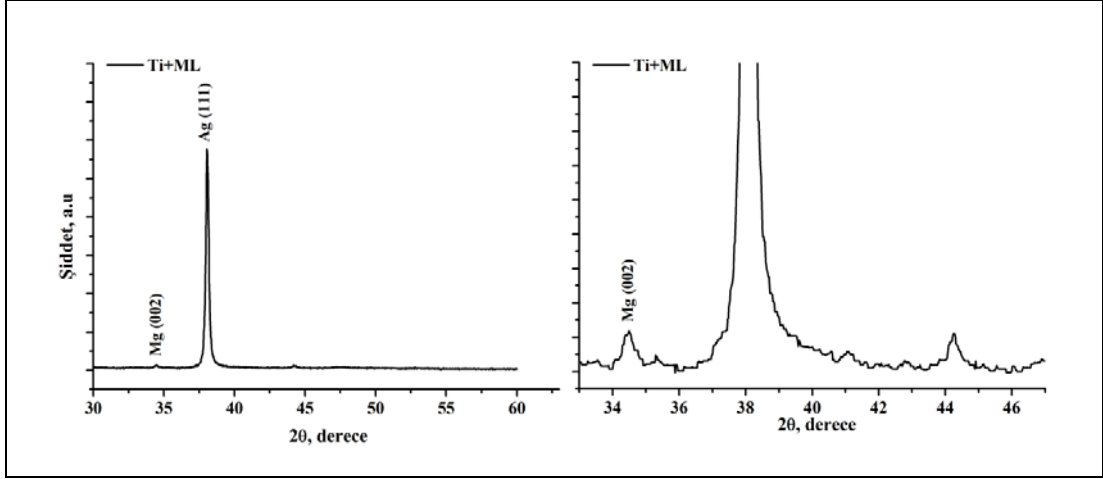
Şekil 4.3. Ti+Mg kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



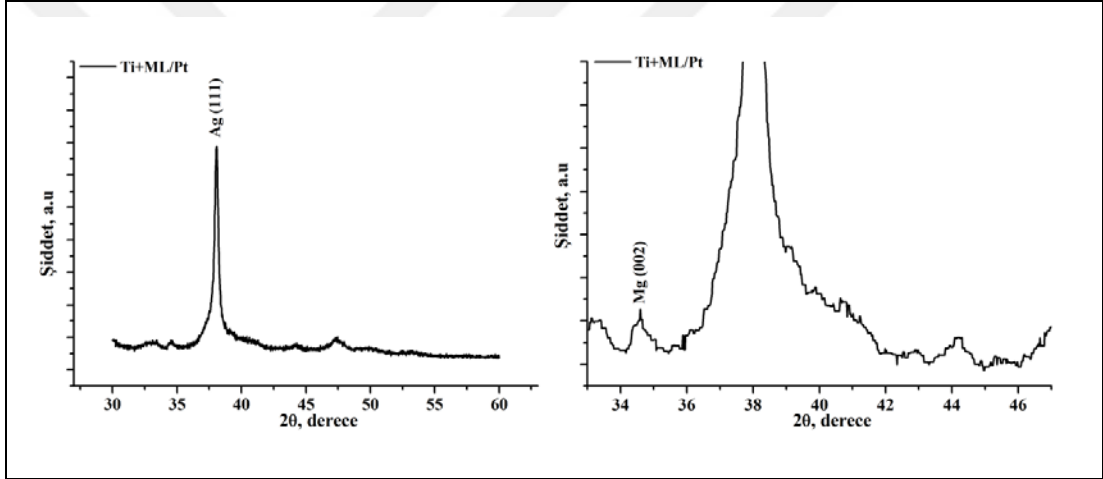
Şekil 4.4. Ag kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



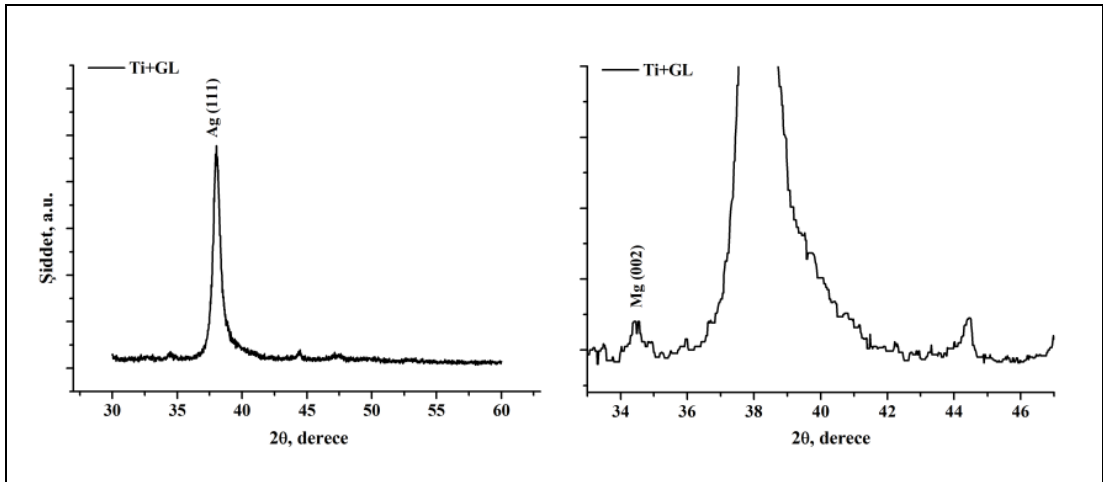
Şekil 4.5. Ag/Pt kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



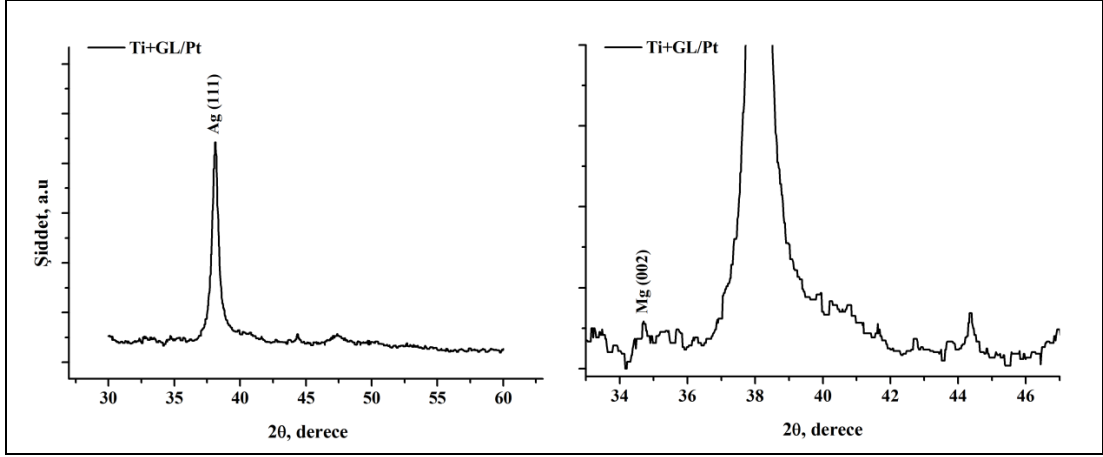
Şekil 4.6. Çok tabakalı (Ti+ML) kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



Şekil 4.7. Pt dope edilmiş çok tabakalı (Ti+ML/Pt) kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



Şekil 4.8. Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş (Ti+GL) kaplamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difraktogramları



Şekil 4.9. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş (Ti+GL/Pt) kaplamamanın (a) geniş 2θ aralığında, (b) dar 2θ aralığında alınmış XRD difragtogramları

Tüm kaplamalar kristalin yapı sergilemektedir. PEEK yarıkristalin bir malzeme olup ortorombik kristal yapıya sahiptir. XRD paterninde 19° , 21° , 23° ve 29° da sırasıyla (110), (111), (200) ve (211) düzlemlerine ait pikler vermektedir [11, 197]. Şekil 4.1a ve b'den de görüldüğü gibi çalışmada kullanılan PEEK malzemesinin verdiği difraktogramdaki pikler ($18,84^\circ$, $20,84^\circ$, $22,68^\circ$ ve $28,88^\circ$) literatür ile uyum içindedir. Şekil 4.2a ve b'de PEEK üzerine çöktürülen tek tabakalı Ti kaplamamanın difraktogramı verilmiştir. Ti kübik ve hekzagonal olmak üzere iki kristal yapıda bulunabilmektedir. Difraktogramdan da görüldüğü gibi, Ti, tercihli olarak minimum yüzey enerjisine sahip ve $38,46^\circ$ 'da pik veren (002) düzlemi doğrultusunda büyümüş olup hekzagonal kristal yapı sergilemektedir [189, 198]. TiO_2 gibi herhangi bir ikincil faza rastlanmamıştır. Ti üzerine çöktürülen Mg kaplamamanın difraktogramı Şekil 4.3a ve b'de sunulmuştur. Sürekli, yoğun Ti kaplama üzerine çöktürülen Mg, $34,50^\circ$ 'de görülen (002) düzlemi doğrultusunda büyümeyi tercih etmiştir. Mg, Ti tabakası gibi, hekzagonal sıkı paket yapıya sahiptir ve düşük yüzey enerjisine sahip basal düzlemde tercihli büyümüştür. Bilindiği gibi ince film kaplamalarda tekstür gelişimi için gerekli itici kuvvet yüzey enerjisini minimize etmektir [199, 200]. Ag, yüzey merkezli kristal yapıya sahip olup sırasıyla (111), (200), (220), (311) ve (222) düzlemleri doğrultusunda büyüme gösterebilmektedir. Şekil 4.4a ve b'de Ag tek tabakalı kaplamaya ait difraktogramlar verilmektedir. Difraktogramda yukarıda belirtilen 5 düzlemden de pik görülürken tercihli olarak $38,16^\circ$ 'da (111) düzlemi doğrultusunda büyüme gerçekleşmiştir. YMK kristal kafese sahip metaller için (111) ve (220) düzlemleri önemlidir. (111) düzlemi en düşük yüzey enerjisine sahip iken

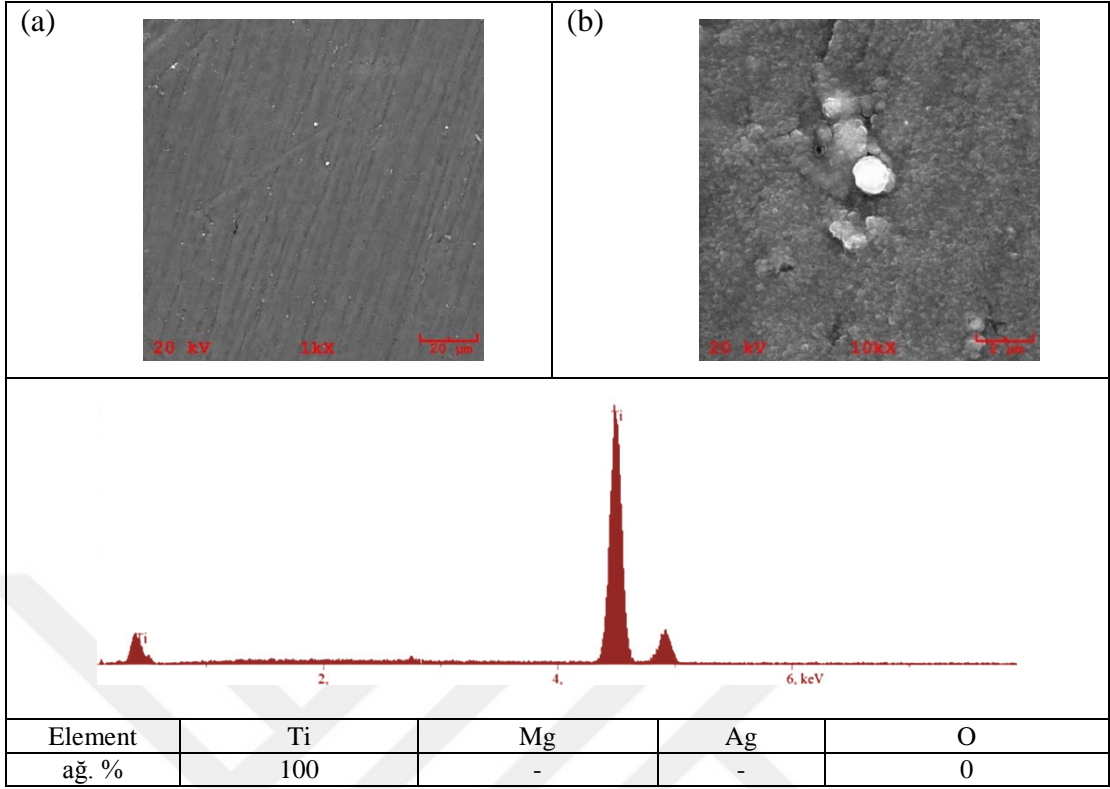
(220) minimum gerilme enerjisine sahiptir. Bu iki düzlem arasındaki rekabet tercihli büyüme yönünü tanımlamaktadır [201, 202]. Şekil 4.5a ve b’de verilen Pt dope edilmiş Ag tek tabakalı kaplamada da, Ag tek tabakalı kaplamaya benzer 38,06°’da (111) düzleminde tercihli büyüme görülmüştür. Ancak 38,06°’da görülen bu pik daha geniş olarak belirmiştir. Termodinamik dengede Ag-Pt ikili faz sisteminde, at-% 0,7 Pt’de peritektik bir bileşik oluşması beklenmektedir [203]. Ancak düşük kaplama sıcaklığı nedeniyle muhtemelen Ag katı ergiyiği oluşmuştur. Ag ve Pt her ikisi de yüzey merkezli kübik kafes sistemine sahip olup Pt’in Ag içerisinde çözünürlüğü oldukça yüksektir. Pt’li/ Pt’siz çok tabakalı kaplama ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait difraktogramlar sırasıyla 4.6-4.9.’da verilmiştir. Her iki kaplama tipinde de en üst tabakayı Ag oluşturduğundan Ag’ün (111) düzleminde kuvvetli bir pik gelmektedir. Ag/Pt tek tabakalı kaplamaya benzer durum Pt’li çok tabakalı kaplama ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada da görülmektedir. Pt dope edilmesi ile Ag (111) pikiinde bir genişleme belirmiştir.

Her kaplama için, XRD difraktogramlarında elde edilen kuvvetli piklerin FWHM değerleri kullanılarak Scherrer formülünden kristalit boyutları hesaplanmış, Tablo 4.1.’de ve karşılaştırmak amacıyla Tablo 4.2’de AFM sonuçları ile birlikte verilmiştir. Hesaplanan kristalit boyut değerlerden de görüldüğü gibi Pt’nin ilavesi ile kristalit boyutları küçülmüştür.

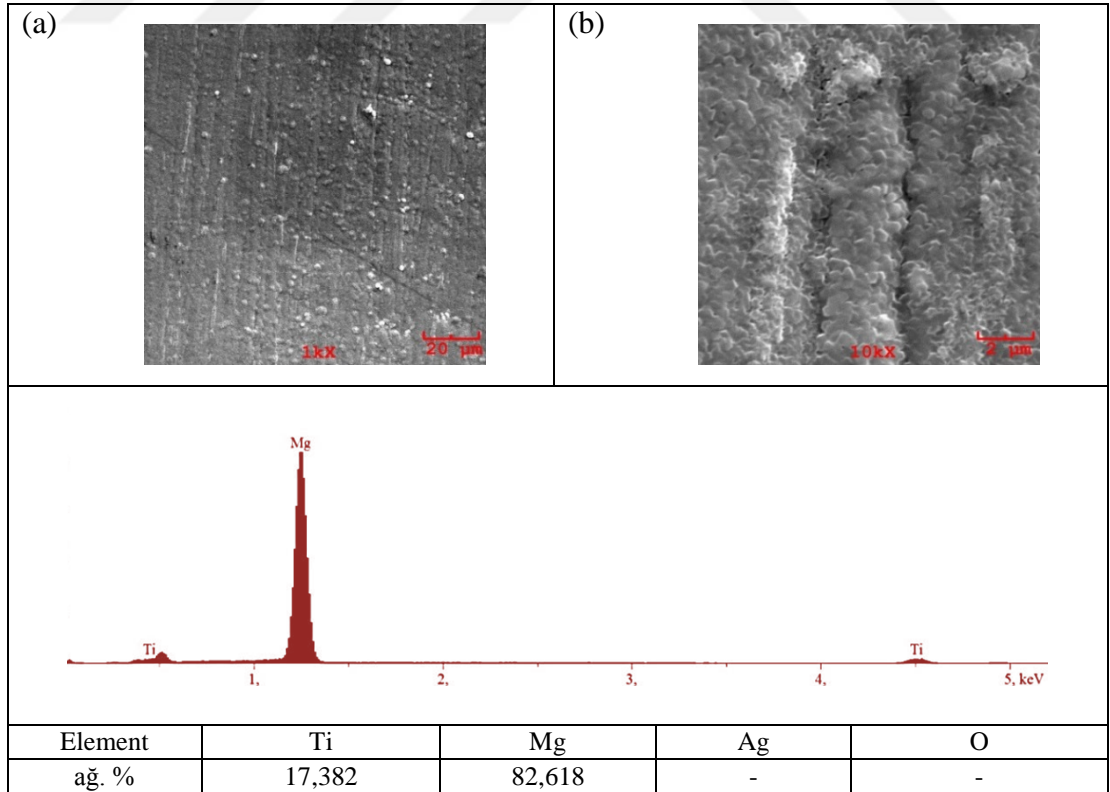
Tablo 4.1. XRD analizinden elde edilen değerler

Örnek	hkl	Ölçülen 2θ (°)	2θ (ICDD Kart, No) (°)	FWHM (°)	Kristalit boyutu (nm)
PEEK	-	18,84	--	0,565	14,26
Ti	002	38,46	38,419 (44-1294)	0,565	14,91
Ti + Mg	002	34,50	34,397 (35-0821)	0,306	27,21
Ag	111	38,16	38,115 (04-0783)	0,282	29,84
Ag/Pt	111	38,06	38,115 (04-0783)	0,376	22,37
Ti + ML	111	38,04	38,115 (04-0783)	0,306	27,49
Ti + ML/Pt	111	38,12	38,115 (04-0783)	0,329	23,83
Ti + GL	111	38,00	38,115 (04-0783)	0,518	16,23
Ti + GL/Pt	111	38,10	38,115 (04-0783)	0,541	15,55

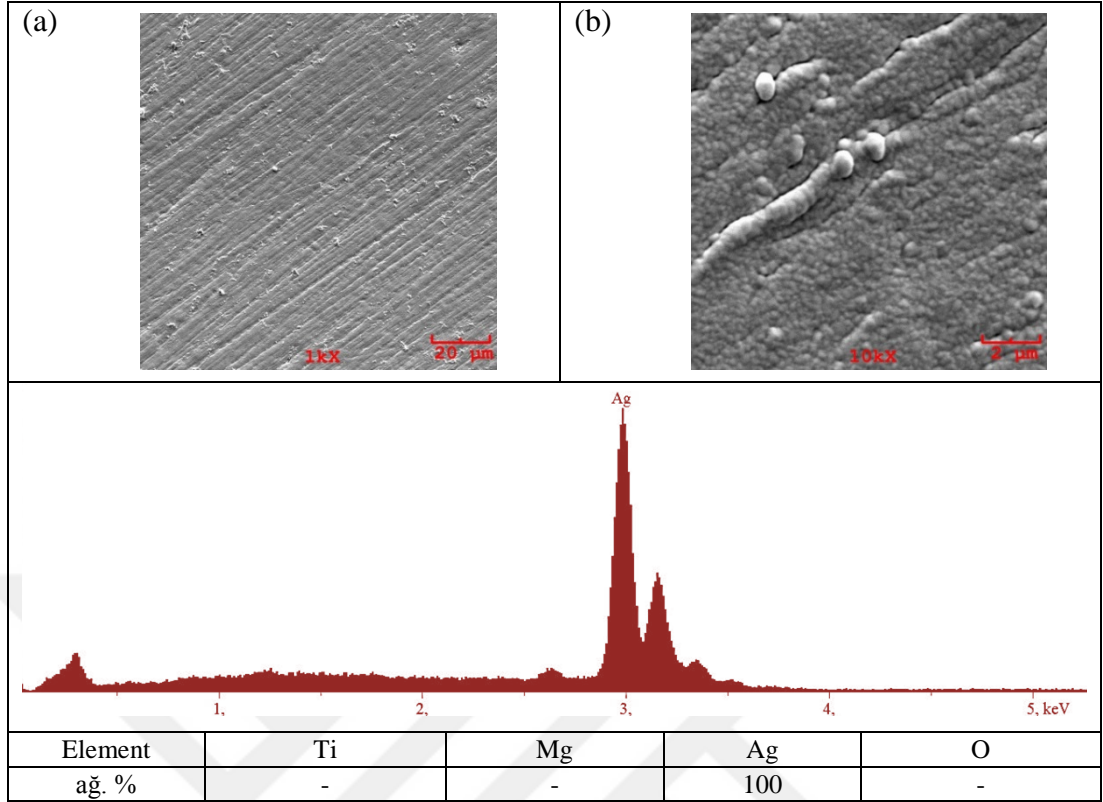
Kaplamaların yüzey morfolojileri SEM/EDS ve AFM ile incelenmiştir. Şekil 4.10-4.17’de kaplamaların SEM görüntüleri ve ilgili EDS analiz sonuçları verilmiştir.



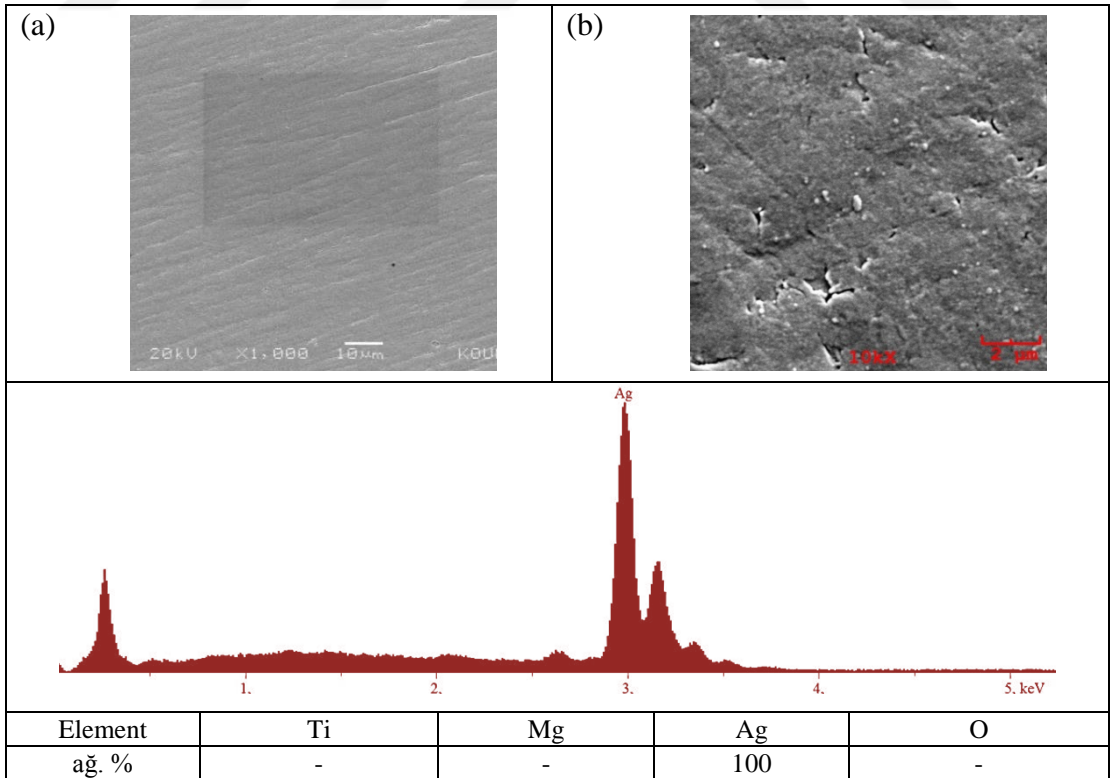
Şekil 4.10. Ti tek tabakalı kaplamanın farklı büyütmelede alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi



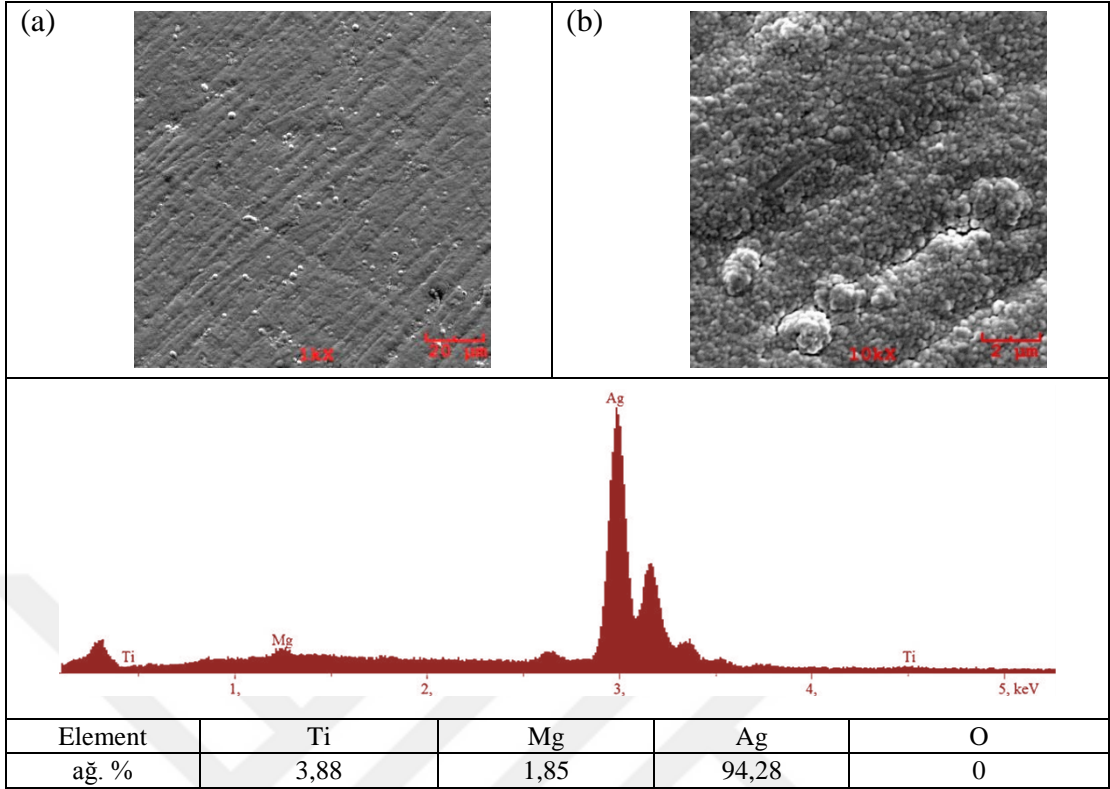
Şekil 4.11. Ti + Mg tabakalı kaplamanın farklı büyütmelede alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi



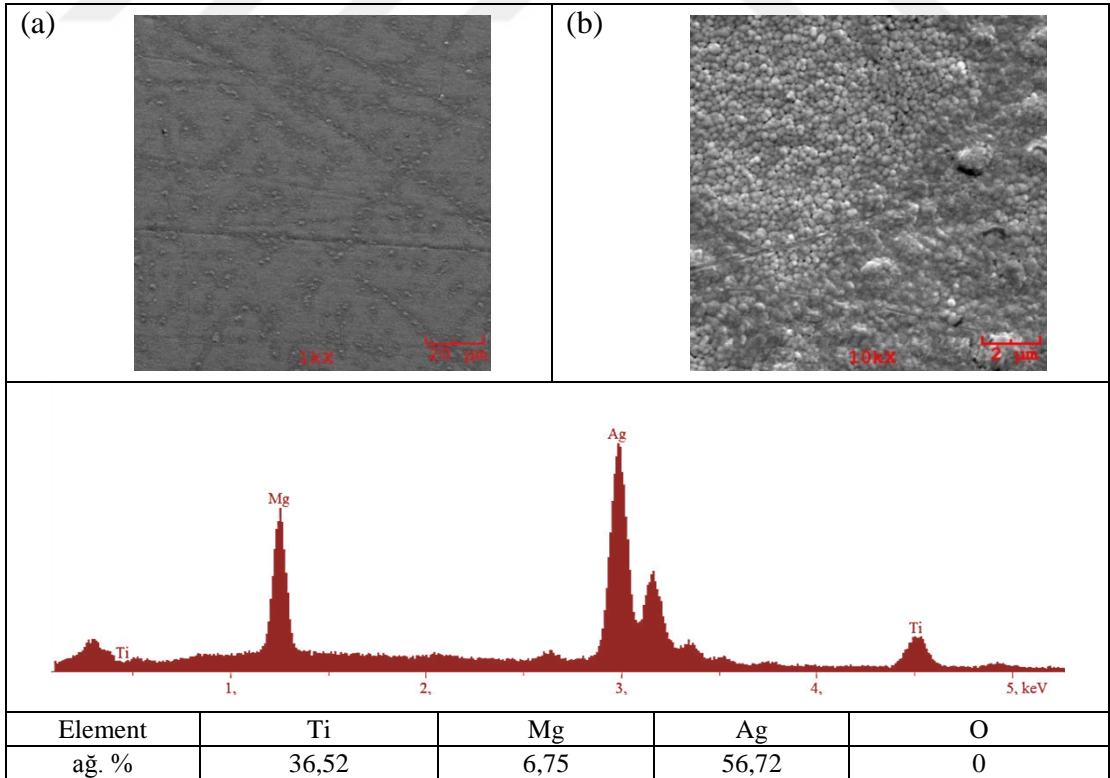
Şekil 4.12. Ag tek tabakalı kaplamanın farklı büyütmelede alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi



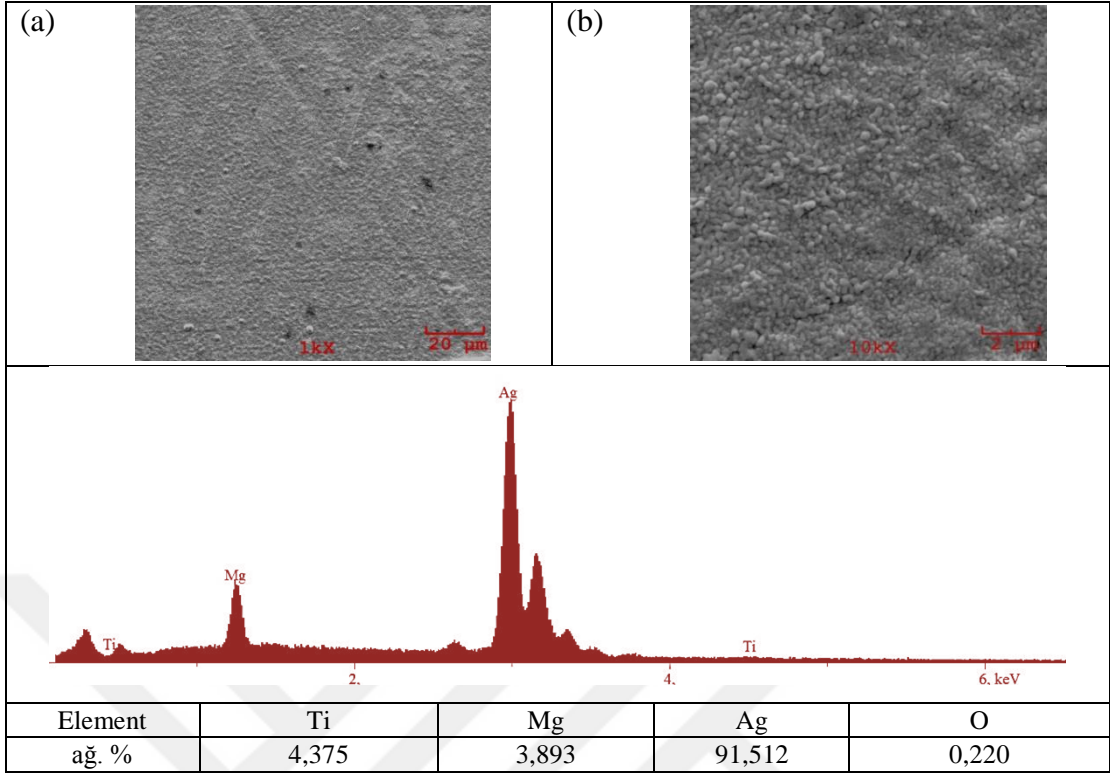
Şekil 4.13. Ag/Pt tek tabakalı kaplamanın farklı büyütmelede alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi



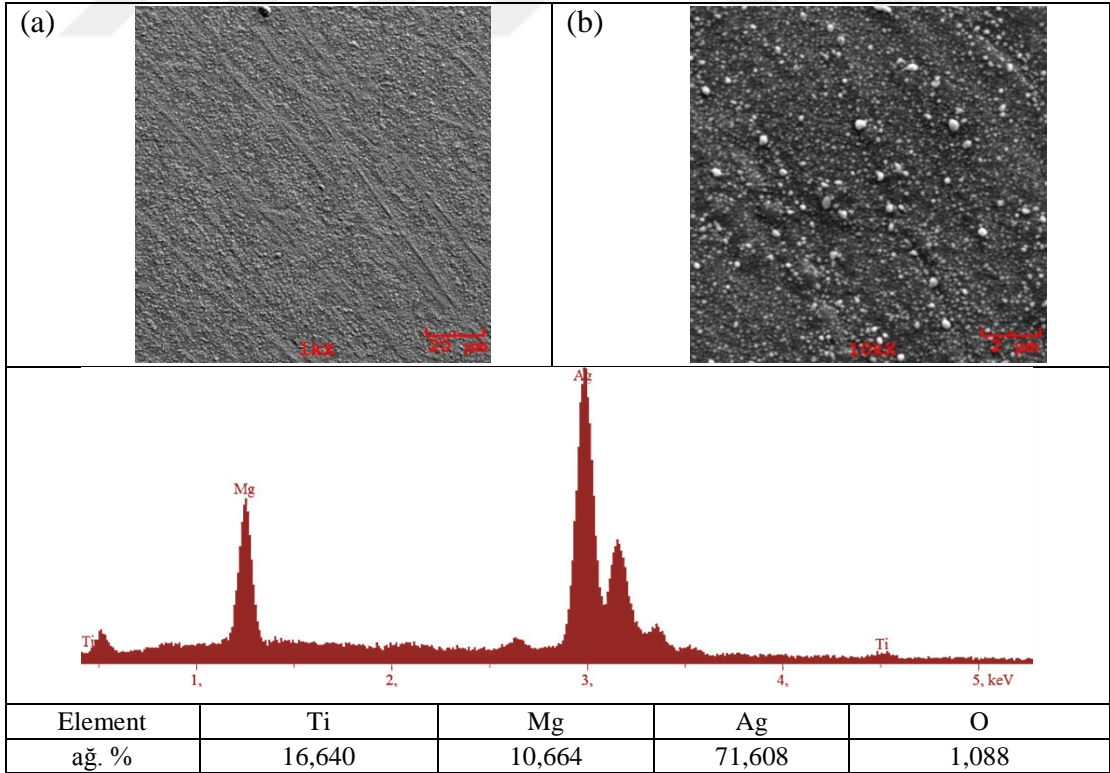
Şekil 4.14. Ti + ML çok tabakalı kaplamanın farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi



Şekil 4.15. Ti + ML/Pt çok tabakalı kaplamanın farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi



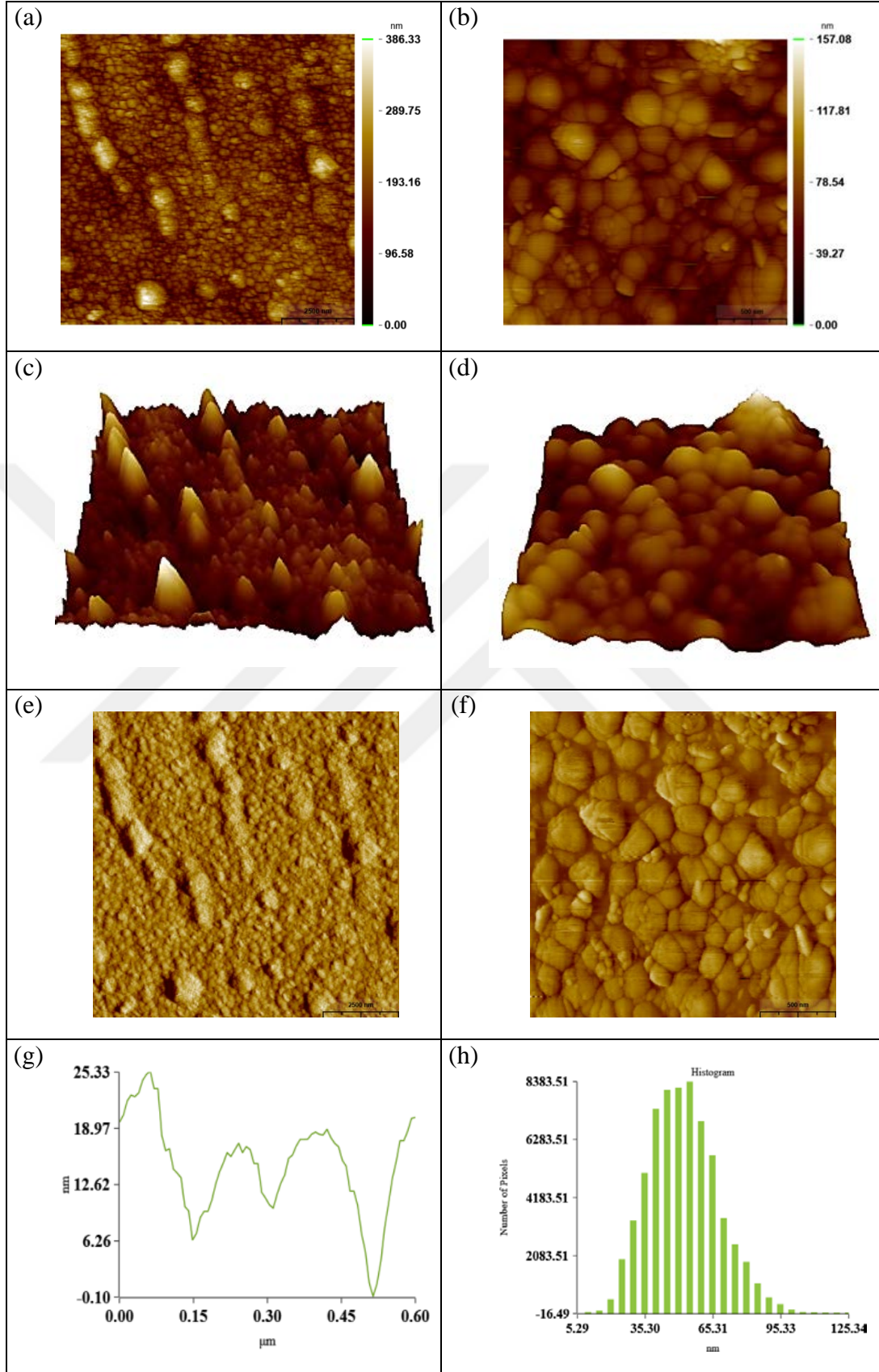
Şekil 4.16. Ti + GL fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamanın farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi



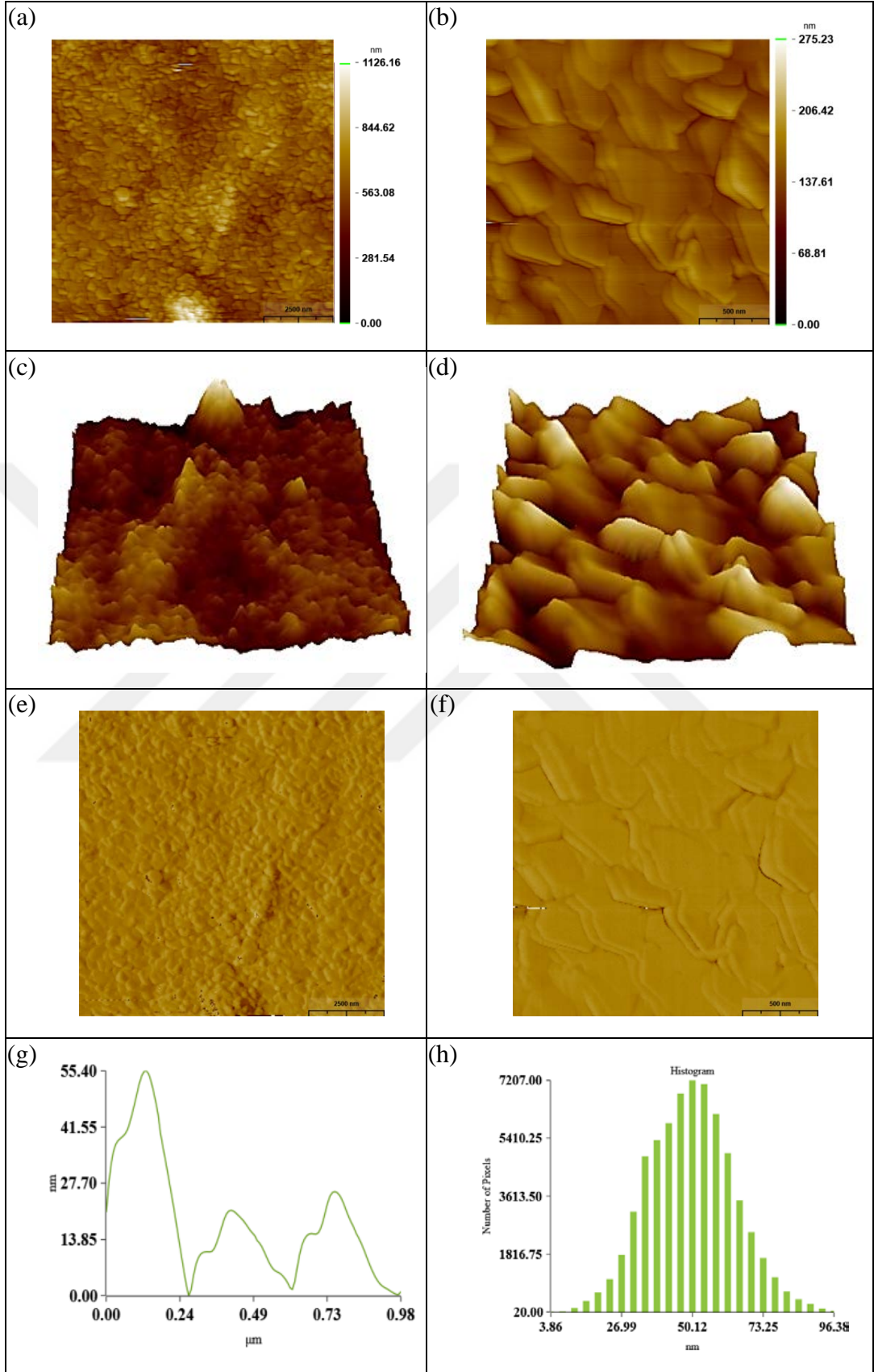
Şekil 4.17. Ti + GL/Pt fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamanın farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri ve genel EDS analizi

Tüm kaplamaların küçük büyütmedeki SEM görüntülerinden de anaşıldığı gibi kaplama kalınlıkları, altlık malzemenin (PEEK) yüzeyindeki yüzey hazırlama işleminden kalan birbirine paralel parlatma izlerinin kaybolmasına yetmemiştir. Bu izler (parlatma izlerinin kenar ve köşeleri) öncelikli çekirdeklenme yöreleridir ve tabakanın büyümesi ile birlikte diğer yörelere göre daha fazla kaplama akısı aldıklarından daha kaba bir yapı sergilemektedirler [204]. Ayrıca yüksek güçte sputterlamadan kaynaklanan bazı küresel kabartılar (droplet, damlacıklar) görülmektedir. Ti ve Mg kaplamalar sahip oldukları hsp kristal yapılarından dolayı plaka tipi bir yüzey morfolojisi sergilerken, Ag tek tabakalı kaplama, çok tabakalı kaplama ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalar, Ag'ün ymk kristal kafes yapısından dolayı nodüler bir mikroyapı göstermektedir. Pt dope edilmesi ile birlikte kaplama yüzeyleri daha düzgün hale gelmiştir. Bu etki özellikle Ag tek tabakalı kaplamada daha belirgin olarak görülmektedir.

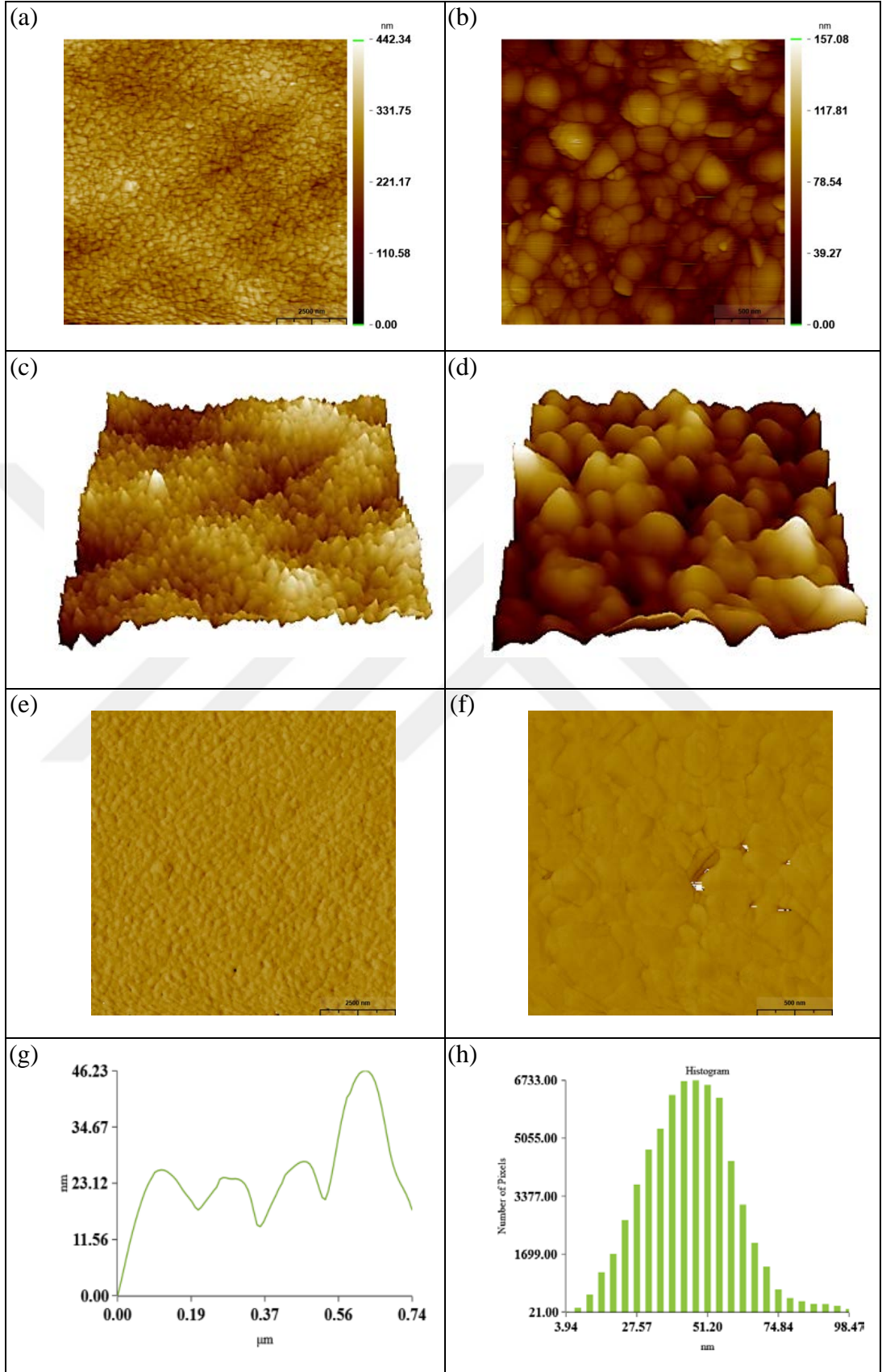
AFM, mikron altı görüntüleme ile yüzey topografisi hakkında detaylı bilgi vermektedir. Kaplamalar AFM ile topografik ve faz olmak üzere iki farklı kontrasta ve 3 boyutlu olarak incelenmiş olup Şekil 4.18-4.25'de verilmiştir. AFM görüntülerinden hesaplanan pürüzlülük parametreleri Tablo 4.2'de verilmiştir.



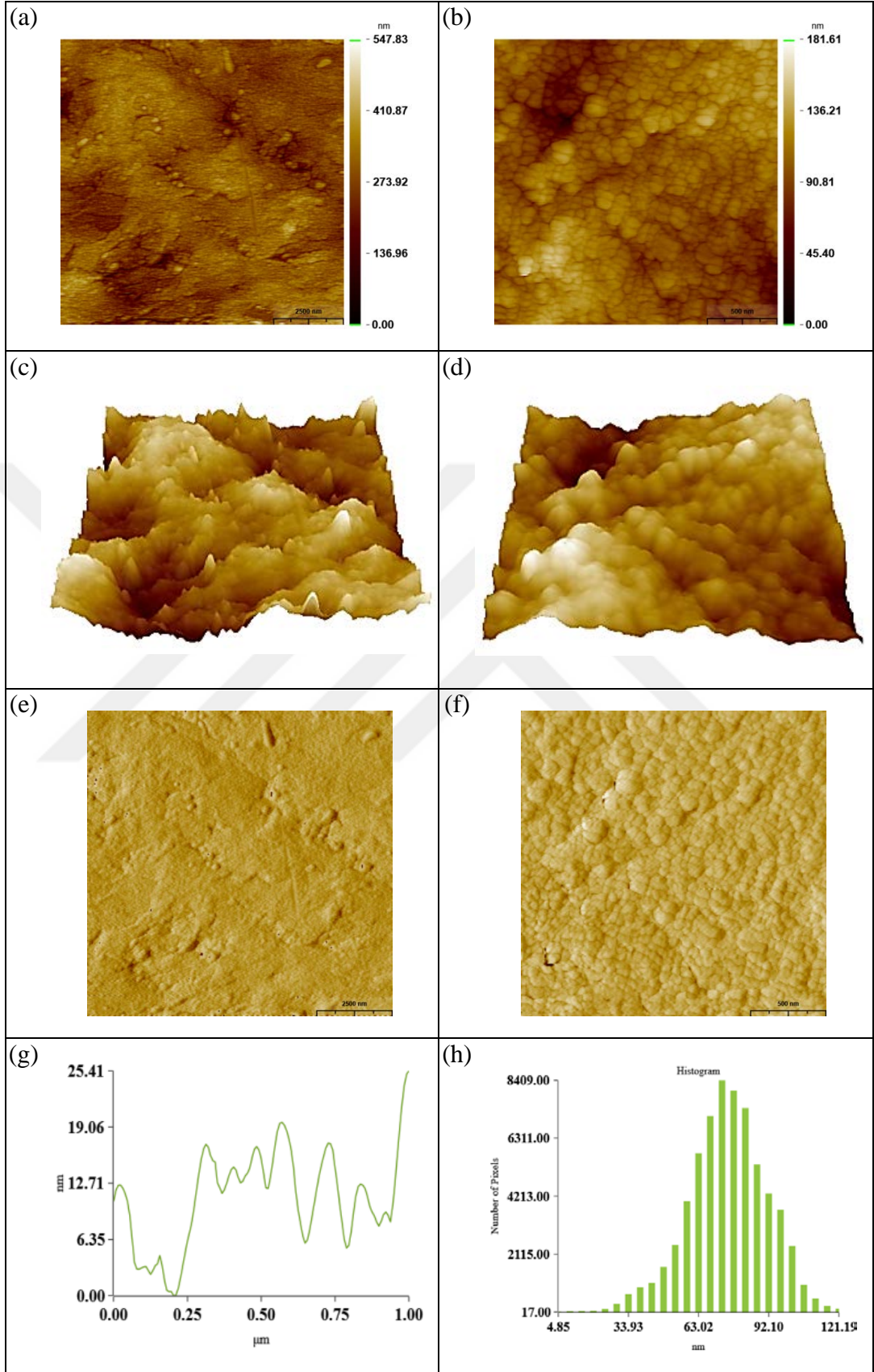
Şekil 4.18. Ti tek tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram



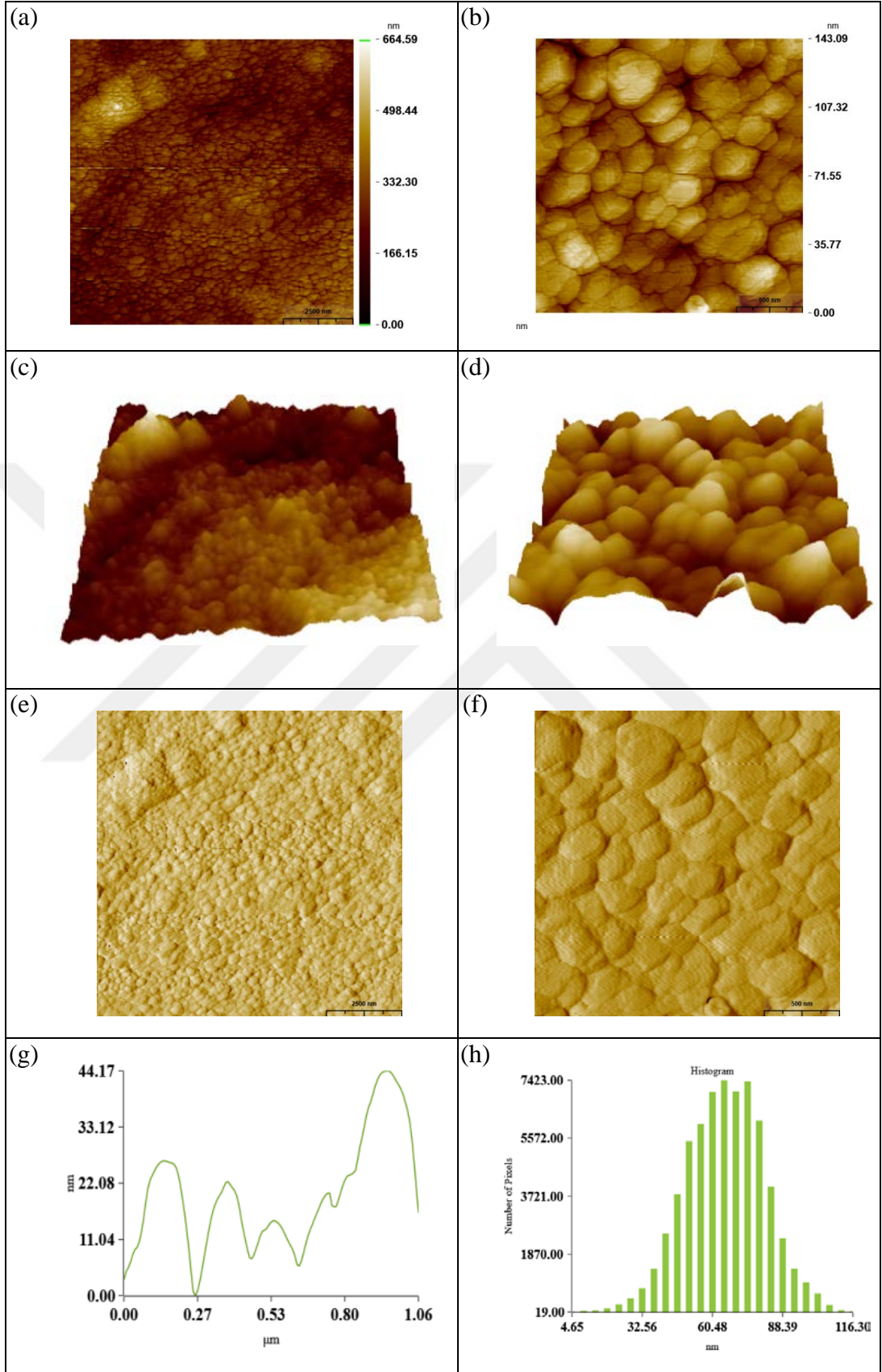
Şekil 4.19. Ti + Mg tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram



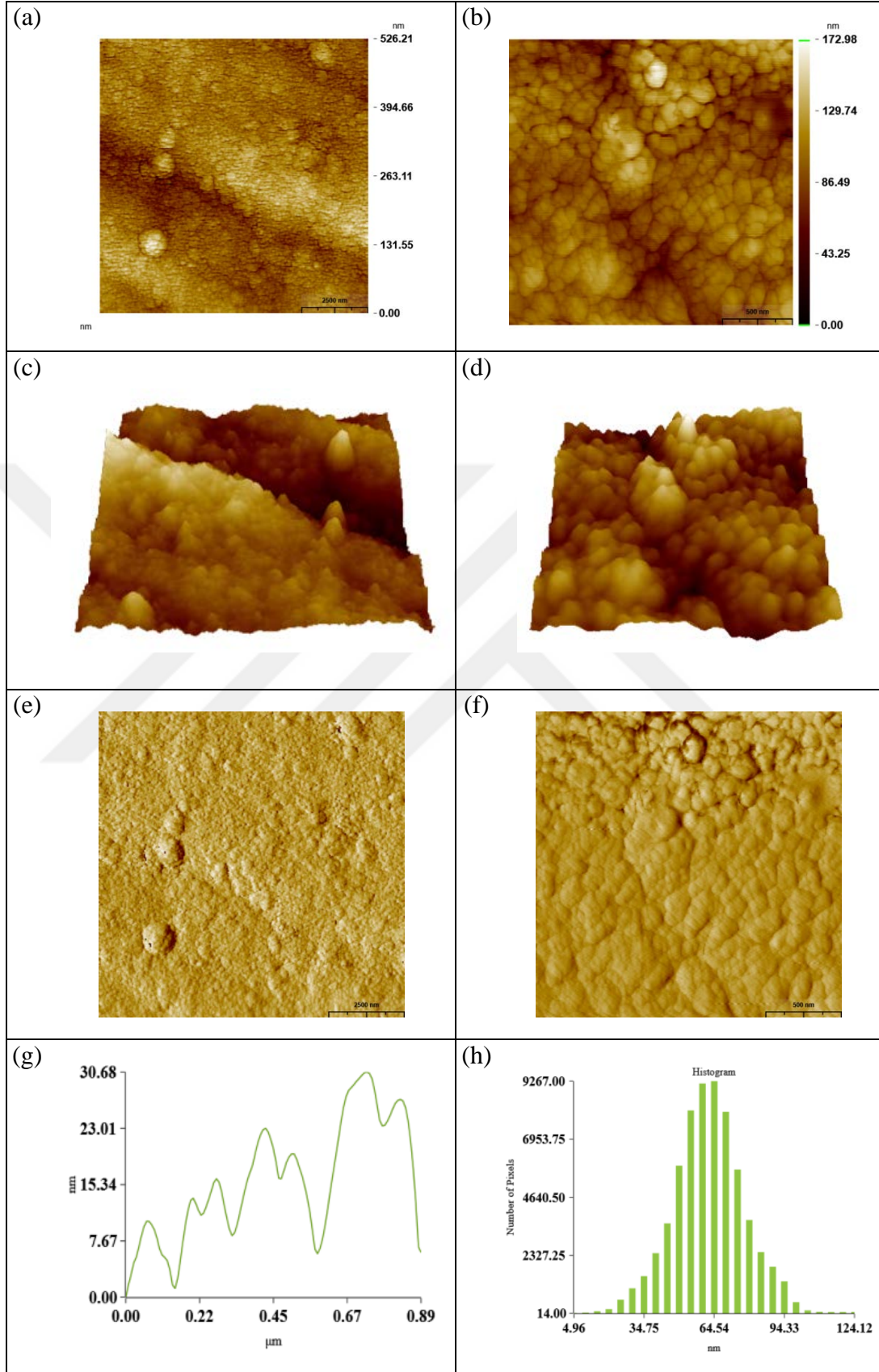
Şekil 4.20. Ag tabakalı kaplamanın farklı büyütme ölçeklerinde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram



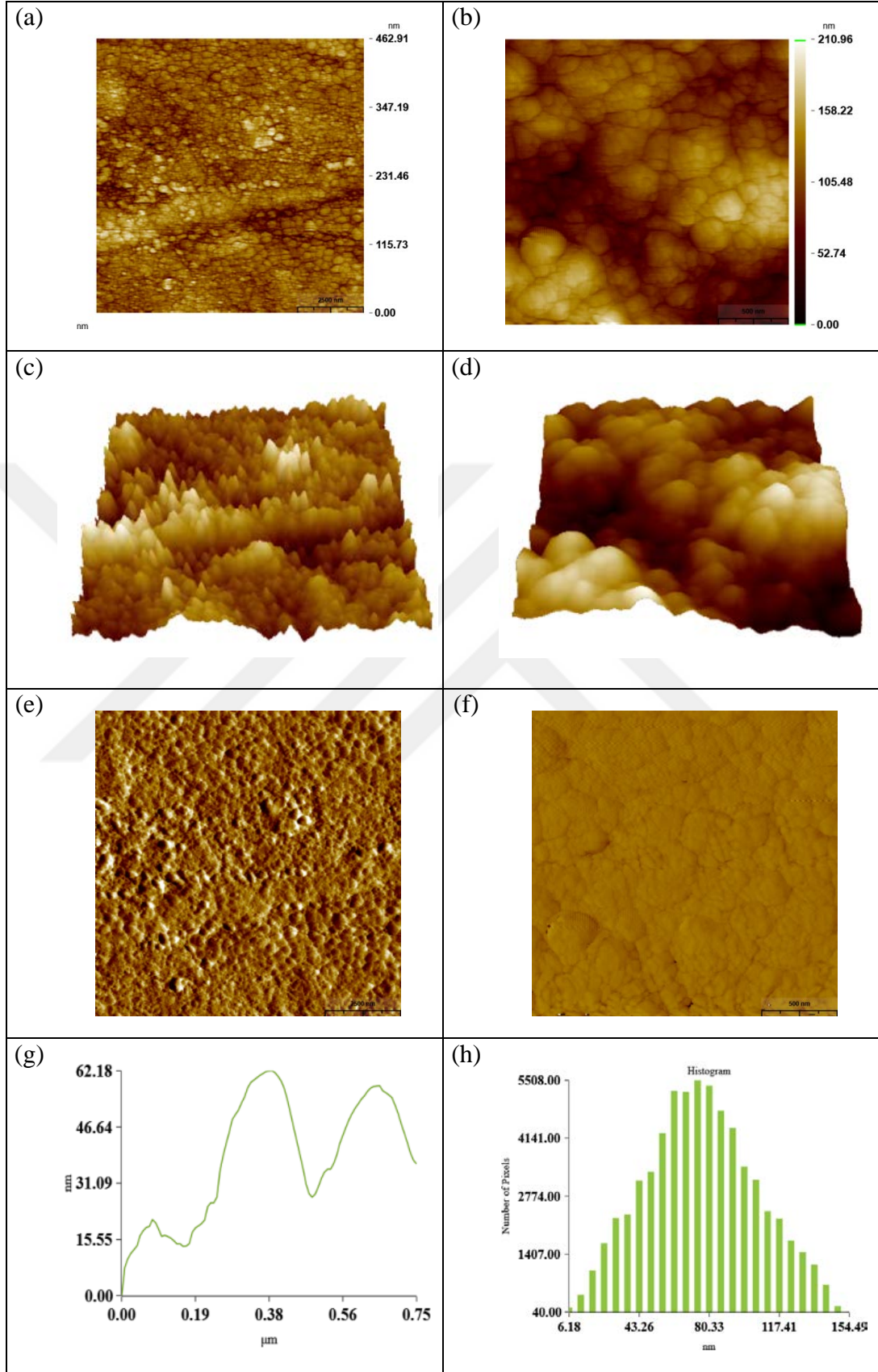
Şekil 4.21. Ag/Pt tabakalı kaplamanın farklı büyütmelede alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram



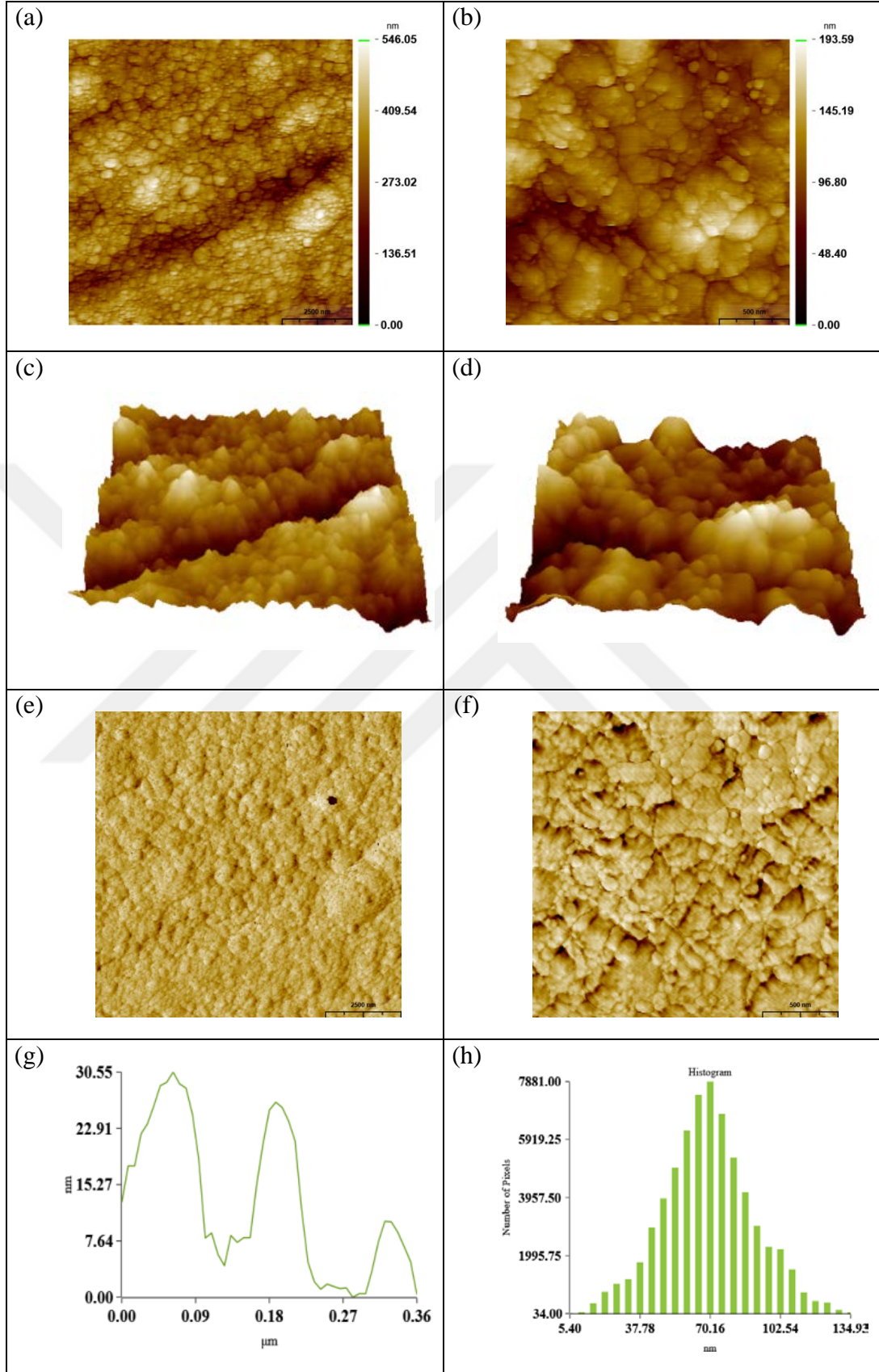
Şekil 4.22. Ti + ML çok tabakalı kaplamanın farklı büyütelerde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram



Şekil 4.23. Ti + ML/Pt çok tabakalı kaplamanın farklı büyütmelemlerde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram



Şekil 4.24. Ti + GL çok tabakalı kaplamanın farklı büyütmelerde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram



Şekil 4.25. Ti + GL/Pt çok tabakalı kaplamamın farklı büyütmelemlerde alınmış AFM görüntüleri; (a-b) topografik kontrast, (c-d) 3 boyutlu, (e-f) faz kontrast, (g) kesit taraması, (h) histogram

İnce filmlerin mikroyapıları, adatomların (yüzey atomları) büyüme sırasında hareketliliği ile ilgilidir [205]. Atomlara enerji temini termal etki, iyonik bombardıman ve kimyasal reaksiyonlar ile sağlanmaktadır. İnce filmlerin büyümesinde bu mekanizmalar tarafından üretilen etkiler, yapı bölgesi modeli (Structure Zone Model, SZM) ile açıklanabilir. SZM modeli, materyalin türüne bakılmaksızın adatomların bir fonksiyonu olarak filmlerin morfolojisini ve mikroyapısını belirleyebilmektedir. SZM modelinde, filmlerin mikroyapısını belirleyen parametreler temel olarak alt tabaka sıcaklığı, son çalışma basıncı, alt tabakaya uygulanan ön gerilim voltajı ve hedefin ısı karakteristiktir. Movchan ve Demchishin [205] çalışmalarında, Ti, Ni, ZrO₂ ve Al₂O₃ ince filmlerinin mikroyapısının, normalize edilmiş sıcaklığa bağlı olarak geliştiğini göstermişlerdir. Metalik filmlerde normalize edilmiş sıcaklığa, T_s/T_m (T_s , altlık malzemenin sıcaklığı ve T_m , hedefin ergime sıcaklığıdır), bağlı olarak üç bölge tanımlanmıştır. Buna göre birinci bölgede $T_s/T_m < 0,3$ olup, zayıf bağlı, küçük, uzun tanlardan oluşan kolonsal, gözenekli mikroyapı sergilenmektedir. Kolonsal yapı, yüzeyde adsorbe olan atomların düşük difüzyon, düşük mobilite ve atomik gölgeleme etkisi sonucu oluşmaktadır. $0,3 \leq T_s/T_m \leq 0,45$ olan ikinci bölgede altlık malzemenin sıcaklığı homojen bir şekilde artmaktadır. Bu artış, adatomların daha hızlı difüzyonuna, bu da kolonlar ve kenarlar arasında daha kuvvetli bağa ve tane sınırlarının oluşmasına neden olarak daha yoğun bir yapının gelişmesini sağlamaktadır. Bu bölgede tane boyutu artabilmekte ve eşeksenli olabilmektedir. Üçüncü bölgede, $T_s/T_m > 0,45$, tane içi difüzyonun artması nedeniyle, hacimsel difüzyon boyutu filmin morfolojisi üzerine büyük etki etmektedir. Bu da tanelerin büyümesine, eşeksenli tanelerin oluşmasına ve rekristalizasyona neden olmaktadır. Bu etkiler daha büyük kristalin yapı oluşturmaktadır.

Hesaplanan normalize edilmiş sıcaklıklar, Ti kaplama için $T_s/T_m = 0,16$, Mg kaplama için $T_s/T_m = 0,35$ ve Ag için $T_s/T_m = 0,26$ 'dır. SZM'ye göre Ti ve Ag kaplamalarda düşük difüzyon, düşük atomik mobilite sonucu kolonsal, gözenekli bir yapı sergilenmesi beklenirken Mg kaplamada difüzyon söz konusu olduğundan, yapı daha yoğun ve kaba olarak kendisini göstermektedir. Tane boyutu artabilmekte ve eşeksenli olabilmektedir.

Mg kaplama dışındaki tüm kaplamalar granüler yapı sergilemektedir. Altlık malzemenin nihai yüzey hazırlamasından kalan izlerin kenarından büyüyen kaba yapılar AFM görüntülerinde de gözlenmektedir. Tüm kaplamaların faz kontrastta alınan görüntüleri, XRD sonuçları ile örtüşmekte olup kristalin yapı sergilemektedir. AFM topografik kontrastta alınan pürüzlülük parametreleri, kesit taramasından elde edilen yaklaşık tane boyutu ve histogramdan elde edilen maksimum kolon yüksekliği Tablo 4.2’de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi ortalama pürüzlülük değeri, S_a , ve ortalama pürüzlülük değerinin karekökü, S_q , Ag’e Pt dope edilmesi ile azalmaktadır. Aynı şekilde kesit taramasından elde edilen yaklaşık tane boyutları da benzer sonucu vermektedir. Düşük kaplama sıcaklıkları difüzyona olanak tanımamaktadır. Buna ilave olarak kaplamada Pt’nin varlığı yüzey difüzyonunu daha da sınırlamakta ve böylece kristalit boyutunu düşürmektedir. Aynı etki AFM görüntülerinde, kesit taramasından elde edilen tane boyutu hesaplamalarından da görülmektedir (Şekil 4.18-4.25’deki (g) şıkları). Pt’nin Ag’e dope edilmesi ile tane boyutu da değişmektedir. Tüm kaplamalarda S_{sk} ’nın 0 değerine, S_{ku} ’nun 3 değerine yakın olması, yüzey morfolojik yapıların Gaussian bir dağılım gösterdiği sonucunu vermektedir. Aynı şekilde tüm kaplamaların AFM görüntülerinden elde edilen histogramlar (Şekil 4.18-4.25’deki (h) şıkları) bunu desteklemektedir.

Tablo 4.2. XRD ve AFM analizlerinden elde edilen değerler

Örnek	Metot					
	XRD		AFM, $2\mu\text{m} \times 2\mu\text{m}$			
	Kristalit boyutu (nm)	S_a (nm)	S_q (nm)	S_{sk}	S_{ku}	Tane boyutu (nm)
PEEK	14,26	10,51	12,20	0,443	2,108	-
Ti	14,91	9,98	12,61	0,404	2,851	150-200
Ti+Mg	27,21	10,58	13,40	0,244	3,023	250-400
Ag	29,84	9,18	11,32	-0,196	2,793	200
Ag/Pt	22,37	8,69	10,39	-0,198	2,439	120
Ti+ML	27,49	11,48	14,08	-0,101	2,625	130-270
Ti+ML/Pt	23,83	8,27	10,32	-0,224	2,967	80-100
Ti+GL	16,23	11,02	13,48	-0,367	2,632	200-400
Ti+GL/Pt	15,55	10,51	12,20	0,738	3,061	150-200

4.2. Mekanik Özellikler

4.2.1. Ultra-mikro sertlik ölçümleri

Kaplanmamış PEEK ve silikon altlık malzeme üzerine kaplanan tek tabaka, çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların ultra-mikro sertlik indentasyon test sonuçları Tablo 4.3’de verilmiştir. Burada t , batma derinliğini göstermektedir. Değerlerden de görüldüğü gibi ölçümlerde batma yükü, batma derinliği kaplama kalınlığının 1/10 ‘nu geçmeyecek şekilde uygulanmıştır.

Tablo 4.3. Ultra-mikro sertlik indentasyon test sonuçları

Örnek	1,2 mN (10 adım, 1s)		
	t , nm	HU, GPa	E, GPa
PEEK	$351,2 \pm 14,4$	$0,24 \pm 0,02$	$5,97 \pm 0,26$
Ti	$59,0 \pm 1,6$	$3,39 \pm 0,12$	$98,22 \pm 7,88$
Ti+Mg	$175,2 \pm 9,6$	$0,71 \pm 0,06$	$160,18 \pm 89,90$
Ag	$97,2 \pm 1,8$	$1,61 \pm 0,04$	$83,71 \pm 3,85$
Ag/Pt	$62,0 \pm 0,7$	$3,15 \pm 0,08$	$137,23 \pm 10,28$
Ti+ML	$101,0 \pm 2,8$	$1,59 \pm 0,06$	$87,57 \pm 6,31$
Ti+ML/Pt	$97,4 \pm 1,1$	$1,67 \pm 0,03$	$89,49 \pm 8,73$
Ti+GL	$72,4 \pm 0,9$	$2,55 \pm 0,05$	$86,84 \pm 6,47$
Ti+GL/Pt	$79,6 \pm 1,5$	$2,23 \pm 0,06$	$76,68 \pm 4,65$

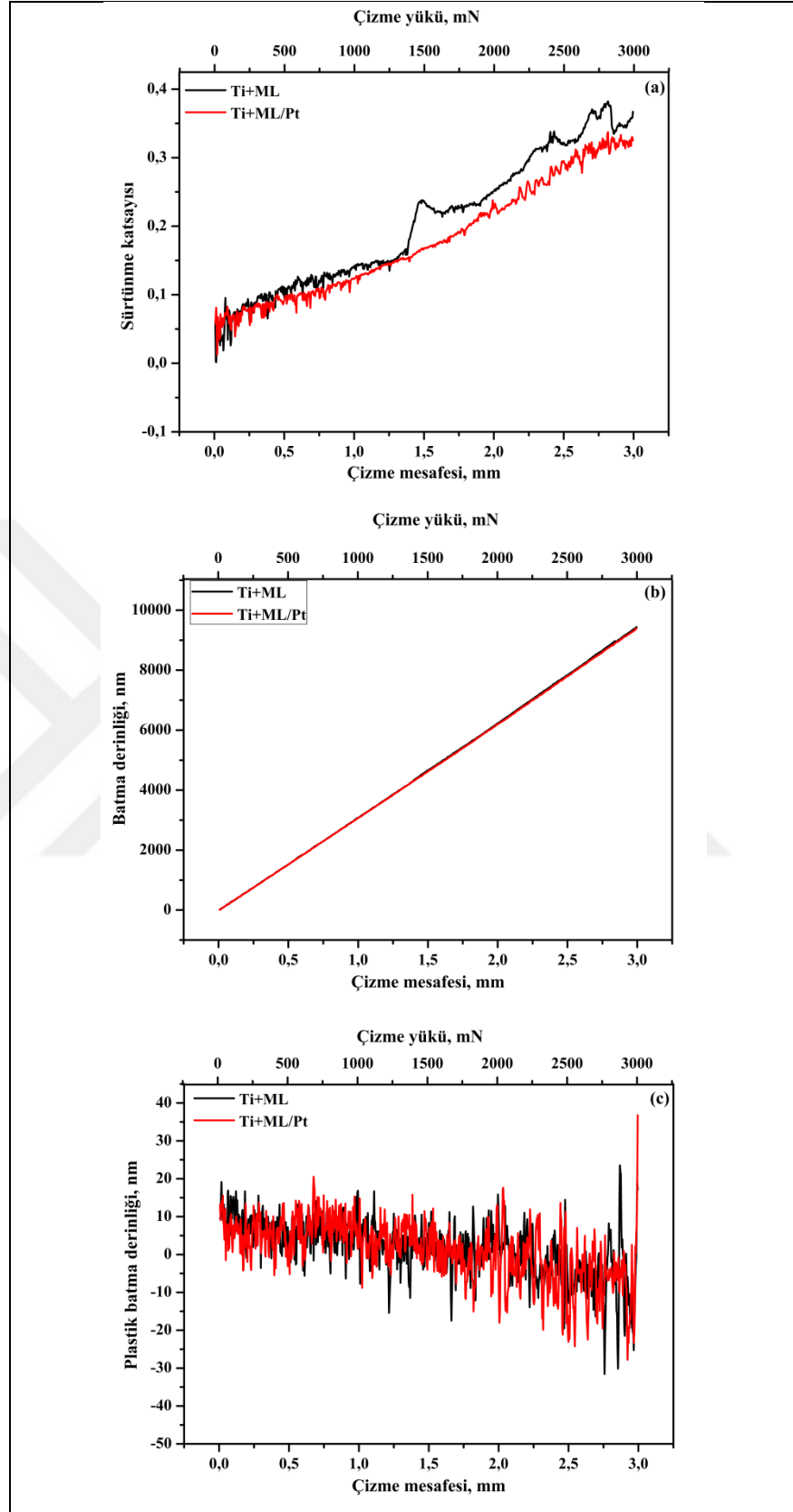
Tablodan da görüldüğü gibi Ag’e Pt dope edilmesi, özellikle tek tabakalı Ag kaplamada ve çok tabakalı kaplamada sertlik (HU) ve elastik modül (E) değerlerini artırmış ancak fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada bu etki gözlenememiştir. Pt’nin sertlik değerlerindeki farklı etkisi, kaplamaların mimarisi, diğer bir deyişle Ag’ün kalınlığı ile ilgilidir. Ölçülen kalınlıktaki Ag’ün miktarı arttıkça Pt’nin etkisi artmaktadır. Düşük kaplama sıcaklıkları, denge dışı katılaşmaya neden olmakta ve Ag-Pt ikili faz diyagramında beklenen peritektik reaksiyon gerçekleşmemektedir. Bunun yerine sahip oldukları benzer atomik çapları nedeniyle Pt, Ag kafesine yer alan atomu olarak girebilmekte ve katı ergiyik sertleşmesi gözlenmektedir.

4.2.2. Çizik testi

Nano çizik testi (NanoScratch Tester (NST), CSM-Instruments) ile kademeli olarak artan yükler altında kaplamaların yapışma dayanımı belirlenmiştir. Çizik testi nihai çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara uygulanmıştır. Çizik testi 100 µm Rockwell elmas uç ile 0,03 – 3 N artan yük aralığında 3 mm'lik çizik izi oluşturularak yapılmıştır. Çizik testlerinde, her bir kaplama numunesi için 6,06 mm/dak çizme hızı ve 6000 mN/dak yükleme hızı kullanılmıştır. Kaplamaların hasar mekanizmalarını incelemek amacıyla uygulanan yük aralığında çizik test izleri SEM/EDS ile görüntülenmiştir. Kaplamanın yapışma (adhezyon) mukavemetini gösteren L_{c1} ve L_{c2} kritik yükleri belirlenmiştir.

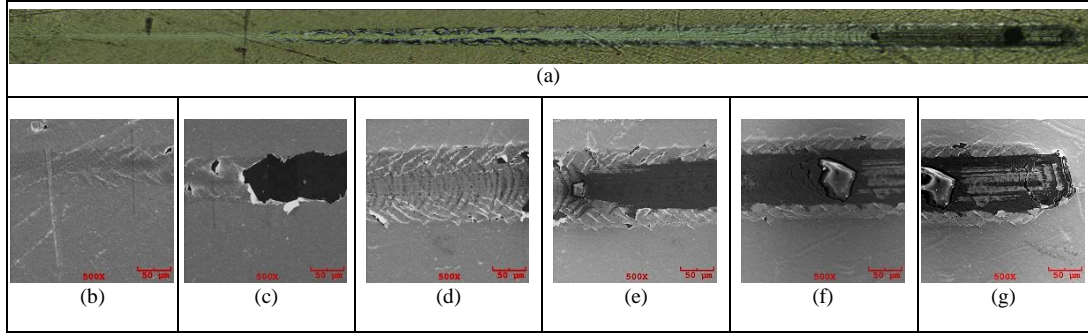
İki malzemenin birbiri üzerinde hareket etmesi ile oluşan tribolojik etkileşimlerde, malzeme özelliklerine bağlı olarak farklı aşınma mekanizmaları söz konusudur. Bunlar adhezif, abrazif, yorulma ve kimyasal aşınma olarak adlandırılmaktadır.

Kademeli olarak artan yük altında yapılan çizik testi sırasında kaydedilen sürtünme katsayısı, batma (penetrasyon) derinliği ve artık batma derinliği (residual depth) değişimleri yük ve mesafenin fonksiyonu olarak, Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamalar için Şekil 4.26a-c'de sırasıyla verilmiştir. Çizik testi sırasında ucun kaplamanın üzerinde hareket etmesiyle oluşan çizik izi, artan yük ile elastik-plastik deformasyon nedeniyle olarak genişlemektedir. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada sürtünme katsayısı Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamaya göre daha yüksektir (Şekil 4.26a). Bunun nedeni, kaplamanın en üst tabakasını oluşturan Ag tabakanın daha düşük sertliğe sahip olması (1.61 GPa karşı 3.15 GPa) ve deformasyon kabiliyetinin daha yüksek olmasıdır. Yüksek deformasyon kabiliyeti sabanlamayı kolaylaştırarak, elmas ucun önünde kaplamanın birikmesine ve sonuç olarak sürtünme katsayısının artışına sebep olmaktadır. PEEK'in düşük yük taşıma kapasitesi ve kaplama kalınlığının düşük olması nedeniyle, batma derinliği yükün artması ile birlikte toplam kaplama kalınlığından daha büyük değer almaktadır (Şekil 4.26b). Buna rağmen, uygulanan yük aralığında deformasyon tamamen elastik karakteristiktir (Şekil 4.26c).



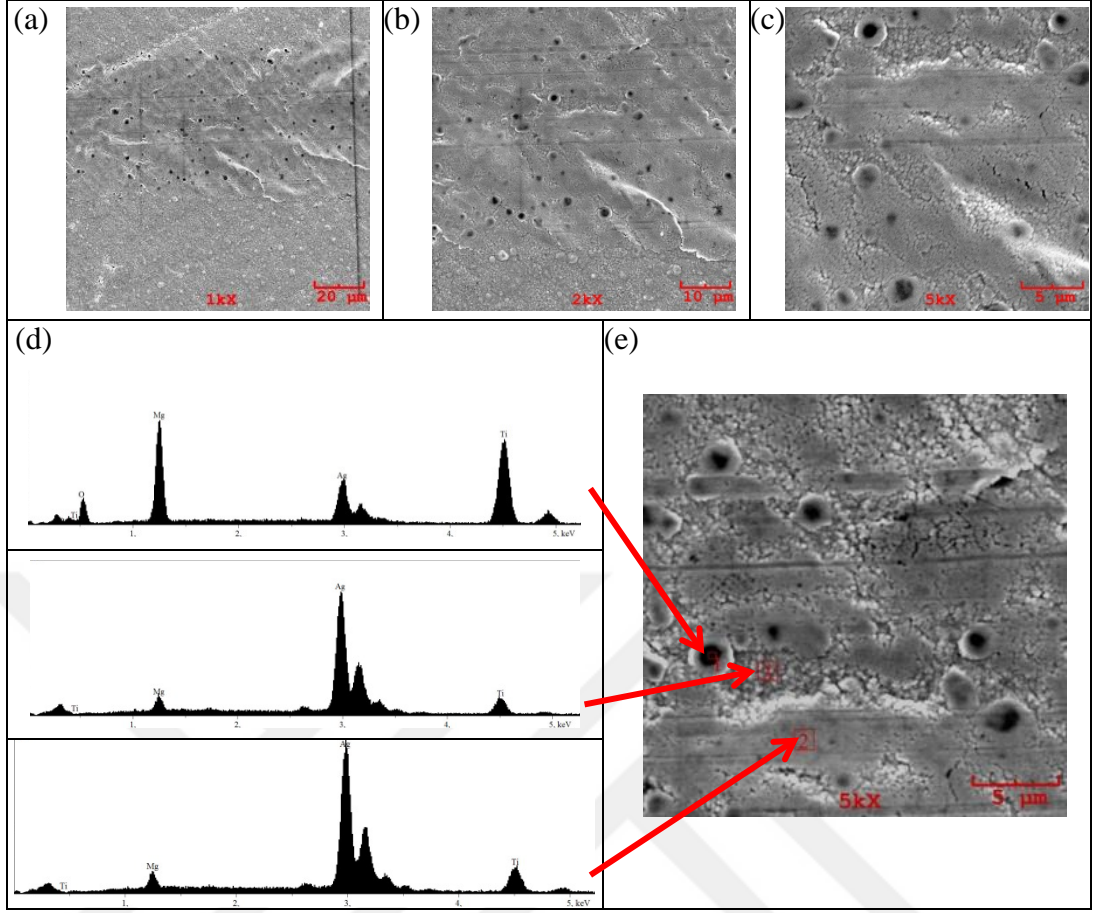
Şekil 4.26. Çok tabakalı kaplama için çizik testi sürecinde uygulanan yük ve mesafe ile (a) sürtünme katsayısının (b) batma derinliğinin ve (c) plastik batma derinliğinin değişimi

Çizik testi sonrası kaplamalarda oluşan çizme izleri (scratch test tracks) SEM ve EDS ile incelenmiştir. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada çizme testi sonrası oluşan oyuk izin panoramik ve SEM görüntüsü sırasıyla Şekil 4.27’de verilmiştir.



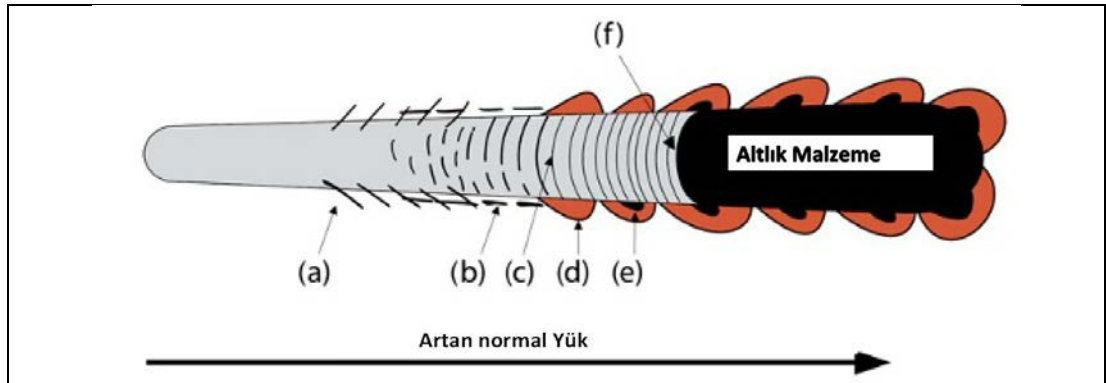
Şekil 4.27. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü

Kaplama yüzeylerinde, kaplama süreci sırasında oluşan büyük kristal veya dropletlerin oluşturduğu pürüzlülükler (asperit) düşük yükler altında plastik olarak deforme olmaktadır. Asperit deformasyonu olarak adlandırılan bu olay, temas yüzeyinin pürüzlülük gibi yüzey morfolojisinin bir sonucu olarak gelişmektedir. Düşük yüklerde gerçekleşen bu bölgenin daha ayrıntılı, farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri Şekil 4.28a-d’de ve ilgili EDS analizi Şekil 4.28e’de verilmiştir. Plastik deformasyon sırasında en üst tabakayı oluşturan Ag’ün bir kısmı bu asperitlerin tepelerinden koparılmakta ve adhezif aşınmaya neden olmaktadır (şekildeki siyah noktalar). Diğer yandan artan çizme yükü ile birlikte kaplama yüzeyi daha pürüzsüz hale gelerek parlatma etkisi göstermektedir. Çizik testinde düşük yüklerde sürtünme katsayısında görülen dalgalanmalar (karasızlıklar) (Şekil 4.26a) yüzeyde bulunan asperit deformasyonunun statik sürtünme üzerindeki etkisinden ileri gelmektedir. Bununla birlikte, çizik testi sürecinde yüzeyin sabanlaması ile oluşan oyuk izleri, yük taşıma kapasitesinin aşılmasıyla elastik ve plastik deformasyonun bir sonucudur.



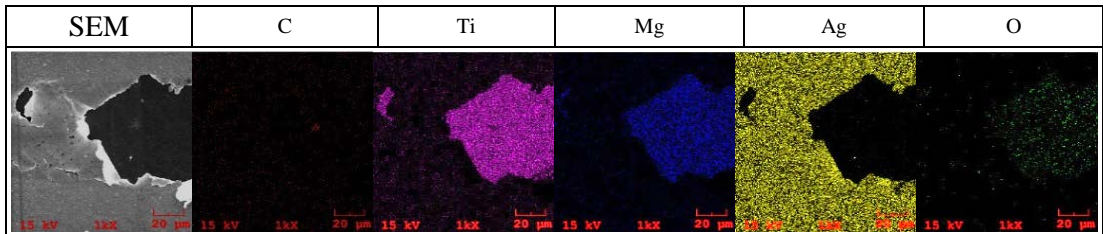
Şekil 4.28. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada düşük yüklerde görülen asperit deformasyonuna ait (a-c) SEM görüntüleri ve (d-e) EDS analizi

Yükün daha da artmasıyla kayma ve sabanlama nedeniyle sürtünme katsayısı da artmaktadır. Nihai olarak, ucun arkasında oluşan çekme gerilmesi ile ucun önünde oluşan basma gerilmesi ve malzeme yığılması sonucu farklı çatlak paternleri oluşmaktadır (Şekil 4.29) [194].



Şekil 4.29. Çizik testi sırasında iz boyunca oluşan yüzey çatlakları; (a) açılmal çatlaklar, (b) paralel çatlaklar, (c) enine yarıdairesele çatlaklar, (d) kaplamada talaş kalkması, (e) kaplamada dökülme, (f) kaplamanın tamamen kalkması [194]

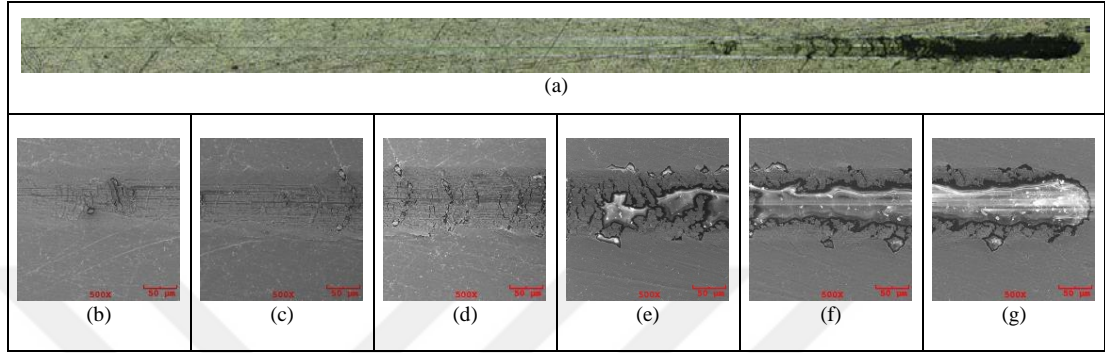
Şekil 4.27b'den görüldüğü gibi artan yük ile birlikte ucun arkasında, izin kenarlarında ilk açılmal çatlaklar oluşmaya başlamaktadır. Kaplama hasarının ilk görüldüğü bölgedeki yük, kritik yük (L_{C1}) olarak adlandırılmakta ve kaplamanın yapışma mukavemetini göstermektedir. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada ilk hasar 1.07 N'da görülmüştür. Ancak Şekil 4.27c ve 4.30'da SEM ve EDS haritalamadan görüldüğü gibi sadece en üst Ag tabaka delamine olmuştur. Daha yüksek yüklerde çizik izinin merkezine doğru yüzey daha pürüzsüz hale gelirken izin kenarlarında daha fazla açılmal çatlaklar oluşmaktadır (Şekil 4.27d). Nihai olarak, artan çizik yükü ve temas alanı nedeni ile oluşan büyük plastik gerinme ve pekleşme (gerinme sertleşmesi), yüzeyin plastik deformasyonuna neden olmaktadır. Ancak kaplamanın yük taşıma kapasitesinin aşılmasıyla birlikte arayüzey çatlak gelişimleri, enine yarı dairesel çatlakların plastik yığılma (plastic pile-up) bölgelerine doğru yanıl (lateral) olarak ilerlemesine ve nihai olarak kaplamanın kalkmasına (spallation) neden olmaktadır (Şekil 4.27e-g). Genelde, bu tür enine yarı dairesel çatlaklar, düşük kaplama sıcaklıklarda oluşan iç gerilmelerden (intrinsic stresses) kaynaklanmakta olup, çizik testi sırasında ucun önünde bulunan basma gerilmesi nedeniyle oluşmaktadır. Ayrıca, Ag'ün bir kısmı, altta bulunan Mg tabaka içine gömülmektedir. Mg sahip olduğu daha düşük sertlik nedeniyle yüksek deformasyon kabiliyetine sahiptir. Bu nedenle bu yük aralığında sadece enine yarı dairesel çatlaklar oluşabilmekte ve sadece en üst Ag tabaka kalktığından L_{C2} belirlenmemektedir (Şekil 4.27g ve 4.30). Son yükleme aralığında, enine yarı dairesel çatlaklar daha belirginleşmektedir. Nihai olarak, büyük Ag tabakaları yüzeyden kalkarak adhezif hasara neden olmaktadır (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada SEM ve EDS haritalama

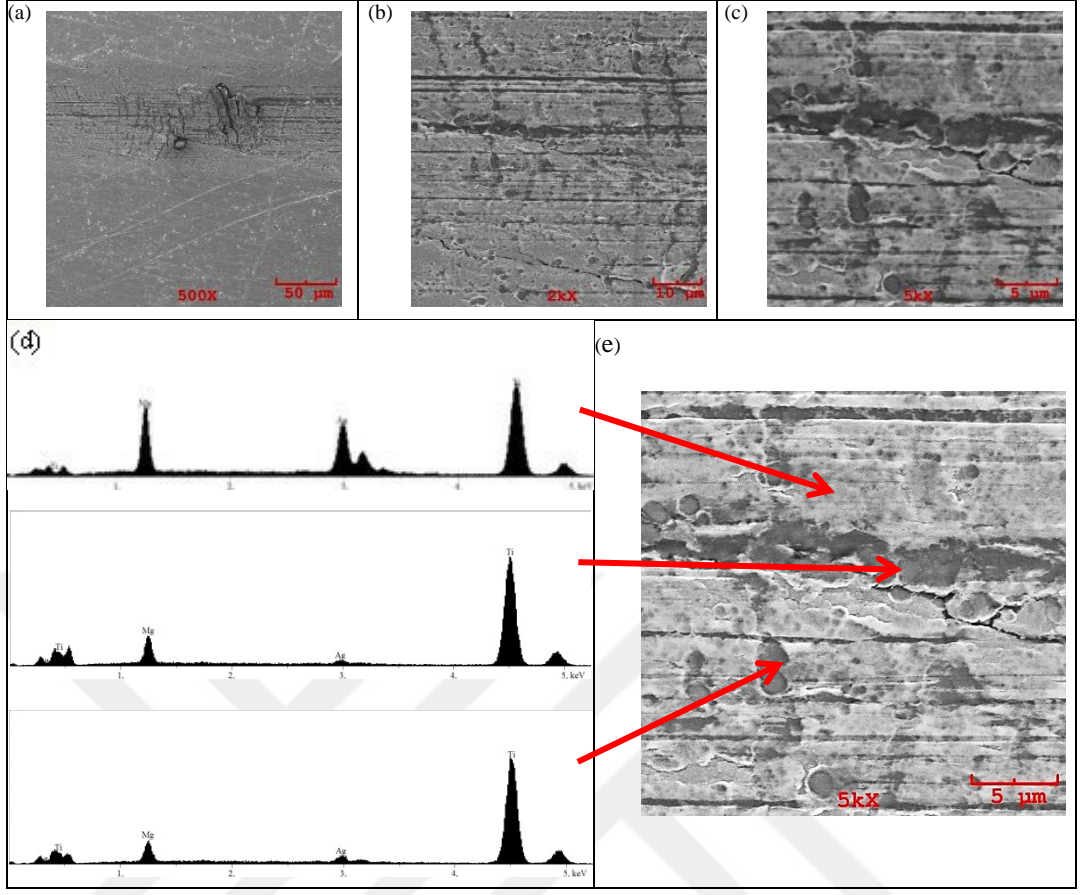
Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada çizik testi sonrası oluşan çizik izinin panoramik ve SEM görüntüsü sırasıyla Şekil 4.31'de verilmiştir. Kaplama yüzeyinde bulunan asperitlerin deformasyonu Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada da

gözlenmiştir (Şekil 4.31b ve Şekil 4.32a). Ancak çizme sırasında meydana gelen izler daha derinde oluşmaktadır (Şekil 4.32b-c). Burada asperitlerden kopan parçacıklar çizme temas alanına girmekte ve Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamadakilerden daha sert olduklarından aşındırıcı gibi davranarak abrazyif aşınmaya katkıda bulunmaktadır (Şekil 4.32).

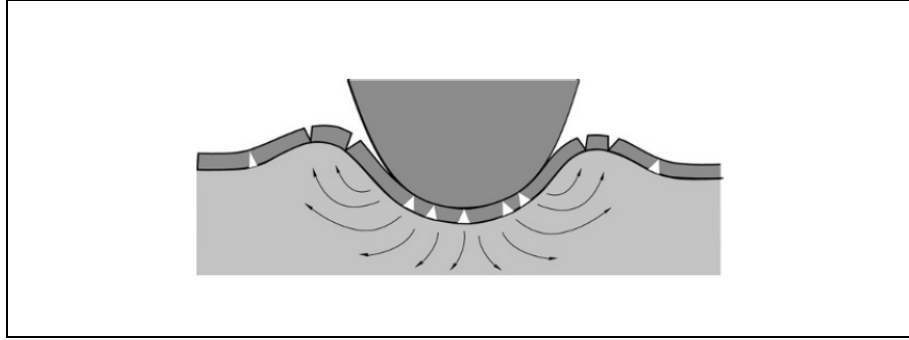


Şekil 4.31. Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü

Pt dope edilmiş Ag tabakasının sertliği Pt dope edilmemiş Ag tabakanın sertliğinin iki katı değerindedir (Tablo 4.2). Bu da en üst tabakanın deformasyon davranışını değiştirmektedir. Bu durumda sabanlama söz konusu olmayıp asperitlerin tepelerinden kopan partiküllerin arayüze girmesi ile abrazyif aşınma baskın mekanizma olmaktadır. Dolayısıyla sabanlama etkisinin olmaması ve temas alanının azalması nedeni ile sürtünme katsayısı da düşmektedir (Şekil 4.26a). Yüzey tabakanın sertliğinden dolayı artan yük taşıma kapasitesi, altlık malzemenin deformasyonunu azalmaktadır. Belirli bir yüke geldiği zaman, kaplama artık yükü taşıyamaz hale gelmekte ve altlık malzeme deforme olmaya başlamaktadır. Düşük deformasyon kabiliyetine sahip kaplama ile altlık malzeme farklı genleşme ve büzülme davranışlarından dolayı arayüzeylerinde yüksek gerilme birikmektedir. Bu da, temas alanında ve dışında altlık malzemenin yığılma bölgesinde kaplamada farklı çatlakların oluşmasına neden olmaktadır (Şekil 4.31c-d ve Şekil 4.33).



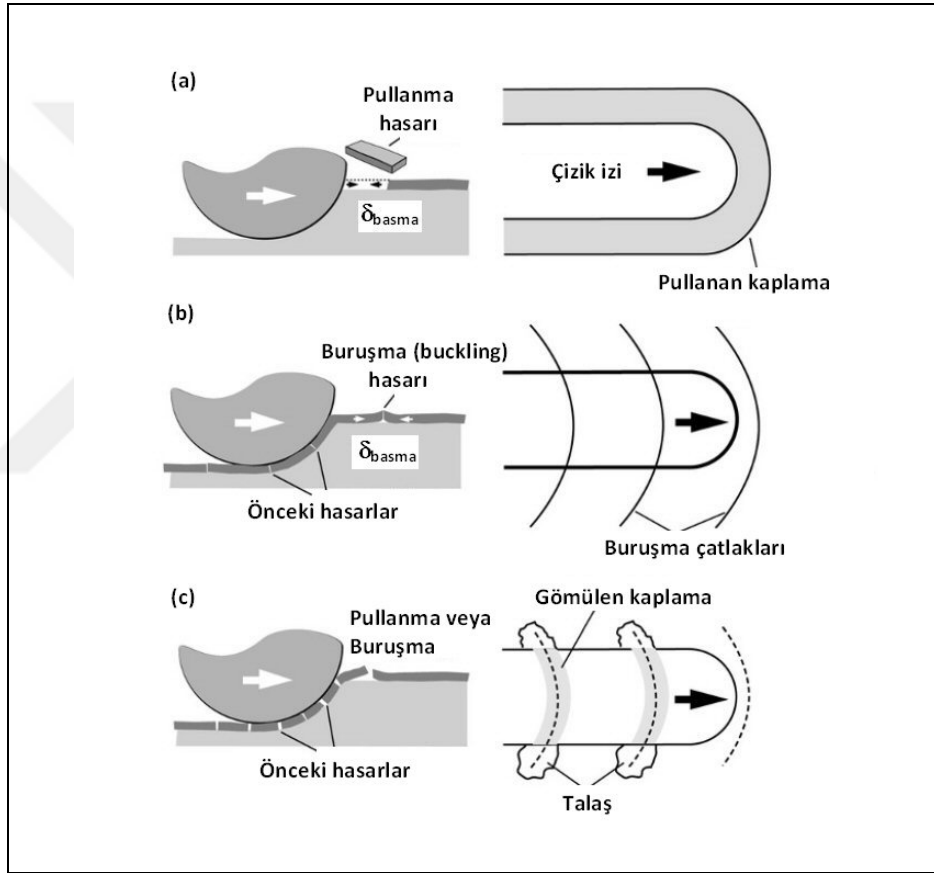
Şekil 4.32. Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada düşük yüklerde görülen asperit deformasyonuna ait (a-c) SEM görüntüleri ve (d-e) EDS analizi



Şekil 4.33. Yumuşak altlık üzerinde sert gevrek bir kaplamanın çatlaması, ucun temas alanı etrafında malzemenin yığılma gösterdiği bölgede gerçekleşmektedir. Oklar malzemenin akış yönünü göstermektedir [194]

Şekil 4.31c-d'de görüldüğü gibi iz kenarlarında açılmalı ve paralel çatlaklar, ilk 1,95 N'da (L_{c1}) görülmüştür. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamamın aksine çekme çatlakları yerine, ucun önünde uç ile eşmerkezli çatlaklar gelişmektedir. Çizik testi sırasında ucun hareketi ile birlikte ucun önünde oluşan basma gerilmesi kaplamamın

bükülmesine (buruşma, buckling), kabarmasına ve nihai olarak kalkmasına neden olmaktadır (Şekil 4.34). Buruşma (bükülme) genelde ucun önünde plastik yığılma bölgesinde oluşmaktadır. Arayüzey hataları içeren bölgeler bu basma gerilmelerinden dolayı kaplamanın buruşmasına imkan vermektedir. Arayüzey çatlaklarının gelişimi ile oluşan her bir buruşma yanıl (lateral) doğrultuda yayılmaktadır. Ucu ilerlemesi ile birlikte oluşan bu buruşmaların üzerinden geçilerek kaplama altlık malzemenin içine doğru batmakta ve nihai olarak kalkmaktadır [206].



Şekil 4.34. Ucu ilerlemesi sırasında kaplamada meydana gelen (a) pullanma (b) buruşma ve (c) altlık malzemeye gömülme hasarlarının şematik gösterimi [194]

Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların kristalit boyutları çok katmanlı kaplamalara göre daha küçük ve sertlikleri de daha büyük değerlerdedir (Tablo 4.1- 4.3). Buna bağlı olarak kaplamaların deformasyon kabiliyeti ve kırılma davranışları farklı olacaktır.

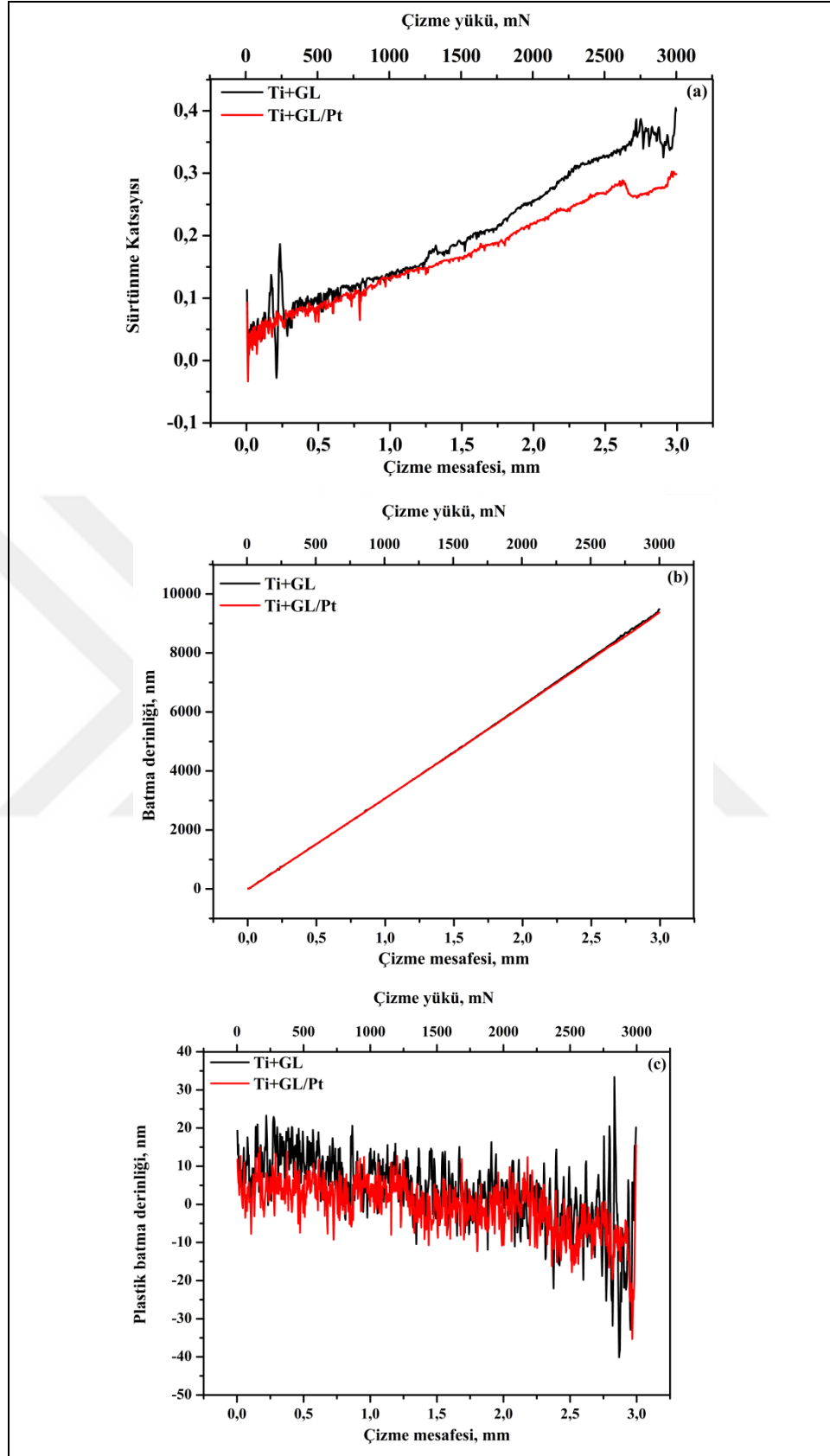
Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalar için kademeli olarak artan yük altında yapılan çizik testi sırasında kaydedilen sürtünme katsayısı, batma (penetrasyon) derinliği ve artık batma derinliği (residual depth) değişimleri yük ve mesafenin fonksiyonu olarak Şekil 4.35a-c'de sırasıyla verilmiştir.

Çok tabakalı kaplamada olduğu gibi, Ag'e Pt dope edilmesi ile üst tabakanın sertliği artmakta, deformasyon kabiliyeti düşmekte, sabanlama azalmakta ve dolayısıyla sürtünme katsayısı düşmektedir (Şekil 4.35a). Burada da uygulanan yük aralığında, PEEK'in düşük yük taşıma kapasitesi ve kaplama kalınlığının düşük olması nedeniyle, batma derinliği toplam kaplama kalınlığından daha büyük değer almaktadır ve kaplamalar elastik deformasyon göstermektedir (Şekil 4.35b-c).

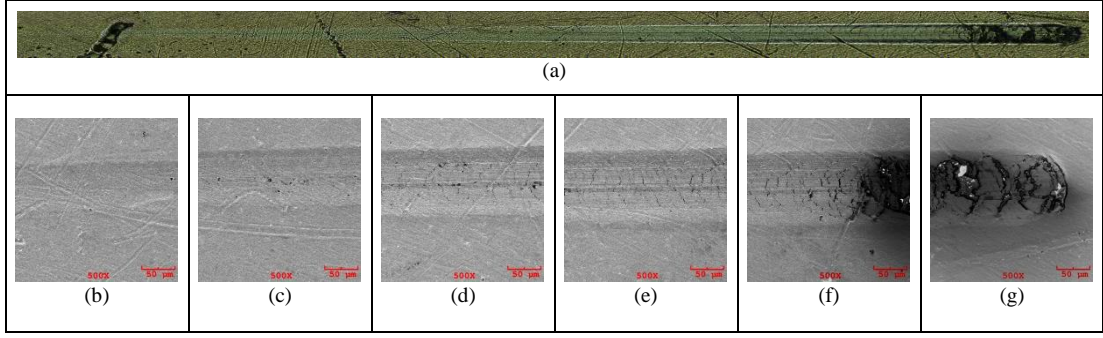
Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada çizik testi sonrası oluşan çizik izinin panoramik ve SEM görüntüsü sırasıyla Şekil 4.36'de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi çok tabakalı kaplamaya benzer şekilde triboljik aşınma mekanizması asperitlerin deformasyonu ile başlamaktadır. Ancak fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalarda üst tabaka daha sert olduğundan (Tablo 4.3), asperitlerin tepelerinden kopan parçacıklar daha sert karakterdedirler. Dolayısıyla temas alanına kaçan bu parçacıklar yüzeyin abrazif olarak aşınmasına neden olmaktadır (third body concept) [194]. Kaplamanın sahip olduğu daha yüksek sertlikten dolayı artan yük taşıma kapasitesi, altlık malzemenin deformasyonunu azaltmakta ve aynı zamanda sabanlamayı da engellemektedir. Bu şekilde altlık malzemedeki gerilmeleri azaltmaktadır [207].

Artan yük ile birlikte ucun arkasında, izin kenarlarında ilk açılmal çatlaklar oluşmaya başlamıştır. İlk çatlak, 2.01 N'da (L_{c1}) görülmüştür (4.36d ve Şekil 4.37).

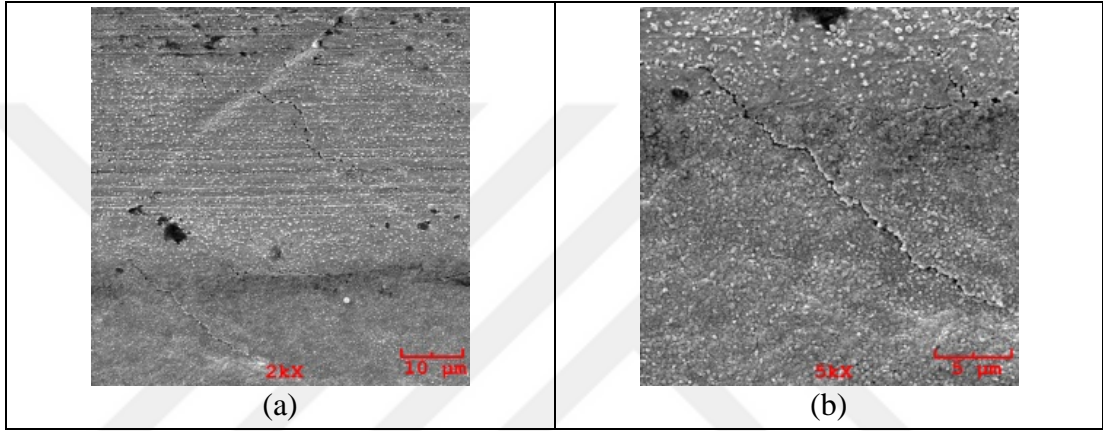
Şekil 4.36e ve 4.38a-b'den görüldüğü gibi çizme yükünün artması ile birlikte bu açılmal çatlaklar birleşerek enine yarı dairesel çatlaklar oluşturmaktadır. Çekme çatlakları olarak da adlandırılan bu enine yarı dairesel çatlaklar, ucun arkasında oluşan çekme gerilmesi sonucu meydana gelmekte olup ucun arkasında eşmerkezli olarak gelişmektedir.



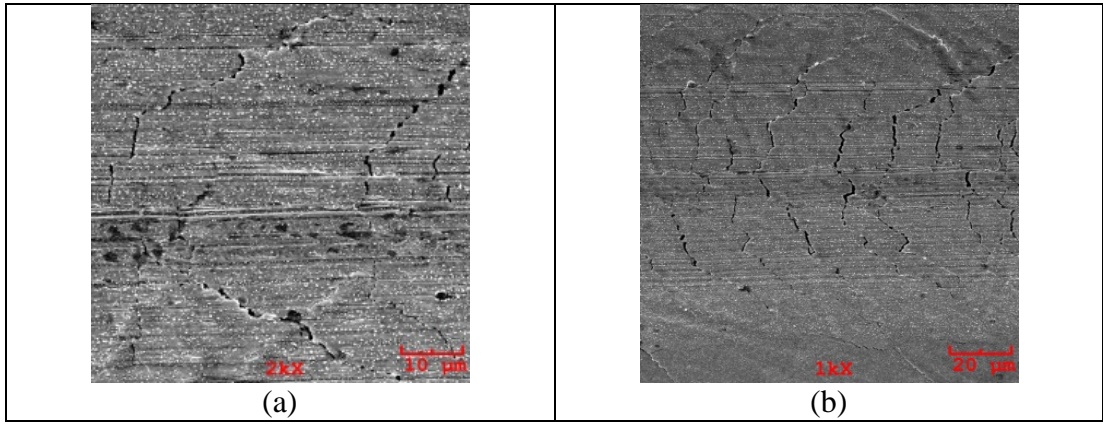
Şekil 4.35. Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplama için çizik testi sürecinde uygulanan yük ve mesafe ile (a) sürtünme katsayısının (b) batma derinliğinin ve (c) plastik batma derinliğinin değişimi



Şekil 4.36. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü



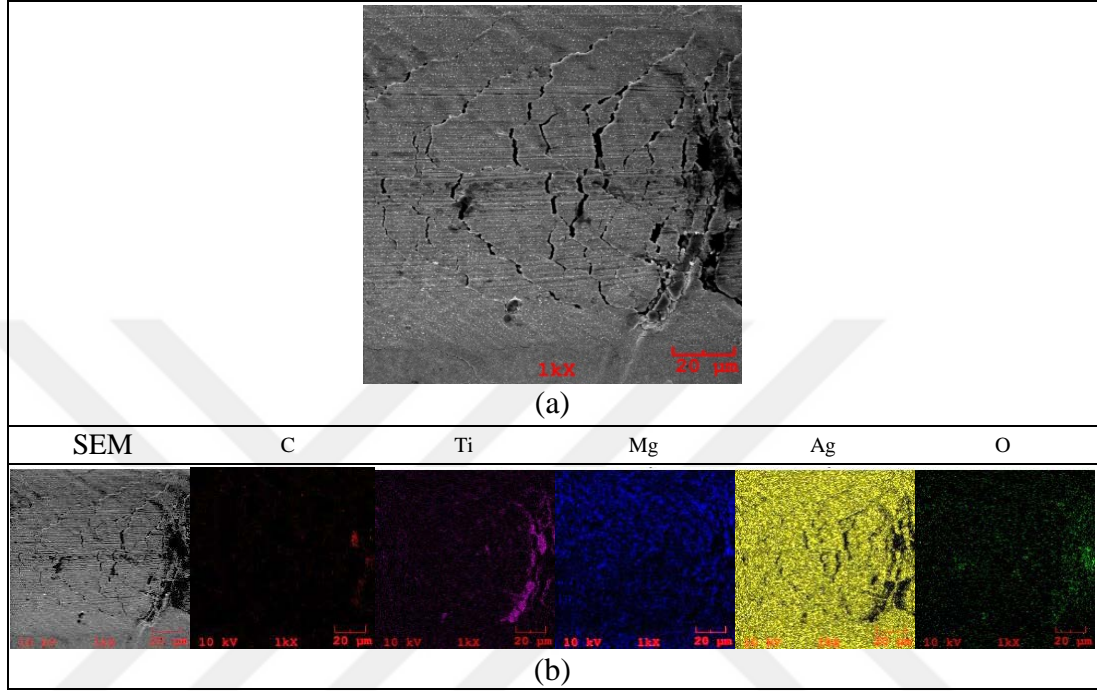
Şekil 4.37. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada ilk çatlakların görüldüğü bölgelere ait (a-b) SEM görüntüleri



Şekil 4.38. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada görülen çatlakların SEM görüntüleri; (a) artan yük ile birlikte oluşan açılma çatlakları birleşerek (b) enine yarı dairesel çatlaklar (çekme çatlakları) oluşturmaktadır

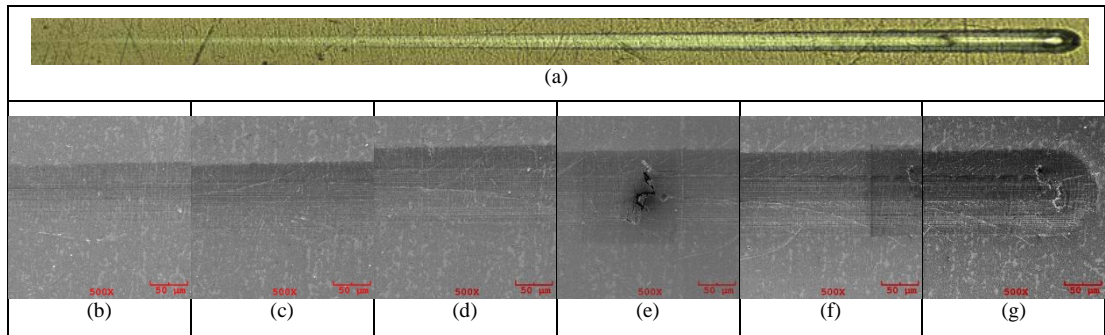
Artan yük ile birlikte kaplama artık yükü taşıyamaz hale gelmekte ve altlık malzemenin deformasyonuna neden olmaktadır. Nihai olarak ucun önünde oluşan basma gerilmesi ve plastik yığılma etkisi ile birlikte kaplama, yine ucun önünde, uca

eşmerkezli yarı dairesel bir şekilde büzüşmeye başlamaktadır. Oluşan her bir yarı daire, çizik izi boyunca ilerlemektedir. Ucun önünde oluşan bu yarı daireler üzerinden ucun geçmesi ile kaplama parçalanarak altlık malzeme içine gömülmekte ve bir miktar kaplama yüzeyden kalkmaktadır (Şekil 4.36e-f ve Şekil 4.39).



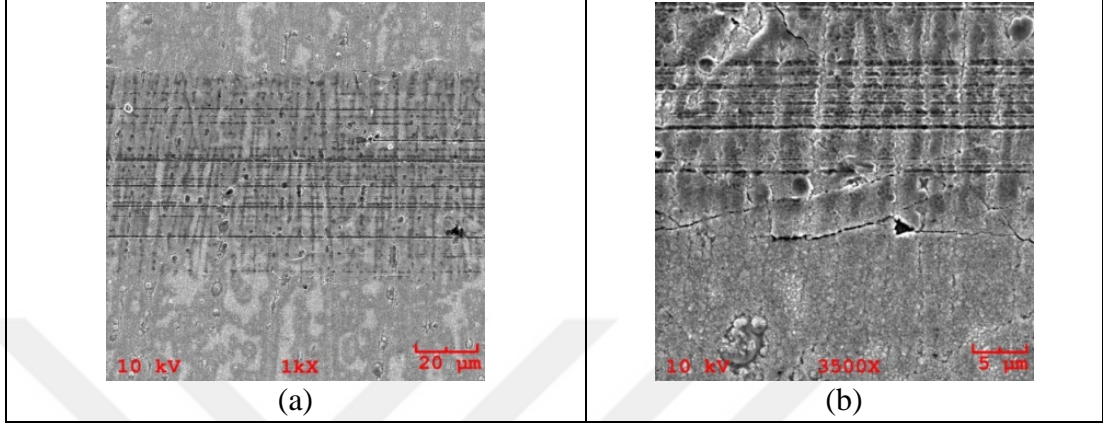
Şekil 4.39. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada nihai hasarın (a) SEM ve (b) EDS haritalaması

Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada çizik testi sonrası oluşan çizik izinin panoramik ve SEM görüntüsü sırasıyla Şekil 4.40'da sunulmuştur. Pt dope edilmiş ve edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların sertlikleri birbirine yakın olmasından dolayı deformasyon kabiliyetleri de benzer olacaktır.



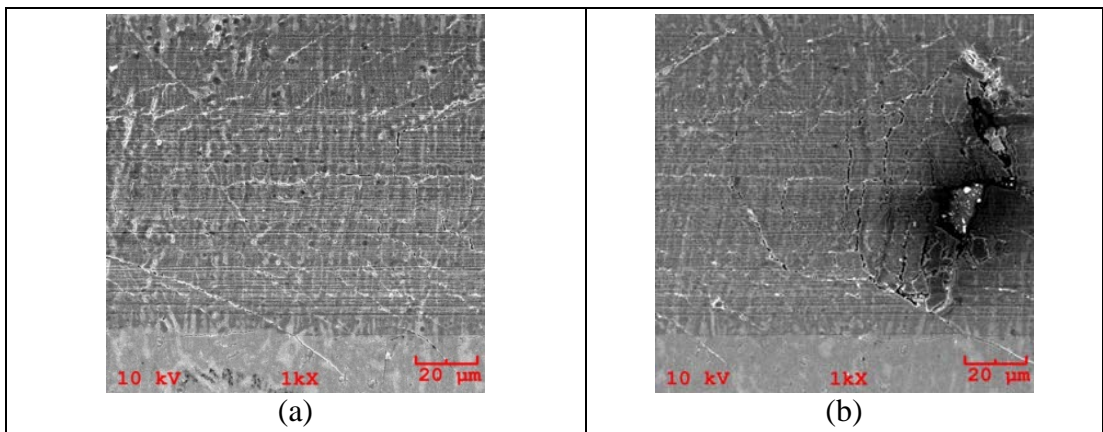
Şekil 4.40. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada çizik izinin (a) panoramik ve (b-g) SEM görüntüsü

Düşük yüklerde asperit tepelerinden kopan parçacıklar abrazif aşınmaya neden olmuştur (Şekil 4.41a). Artan yük ile birlikte çizme izinin kenarlarında gelişen açısal çatlaklar (Şekil 4.41b) birleşerek enine yarı dairesel çatlaklar oluşturmuştur (Şekil 4.42a ve b). Kritik yük (L_{c1}), 2.65 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.42b).

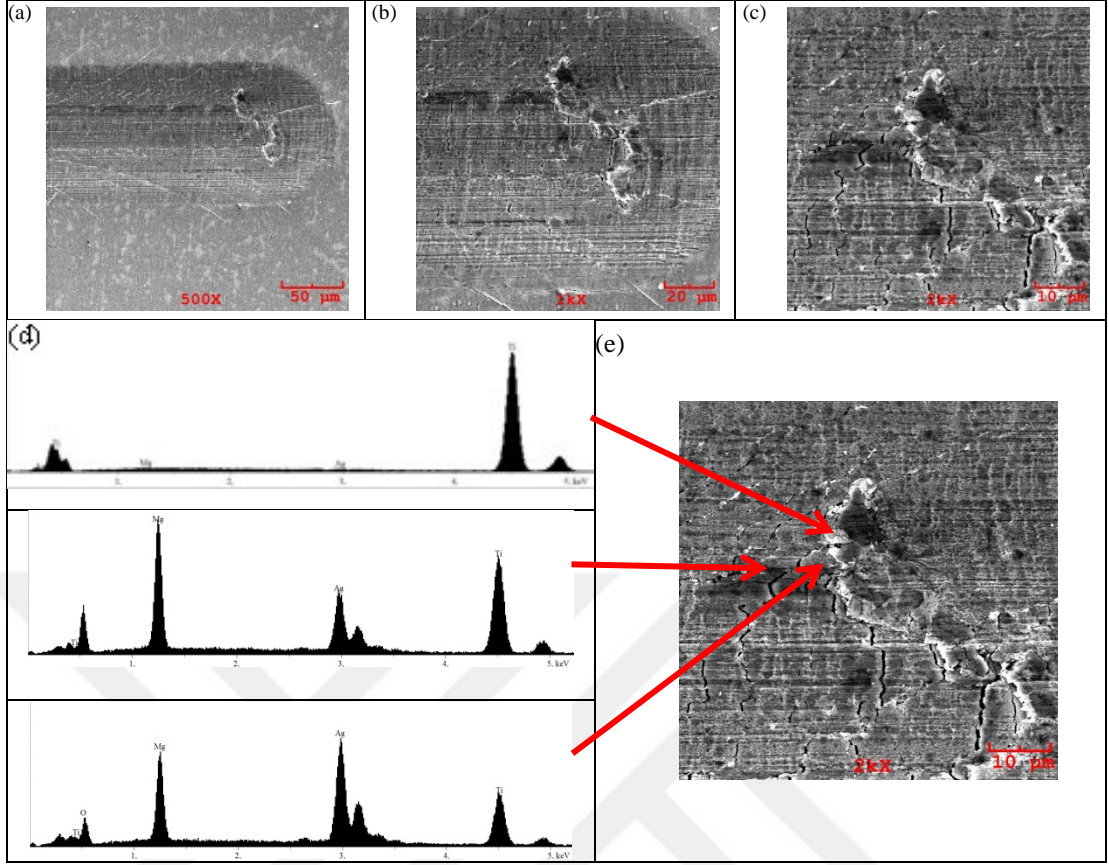


Şekil 4.41. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada (a) asperitlerin tepelerinden kopan parçacıkların abrazif aşınmaya katkısı (b) ilk açısal çatlakların oluşumu

Belli bir süre sonra kaplama yükü artık taşıyamamakta ve altlık malzeme ile arasındaki farklı deformasyon kabiliyeti nedeniyle kırılmaktadır (kopmaktadır). Kırılan ve kopan bu parçalar temas yüzeyine kaçmakta ve daha küçük parçalara bölünmektedir. Bu küçük parçaların bir kısmı daha altta bulunan tabaka (Ti tabakası) ile birleşerek mekanik alaşımlanmaktadır (Şekil 4.43)



Şekil 4.42. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada (a) oluşan açısal çatlakların birleşerek (b) enine yarı dairesel çatlakların oluşturması ve ilk hasar



Şekil 4.43.Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada nihai yükte oluşan mekanik alaşımlanmış bölgenin (a) farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri (b-c) ve EDS analizi (d-e)

4.3. Kaplamaların Çözünme Davranışı

Kaplamaların çözünme davranışları daldırma deneyi ve elektrokimyasal deneyler olmak üzere iki aşamada incelenmiştir.

4.3.1. Daldırma deneyi

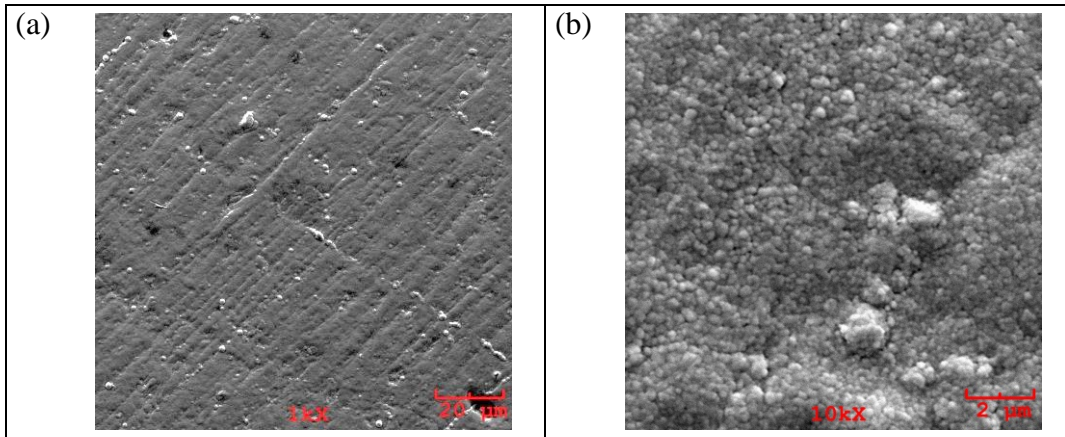
Bu deneyde Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların simule edilmiş vücut sıvısı (SBF) içerisinde çözünmesi farklı sürelerde $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de daldırma yöntemi ile incelenmiştir. Belirlenen süreler sonunda SBF içindeki elementlerin konsantrasyonu İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometeresi (ICP-MS) ile belirlenmiş ve çözeltilerin pH değerleri ölçülmüştür. Deney sonrası numunelerin yüzeyleri SEM/EDS ile incelenmiştir.

Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamaların daldırma testi sonrası SBF'deki element konsantrasyonları ve kaplama yüzeyinin SEM/EDS ile elde edilen

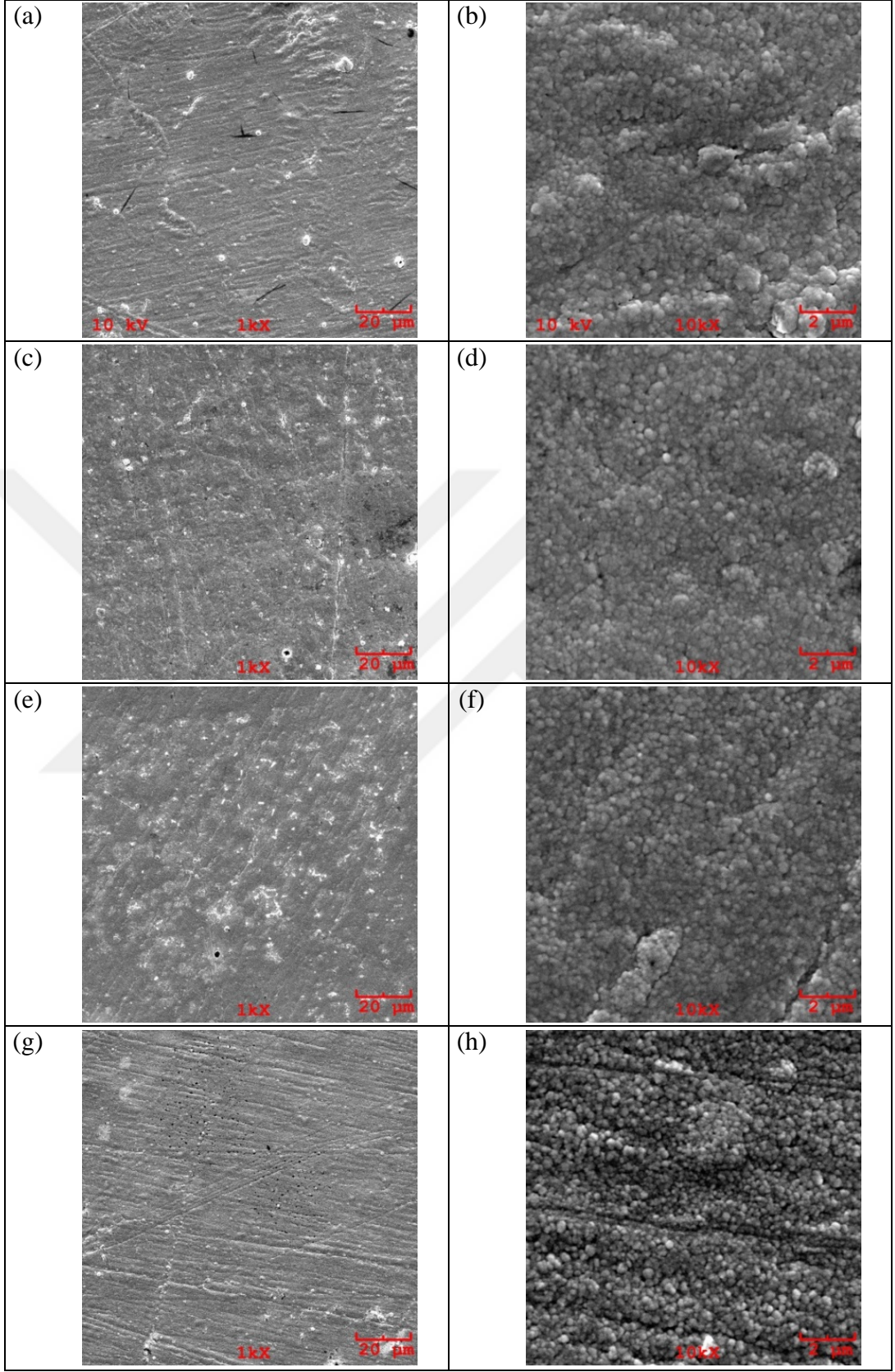
elementel analiz sonuçları Tablo 4.4 ve 4.5’de verilmiştir. Kaplamaların testlerin öncesinde ve sonrasında alınan yüzey görüntüleri, Pt dope edilmemiş örnekler için Şekil 4.44-4.46’de ve Pt dope edilmiş örnekler için Şekil 6.47-6.49’da sunulmuştur.

Tablo 4.4. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları

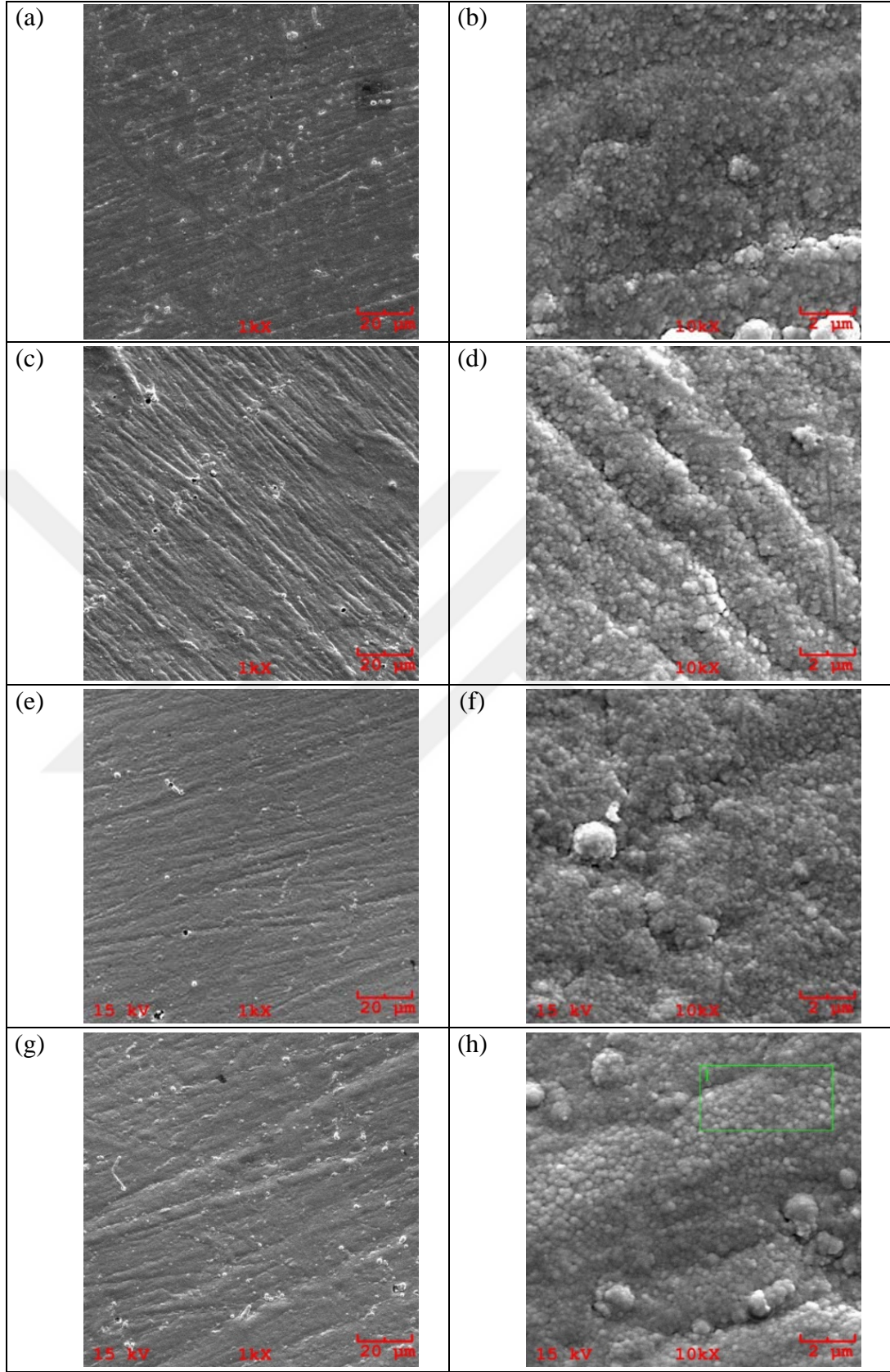
Ti+ML										
1030 nm Ti + 259 nm Mg + 259 nm Ag										
Süre	pH	Çözelti Analizi (ICP-MS)			Yüzey Analizi (SEM/EDS)					
		Ti	Mg	Ag	Ti	Mg	Ag	O	Cl	Na
h		µg/l			ağ. %					
0	6,59	0,000	0,000	0,000	3,88	1,85	94,28	0	-	-
1	9,47	1,345	866,398	0,765	4,41	0,67	94,76	0,02	0,0	0,15
2	9,53	1,097	1011,795	0,927	2,85	0,98	93,95	0,06	1,67	0,48
6	7,62	1,029	1116,018	2,951	3,51	1,23	94,79	0,19	0,0	0,27
12	8,96	1,076	1270,096	3,814	3,84	0,83	95,09	0,0	0,0	0,25
24	9,01	1,179	1335,785	6,647	4,61	0,48	94,06	0,0	0,52	0,33
48	8,24	0,930	1623,853	46,730	5,36	0,39	93,84	0,0	0,0	0,41
96	7,46	0,993	1400,414	45,779	5,18	0,21	94,34	0,0	0,0	0,26
168	7,68	1,373	1558,312	111,033	5,81	0,28	93,63	0,0	0,0	0,27



Şekil 4.44. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (a-b)



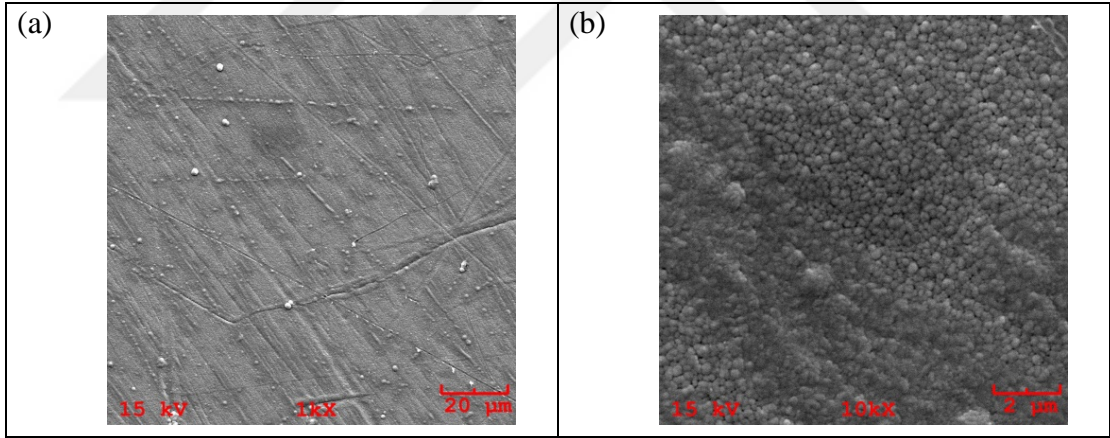
Şekil 4.45. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h)



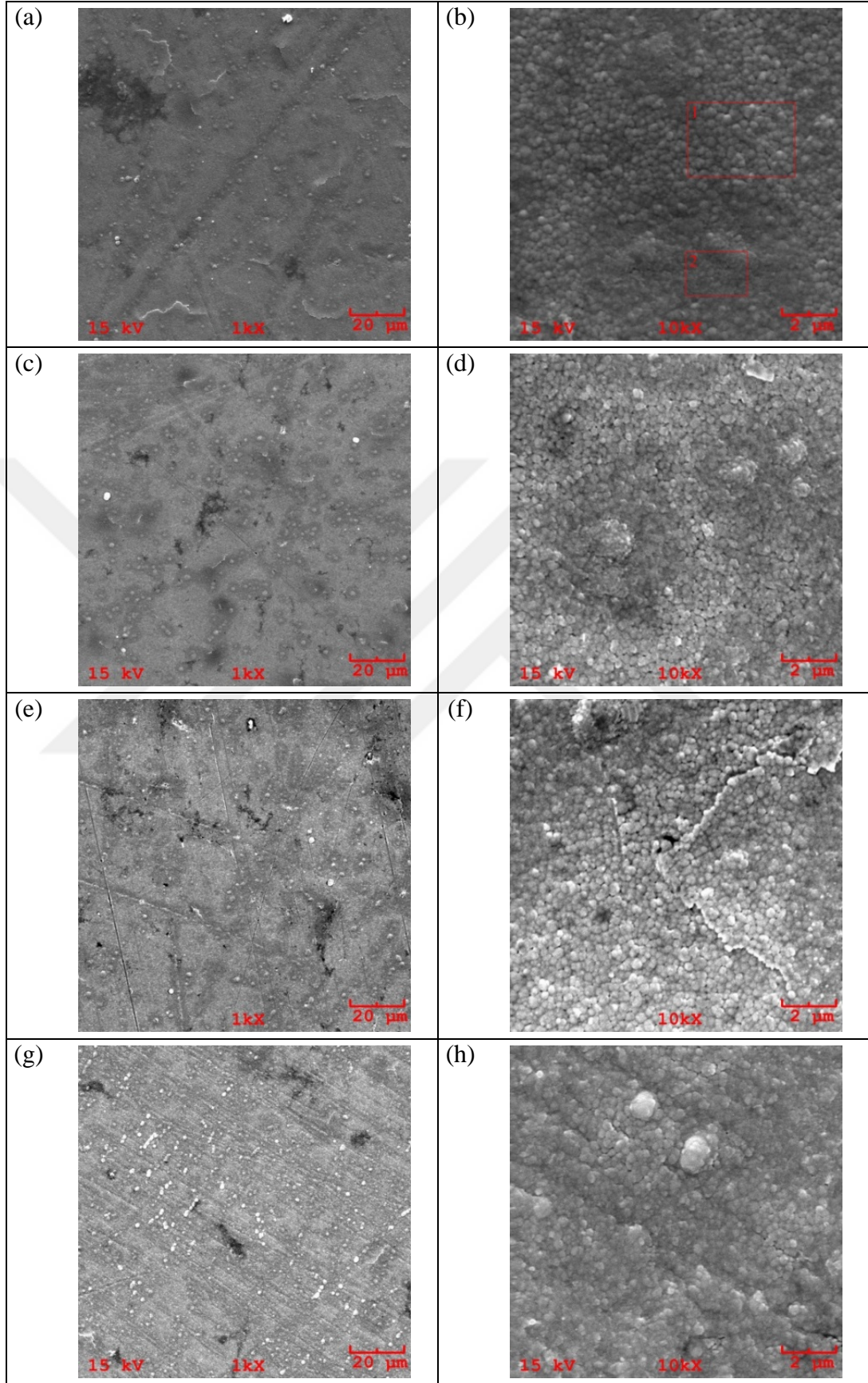
Şekil 4.46. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h)

Tablo 4.5. Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları

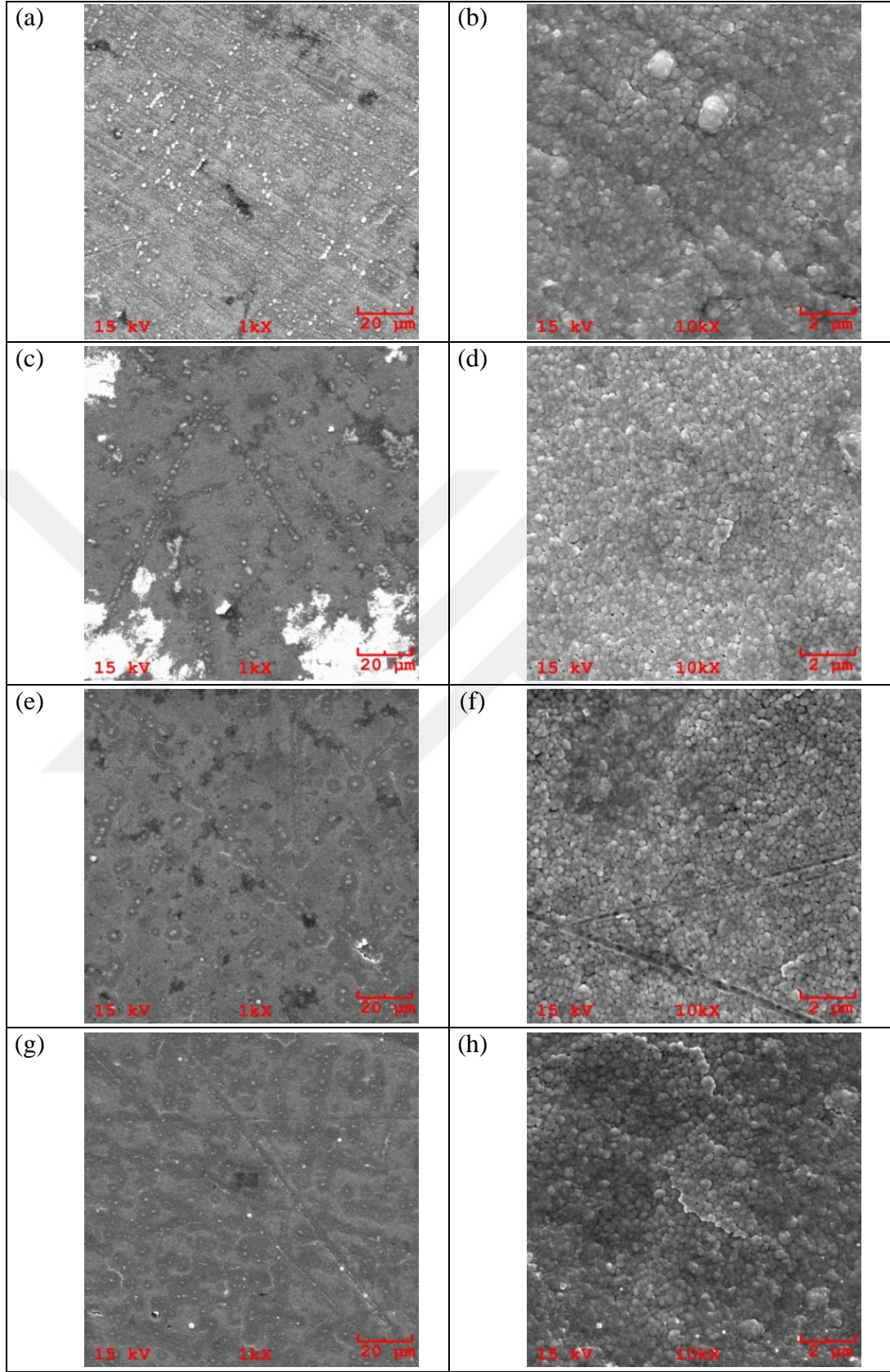
Ti+ML/Pt										
938 nm Ti + 234 nm Mg + 234 nm Ag/Pt										
Süre	pH	Çözelti Analizi (ICP-MS)			Yüzey Analizi (SEM/EDS)					
		Ti	Mg	Ag	Ti	Mg	Ag	O	Cl	Na
h		µg/l			ağ. %					
0	6,59	0,000	0,000	0,000	36,52	6,75	56,72	0,00	0,00	0,00
1	8,99	2,908	944,612	2,315	48,05	1,10	50,14	0,00	0,69	0,02
2	9,81	5,689	1130,070	0,826	55,91	0,94	42,67	0,00	0,48	0,00
6	9,87	2,228	1189,965	1,429	34,49	1,21	63,83	0,00	0,57	0,00
12	9,90	3,230	1299,324	6,972	49,15	0,12	49,48	0,00	0,64	0,61
24	8,03	1,232	1035,934	16,948	49,48	0,12	49,48	0,00	0,64	0,61
48	7,32	1,069	1053,309	47,677	49,42	0,24	48,42	0,00	1,16	0,97
96	8,87	1,635	1081,402	38,487	49,06	0,28	50,15	0,00	0,50	0,00
168	7,94	1,497	990,090	47,831	55,82	0,28	43,33	0,00	0,53	0,03



Şekil 4.47. Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (a-b)



Şekil 4.48. Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h)



Şekil 4.49. Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h)

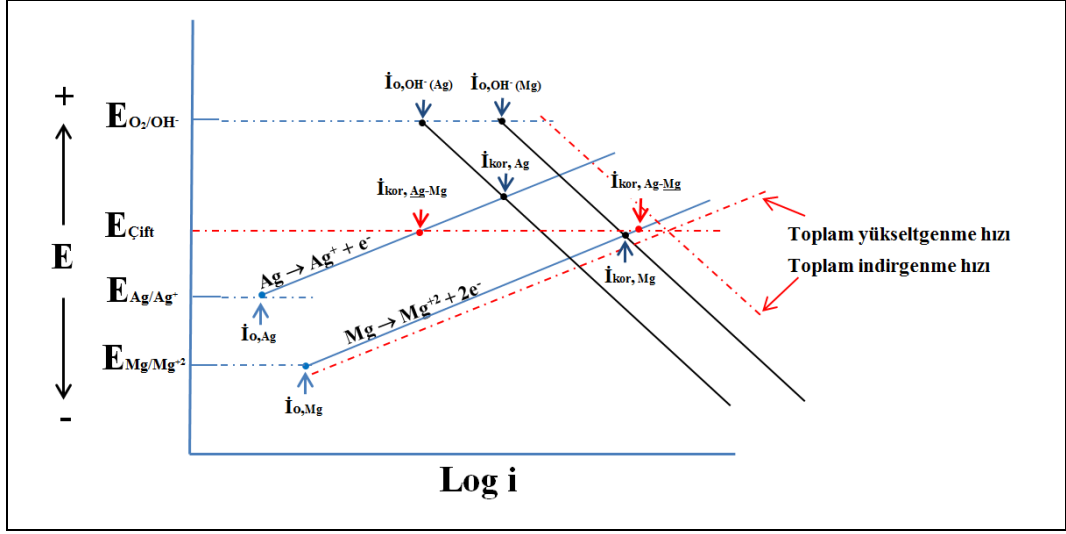
Tabakaları oluşturan elementlerin deniz suyu içerisindeki elektrot (çözünme, korozyon) potansiyelleri Tablo 4.6’da verilmiştir. SBF olarak kullanılan serum fizyolojik sıvı yaklaşık 0,16 M klorür içermektedir. Bu vücut sıvısı, seyreltik deniz suyu olarak kabul edilebilir ve deniz suyu için verilen elektrot potansiyel değerleri kaplamalardaki elektrokimyasal çözünme mekanizmalarının açıklanmasında kullanılabilir [208].

Tablo 4.6. Elementlerin deniz suyu içindeki elektrot potansiyelleri [209].

	Titanyum	Magnezyum	Gümüş	Platin
Elektrot potansiyeli, V	(+0,06)–(- 0,05)	(- 1,6) – (-1,63)	(-0,09) – (-0,14)	(+0,25)–(+0,18)

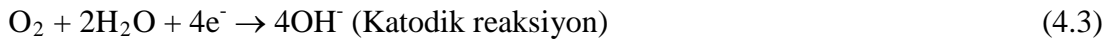
Kaplamalar, düşük kaplama sıcaklıkları nedeni ile droplet, porozite gibi birçok yüzey hataları içermektedir. Dolayısıyla daldırıldıkları elektrolit, yüzeyden daha alt tabakalara difüze olmaktadır. Bu nedenle tüm tabakaların birbiri ile oluşturabilecekleri elektrokimyasal reaksiyonlar dikkate alınmalıdır.

En üst tabakayı oluşturan gümüş ve en alt tabakayı oluşturan titanyum tabakalar, sahip oldukları elektropozitif potansiyel nedeni ile soy metallerden sayılmaktadır. Bu nedenle sulu ortamlarda çözünmeleri güçtür. Ag ve Ti tabakasının arasında yer alan magnezyum oldukça aktif bir metal olup anodik olarak hemen çözünmektedir. Ag tabakanın yüzeyinde bulunan gözeneklerden difüze olan elektrolit kolayca Ag ve Mg tabakalarının arayüzeyine ulaşabilmekte ve iki tabaka arasında galvanik bir hücre oluşturmaktadır. Eşit yüzey alanına sahip bu iki tabakanın arasında oluşan elektrokimyasal reaksiyon karma potansiyel ilkesi ile açıklanabilmektedir [208, 210]. Bu iki tabaka arasındaki galvanik eşleme bir Evans diagrama uyarlanarak Şekil 4.50’de verilmiştir. Buna göre Ag bağıl olarak daha soy bir korozyon potansiyeline ve düşük korozyon hızına ($i_{kor(Ag)}$), Mg daha aktif bir korozyon potansiyeli ile daha yüksek bir korozyon hızına ($i_{kor(Mg)}$) sahip olacaktır. Bu iki tabakanın yüzeyleri birbirine eşit olduğundan, toplam yükseltgenme hızlarının toplam indirgenme hızlarına eşit olduğu potansiyel bu sistemin karma potansiyelini ($E_{çift}$) verir. Oluşan bu galvanik hücre sonucu Ag’ün çözünme hızı $i_{kor(Ag-Mg)}$ ’a düşerken, Mg’un çözünme hızı $i_{kor(Ag-Mg)}$ ’a yükselmektedir.



Şekil 4.50. Çok katmanlı kaplamada Ag-Mg galvanik çiftin oluşturduğu karma potansiyelin şematik gösterimi (Evans Diagramı)

Galvanik eşlemede daha aktif olan Mg anot ve daha soy olan Ag katot olarak görev almaktadır. Yukarıda verilen galvanik eşlemede gerçekleşen anodik ve katodik tepkimeler aşağıda verilmiştir:



Mg, Ag'e göre daha aktif olduğundan Tablo 6.4- 6.5'den de görüldüğü gibi Mg çözünmesi daha hızlı ve fazladır.

Katodik reaksiyon sonucu oluşan hidroksil iyonu (OH⁻) ortam pH'sının artmasına neden olmaktadır (Tablo 4.4 ve 4.5). İlerleyen sürelerde pH'ın düşmesi ve tekrar artması aşağıda verilen iki yan reaksiyonun da gerçekleşmesinin olası olduğunu göstermektedir:

- Mg'un anodik çözünmesi yanında eşzamanlı olarak katodik reaksiyon sonucu oluşan hidroksil iyonu (OH⁻), Ag-Mg arayüzeyinde aşağıda verilen reaksiyona göre magnezyum hidroksit (Mg(OH)₂) oluşturmaktadır.

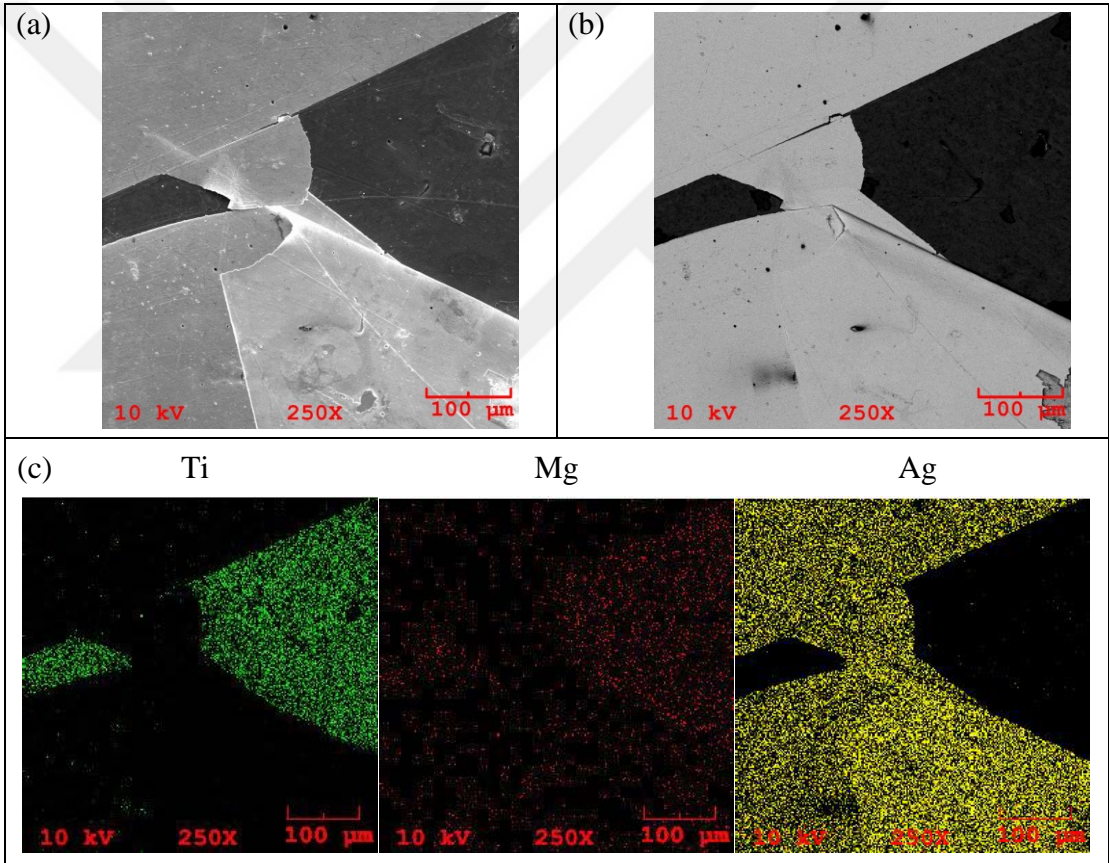


Bu reaksiyon, OH⁻ iyonlarının harcanmasına ve ortam pH'ın düşmesine neden olmaktadır [211].

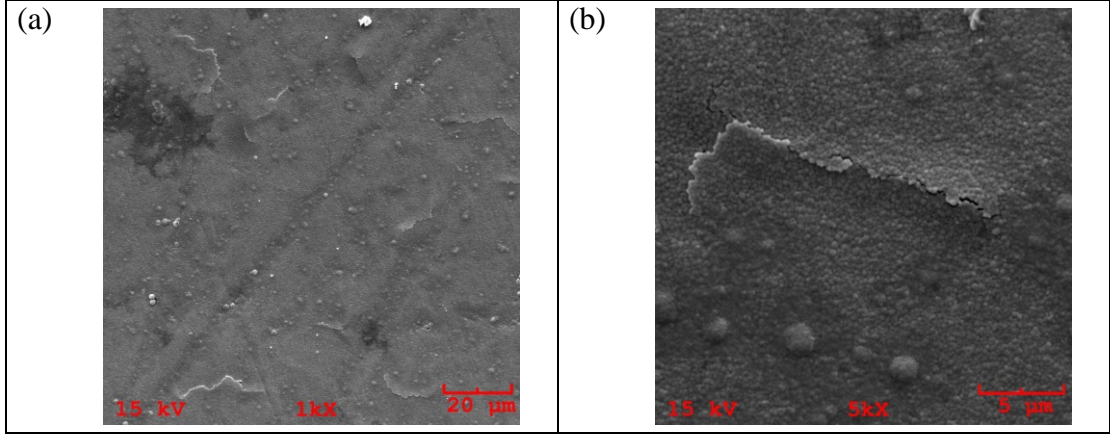
- Ortamda klorür iyonun (Cl⁻) varlığı, Mg(OH)₂'in yeniden iyonlarına ayrışmasına ve ortam pH'ın yükselmesine neden olmaktadır [212];



Yukarıda verilen tüm bu reaksiyonların Ag-Mg arayüzeyinde oluşması, arayüzeyin büyümesine, üst Ag tabakanın kabarmasına ve nihai olarak üst tabakanın çatlamasına (hatta delaminasyona) neden olmaktadır (Şekil 4.51 ve 4.52).

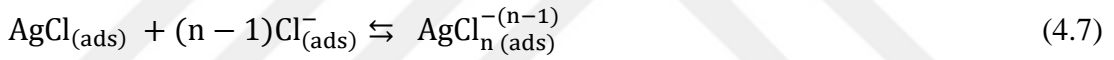


Şekil 4.51. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada bir saatlik daldırma testi sonrası Ag üst tabakasının kalkması (a) ikincil elektron (Secondary electron, SE) (b) Geri saçılmış elektron (Backscattered electron, BSE) ile alınmış elektron mikroskopi görüntüleri (c) seçilen alanda elementel haritalama (SEM/EDS)



Şekil 4.52. Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada bir saatlik daldırma testi sonrası Ag üst tabakasının çatlamasının farklı büyütmelerde SE ile görüntülenmesi (a-b)

Galvanik seriye göre oldukça elektropozitif olan Ag, ortamda Cl^- iyonunun varlığı ile belirli bir süre sonra çözünmektedir. Bu anodik çözünme sürecinde ilk aşama, Cl^- iyonunun Ag tabakasının yüzeyine kimyasal olarak adsorblanmasıdır [213].

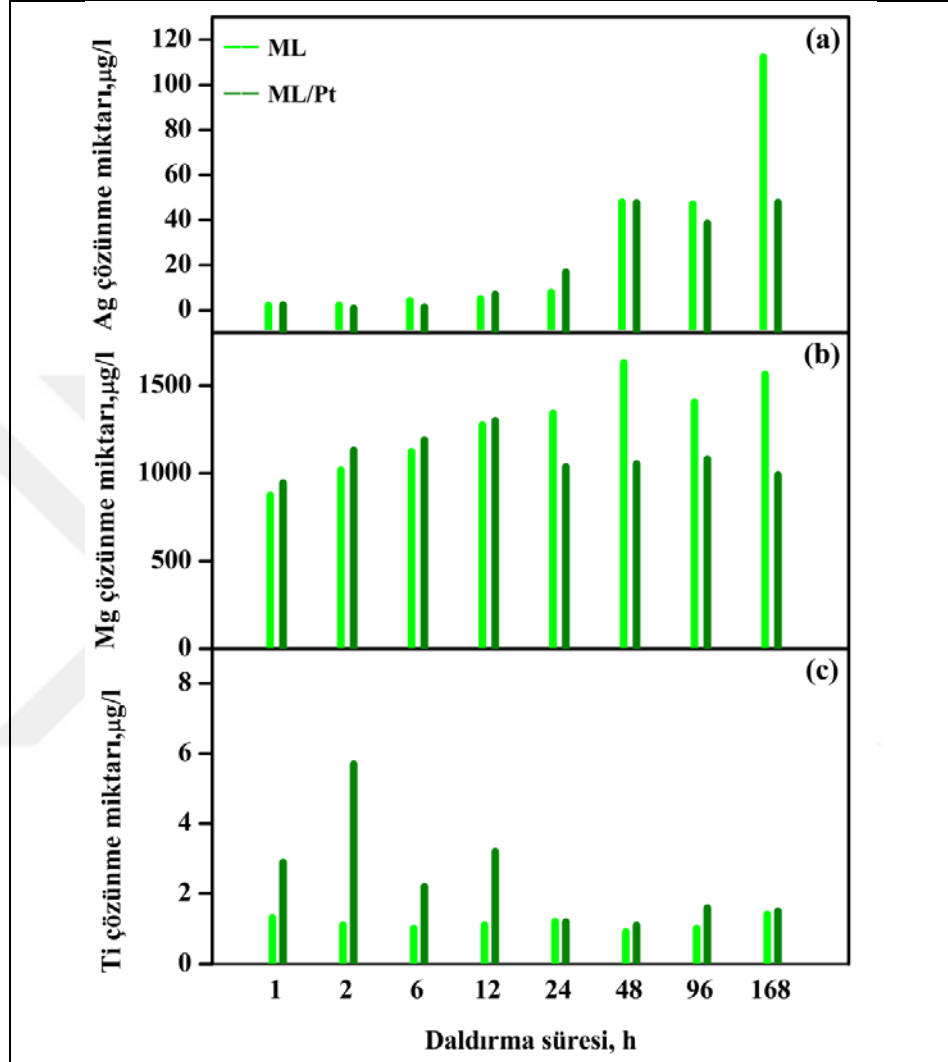


Burada, $0 < n \leq 3$

Yukarıdaki reaksiyonlardan da görüldüğü gibi, Ag'ün çözünmesi ortamdaki Cl^- iyonunun miktarına bağlı olarak değişmektedir. Ortamdaki fazla Cl^- iyonu, çözünebilir $\text{AgCl}_{n(\text{suda})}^{-(n-1)}$ kompleksi oluşturarak gümüş klorürün (AgCl) çözünmesini artırmaktadır.

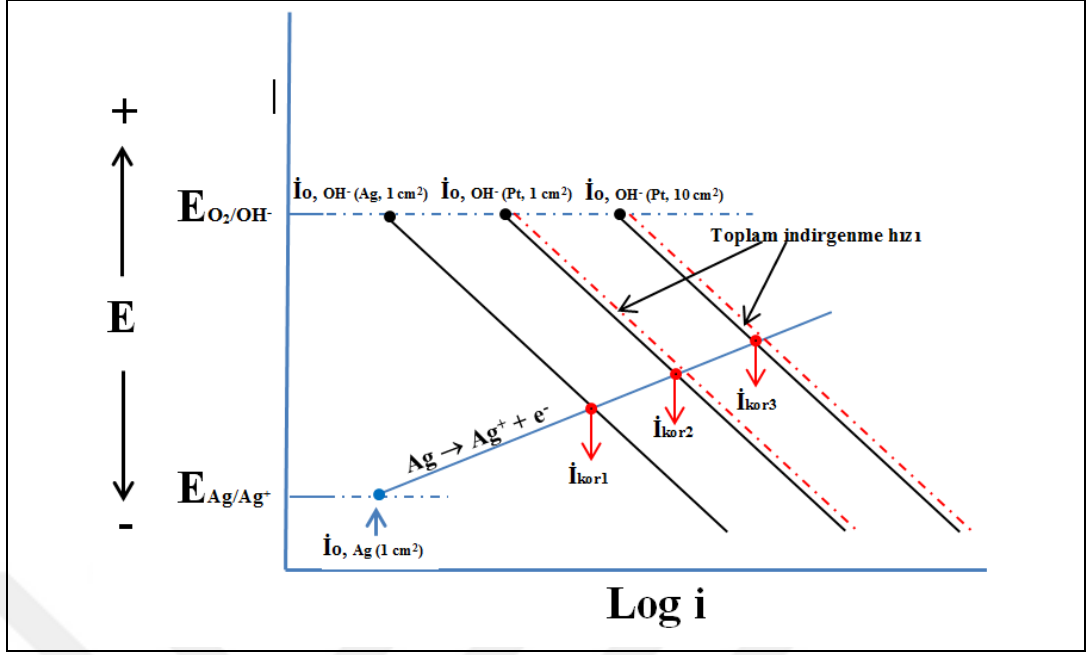
Şekil 4.53'de çok tabakalı kaplamaların SBF içindeki çözünme davranışları zaman bağlı olarak her bir element için gösterilmiştir. Ti herhangi bir çözünme göstermezken Mg hızlı bir çözünme sergilemektedir. Platinin dope edilmesinin amacı burada gümüşün çözünürlüğünü artırarak antibakteriyel etkisini sağlamaktır. Ancak, Tablo 4.4, 4.5 ve Şekil 4.53a'den de görüldüğü gibi Pt'nin en üst gümüş tabakaya dope edilmesi, Ag'ün çözünürlüğünü azaltmıştır. Galvanik seride Pt, Ag'e göre daha elektropozitif ve soydur. Dolayısıyla Pt-Ag galvanik eşleme sonucu karma

potansiyel ilkesine göre Pt, Ag'ün çözünmesini artıracaktır. Ancak galvanik bir eşlemede her iki elektrodun bağlı yüzey alanları elektrokimyasal çözünmeyi etkilemektedir (Şekil 4.54) [208, 210].



Şekil 4.53. Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamaların SBF içerisinde Ti, Mg, ve Ag miktarının daldırma süresi ile değişimi

Bir galvanik eşlemede Pt elektrod yüzey alanı, anot durumda olan Ag elektrod yüzey alanının 10 katına çıkartıldığı durumda denge tepkimesi akımının 10 kat büyümesi beklenmektedir [210]. Anodik bölgede akım yoğunluğu büyüdükçe çözünme büyür. Yani akım yoğunluğu küçük yüzeyli bir elektrotta büyük yüzeyli elektroda oranla daha büyüktür. Ancak, bu kaplamalarda katot olarak görev yapan Pt'nin yüzey alanı anodik olarak görev yapan Ag'e göre oldukça düşüktür. Dolayısıyla, Ag'ün çözünmesine hiçbir katkıda bulunmamaktadır.



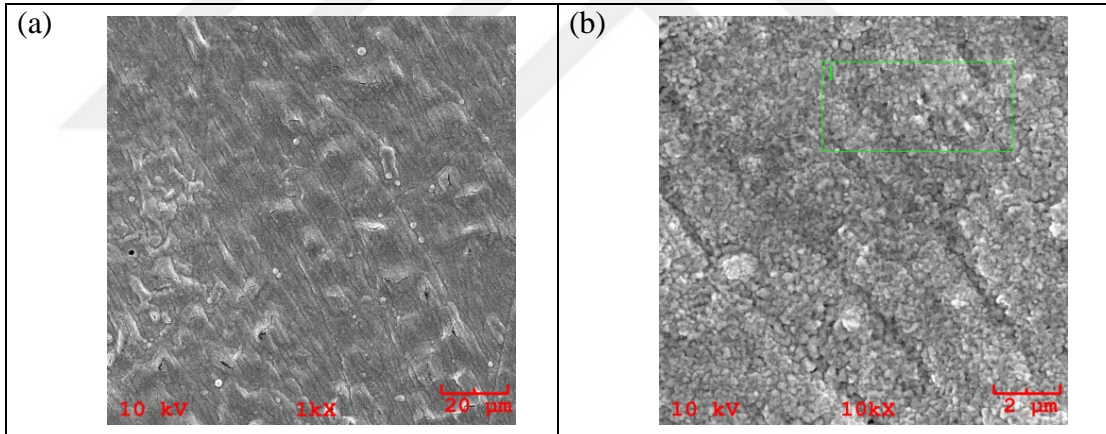
Şekil 4.54. Ag-Pt galvanik eşlemede anot-katot yüzey alanlarının etkisi

Tablo 4.4 ve 4.5’de verilen ICP-MS sonuçları aynı tablolardaki SEM/EDS sonuçları ile uyumludur. Elementin çözeltideki konsantrasyonu arttıkça yüzeydeki miktarı azalmaktadır.

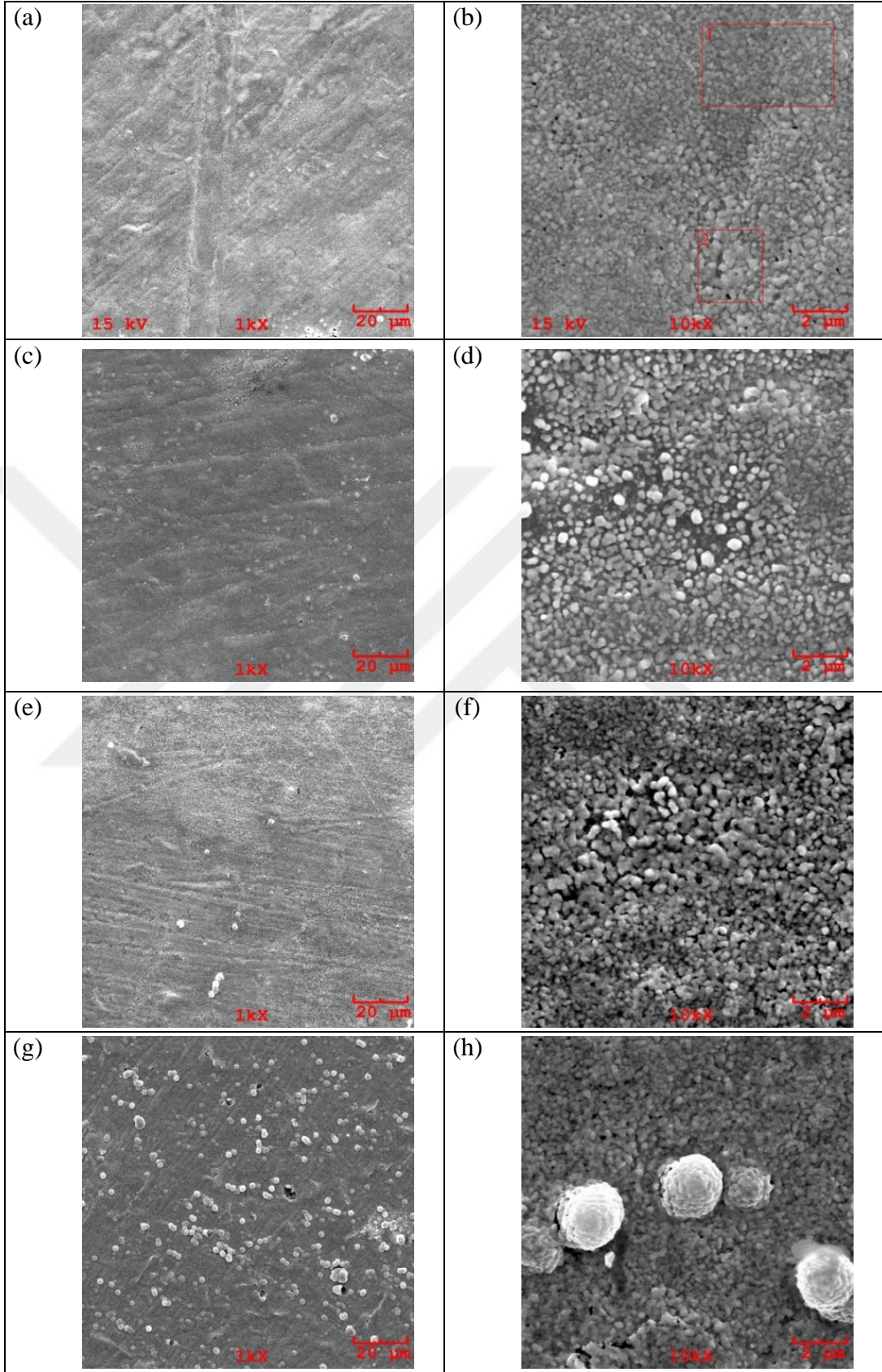
Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların daldırma testi sonrası SBF’deki element konsantrasyonları ve kaplama yüzeyinin SEM/EDS ile elde edilen elementel analiz sonuçları Tablo 4.7 ve 4.8’de verilmiştir. Kaplamaların test öncesinde ve sonrasında alınan yüzey görüntüleri, Pt dope edilmemiş örnekler için Şekil 4.55-4.57’de ve Pt dope edilmiş örnekler için Şekil 4.58-4.60’da sunulmuştur.

Tablo 4.7. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları

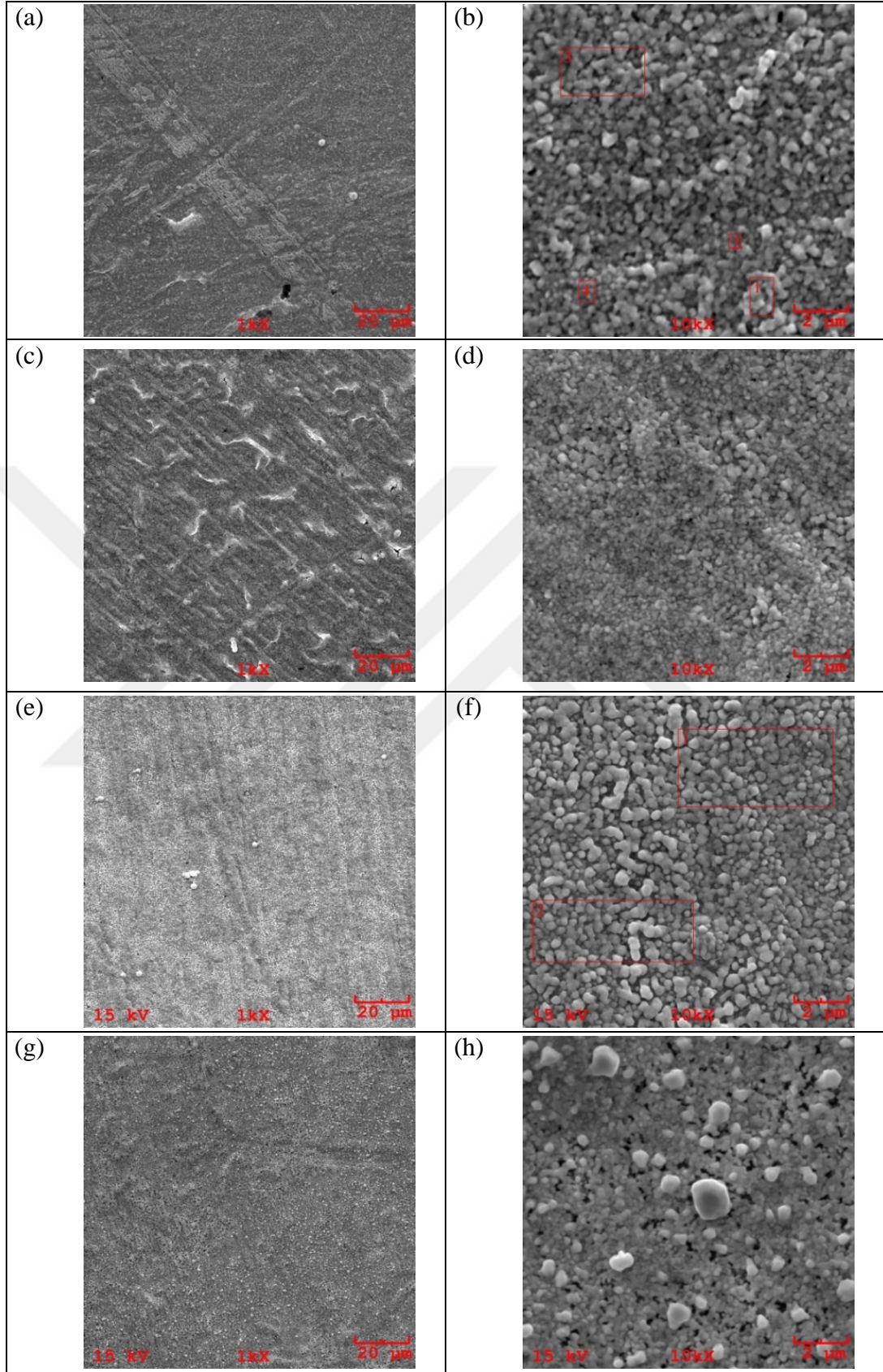
Ti + GL (C131-15)										
1040 nm Ti + 520 nm Grad (Mg+Ag)										
Süre	pH	Çözelti Analizi (ICP-MS)			Yüzey Analizi (SEM/EDS)					
		Ti	Mg	Ag	Ti	Mg	Ag	O	Cl	Na
h		µg/l			ağ. %					
0	6,59				4,375	3,893	91,512	0,220	-	-
1	9,64	1,111	1154,031	2,780	4,614	4,824	89,291	0,362	0,421	0,488
2	9,63	0,844	1304,971	11,075	4,039	4,834	89,265	0,436	0,857	0,570
6	9,69	1,053	1783,265	13,290	7,610	0,900	88,803	0,007	1,682	0,999
12	8,29	0,939	1876,722	34,514	8,382	0,717	89,887	0,000	0,453	0,562
24	9,16	0,771	2049,209	54,653	11,270	0,796	87,577	0,000	0,000	0,357
48	7,87	0,822	1939,898	176,099	13,039	0,275	86,153	0,000	0,124	0,410
96	7,62	0,837	2013,339	190,131	11,694	0,406	87,358	0,000	0,000	0,541
168	7,78	0,962	1974,857	254,540	15,735	0,257	83,710	0,000	0,000	0,298



Şekil 4.55. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (a-b)



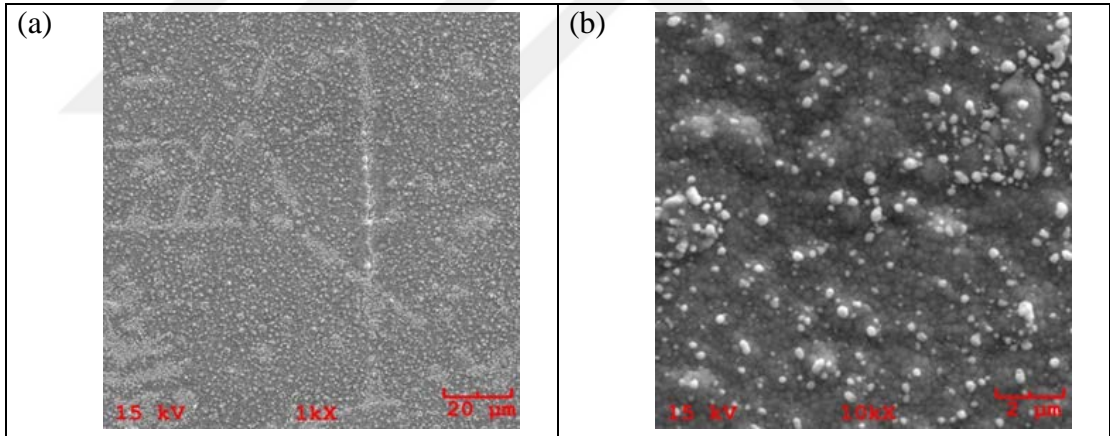
Şekil 4.56. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelelerde alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h)



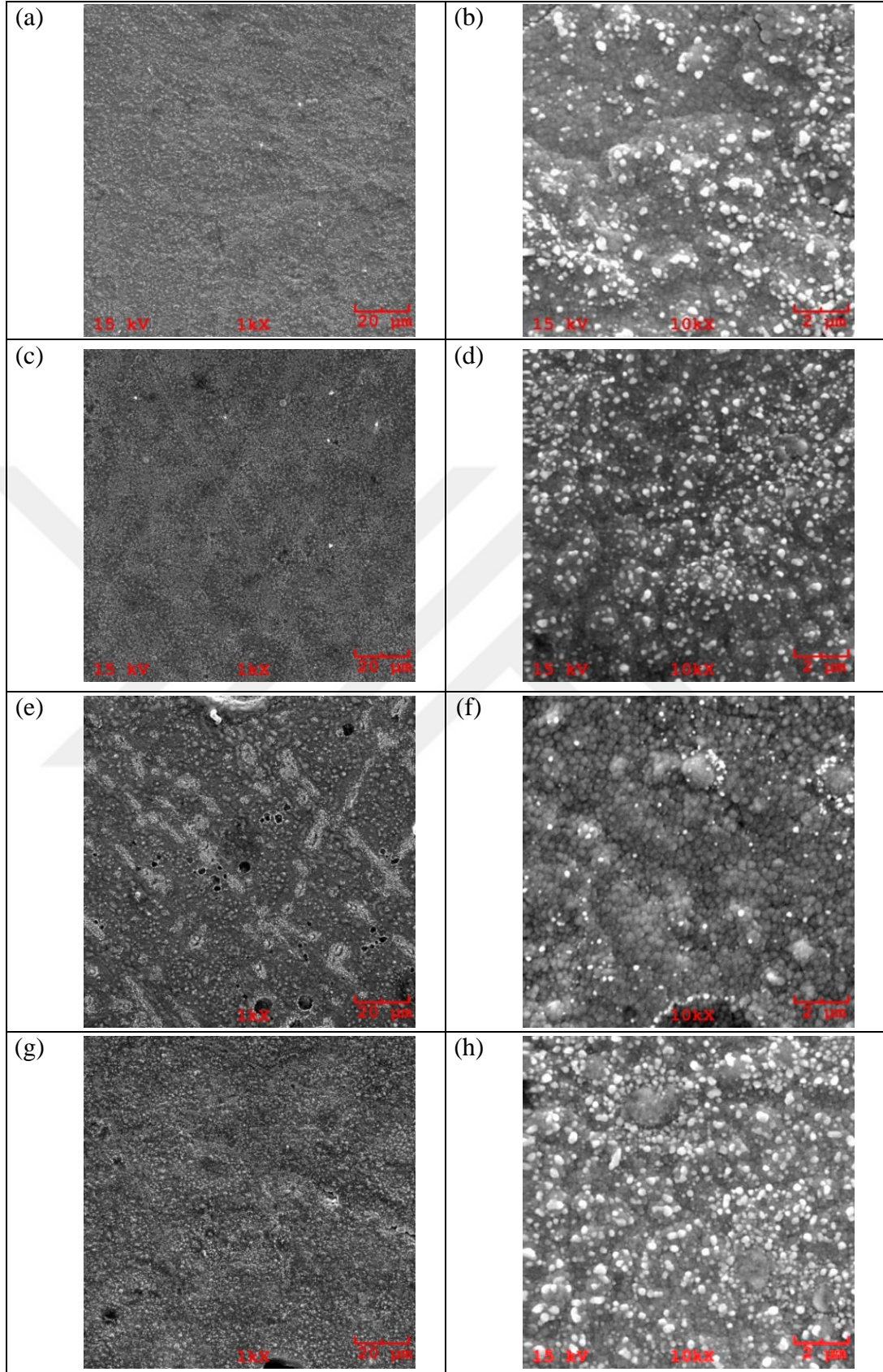
Şekil 4.57. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h)

Tablo 4.8. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası çözelti ve yüzey analiz sonuçları

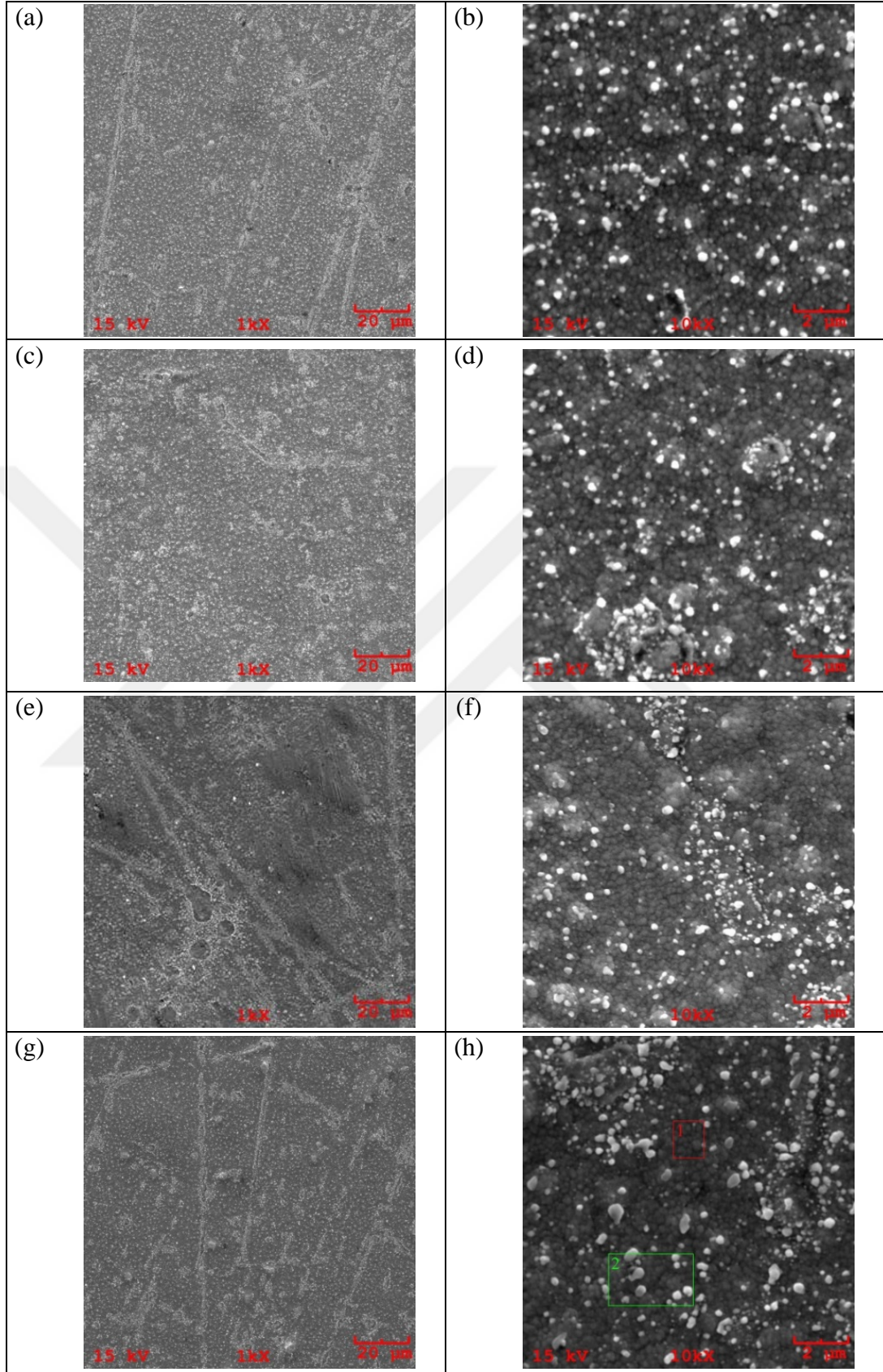
Ti + GL/Pt										
1034 nm Ti +516 nm Grad (Mg+Ag/Pt)										
Süre	pH	Çözelti Analizi (ICP-MS)			Yüzey Analizi (SEM/EDS)					
		Ti	Mg	Ag	Ti	Mg	Ag	O	Cl	Na
h		µg/l			ağ. %					
0	6,59				16,640	10,664	71,608	1,088	0,000	0,000
1	8,22	1,249	998,792	1,153	20,637	6,221	71,413	1,079	0,263	0,386
2	7,73	1,442	1194,807	2,193	20,070	5,813	72,555	0,807	0,432	0,324
6	9,28	1,434	1433,918	2,034	23,910	3,995	71,342	0,247	0,110	0,397
12	9,09	1,663	1949,570	8,059	19,530	3,128	75,810	0,462	0,286	0,783
24	7,49	1,676	1610,422	12,201	28,270	1,391	70,004	0,000	0,064	0,271
48	8,87	1,965	3113,317	33,569	25,969	0,513	71,697	0,000	1,017	0,805
96	7,38	1,565	2466,119	89,222	28,096	1,128	70,338	0,000	0,000	0,438
168	7,63	1,768	2352,323	95,464	35,957	0,883	62,795	0,000	0,000	0,366



Şekil 4.58. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi öncesi farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri (a-b)



Şekil 4.59. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelelerde alınmış SEM görüntüleri; 1 h (a-b), 2 h (c-d), 6 h (e-f) ve 12 h (g-h)

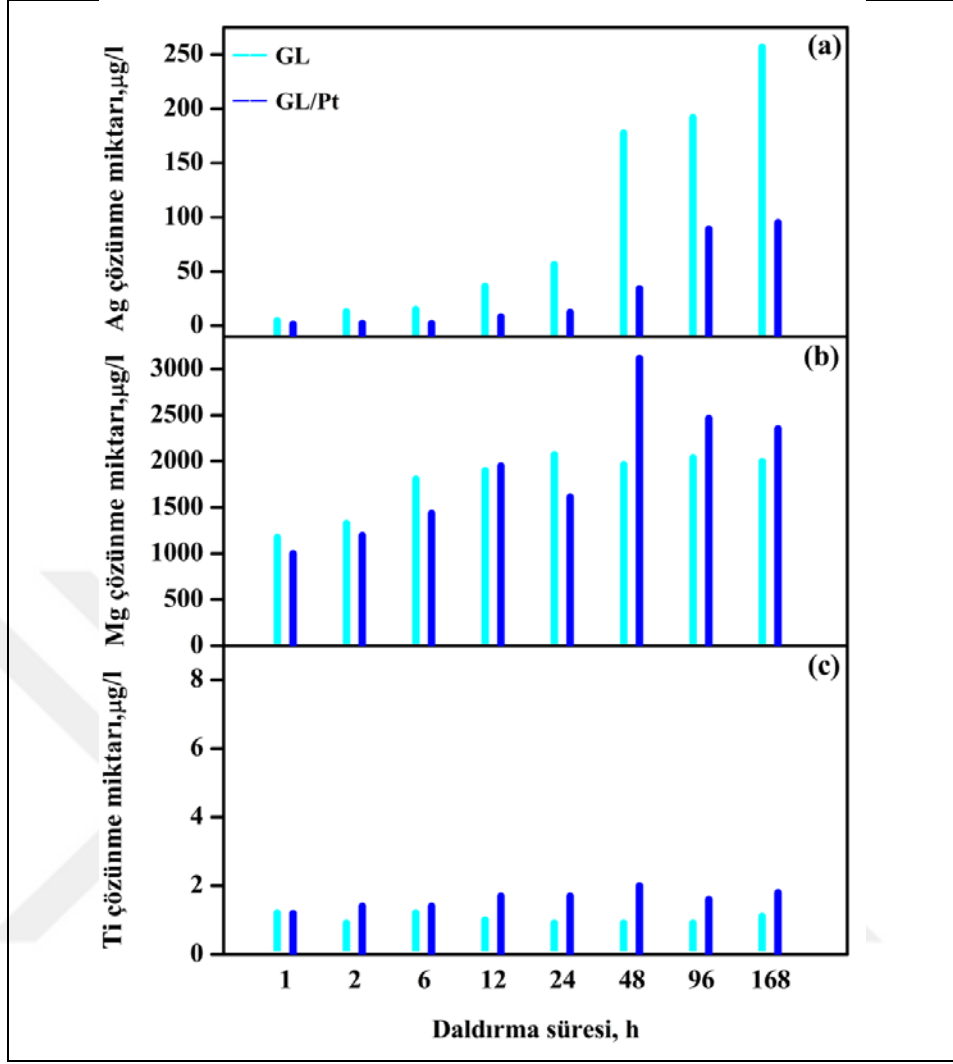


Şekil 4.60. Pt dope edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada daldırma testi sonrası farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri; 24 h (a-b), 48 h (c-d), 96 h (e-f) ve 168 h (g-h)

Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalar ile çok tabakalı kaplamalar en üst tabaka açısından farklılık göstermektedir (Şekil 3.2-3.3). Titanyumun hemen üstünde bulunan 500 nm'lik üst tabakada Mg yüzeye doğru azalırken Ag artmaktadır. Dolayısıyla Ag ve Mg arasındaki elektrokimyasal etkileşim çok katmanlı kaplamada olduğu gibi Ag ve Mg tabakaları arasındaki arayüzeyde olmayıp, serbest yüzeyde gerçekleşmektedir. Yukarıda açıklanan karma potansiyel ilkesi doğrultusunda gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon, fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalarda da aynı galvanik niteliktedir. Ancak galvanik eşlemede etkin olan elektrotların (Ag ve Mg) bağlı yüzey alanları bu kaplamada üst tabakanın (500 nm) kalınlığı boyunca değişkendir. Çok katmanlı kaplamada çözünme eşit yüzey alana sahip Ag ve Mg tabakalarının arayüzeyinde gerçekleşmektedir. Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş tabakada, yüzeyde anodik olarak çözünen Mg'un yüzey alanı katodik olarak görev yapan Ag'e göre oldukça küçüktür. Dolayısıyla yüzey alanı büyük olan Ag'ün katodik akım yoğunluğunu karşılamak için gereken Mg'un anodik akımı, $E_{çift}$ 'de, aşağıdaki eşitlik doğrultusunda artmaktadır [208, 209].

$$\sum i_a A_a = \sum i_k A_k \quad (4.9)$$

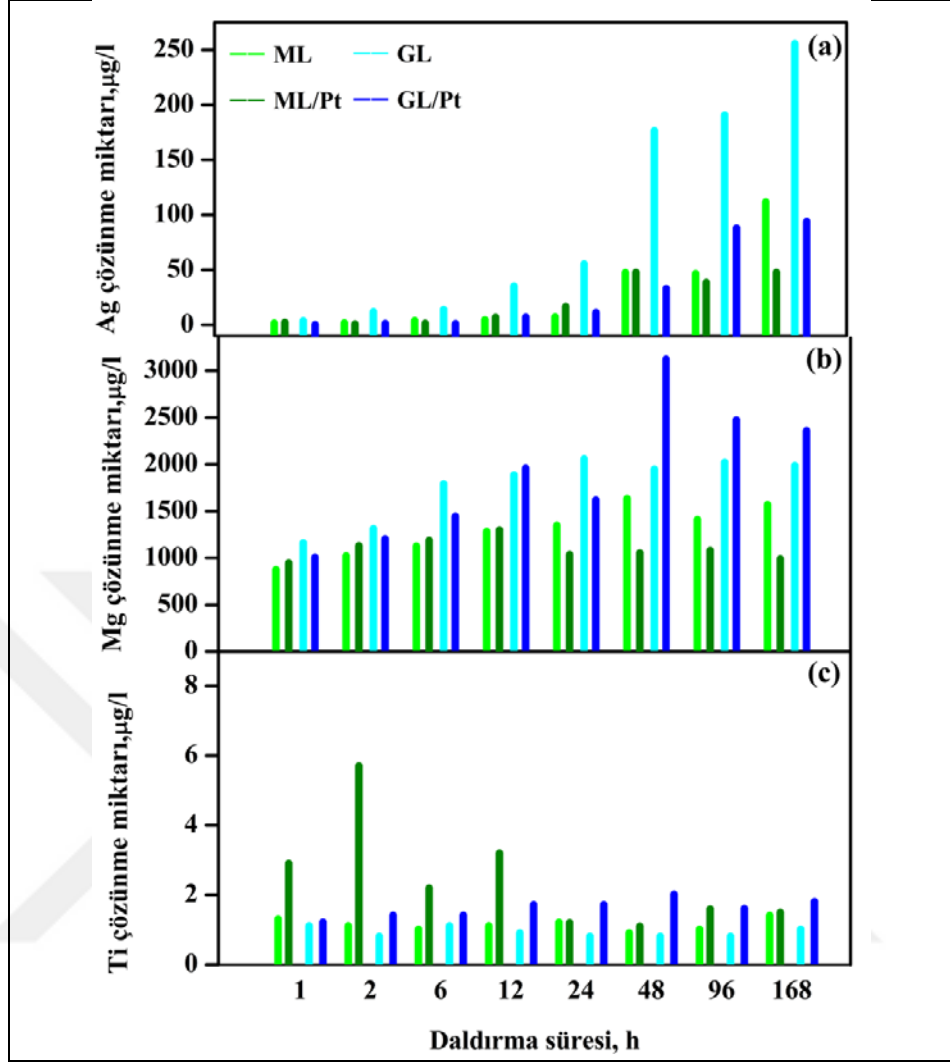
Bu nedenle Şekil 4.53 ve 4.61'de, karşılaştırmalı olarak da Şekil 4.62'de görüldüğü gibi fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada Ag ve Mg çözünmesi artmıştır.



Şekil 4.61. Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde Ti, Mg, ve Ag miktarının daldırma süresi ile değişimi

Şekil 4.62'den de görüldüğü üzere Ag'e Pt'nin dope edilmesi sonucu Ag'ün çözünmesi her iki kaplama tipinde de azalmıştır. Bunun nedeni elektrokimyasal deneyler ile daha detaylı olarak Bölüm 4.3.2 anlatılacaktır.

Çok katmanlı kaplamaların aksine fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalarda en uzun daldırma süresinde dahi en üst tabakada herhangi bir çatlama veya delaminasyona rastlanmamıştır (Şekil 4.55-4.57 ve 4.58-4.60).



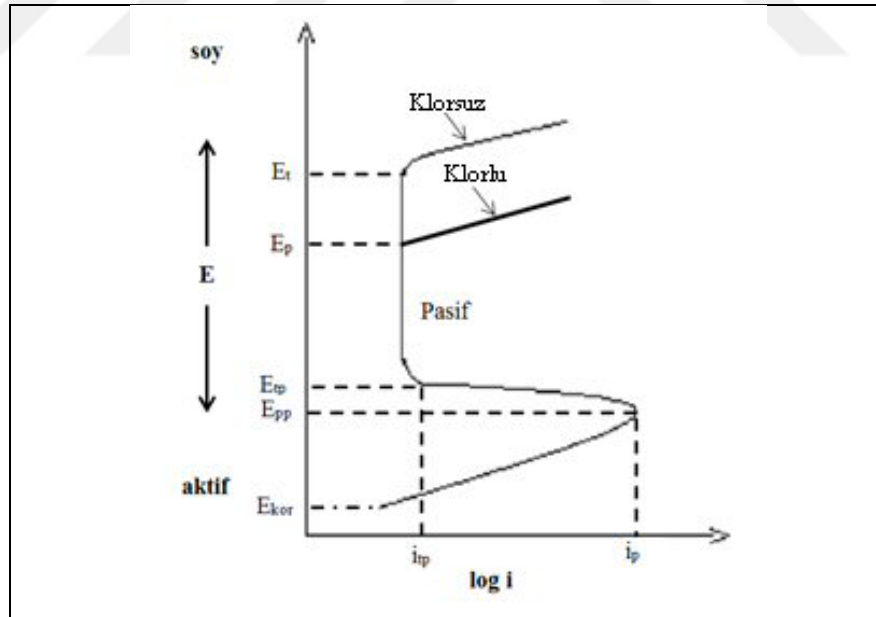
Şekil 4.62. Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok katmanlı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde Mg, ve Ag miktarının daldırma süresi ile değişiminin karşılaştırması

4.3.2. Elektrokimyasal deneyler

Kaplamalarda çözünme mekanizmalarını açıklayabilmek için farklı elektrokimyasal yöntemler kullanılarak kaplamaların SBF içinde katodik ve anodik polarizasyon eğrileri elde edilmiştir. Bunlardan Tafel ekstrapolasyon yöntemi ile kaplamaların i_{kor} , E_{kor} ve polarizasyon direnci R_p belirlenmiştir. Yüzeyi oluşturan Pt dope edilmemiş ve edilmiş Ag tabakanın çözünme mekanizmasını açıklayabilmek için Pt dope edilmemiş ve edilmiş tek tabakalı Ag kaplamalarda yapılan potansiyodinamik ölçümler ile kaplamaların pasivasyon özellikleri incelenmiştir. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS) ile

elektrolitin direnci, R_{Ω} , yük transfer direnci R_t ve kaplama yüzeyi ile elektrolit (SBF) arayüzeyinde oluşan çift tabaka kapasitansı, C_{dl} belirlenmiştir.

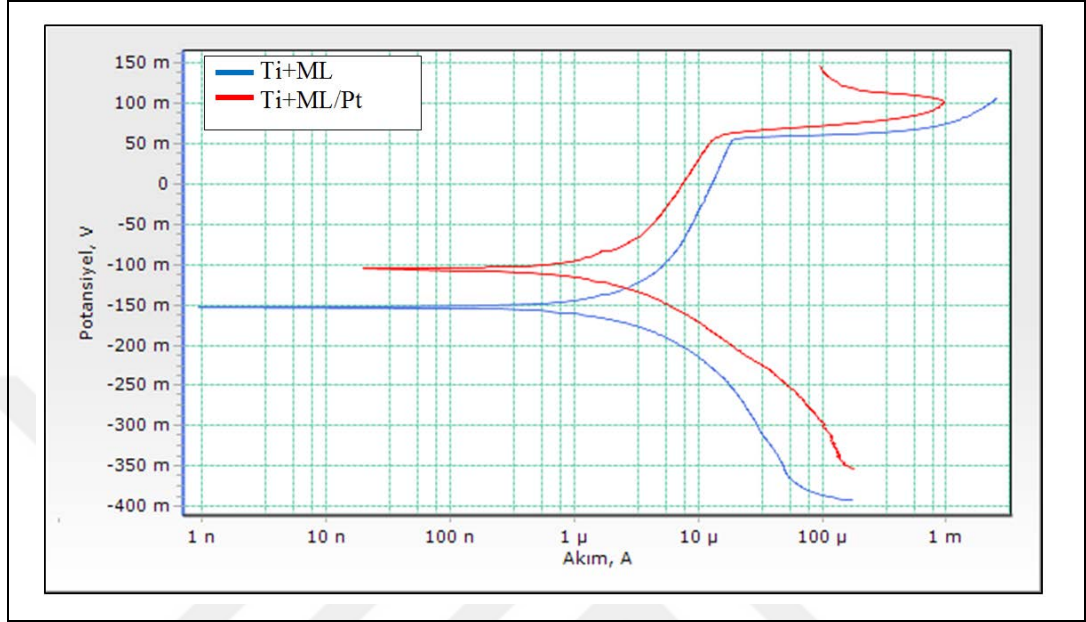
Aktif-pasif geçiş gösteren bir metalin polarizasyon eğrisi Şekil 4.63’de verilmiştir. Metal başlangıçta aktif bölgede olup E_{kor} - E_{pp} arasında potansiyel ile birlikte akım yoğunluğu da artmaktadır. Bu bölgede metal Tafel bağıntısına göre çözünmektedir. E_{pp} potansiyelinde metal çözünmesi yavaşlamakta ve yüzeyde ince bir film oluşmaya başlamaktadır. Pasifleşmenin başladığı bu potansiyel, birincil pasiflik potansiyeli ve akım yoğunluğu i_p kritik akım yoğunluğu olarak adlandırılmaktadır. Yüzey tamamen bir film ile kaplanınca tam pasifleşme potansiyeli E_{tp} ’ye ulaşılır. Metal, E_{tp} - E_t arasında pasif olup, pasiflik akım yoğunluğu i_p , potansiyelden bağımsız olmaktadır. Pasiflik metal yüzeyinde ince bir film oluşumuna dayanmaktadır. Bu filmin kalınlığının 100 Å veya daha da ince olduğu kabul edilmektedir [214]. Akım yoğunluğunun tekrar artmaya başladığı pasiflik bozulma (transpasivasyon) potansiyeli E_t ’de, metal yüzeyinde oluşan film bozulmaya başlamaktadır. Bu bölge transpasif bölge olarak adlandırılır [209].



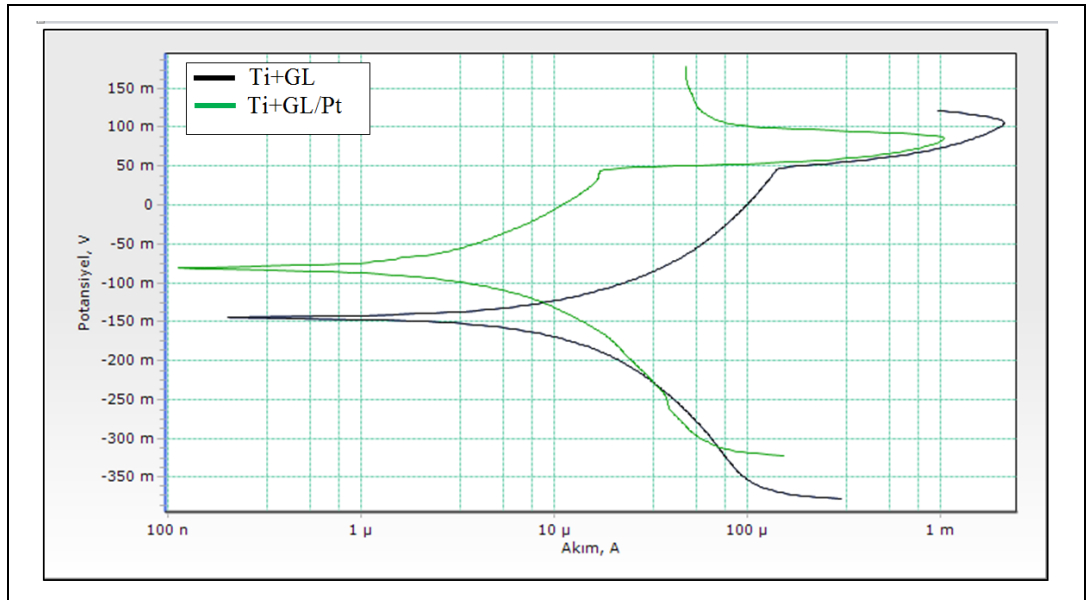
Şekil 4.63. Aktif-pasif geçiş gösteren bir metalin polarizasyon eğrisi [210]

Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde alınan Tafel eğrileri, çok tabakalı kaplamalar için Şekil 4.64’de, fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalar için Şekil 4.65’de

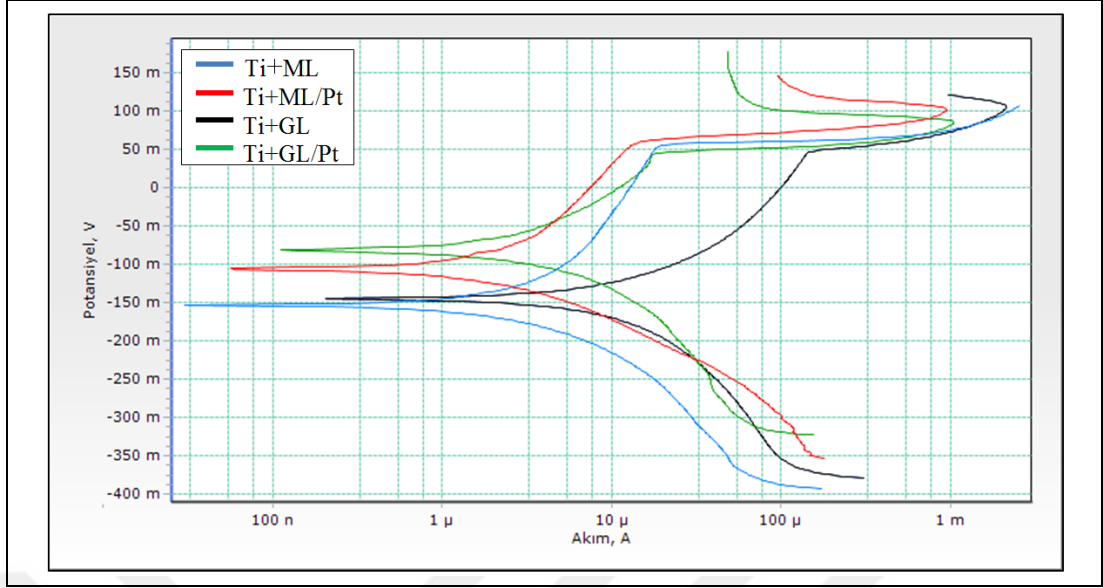
verilmiştir. Şekil 4.66'da ise her iki tür kaplamanın Tafel eğrileri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Elektrokimyasal deneylerden elde edilen değerler Tablo 4.9'da sunulmuştur.



Şekil 4.64. Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamaların SBF içerisinde alınan Tafel eğrileri



Şekil 4.65. Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde alınan Tafel eğrileri



Şekil 4.66. Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok katmanlı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların SBF içerisinde alınan Tafel eğrilerinin karşılaştırılması

Tablo 4.9. Elektrokimyasal deney sonuçları

Örnek	i_{kor} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	E_{kor} (mV)	R_p (ohm)	i_p (mA)	E_{pp} (mV)	t_p (s)
Ag	1,31	-130,68	32360	5,19	227,58	551
Ag/Pt	0,13	-48,59	163510	2,45	114,71	325
Ti+ML	3,18	-153,05	8740	2,55	107,04	501
Ti+ML/Pt	2,34	-105,51	10670	0,95	101,83	456
Ti+GL	14,13	-144,52	3790	2,15	105,51	485
Ti+GL/Pt	3,17	-85,40	5860	0,93	77,59	420

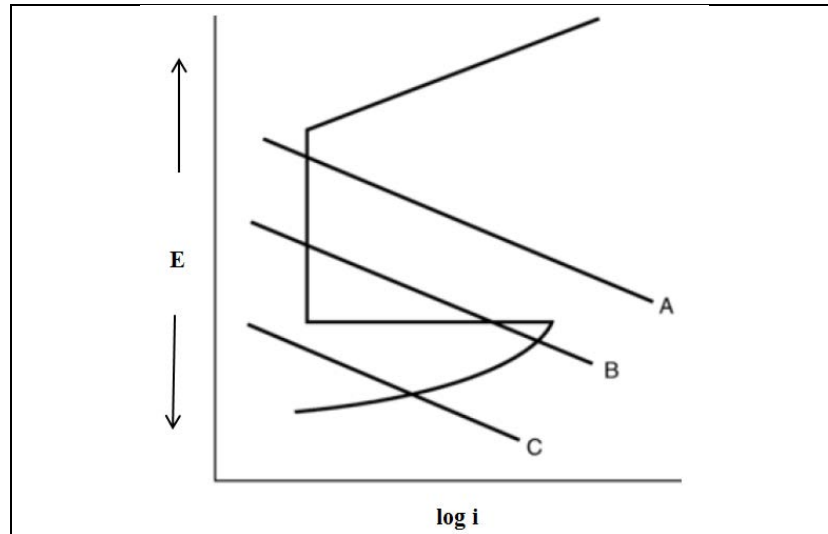
Tablo 4.9'dan görüldüğü üzere en yüksek i_{kor} değerini fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplama verirken en düşük değerler tek tabakalı kaplamalarda görülmektedir. Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalarda oluşan Ag-Mg galvanik çiftte, katot (Ag) / anot (Mg) yüzey alanı oranı yüzeye doğru artmakta ve çözünmeyi geliştirmektedir. Çok tabakalı kaplamada çözünme eşit yüzey alana sahip Ag ve Mg tabakaların arayüzeyinde gerçekleşmektedir. Tek tabakalı Ag kaplamalarda ise Mg olmaması i_{kor} 'daki azalmayı açıklamaktadır. Çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada, Mg'un varlığı Ag-Mg arasında bir galvanik eşleşme gerçekleşmesini sağlayarak galvanik etki nedeni ile i_{kor} 'u, dolayısıyla çözünmeyi artırmaktadır (Tablo 4.4-4.5, 4.7-4.8 ve Şekil 4.62). Ag'ün korozyon potansiyeli oldukça elektropozitif olup soy metallerden sayılmaktadır. Bu

nedenle çözünmesi güçtür. Ancak, çözeltide Cl^- gibi halid gruplarının varlığı ile çözünmesi bir miktar gelişmektedir.

Ag'e Pt dope edilmesi ile kaplamaların E_{kor} 'u daha soy potansiyele çıkarken i_{kor} düşmektedir. Karma potansiyel ilkesine göre, Ag-Pt galvanik çiftte galvanik seride daha elektronegatif olan Ag'ün E_{kor} 'unun daha elektropozitif bir değere çıkması ve i_{kor} 'un artması beklenmektedir. Oysa Pt'nin dope edilmesi ile E_{kor} artarken i_{kor} azalma göstermiştir.

Bir metal yüzeyinin korozyon potansiyeli, anodik ve katodik polarizasyon eğrisinin kesim noktası tarafından kontrol edilmektedir. Bu kesişim noktasında anodik ve katodik reaksiyon hızları birbirine eşittir. Bir metalin çözünme durumları katodik polarizasyon eğrisinin anodik polarizasyon eğrisini kestiği bölge ile belirlenir. Şekil 4.67'de üç farklı kesişme örneği verilmiştir.

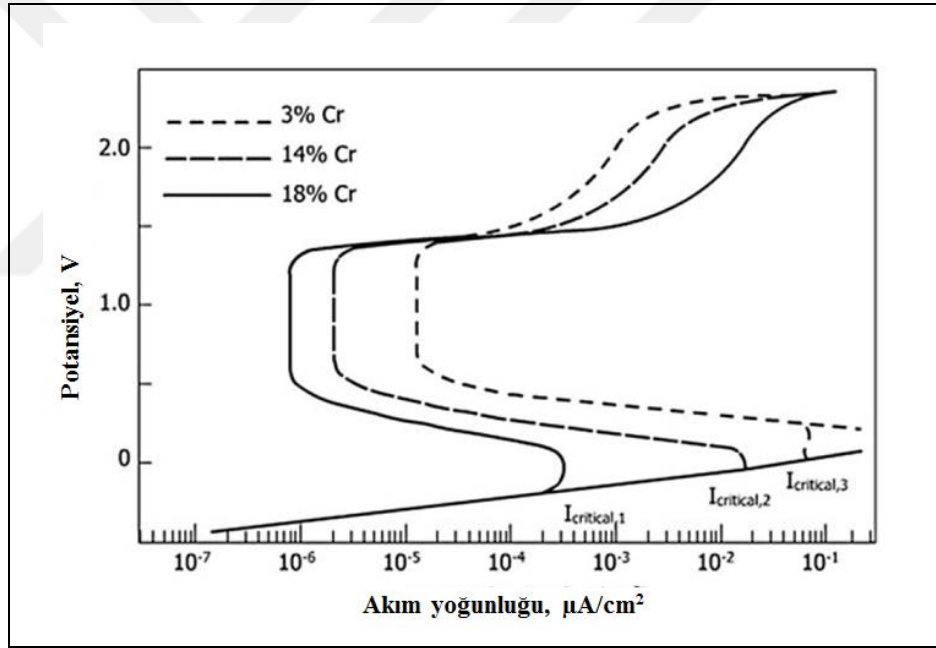
A, B ve C doğruları üç farklı yarı katodik reaksiyonu ($O_n + ne \rightarrow R_n$), diğer eğri ise anodik polarizasyonu göstermektedir. Katodik polarizasyon A doğrusunu izliyor ise korozyon potansiyeli (E_{kor}) pasif bölgede bulunup ($E_{kor} > E_{pp}$) düşük akım yoğunluğu sergiler. Eğer katodik reaksiyon C doğrusu oluşturuyor ise korozyon potansiyeli aktif durumdadır ve korozyon hızı yüksek olabilmektedir. B katodik polarizasyon doğrusu kararsız bir durumu göstermekte olup yüzey aktif ve pasif konum arasında salınım göstermektedir [215].



Şekil 4.67. Aktif-pasif geçiş gösteren bir metalin korozyon akımı ve potansiyeline farklı katodik reaksiyonların etkisi

Şekil 4.63'den görüldüğü üzere anodik polarizasyon eğrisi aktif bölgede maksimum bir akım yoğunluğuna, i_p 'ye ulaştıktan sonra metalin çözünmesi azalmaktadır. Pasivasyon açısından bu kritik akım yoğunluğu çok önemli olup metalin pasivasyon eğilimini göstermektedir. Bir metal bulunduğu ortamda potansiyeli kritik bir büyüklüğün üzerine çıkarıldığı zaman akım yoğunluğu büyük ölçüde azalıyor ise metal pasifleşiyor denir. Altın, gümüş ve platin için pasivasyon potansiyeli E_{kor} değerine yakın olup diğer birçok metal için denge değerinden daha pozitifdir [215].

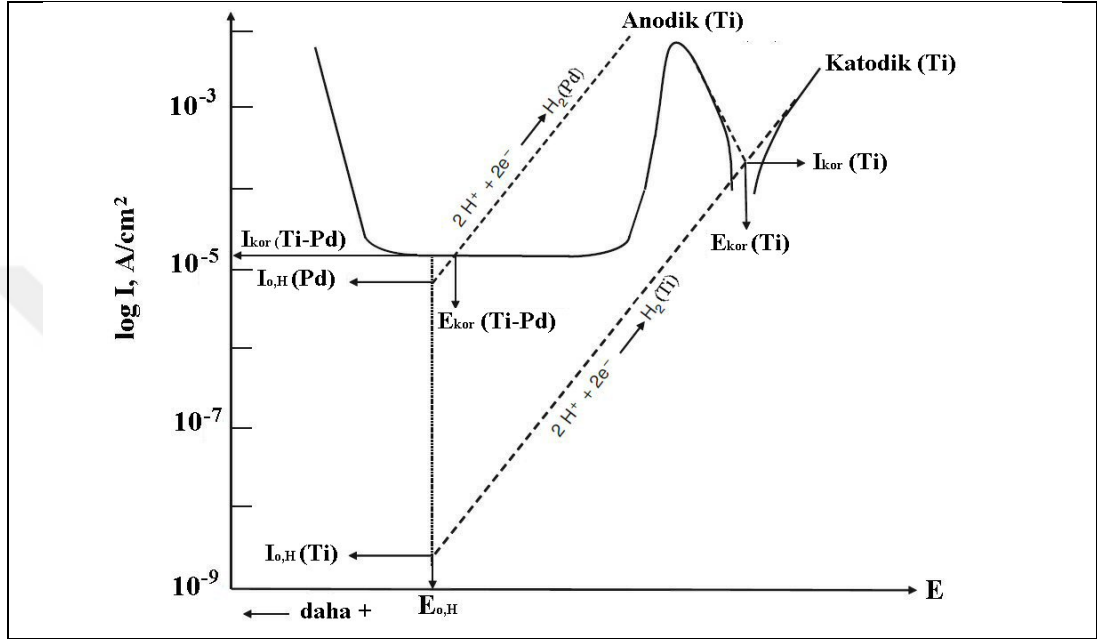
Aktif/pasif geçiş gösteren metallerin i_p 'nu küçülterek pasivitesini geliştirmek için birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemlerden bazılarında pasif bir metal ile alaşımlama veya soy bir metal ile alaşımlama örnek verilebilir. Paslanmaz çeliklerde, demire krom eklenmesi ilk yöntemdir (Şekil 4.68) [216].



Şekil 4.68. Fe-Cr alaşımlarının %10 H₂SO₄ içindeki anodik polarizasyonuna krom miktarının etkisi [216]

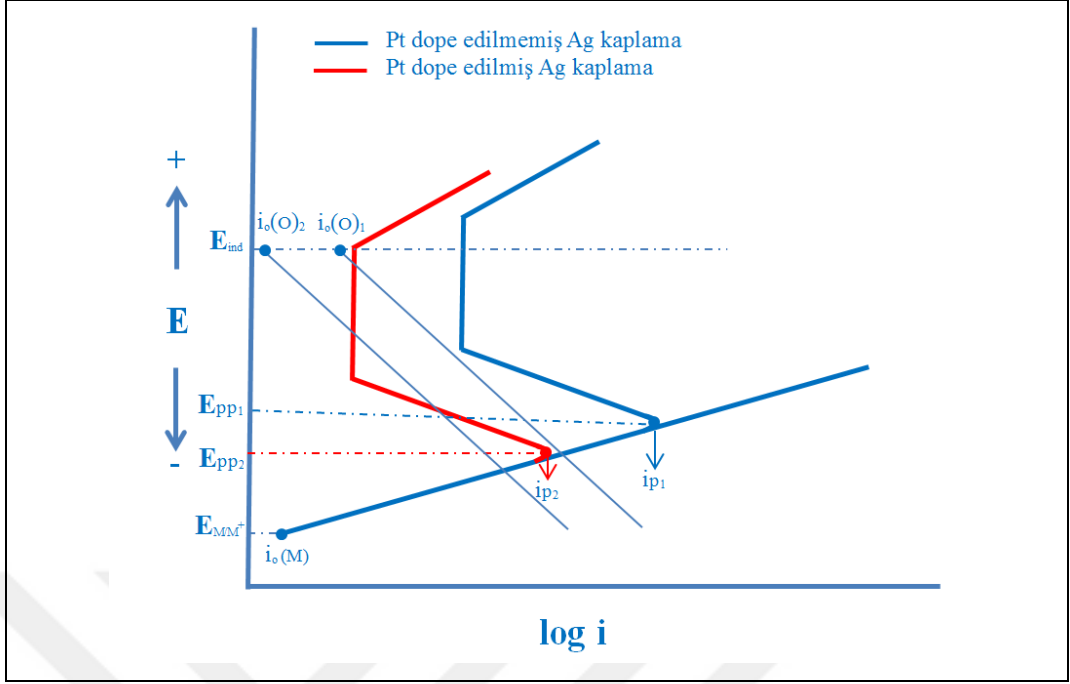
İkinci yöntem daha çok Ti-Pt veya Ti-Pd alaşımlarda görülmüş ve incelenmiştir. Şekil 4.69'da bu mekanizma detaylı bir şekilde açıklanmıştır [208]. Ti-Pd alaşımında, hidrojenin indirgenme reaksiyonu hem Ti hem de Pd üzerinde gerçekleşmektedir. Hidrojen indirgenme reaksiyonunun denge tepkimesi akım yoğunluğu Pd yüzeyi üzerinde Ti'a göre 10^5 kat daha büyüktür. Bu etki sonucu toplam katodik polarizasyon eğrisi, toplam anodik polarizasyon eğrisini pasif bölgede keser. Bu şekilde, Ti-Pd alaşımı kendiliğinden pasifleşmektedir. Şekil

4.69'da verilen sistemde görüldüğü gibi sadece çok az miktarda (at-% 2 Pd) soy metal ilavesi ile bu etki sağlanabilmektedir. Benzer etki bu çalışma kapsamında incelenen kaplamalarda da görülmüştür. Ancak buradaki katodik reaksiyon oksijenin indirgenmesidir. Aynı şekilde oksijenin indirgenme reaksiyonunun denge tepkimesi akım yoğunluğu Pt yüzeyi üzerinde Ag'e göre daha yüksektir.



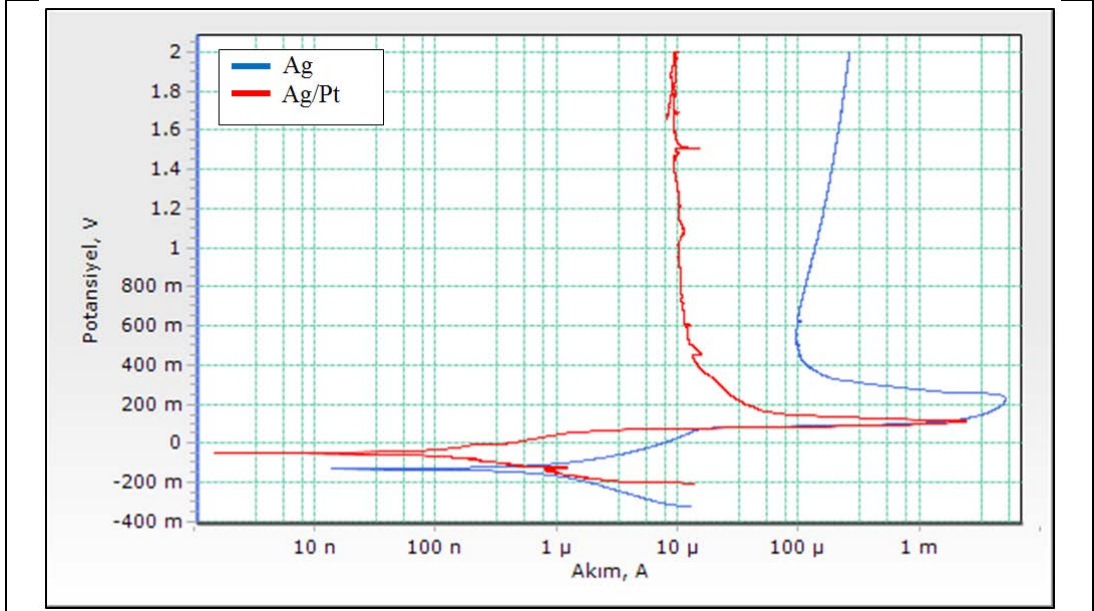
Şekil 4.69. Ti-Pd alaşımında Pd'nin (at.-% 2) pasivasyona etkisinin elektrokimyasal temeli [208]

Ag'e Pt'nin dope edilmesi ile Ag'ün pasivitesi geliştirilmiş olup çözünmesi azalmıştır. Bu etki Şekil 4.70'de Ag-Pt için uyarlanarak şematik olarak gösterilmiştir. Şekil 4.70'den görüldüğü gibi toplam katodik polarizasyon eğrisi anodik polarizasyon eğrisi ile iki şekilde kesişebilir. Pt dope edilmemiş Ag kaplama için her iki durumda oksijenin indirgenme katodik reaksiyonu (i_{O_1} ve i_{O_2}) Ag'ün polarizasyon eğrisini aktif bölgede kesmektedir. Pt dope edilmiş Ag kaplamada katodik polarizasyon eğrileri anodik polarizasyon eğrisini farklı bölgelerde kesmektedir. Birinci kesişimde yüzeyin pasivasyonu söz konusu iken ikinci durumda aktif ve pasif arasında salınım gerçekleşmektedir. Ancak her iki durumda da Pt dope edilmiş Ag kaplamada akım yoğunluğu düşmektedir.



Şekil 4.70. Pt dope edilmesinin Ag'ün pasivasyonu geliştirmesinin elektrokimyasal esasın şematik gösterimi

Soy metal ilavesinin pasivasyon özelliğini geliştirebilmesi Pt dope edilmemiş ve edilmiş tek tabakalı Ag kaplamada daha açık bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.71 ve Tablo 4.9).



Şekil 4.71. Pt dope edilmemiş ve edilmiş tek tabakalı Ag kaplamaların SBF içerisinde alınan polarizasyon eğrileri

E-I eğrisinde doğrusal olarak kabul edilen bölgenin ($E_{kor} \pm 10mV$) eğimi, polarizasyon direnci R_p 'yi vermektedir. R_p çözünmeye karşı bir direncin göstergesi olup i_{kor} ile ters orantılıdır. Kaplama yapısı ve Pt ilavesinin çözünmeye etkisi Tablo 4.9'da verilen değerlerden görülmektedir. En yüksek R_p değeri, i_{kor} değerlerinin tam tersine, Pt dope edilmiş tek tabakalı Ag kaplamada görülürken en düşük değeri Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplama almıştır. Pt dope edilmiş tek tabakalı Ag kaplama çözünmeye karşı en büyük direnci göstermektedir.

Genelde Cl^- ortamında Ag, hızlı bir şekilde yüzeyde AgCl filmi oluşturur. Ancak bu çalışmada, daldırma deneylerinin en uzun süresinde dahi herhangi bir AgCl filme rastlanmamıştır. Bu etki, Mg-AgCl pillerde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon ile benzerdir. Deniz suyu ile aktive olan bu tür piller mikroelektro-mekanik sistemlerde (MEMS), askeri uygulamalarda sıkça kullanılan güç kaynaklarıdır [217, 218]. Anot olarak magnezyum, katot olarak da AgCl, $CuCl_2$, $PbCl_2$ gibi elektrodlar kullanılmaktadır. Kuru halde iken herhangi bir süreç ilerlemezken, denizsuyu ilavesi ile Mg-AgCl pillerdeki elektrokimyasal reaksiyon aşağıdaki gibi yürümektedir:



Yukarıda verilen iki yarı-hücre reaksiyonundan da görüldüğü gibi Mg, kaplamalarda oluşabilecek AgCl'ü çözebilme kabiliyetindedir.

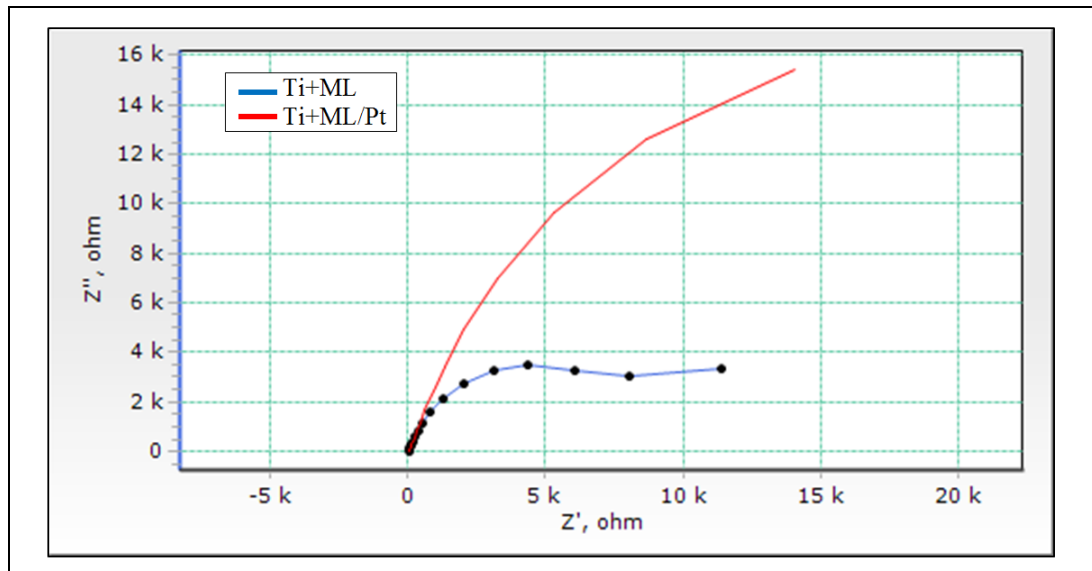
Bir elektrokimyasal reaksiyonda ilk etapta yüzey elektrolit ile etkileşmektedir. Dolayısıyla yüzey ile elektrolit arasındaki arayüzeyde oluşan etkileşimler önem kazanmaktadır. Bu doğrultuda, elektrolitin, yüzeyin ve bunların oluşturduğu arayüzeyin çözünme mekanizmasına etkisini daha iyi anlayabilmek için elektrokimyasal empedans spektroskopisi ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

EIS, alternatif akım (AC) teorisinin bir konusu olup bir devrenin alternatif akım veya potansiyelle karşı cevabını frekansın bir fonksiyonu olarak tanımlamaktadır. Bu doğrultuda EIS ölçümlerden elde edilen veriler ile farklı eğriler çizilerek sisteme bir eşdeğer devre tanımlanır. Bu eğri ve devreler ile sistemin çözünme süreci ile çözelti

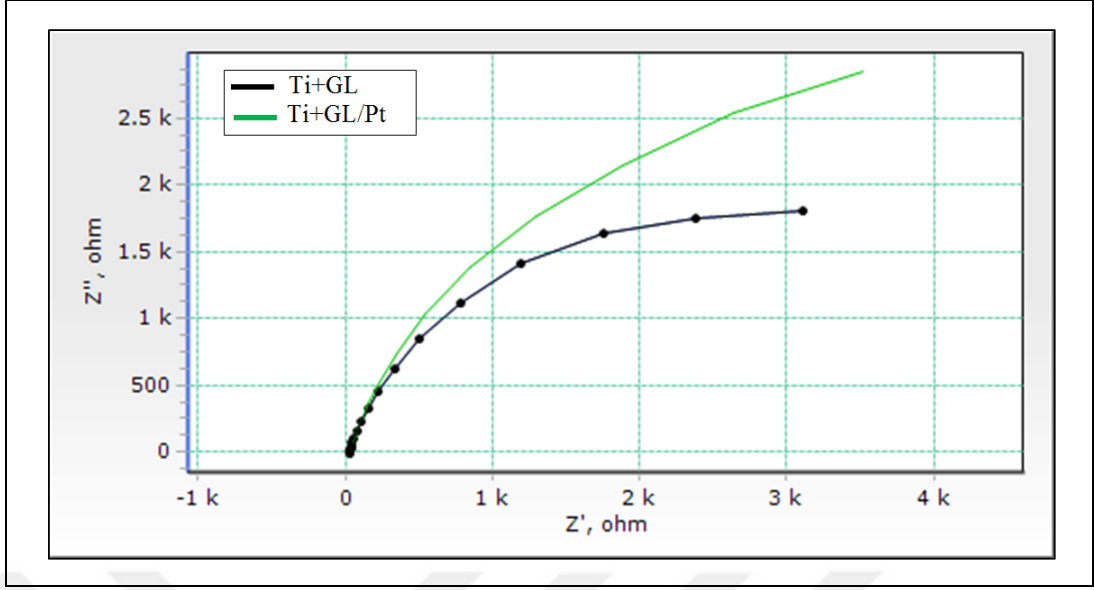
direnci, yük transfer direnci ve elektrolit-yüzey arayüzeyinde oluşan çift tabaka kapasitansı gibi mekanistik bilgiler elde edilmektedir.

Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Nyquist eğrileri sırasıyla Şekil 4.72 ve Şekil 4.73'de verilmiştir. Nyquist eğrisi kompleks empedans çizimi olup sanal empedans (Z'') değerleri gerçek empedans (Z') değerlerine karşı çizilerek oluşturulur. Nyquist eğrilerinden her iki kaplama tipinde de Pt'nin etkisi güçlü bir şekilde görülmektedir. Ag'e Pt'nin dope edilmesi ile kaplamanın empedans değeri oldukça artmaktadır. Beklendiği gibi çok katmanlı kaplamada, kaplamanın yapısı doğrultusunda bu artış daha da yüksektir. Yarım daire şeklinde bir eğri vermeyen bu tür Nyquist eğrileri, yüksek pasif film direncine sahip pasivasyon gösteren malzemelerde görülmektedir [219].

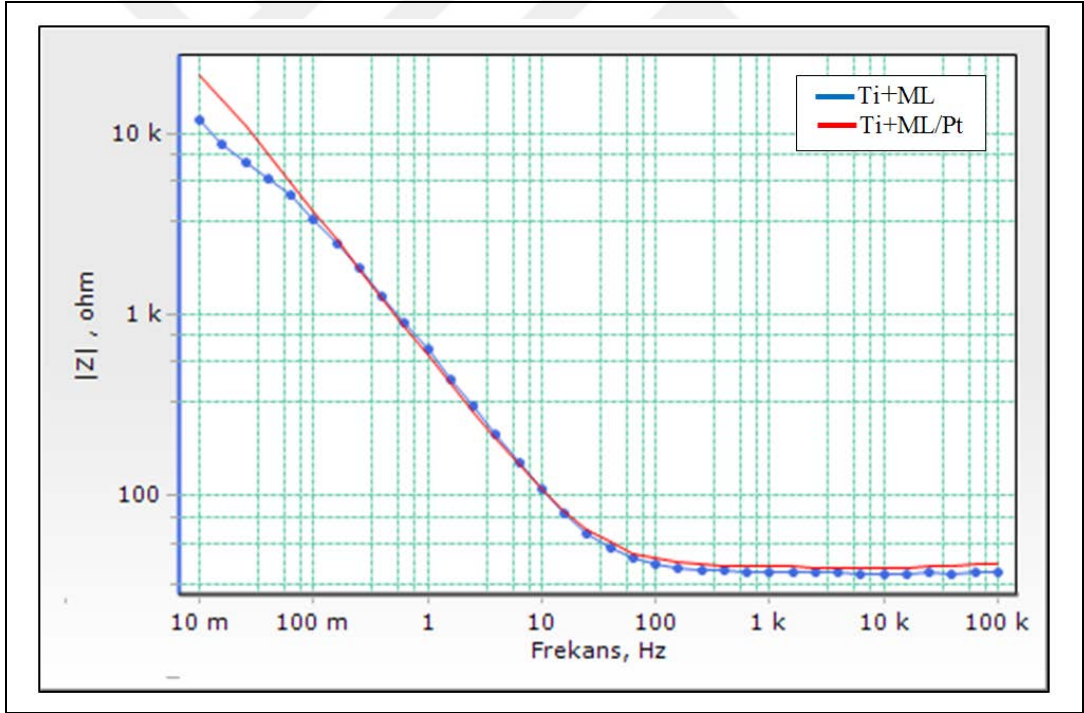
Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Bode eğrileri Şekil 4.74-4.77'de verilmiştir. $\log |Z|$ ve faz açısı, frekansa karşı çizilerek Bode eğrileri oluşturulur. Dolayısıyla empedansın frekans ile değişimini göz önüne sererek Nyquist eğrilerine göre avantaj sağlamaktadır. Ayrıca Bode eğrilerinden direkt, R_{Ω} , R_p değerleri okunabilir ve C_{dl} hesaplanabilir. Kaplamalara ait Bode eğrilerinden elde edilen veriler Tablo 4.10'da sunulmuştur.



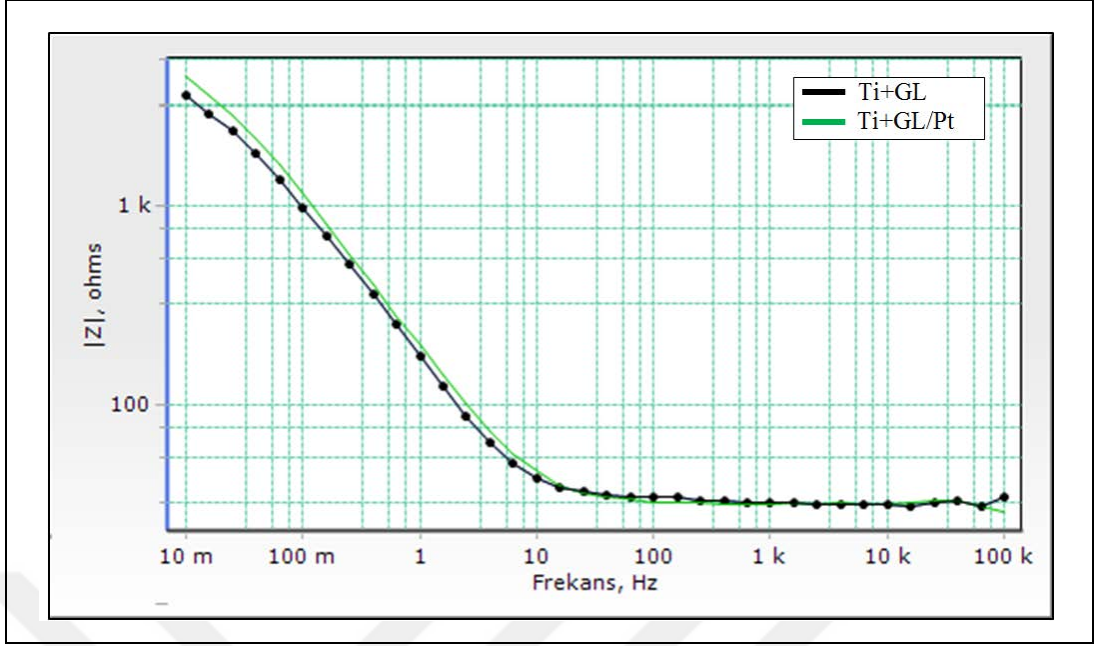
Şekil 4.72. Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamalara ait Nyquist eğrileri



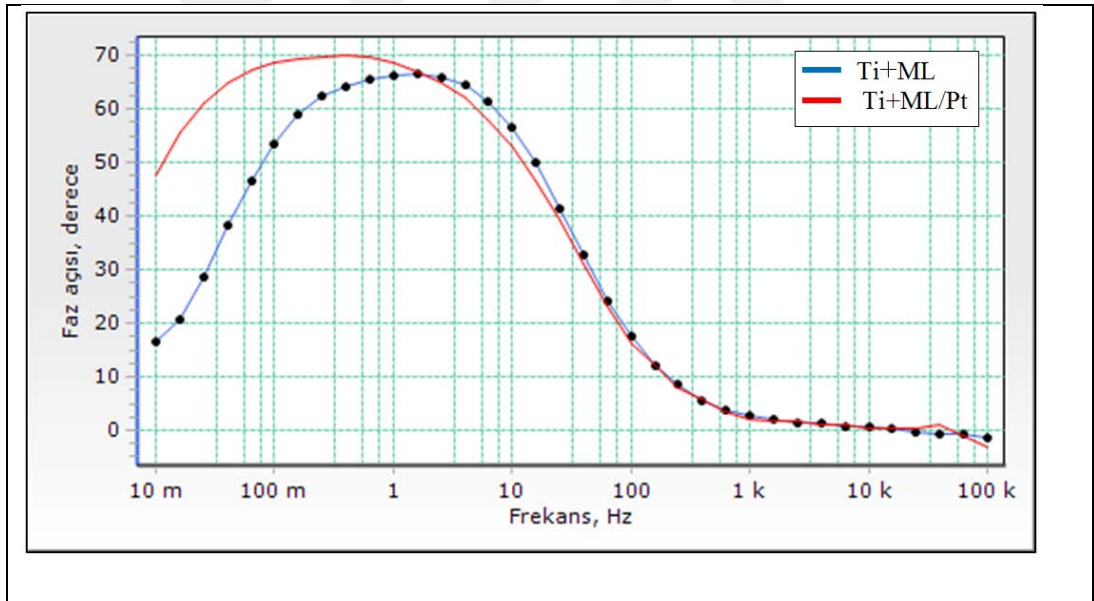
Şekil 4.73. Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Nyquist eğrileri



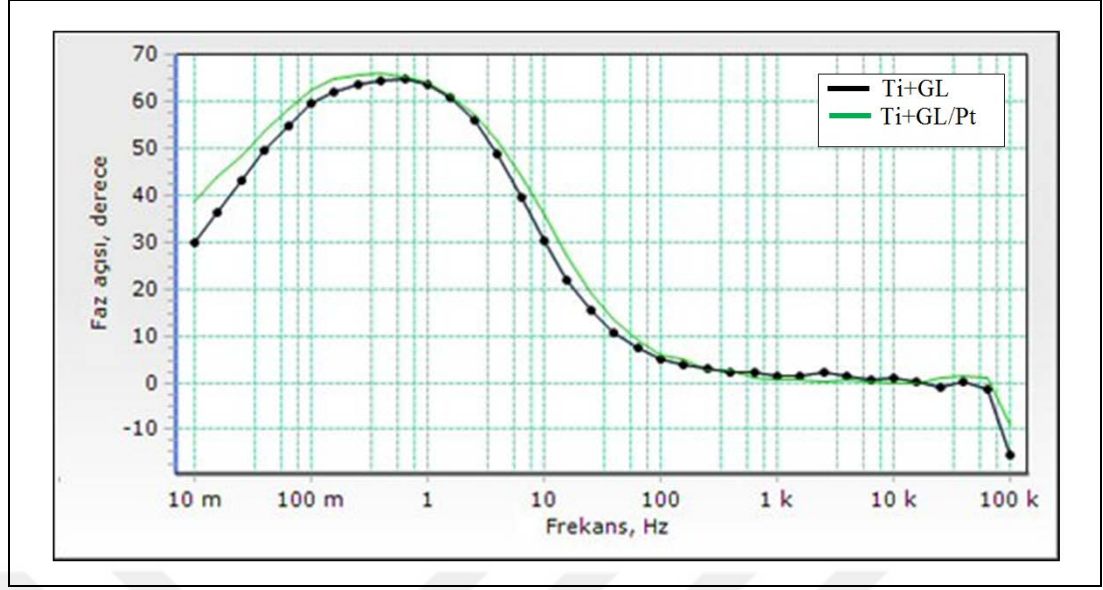
Şekil 4.74. Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamalara ait Bode eğrileri



Şekil 4.75. Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Bode eğrileri



Şekil 4.76. Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı kaplamalara ait Bode eğrileri



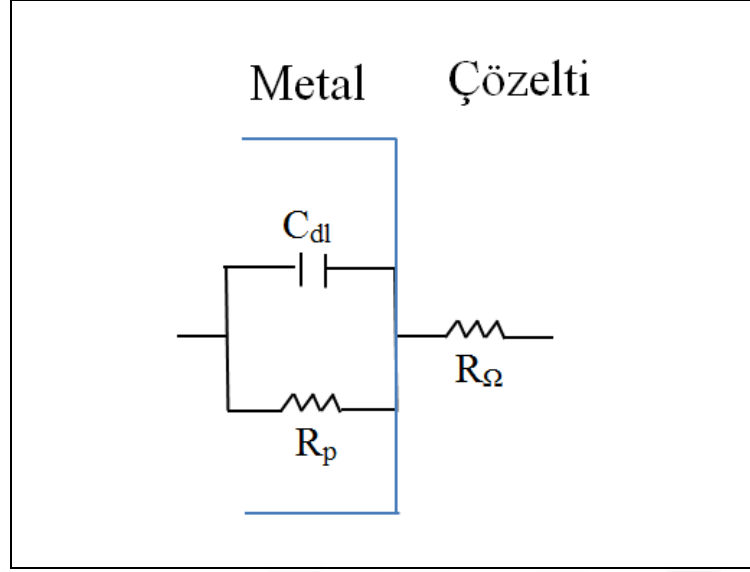
Şekil 4.77. Pt dope edilmemiş ve edilmiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalara ait Bode eğrileri

Tablo 4.10 Bode eğrisinden elde edilen veriler

Örnek	R_{Ω} , ohm	R_p , ohm	$ Z $, ohm	C_{dl} , F
Ti+ML	37,61	11853,39	2472,40	0,000404
Ti+ML/Pt	41,99	20838,01	2581,50	0,000387
Ti+GL	34,06	3567,84	710,09	0,001408
Ti+GL/Pt	29,83	4498,87	817,39	0,001223

Empedans verilerinden elde edilen R_p değerleri, Tablo 6.9’da verilen ve doğru akım yöntemiyle elde edilen R_p değerleri ile aynı eğilimi göstermekte ve kaplamanın polarizasyon direncini vermektedir.

Elektrokimyasal bir hücrede elektrot yüzeyi bir dizi direnç ve kapasitanstan oluşmuş bir elektronik devreye benzetildiğinden, sisteme uygun bir eşdeğer devre atanabilir. Farklı bilgisayar programları kullanılarak, EIS’den elde edilen deneysel veriler ile uygun eşdeğer devre bulunur. Kaplamalar için en basit devre Şekil 4.78’de verilmiştir.



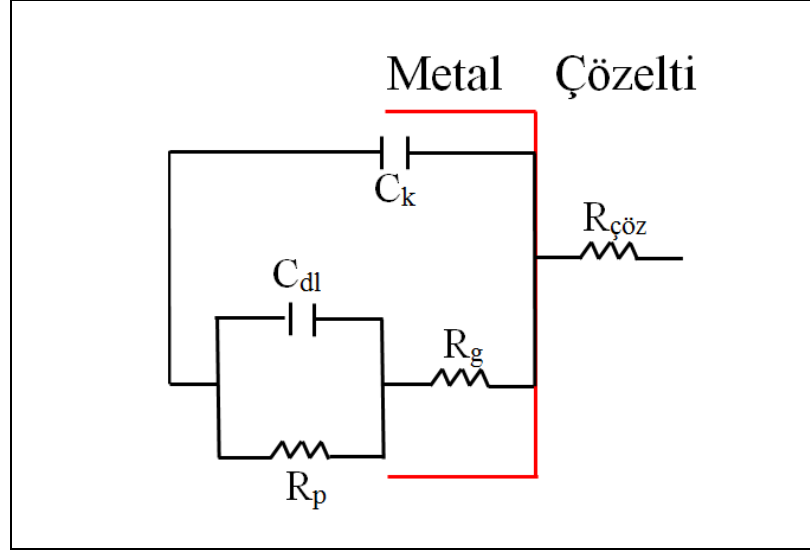
Şekil 4.78. EIS verileri ile atanan basit eşdeğer devre

Şekil 4.78'deki basit eşdeğer devre için ZSimpWin eşleme programı kullanılarak hesaplanan değerler Tablo 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Basit eşdeğer devreden elde edilen veriler

Örnek	R_{Ω} , ohm	R_p , ohm	C_{dl} , F	Ki-kare
Ti+ML	39,90	8773	0,0002172	6,34E-2
Ti+ML/Pt	44,47	24360	0,0002502	8,74E-2
Ti+GL	34,08	3291	0,0010310	4,29E-2
Ti+GL/Pt	33,60	4496	0,0008879	5,41E-2

Pt dope edilmemiş ve edilmiş çok tabakalı ile fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların kaplama süreçleri yaklaşık oda sıcaklığında gerçekleştiğinden yüzeyde gözenek gibi bazı hatalar görülmektedir. Dolayısıyla bu gözenekler daha altta kalan tabakalara çözeltinin difüze olmasını sağlamakta ve çözünme sürecine katkıda bulunmaktadır. Bu doğrultuda yapılan daha karmaşık bir eşdeğer devre Şekil 4.79'da verilmiştir.



Şekil 4.79. EIS verileri ile atanan ve yüzey hatalarını kapsayan karmaşık eşdeğer devre

Şekil 4.79'da verilen eşdeğer devreden hesaplanan değerler Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Karmaşık eşdeğer devreden elde edilen veriler

Örnek	R_{Ω} , ohms	R_g , ohms	C_k , ohms	C_{dl} , F	R_p , ohm	Ki-kare
Ti+ML	38,68	1097,0	0,0001694	0,0002794	8329	1,38E-2
Ti+ML/Pt	42,18	1038,0	0,0001757	0,0002748	25940	1,54E-2
Ti+GL	33,25	684,7	0,000819	0,001327	3083	8,95E-3
Ti+GL/Pt	32,51	617,8	0,0006693	0,001033	4528	1,06E-2

Her üç farklı hesaplamadan elde edilen veriler (Tablo 4.10-4.12) Pt'nin çözünmeye etkisini göstermektedir. Her iki kaplama tipinde de Pt'nin dope edilmesi ile polarizasyon direnci artmaktadır. Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada, kaplama yapısından dolayı magnezyum yüzeye daha yakın olduğundan ve öncelikle çözünmesinden dolayı gözenek sayısı artmaktadır. Bunun sonucunda kaplamanın gözenek direnci düşmektedir.

4.4. *In vitro* Biyolojik Değerlendirme

4.4.1. Antibakteriyel davranış

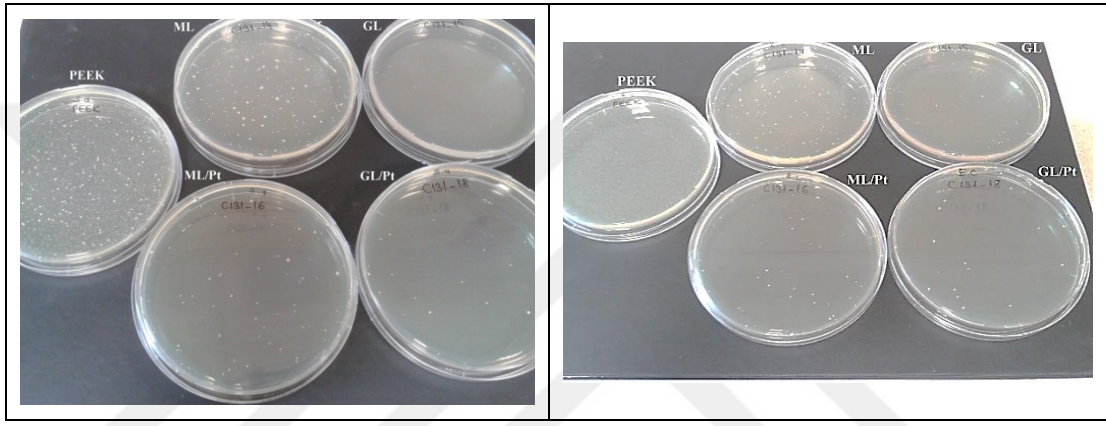
Çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların antibakteriyel davranışları ISO 22196 (Plastics — Measurement of antibacterial activity on plastics

surfaces)’a göre belirlenmiştir. Deneide *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Escherichia coli* ATCC 8739 olmak üzere iki farklı bakteri kullanılmıştır.

Vücut içine bir implantın yerleştirilmesinde her zaman mikrobiyal enfeksiyon riski vardır. Ortopedide enfeksiyon, implant hasarına neden olarak büyük bir problem oluşturmaktadır. İmplant nedenli oluşan enfeksiyon ile başa çıkmak oldukça güçtür, uzun süreli antibiyotik alımına ve tekrarlanan cerrahi işlemlere neden olabilmektedir. İmplant nedenli enfeksiyon, bir implantın yüzeyine bakterinin yapışması ile başlar ve biyofilm oluşmasına neden olur [184]. İmplant yüzeyinde oluşan bu biyofilm üç büyük soruna yol açmaktadır. Öncelikle, yüzeyde tutunan bu bakteriler, bakteri deposu (reservuar) olarak görev yapmakta ve vücudun diğer bölgelerine kolayca geçerek kronik enfeksiyona neden olabilmektedir. Diğer bir sorun, bu biyofilmler antibiyotiklere karşı yüksek dirençli olup geleneksel antibiyotik terapiler ile tedavi edilmeleri güçtür. Nihai olarak, konağın cevabı (host response) ve antimikrobiyal tedaviler biyofilm içinde bakterilerin büyümesine engel olamadıklarından kronik enfeksiyon oluşabilmektedir. En önemlisi, bakteriyel tutunma ilgili hücre tutunması öncesi gerçekleşirse implant yüzeyinde biyofilm oluşumuna neden olur ve doku oluşumunu engeller. Bu oluşan biyofilm hem bağışıklık sistemine ve hem de antibiyotiklere karşı oldukça dirençlidir. Bu nedenle, implant nedenli enfeksiyonu önlemek için implant yüzeyinde bakteriyel tutunmayı (yapışma, adezyon) engellemek gerekli hale gelmiştir. Dolayısıyla ortopedik implant malzemelerde başarıya ulaşabilmek için kemik-oluşturan hücrelere (osteoblast) uygun yüzeyler sağlanmalı, yumuşak bağ doku ve biyofilm oluşumu engellenmelidir.

Yetişkinlerde vertebra (omur) and intervertebral disklerde en sık görülen enfeksiyon *Staphylococcus aureus* nedenlidir. *S.aureus*, gram-pozitif aerobik *Staphylococci* organizmalardan olup en patojenik (en çok hastalığına neden) olandır. Genelde cilt enfeksiyonlarına, bazı durumlarda da pnömoni (pneumonia, zatürre), endokardit (endocarditis, kalp içzarı iltihabı) ve osteomyelite (osteomyelitis, kemik iliği iltihabı) neden olmaktadır. Diğer sıklıkla görülen bakteriler *Staphylococcus epidermidis* ve beta-hemolytic *Streptococcus*’dur. Gram-negatif bakteriler ise *Escherischia coli*, *Pseu-domonas*, *Klebsiellas* and *Enterobacter cloacae*’dir [220].

Tablo 4.13’de çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların ISO 22196’ya göre *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite testi sonuçları verilmiştir. İlgili kaplamaların yüzeyinden yıkanan bakteri koloni sayımlarının gerçekleştirildiği petri görüntüleri Şekil 4.80’de sunulmuştur. Standart (işlem görmemiş) örnek olarak kaplanmamış PEEK diskler kullanılmıştır. PEEK için 0. ve 24. saatte ölçülen canlı mikroorganizma sayısı standartta verilen aralıklar içindedir. Şekil 4.81’de 24 saatte çözünen Ag ile canlı organizma sayısı arasındaki ilişki verilmiştir.



Şekil 4.80. Kaplamaların yüzeyinden yıkanan (a) *S. aureus* ve (b) *E.coli* bakteri koloni sayımlarının gerçekleştirildiği petri görüntüleri

Tablo 4.13. Örneklerin ISO 22196’ya göre *S. aureus* ve *E.coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite sonuçları (10^4 kob/cm²)

Organizma	Örnek Adı	N (0. Saat)	N (24. Saat)	U _t	A _t	R
<i>S. aureus</i>	PEEK	$9,2 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	3,38	-	-
	Ti+ML	$9,2 \times 10^3$	39	-	1,59	1,79
	Ti+ML/Pt	$9,2 \times 10^3$	9,3	-	0,97	2,41
	Ti+GL	$9,2 \times 10^3$	3,5	-	0,54	2,84
	Ti+GL/Pt	$9,2 \times 10^3$	2,2	-	0,34	3,04
<i>E.coli</i>	PEEK	$7,9 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$	3,78	-	-
	Ti+ML	$7,9 \times 10^3$	27	-	1,44	2,34
	Ti+ML/Pt	$7,9 \times 10^3$	6,2	-	0,79	2,99
	Ti+GL	$7,9 \times 10^3$	12	-	1,09	2,68
	Ti+GL/Pt	$7,9 \times 10^3$	2,6	-	0,41	3,36

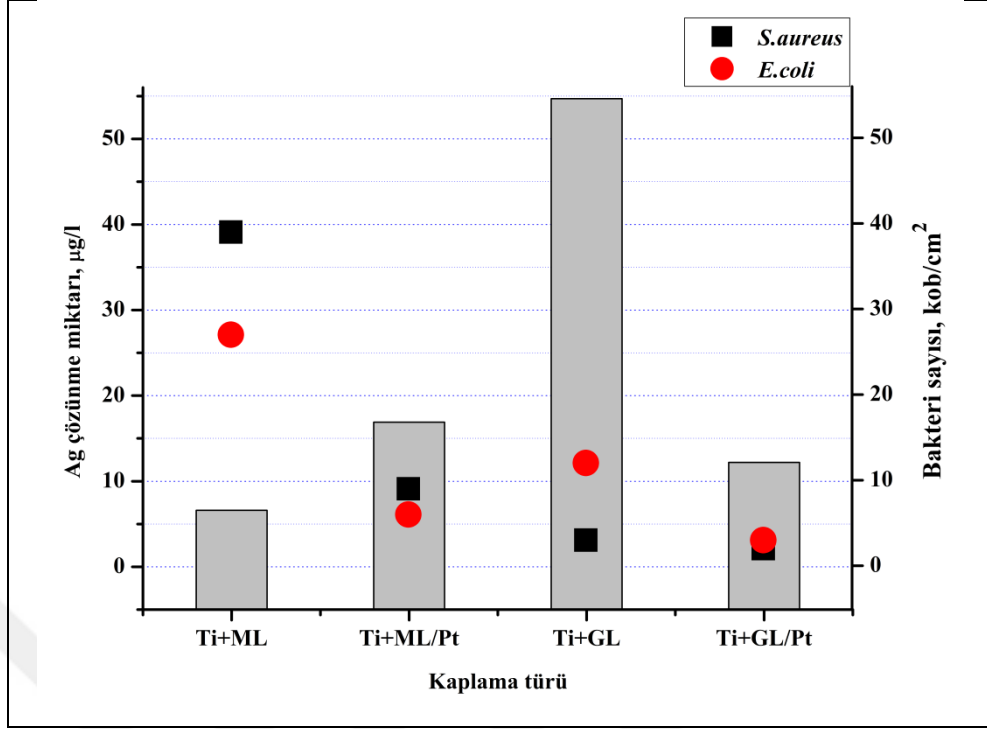
N (0. Saat): Örnekte 0. saatteki canlı mikroorganizma sayısı, kob/cm² ($6,2 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^4$ aralığında olmalı)

N (24. Saat): Örnekte 24. saatteki canlı mikroorganizma sayısı, kob/cm² ($6,2 \times 10^1$ den büyük olmalı)

U_t: İşlem görmemiş örnekte 24. saatteki logaritmik canlı mikroorganizma sayısı, kob/cm²

A_t: İşlem görmüş örnekte 24. saatteki logaritmik canlı mikroorganizma sayısı, kob/cm²

R: Antibakteriyel aktivite (logaritmik azalma)



Şekil 4.81. 24 saatte çözünen Ag ile canlı organizma sayısı (10^4 kob/cm²) arasındaki ilişki

Çok tabakalı kaplamada antibakteriyel etki *S. Aureus*'e göre *E.coli*'de daha yüksek görülmüştür. Ancak fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplama *S.aureus*'e karşı daha kuvvetli bir antibakteriyel etki göstermiştir. Kaplamalarda Ag'e Pt'nin dope edilmesi ile antibakteriyel etki daha da artmaktadır. Özellikle fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada, Ag'ün çözünme miktarı daha düşük olmasına rağmen Pt dope edilmesi ile en yüksek antibakteriyel etki görülmüştür. Bu durum Pt'nin de antibakteriyel etkiye katkıda bulunduğunu göstermektedir.

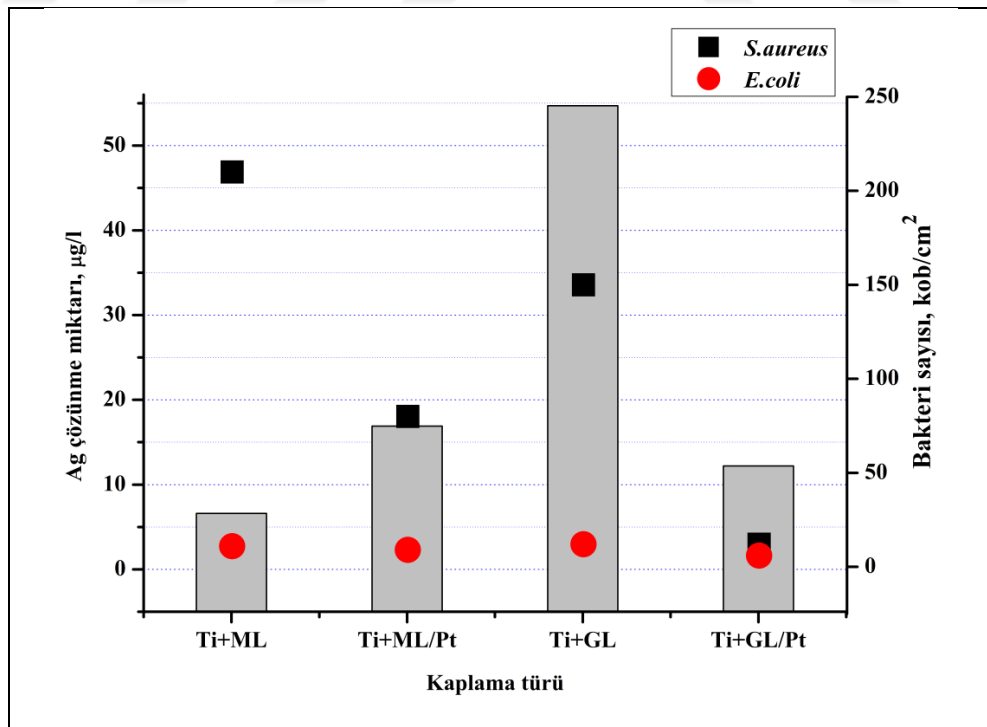
Başlangıçta kullanılan mikroorganizma sayısının artması durumunda antibakteriyel etkiyi görebilmek için daha yüksek mikroorganizma sayısı kullanarak antibakteriyel aktivite testi tekrarlanmıştır. Sonuçlar Tablo 4.14'de ve Şekil 4.82'de verilmiştir. Mikroorganizma sayısının yaklaşık 10 kat artması ile birlikte antibakteriyel etki bir miktar düşmüştür. Kaplamalar, *E.coli*'ye karşı daha yüksek etki göstermektedir. Bu da muhtemelen *S. Aureus*'ün *E.coli*'ye göre hücre duvarı daha kalın olması nedeniyle gümüş iyonlarına karşı daha büyük direnç göstermesinden kaynaklanmaktadır [221]. Pt'nin antibakteriyel etkiye karşı etkisi burada da görülmektedir. Her iki mikroorganizma türünde de Pt'nin Ag'e dope edilmesi ile kaplamaların antibakteriyel aktiviteleri artmaktadır.

Kaplamalarda Mg'un varlığı ortamın alkalinitesini artırmakta ve ayrıca bir antibakteriyel etki sağlamaktadır [222-224]

Ti+GL/Pt'de çözünen Mg miktarının artması ile antibakteriyel etki daha da arttığı görülmüştür.

Tablo 4.14 Örneklerin ISO 22196'ya göre *S. aureus* ve *E.coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite sonuçları (10^5 kob/cm²)

Organizma	Örnek Adı	N (0. Saat)	N (24. Saat)	U _t	A _t	R
<i>S. aureus</i>	PEEK	8,2x10 ⁴	4,4 x10 ⁴	4,91	-	-
	Ti+ML	8,2x10 ⁴	2,1 x10 ²	-	2,32	2,59
	Ti+ML/Pt	8,2x10 ⁴	80	-	1,90	3,01
	Ti+GL	8,2x10 ⁴	1,5x10 ²	-	2,18	2,74
	Ti+GL/Pt	8,2x10 ⁴	12	-	1,08	3,83
<i>E.coli</i>	PEEK	7,0 x10 ⁴	2,5 x10 ⁴	4,85	-	-
	Ti+ML	7,0 x10 ⁴	11	-	1,04	3,80
	Ti+ML/Pt	7,0 x10 ⁴	9	-	0,95	3,89
	Ti+GL	7,0 x10 ⁴	12	-	1,08	3,77
	Ti+GL/Pt	7,0 x10 ⁴	6	-	0,78	4,07



Şekil 4.82. 24 saatte çözünen Ag ile canlı organizma sayısı (10^5 kob/cm²) arasındaki ilişki

4.4.2. Osteokondüktivite testi

Çalışmanın amaçlarından biri de düşük osteokondüktiviteye sahip PEEK malzemesinin osteokondüktif özelliğini geliştirmektir. Bu amaçla, antibakteriyel etkisinden dolayı seçilen Ag'ün yanında hiçbir şekilde biyobozunma göstermeyen kararlı Ti ve yüksek biyoresorpsiyon ve osteokondüktivite gösteren, kemik oluşumunu teşvik eden Mg kullanılmıştır. Osteokondüktivite, biyomalzemenin yüzey pürüzlülüğü, ıslatılabilirliği ve kimyasal bileşimi gibi yüzey özellikleri ile büyük ölçüde ilişkilidir. Bir biyomalzemenin vücut içerisine yerleştirildiğinde aldığı hücre sel yanıt, birbirini izleyen çok adımlı bir süreçte gerçekleşmektedir. Bunlar, serum proteinlerinin yüzeye adsorplanması, küresel hücrelerin malzeme yüzeyi ile teması, hücrelerin tutunması, yapışması (adezyonu) ve yüzeye yayılmasıdır (Tablo 4.15).

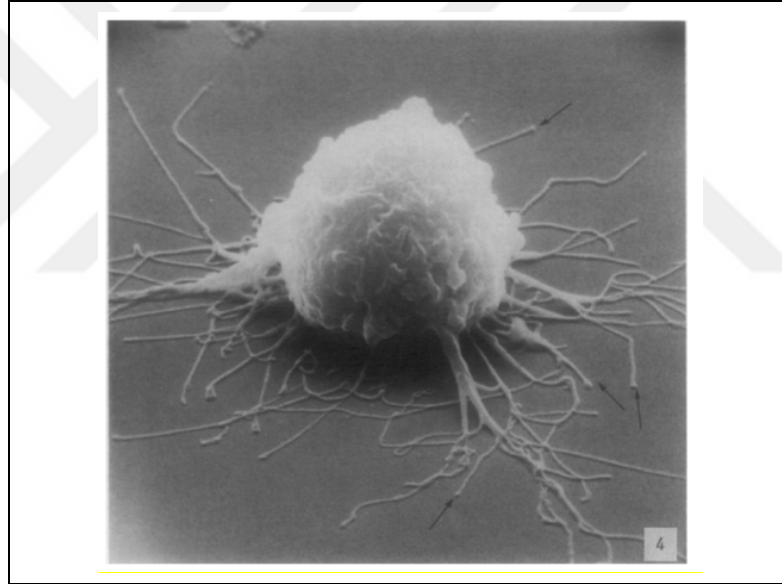
Tablo 4.15. *In vitro* hücre tutunmasının gelişimi ve evreleri [225]

Hücre Yapışma evresi	Evre I	Evre II	Evre III
Hücre yapışmasının şematik gösterimi			
Hücre şekil dönüşümünün şematik gösterimi			
Hücre yapışmasına neden olan etkileşim	Elektrostatik etkileşim	İntegrin ile bağlanma	Fokal yapışma
Yapışma aşamaları	Sedimentasyon	Hücre tutunması	Hücre yayılması ve kararlı yapışma

Hücrelerin yüzeye tutunma evresinde, hücre ile malzeme yüzeyi arasında iyonik ve/veya van der Waals kuvvetleri ile fiziko-kimyasal bağ oluşmaktadır (Evre I). Hücre ile malzeme arasındaki ilk adeziv etkileşim özel integrin-nedenli yapışma ile tetiklenmekte ve tekli reseptör-ligand çiftin bağlanması ile başlamaktadır. İlk tutunmadan sonra, hücreler malzeme yüzeyinde yassılaşmaya ve yayılmaya devam etmektedir. Böylece hücrelerin yükseklikleri azalmakta ve temas noktası artmaktadır. Bunu, küresel hücrenin öngörülen kendi alanının ötesine yayılması takip etmektedir (Evre II). Yayılma sürecinde, devam eden yapışma ile birlikte aktin iskeleti hücrenin kenarlarında tekrar organize olmakta ve dağılmaktadır (Evre III). Bu bir sonraki

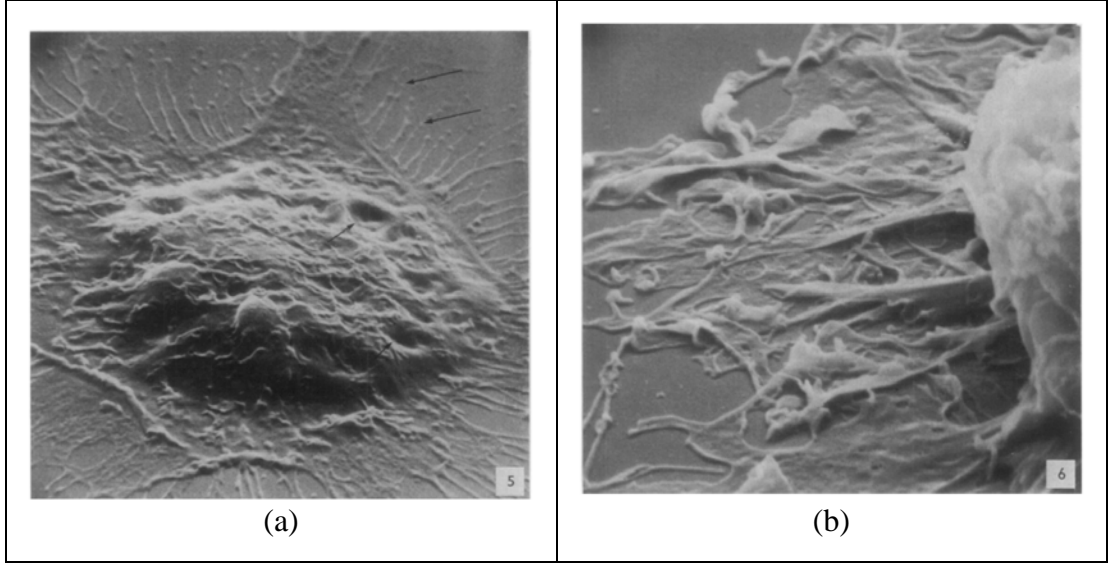
reseptör-ligand bağlarının oluşumunu başlatmakta ve kısa bir sürede sayıca artmaktadır. Hücreler genişleyerek maksimum yayılma alanlarına ulaşmakta ve bu şekilde yapışma mukavemeti artmaktadır [225].

Hücrenin yüzeye yapışmasını, filopodial büyüme, sitoplazmik ağın oluşması, hücre iskeletinin yassılaşması ve periferik sitoplazmanın yayılması takip etmektedir [226]. Filopodial büyüme, hücre iskeletinden mikro çıkıntıların (uzantıların) dışarı doğru radyal olarak büyümesi ile gerçekleşmektedir (Şekil 4.83). Filopodia (mikrouçlar), göç eden hücrelerde lamellipodia'nın ön kenarının ötesine uzanan ince sitoplazmik projeksiyonlardır [227]. Bunlar, aktin bağlayıcı proteinlerle demetler halinde çapraz bağlanan aktin filamentleri içerirler [228]. Filopodia, malzeme yüzeyi ile fokal yapışmalar (focal adhesion) oluşturarak hücre yüzeyi ile bağlantı kurar [229].



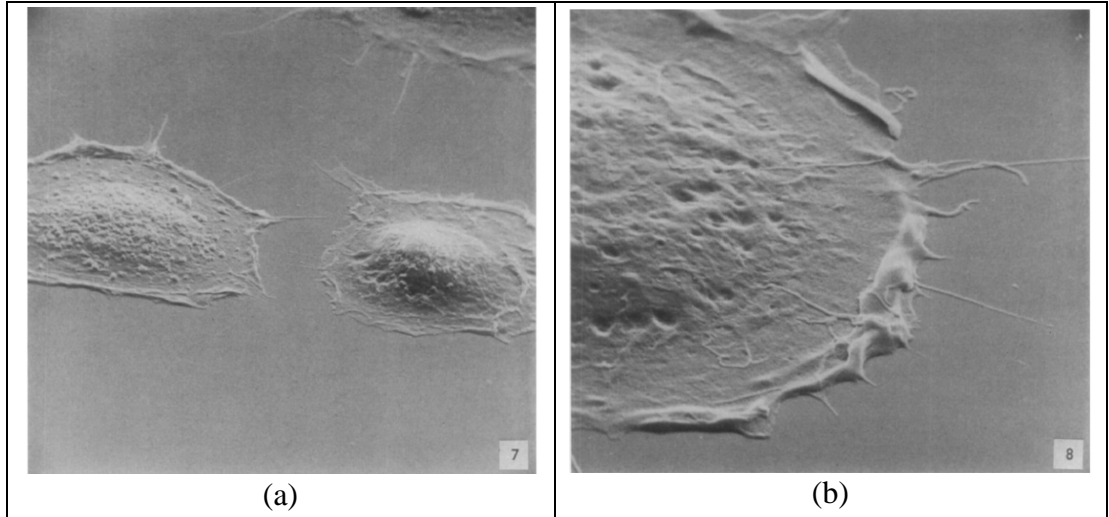
Şekil 4.83. Filopodia'nın radyal büyüme aşaması [226]

Daha sonra hücre zarı ile çevrili sitoplazma, ince film şeklinde ana hücre iskeletinden dışarı doğru yayılarak sitoplazma ağını oluşturmaktadır (Şekil 4.84a). Filopodia üzerinde peristaltik hareketler sonucu sitoplazma “damlacık”ları oluşabilmektedir. Şekil 4.84b'den de görüldüğü gibi sitoplazmik ağın oluşumu, merkezden büyüyen filopodia'nın üzerini örterek gerçekleşmektedir.

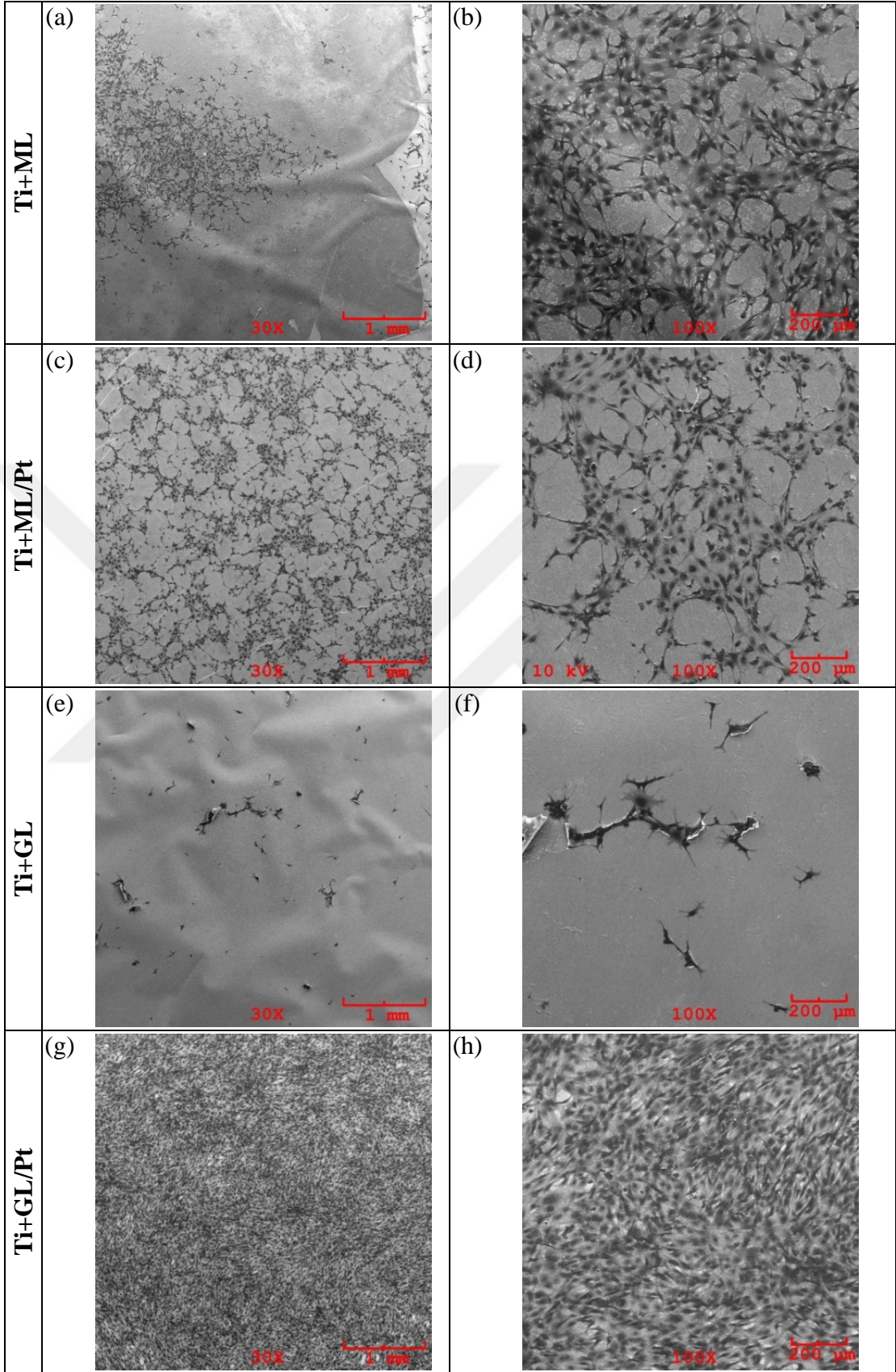


Şekil 4.84. (a) Hücrenin sitoplazma ağının gelişiminin son aşaması (x4700) (b), sitoplazma içinde filopodia ağının oluşumu (x8900) [226]

Sitoplazmik ağ oluşumunu, hücre iskeletinin yassılaşıma süreci takip etmektedir (Şekil 4.85). Hücre yayılmasının ilk basamağı olan filopodia'nın küresel uçlarının oluşumu malzeme yüzeyine tutunmada büyük rol oynamaktadır. Filopodia'nın yayılması, itici kuvvetlerin oluşturduğu fizikokimyasal bariyerin aşılması ve yüzey ile temas mesafesinin azalması demektir.



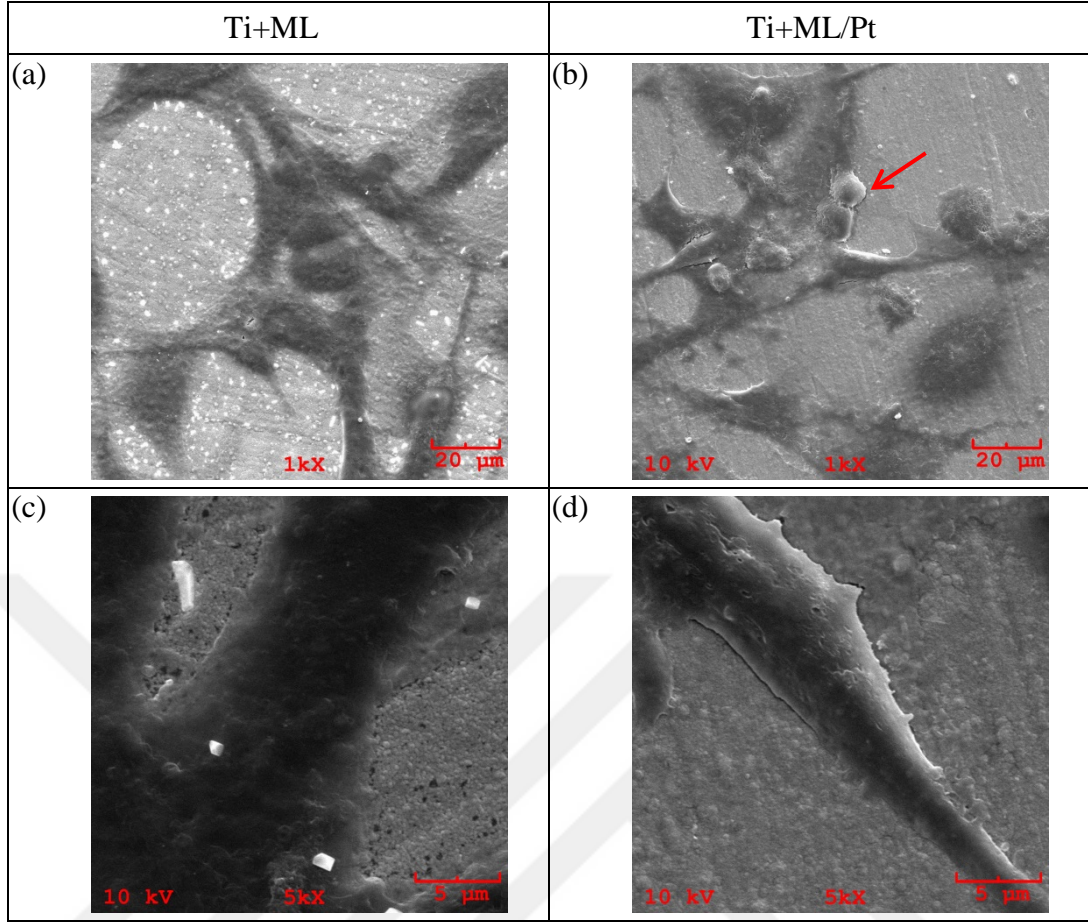
Şekil 4.85. Tamamen yapışmış ve yayılmış hücrelerin (a) x1700, (b) x4400 büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri [226]



Şekil 4.86. Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, b) Ti+ML, (c, d) Ti+ML/Pt, (e, f) Ti+GL, (g, h) Ti+GL/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri

Kaplamaların osteokondüktivite açısından değerlendirmeleri yukarıda verilen bilgiler doğrultusunda yapılmıştır. MC3T3-E1 hücre ekiminden 72 saat sonra, Ti+ML, Ti+ML/Pt, Ti+GL ve Ti+GL/Pt kaplamalar üzerindeki hücre morfolojilerini ve hücre-malzeme etkileşimini gösteren SEM görüntüleri Şekil 4.86'da verilmiştir. SEM görüntülerinde de görüldüğü gibi, en fazla hücreye Ti+GL/Pt yüzeyinde rastlanırken (Şekil 4.86g) en az hücre Ti+GL'de görülmüştür (Şekil 4.86e). Ti+ML'de hücreler iki farklı bölgede toplanmışken (Şekil 4.86a), Ti+ML/Pt'de hücreler homojen bir şekilde dağılmıştır (Şekil 4.86c). Ti+GL/Pt'de hücreler yüzeyi yoğun bir şekilde tamamen kaplayarak yüzeye yapışık tek hücre tabakası geliştirmiştir (Şekil 4.86g ve h) [230]. Ti+ML (Şekil 4.86a-b) ve Ti+ML/Pt'de (Şekil 4.86c-d) morfolojik olarak hücreler benzer özellikler sergilemektedir. Yapışmış hücreler lamellipodial ve filopodial büyüme göstererek sitoplazmik ağın oluşması ile birlikte hücre iskeleti yassılaştırmış ve yayılmıştır. Bu da hücre-malzeme etkileşiminin oldukça iyi olduğunu göstermektedir. Ayrıca hücre iskeletinden uzanan lamellipodia ve filopodia ile hücre-hücre etkileşiminin de sağlandığı görülmektedir. Ti+GL'de yüzeye oldukça az sayıda hücre yapışmasına rağmen genelde yapışan hücreler Ti+ML ve Ti+ML/Pt'ye benzer morfolojik özellikler sergilemiştir. Burada da hücre-hücre etkileşimi görülmektedir.

Ti+ML ve Ti+ML/Pt'nin daha büyük büyütme oranlarında ve karşılaştırmalı olarak SEM görüntüleri Şekil 4.87'de verilmiştir. Her iki kaplamada da hücrelerin sitoplazmik uzantılar olan lamellipodia ve filopodia ile hücre-malzeme ve hücre-hücre etkileşimini sağladığı görülmüştür. Önceden de belirtildiği gibi yapışma, yayılma, çoğalma, göç etme gibi hücre faaliyetleri açısından lamellipodia ve filopodia gelişimleri büyük önem teşkil etmektedir. Bu tür gelişimler ile hücre-malzeme ile hücre-hücre etkileşimleri sağlanmaktadır. Yapıda fazlaca filopodia ve lamellipodia'nın bulunması hücre-malzeme etkileşiminin, dolayısıyla hücre yapışmasının kuvvetli olduğunu ve bu tür yapıların uzaması ve yayılması ile hücre yayılmasının geliştiğini göstermektedir. Şekil 4.87b'de belirgin bir şekilde görülen hücre bölünmesi, Ti+ML/Pt kaplamada hücrelerin yüzeye daha iyi uyum sağladığının bir kanıtıdır; çoğalmanın ön koşulu yüzeye tutunmadır.



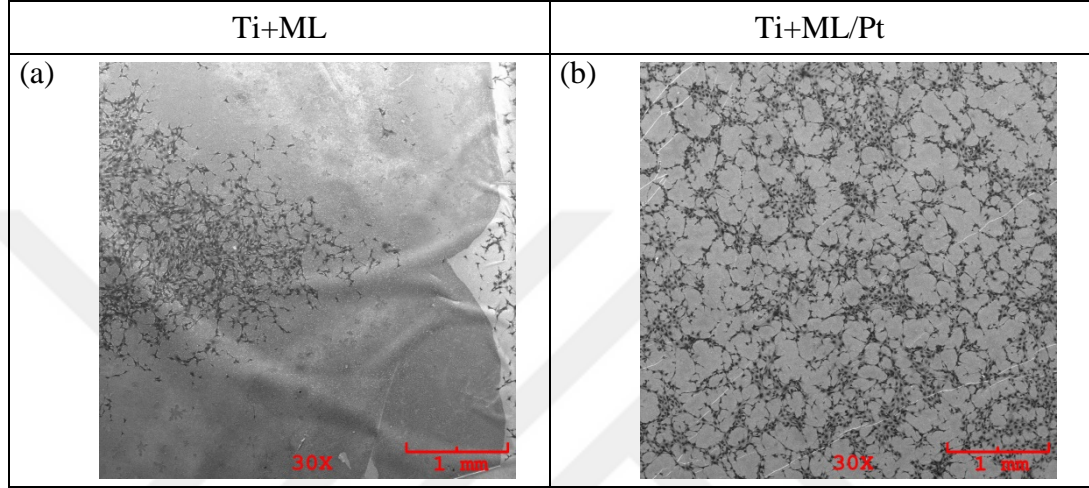
Şekil 4.87. Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, c) Ti+ML ve (b, d) Ti+ML/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri. Kırmızı ok ile hücre bölünmesi gösterilmiştir

Lamellipodia ve filopodia, hücrelerin kenarlarında yer alan çıkıntılı yapılardır. Lamellipodium ince tabaka şeklindeki çıkıntı olup dallanmış aktin ağları içermektedir. Bunun aksine, filopodia ince parmak şeklindeki yapılar olup sıkı (gergin, tight) paralel demetler şeklinde filamentous (F)-aktin içermektedir. İki durumda da, aktin filamanların hızlı büyüyen sivri uçları hücre zarına doğru yönelmektedir. Bu filamanların uzaması ile hücrenin ön kenarı ileriye doğru itilir ve hücrenin göçü veya yayılması bu şekilde desteklenir [227].

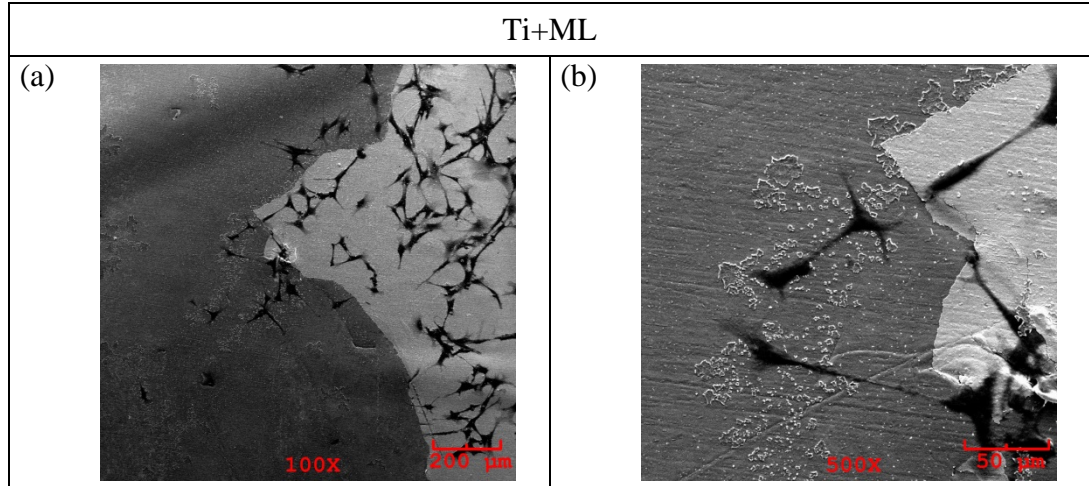
Filopodia, genelde lamellipodial aktin ağı içinde gömülü veya çıkıntılı olarak bulunmaktadır. Filopodia, hücre göçü yanında, yara iyileşmesi, hücre dışı matrikse yapışma, embriyonik gelişme gibi birçok hücrel süreçlerde yer almaktadır.

Ancak Ti+ML'de en üst Ag tabakanın kabarması, şişmesi ve hatta bazı bölgelerde kalkması, hücre yapışma ve yayılmasını olumsuz yönde etkilemiştir. Pt dope

edilmemiş Ti+ML'nin yüzeyinde bu tür oluşumlar gözlenirken Ti+ML/Pt'de görülmemiştir (Şekil 4.88). Bölüm 4.3'de anlatılan kaplamaların çözünme davranışı incelemelerinde, kaplamayı oluşturan tabakalarda eş zamanda birçok elektrokimyasal reaksiyonların gerçekleştiği belirtilmiştir. Bu elektrokimyasal reaksiyonlar sonucu, Ti+ML'de gözleendiği gibi üst tabakada bazı şişmeler, kabarmalar hatta soyulmalar ve kalkmalar gözlenmiştir (Şekil 4.89).

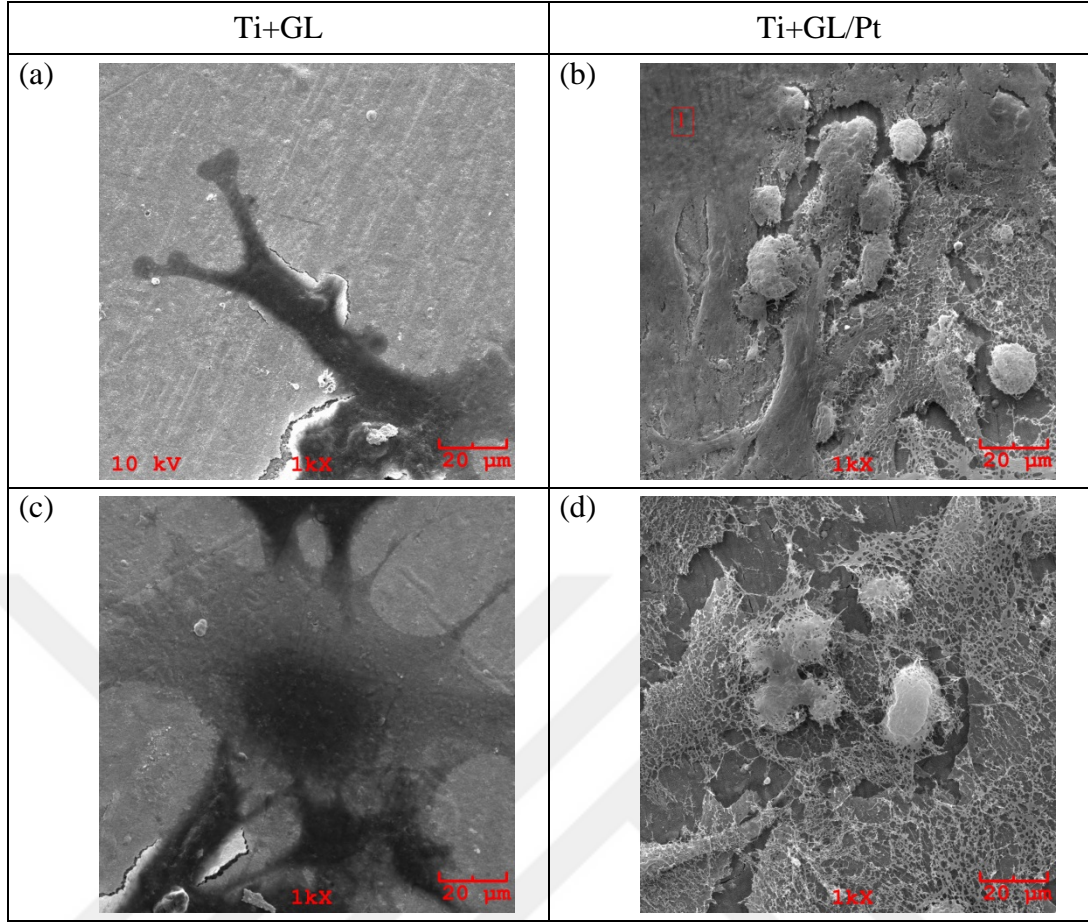


Şekil 4.88. Hücre ekiminden 72 saat sonra (a) Ti+ML'de üst tabakanın kabarması ve kalkması sonucu hücrelerin iki farklı bölgede toplanması gözlenirken (b) hücreler Ti+ML/Pt'nin yüzeyinde homojen bir şekilde yayılmıştır



Şekil 4.89. Hücre ekiminden 72 saat sonra (a ve b)Ti+ML'de en üst Ag tabakasının kalkmasının farklı büyütmelerde alınmış SEM görüntüleri

Ti+GL ve Ti+GL/Pt'nin daha büyük büyütmelerde ve karşılaştırmalı olarak SEM görüntüleri Şekil 4.90'da verilmiştir. Şekil'den de görüldüğü gibi Ti+GL, Ti+GL/Pt'den oldukça farklı bir hücre morfolojisi sergilemektedir.

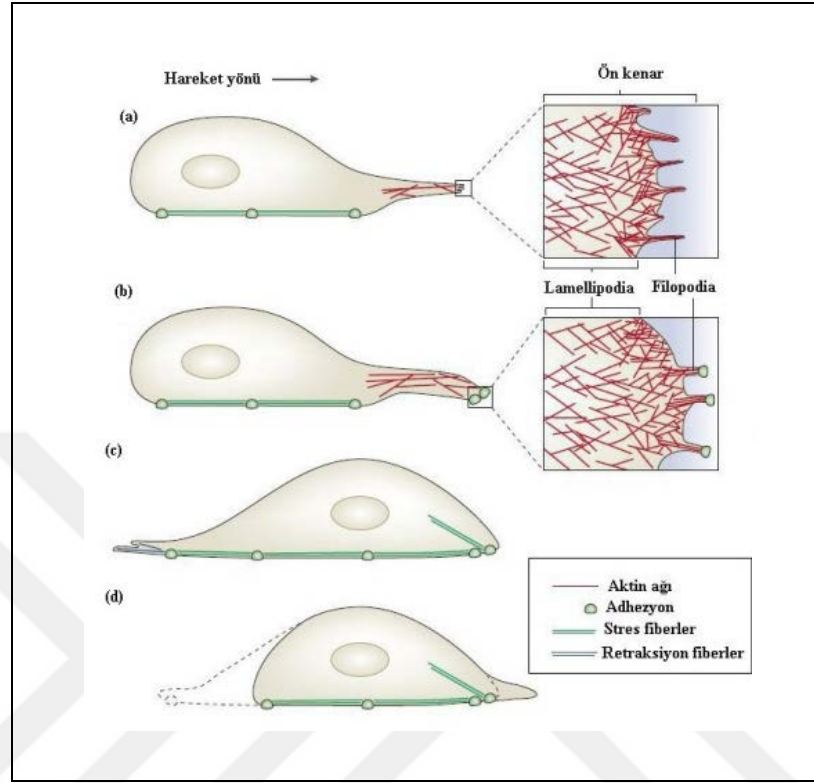


Şekil 4.90. Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, c) Ti+GL ve (b, d) Ti+GL/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin daha yüksek büyütmede alınan SEM görüntüleri

Ti+GL’de lamellipodia ve filopodia gelişimleri ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. Hücrenin çevresi ile bağlantı kuran filopodia, Ti+GL’nin yüzeyi ile etkileşerek hücre zarı ile çevrili sitoplazmanın, ince film şeklinde ana hücre iskeletinden dışarı doğru yayılmış ve sitoplazma ağını oluşturmuştur.

Daha önce belirtildiği gibi hücrel faaliyetlerin sürdürülebilirliği açısından önemli olan filopodia, çapları 100 ile 500 nm arasında değişen ve ortalama uzunlukları yaklaşık 10 mm olan uzun, iyi tanımlanmış şekile sahip, hücre yüzeyinden çıkan aktif tübüler yapılardır. “Anten” veya “dokunaç” olarak tanımlanmakta olan filopodia, hücrelerin mikro çevrelerini araştırmada kullanılmakta ve yayılma sırasında öncülük yapmaktadır [227]. Bunlar tekrarlı uzama-büzülme (elongation-retraction) hareket çevrimleri sayesinde hücrenin çevresini algulamakta ve etkileşim sağlamaktadır. Bu uzama-büzülme hareketleri yanında filopodia, ayrıca burulma

(buruşma, buckling) ve dairesel hareketler sergilemektedir [231]. Şekil 4.91 filopodia'nın hücre göçü sırasındaki işlevini göstermektedir.

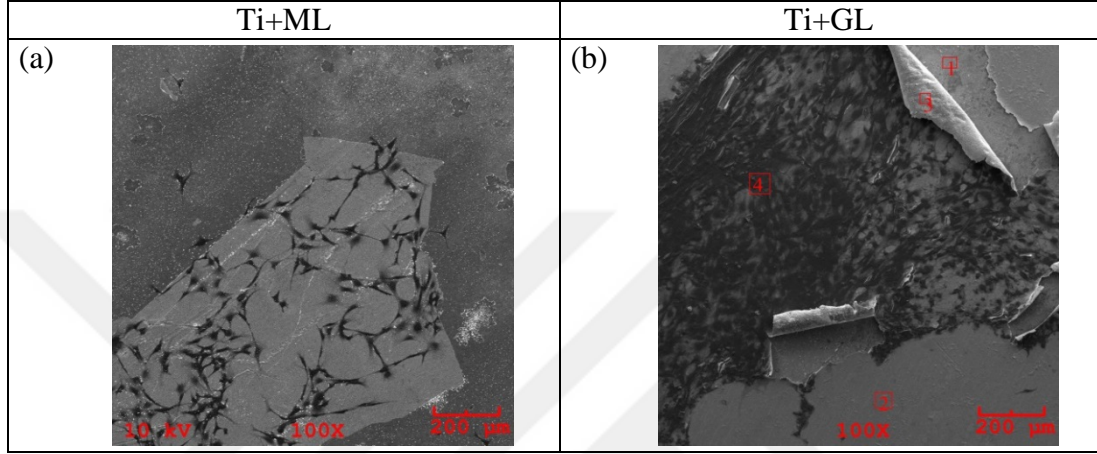


Şekil 4.91. Filopodia'nın hücre göçü sırasındaki işlevi [229]

Hücre göçü farklı aktin filaman yapılarına bağlı olup hareket, hücrenin ön kenarında bulunan lamellipodia ve filopodia'dan oluşan aktine bağımlı çıkıntılar tarafından başlatılmaktadır (Şekil 4.91a). Bu çıkıntılı yapılar, plazma zarına doğru yönlenmiş uzamış iğneli aktin filamanlar içermektedir. Hücresel yayılma sırasında, ön kenarda malzeme ile yeni adezyon noktaları oluşmaktadır (Şekil 4.91b). Daha sonra, malzemeye tutunmayı sağlayan, fokal adezyona bağlı stres fiberleri tarafından sağlanan aktomisin esaslı kasılma (büzülme) kuvveti ile hücre iskeleti (kütlesi) ve çekirdek ileriye doğru taşınmaktadır (Şekil 4.91c). Retraksiyon (geri çekilme, büzülme) fiberleri, hücrenin arkasını öne doğru çekerler. Hücrenin arkasındaki adezyonlar yerinden kalkmakta (sökülmekte) ve arka kenar öne doğru çekilmektedir (Şekil 4.91d).

Filopodia, keşif amaçlı yaptığı hareket ile büyüme sırasında kuvvet uygulayabilmektedir. Filopodia tarafından uygulanan bu kuvvet elastik özelliğinden kaynaklanmaktadır. Bir filopodium bir engelle çarptığı zaman, o engelin (nesne,

cisim) kimyasal özelliklerini ve mekanik direncini, boyutunu algılayabilmektedir [232]. Çeşitli hücrelerin mekanik olarak tepki veren davranışları üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Farklı elastik modüllere sahip doku iskelesi üzerine yapılan araştırmalarda, yüzeye yapışmış hücrelerin uyguladığı çekme kuvvetleri nedeniyle iskeleyi deforme ettikleri görülmüştür [233]. Miyozin kaynaklı her bir fokal yapışma için çekme kuvvetinin 1 ile 30 nN arasında değiştiği belirtilmiştir [233].

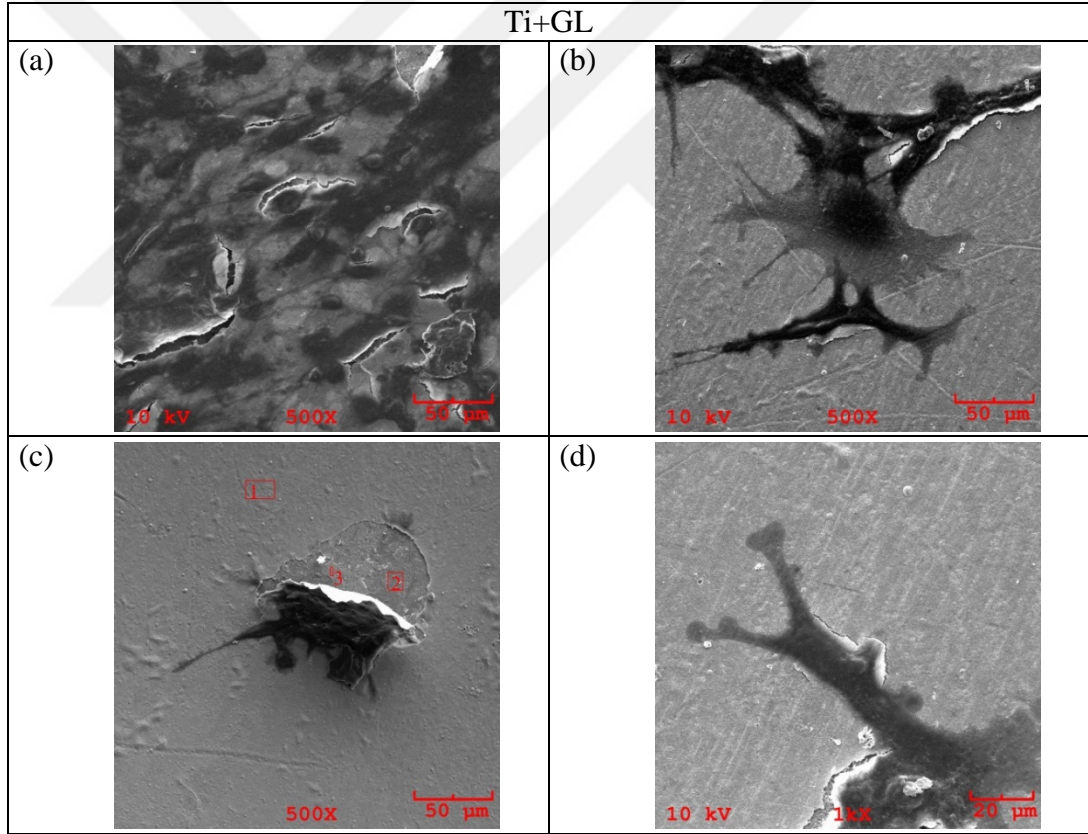


Şekil 4.92. Hücre ekiminden 72 saat sonra (a) Ti+ML ve (b) Ti+GL kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri

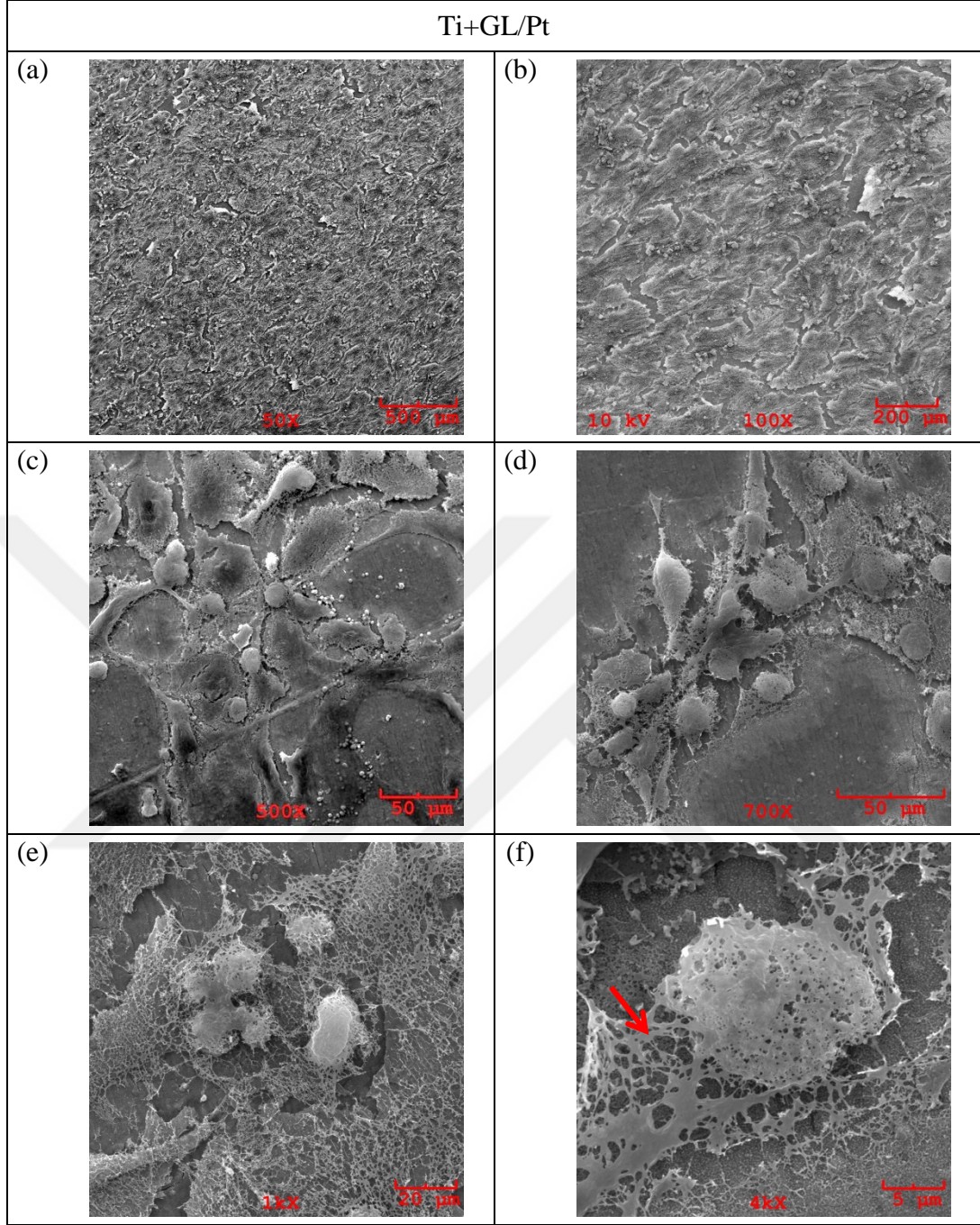
Ti+GL'in üst tabakasında, özellikle lamellipodia ve filopodia kenarlarında, bazı çatlamlar belirlenmiştir (Şekil 4.90a ve c). Ti+GL'nin üst tabakasındaki bu çatlamlar, Ti+ML'deki üst tabakanın kalkmasından oldukça farklı görünümündedir. (Şekil 4.92).

Bölüm 4.3'de detaylı bir şekilde anlatıldığı gibi tabakaları oluşturan elementlerden biyolojik ortamda ilk çözünen çok düşük elektropotansiyeli nedeniyle Mg'dur ve Ag ile birlikte bir galvanik korozyon hücresi oluşturmaktadır. Bilindiği gibi elektrokimyasal reaksiyonlarında anot ve katot yüzey alanı oranı çözünmeyi (korozyonu) etkilemektedir. Ti+ML'nin kaplama mimarisi Ti+GL'den farklı olduğundan (Şekil 3.2 ve 3.3) Ag ve Mg'un oluşturdukları galvanik hücrede elektrot yüzey alanları farklıdır. Ti+ML'de tabakaların oluşturduğu arayüzeyinde Mg (anot) ve Ag (katot) yüzey alanı eşittir. Ancak Ti+GL'de Mg miktarı, yüzeyden derinliğe doğru artmakta ve anot-katot yüzey alanı oranı sabit olmayıp yüzeye doğru azalmaktadır. Dolayısıyla Ti+ML'de elektrokimyasal reaksiyon sonucu arayüzeyde oluşan hacimsel büyüme Ti+GL'ye göre daha büyük olacak ve nihai olarak en üst

tabakadaki şişme daha fazla olacak ve nihai olarak kalkacaktır. Hücrenin duyargası olarak görev yapan filopodia bu şişmeleri, kalkmaları bir engel olarak algılayabilmektedir. Bu da hücrenin, yapışma, yayılma ve göç etme gibi hücrel faaliyetlerini kısıtlaması anlamına gelmektedir. Ti+GL'de ise arayüzeyde elektrokimyasal reaksiyon sonucu oluşan hacimsel büyüme daha küçük olduğundan en üst tabakadaki şişme daha küçük olmakta, ancak arayüzey yine zayıflamaktadır. Kaplama yüzeyleri üzerinde bulunan filopodia, çevresine keşif amaçlı yaptığı hareketler sırasında ve hücre göçü sırasında lamellipodia ile birlikte uyguladığı kuvvet nedeniyle daha az kalınlıkta ve mekanik olarak daha zayıf olan üst tabakayı muhtemelen kaldırmaktadır (Şekil 4.93). Çünkü daldırma testinde en uzun sürelerde dahi Ti+GL'de herhangi bir kalkmaya rastlanmamıştır.



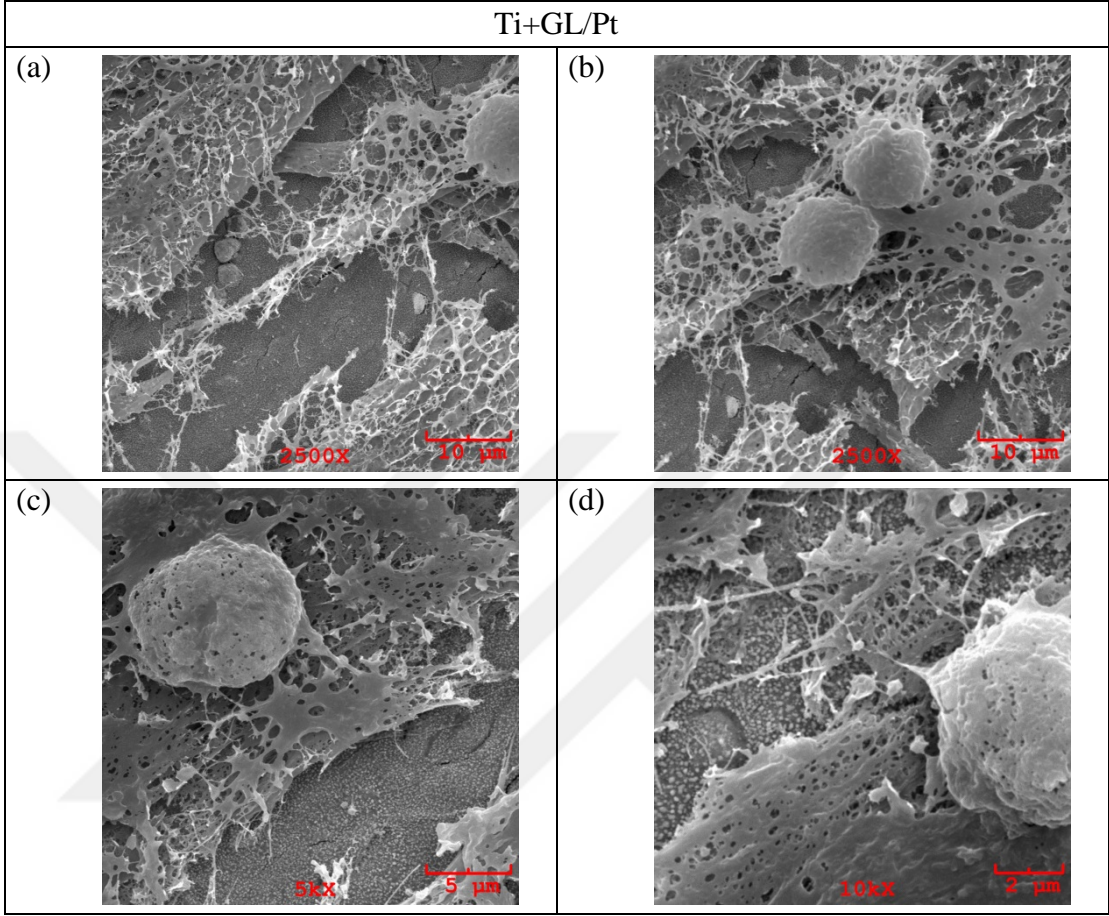
Şekil 4.93. Hücre ekiminden 72 saat sonra Ti+GL kaplamanın yüzeyinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri



Şekil 4.94. Hücre ekiminden 72 saat sonra Ti+GL/Pt kaplamanın yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri. Kırmızı ok ile kolajen yapı gösterilmiştir

Daha önce de belirtildiği gibi Ti+GL/Pt, diğer kaplamalara göre farklı hücre morfolojisi sergilemektedir (Şekil 4.86). Şekil 4.94 ve Şekil 4.95’de farklı büyütmelerde alınmış daha detaylı SEM görüntüleri verilmiştir. MC3T3-E1 hücrelerinin, Ti+GL/Pt yüzeyinde çoğalarak yüzeyin tamamını kaplayacak şekilde hücre dışı matriksini (ECM) oluşturduğu gözlenmiştir. Burada ayrıca ECM’nin

üzerinde fiberli yapılar gözlenmektedir. Bunlar MC3T3-E1 hücrelerinin salgıladığı ECM'dir (muhtemelen kolajen tip I).



Şekil 4.95. Hücre ekiminden 72 saat sonra Ti+GL/Pt kaplamanın yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri

Kemik diğer dokulardan farklı bir yapıda olup %90'nını kolajen oluşturmaktadır [234]. Kemik dokusunun oluşumu sürecinde, hücre çoğalması ile birlikte osteoblast hücreler önce kolajen tip I sentezlemektedir. Kolajen tip I, matriksin mineralizasyonundan önce üretilmekte olup ECM'nin önemli proteinlerindedir [235]. Doğal kemik dokusunda kolajen fiberleri (collagen fibrils) biyomineralizasyon için bir yapı iskelesi olarak görev yapmaktadır.

Hücre dışı matriks (ECM), hücrenin mikro ortamını oluşturan yapı olup hücre zarı, kemik ve kıkırdak gibi *in vivo* birçok dokunun hacmini, şeklini ve mukavemetini oluşturur. Hayvan hücrenin birçoğu *in vitro* olarak yüzeye ancak ECM vasıtasıyla tutunabilirler.

ECM, çeşitli hücre yüzeyi büyüme faktörü reseptörleri ve integrinler gibi adezyon molekülleri tarafından gönderilen sinyal olaylarına mekansal ortamı sağlar.

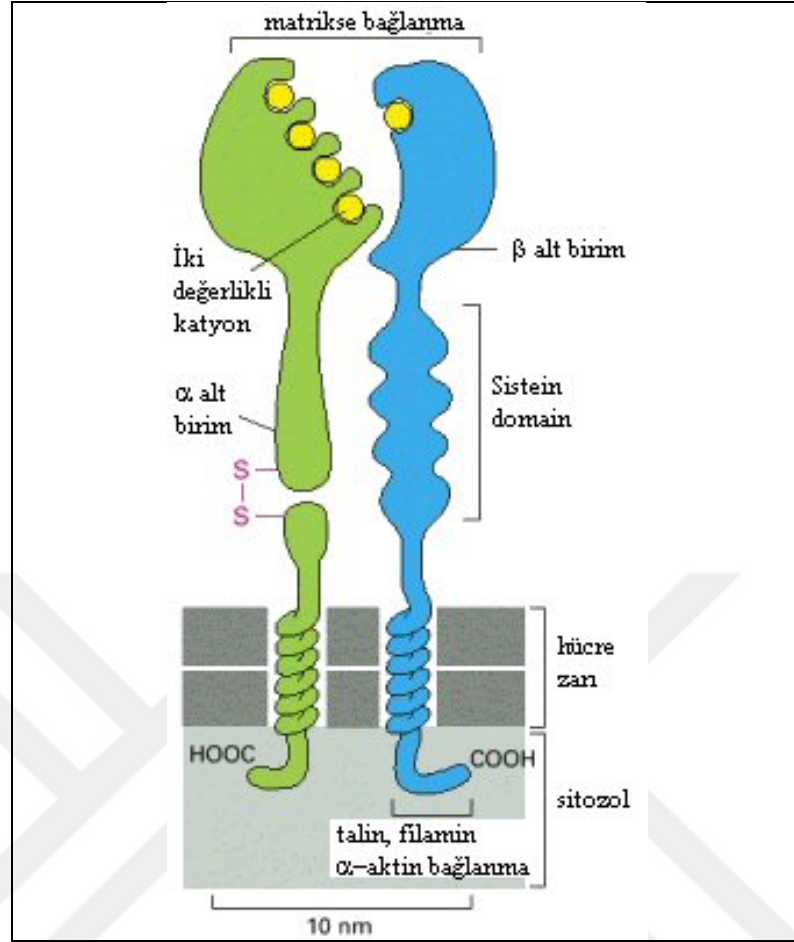
Hücrelerin bir malzeme yüzeyine adezyonu ve daha sonraki başarısı vitronektin, fibronektin, kolajen, laminin ve fibrin gibi ECM moleküllerinin vasıtasıyla gerçekleşmektedir [70]. Bu moleküller, hücre kültür ortamı, kan veya hücre içi sıvısı gibi biyolojik sıvılardan malzeme yüzeyine kendiliğinden adsorbe olmaktadır. Bu moleküllerin özel aktif yerleri, hücrelerin adezyon reseptörleri (genelde integrinler) tarafından tanınmakta ve bağlanmaktadır.

ECM proteinleri ve yapıları, hücre içi iskeleti ve büyüme faktörü sinyal iletimi vasıtasıyla hücre davranışı, polarite, migrasyon, farklılaşma, çoğalma ve canlılık gibi olguları belirleyebilmektedir. Integrinler ve proteoglikanlar (proteoglycans) en önemli ECM adezyon reseptörleri olup sinyal iletiminde görev yaparak sinyal çıktılarını ve böylece hücrenin gelişimini belirlemektedir [236].

Hücre dışı matriksinin hücreye bağlanması, matriks reseptörleri olarak görev yapan transmembran hücre yapışma proteinlerini gerektirir ve matriksi hücre iskeletine bağlar. Hayvan hücrelerinde, çoğu hücre dışı matriks proteinlerine (kolajenler, fibronektin ve lamininler) bağlanan başlıca reseptörler integrinlerdir. İntegrinler, hücrelerin hücre dışı matrikse bağlanması için kullanılan ana reseptör proteinlerdir. Bir integrin molekülü, α ve β olmak üzere nonkovalent olarak bağlı iki transmembran glikoprotein alt biriminden oluşur (Şekil 4.96).

İntegrinlerin ilgili ligandlarına bağlanması, hücre dışı divalent katyonlara (integrine bağlı olarak Ca^{+2} veya Mg^{+2}) bağlı olup α ve β alt ünitelerinin hücre dışı kısmında iki değerlikli katyon-bağlayıcı alanların varlığını yansıtır.

Bir integrinin matriksteki ligandına bağlanmasından sonra, β alt biriminin sitoplazmik kuyruğu talin, α -aktinin ve filamin gibi birçok hücre içi proteinine bağlanır. Bu proteinler, doğrudan aktin veya vinculin gibi diğer proteinlere bağlanabilir. Böylece integrin, hücre zarındaki aktin filamentlerle bağlanabilir. İdeal durumlarda, bu bağlantı integrinlerin kümelenmesine ve hücre ile hücre dışı matriks arasında fokal yapışmalarına neden olur.



Şekil 4.96. Bir integrin hücre-yüzey matris reseptörünün alt-birimi yapısı [237]

İntegrinler ayrıca sinyal dönüştürücüler (transducer) olarak görev yapmakta ve matrikse bağlanmaları ile aktive edilerek çeşitli hücre içi sinyalleri harekete geçirirler. İntegrinler, konvansiyonel sinyalleme reseptörleri ile birlikte hareket (işbirliği yaparak) ederek genelde hücre büyümesi, hücre canlılığı ve hücre çoğalmasını teşvik ederler [237].

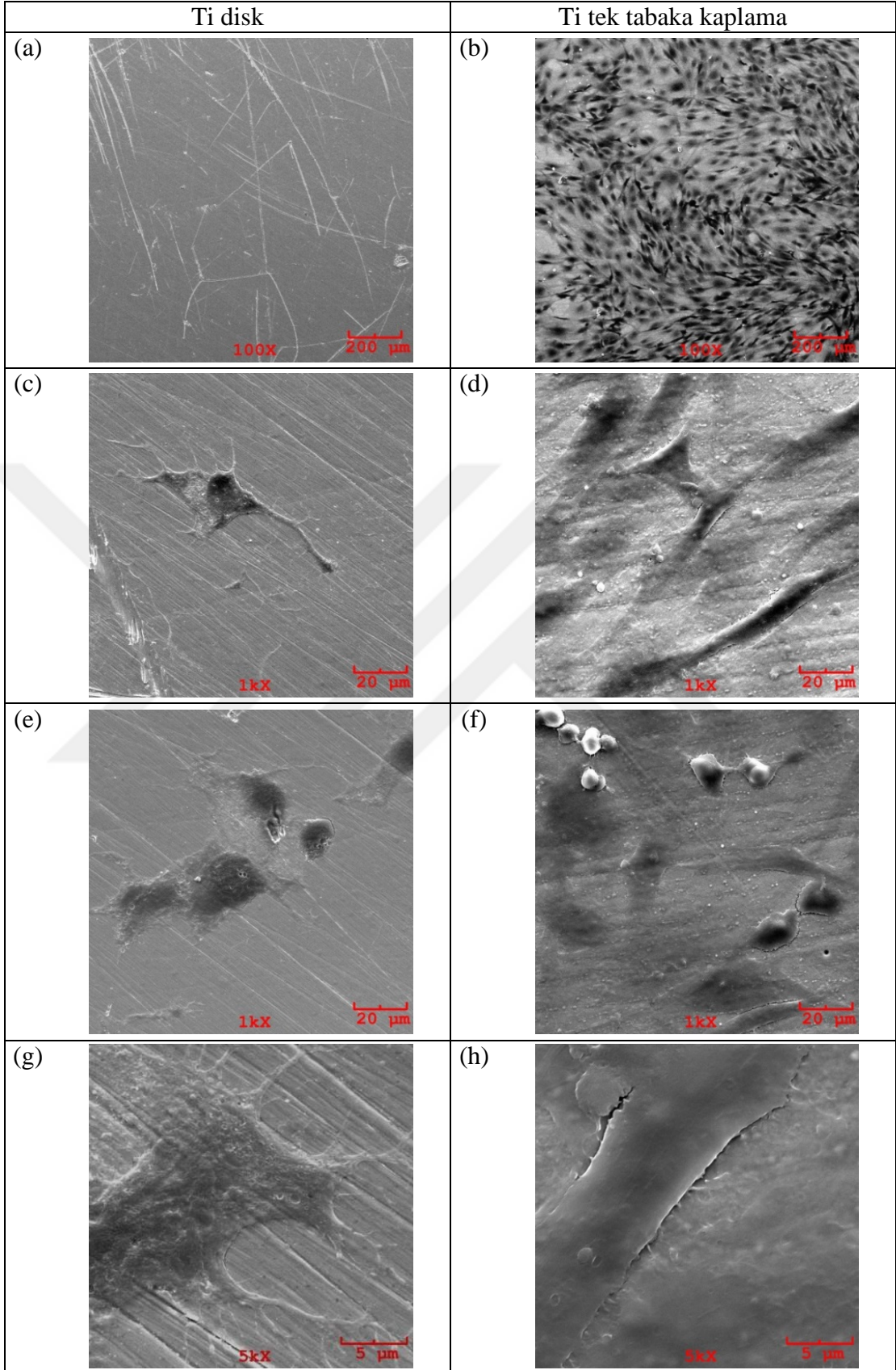
Her dört kaplama yapısında da Mg bulunmaktadır. Yüksek biyoresorpsiyon ve osteokondüktivite gösteren, biyoaktif, kemik oluşumunu teşvik eden Mg osseointegrasyonu geliştirmesi amacıyla kaplamalarda kullanılmıştır. Mg'nin osteojenik etkisini değerlendirmek için birçok çalışma yapılmıştır. Mg iyonlarının MC3T3-E1 hücre yayılımı ve çoğalması üzerinde olumlu bir etkisi olduğu görülmüştür [238]. Başka bir çalışmada yine, Mg iyonlarının MC3T3-E1 hücrelerinin farklılaşmasını tetiklediği ve daha hızlı bir osseointegrasyona katkıda bulunduğu belirlenmiştir [235]. Ayrıca, osteoblast hücre canlılığının, Mg iyonlarının

konsantrasyonu ve maruz kalma süresi ile olumlu bir şekilde ilişkili olduğu ve yüksek konsantrasyonlarda osteoblastların canlılığı üzerine daha fazla etkisi olduğu görülmüştür. Ortamdaki Mg iyonu, hücre canlılığını ve osteojenik farklılaşmayı geliştirmiştir [239].

Kaplamaların çözünme davranışını incelemek amacıyla yapılan daldırma testlerinde (bkz. Bölüm 4.3), kaplamalardan farklı miktarlarda Mg iyonunun çözündüğü görülmüştür. En fazla Mg iyonu Ti+GL/Pt'de görülmüştür. Bu da artan Mg iyonu ile Ti+GL/Pt'deki ECM oluşumunun tetiklendiği, diğer kaplamalara göre hücre gelişiminin daha ileri safhalarda olduğu ve böylece daha hızlı bir osseointegrasyona katkıda bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.94 ve 4.95).

Kaplamaların osteokondüktif özelliklerini karşılaştırmak amacıyla, genelde implant malzeme üretiminde kullanılan Ti (grade 2) disk numunesi de (elektro parlatılmış konumda) aynı koşullar altında incelenmiş ve Ti tek tabakalı kaplama ile karşılaştırılmıştır.

Ti disk ve Ti tek tabakalı kaplamanın yüzeylerinde MC3T3-E1 hücrelerinin 72 saat sonraki morfolojik incelemelerinin SEM görüntüleri Şekil 4.97'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şekil 4.97c ve e'den de görüldüğü gibi Ti disk yüzeyinde az sayıda hücre adezyonu belirlenmiştir. Sayıca az olmasına rağmen hücrelerin yapışması ve yayılması oldukça iyidir. Ti yüzeyinde, yüzey hazırlama aşamalarından gelen makro boyutta parlatma izleri görülmektedir (Şekil 4.97a). Hücre-malzeme etkileşiminin bir göstergesi olan lamellipodia ve filopodia oluşumları burada da belirlenmiştir. Uzun ve dallanmış filopodia oluşumları yapışma ve yayılmanın iyi olduğunu göstermektedir. Tutunan hücre sayısı az olduğundan hücre-hücre etkileşimi, birbirine yakın olan birkaç hücrede görülebilmektedir (Şekil 4.97e).



Şekil 4.97. Hücre ekiminden 72 saat sonra (a, c, e, g) Ti disk ve (b, d, f, h) Ti+ML/Pt kaplamaların yüzeylerinde bulunan MC3T3-E1 hücrelerinin SEM görüntüleri

Ti disk malzemesinin aksine, Ti kaplanmış PEEK üzerinde hücre oldukça fazla tutunmuş ve yüzeyi tamamen kaplayarak yüzeye yapışık tek tabaka geliştirmiştir. Ti kaplama üzerine yapışan hücreler daha fazla ECM oluşturmuşlardır (Şekil 4.97b). Hücrelerin birçoğu uzamış yassılaştırmış ve düzlemsel büyüme göstermiştir (Şekil 4.97d). Bu da hücre yayılma sürecinin daha hızlı gerçekleştiğini göstermektedir [240]. Osteoblast hücreleri, Ti kaplama yüzeyinde bulunan mikron-altı (nanoboyutlu, bkz Bölüm 4.1 AFM görüntüleri) pürüzlülükler ile etkileşmektedir. Yüksek büyütmede alınan görüntülerde görüldüğü gibi bu durum hücre tutunmasını, yayılmasını hatta bölünmesini olumlu yönde etkilemekte ve geliştirmektedir. Özellikle Şekil 4.97d, f ve h'de belirgin şekilde görülen lamellipodia ve filopodia, hücre-malzeme ve hücre-hücre etkileşiminin iyi olduğunu göstermektedir. Ayrıca hücre bölünmesi ve göçü gibi hücre faaliyetlerinin meydana geldiği Şekil 4.97f'de görülmektedir.

Yapılan birçok çalışmada bir biyomalzemenin yüzey özelliklerinin biyouyumluluk açısından çok önemli olduğu gösterilmiştir. Topografi, yüzey kimyası ve ıslatılabilirlik gibi yüzey özellikleri biyomalzemenin hücre ile etkileşimini doğrudan belirlemektedir [241]. Hücrelerin ve ECM'in etkileşimleri yapışma (adezyon), yayılma (proliferasyon) ve farklılaşma (differansiyasyon) gibi hücre yanıtlarını direkt olarak etkilemektedir [241]. Böylece, biyomalzemelerin yüzey özellikleri kemik-biyomalzeme arayüzeyinde gerçekleşen hücre yanıtı açısından önemli bir rol oynamakta ve osseointegrasyon sürecini etkilemektedir. Konvansiyonel boyutlu topografiye sahip biyomalzemeler ile karşılaştırıldığında nanotopografinin, direkt (hücre-yüzey etkileşim) ve indirekt (protein-yüzey etkileşim) mekanizmalar ile hücre davranışını geliştirdiği görülmüştür. Pertometre ile belirlenen Ti diskin yüzey pürüzlülüğü $0,08 \pm 0,01 \mu\text{m}$ iken, AFM ile belirlenen Ti kaplamanın ki $9,98 \text{ nm}$ 'dir. Nanotopografiye sahip Ti tek tabaka kaplamada hücreler daha iyi tutunabilmiştir. Protein-yüzey etkileşimi daha kuvvetli olmuştur. Titanyum diskte ise az sayıda hücre tutunmasına rağmen tutunan hücrelerde yapışmanın ve yayılmanın iyi olduğu görülmüştür. Bu da hücre-biyomalzemedeki ilk etkileşim olan protein-yüzey etkileşiminin nanotopografi ile geliştiğini göstermektedir.

Bilindiği gibi, sahip olduğu mekanik özellikleri ve kemikteki biyolojik başarısı nedeniyle Ti, implant uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak Ti'un

implant olarak başarısı büyük ölçüde yüzey pürüzlülüğü, yüzey kimyası ve ıslatılabilirlik gibi yüzey özelliklerine bağlıdır [242]. Ti yüzeyinde mikroboyutta yüzey modifikasyon uygulamaları ile *in vitro* osteoblastik farklılaşma ve *in vivo* osseointegrasyonun daha düz, pürüzsüz yüzeylere göre geliştirildiği görülmüştür [243, 244, 245]. Son zamanlarda yapılan hem *in vitro* [246] hem de *in vivo* [247] çalışmalar, kemiğin yapısını daha iyi taklit etmek amacıyla yüzeylere oluşturulan nano boyuttaki topografinin kemik oluşumu için biyolojik önem teşkil ettiğini göstermiştir. Özellikle nanopürüzlülüğün fokal yapışma noktaları oluşturduğu Ti+GL/Pt’de görülmüştür (Şekil 4.94 ve 4.95).

Diğer bir yüzey özelliği olan ıslatılabilirlik, osseointegrasyon açısından önemli bir özelliktir. İmplantın vücut sıvısı ile temas etmesi ile osseointegrasyon süreci başlamaktadır. İmplant yüzey ıslatılabilirliği (hidrofobisite veya hidrofilsite) bu osseointegrasyon sürecinin ilk basamağı olan protein adsorpsiyonunu etkileyerek bir sonraki hücre adezyonunu kontrol etmektedir. Birçok çalışmada, hidrofilik yüzeylerin kemik oluşumunu teşvik edici uygun ortamlar sağladığı belirlenmiştir [248, 249]. Ancak başka bir çalışmada, geliştirilmiş osteoblast hücre cevabı üzerine nano topografinin ıslatılabilirliğe göre daha etkin olduğu görülmüştür [242].

Kaplamaların ıslatılabilirlik özelliklerinin MC3T3-E1 hücrelerinin adezyonuna, çoğalmasına ve yayılmasına etkisini görebilmek için su temas açısı ölçümleri, asılı damla (sessile drop) yöntemi kullanılarak, Attention Theta Lite tensiyometre cihaz ile oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Örneklerde su temas açısı ölçümleri

Örnekler	Su temas açısı (°)
PEEK	63,56 ± 0,84
Titanyum disk (Grade 2)	68,24 ± 2,13
Ti	90,06 ± 0,39
ML	91,98 ± 2,85
ML/Pt	85,99 ± 6,29
GL	104,67 ± 2,46
GL/Pt	98,99 ± 1,97

Tablodan da görüldüğü gibi PEEK ve Ti disk hidrofilik iken kaplamalar daha hidrofobik bir özellik sergilemektedir. Literatürdeki birçok çalışma, genelde hidrofilik yüzeylerin hidrofobik yüzeylere göre hücre-malzeme etkileşimini artırdığı yönündedir. Ancak bu çalışmada, tam tersi bir etki görülmüştür. Daha hidrofilik olan Ti diskde hücre adezyonu çok az belirlenirken, daha hidrofobik olan Ti kaplamada hücreler tamamen yüzeyi kaplamıştır. Yine daha hidrofobik olan Ti+GL/Pt'de hücresel gelişimin diğer kaplamalara göre daha hızlı olduğu görülmüştür. Bu da, nanotopografinin ıslatılabilirliğe göre hücre cevabı üzerinde daha etkin bir rol oynadığını göstermektedir.

4.4.3. Sitotoksosite testi

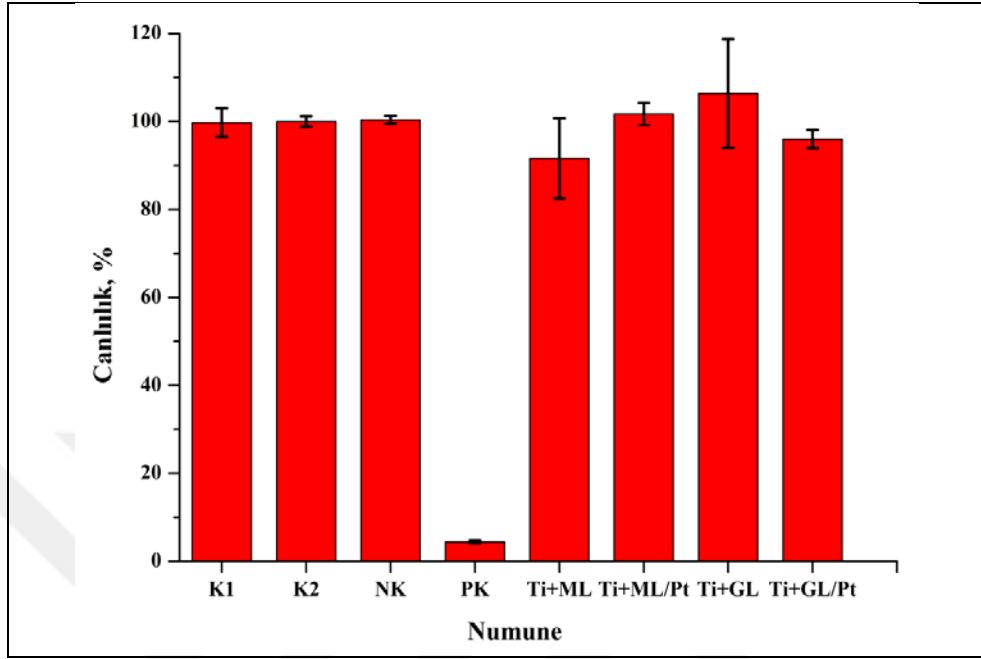
Sitotoksosite testleri TÜBİTAK tarafından "Medikal ürünlerin biyolojik değerlendirilmesi: ISO 10993-5 Tests for in vitro sitotoksosite" standardı dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Numunelerin L929 fare hücre soyu üzerinde sitotoksosite etkisi hem nitel (kalitatif) hem de nicel (kantitatif) olarak ekstraksiyon yöntemi ile yapılmıştır. Kontrol ve kaplama numunelerinden alınan ekstraktlarla kültüre edilmiş L929 fare hücrelerinin 24 saat sonrasında Tablo 3.2'e göre yapılan nitel analiz sonucu Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17. Kontrol ve kaplama numunelerinin sitotoksosite derece sonuçları

Numune	Sitotoksosite derecesi
Kontrol 1, DMEM-F12 fresh	0
Kontrol 2, DMEM-F12 ekstrakt	0
Negatif Kontrol , RAUMEDIC-SIK 8363	0
Pozitif Kontrol, RAUMEDIC PVC Org Sn	4
Ti+ML	0
Ti+ML/Pt	0
Ti+GL	0
Ti+GL/Pt	0
Kaplanmamış PEEK	0

Tablo 3.2'de verilen değerlendirme kriterlerine göre L929 hücre kültürü 24 saat örneklerin ekstraktına maruz bırakılarak kontrole göre hücre ölümüne sebep olma potansiyeli, WST-1 hücre canlılığı analizi ile incelenmiştir. Biyoyumluluk kapsamında yapılan ISO 10993-5 sitotoksosite testi sonucunda kontrole göre hücre canlılığı Ti+ML için %91,59±9,15, Ti+ML/Pt için %101,69±2,56, Ti+GL için

%106,38±12,37, Ti+GL/Pt için %95,98±2,07 ve kaplamasız PEEK için %95,52±2,88 olarak bulunmuştur (Şekil 4.98).



Şekil 4.98. Örneklerden hazırlanan ekstraktlar ile yapılan canlılık analizleri.

Nitel ve nicel sitotoksite testi sonucuna göre analiz edilen kaplamasız PEEK ve kaplamalarda herhangi bir sitotoksik etki görülmemiştir.

4.4.4. Genotoksisite testi

Yapılan tüm yüzey analizleri, antibakteriyel test ve osteokondüktivite incelemelerine göre en iyi sonucu veren Ti+GL/Pt kaplamaya genotoksisite testi uygulanmıştır.

Bakteriyel geri mutasyon testi, *S. Typhimurium* TA1535, TA97a, TA98, TA100 ve TA102 suşlarında numunenin mutajenisitesini değerlendirmek üzere metabolik aktivasyon sisteminin varlığında ve yokluğunda "standart plate incorporation yöntemi"ne göre gerçekleştirilmiştir. Her bir suş için negatif (PBS) kontrolün S9 (+) örnekleri, pozitif (mutajen) kontrolün S9 (-) örneği, eğer metabolik aktivasyona uğrayan bir mutajen ise pozitif kontrolün S9 (+) örneği ve numunenin S9 (+/-) örnekleri hazırlanmıştır. Örnekler histidin/biotin içeren top agar ile karıştırıldıktan sonra minimal glikoz agar plate'lere dökülmüştür. Analize ait tüm plateler 37°C'deki inkübatörde 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Analiz tüm örnekler için iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrası her bir plate'de oluşan

revertant (geri mutant) koloniler gözle sayılmıştır. Her bir duplike çalışmaya ait ortalama koloni sayısı belirlenmiştir. Her bir suş için spontan geri mutant frekansı (kendiliğinden geri mutasyona uğrama sıklığı) belirlenmiş olup, geri mutant koloni sayıları Tablo 4.18’de verilmiştir. Test edilen suşların numune ve kontrollerdeki geri mutant kolonilerine ait elde edilen sonuçlar Tablo 4.19-4.23’de’de sunulmuştur.

Tablo 4.18. *S.typhimurium* suşlarına ait spontan geri mutant koloni sayıları

Suş	Spontan Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #1	Spontan Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #2	Ortalama Spontan Geri Mutant Koloni Sayısı ve Standart Sapma
<i>S.typhimurium</i> , TA1535	16	14	15±1,41
<i>S.typhimurium</i> TA97a	81	105	93±16,97
<i>S.typhimurium</i> TA98	26	24	25±1,41
<i>S.typhimurium</i> TA100	62	83	72±14,84
<i>S.typhimurium</i> TA102	642	633	637±6,36

Tablo 4.19. TA1535 suşu'na ait sonuçlar

TA1535 Suşu	S9	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #1	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #2	Ortalama Geri Mutant Koloni Sayısı ve Standart Sapma
Numune	+	17	17	17±0,00
Numune	-	8	12	10±2,82
2-Aminoanthracene	+	155	151	153±2,82
2-Aminoanthracene	-	10	21	15±7,77
Sodium Azide	-	650	665	657±10,60
Negatif kontrol (PBS)	+	19	22	20±2,12
Negatif kontrol (PBS)	-	15	17	16±1,41

Tablo 4.20. TA97a suşu'na ait sonuçlar

TA97a Suşu	S9	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #1	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #2	Ortalama Geri Mutant Koloni Sayısı ve Standart Sapma
Numune	+	146	124	135±15,55
Numune	-	84	81	82±2,21
2-Aminoanthracene	+	2528	2571	2549±30,40
2-Aminoanthracene	-	106	118	112±8,48
ICR 191 Acridine	-	649	659	654±7,07
Negatif kontrol (PBS)	+	140	146	143±4,24
Negatif kontrol (PBS)	-	124	123	123±0,70

Tablo 4.21. TA98 suşu'na ait sonuçlar

TA98 Suşu	S9	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #1	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #2	Ortalama Geri Mutant Koloni Sayısı ve Standart Sapma
Numune	+	21	31	26±7,07
Numune	-	19	19	19±0,00
2-Aminoanthracene	+	3372	3396	3384±16,97
2-Aminoanthracene	-	43	56	49±9,19
Benzo(a)pyrene	+	414	428	421±9,89
Benzo(a)pyrene	-	23	24	23±0,70
Daunomycin	-	850	864	857±9,89
Negatif kontrol (PBS)	+	45	42	43±2,12
Negatif kontrol (PBS)	-	40	39	39±0,70

Tablo 4.22. TA100 suşu'na ait sonuçlar

TA100 Suşu	S9	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #1	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #2	Ortalama Geri Mutant Koloni Sayısı ve Standart Sapma
Numune	+	65	84	74±13,43
Numune	-	67	73	70±4,24
2-Aminoanthracene	+	4812	4856	4834±31,11
2-Aminoanthracene	-	126	76	101±35,35
Benzo(a)pyrene	+	926	942	934±11,31
Benzo(a)pyrene	-	128	96	112±22,62
Sodium Azide	-	786	795	790±6,36
Negatif kontrol (PBS)	+	75	73	74±1,41
Negatif kontrol (PBS)	-	76	95	85,5±13,43

Tablo 4.23. TA102 suşu'na ait sonuçlar

TA102 Suşu	S9	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #1	Geri Mutant Koloni Sayısı Plate #2	Ortalama Geri Mutant Koloni Sayısı ve Standart Sapma
Numune	+	677	682	682±7,77
Numune	-	505	571	571±94,04
2-Aminoanthracene	+	1264	1273	1273±12,72
2-Aminoanthracene	-	469	475	475±9,19
Mitomycin C	-	1824	1835	1835±16,26
Negatif kontrol (PBS)	+	648	649	649±1,41
Negatif kontrol (PBS)	-	520	581	581±86,26

İnkübasyon sonrası, fenotipik doğrulama plate'lerinde testte kullanılan *S.Typhimurium* suşlarının genotipleriyle uyumlu fenotipler elde edilmiştir. Minimal glikoz agar plate'lerde büyüyen His+ geri mutantlar kolaylıkla sayılmıştır. Beş ayrı *S. typhimurium* suşu ile elde edilen bulgular dikkate alındığında; spontan ve negatif kontrole kıyasla numuneye ait His+ geri mutant koloni sayısında iki ve üstü kat artış gözlenmediğinden numunenin AMES testi negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. Buna göre test edilen deney koşulları altında ve kullanılan bakteri şuşlarında Ti+GL/Pt kaplamanın mutasyon oluşturmadığı (mutajenik olmadığı) belirlenmiştir.

4.5. In vivo Biyolojik Değerlendirmeler

4.5.1. Deri içi iritasyon testi

Deri içi iritasyon testi “ISO 10993-10: 2010 Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity” uluslararası protokolünün “Annex B” kısmında açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bunun dışında, “ISO 10993-2: 2006 Animal Welfare Requirements” ve “ISO-10993-12: 2012 Sample Preparation and Reference Materials” standartları da dikkate alınmıştır.

Test edilen numune ve kontroller için skor değeri hesaplanırken her gözlem zamanı için elde edilen kızarıklık ve ödem değerleri toplanıp 15'e (3 gözlem zamanı x 5 gözlem bölgesi) bölünür. Test ve kontroller için genel ortalama skor, elde edilen skor değerinin hayvan sayısına yani 3'e bölünmesiyle elde edilir. Son test örneği skoru ise eğer kontrol için bir değer elde edilmiş ise bu değer test örneği için elde edilen skordan çıkarılması ile elde edilir.

Eğer herhangi bir gözlem periyodunda test örneklerine ait ortalama reaksiyon derecesi şüphe uyandıracak şekilde kontrol örneklerinin ortalama reaksiyon derecesinden yüksek ise test 3 ilave tavşan kullanılarak tekrar edilir.

Elde edilen tüm gözlem puanları ve genel ortalama skorları yukarıda verilen hesaplama yöntemi ve Tablo 3.7'de verilen değerlendirme kriterleri ve puanlamaya göre hesaplanarak sırasıyla Tablo 4.24 ve 4.25'de sunulmuştur.

Tablo 4.24. Değerlendirme kriterleri ve puanlama

ID	Örnekler	Bölge	Skor
1	Numune (polar)	Sol Ön Bölge	0
	Numune (non-polar)	Sağ Ön Bölge	0,33
	Polar Çözücü Kontrol	Sol Arka Bölge	0
	Non-Polar Çözücü Kontrol	Sağ Arka Bölge	0
2	Numune (polar)	Sol Ön Bölge	0
	Numune (non-polar)	Sağ Ön Bölge	0,13
	Polar Çözücü Kontrol	Sol Arka Bölge	0
	Non-Polar Çözücü Kontrol	Sağ Arka Bölge	0
3	Numune (polar)	Sol Ön Bölge	0
	Numune (non-polar)	Sağ Ön Bölge	0
	Polar Çözücü Kontrol	Sol Arka Bölge	0
	Non-Polar Çözücü Kontrol	Sağ Arka Bölge	0

Tablo 4.25. Genel ortalama skor değerleri

Örnekler	Bölge	Genel Ortalama Skor	Son Test Örneği Skoru
Numune (polar)	Sol Ön Bölge	0	0
Numune (non-polar)	Sağ Ön Bölge	0,33	0,15
Polar Çözücü Kontrol	Sol Arka Bölge	0	-
Non-Polar Çözücü Kontrol	Sağ Arka Bölge	0	-

Ti+GL/Pt kaplamada iki farklı kriter için üç farklı gözlem gerçekleştirildikten sonra (Tablo 4.24) elde edilen değerlerin ortalaması alınarak genel ortalama skor elde edilmiştir (Tablo 4.25). Test edilen örnekler için yapılan gözlemler ve elde edilen skor değerleri doğrultusunda, ISO 10993-10: 2010 belgesinde belirtilen protokol ve değerlendirme kriterlerine göre test edilen kaplamanın deri içi iritan (tahriş edici) özelliğe sahip olmadığı tespit edilmiştir.

4.5.2. Cilt sensitizasyon testi

Sensitizasyon testi “ISO 10993-10:2010 Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity” standart protokolü dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.26. Kaplama numunesi için ortalama skor değerleri

Reaksiyon	Sınıflandırma Skalası
Örnek	0,4
Negatif Kontrol Uygulaması	0,4

Test ve kontrol numuneleri için gerçekleştirilen deneyde ifade edildiği üzere Tablo 3.8'deki değerlendirme ve puanlama kriterleri göz önünde alınarak gözlemler skorlanmıştır. Yapılan değerlendirmede Ti+GL/Pt kaplama numunesinin ekstraktı

uygulanan gruptaki hayvanların derilerinde herhangi bir kızarıklığa rastlanmamıştır. Gözle görülür derecede herhangi başka bir değişiklik gözlenmemiştir. Yapılan gözlemler neticesinde sensitizasyon skoru olarak 0,4 büyüklüğünde (Tablo 4.26) bir değer elde edilmiştir. Deney hayvanlarında belirgin ağırlık kayıpları gözlenmemekle birlikte genel sağlık durumlarında gözle görülür olumsuzluklara rastlanmamıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ISO 10993-10: 2010 belgesinde belirtilen protokol ve değerlendirme kriterlerine göre test edilen kaplamanın sensitif (maddeye duyarlı) özelliğe sahip olmadığı tespit edilmiştir.

4.5.3. Akut sistemik toksisite testi

Akut Sistemik Toksisite Testleri, “ISO 10993-11: 2006 Biological evaluation of medical device-systemic toxicity”, “ISO 10993-2: 2006 Biological evaluation of medical devices - Part 2: Animal welfare requirements” ve “ISO 10993-12: 2012 Biological evaluation of medical devices -Part12: Sample preparation” protokollerine göre gerçekleştirilmiştir.

Belirtilen standartlara göre takip edilen test protokolü *in vivo* deney hayvan modeli kullanılarak medikal malzemelerin akut sistemik toksisite açısından test edilmesi ve değerlendirilmesi esasına dayanır. Akut sistemik toksisite testi önerilen bir hayvan modelinde tıbbi cihazın, materyalin ve/veya bunların ekstraktlarınının 24 saatten daha az bir süre için tekli ya da çoklu maruz kalmada potansiyel zararlı etkileri hakkında bilgi vermektedir.

Test ve kontrol grubu farelerin günlük ağırlık takip sonuçları Tablo 4.27’de verilmiştir. Herhangi bir limit dışı kilo değişimi tespit edilmemiştir. ET5 dışındaki diğer tüm farelerin karaciğer indeks değerleri de normal limitler içindedir. Gıda ve su tüketimi normaldir.

Tablo 4.27. Doz uygulaması yapılan deney hayvanlarına ait ağırlık takip sonuçları (ET; erkek test, EK ; erkek kontrol, DT; dişitest, DK; dişi kontrol).

Fare ID	1.gün ağırlık (gr)	3.gün ağırlık (gr)	Karaciğer ağırlık (gr)	Ağırlık Değişim* oranı (%)	Karaciğer ağır. İndeks** oranı (%)
DT1	22,0	21,2	1,01	-3,64	4,76
DT2	22,2	21,0	0,97	-5,41	4,62
DT3	23,0	24,0	1,08	4,35	4,50
DT4	23,8	24,2	1,17	1,68	4,83
DT5	24,0	24,4	1,15	1,67	4,71
DK1	24,6	24,4	0,99	-0,81	4,06
DK2	25,0	25,4	1,28	1,60	5,04
DK3	25,2	25,4	1,17	0,79	4,61
DK4	25,8	25,6	1,19	-0,78	4,65
DK5	25,8	25,6	1,10	-0,78	4,30
ET1	22,6	21,8	1,13	-3,54	5,18
ET2	22,6	22,4	0,99	-0,88	4,42
ET3	22,8	21,2	1,19	-7,02	5,61
ET4	23,8	22,6	1,17	-5,04	5,18
ET5	24,0	22,8	1,60	-5,00	7,02
EK1	24,4	23,6	1,29	-3,28	5,47
EK2	25,6	24,4	1,13	-4,69	4,63
EK3	26,8	26,4	1,29	-1,49	4,89
EK4	27,4	26,8	1,54	-2,19	5,75
EK5	28,6	26,8	1,53	-6,29	5,71

*Ağırlık kaybı \geq 10 oranında olunca, klinik bulgu olarak değerlendirilir.

**Karaciğer ağırlık vücut indeksi %4-6 arasında olmalıdır.

ISO 10993-11: 2006 ve ISO 10993-12: 2012'ye göre sistemik etkiler Tablo 3.9'da belirtilen klinik gözlem kriterlerine göre takip edilmiştir ve tüm gruplardaki bireylerde herhangi bir klinik bulguya rastlanmamıştır.

Gözlem süresi sonunda tüm fareler gross patoloji incelemesine tabi tutulmuştur. Bu kapsamda yapılan incelemelerde herhangi bir anomaliye rastlanmamıştır.

Test materyalinden elde edilen eksrat ile tek doz subakut sistemik toksisite testi uygulanmış olup, 72 saatlik deney süreci sonunda test sonlandırılmıştır. Klinik gözlem ve gross patoloji incelemelerini içeren değerlendirme ve analiz çalışmaları sonucunda test edilen Ti+GL/Pt kaplamanın ISO 10993-11: 2006'ya göre akut sistemik toksik etkiye sahip olmadığı kanısına varılmıştır.

4.5.4. Subakut sistemik toksisite

Subakut Sistemik Toksikite Testi, “ISO 10993-11: 2006 Biological evaluation of medical device: Systemic toxicology”, “ISO 10993-2:2006 Biological evaluation of medical devices: Animal welfare Requirements” ve “ISO 10993-12:2012 Biological evaluation of medical devices: Sample Preparation” protokollerine göre gerçekleştirilmiştir.

Tekrar eden maruz kalma temelinde gerçekleştirilen subakut sistemik toksisite, uzun süreli maruz kalma sebebiyle şekillenebilecek toksisite tablosunun belirlenmesi amacıyla kullanılır. Söz konusu protokol aynı zamanda test edilen maddenin toksik etkisinin karakteri, etkilenen hedef organ, etkinin geri dönüşümlü olup olmadığı ve buna benzer özellikleri hakkında da detaylı verinin elde edilmesini sağlar.

28 günlük test süresince deney grupları ISO 10993-11:2006 ve ISO 10993-12:2012'de belirtildiği üzere ürünün sistemik etkileri Tablo 3.10'da belirtilen klinik gözlem kriterlerine göre takip edilmiş olup herhangi bir klinik bulguya rastlanmamıştır.

Deney süresince ağırlık takibi yapılmış olup ağırlık değişim oranı, karaciğer ağırlığı ve karaciğer indeks değerleri Tablo 4.28'de verilmiştir.

“Dişi Test 1” no'lu fare deney süresinin son haftası ölmüştür. “Dişi Test 3” no'lu farede aşırı derecede kilo kaybı tespit edilmiştir. “Dişi Kontrol 5” no'lu farede de limit dışı ağırlık kaybı belirlenmiştir. “Erkek Kontrol 1” no'lu fare dışında tüm farelerin karaciğer indeks değerleri normal limitler içindedir. Gıda ve su tüketimi normaldir.

Ti+GL/Pt kaplamaya ait ekstrakt uygulanan fareler, takip edilen ISO 10993-11: 2006 test protokolüne göre 28 gün boyunca gözlenmiştir. Yapılan otopsi sonucu tüm test ve kontrol fareleri için gerçekleştirilen gross patoloji muayenesinde herhangi bir anomaliye rastlanmamıştır.

Tablo 4.28. Test süresince erkek deney ve kontrol grubu farelerde gözlenen ağırlık değişimleri.

Fare ID	1.gün ağırlık (gr)	28.gün ağırlık (gr)	Karaciğer ağırlık (gr)	Ağırlık Değişim* oranı (%)	Karaciğer ağır. İndeks** oranı (%)
DT1	23,2	-	-	-	-
DT2	23,2	23,8	1,42	2,59	5,97
DT3	23,4	16,6	0,94	-29,06	5,66
DT4	23,4	25,0	1,33	6,84	5,32
DT5	24,0	24,6	1,34	2,50	5,45
DK1	24,0	27,0	1,53	12,50	5,67
DK2	24,2	25,2	1,26	4,13	5,00
DK3	24,2	25,0	1,43	3,31	5,72
DK4	24,6	23,0	1,06	-6,50	4,61
DK5	24,8	21,4	0,95	-13,71	4,44
ET1	24,0	24,4	1,35	1,67	5,53
ET2	24,2	25,2	1,37	4,13	5,44
ET3	24,2	24,2	1,31	0,00	5,41
ET4	24,4	24,0	1,13	-1,64	4,71
ET5	25,0	24,2	1,12	-3,20	4,63
EK1	25,2	29,2	1,90	15,87	6,51
EK2	25,2	30,2	1,81	19,84	5,99
EK3	25,2	29,0	1,60	15,08	5,52
EK4	25,8	25,2	1,37	-2,33	5,44
EK5	25,8	28,8	1,58	11,63	5,49

*Ağırlık kaybı \geq 10 oranında olunca, klinik bulgu olarak değerlendirilir.

**Karaciğer ağırlık vücut indeksi %4-6 arasında olmalıdır.

Veteriner tam kan sayım cihazı kullanılarak (Mindray BC2800 Vet) 10 test ve 10 kontrol grubu olmak üzere toplam 20 fareden alınan kan değerleri Tablo 4.29'da verilmiştir.

Test ve kontrol grupları arasında incelenen parametreler bakımından "Bağımsız Örnekler Testi"ne göre anlamlı bir fark görülmemiştir ($p < 0,05$). Tüm testler %95 ($p < 0,05$ [$p \mid 1 \equiv \%100$]) güven aralığında IBM SPSS programı ile yapılmıştır.

Tablo 4.29. Test ve kontrol grubu farelere ait kan değerleri (K = Kontrol, T= Test, D = Dişi, E = Erkek).

Hayvan Kodu	WBC (10 ⁹ /L)	RBC (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	MCHC (g/dL)	HCT (%)	PLT (10 ⁹ /L)
DK1	18,20	11,07	16,70	31,10	53,60	677,00
DK2	12,20	11,96	17,40	31,40	55,40	828,00
DK3	11,90	10,36	15,90	30,50	52,10	968,00
DK4	11,70	11,40	17,40	31,80	54,70	855,00
DK5	17,60	10,80	15,50	31,70	48,80	1149,00
DT1	9,80	10,59	15,60	31,00	50,30	1272,00
DT2	13,00	11,39	16,80	32,00	52,50	1334,00
DT3	8,70	10,61	15,70	30,90	50,70	1038,00
DT4	9,30	10,24	16,50	31,90	51,60	847,00
DT5	10,10	9,88	14,80	31,60	46,70	787,00
EK1	12,00	11,46	15,80	28,30	55,80	971,00
EK2	6,70	9,06	13,70	31,90	42,90	871,00
EK3	7,50	11,40	17,10	31,60	54,14	1219,00
EK4	8,40	11,70	17,60	31,40	55,90	1071,00
EK5	10,00	12,14	18,00	32,60	55,10	889,00
ET1	5,70	12,06	19,30	32,20	59,80	829,00
ET2	10,40	12,27	18,00	31,90	56,40	931,00
ET3	3,20	8,60	12,40	31,20	39,70	519,00
ET4	-	-	-	-	-	-
ET5	6,70	12,27	18,40	31,80	57,70	873,00

Yarı otomatik klinik kimya analiz cihazı (Mindray BA-88A) kullanılarak 10 test ve 10 kontrol grubuna ait toplam 20 fareden elde edilen serumlarda biyokimya değerleri Tablo 4.30'da verilmiştir.

Test ve kontrol grupları arasında incelenen parametreler bakımından "Bağımsız Örnekler Testi"ne göre anlamlı bir fark görülmemiştir ($p < 0,05$). Tüm testler %95 ($p < 0,05$ [$p | 1 = \%100$]) güven aralığında GNU PSPP programı ile yapılmıştır.

Tablo 4.30. Test ve kontrol grubu farelere ait biyokimya değerleri

Hayvan Kodu	ALT	AST	GLU	UREA
DK1	115,00	69,00	172,00	48,90
DK2	108,00	65,00	161,00	46,00
DK3	105,00	63,00	157,00	44,70
DK4	106,00	64,00	159,00	45,30
DK5	123,00	74,00	184,00	52,20
DT1	108,00	65,00	161,00	46,00
DT2	121,00	73,00	181,00	51,60
DT3	99,00	60,00	149,00	42,40
DT4	96,00	58,00	144,00	41,10
DT5	93,00	56,00	139,00	39,50
EK1	107,00	64,00	160,00	45,70
EK2	83,00	50,00	125,00	35,50
EK3	105,00	63,00	158,00	45,00
EK4	105,00	63,00	158,00	44,90
EK5	106,00	64,00	158,00	45,10
ET1	96,00	58,00	144,00	41,10
ET2	108,00	65,00	162,00	46,10
ET3	62,00	38,00	93,00	26,60
ET4	73,00	44,00	110,00	31,20
ET5	99,00	59,00	148,00	42,10

28 günlük test periyodu sonunda; kontrol ve deney gruplarından alınan akciğer, karaciğer, böbrek ve dalak dokuları %4 paraformaldehit ile fiksasyon işlemine tabi tutulmuştur. Fiksasyonu takiben gün boyu yıkama işlemi yapılarak ardından dehidrasyona tabi tutulmuştur. Dehidre edilen dokular parafin bloklar halinde hazırlanmıştır. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında doku kesitleri alınarak hematoksilen-eozin boyamaları yapılmıştır. Doku kesitleri 30 dakika ksilol ile muamele edildikten sonra rehidratasyon işlemi (%100-%70 alkol 10'ar dakika) yapılmıştır. Hematoksilen boyasında 5 dakika tutulmuş ve ardından 10 dakika eşme suyu ile yıkandıktan sonra eozin ile 5 dakika muamele edilmiştir. Eozin boyamasının ardından eşme suyu ile yıkama yapılarak artan alkol serilerinden 5'er dakika geçirilerek dehidratasyon yapılmıştır. Ksilol ile şeffaflandırılarak entellan ile kapatılmış ve inceleme yapılmıştır.

ISO 10993-10:2010 Test protokolü takip edilerek test ve kontrol grupları 28 günlük uygulama periyodu boyunca ve periyot sonunda farklı parametreler göz önüne

alınarak incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda kontrol grubu dişi ve erkek bireylerde normal morfoloji gözlemlenmiştir. Dişi test grubunda ise DT2 bireyinin böbrek dokusunda lokal olarak hücre bazda anomalilere rastlanmıştır. DT2 bireyinin böbrek dokusunda medulla korteks geçişinde ateroskleroz belirtisi, dokuya yerleşik lenfosit varlığı ve yeni damar oluşumları görülmüştür. Erkek test grubunda ise ET1 ve ET2 bireylerinin akciğer ve böbrek dokularında hafif derecede anomaliye rastlanmıştır. ET1 bireyinin akciğer dokusunda lokal olarak lenfosit artışı ve interalveolar alanlarda daralma görülmüştür. ET2 bireyinin böbrek dokusunda medullada lokal olarak kanallarda bozulmaya rastlanmıştır. Yukarıda bahsedilen anomaliler haricinde bu bireylerin diğer dokularında normal morfoloji izlenmiştir. Diğer test grubu bireylerinin tüm dokularında da normal morfoloji gözlemlenmiştir.

Ti+GL/Pt kaplamadan elde edilen ekstrakt ile tekrarlı doz subkronik sistemik toksisite testi uygulanmış olup, 28 günlük gözlem süreci sonunda test sonlandırılmıştır. Klinik gözlem, hemotoloji ve biyokimya analizleri, gross patoloji, histopatoloji incelemelerini içeren değerlendirme ve analiz çalışmaları sonucunda Ti+GL/Pt kaplamanın ISO 10993-11: 2006'ya göre subakut sistemik toksik etkiye sahip olmadığı kanısına varılmıştır.

4.5.5. İmplantasyon

İmplantasyon testi, “ISO 10993-6: 2007 Biological evaluation of medical device - Part 6: Tests for local effects after implantation”, “ISO 10993-2: 2006 Biological evaluation of medical devices – Part 2: Animal welfare requirements” ve “ISO 10993-12:2012 Biological evaluation of medical devices -Part 12: Sample Preparation” protokollerine göre gerçekleştirilmiştir. İmplantasyon testi kullanılan biyomalzemelerin implantasyon sonrası lokal etkilerinin ortaya konmasını amaçlar ve bunun için makroskopik ve mikroskopik histolojik incelemeleri kapsar.

İmplantasyon testi uygulama süresi sonunda lokal etkiler tespit edilmiş ve değerlendirilmiştir. Bunun için, 28 gün boyunca uygulanan test protokolü sonrasında, 10 adet implantasyon bölgesi, 10 adet test-kontrol bölgesi ve 3 adet negatif kontrol bölgeleri alınarak %4 paraformaldehit ile fiksasyon işlemi yapılmıştır. Fiksasyonu takiben gece boyu yıkama işlemi yapılarak ardından dehidrasyona tabi tutulmuştur. Dehidre edilen dokular parafin bloklar halinde hazırlanmıştır. Parafin bloklardan 5

µm kalınlığında doku kesitleri alınarak hematoksilin-eozin boyamaları yapılmıştır. Doku kesitleri 30 dakika ksilol ile muamele edildikten sonra rehidratasyon işlemi (%100-%70 Alkol 10'ar dakika) yapılmıştır. Hematoksilin boyasında 5 dakika tutulmuş ve ardından 10 dakika çeşme suyu ile yıkandıktan sonra eozin ile 5 dakika muamele edilmiştir. Eozin boyamasının ardından çeşme suyu ile yıkama yapılarak artan alkol serilerinden 5'er dakika geçirilerek dehidratasyon yapılmıştır. Ksilol ile şeffaflandırılarak entellan ile kapatılmış ve inceleme yapılmıştır. İncelemeler Tablo 3.11'e göre yapılmıştır ve sonuçlar Tablo 4.31'de verilmiştir.

Tablo 4.31. Skorum Sistemi

Kriterler	Test Örneği			Kontrol Örneği		
	1	2	3	1	2	3
İnflamasyon	0	0	0	0	0	0
Polimorfonükleer hücreler	0	0	0	0	0	0
Lenfositler	1	1	1	0	1	1
Plazma hücreleri	0	0	0	0	0	0
Makrofajlar	1	0	0	0	0	0
Dev hücreler	0	0	0	0	0	0
Nekrosiz	0	0	0	0	0	0
ALT-TOPLAM(x2)	2	1	1	0	1	1
Yeni Damarlanmalar	0	0	1	0	0	0
Fibrozis	1	1	1	0	0	1
Yağ infiltrasyonu	0	0	0	0	0	0
ALT TOPLAM	1	1	2	0	0	1
TOPLAM	3	2	3	0	1	2
GRUP TOPLAMI		2,67			1,00	
	ORTALAMA ^a			TEST (-) CONTROL =		
Travmatik Nekrosis	0	0	0	0	0	0
Yabancı Döküntüler	0	0	0	0	0	0
İncelenen örnek sayısı	3	3	4	3	3	4

^aSonuçta gösterilen irritant bölgeleri kullanılır. Negatif farklar 0 olmalıdır.

Yapılan gözlemlere göre, test örnekleri aşağıdaki şekilde skorlanarak sınıflandırılmıştır;

- İrritant değil (0,0 - 2,9)
- Zayıf irritant (3,0 - 8,9)
- Orta irritant (9,0 - '15,0)
- Ağır irritant (> 15)

Test ve kontrol grupları, uygulama süresi sonunda servikal dislokasyon ile sakrifiye edildikten sonra batım ve toraks bölgesi inspeksiyon bölgelerinde nekrotik ve herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

28 günlük gözlemlerde her hangi bir klinik bulguya rastlanmamış olup operasyon bölgelerindeki yara dudakları rejenerasyonu olumludur.

Klinik gözlemler, gross patoloji inspeksiyonu, test ve kontrol implantasyon bölgeleri için histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Tespit edilen bulgular ve sunulan tablolardaki kriterler esas alınarak materyalin özelliği belirlenmiştir. Ti+GL/Pt kaplamanın test bölgelerinin analizi sonucu skor değeri "2,67" olarak tespit edilmiş olup, ISO 10993-6:2007 belgesinde belirtilen protokol ve değerlendirme kriterlerine göre test edilen materyalin uygulama bölgesinde iritan özelliğe sahip olmadığı tespit edilmiştir

5. SONUÇLAR

Sunulan bu tez çalışması kapsamında, spinal (omurga) cerrahi uygulamaları için yarısaydam PEEK esaslı intervertebral disk implantlara (lumbar & cervical interbody fusion devices) osteokondüktif ve antibakteriyel özellikler kazandıran, yüksek adhezyon garanti eden, homojen kalınlık ve bileşim sağlayan nanoyapılı, kimyasal olarak derecelendirilmiş Ti-Mg-Ag/Pt kaplamalar geliştirilmiştir.

Bu amaçla PEEK esaslı implantlar, yüzey topografisinden ve şeklinden beklenen özellikleri karşılayacak şekilde, yüksek sıcaklıkta enjeksiyon kalıplama ile üretilmiştir. İmplantta osteokondüktif, antibakteriyel davranış kazandırmak amacıyla yüzeyinde magnetron sputterlama yöntemi ile kademeli nano yapılı Ti-Mg-Ag/Pt esaslı kaplamalar üretilmiştir. Bu üretilen kaplamalar, doğru seçilmiş karakterizasyon metotları ile, kimyasal, yapısal, mekanik, *in vitro* ve *in vivo* olarak biyouyumluluk açısından test edilmiştir.

Kaplamalarda kullanılan herbir element belirli bir amaca göre seçilmiştir. Bu doğrultuda osteokondüktif özelliğinin geliştirilmesi için hiçbir şekilde biyobozunma göstermeyen, osteokondüktif ve kararlı Ti seçilmiştir. Ancak sadece bu amaçla kullanılan saf titanyum kaplamalar yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, implant ve kemik arasında daha hızlı ve kuvvetli bağ oluşumu için biyobozunur, biyoaktif olan Mg kullanılmıştır. Kaplamaya antibakteriyel davranış kazandırmak için ise Ag seçilmiştir. Ag'ün çözünürlüğünü artırarak antibakteriyel etkisini geliştirmek için Ag'e Pt dope edilmiştir. Burada, vücut içinde Ti'un kararlı olması ve biyobozunması istenmezken, Mg ve Ag/Ag-Pt'un çözünmesi istenmektedir.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

- PEEK esaslı numune ve intervertebral disk implantlar (lumbar & cervical interbody fusion devices), geleneksel CNC mekanik işlemeleme göre daha ekonomik, daha az atık oluşturduğundan çevre dostu olan enjeksiyon kalıplama yöntemi ile üretilmiştir.

- Çok tabakalı (Ti+ML ve Ti+ML/Pt) ve kimyasal olarak derecelendirilmiş (Ti+GL ve Ti+GL/Pt) olmak üzere iki farklı kaplama çeşidi hazırlanmıştır. Ayrıca bu tabakaları oluşturan herbir elementin tek tabakalı kaplamaları da üretilmiştir. Yeterli kaplama yapışması (adhesion) sağlamak amacıyla lineer iyon kaynak plazma ile PEEK yüzeyinin aktivasyonu sağlanmış ve altlık malzemede herhangi bir bozunma oluşturmamak için magnetron sputterlama ile kaplamalar oda sıcaklığında üretilmiştir.
- X-ışını difraksiyon cihazı ile gerçekleştirilen kaplamaların yapısal analizi sonucuna göre tüm kaplamalar kristalin bir yapı sergilemiştir. Ti, tercihli olarak minimum yüzey enerjisine sahip ve 38.46° 'da pik veren (002) düzlemi doğrultusunda büyümüş olup hekzagonal kristal yapı sergilemiştir. Mg hekzagonal sıkı paket yapısı nedeniyle düşük yüzey enerjisine sahip, 34.50° 'de görülen (002) basal düzlemde düzlemi doğrultusunda tercihli büyümüştür. Yüzey merkezli kristal yapıya sahip Ag, tercihli olarak 38.16° 'da (111) düzlemi doğrultusunda büyümüştür. Ag'e Pt dope edilmesi ile, yine 38.06° 'da (111) düzleminde tercihli büyüme görülmüştür. Ancak 38.06° 'da görülen bu pik daha genişlemiş olarak belirlemiştir. Termodinamik dengede Ag-Pt ikili faz sisteminde, at-% 0,7 Pt'de peritektik bir bileşik oluşması beklenirken, düşük kaplama sıcaklığı nedeniyle muhtemelen Ag katı ergiyiği oluşmuştur. Ag ve Pt her ikisi de yüzey merkezli kübik kafes sistemine sahip olup Pt'in Ag içerisinde çözünürlüğü oldukça yüksektir.
- Her kaplama için, XRD difraktogramlarında elde edilen kuvvetli piklerin FWHM değerleri kullanılarak Scherrer formülünden kristalit boyutları hesaplanmıştır. Hesaplanan kristalit boyut değerlerden, Pt'nin tane küçültücü etkisi olduğu görülmüştür (Pt ilavesi ile kristalit boyutları küçülmüştür).
- Kaplamaların yüzey morfolojileri SEM/EDS ve AFM ile incelenmiştir. Ti ve Mg kaplamalar sahip oldukları hsp kristal yapılarından dolayı plaka tipi bir yüzey morfolojisi sergilerken, Ag tek tabakalı kaplama, çok tabakalı kaplama ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamalar, Ag'ün ymk kristal kafes yapısından dolayı nodüler bir mikroyapı göstermiştir. Pt dope edilmesi ile birlikte kaplama yüzeyleri daha düzgün hale gelmiştir. Bu etki özellikle Ag tek tabakalı kaplamada daha belirgin olarak görülmüştür.

- AFM, mikron altı görüntüleme ile yüzey topografisi hakkında detaylı bilgi vermektedir. Bu doğrultuda, kaplamalar AFM ile topografik ve faz olmak üzere iki farklı kontrastta ve 3 boyutlu olarak incelenmiştir. İnce filmlerin büyümesi, SZM modeline göre açıklanmıştır. Buna göre Ti ve Ag kaplamalarda düşük difüzyon, düşük atomik mobilite sonucu kolonsal, gözenekli bir yapı sergilenmesi beklenirken Mg kaplamada difüzyon söz konusu olduğundan, yapı daha yoğun, tane boyutu artmış ve eşeksensli olarak kendisini göstermiştir.
- Ortalama pürüzlülük değeri, S_a , ve ortalama pürüzlülük değerinin karekökü, S_q , Ag'e Pt dope edilmesi ile azalmıştır. Aynı şekilde kesit taramasından elde edilen yaklaşık tane boyutları da benzer sonucu vermiştir. Düşük kaplama sıcaklıkları difüzyona olanak tanımamıştır. Buna ilave olarak kaplamada Pt'nin varlığı yüzey difüzyonunu daha da sınırlamış ve böylece kristalit boyutunu düşürmüştür.
- Tüm kaplamalarda S_{sk} 'nin 0 değerine, S_{ku} 'nun 3 değerine yakın olması, yüzey morfolojik yapıların Gaussian bir dağılım gösterdiği sonucunu vermiştir.
- Ag'e Pt dope edilmesi, özellikle tek tabakalı Ag kaplamada ve çok tabakalı kaplamada sertlik ve elastik modül değerlerini artırmış ancak fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada bu etki gözlenememiştir. Pt'nin sertlik değerlerindeki farklı etkisi, kaplamaların mimarisi, diğer bir deyişle Ag'ün kalınlığı ile ilgilidir. Ölçülen kalınlıktaki Ag'ün miktarı arttıkça Pt'nin etkisi artmıştır. Düşük kaplama sıcaklıkları, denge dışı katılaşmaya neden olmuş ve sahip oldukları benzer atomik yapıları nedeniyle Pt, Ag kafesine yer alan atomu olarak girebilmiş ve katı ergiyik sertleşmesi göstermiştir.
- Nano çizik testi ile kademeli olarak artan yükler altında kaplamaların yapışma dayanımı belirlenmiştir. Buna göre, en üst tabakayı oluşturan Ag tabakanın daha düşük sertliğe sahip olması (1.61 GPa karşı 3.15 GPa) ve deformasyon kabiliyetinin daha yüksek olması nedeniyle Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada sürtünme katsayısı Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamaya göre daha yüksektir. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada kritik yük (L_{C1}) 1,07 N, Pt dope edilmiş çok tabakalı kaplamada 1,95 N olarak belirlenmiştir. Pt dope edilmemiş çok tabakalı kaplamada adhezif aşınma söz konusu iken, Pt'nin dope edilmesi ve dolayısıyla en üst tabaka sertliğinin artması nedeniyle bu mekanizma abrazyon aşınma olarak kendisini göstermiştir. Kaplama mimarisi nedeniyle artan sertliği, fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların deformasyon kabiliyetini ve

hasar mekanizmalarını değiştirmiştir. Pt dope edilmemiş fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada L_{c1} , 2,01 N'da görülürken Pt dope edilmesi ile bu değer 2.65'e çıkmaktadır. Bu iki kaplamanın sertlikleri birbirine yakın olduğundan aşınma mekanizmaları, benzer özellikte abrazyon olarak kendisini göstermiştir.

- Bu çalışmanın amaçlardan birisi de Ag ile PEEK'e antibakteriyel bir özellik kazandırmaktı. Kaplamalardaki znme elektrokimyasal bir süreç olduğundan kullanılan testler bu doğrultuda seçilmiştir. Kaplamanın biyobozunma mekanizmasını açıklamak için daldırma testi ve elektrokimyasal test kullanılmış ve ISO-10993-15'e göre gerçekleştirilmiştir. Belirlenen süreler sonunda SBF içindeki elementlerin konsantrasyonu (ICP-MS) ile belirlenmiştir. Buna göre bu süreler sonunda çözelti içinde sadece Mg ve Ag belirlenirken, Ti ve Pt'a rastlanmamıştır.
- Düşük kaplama sıcaklığı nedeniyle oluşan porozite, droplet gibi yüzey hataları sonucu elektrolit tabaka yüzeyinden daha derine doğru difüze olabilmemiştir. Tüm kaplamalarda herbir tabaka arasında galvanik eşleşme söz konusudur. Dolayısıyla znme süreci Ag'n yüzeyinde (kaplamanın en üst tabakası) ve aynı zamanda Mg-Ag arayüzeyinde de gerçekleşmiştir.
- Daldırma testinin ilk sürelerinde, sahip olduğu yüksek elektronegatif potansiyel nedeniyle Mg ncelikli olarak çözünürken, Ag ilerleyen saatlerde çözünmeye başlamıştır.
- Fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamada oluşan Ag-Mg galvanik çiftte, tabakanın mimarisi gereği, katot (Ag)/anot (Mg) yüzey alanı oranı yüzeye doğru artmıştır ve çözünme gelişmiştir. Mg ve Ag znme miktarları artmıştır.
- Pt dope edilmesinin amacı burada Ag'n çözünürlüğünü artırarak antibakteriyel etki sağlamaktı. Ancak Pt'nin Ag'e dope edilmesi ile Ag'n çözünürlüğü azalmıştır. Ag'e Pt'nin (noble metal) dope edilmesi ile Ag'n pasivitesi geliştirilmiş olup çözünmesi azalmıştır. İlerleyen daldırma sürelerinde, yüzeyde znen Ag ile birlikte artan Pt nedeniyle bu etki daha belirgin olarak grlmştir. Ag zndke kaplama yüzeyinde Pt zenginleşmekte ve pasivasyon etkisi artmaktadır. Bu da, uzun süreli antibakteriyel etkinin oluşmasını sağlamaktadır.

- Soy metal (Pt) ilavesinin pasivasyon özelliğini (Ag'ün) geliştirebilmesi, elektrokimyasal deneyler ile de ispatlanmıştır. Elde edilen Tafel eğrileri ve EIS ölçüm sonuçları aynı eğilimi göstermiştir. Pt'nin bu etkisi, tek tabakalı Ag kaplamaların potansiyodinamik eğrilerinden daha açık bir şekilde görülmüş ve doğrulanmıştır.
- Birçok çalışmada, genelde Cl⁻ ortamında yüzeyde oluşan AgCl filmi nedeniyle Ag'ün çözünürlüğünün engellendiği gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada, daldırma deneylerinin en uzun süresinde dahi herhangi bir AgCl filme rastlanmamıştır. Bu etki, Mg-AgCl pillerde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyona benzer şekilde Mg'un AgCl'ü çözme kabiliyetinden kaynaklanmaktadır.
- Ayrıca tüm kaplamalarda oluşan Mg-Ag galvanik hücre nedeniyle Mg'un Ag'ün çözünürlüğü üzerine etkisi elektrokimyasal değerlerin karşılaştırılmasından da açıkça görülmektedir.
- Çok tabakalı ve fonksiyonel olarak derecelendirilmiş kaplamaların *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel davranışları ISO 22196'a göre belirlenmiştir. Her iki mikroorganizma türünde de Pt'nin Ag'e dope edilmesi ile, Ag'ün çözünürlüğünün azalmasına rağmen kaplamaların antibakteriyel aktiviteleri artmıştır. Bu da Pt'nin de antibakteriyel etkiye katkıda bulunduğunu göstermektedir.
- Kaplamalarda Mg'un varlığı ortamın alkalinitesini artırmakta ve ayrıca bir antibakteriyel etki sağlamaktadır. Ti+GL/Pt'de çözünen Mg miktarının artması ile antibakteriyel etkinin daha da arttığı görülmüştür.
- Kaplamaların osteokondüktivite açısından değerlendirmeleri Ti+ML, Ti+ML/Pt, Ti+GL ve Ti+GL/Pt kaplamalar üzerindeki MC3T3-E1 hücre morfolojileri ve hücre-malzeme etkileşimi üzerinden gerçekleştirilmiştir.
- En fazla hücreye Ti+GL/Pt yüzeyinde rastlanırken en az hücre Ti+GL'de görülmüştür. Ti+ML'de hücreler iki farklı bölgede toplanmışken, Ti+ML/Pt'de hücreler homojen bir şekilde dağılmıştır.
- Bu çalışmada yapışma, yayılma, çoğalma, göç etme gibi hücre faaliyetleri açısından çok önemli, hücre-malzeme ve hücre-hücre etkileşiminin bir göstergesi olan lamellipodia ve filopodia'nın etkileri açıkça görülmüştür. Filopodia, hücrelerin mikro çevrelerini araştırmada kullanılmakta ve yayılma sırasında öncülük yapmaktadır. Bu keşif amaçlı yaptığı hareket ile büyüme sırasında kuvvet

uygulayabilmektedir. Dolayısıyla Pt dope edilmemiş Ti+ML ve Ti+GL kaplamalarda, en üst tabakanın sahip olduğu düşük sertliğinden dolayı biyolojik ortamda kalkması sonucu filopodia bunu bir engel olarak algılayabilmekte ve hücrel faaliyetleri durdurabilmekte (Ti+ML) ya da keşif sırasında uyguladığı kuvvetler nedeniyle kaplamayı bölgesel olarak kaldırabilmektedir (Ti+GL).

- Tüm kaplamalarda hücrelerin sitoplazmik uzantılar olan, yapışma, yayılma, çoğalma, göç etme gibi hücrel faaliyetler açısından önemli olan lamellipodia ve filopodia ile hücre-malzeme ve hücre-hücre etkileşimini sağladığı görülmüştür. Yapıda fazlaca filopodia ve lamellipodia'nın bulunması hücre-malzeme etkileşiminin, dolayısıyla hücre yapışmasının kuvvetli olduğunu ve bu tür yapıların uzaması ve yayılması ile hücre yayılmasının geliştiğini göstermiştir.
- Mg iyonlarının MC3T3-E1 hücre yayılıma ve çoğalması üzerinde olumlu bir etkisi olduğu görülmüştür. En fazla Mg çözünme görülen Ti+GL/Pt'de, Mg'un ECM oluşumunu tetiklediği, diğer kaplamalara göre hücrel gelişiminin daha ilerki safhalarda olduğu ve böylece daha hızlı bir osseointegrasyon için katkıda bulunduğu belirlenmiştir.
- Çalışmada ayrıca, genelde implant malzeme üretiminde kullanılan Ti (Grade 2) disk numunesi de aynı koşullar altında incelenmiş ve Ti tek tabakalı kaplama ile karşılaştırılmıştır. Ti'un osseointegrasyon özelliğinin büyük ölçüde yüzey pürüzlülüğü, yüzey kimyası ve ıslatılabilirlik gibi yüzey özelliklerine bağlı olduğu görülmüştür. Ortalama yüzey pürüzlülüğü 9,98 nm olan nanotopografiye sahip Ti tek tabaka kaplamada hücreler daha çok ve daha iyi tutunmuşken, yüzey pürüzlülüğü $0,08\pm 0,01\mu\text{m}$ olan Ti (Grade 2) disk numunesinde çok az hücreye rastlanmıştır.
- PEEK ve Ti disk hidrofilik iken kaplamalar daha hidrofobik bir özellik sergilemiştir. Daha hidrofilik olan Ti diskde hücre adezyonu çok az belirlenirken, daha hidrofobik olan Ti tek tabakalı kaplamada hücreler tamamen yüzeyi kaplamıştır. Yine daha hidrofobik olan Ti+GL/Pt'de hücrel gelişimin diğer kaplamalara göre daha hızlı olduğu görülmüştür. Sonuç olarak nano topografinin ıslatılabilirliğe göre osteoblast hücre cevabı üzerine daha etkin olduğu görülmüştür.
- Biyouyumluluk kapsamında yapılan ISO 10993-5 sitotoksisite testi sonucunda kontrole göre hücre canlılığı Ti+ML için $\%91,59\pm 9,15$, Ti+ML/Pt için

%101,69±2,56, Ti+GL için %106,38±12,37, Ti+GL/Pt için %95,98±2,07 ve kaplamasız PEEK için %95,52±2,88 olarak bulunmuştur. Bu doğrultuda yapılan nitel ve nicel sitotoksik testi sonucuna göre analiz edilen kaplamasız PEEK ve kaplamalarda herhangi bir sitotoksik etki görülmemiştir.

- Yapılan tüm yüzey analizleri, antibakteriyel test ve osteokondüktivite incelemelerine göre en iyi sonucu veren Ti+GL/Pt kaplamaya sadece genotoksisite testi uygulanmıştır. Buna göre deney koşulları altında ve kullanılan bakteri şuşlarında Ti+GL/Pt kaplamanın mutasyon oluşturmadığı (mutajenik olmadığı) belirlenmiştir.
- Test edilen örnekler için yapılan gözlemler ve elde edilen skor değerleri doğrultusunda, ISO 10993-10: 2010 belgesinde belirtilen protokol ve değerlendirme kriterlerine göre Ti+GL/Pt kaplamanın deri içi iritan (tahriş edici) özelliğe sahip olmadığı tespit edilmiştir.
- Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ISO 10993-10: 2010 belgesinde belirtilen protokol ve değerlendirme kriterlerine göre test edilen Ti+GL/Pt kaplamanın sensitif (maddeye duyarlı) özelliğe sahip olmadığı tespit edilmiştir.
- Klinik gözlem ve gross patoloji incelemelerini içeren değerlendirme ve analiz çalışmaları sonucunda test edilen Ti+GL/Pt kaplamanın ISO 10993-11: 2006'ya göre akut sistemik toksik etkiye sahip olmadığı kanısına varılmıştır.
- Klinik gözlem, hemotoloji ve biyokimya analizleri, gross patoloji, histopatoloji incelemelerini içeren değerlendirme ve analiz çalışmaları sonucunda Ti+GL/Pt kaplamanın ISO 10993-11: 2006'ya göre subakut sistemik toksik etkiye sahip olmadığı kanısına varılmıştır.
- Ti+GL/Pt kaplamanın test bölgelerinin analizi sonucu skor değeri "2,67" olarak tespit edilmiş olup, ISO 10993-6:2007 belgesinde belirtilen protokol ve değerlendirme kriterlerine göre test edilen materyalin uygulama bölgesinde iritan özelliğe sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar doğrultusunda, gerek yapısal, gerek kimyasal gerekse biyolojik değerlendirme açısından PEEK esaslı implantlara antibakteriyel ve osteokondüktif özellikler kazandırmak açısından en uygun kaplamanın Ti+GL/Pt olduğu görülmüştür.

Yapılan bu çalışmalar sonucunda PEEK esaslı intervertebral disk implantları için aşağıda verilen yenilikçi özellikte Ti-Mg-Ag/Pt esaslı kaplama elde edilebilmiştir:

- İmplantın tıbbi olarak optimize edilmiş yüzey topografisi ve pürüzlülüğünde (kafes yüzeyindeki dişlerin şekillerinde) herhangi bir değişikliğe neden olmadan, titanyum-magnezyum-gümüş-platinyum esaslı kaplama ile PEEK esaslı altlık malzeme arasında mükemmel yapışmaya sahip
- Cerrahi müdahale için mekanik dirençli (çizme direnci)
- *In vitro* osteoblastik hücresel gelişimi gösteren
- *In vitro* sitotoksik olmayan, mutasyon oluşturmeyen
- *In vivo* olarak deri içi iritan, sensitive (maddeye duyarlı) özelliğe sahip olmayan
- *In vivo* akut sistemik etki, subakut sistemik toksik etki göstermeyen
- İmplantasyon testi değerlendirme sonucuna göre *in vivo* uygulama bölgesinde iritan olmayan
- *Staphylococcus aureus* ve *E. coli* bakteri sayısını $1E5$ 'den $<1E1$ 'ye düşüren antibakteriyel etkiye sahip

Bu çalışmada elde edilen bilgi ve birikimler birçok bilimsel yayına dönüştürülmüştür. Bir Türk Patentine (No. 2014/13586) ve tüm EU28, ABD, Kanada ve birçok Arap ülkelerinde geçerli olmak üzere PCT'ye (WO 2016/080937) başvuru yapılmıştır.

Ayrıca, ticari ürün olarak kullanımı için gerekli CE medikal sertifikasyonu için klinik çalışmalar yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Frank A. O., De Souza L., Conservative Management of Low Back Pain, *Int. J. Clin. Pract.*, 2001, **55**(1), 21–31.
- [2] Sarıdoğan M. E., Bel Ağrısı Nedenleri ve Epidemiyolojisi, Editör.: Kutsal Y. G., *Modern Tıp Seminerleri*, Güneş Kitabevi, Ankara, 19–29, 2000.
- [3] Özcan E., Bel Ağrılı Hastaların Konservatif Tedavisi, Editörler: Özcan E., Ketenci A., *Bel Ağrısı Tanı ve Tedavi*, Nobel Kitabevi, İstanbul, 187–219, 2002.
- [4] Svvezey R. L., Management of Low Back Pain, *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 1998, 419–433.
- [5] Krämer J., *Bandscheibenbedingte Erkrankungen*, 3rd ed., Thieme –Verlag, Stuttgart, 1994.
- [6] Krämer J., *Bandscheibenbedingte Erkrankungen*, 6th ed., Thieme –Verlag, Stuttgart, 2006.
- [7] Kirkaldy-Willis W. H., Farfan H. F., Instability of the Lumbar Spine, *Clinical Orthopaedics & Related Research*, 1982, **165**, 110-123.
- [8] Panjabi M. M., Thibodeau L. L., Crisco J. J., White A. A., What Constitutes Spinal Instability?, *Clin. Neurosurg.*, 1988, **34**, 313-319.
- [9] Weiner B. K., Fraser R. D., Spine Update Lumbar Interbody Cages, *Spine*, 1998, **23**(5), 634-640.
- [10] Williams A. L., Gornet M. F., Burkus J. K., CT Evaluation of Lumbar Interbody Fusion: Current Concepts, *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, 2005, **26**, 2057–2066.
- [11] Kurtz S. M., *PEEK Biomaterials Handbook*, Elsevier, Amsterdam, 2012.
- [12] Kurtz S. M., Applications of Polyaryletheretherketone in Spinal Implants: Fusion and Motor Preservation, Editors: Modjarrad K., Ebnesajjad S., *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices*, 1st ed., Elsevier, Amsterdam, 231-251, 2014.
- [13] Rivard C. H., Rhalmi S., Coillard C., *In vivo* Biocompatibility Testing of PEEK Polymer for a Spinal Implant System: A Study in Rabbits, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, **62**, 488-498.

- [14] Najeeb S., Zafar M. S., Khurshid Z., Siddiqui F., Applications of Polyetheretherketone (PEEK) in Oral Implantology and Prosthodontics, *Journal of Prosthodontic Research*, 2016, **60**, 12-19.
- [15] Rabiei A., Sandukas S., Processing and evaluation of Bioactive Coatings on Polymeric Implants, *Journal of Biomedical Materials Research A*, 2013, **101**, 2621- 2629.
- [16] Ma R., Tang T., Current Strategies to Improve the Bioactivity of PEEK, *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, **15**, 5426-5445.
- [17] Stübinger S., Preve E., Drechsler A., Zappini G., von Rechenberg B., Coated versus Uncoated Polyetheretherketone (PEEK) Implants: Preliminary Data of an Animal Model in Sheep, *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2013, **42**, 1184.
- [18] Han C. M., Lee E. J., Kim H. E., Koh Y. H., Kim K. N., Ha Y., Kuh S. U., The Electron Beam Deposition of Titanium on Polyetheretherketone (PEEK) and the Resulting Enhanced Biological Properties, *Biomaterials*, 2010, **31**, 3465-3470.
- [19] Kizuki T., Matsushita T., Kokubo T., Apatite-forming PEEK with TiO₂ Surface Layer Coating, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2015, **26**(41), 1-9.
- [20] Toita R., Sunarso, Rashid A. N., Tsuru K., Ishikawa K., Modulation of the Osteoconductive Property and Immune Response of Poly (Ether Ether Ketone) by Modification with Calcium Ions, *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, **3**, 8738-8746.
- [21] Durham J. W., Rabiei A., Deposition, Heat Treatment and Characterization of Two Layer Bioactive Coatings on Cylindrical PEEK, *Surface and Coatings Technology*, 2016, **301**, 106-113.
- [22] Walsh W. R., Bertollo N., Christou C., Schaffner D., Mobbs R. J., Plasma-Sprayed Titanium Coating to Polyetheretherketone Improves the Bone-Implant Interface, *The Spine Journal*, 2015, **15**, 1041-1049.
- [23] Hahn B. D., Park D. S., Choi J. J., Ryu J., Yoon W. H., Choi J. H, Kim J. W., Ahn C. W., Kim H. E., Yoon B. H., Jung I. K., Osteoconductive Hydroxyapatite Coated PEEK for Spinal Fusion Surgery, *Applied Surface Science*, 2013, **283**, 6-11.
- [24] Lee J. H., Jang H. L., Lee K. M., Baek H. R., Jin K., Hong K. S., Noh J. H., Lee H. K., *In Vitro* and *in Vivo* Evaluation of the Bioactivity of Hydroxyapatite-Coated Polyetheretherketone Biocomposites Created by Cold Spray Technology, *Acta Biomaterialia*, 2013, **9**, 6177-6187.
- [25] Robotti P., Zappini G., Thermal Plasma Spray Deposition of Titanium and Hydroxyapatite on Polyaryletheretherketone Implants, Editors: Kurtz S. M., *PEEK Biomaterials Handbook*, Elsevier, Amsterdam, 2012, 119-143.

- [26] Almasi D., Izman S., Assadian M., Ghanbari M., Abdul Kadir M. R., Crystalline HA Coating on PEEK via Chemical Deposition, *Applied Surface Science*, 2014, **314**, 1034-1040.
- [27] Zheng Y., Xiong C., Zhang S., Li X., Zhang L., Bone-Like Apatite Coating on Functionalized Poly (Etheretherketone) Surface via Tailored Silanization Layers Technique, *Materials Science and Engineering C*, 2015, **55**, 512-523.
- [28] Ha K. Y., Chung Y. G., Ryoo S. J, Adherence and Biofilm Formation of Staphylococcus Epidermidis and Mycobacterium Tuberculosis on Various Spinal Implants, *Spine*, 2005, **30**, 38-43.
- [29] Tong S. Y. C., Davis J. S., Eichenberger E., Holland T. L., Fowler V. G., Staphylococcus Aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations and Management, *Clinical Microbiology Reviews*, 2015, **28**, 603–661.
- [30] Campoccia D., Montanaro L., Arciola C. R., A Review of the Biomaterials Technologies for Infection-Resistant Surfaces, *Biomaterials*, 2013, **34**, 8533-8554.
- [31] Melaiye A., Youngs W. J., Silver and Its Application as an Antimicrobial Agent, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2005, **15**, 125-130.
- [32] Bosetti M., Masse A., Tobin E., Cannas M., Silver Coated Materials for External Fixation Devices: *In Vitro* Biocompatibility and Genotoxicity, *Biomaterials*, 2002, **23**, 887–892.
- [33] Zhang W., Luo Y., Wang H., Jiang J., Pu S., Chu P. K., Ag and Ag/N₂ Plasma Modification of Polyethylene for the Enhancement of Antibacterial Properties and Cell Growth/Proliferation, *Acta Biomaterialia*, 2008, **4**, 2028-2036.
- [34] Ewald A., Gluckermann S. K., Thull R., Gbureck U., Antimicrobial Titanium/Silver PVD Coatings on Titanium, *Biomedical Engineering Online*, 2006, **5**(22), 1-10.
- [35] Chen W., Liu Y., Courtney H. S., Bettenga M., Agrawal C. M., Bumgardner J. D., Ong J. L., *In Vitro* Anti-Bacterial and Biological Properties of Magnetron Co-Sputtered Silver-Containing Hydroxyapatite Coating, *Biomaterials*, 2006, **27**, 5512–5517.
- [36] Li J. X., Wang J., Shen L. R., Xu Z. J, Li P., Wan G. J., Huang N., The Influence of Polyethylene Terephthalate Surfaces Modified by Silver Ion Implantation on Bacterial Adhesion Behavior, *Surface and Coating Technology*, 2007, **201**, 8155–8159.
- [37] Hardes J., Ahrens H., Gebert C., Streitbuerger A., Buerger H., Erren M., Gonsel A., Wedemeyer C., Saxler G., Winkelmann W., Gosheger G., Lack of Toxicological Side-Effects in Silvercoated Megaprotheses in Humans, *Biomaterials*, 2007, **28**, 2869–2875.

- [38] Percival S. L., Bowler P. G., Russell D., Bacterial Resistance to Silver in Wound Care, *Journal of Hospital Infection*, 2005, **60**, 1–7.
- [39] Kelly P. J., Li H., Whitehead K. A., Verran J., Arnell R. D., Iordanova I., A Study of The Antimicrobial and Tribological Properties of Tin/Ag Nanocomposite Coatings, *Surface and Coatings Technology*, 2009, **204**, 1137-1140.
- [40] De los Arcos T., Oelhafen P., Aebi U., Hefti A., Düggelin M., Mathys D., Guggenheim R., Preparation and Characterization of Tin–Ag Nanocomposite Films, *Vacuum*, 2002, **67**, 463-470.
- [41] Huang H. L., Chang Y. Y., Lai M. C., Lin C. R., Lai C. H., Shieh T. M., Antibacterial TaN-Ag Coatings on Titanium Dental Implants, *Surface and Coatings Technology*, 2010, **205**, 1636-1641.
- [42] Hsieh J. H., Tseng C. C., Chang Y. K., Chang S. Y., Wu W., Antibacterial Behavior Of TaN–Ag Nanocomposite Thin Films with and without Annealing, *Surface and Coatings Technology*, 2008, **202**, 5586-5589.
- [43] Marciano F. R., Bonetti L. F., Santos L. V., Da-Silva N. S., Corat E. J., Trava-Airoldi V. J., Antibacterial Activity of DLC And Ag–DLC Films Produced by PECVD Technique, *Diamond and Related Materials*, 2009, **18**, 1010-1014.
- [44] Hauert R., A Review of Modified DLC Coatings for Biological Applications, *Diamond and Related Materials*, 2003, **12**, 583-589.
- [45] Lackner J. M., Waldhauser W., İnal K., Gümüş S., Polat Ş., İmplant için Antibakteriyel Osseokondüktif İnce Film, 2014, 2014/13586 Türk Patent ve Marka Kurumu (incelemede).
- [46] Dowling D. P., Betts A. J., Pope C., McConnell M. L., Eloy R., Arnaud M. N., Anti-Bacterial Silver Coatings Exhibiting Enhanced Activity Through the Addition of Platinum, *Surface and Coatings Technology*, 2003, **163 –164**, 637–640.
- [47] Betts A. J., Dowling D. P., McConnell M. L., Pope C., The Influence of Platinum on the Performance of Silver–Platinum Anti-Bacterial Coatings, *Materials and Design*, 2005, **26**, 217–222.
- [48] Kumar R., Münstedt H., Silver Ion Release From Antimicrobial Polyamide/Silver Composites, *Biomaterials*, 2005, **26**, 2081–2088.
- [49] Damm C., Münstedt H., Kinetic Aspects of the Silver Ion Release From Antimicrobial Polyamide/Silver Nanocomposites, *Applied Physics A*, 2008, **91**, 479–486.

- [50] Morrison M. L., Buchanan R. A., Liaw P. K., Berry C. J., Brigmon R. L., Riester L., Abernathy H., Jin C., Narayan R. J., Electrochemical and Antimicrobial Properties of Diamondlike Carbon-Metal Composite Films, *Diamond & Related Materials*, 2006, **15**, 138-146.
- [51] Liu C., Zhao Q., Liu Y., Wang S., Abel E. W., Reduction of Bacterial Adhesion on Modified DL Coatings, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, **61**, 182–187.
- [52] Williams D. F., Consensus and Definitions in Biomaterials, Editors: de Putter C., de Lange G. L., de Groot, K., Lee A. J. C., *Advances in Biomaterials*, Elsevier Science, Amsterdam, 11-16, 1988.
- [53] Park J. B., Bronzino J. D., *Biomaterials: Principles and Applications*, 1st ed., CRC Press LLC, Washington, 2003.
- [54] Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Leong K. W., Biomedical Applications of Polymer-Composite Materials: A Review, *Composites Science and Technology*, 2001, **61**, 1189-1224.
- [55] Bhat S. V., *Biomaterials*, Narosa Publishing, New Delhi, 26-27, 2002.
- [56] Yang K., Ren Y., Nickel-Free Austenitic Stainless Steels for Medical Applications, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 2010, **11**, 1-13.
- [57] Hakkarainen T. J., Microbiologically Influenced Corrosion of Stainless Steels – What is Required for Pitting?, *Materials and Corrosion*, 2003, **54**, 503–509.
- [58] Mudali U. K., Sridhar T. M., Raj B., Corrosion of Bio Implants, *Sadhana*, 2003, **28**, 601–637.
- [59] Lütjering G., Williams J. C., *Titanium*, Springer, Berlin, 399-403, 2007.
- [60] Asphahani A. I., Andersen P., Zimmer J., Crook P., *ASM Handbook: Corrosion*, ASM International, Materials Park, Ohio, 665-668, 1987.
- [61] Disegi J. A., Kennedy R. L., Pilliar R. (Editors) *Cobalt-Base Alloys for Biomedical Applications*, ASTM-STP 1365, ASTM, West Conshohocken, PA, 1999.
- [62] Manivasagam G., Dhinasekaran D., Rajamanickam A., Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention- A Review, *Recent Patents on Corrosion Science*, 2010, **2**, 40-54.
- [63] Gümüşdereli M., Biyomalzemeler, *Tübitak Bilim Teknik Dergisi*, Temmuz 2002, 2-11.
- [64] Park J., Lakes R. S., *Biomaterials: An Introduction*, 3rd ed., Springer Science, New York, 3, 2007.

- [65] Black J., Hasting, G. W., *Handbook of Biomaterials Properties*, Chapman and Hall, London, 1998.
- [66] Roach P., Eglin D., Rohde K., Perry C. C., Modern Biomaterials: A Review-Bulk Properties and Implications of Surface Modifications, *Journal of Materials Science: Mater. Med.*, 2007, **18**, 1263-1277.
- [67] Lackner J. M., Waldhauser W., Vakuumbeschichtungen in der Medizintechnik: Grundlagen für Biokompatible Anwendungen-Verfahren und Produkte - Probleme und Risiken, *Jahrbuch der Oberflächentechnik*, 2009, **65**, 398-414.
- [68] Repenning D., Beschichtungen auf Implantaten, Editors: Grading R., Gollwitzer H., *Ossäre Integration*, Springer, Berlin, 53-61, 2006.
- [69] Ratner B. D., Hoffman A. S., Schoen F. J., Lemons J. E. (Editors) *Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine*, Elsevier, San Diego, 2004.
- [70] Roy R. K., Lee K. R., Biomedical Applications of Diamond-Like Carbon Coatings: A Review, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2007, **83**, 72-84.
- [71] Vandrovcová M., Bačáková L., Adhesion, Growth and Differentiation of Osteoblasts on Surface-Modified Materials Developed for Bone Implants, *Physiol. Res.*, 2011, **60**, 403-417.
- [72] Engler A., Bačáková L., Newman C., Hategan A., Griffin M., Discher D., Substrate Compliance versus Ligand Density in Cell on Gel Responses, *Biophys. J.*, 2004, **86**, 617-628.
- [73] Bačáková L., Filová E., Rypáček F., Švorčík V., Starý V., Cell Adhesion on Artificial Materials for Tissue Engineering, *Physiol Res.*, 2004, **53**(Suppl 1), 35-45.
- [74] Bačáková L., Švorčík V., Cell Colonization Control by Physical and Chemical Modification of Materials, Editors: Kimura D., *Cell Growth Processes: New Research*, Nova Science Publishers, New York, 1-54, 2008.
- [75] Wilson C. J, Clegg R. E., Leavesley D. I., Percy M. J., Mediation of Biomaterial-Cell Interactions by Adsorbed Proteins: A Review, *Tissue Engineering*, 2005, **11**(1/2), 1-18.
- [76] Siebers M. C., ter Brugge P. J., Walboomers X. F., Jansen J. A., Integrins as Linker Proteins Between Osteoblasts and Bone Replacing Materials. A Critical Review, *Biomaterials*, 2005, **26**, 137-146.
- [77] Bökel C., Brown N. H., Integrins in Development: Moving on, Responding to, and Sticking to The Extracellular Matrix, *Developmental Cell*, 2002, **3**, 311-321.

- [78] Mogilner, A., Oster, G., Cell Motility Driven by Actin Polymerization, *Biophysical Journal*, 1996, **71**, 3030-3045.
- [79] Beningo K. A., Dembo M, Kaverina I., Small J. V., Wang Y. L., Nascent Focal Adhesions are Responsible for the Generation of Strong Propulsive Forces in Migrating Fibroblasts, *Journal of Cell Biology*, 2001, **153**(4), 881-887.
- [80] Zimmerman B., Arnold M., Ulmer J. Blummel J., Besser A., Spatz J. P., Geiger, B., Formation of Focal Adhesion-Stress Fibre Complexes Coordinated by Adhesive and Non-Adhesive Surface Domains, *IEE Proceedings Nanobiotechnology*, 2004, **151**(2), 62-66.
- [81] Ito Y., Surface Micropatterning to Regulate Cell Functions, *Biomaterials*, 1999, **20**, 2333-2342.
- [82] He J., Zhou W., Zhou X., Zhong X., Zhang X., Wan P., Zhu B., Chen W., The Anatase Phase of Nanotopography Titania Plays an Important Role on Osteoblast Cell Morphology and Proliferation, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2008, **19**(11), 3465-3472.
- [83] Webster T. J, Ergun C., Doremus R. H., Siegel R. W., Bizios R., Specific Proteins Mediate Enhanced Osteoblast Adhesion on Nanophase Ceramics, *Journal of Biomedical Material Research A*, 2000, **51**, 475-483.
- [84] Price R. L., Ellison K., Haberstroh K. M., Webster T. J., Nanometer Surface Roughness Increases Select Osteoblast Adhesion on Carbon Nanofiber Compacts, *Journal of Biomedical Material Research A*, 2004, **70**, 129-138.
- [85] Lincks J, Boyan B. D., Blanchard C. R, Lohmann C. H., Liu Y., Cochran D. L., Dean D. D., Schwartz Z., Response of MG63 Osteoblast-Like Cells to Titanium and Titanium Alloy is Dependent on Surface Roughness and Composition, *Biomaterials*, 1998, **19**, 2219-2232.
- [86] Bačáková L., Starý V., Kofroňová O., Lisá V., Polishing and Coating Carbon Fiber-Reinforced Carbon Composites with a Carbon-Titanium Layer Enhances Adhesion and Growth of Osteoblast-Like MG63 Cells and Vascular Smooth Muscle Cells *in Vitro*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 2001, **54**, 567-578.
- [87] Zhao G., Raines A. L., Wieland M., Schwartz Z., Boyan B. D., Requirement for both Micron- and Submicron Scale Structure for Synergistic Responses of Osteoblasts to Substrate Surface Energy and Topography, *Biomaterials*, 2007, **28**, 2821-2829.
- [88] Khang D., Lu J., Yao C., Haberstroh K. M., Webster T. J, The Role of Nanometer and Sub-Micron Surface Features on Vascular and Bone Cell Adhesion on Titanium, *Biomaterials*, 2008, **29**, 970-983.

- [89] Liu H., Yazıcı H., Ergun C., Webster T. J., Bermek H., An *in Vitro* Evaluation of the Ca/P Ratio for the Cytocompatibility of Nano-to-Micron Particulate Calcium Phosphates for Bone Regeneration, *Acta Biomaterialia*, 2008, **4**, 1472-1479.
- [90] Mendonça G., Mendonça D. B. S., Aragão F. J. L., Cooper L. F., Advancing Dental Implant Surface Technology –From Micron- To Nanotopography, *Biomaterials*, 2008, **29**, 3822-3835.
- [91] Webster T. J., Ergun C., Doremus R. H., Siegel R. W., Bizios R., Enhanced Functions of Osteoblasts on Nanophase Ceramics, *Biomaterials*, 2000, **21**, 1803-1810.
- [92] Christenson E. M., Anseth K. S., Van den Beucken J. J. J. P., Chan C. K., Ercan B., Jansen J. A., Laurencin C. T., Li W. J., Murugan R., Nair L. S. , Ramakrishna S., Tuan R. S., Webster T. J., Mikos A.G., Nanobiomaterial Applications in Orthopedics, *J. Orthop. Res.*, 2007, **25**, 11-22.
- [93] Starý V., Bačáková L., Horník J., Chmelík V., Bio-Compatibility of the Surface Layer of Pyrolytic Graphite, *Thin Solid Films*, 2003, **433**, 191-198.
- [94] Starý V., Glogar P., Bačáková L., Hnilica F., Chmelík V., Kořínek Z., Gregor J., Mareš V., Lisá V., A Study of Surface Properties of Composite Materials and their Influence on the Biocompatibility, *Acta Montana AB*, 2003, **11**, 19-36.
- [95] Rosa A. L., Beloti M. M., Effect of cpTi Surface Roughness on Human Bone Marrow Cell Attachment, Proliferation and Differentiation, *Braz. Dent. J.*, 2003, **14**, 16-21.
- [96] Zhu X., Chen J., Scheiderler L., Altebaeumer T., Geis-Gerstorfer J., Kern D., Cellular Reactions of Osteoblasts to Micron- and Submicron-Scale Porous Structures of Titanium Surfaces, *Cells Tissues Organs*, 2004, **178**, 13-22.
- [97] Rice J. M., Hunt J. A., Gallagher J. A., Hanarp P., Sutherland D. S., Gold J., Quantitative Assessment of the Response of Primary Derived Human Osteoblast and Macrophages to a Range of Nanotopography Surfaces in a Single Culture Model *in Vitro*, *Biomaterials*, 2003, **24**, 4799-4818.
- [98] Kunzler T. P., Huwiler C., Drobek T., Vörös J., Spencer N. D., Systematic Study of Osteoblast Response to Nanotopography by Means of Nanoparticle-Density Gradients, *Biomaterials*, 2007, **28**, 5000-5006.
- [99] Keselowsky B. G., Collard D. M., Garcia A. J., Integrin Binding Specificity Regulates Biomaterial Surface Chemistry Effects on Cell Differentiation, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2005, **102**, 5953-5957.
- [100] Kasemo B., Biological Surface Science, *Surface Science*, 2002, **500**, 656–677.

- [101] Anselme K., Osteoblast Adhesion on Biomaterials, *Biomaterials*, 2000, **21**, 667-681.
- [102] Stevens M. M., George J. H., Exploring and Engineering the Cell Surface Interface, *Science*, 2005, **310**(5751), 1135-1138.
- [103] Raucci M. G., Gloria A., de Santis R., Ambrosio L., Introduction to Biomaterials for Spinal Surgery, Editors: Ambrosio L., Tanner E., *Biomaterials for Spinal Surgery*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2012.
- [104] Adams M. A., Roughley P. J., What is Intervertebral Disc Degeneration and What Causes it?, *Spine*, 2006, **31**(18), 2151-2161.
- [105] Roughley P. J., Biology of Intervertebral Disc Aging and Degeneration: Involvement of the Extracellular Matrix, *Spine*, 2004, **29**(23), 2691–2699.
- [106] Walker M. H., Anderson D. G. Molecular Basis of Intervertebral Disc Degeneration, *The Spine Journal*, 2004, **4**, 158–166.
- [107] Kalson N. S., Richardson S., Hoyland J. A., Strategies for Regeneration of the Intervertebral Disc, *Regenerative Medicine*, 2008, **3**(5), 715–729.
- [108] Nerurkar N. L., Sen S., Huang A. H., Elliott D. M., Mauck R. L., Engineered Disc-Like Angle-Ply Structures for Intervertebral Disc Replacement, *Spine*, 2010, **35**(8), 867–873.
- [109] Bao Q. B., McCullen G. M., Higham P. A., Dumbleton J. H., Yuan H. A., The Artificial Disc: Theory, Design and Materials, *Biomaterials*, 1996, **17**, 1157–1167.
- [110] Gloria A., de Santis R., Causa F., Ambrosio, L., Composite Materials for Spinal Implants, Editors: Ambrosio L., *Biomedical Composites*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge 178–200, 2010.
- [111] Bowles R. D., Williams R. M., Zipfel W. R., Bonassar L. J., Self-Assembly of Aligned Tissue-Engineered Annulus Fibrosus and Intervertebral Disc Composite via Collagen Gel Contraction, *Tissue Eng. Part A*, 2010, **16**, 1339–1348.
- [112] Wei A., Chung S. A., Tao H., Brisby H., Lin Z., Shen B., Ma D. D. F., Diwan A. D., Differentiation of Rodent Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells into Intervertebral Disc-Like Cells Following Co-Culture with Rat Disc Tissue, *Tissue Eng. Part A*, 2009, **15**, 2581-2595.
- [113] Sakai D., Future Perspectives of Cell-Based Therapy for Intervertebral Disc Disease, *Eur. Spine J.*, 2008, **17**, 452–458.
- [114] Alini M., Roughley P. J., Antoniou J., Stoll T., Aebi M., A Biological Approach to Treating Disc Degeneration: Not for Today, but Maybe for Tomorrow, *Eur. Spine J.*, 2002, **11**, 215–220.

- [115] An H. S., Thonar E. J., Masuda K., Biological Repair of Intervertebral Disc, *Spine*, 2003, **28**, 86–92.
- [116] Anderson D. G., Albert T. J., Fraser J. K., Risbud M., Wuisman P., Meisel H. J., Tannoury C., Shapiro I., Vaccaro A. R., Cellular Therapy for Disc Degeneration, *Spine*, 2005, **30**, 14–19.
- [117] Gloria A., Causa F., de Santis R., Netti P. A., Ambrosio, L., Dynamic-Mechanical Properties of A Novel Composite Intervertebral Disc Prosthesis, *J. Mater. Sci: Mater. in Med.*, 2007, **18**, 2159–2165.
- [118] Deyo R. A., Nachemson A., Mirza S.K., Spinal-Fusion Surgery: The Case for Restraint, *N. Engl. J. Med.*, 2004, **350**(7), 722–726.
- [119] Becker C., Spine-Tingling Prospects: Artificial Disc Implants are Among The New Technologies Expected to Revolutionize the Outcomes of Back Surgery, *Mod. Healthc.*, 2003, **33**, 30–32.
- [120] McAfee P. C., Current Concepts Review: Interbody Fusion Cages in Reconstructive Operations on The Spine, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1999, **81**, 859–880.
- [121] Kuslich S. D., Ulstrom C. L., Griffith S. L., Ahern J. W., Dowdle J. D., The Bagby and Kuslich Method of Lumbar Interbody Fusion: History, Techniques, and 2-Year Follow-Up Results of A United States Prospective, Multicenter Trial, *Spine*, 1998, **23**(11), 1267–1278.
- [122] Becker C., Spine-Tingling Prospects: Artificial Disc Implants Are Among The New Technologies Expected to Revolutionize The Outcomes of Back Surgery, *Mod. Healthc.*, 2003, **33**(45), 30–32.
- [123] Burkus J. K., Intervertebral Fixation: Clinical Results with Anterior Cages, *Orthop. Clin. N. Am.*, 2002, **33**(2), 349–357.
- [124] Burkus J. K., Gornet M. F., Dickman C. A., Zdeblick T. A., Anterior Lumbar Interbody Fusion Using Rhbmp-2 with Tapered Interbody Cages, *J. Spinal Disord. Tech.*, 2002, **15**(5), 337–349.
- [125] Kleinstueck F. S., Hu S. S., Bradford D. S., Use of Allograft Femoral Rings for Spinal Deformity in Adults, *Clin. Orthop. Rel. Res.*, 2002, **394**, 84–91.
- [126] Kuslich S. D., Davidson G., Dowdle J. D., Four-Year Follow-Up Results of Lumbar Spine Arthrodesis Using Bagby and Kuslich Lumbar Fusion Cage, *Spine*, 2000, **25**, 2656–2663.
- [127] Hacker R. J., Comparison of Interbody Fusion Approaches for Disabling Low Back Pain, *Spine*, 1997, **22**, 660–665.

- [128] Slosar P. J., Technological Advancements in Spinal Fusion Implants: A Summary of The Current Scientific And Clinical Research on Titanium Engineered Surfaces, *Journal of The Spinal Research Foundation*, 2014, **9**, 35-41.
- [129] Zdeblick T. A., Phillips F. M., Interbody Cage Devices, *Spine*, 2003, **28**, 2-7.
- [130] Olivares-Navarrete R., Gittens R. A., Schneider J. M., Hyzy S. L., Haithcock D. A., Ullrich P. F., Schwartz Z., Boyan B. D., Osteoblasts Exhibit A More Differentiated Phenotype and Increased Bone Morphogenetic Protein Production on Titanium Alloy Substrates Than on Poly-Ether-Ether-Ketone, *Spine J.*, 2012, **12**, 265-272.
- [131] Olivares-Navarrete R., Hyzy S. L., Gittens R. A., Schneider J. M., Haithcock D., Ullrich P., Slosar P. J., Schwartz Z., Boyan B. D., Rough Titanium Alloys Regulate Osteoblast Production of Angiogenic Factors, *Spine J.*, 2013, **13**, 1563-1570.
- [132] Schwartz Z., Raz P., Zhao G., Barak y., Tauber M., Yao H., Boyan B. D., Effect of Micrometer-Scale Roughness on The Surface of Ti6al4v Pedicle Screws *in Vitro* and *in Vivo*, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 2008, **90**, 2485-2498.
- [133] De Leonardis D., Garg A. K., Pecora G. E., Osseointegration of Rough Acid-Etched Titanium Implants: 5 Year Follow-Up of 100 Minimatic Implants, *Int. J. Oral. Maxilofac Implants*, 1999, **14**, 384-391.
- [134] Cabraja M., Özdemir S., Koeppen D., Kroppenstedt S., Anterior Cervical Discectomy and Fusion: Comparison of Titanium and Polyetheretherketone Cages, *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2012, **13**(172), 1-9.
- [135] Dorai Z., Morgan H., Coimbra C., Titanium Cage Reconstruction after Cervical Corpectomy, *Journal of Neurosurgery*, 2003, **99**, 3-7.
- [136] Hacker R. J., A Randomized Prospective Study of an Anterior Cervical Interbody Fusion Device with A Minimum of 2 Years of Follow-Up Results, *Journal of Neurosurgery: Spine*, 2000, **93**, 222-226.
- [137] Mastronardi L., Ducati A., Ferrante L., Anterior Cervical Fusion with Polyetheretherketone (PEEK) Cages in The Treatment of Degenerative Disc Disease. Preliminary Observations in 36 Consecutive Cases with A Minimum 12-Month Follow-up, *Acta Neurochir (Wien)*, 2006, **148**(3), 307-312.
- [138] Vadapalli S., Sairyo K., Goel V. K., Robon M., Biyani A., Khandha A., Ebraheim N. A., Biomechanical Rationale for Using Polyetheretherketone (PEEK) Spacers for Lumbar Interbody Fusion - A Finite Element Study, *Spine*, 2006, **31**(26), E992-E998.

- [139] Hacker R. J., Cauthen J. C., Gilbert T. J., Griffith S. L., A Prospective Randomized Multicenter Clinical Evaluation of An Anterior Cervical Fusion Cage, *Spine*, 2000, **25**(20), 2646–2655.
- [140] Profeta G., de Falco R., Ianniciello G., Profeta L., Cigliano A., Raja A. I., Preliminary Experience with Anterior Cervical Microdiscectomy and Interbody Titanium Cage Fusion (Novus Ct-Ti) in Patients with Cervical Disc Disease, *Surg. Neurol.*, 2000, **53**(5), 417–426.
- [141] Cabraja M., Kroppenstedt S., Bone Grafting and Substitutes in Spine Surgery, *J. Neurosurg. Sci.*, 2012, **56**(2), 87–95.
- [142] McKenna P. J., Freeman B. J. C., Mulholland R. C., Grevitt M. P., Webb J. K., Mehdian S. H., A Prospective, Randomised Controlled Trial of Femoral Ring Allograft Versus A Titanium Cage in Circumferential Lumbar Spinal Fusion with Minimum 2-Year Clinical Results, *Eur. Spine J.*, 2005, **14**(8), 727–737.
- [143] Brantigan J. W., Steffee A. D., Lewis M. L., Quinn L. M., Persenaire J. M., Lumbar Interbody Fusion Using The Brantigan I/F Cage for Posterior Lumbar Interbody Fusion and The Variable Pedicle Screw Placement System: Twoyear Results From A Food And Drug Administration Investigational Device Exemption Clinical Trial, *Spine*, 2000, **25**(11), 1437–1446.
- [144] Cutler A. R., Siddiqui S., Mohan A. L., Hillard V. H., Cerabona F., Das K., Comparison of Polyetheretherketone Cages with Femoral Cortical Bone Allograft as A Single-Piece Interbody Spacer in Transforaminal Lumbar Interbody Fusion, *Journal of Neurosurgery: Spine*, 2006, **5**(6), 534–539.
- [145] Chou Y. C., Chen D. C., Hsieh W. A., Chen W. F., Yen P. S., Harnod T., Chiou T. L., Chang Y. L., Su C. F., Lin S. Z., Chen S. Y., Efficacy of Anterior Cervical Fusion: Comparison of Titanium Cages, Polyetheretherketone (PEEK) Cages and Autogenous Bone Grafts, *Journal of Clinical Neuroscience*, 2008, **15**(11), 1240–1245.
- [146] Niu C. C., Liao J. C., Chen W. J., Chen L. H., Outcomes of Interbody Fusion Cages Used in 1 and 2-Levels Anterior Cervical Discectomy and Fusion: Titanium Cages Versus Polyetheretherketone (PEEK) Cages, *J. Spinal Disord. Tech.*, 2012, **23**(5), 310–316.
- [147] Boinard E., Pethrick R. A., McFarlane C. J., The Influence of Thermal History on The Dynamic Mechanical and Dielectric Studies of Polyetheretherketone Exposed to Water and Brine, *Polymer*, 2000, **41**, 1063–1076.
- [148] Kurtz S. M., Devine J. N., PEEK Biomaterials in Trauma, Orthopedic and Spinal Implants, *Biomaterials*, 2007, **28**, 4845–4869.

- [149] Cho D. Y., Lee W. Y., Sheu P. C., Treatment of Multilevel Cervical Fusion with Cages, *Surg. Neurol.*, 2004, **62**(5), 378-386.
- [150] Cho D. Y., Lee W. Y., Sheu P. C., Chen C. C., Cage Containing A Biphasic Calcium Phosphate Ceramic (Triosite) for The Treatment of Cervical Spondylosis, *Surg. Neurol.*, 2005, **63**(6), 497-504.
- [151] Cho D. Y., Liao W. R., Lee W. Y., Liu J. T., Chiu C. L., Sheu P. C., Haid R. W., Benzel E. C., Sonntag V. K. H., McCormick P. C., Kaiser M. G., Preliminary Experience Using A Polyetheretherketone (Peek) Cage in The Treatment of Cervical Disc Disease, *Neurosurgery*, 2002, **51**(6), 1343-1350.
- [152] Spruit M., Falk R. G., Beckmann L., Steffen T., Castelein R. M., The *in Vitro* Stabilising Effect of Polyetheretherketone Cages Versus A Titanium Cage of Similar Design for Anterior Lumbar Interbody Fusion, *Eur. Spine J.*, 2005, **14**(8), 752-758.
- [153] Kettler A., Schmoelz W., Kast E., Gottwald M., Claes L., Wilke H. J., *In Vitro* Stabilizing Effect of A Transforaminal Compared with Two Posterior Lumbar Interbody Fusion Cages, *Spine*, 2005, **30**(22), E665-E670.
- [154] Ferguson S. J., Visser J. M. A., Polikeit A., The Long-Term Mechanical Integrity of Non-Reinforced PEEK-Optima Polymer for Demanding Spinal Applications: Experimental and Finite-Element Analysis, *Eur. Spine J.*, 2006, **15**(2), 149-156.
- [155] Toth J. M., Wang M., Estes B. T., Scifert J. L., Seim III H. B. , Turner A. S., Polyetheretherketone As A Biomaterial for Spinal Applications, *Biomaterials*, 2006, **27**(3), 324-334.
- [156] Ha K. Y., Chung Y. G., Ryoo S. J., Adherence and Biofilm Formation of *Staphylococcus Epidermidis* and *Mycobacterium Tuberculosis* on Various Spinal Implants, *Spine*, 2004, **30**(1), 38-43.
- [157] Leaper D., McBain A. J., Kramer A., Assadian O., Sanchez J. L. A., Lumio J., Kiernan M., Healthcare Associated Infection: Novel Strategies and Antimicrobial Implants to Prevent Surgical Site Infection, *Ann. R. Coll. Surg. Engl.*, 2010, **92**, 453-458.
- [158] Gracia E., Fernandez A., Conchello P., Lacleriga A., Paniagua L., Seral F., Amorena B., Adherence of *Staphylococcus Aureus* Slime-Producing Strain Variants to Biomaterials Used in Orthopaedic Surgery, *Int. Orthop.*, 1997, **21**, 46-51.
- [159] Gristina A. G., Costerton W. J., Bacterial Adherence and The Glycocalyx and Their Role in Musculoskeletal Infection, *Orthop. Clin. North Am.*, 1984, **15**, 517-535.

- [160] Gristina A. G., Costerton W. J., Carolina N, *et al.*, Bacterial Adherence to Biomaterials and Tissue. The Significance of Its Role in Clinical Sepsis , *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1985, **67**, 264–73.
- [161] Lee C. J., Lee K. M., Min B. I., *et al.*, Effect of Slime-Producing *Staphylococcus Epidermidis*' Adherence Capability and Time to Biomaterials on The Antibacterial Resistance. *J. Korean Orthop. Assoc.*, 1995, **30**, 1564–1572.
- [162] Petty W., Spanier S., Shuster J. J., *et al.*, The Influence of Skeletal Implants on Incidence of Infection, *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1985, **67**, 1236–1244.
- [163] Printzen G., Relevance Pathogenicity and Virulence of Microorganisms in Implant Related Infections, *Injury*, 1996, **27**, 9-15.
- [164] Arens S., Schlegel U., Printzen G., Ziegler W. J., Perren S. M., Hansis M., Influence of Materials for Fixation Implants on Local Infection, *J. Bone Joint Surg. Br.*, 1996, **78**, 647–651.
- [165] Cordero J., Munuera L., Folgueira M. D., Influence of Metal Implants on Infection, *J. Bone Joint Surg. Br.*, 1994, **76**, 717–720.
- [166] Wu-Yuan C. D., Eganhouse K. J., Keller J. C., Walters K. S., Oral Bacterial Attachment to Titanium Surfaces: A Scanning Electron Microscopy Study, *J. Oral Implantol.*, 1995, **21**, 207–213.
- [167] Quirynen M., Bollen C. M. L., The Influence of Surface Roughness and Surface Free Energy on Supra- and Sub-Gingival Plaque Formation in Man, *J. Clin. Periodontol.*, 1995, **22**, 1–14.
- [168] Liu J. T., Liao W. J., Chang C. S., Chen Y. H., Management of Deep Infection After Instrumentation on Lumbar Spinal Surgery in A Single Institution, *BioMed Research International*, DOI: 10.1155/2015/842010.
- [169] Umer M., Umer H. M., Qadir I., Rashid H., Awan R., Askari R., Ashraf S., Autoclaved Tumor Bone For Skeletal Reconstruction In Paediatric Patients: A Low Cost Alternative in Developing Countries, *BioMed Research International*, DOI: 10.1155/2013/698461.
- [170] Udobi C. E., Obajuluwa A. F., Onaolapo J. A., Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* From An Orthopaedic Hospital in Nigeria, *BioMed Research International*, DOI: 10.1155/2013/860467.
- [171] Motolese A., Vignati F., Brambilla R., Cerati M., Passi A., Interaction Between A Regenerative Matrix and Wound Bed in Nonhealing Ulcers: Results with 16 Cases, *BioMed Research International*, DOI: 10.1155/2013/849321.

- [172] Awad S. S., Adherence to Surgical Care Improvement Project Measures and Post-Operative Surgical Site Infections, *Surgical Infections*, 2012, **13**(4), 234–237.
- [173] Chikawa T., Sakai T., Bhatia N. N., Sairyo K., Utunomiya R., Nakamura M., Nakano S., Shimakawa T., Minato A., Retrospective Study of Deep Surgical Site Infections Following Spinal Surgery and The Effectiveness of Continuous Irrigation, *British Journal of Neurosurgery*, 2011, **25**(5), 621–624.
- [174] O’Toole J. E., Eichholz K. M., Fessler R. G., Surgical Site Infection Rates After Minimally Invasive Spinal Surgery, *Journal of Neurosurgery: Spine*, 2009, **11**(4), 471–476.
- [175] Maa M. C., Infectious Diseases: A Never-Ending Threat, *BioMedicine*, 2013, **3**(1), 1.
- [176] Schimmel J. J. P., Horsting P. P., de Kleuver M., Wonders G., van Limbeek J., Risk Factors for Deep Surgical Site Infections After Spinal Fusion, *European Spine Journal*, 2010, **19**(10), 1711–1719.
- [177] Fang A., Hu S. S., Endres N., Bradford D. S., Risk Factors for Infection After Spinal Surgery, *Spine*, 2005, **30**(12), 1460–1465.
- [178] Olsen M. A., Mayfield J., Laurysen C., Polish L. B., Jones M., Vest J., Fraser V. J., Risk Factors for Surgical Site Infection in Spinal Surgery, *Journal of Neurosurgery:Spine*, 2003, **98**(2), 149–155.
- [179] Kowalski T. J., Berbari E. F., Huddleston P. M., Steckelberg J. M., Mandrekar J. N., Osmon D. R., The Management and Outcome of Spinal Implant Infections: Contemporary Retrospective Cohort Study, *Clinical Infectious Diseases*, 2007, **44**, 913–920.
- [180] Bose B., Delayed Infection After Instrumented Spine Surgery: Case Reports and Review of The Literature, *Spine J.*, 2003, **3**, 394–399.
- [181] Viola R. W., King H. A., Adler S. M., Wilson C. B., Delayed Infection after Elective Spinal Instrumentation and Fusion: A Retrospective Analysis of Eight Cases, *Spine*, 1997, **22**, 2444–2450.
- [182] Sponseller P. D., LaPorte D. M., Hungerford M. W., Eck K., Bridwell K. H., Lenke L. G., Deep Wound Infections After Neuromuscular Scoliosis Surgery: A Multicenter Study of Risk Factors and Treatment Outcomes, *Spine*, 2000, **25**, 2461–2466.
- [183] Perry J. W., Montgomerie J. Z., Swank S., Gilmore D. S., Maeder K., Wound Infections Following Spinal Fusion with Posterior Segmental Spinal Instrumentation, *Clin. Infect. Dis.*, 1997, **24**, 558–561.

- [184] Ribeiro M., Monteiro F. J., Ferraz M. P., Infection of Orthopedic Implants with Emphasis on Bacterial Adhesion Process and Techniques Used in Studying Bacterial-Material Interactions, *Biomatter*, 2012, **2**(4), 176–194.
- [185] Davies D., Understanding Biofilm Resistance to Antibacterial Agents, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2003, **2**, 114-122.
- [186] Gristina A. G., Naylor P., Myrvik Q., Infections From Biomaterials and Implants: A Race for The Surface, *Med. Prog. Technol.*, 1988-1989, **14**, 205-224.
- [187] Montanaro L., Campoccia D., Arciola C. R., Nanostructured Materials for Inhibition of Bacterial Adhesion in Orthopedic Implants: A Minireview, *Int. J. Artif. Organs.*, 2008, **31**, 771-776.
- [188] Cullity B. D., *Elements of X-Ray Diffraction*, Addison- Wesley Publishing, Massachusetts, 1956.
- [189] Arshi N., Lu J., Lee C. G., Yoon J. H., Koo B. H., Ahmed F., Thickness Effect on Properties of Titanium Film Deposited by D.C. Magnetron Sputtering and Electron Beam Evaporation Techniques, *Bull. Mater. Sci.*, 2013, **36**(5), 807–812.
- [190] Kumar B. R., Rao T. S., AFM Studies on Surface Morphology, Topography and Texture of Nanostructured Zinc Aluminum Oxide Thin Films, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2012, **7**(4), 1881-1889.
- [191] Franco A. R., Pintaúde G., Sinatora A., Pinedo C. E., Tschiptschin A. P., The Use of A Vickers Indenter In Depth Sensing Indentation for Measuring Elastic Modulus and Vickers Hardness, *Materials Research*, 2004, **7**(3), 483-491.
- [192] Bhushan B., Li X., Nanomechanical Characterisation of Solid Surfaces and Thin Films, *International Materials Reviews*, 2003, **48**(3), 125-164.
- [193] Oliver W. C., Pharr G. M., Measurement of Hardness and Elastic Modulus by Instrumented Indentation: Advances in Understanding and Refinements to Methodology, *J. Mater. Res.*, 2004, **19**(1), 3-20.
- [194] Holmberg K., Matthews A., *Coatings Tribology, Properties, Mechanisms, Techniques and Applications in Surface Engineering*, Elsevier, Oxford UK., 2009.
- [195] <http://www.anton-paar.com> (Ziyaret tarihi: 30 Mart 2017)
- [196] Subramani K., Pandravadra S. N., Puleo D. A., Hartsfield Jr. J. K., Huja S. S., *In Vitro* Evaluation of Osteoblast Responses to Carbon Nanotube-Coated Titanium Surfaces, *Progress in Orthodontics*, 2016, **17**(23), 1-9.

- [197] Lai Y. H., Kuo M. C., Huang J. C., Chen M., On The PEEK Composites Reinforced by Surface-Modified Nano-Silica, *Materials Science and Engineering A*, 2007, **458**,158–169.
- [198] Chawla V., Jayaganthan R., Chawla A. K., Chandra R., Microstructural Characterizations of Magnetron Sputtered Ti Films on Glass Substrate, *Journal of Materials Processing Technology*, 2009, **209**, 3444–3451.
- [199] Bouhtiyya S., Roue' L., Pd/Mg/Pd Thin Films Prepared by Pulsed Laser Deposition Under Different Helium Pressures: Structure and Electrochemical Hydriding Properties, *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009, **34**, 5778 – 5784.
- [200] Norek M., Stepniowski W. J., Polanski M., Zasada D., Bojar Z., Bystrzycki J., A Comparative Study on The Hydrogen Absorption of Thin Films at Room Temperature Deposited on Non-Porous Glass Substrate and Nano-Porous Anodic Aluminum Oxide (AAO) Template, *International Journal of Hydrogen Energy*, 2011, **36**, 11777-11784.
- [201] Zolanvari A., Sagha S. H., Eshaghi F., Shahedi Z., Zendehnam A., Microstructure and Residual Stress Measurement of Ag/Glass Thin Films Using *in-Situ* High-Temperature X-Ray Diffraction, *Armenian Journal of Physics*, 2016, **9**(1), 15-19.
- [202] Sutta P., Jackuliak Q., X-Ray Diffraction Line Profile Analysis of Strongly Textured Thin Films, *Materials Structure*, 1998, **5**(1), 10-14.
- [203] Durussel Ph., Feschotte P., A Revision of The Binary System Ag-Pt, *Journal of Alloys and Compounds*, 1996, **239**, 226-230.
- [204] Carvalho N. J. M., DeHosson J. Th. M., Microstructure Investigation of Magnetron Sputtered WC/C Coatings Deposited on Steel Substrates, *Thin Solid Films*, 2001, **388**, 150-159.
- [205] Alfonso E., Olaya J., Cubillos G., *Thin Film Growth Through Sputtering Technique and Its Applications*, INTECH Open Access Publisher, Colombia, 397-432, 2012.
- [206] Bull S. J., Berasetegui E. G., An Overview of The Potential of Quantitative Coating Adhesion Measurement by Scratch Testing, *Tribology International*, 2006, **39**, 99–114.
- [207] Holmberg K., Laukkanen A., Ronkainen H., Wallin K., Varjus S., Koskinen J., Tribological Contact Analysis of A Rigid Ball Sliding on A Hard Coated Surface Part I: Modelling Stresses and Strains, *Surface & Coatings Technology*, 2006, **200**, 3793 – 3809.
- [208] McCafferty E., *Introduction to Corrosion Science*, Springer, London, 2010.
- [209] Cramer S. D., Covino B. S., *ASM Handbook Corrosion: Materials*, Materials Park, Ohio, 2005.

- [210] Üneri S., *Korozyon ve Önlenmesi*, Korozyon Derneği Yayını, Ankara, 2011.
- [211] Xin Y., Liu C., Zhang X., Tang G., Tian X., Chu P. K., Corrosion Behavior of Biomedical AZ91 Magnesium Alloy in Simulated Body Fluids, *J. Mater. Res.*, 2007, **22**, 2004-2011.
- [212] Mueller W. D., Nascimento M. L., de Mele M.F. L., Critical Discussion of The Results From Different Corrosion Studies of Mg And Mg Alloys for Biomaterial Applications, *Acta Biomaterialia*, 2010, **6**, 1749–1755.
- [213] Hassan H. H., Ibrahim M. A. M., Abd El Rehim S. S., Amin M. A., Comparative Studies of The Electrochemical Behavior of Silver Electrode in Chloride, Bromide and Iodide Aqueous Solutions, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2010, **5**, 278 – 294.
- [214] Bardal E., *Corrosion and Protection*, Springer Verlag, London, 2004.
- [215] Kruger J., Passivity, Editors: Cramer S. D., Covino B. S., *Corrosion: Fundamentals, Testing, and Protection*, Vol 13A, ASM Handbook, Materials Park, Ohio, 2003.
- [216] Ahmad Z., *Principles of Corrosion Engineering and Corrosion Control*, 1st ed., Elsevier, Great Britain, 2006.
- [217] Sammoura F., Lee K. B., Lin L., Water-Activated Disposable and Long Shelf Life Microbatteries, *Sensors and Actuators A*, 2004, **111**, 79–86.
- [218] Koontz R. F., Lucero R. D., Magnesium Water-Activated Batteries, Editors: D. Linden, T.B. Reddy (Eds.), *Handbook of Batteries*, McGraw-Hill, New York, 17.1-17.27, 2002.
- [219] He X., Electrochemical Behavior and Passivity of Titanium Grades 7 and 29 Under Immersion Conditions, *Center for Nuclear Waste Regulatory Analyses San Antonio*, NRC–02–07–006, 1-20, 2011.
- [220] Lazennec J. Y., Fourniols E., Lenoir T., Aubry A., Pissonnier M.-L., Issartel B., Rousseau M.-A., Infections in The Operated Spine: Update on Risk Management and Therapeutic Strategies, *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*, 2011, **97S**, 107-116.
- [221] Feng Q. L., Wu J., Chen G. Q., Cui F. Z., Kim T. N., Kim J. O., A Mechanistic Study of The Antibacterial Effect of Silver Ions on *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000, **52**(4), 662-668.
- [222] Li Y., Liu G., Zhai Z., Liu L., Li H., Yang K., Tan L., Wan P., Liu X., Ouyang Z., Yu Z., Tang T., Zhu Z., Qu X., Dai K., Antibacterial Properties of Magnesium *in Vitro* and *in Vivo* Model of Implant-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Infection, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, **58**(12), 7586-7591.

- [223] Robinson D. A., Griffith R. W., Shechtman D., Evans R. B., Conzemius M. G., *In Vitro* Antibacterial Properties of Magnesium Metal Against *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus*, *Acta Biomater.*, 2010, **6**(5), 1869-1877.
- [224] Ma R., Lai Y. X., Li L., Tan H. L., Wang J. L., Li Y., Tang T. T., Qin L., Bacterial Inhibition Potential of 3D Rapid-Prototyped Magnesium Based Porous Composite Scaffolds– An *in Vitro* Efficacy Study, *Sci. Rep.*, DOI: 10.1038/srep13775.
- [225] Khalili A. A., Ahmad M. R., A Review of Cell Adhesion Studies for Biomedical and Biological Applications, *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, **16**, 18149-18184.
- [226] Rajaraman R., Rounds D. E., Yen S. P. S., Rembaum A., A Scanning Electron Microscope Study of Cell Adhesion and Spreading *In Vitro*, *Experimental Cell Research*, 1974, **88**, 327-339.
- [227] Mattila P. K., Lappalainen P., Filopodia: Molecular Architecture and Cellular Functions, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008, **9**, 446-454.
- [228] Hanein D., Matsudaira P., DeRosier D. J., Evidence for A Conformational Change in Actin Induced by Fimbrin (N375) Binding, *J. Cell Biol.*, 1997, **139**(2), 387–396.
- [229] Lodish H., Berk A., Zipursky S. L., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell J., *Molecular Cell Biology*, 4th ed., W. H. Freeman, New York, 2000.
- [230] Zheng Y., Xiong C., Wang Z., Zhang L., Enhanced Osteoblast Cells Adhesion, Spreading, and Proliferation to Surface-Carboxylated Poly(Etheretherketone), *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 2015, **30**(3), 302–318.
- [231] Leijnse N., Oddershede L. B., Bendix P. M., Dynamic Buckling of Actin Within Filopodia, *Communicative & Integrative Biology*, 2015, **8**(2), 1-3.
- [232] Cojoc D., Difato F., Ferrari E., Shahapure R. B., Laishram J., Righi M., Di Fabrizio E. M., Torre V., Properties of The Force Exerted by Filopodia and Lamellipodia and The Involvement of Cytoskeletal Components, *PLoS ONE*, 2007,**10**, 1-8.
- [233] Shimomura S., Matsuno H., Sanada K., Tanaka K., Cell Adhesion on Glassy Scaffolds with A Different Mechanical Response, *Journal of Materials Chemistry B*, 2017, **5**, 714-719.
- [234] Young M. F., Bone Matrix Proteins: Their Function, Regulation, and Relationship to Osteoporosis, *Osteoporos Int.*, 2003, **14**, S35–S42.
- [235] Park K. D., Lee B. A., Piao X. H., Lee K. K., Park S. W., Oh H. K., Kim Y. J., Park H. J., Effect of Magnesium and Calcium Phosphate Coatings on

- Osteoblastic Responses to The Titanium Surface, *Adv. Prosthodont.*, 2013, **5**, 402-408.
- [236] Kim S. H., Turnbull J., Guimond S., Extracellular Matrix and Cell Signalling: The Dynamic Cooperation of Integrin, Proteoglycan and Growth Factor Receptor, *Journal of Endocrinology*, 2011, **209**, 139–151.
- [237] Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter, P., *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition, Garland Science, New York, 2002.
- [238] Ko Y. M., Lee K., Kim B. H., Effect of Mg Ion on Formation of Bone-Like Apatite on The Plasma Modified Titanium Surface, *Surface & Coatings Technology*, 2013, **228**, 404–407.
- [239] He L. Y., Zhang X. M., Liu B., Tian Y., Ma W. H., Effect of Magnesium Ion On Human Osteoblast Activity, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2016, **49**(7), 1-6.
- [240] Ghimire N., Luo J., Tang R., Sun Y., Deng Y., Novel Anti-Infective Activities Of Chitosan Immobilized Titanium Surface with Enhanced Osteogenic Properties, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, **122**, 126–133.
- [241] Deng Z, Yin B., Li W., Liu J., Yang J., Zheng T., Zhang D., Yu H., Liu X., Ma J., Surface Characteristics of and *in Vitro* Behavior of Osteoblast-Like Cells on Titanium with Nanotopography Prepared by High-Energy Shot Peening, *International Journal of Nanomedicine*, 2014, **9**, 5565–5573.
- [242] Gittens R. A., McLachlan T., Cai Y., Berner S., Tannenbaum R., Schwartz Z., Sandhage K. H., Boyan B. D., The Effects of Combined Micron-/Submicron-Scale Surface Roughness and Nanoscale Features on Cell Proliferation and Differentiation, *Biomaterials*, 2011, **32**(13), 3395–3403.
- [243] Martin J. Y., Schwartz Z., Hummert T. W., Schraub D. M., Simpson J., Lankford J., *et al.*, Effect of Titanium Surface-Roughness on Proliferation, Differentiation, and Protein-Synthesis of Human Osteoblast-Like Cells (MG63), *J. Biomed. Mater. Res.*, 1995, **29**(3), 389–401.
- [244] Boyan B. D., Bonewald L. F., Paschalis E. P., Lohmann C. H., Rosser J., Cochran D. L., Dean D. D., Schwartz Z., Boskey A. L., Osteoblastmediated Mineral Deposition in Culture Is Dependent on Surface Microtopography, *Calcif. Tissue Int.*, 2002, **71**(6), 519–529.
- [245] Sul Y. T., Johansson C., Wennerberg A., Cho L. R., Chang B. S., Albrektsson T., Optimum Surface Properties of Oxidized Implants for Reinforcement of Osseointegration: Surface Chemistry, Oxide Thickness, Porosity, Roughness, and Crystal Structure, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 2005, **20**(3), 349–359.

- [246] Liu X., Lim J. Y., Donahue H. J., Dhurjati R., Mastro A. M., Vogler E. A., Influence of Substratum Surface Chemistry/Energy and Topography on The Human Fetal Osteoblastic Cell Line hFOB 1.19: Phenotypic and Genotypic Responses Observed *in Vitro*, *Biomaterials*, 2007, **28**(31), 4535–4550.
- [247] Rupp F., Scheideler L., Olshanska N., deWild M., Wieland M., Geis-Gerstorfer J., Enhancing Surface Free Energy and Hydrophilicity Through Chemical Modification of Microstructured Titanium Implant Surfaces, *J. Biomed. Mater. Res.*, 2006, **76A**, 323-334.
- [248] Att W., Tsukimura N., Suzuki T., Ogawa T., Effect of Supramicron Roughness Characteristics Produced by 1-and 2-Step Acid Etching on The Osseointegration Capability of Titanium, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 2007, **22**(5), 719–728.
- [249] Zhao G., Zinger O., Schwartz Z., Wieland M., Landolt D., Boyan B. D., Osteoblast-Like Cells Are Sensitive to Submicron-Scale Surface Structure, *Clin. Oral Implants Res.*, 2006, **17**(3), 258–264

KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER

- [1] **Gümüş S.**, Deniz V., Imaging Techniques and Application in Polymers, *Plastik*, 2008, **97**, 110-124.
- [2] **Gümüş S.**, Deniz V., Recycling of Fiber reinforced Polymer Composites, *Plastik*, 2009, **102**, 84-89.
- [3] Atapek Ş. H., **Gümüş S.**, Polat Ş., Effect of Matrix Toughness and Grain Morphology on the Fracture Behavior of Steels, *Metal Science and Heat Treatment*, 2011, **54**, 648-653.
- [4] Zeren M., Karakulak E., **Gümüş S.**, Influence of Cu addition on microstructure and hardness of near-eutectic Al-Si-xCu-alloys, *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2011, **21**, 1698-1702.
- [5] **Gümüş S.**, Özkoç G., Aytaç A., Plasticized and Unplasticized PLA/Organoclay Nanocomposites: Short and Long Term Thermal Properties, Morphology and Non-isothermal Crystallization Behavior, *Journal of Applied Polymer Science*, 2012, **123**, 2837-2848.
- [6] Polat S., Atapek S. H., Erişir E., **Gümüş S.**, Altug G. S., Çökelti Sertleştirilmiş Bakır Alaşımları ve Mikroyapıları, *Makina İmalat*, 2011, **170**, 1-6.
- [7] Türedi E., Zeren M., Erişir E., Atapek Ş. H., Gümüş S., Lazer ile Yüzey Modifikasyonu ve Yüzey Özelliklerinin Geliştirilmesi, *MakinaTek*, 2012, **177**, 90-94.
- [8] Erişir E., **Gümüş S.**, Atapek Ş. H., Polat Ş., Ünal H. İ., Biyometalik Malzemelerde Mikroyapısal İncelemeler, *MakinaTek*, 2012, **172**, 388-392.
- [9] **Gümüş S.**, Atapek Ş. H., Polat Ş., Erişir E., Alkan A., Microstructural characterization of carbides in a cast high speed steel using different metallographic techniques, *Practical Metallography*, 2012, **49**, 767-781.
- [10] Atapek Ş. H., Erişir E., **Gümüş S.**, Modeling and thermal analysis of solidification in a low alloy steel, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2013, **114**, 179-183.
- [11] Oztoprak B. G., Akman E., Hanon M. M., Günes M., **Gümüş S.**, Kacar E., Gundogdu O., Zeren M., Demir A., Laser welding of copper with stellite 6 powder and investigation using LIBS technique, *Optics & Laser Technology*, 2013, **45**, 748-755.

- [12] Atapek Ş. H., **Gümüş S.**, Polat Ş., Effect of Matrix Toughness and Grain Morphology on the Fracture Behavior of Steels, *Metal Science and Heat Treatment*, 2013, **54**, 648-653
- [13] Erişir E., Atapek Ş. H., **Gümüş S.**, Türedi E., Aytaç A., Bakır, nikel ve molibden ile önalaşımlandırılmış demir tozlarının sinterleme optimizasyonu için termodinamik bir modelleme, *Metal Dünyası*, 2013, **237**, 74-77.
- [14] Erişir E., Atapek Ş. H., **Gümüş S.**, M. Zeren, Mikroalaşımli bir dövme çeliğine vanadyum ve bor katkısının etkisi: termodinamik modelleme örnekleri, *Termodinamik*, 2013, **247**, 74-80.
- [15] Atapek Ş. H., Polat Ş., **Gümüş S.**, Erişir E., Altuğ G. S., Determination of the microstructure of powder tool steels by different etching techniques, *Metal Science and Heat Treatment*, 2014, **56**, 152-158.
- [16] Lackner J. M, **Gümüş S.**, Polat Ş., Major L., Waldhauser W., Growth of biomimetic films - influences of polymer topography and phase structure, *Bioinspired Biomimetic And Nanobiomaterials*, 2014, **3**, 146-159.
- [17] **Gümüş S.**, Polat Ş., Lackner J. M., Waldhauser W., The Correlation Between Elastic Properties and AFM Images of Nanocoatings on Polymers, *Acta Physica Polonica A*, 2015, **127**(4), 1142-1144.
- [18] Ünal H. İ., Atapek Ş. H., Beleli B. G., Polat Ş., **Gümüş S.**, Erişir E., Characterization of the fracture behaviour of X42 microalloyed pipeline steel, *International Journal of Structural Integrity*, 2015, **6**(5), 1-11.
- [19] Alkan A., **Gümüş S.**, Atapek Ş. H., Polat Ş., A case study of a stress corrosion cracking failure in a AA5083 mold material used for curing rubber compounds, *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, 2016, **52**, 1130–1135.
- [20] **Gümüş S.**, Polat Ş., Lackner J. M, Waldhauser W., Biodegradation of anti-microbial titanium-magnesium-silver coatings on polyetheretherketone for bone-contact applications, *Surface and Coatings Technology*, DOI: 10.1016/j.surfcoat.2016.11.043.

ÖZGEÇMİŞ

Serap Gümüş 1971 yılında Ankara’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Almanya’da, Lise öğrenimini Ankara’da tamamladı. 1990 yılında Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü’nü kazandı. Bir yıl İngilizce hazırlık sınıfı ile birlikte 1995 yılında mezun oldu. 1998 yılında Kalite Kontrol Mühendisi olarak Aydın Örne Tekstil A.Ş, Sakarya’da işe başladı. Sekiz ay sonra Ege Kimyas A.Ş, Sakarya’da başladı ve iki yıl Kalite Kontrol Mühendisi olarak devam etti. 2000 yılının Temmuz ayında Kocaeli Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği’nde Araştırma Görevlisi olarak başlayarak akademik hayata tekrar döndü. 2002 yılında yine aynı Bölümde uzmanlık kadrosuna geçiş yaptı. 2002-2006 yılları arasında, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı. 2007-2010 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü’ne uzman olarak görevlendirildi. 2010 yılında tekrar Kocaeli Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü’ne görevlendirildi ve halen bu bölümde görevine devam etmektedir. 2010 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladı.