

## **1.ÖZET:**

### **PLLA MEMBRANLARIN GÖZENEK BÜYÜKLÜĞÜ BELİRLEMESİ VE MİKROYAPI ANALİZİ**

Çiğdem BOZDEMİR

Dokuz Eylül Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyomekanik Anabilim Dalı

35340 Inciraltı/İzmir

Biyolojik olarak degrade olabilen materyallerin gelişimi; elde edilen ürünlerin protezlerdeki geçici materyaller olarak kullanımını uygun duruma getirmek amacıyla canlı organizma ile etkileşimlerini araştırmada yenilenen ilgiye neden olmuştur. Poli-L-laktik asit (PLLA) biyolojik olarak degrade olabilen bir poliester olup mükemmel biyoyoumluluğu ve mekanik özellikleri nedeniyle son zamanlarda birçok araştırmann konusu olmuştur ve rastgele veya blok kopolimerleri; ilaç dağıtım sistemleri, kemik fiksasyonu için implant materyalleri ve biyolojik olarak absorbe olabilen cerrahi dikişler gibi biyomedikal uygulamalar için kullanılmaktadır. Bu çalışmada PLLA membranların yüzey morfolojisi ve kemiğin trabeküler yapısına yatkınlığının araştırılması hedeflenmektedir.

Metilen klorür çözeltisi ile hazırlanan %8'lik PLLA çözeltisinden elde edilen hem selülozik destek yapıya sahip hem de desteksiz membranlar oluşturulmuştur. Membranlar arasındaki temel fark değişen miktarlardaki PLLA içeriğidir. Bunun yanı sıra selülozik destek yapıya sahip membranlar etanol çözeltisinde koagüle edilerek elde edilmiştir. Elde edilen PLLA membranların morfolojik özellikleri SEM, AFM ve IR gibi karakterizasyon teknikleriyle incelenmiştir.

PLLA membran özellikleri üzerine yaptığımız araştırma sonucunda hücrelerin entegre olmasına olanak sağlayacak porozite yapısının çok uygun olduğu çalışmamızda da ortaya koyulmuştur.

PLLA membran hücre kültürlerinde mekanik ve diğer stimülasyonlara bağlanmaya kolayca uyum ve olanak sağlayacak bir yapı olarak göz önüne alındığında, araştırmamız bu yöndeki çalışmalara teşvik edici nitelikte yol göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Poli-L-laktik asit; Biyoyoumluluk; Yüzey morfolojisi; Porozite.

## **2.ABSTRACT:**

### **DETERMINATION OF PORE SIZE OF PLLA MEBRANES AND ANALYSES OF THEIR MICROSTRUCTURE**

Çiğdem BOZDEMİR

Dokuz Eylül Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyomekanik Anabilim Dalı

35340 İnciraltı/İzmir

Development of the biodegradable materials have caused renewable interest for investigating of interactions with living organism aiming at having produced products compatible for using as temporary materials at the implants. Poly-L-lactide (PLLA) is a biodegradable thermoplastic polyester and has been the subject of many recent studies because of its excellent biocompatibility and mechanical properties, PLLA and its random or block copolymers have been used for biomedical applications, such as drug delivery systems, implant materials for bone fixation and bioabsorbable surgical sutures.

Both having structures based on cellulose and without cellulose membranes are formed by PLLA solution with the concentration of 8 Wt% prepared with methylene chloride solution. The basic difference among these membranes is PLLA content with alternating amounts. Morphologic characteristics of the obtained membranes have been investigated with the characterization methods, such as SEM, AFM and IR analyses.

As a result of our study made about qualifications of the PLLA membranes, that porous structures which will provide the integration of cells are convenient is appeared at this study, too.

When PLLA membrane is considered as the structure which will easily provide adaptation and facility for connecting to mechanical and other simlations at the cell cultures, our study has guided forthcoming researches about this subject at encouraging characteristics

**Keywords:** Poly-L-lactide; Biocompatibility; Surface morphology; Porosity.

### **3.GİRİŞ VE AMAC:**

Biyomateryaller, vücudun herhangi bir organ ve dokusunu iyileştirmeye yönelik ya da bir takım fonksiyonlarını gerçekleştirmek amacı ile tasarlanan araç ya da protezlerdir. Biyomateryaller; polimerler, metaller, seramikler ve bunların kompozitlerinden hazırlanabilir.

Vücuda yerleştirilen malzemelerin biyouyumlu ve elastik olması gerekmektedir. Materyaller statik olarak yüklemeler altında gösterdikleri direnci, dinamik olarak yüklemeler altında gösterememektedirler. Plastik deformasyon vücudun dinamik olarak çalışan bölümlerinde istenmemektedir. Kemik yüklendiği sürece mekanik (dinamik) yapı sergilemektedir. Elastik modülü (E) çok yüksek ve dolayısıyla direngenliği yüksek olan bir malzeme implant üretiminde kullanılırsa, yükün çoğunu implant taşır ve bu nedenle kemiğin taşıdığı yük miktarı azalır. Kemik ile aynı gerilme değerlerine sahip olan ve bu sebeple eşit miktarda yük taşıyabilen implantların üretimi hedeflenmektedir. İmplant üretiminde kullanılacak materyalin elastik modül değerinin mümkün olduğunca düşük olması gerekmektedir.

Biyomateryallerin vücuttaki kullanım alanına göre belli bir mukavemete sahip olması gerekmektedir. Mukavemet hem tane boyutuyla hem de gözeneklilikle ters orantılı olarak değişmektedir. Tane boyutunun küçük olması yüzey mukavemetini artırmaktadır. Benzer şekilde malzemede çatlakların başlamasını geciktirmek (engellemek), gerilme yığılmalarının ortaya çıkma riskini azaltmak amacıyla içyapıda mevcut gözenek miktarının düşük olması gerekmektedir.

Polimerik biyomateryaller çok değişik şekillerde ve özelliklerde hazırlanabilmeleri, yüzey özelliklerinin modifiye edilebilmesi gibi pek çok avantaja sahiptirler. Polimer malzemede karbon zinciri uzadıkça molekül ağırlığı artmaktadır ve buna bağlı olarak polimerik materyalin aşınmalara, çekme gerilmelerine ve burulmalara karşı mukavemeti ile elastikiyeti artmaktadır. Örneğin polietilenin (PE) yüksek dayanım ve düşük esneme özelliklerinden dolayı, yüksek molekül ağırlığına sahip formları ortopedik implantlarda kullanılmaktadır. Politetrafloroetilen (PTFE), ticari adıyla Teflon, yüksek kristaliniteye, düşük yoğunluk, elastik modülü, yüzey gerilimi ve sürtünme katsayısına sahip olmasından dolayı yapay damarlar şeklinde kullanılmaktadır. Poliamidler işlenebildikleri için ameliyat ipliği ya da yara örtü materyali olarak kullanılırlar. Polietilenteraftalat (PET) ise kalp kapakçıklarını dikme amacıyla kullanılan bir polimerdir.

Sert doku mühendisliğinin geleceği uygun kompozisyondan oluşan ağ, yerel düzenleyiciler ve osteojenik hücrelerin birleşiminden oluşacaktır. Doku mühendisleri kemiğin elastik ve rijit özelliklerini akıldan çıkarmayarak original dokuya uygun biyokimyasal özellikleri olan bir yapay ağ aramalıdırlar. Bu arayışta kemiğin mineral özelliklerine yakın biyolojik uyumlu seramiklerin ve polimerlerin yeri olacaktır (1).

Biyolojik olarak degrede olabilen materyallerin gelişimi; elde edilen ürünlerin protezlerdeki geçici materyaller olarak kullanımını uygun duruma getirmek amacıyla canlı organizma ile etkileşimlerini araştırmada yenilenen ilgiye neden olmuştur. PLLA bazlı biyolojik olarak bozunabilen implantlar birçok amaçla kullanılmıştır. Bu materyallerin fiziksel özellikleri, implantlara esneklik ve gözeneklilik sağlayarak kontrollü polimer bozunma sürecini geliştirmek amacıyla trietilsitrat gibi bir plastikleştirici/akışkanlaştırıcı ilavesi ile değiştirilerek geliştirilebilir.

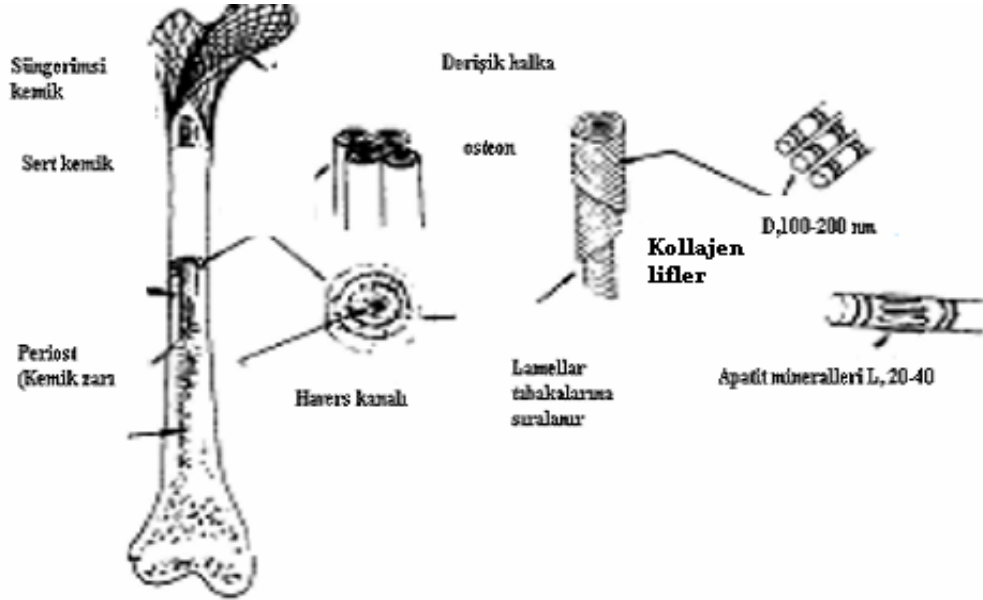
Poli-L-laktik asit (PLLA) biyolojik olarak bozunabilen bir poliester olup mükemmel biyoyumluluğu ve mekanik özellikleri nedeniyle son zamanlarda birçok araştırmanın konusu olmuştur ve rastgele veya blok kopolimerleri; ilaç dağıtım sistemleri, kemik fiksasyonu için implant materyalleri ve biyolojik olarak absorbe olabilen cerrahi dikişler gibi biyomedikal uygulamalar için kullanılmaktadır. Hastalık ve kaza nedeni ile hasara uğrayan doku ve organların yenilenmesi ve değiştirilmesi amacı ile kullanılan malzemelerin özellikleri insan vücudundaki doku ve yapılaraya benzer olmalıdır. Bu çalışmada PLLA membranlar hazırlanarak; gözenek büyüklüğü belirlenmesi ve mikroyapı analizinin SEM, AFM ve IR gibi karakterizasyon teknikleriyle incelenmesi ve buna bağlı olarak skafold oluşturma yatkınlığının araştırılması hedeflenmektedir.

## **4.GENEL BİLGİLER:**

### **4.1.Kemik:**

Kemik vücut sıvısı ile dinamik denge içinde inorganik ve organik maddelerden oluşan canlı dokudur. Kemik iskeletteki rolü dayanım, yıpranmaya direnç ve hafifliktir. Kemik bileşenleri başlıca kollajen ve hidroksiapatitten oluşan ilginç bir seramik kompozittir (Martin 1999) (2). Kemik % 69 kalsiyum fosfat, % 20 kollajen, % 9 su ve % 2 organik madde içermektedir. Kollajen; kemik, deri ve bağ dokunun ana bileşeni olan jelatinimsi bir proteindir. Kollajen biyouygun ve biyobozunurdur.

### **4.2.İnsan Kemikinin Yapısı:**



**Şekil 4.2.1:** İnsan kemiğinin yapısı ( Suchanek *et al.* 1998 ) (3).

Şekil 4.2.1’ de insan kemiğinin yapısı görülmektedir. 100- 200 nm (nanometre) çapındaki kollajen lifler 20- 40 nm uzunluğundaki apatit minerallerini içermektedir. Mineral içeren lifler lamellar tabakalarına sıralanırlar. Bu tabakaların 4- 20 tanesi havers kanalı çevresinde derişik bir halka oluşturur. Bu halkanın adı osteondur.

Sert kemik gözeneksizdir. Sert kemiğın ortasında sarı ilik bulunur. Süngerimsi kemik gözeneklidir. Bu gözenekleri kırmızı ilik doldurur ve sert kemiğın aksine yumuşak bir yapısı vardır. Periost (kemik zarı) kırılan kemiğın onarımını ve kemiğın beslenmesini sağlar. Havers kanalları kemik dokuda hücrelerin irtibatını sağlar.

### 4.3.Kortikal Kemik ve Trabeküler Kemiğin Yeniden Oluşumu:

Kemik osteoklast ve osteoblast gibi hücrelerle kendini sürekli yenileyen bir yapıdır. Osteoklastlar katı matrisin içerisinde bir tünel oluştururken osteoblastlar havers kanalının 50 mikrometre çapına kadar bu tüneli doldurarak sıkı kemiği yeniden oluştururlar.

Sünger kemikte gözenekli lamellar matrisi 100 mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) kalınlığında tabakalardan oluşur. Bu yapılar osteon içermek için çok incedir. Bu nedenle sünger kemikte haversian kanalı yoktur ve osteonlar sünger kemik içerisinde oluşamazlar. Osteoblastlar sünger kemik yüzeyindeki boşlukları yeniden doldurarak ya da kazarak sünger kemiğin yeniden oluşumunu sağlarlar.

Kemiğin katı kısmının bileşimi bir organik polimer, bir seramik ve viskoz sıvı olmak üzere üç ana bileşene ayrılır. Polimer kollajendir ve bir proteindir. Kollajenin moleküllerindeki aminoasit dizileri ile belirlenen bir düzineden fazla çeşidi vardır. Kemikteki kollajen tip 1'dir. Kemik matrisinin organik kısmı küçük miktarda diğer proteinleri ve mukopolisakkarit adı verilen molekülleri de içerir.

Kemiğin seramik bileşeni çeşitli kalsiyum fosfat yapılar içerir. Bunun küçük bir yüzdesi hidroksiapatittir. Kemikte hidroksiapatit moleküllerinde birçok yer değişme vardır. Bu değişimler kalsiyum için K, Mg, Sr ve Na, fosfat için karbonat ve hidroksil için flor şeklindedir ve bazıları kemik mineralinin mekanik özellikleri ve yapısında önemli rol oynar. Örneğin içme suyundan gelen aşırı florür kemik hücrelerini öldürerek kemiği güçsüzleştirir.

Hidroksiapatit omurgalı iskelet sisteminin ana bileşenidir. Sitokiyometrik hidroksiapatitte Ca/ P oranı 1,67'dir. Bu oran kalsiyum ve fosforun mol atomlarının oranıdır. ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ; Ca/P= 10/6=1,67)

### 4.4.Kemikte Mineralizasyon:

Kemiğin kollajen ve mineral fazları arasındaki ilişki karmaşık bulunur. Mineral kristallerinin başlangıç çökmesi diğer biyokimyasal düzenleyiciler kadar kollajen yapısındaki elementlerle katalize bağlıdır. Kristal kollajen bantlarında oluşmaya başlar ve kollajen yapısından dışarı doğru yayılır. İnsanlarda yeni kemik 4 günden sonra mineral kapasitesinin % 70'ine ulaşır. Bu işlem birincil mineralizasyon olarak bilinir.

İkincil mineralizasyon kemiği normal mineral içeriğine yavaş ve asimtotik olarak getirmek için aylara ihtiyaç duyar. Bu süreç sonunda ulaşılan mineralizasyon maksimum değildir (Martin 1999) (2).

#### **4.5.Kemiğin Mekanik Özellikleri:**

Kemik kendini onarabilen ve yenileyebilen viskoelastik bir maddedir. Kemiğin mekanik özellikleri gözenekliliği, mineralizasyon derecesi, kollajen lif dizilimi ve diğer yapısal detaylarla belirlenir.

Kemik değişen büyüklüklerde boşluklar içeren katı bir matristen oluşan gözenekli bir maddedir. Çeşitli kemik hücrelerini ve iliği içeren yumuşak dokular bu boşlukları doldurur. Kemiğin gözenekliliği % 5'den % 95'e değişmektedir. Düşük gözenekliliğe sahip sıkı kemik uzun kemik uçlarında bulunur. Yüksek gözenekliliğe sahip sünger kemik omurga kemiğinde bulunur. Sıkı kemik her biri 5 mikrometre kalınlığında lamela' dan oluştuğu için tabakalı bir yapıya sahiptir. Kemik; tabakalı, gözenekli bir polimer-seramik karışımı olduğu için bir kompozittir (Martin 1999) (2).

#### **4.6.Biyobozunur Polimerler:**

Biyobozunur polimerin en büyük avantajı vücuda yerleştirildiğinde zamanla vücutta hiçbir yapay madde kalmamasıdır. Biyobozunur doğal ya da sentetik polimerler ve bunların hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat ile kompozitleri sert doku onarımında dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır. Gerek sentetik gerek doğal polimerler ile bunların kompozitleri pek çok çeşit ve özellikte bulunabilmekte ve nihai uygulama için istenilen çok kompleks şekillerde dahi işlenebilir olmaları nedeni ile biyomateryallerin en önemli grubunu oluşturmaktadır. Polimerik biyomateryallerin kullanım yerlerine göre yapısal ve fonksiyonel özelliklerini uzun süre korumaları ya da belli bir süre fonksiyonlarını yerine getirmeleri istenebilir. Malzeme fonksiyonunu yerine getirdikten sonra vücuttan uzaklaştırılmalıdır ki bu da ikinci bir cerrahi operasyon gerektirdiğinden avantajlı değildir. İşte bu tip durumlarda biyobozunur polimerlerin kullanımı söz konusudur. İyileşme sürecinde polimer bozunur ve vücuttan kolaylıkla uzaklaştırılabilen zararsız bileşenlere parçalanır.(Lin *et al.*1999) (3).

Sert doku (kemik) kayıplarında oluşan boşluğun biyobozunur doğal ya da sentetik polimerler ve HA/TCP ile doldurulması gerekmektedir. Burada iyileşme süresince boşlukta yeni kemik dokusu oluşurken dolgu materyalinin bozunarak bu bölgeden uzaklaşması istenir.

Biyotıp implantlarında biyobozunur polimerlerin kullanılmasının bir önemli avantajı da materyalin bozunması sırasında doku yenilenmesini başlatması ve yönlendirmesidir. Biyolojik olarak parçalanan polimerlerin çoğu kararsız, kolayca hidroliz olabilen fonksiyonel gruplar (ester, amid) içermektedir.

Biyobozunur polimer içeren yapılar fizyolojik bir ortama girdiklerinde, su matriks içine difüzlenir ve polimer zincirlerini hidrolizleyerek parçalar.

#### **4.7.Doğal Biyobozunur Polimerler:**

Doğal biyobozunur polimerlerin ilk uygulamaları hayvan bağırsağı, ipek ve patates nişastasının yara iyileşmesinde kullanılmasıyla olmuştur. Doğal biyobozunur polimerler protein bazlı (albümin, kollajen, jelatin proteinleri), polisakkarit bazlı (kitin, kitosan, selüloz, nişasta) ve mikrobiyal poliesterler (polihidroksibütirat, hidroksivalerat) olmak üzere üç grup altında incelenebilir.

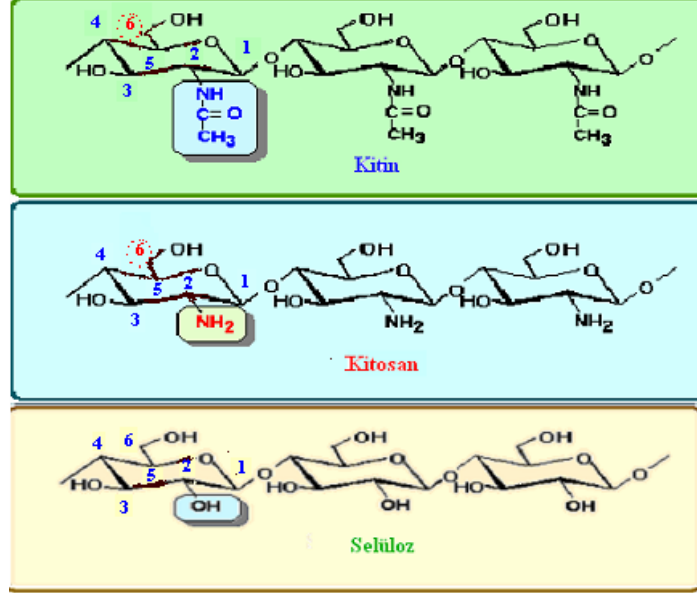
Protein bazlı polimerler elastomerik davranışları, mükemmel biyoyumlulukları ve oksijen geçirgenlikleri nedeniyle doku yenilenmesi, biyosensörler ve ilaç salım sistemlerinde kullanılan pek çok biyomateryalin yapımında kullanılır.

Bir plazma proteini olan albümin, yanık tedavisinde ve hastaların protein seviyesini yükseltmede kullanılır. Kollajen ise üroloji, dermatoloji, genel cerrahi ve ortopedi gibi alanlarda kullanılmaktadır. Kollajen zincirlerinin hidrolitik kırılmaları ile oluşan jelatin de biyoyapıştırıcı ve ilaç sistemlerine yardımcı olarak kullanılır.

Nişasta, amiloz ve amilopektinden oluşan polisakkarit bazlı polimerdir. Patates, mısır gibi kaynaklardan ekstrakte edilebilir ve biyotıp uygulamalarında kullanılmak üzere yüzey özelliklerinin değiştirilmesi kolaydır. Bitki hücre duvarlarının temel yapı taşı olan selülozda yanık ve yara örtü materyali olarak kullanılmaktadır. Günümüzde diyaliz için kullanılan membranların çok büyük bir kısmı selüloz bazlıdır. Selülozdan sonra doğada en çok bulunan kitin yara iyileştirmede kullanılan etkili bir materyaldir ve ameliyat ipliklerinde kullanılır. Kitosan da yanık iyileştirmede kullanılmaktadır.

Başlıca doğal polimerler kitin, kitosan ve selülozdur. Şekil 4.7.1'de bu polimerlerin kimyasal yapıları görülmektedir. Bu çalışmada doku ile uyumlu olması açısından doğal polimerden biri olan selüloz ile çalışılmıştır.





Şekil 4.7.1: Doğal polimerlerin kimyasal yapıları

Kitin, kitosan ve selüloz polimerleri polisakkarit bazlı polimerlerdir. Bu polimerlerin kimyasal yapıları birbirine çok benzemektedir. Polimerlerde tekrarlayan birimlerin ikinci karbonlarına bağlı gruplarda farklılık görülmektedir. Bu gruplar kitinde amid, kitosanda amin ve selülozda hidroksil olarak değişmektedir.

Kitin, kitosan ve selüloz polimerleri doku ile uyumludur. Bu polimerler zamanla bozunur ve vücuttan kolaylıkla uzaklaştırılabilen zararsız bileşenlere dönüşür. Kitinin molekül formülü  $[C_8H_{13}O_5N]_n$  ' dir. Kitinin kimyasal adı poli asetil amino glikozdur. Kitin yengeç kabuğunda, kelebeğin kanadında, istakozda, bakterilerde, mürekkep balığında ve böceklerde bulunan bir polisakkarittir.

Alkali muamelesi ile kitinin asetamid grupları hidrolizlenerek katyonik bir polimer olan kitosan elde edilir. (Lin *et al.* 1999) (3).

Doğrudan HA ve polimerin karıştırılarak hazırlandığı kompozitlerde iyi bir homojenlik ve yüksek biyoaktivite yakalanamamaktadır. Doğal lif kompozitleri düşük yoğunlukta mükemmel dayanım, yüksek sertlik ve elastiklik gösterir (Sieber *et al.* 2000) (4).

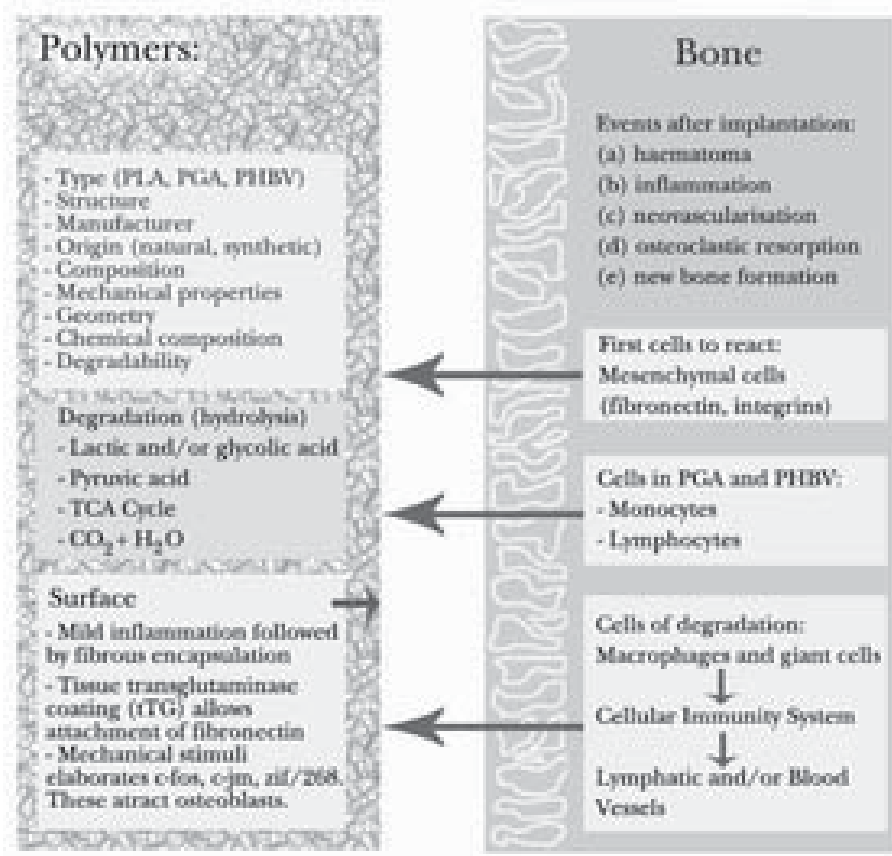
#### **4.8.Sentetik Biyobozunur Polimerler:**

Sentetik biyobozunur polimerler; poliortoesterler, polianhidritler, poliesteramidler, poliiminokarbonatlar, polifosfenezler, alifatik poliesterler ve poli(alkil-2-siyanoakrilat)'lar olarak sınıflandırılabilirler. Poliesteramidler yapılarındaki ester grupları nedeniyle kolaylıkla hidroliz olabilen ve amid bağları nedeniyle de mekanik olarak kararlı yapıda polimerlerdir. Bu özelliklerinden dolayı ameliyat ipliği olarak kullanılır. Poliesterlerin en önemli kullanım alanı ise ilaç salım sistemleridir.

#### **4.9.Sert Doku Mühendisliğinde Sık Kullanılan Polimerler:**

Polilaktitler (PLA), poliglikolitler (PGA) ve polihidroksibütiratlar (PHBV) sert doku mühendisliğinde en çok kullanılan polimer tipleridir (5). Tip, kompozisyon, yüzey, geometrisi, kimyasal yapı, porozite ve bozunma hızı gibi özellikler materyalin kemik doku ile etkileşimini belirler. Hidrofilik polimerler hücre yapışması ve büyümesi için yüzey modifikasyonu gerektirirler (6). Polimerlerin bozunma hızı in vivo ortamda in vitro ortamdan daha yavaştır.

Polimerle etkileşime giren ilk hücreler genel olarak mezenşim kökenlidir (Şekil 4.9.1). Mezenşimal hücreler extraselüler matrikste kollagene tutunabilmek için fibronectini kullanırlar. Fibronectine yüksek oranda bağlanan doku transglutaminazı son yıllarda polimerin biyouyumluluğunu arttırmak için yüzey kaplamalarda kullanılmaktadır (7). İntegrinler mezenşimal hücrelerde biyolojik yanıtı başlatan küçük ekstraselüler matriks proteinleridir. Öte yandan proto-onkogenler c-fos, c-jun ve zif/268 mekanik uyarımı takiben osteoblastları uyarırlar (8).



**Şekil 4.9.1:** Polimer-sert doku yüzeyi etkileşimi

Sert doku-implant etkileşimindeki hücresel ve hümorale mekanizmaları takip eden olaylar diğer materyallerle aynıdır. Kültür ortamında laktik asit polimerleriyle ilk etkileşime giren hücreler granülositler, monositler ve lenfositlerdir (9). Fibröz kapsül oluşumunda başlıca görev alan hücreler fibroblastlardır. Makrofajlar implantın bozunma hızına bağlı olarak 12 haftadan 4 yıla kadar implant çevresinde yer alır (10, 11).

Polimerler sinovyum gibi immünolojik olarak daha aktif dokulara yakın olarak implante edildiğinde doku yanıtının şiddeti artabilir (12). İntra artiküler uygulamalarda uygulama derinliği önemlidir (13). PGA dan yapılan implantlar inflamatuvar yanıtı başlatır ve bölgeye monosit ve lenfositler göç eder. Monositler bu implantlarla kültüre edildiğinde DNA sentezi artmamakla birlikte MHC-2 antijeni ve IL-2R aktivasyon işaretleyici ekspresyonunda artış gözlenir. Bu bulgular PGA nın göreceli olarak inert olduğunu ve inflamatuvar mononükleer hücre migrasyonu ile adezyonunu uyardığını gösterir (14).

Polimerin kemik hücreleriyle etkileşimi daha çok doku kültürlerinde çalışılmıştır. Osteoblastik hücreler kullanılarak yapılan implant toksisite ölçümleri biyoyumluluk

testlerinin vazgeçilmez bir parçası olmuştur. Rat kemik iliği stromal kökenli osteoblastlarında yapılan çalışmalar, polimer partikül konsantrasyonunda artma oldukça hücre sayısı ve mineralizasyonda azalma olduğunu göstermiştir (15). Bu çalışma polimerik partiküllerin kemiğin yeniden şekillenme sürecini de etkilediğini göstermiştir.

Deneysel ve klinik çalışmalarda polimerlere karşı olan yabancı cisim yanıtı iyi dökümanite edilmiştir (16, 17). Polimerik implant uygulamasından sonra yanıtı kanıtlayan en önemli belirtiler steril drenaj ve implant çevresindeki osteolizdir. Bir çalışmada PLA fiksasyon implantlarıyla ameliyat edilen 2528 hastanın 107'sinde doku yanıtı olduğu bildirilmiştir (18). Ameliyattan sonra yanıt ortalama 11 haftada ortaya çıkmıştır. Bir olguda PGA implante edildikten tam 4,3 yıl sonra yanıt geliştiği izlenmiştir. Bu doku yanıtları histolojik olarak özgün olmayan doku yanıtıyla karakterizedir (18).

Diş hekimliğinde karşılaşılan bir başka reaksiyon tipi sert dokuyu replase etmek için polimer kullanıldığında oluşan yabancı cisim granülomudur (19). Ayak cerrahisinde biyobozunur fiksasyon malzemesi kullanılan 27 hastanın ikisinde oluşan özgün olmayan yanıt için drenaj ve debridmana gereksinim duyulmuştur (20). Distal radius kırıklarının fiksasyonu için PGA implantları kullanıldığında iyileşme süresi metal kullanılanlardan daha uzun olmuştur (21). Öte yandan polimerik vidalarla tedavi edilen 83 hastanın hiçbirisinde erken ya da geç reaksiyona bağlı drenaj gözlenmemiştir (22). Biyobozunur rod fiksasyonunda uygun teknik ve postoperatif instabilite çok önemlidir (23). İmplantın boyutları arttıkça oluşan reaksiyonun şiddeti de artar. 21 erişkin koyun kullanılarak yapılan bir çalışmada polimerik rodler intramedüller olarak yerleştirilmiş ve 30 ayda histolojik olarak fibröz enkapsülasyon, lenfosit infiltrasyonu ve dev hücrelerle karşılaşmıştır (24).

Polilaktidlerin yan etkilerini azaltmak için alkali tuzların ve inflamatuvar mediator antikörlerinin materyale eklenmesi önerilmektedir (25). Eriyebilir tuz dolgusu olarak kalsiyum asetat kullanılması (26) veya propilen fumaratın etilenglikol dimetakrilat ile çapraz bağlanmasının (27) biyobozunur polimerlerin in vivo biyoyumluluğunu arttırdığı gösterilmiştir. Reaksiyonu azaltmak için bir başka öneri de polimere BMP eklenmesidir (28). Bunun yanında doku reaksiyonu sorununu çözmek için yeni sterilizasyon ve polimerik implant üretim stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir (29, 30). Uzun raf ömrü de polimerlerin biyomekanik ve kimyasal özelliklerinin değişmesine neden olmaktadır.

Polimerik rod kullanılarak fiksasyon uygulanan olgularda bakteriyel yara enfeksiyonu ve fiksasyon kaybı yüzdesi %4 olarak bildirilmektedir (31). Biyoyumlulukları arttıkça

polimerik implant kullanılan anatomik bölgelerin de çeşidi artmaktadır. Ön çapraz bağ fiksasyonu, kırık ve menisküs tamiri, rotator kılıf tamiri, labrum yırtıklarının tamiri ve giderek artan çeşitteki kırık fiksasyonları bunların arasında sayılabilir (32, 33).

Anatomik bölgenin özelliği ve kemik dokunun gereksinimine göre polimerlerin bozunma hızı ayarlanabilmektedir. Bozunabilen polimerlere karşı gelişen temel doku yanıtı fibröz enkapsülasyondur. PHBV gibi biyouyumlu polimerlerde bu enkapsülasyonun oluşma oranı daha düşüktür. Bozunma süreci makrofajlar ve dev hücrelerce yürütülür. Kabul edilebilir doku yanıtını değiştirmeksizin polimerik implantın biyomekanik özelliklerinin geliştirilmesi önemli bir araştırma alanıdır. İmplantın kimyasal kompozisyonunun asit pH' dan normal pH' ya değişmesi de biyouyumluluğunu geliştirmektedir.

Yeni doku oluşumu için suni yapılar üretmek amacıyla doku mühendisliği, materyal mühendisliği ve fen bilimlerine ait yöntemleri uygulamaktadır. Genel olarak kullanılan yaklaşımlardan biri, hastadan basit bir biyopsi yoluyla spesifik hücrelerin kontrol altına alınmış kültür ortamlarında üç boyutlu (3D) bir skafold üzerinde geliştirilmesi amacıyla izole edilmesidir. Daha sonra bu yapı, zamanla degrade olabilecek skafold içerisinde yeni doku formasyonunu yönlendirmek amacıyla hastanın vücudunda istenen bölgeye gönderilir (34-36). Diğer bir alternatif yaklaşım ise canlı organizmalarda doku formasyonunu yönlendirmek ve teşvik etmek amacıyla doğrudan doku gelişimi için skafoldların yerleştirilmesidir (35, 37, 38). Bu yaklaşımın avantajı, hasta için daha kısa iyileşme süresi ile sonuçlanacak olan gerekli operasyonların sayısının azaltılmış olmasıdır.

İnsan vücudu gibi biyolojik ve hassas yapıdaki karmaşık bir sistemi kaplayarak, doku mühendisliği için skafold materyali oluşturma gereksinimleri son derece ilgi çekici düzeyde artmıştır. İlk olarak substrat materyallerinin biyouyumlu olması gerekmektedir diğer bir deyişle materyal kararsız tahrik edici tepki açığa çıkarmamalı ya da immunojenik ve sitotoksik özellik sergilememelidir. Buna ek olarak, skafoldun mekanik özellikleri uygun olmalıdır ve uygulama ile hastanın günlük aktiviteleri esnasında çökmemelidir. İnsan vücudu ile temas halinde bulunan tüm materyallerde olması gerektiği gibi, doku skafoldları enfeksiyondan korunmak amacıyla kolayca sterile edilebilir olmalıdır (39). Hücrelerin istenen fiziksel yapı içerisine yerleştirilmesi ve gelişmekte olan dokunun vaskülarizasyonunu yönlendirmek amacıyla skafoldun kontrollü bir şekilde birbirine bağlanmış olan gözenekli yapısına özellikle kemik doku mühendisliğinde son derece büyük bir gereksinim vardır. 100nm ve üzerindeki gözenek çapının yanı sıra genel olarak %90'lık gözenekli yapının, hücre

penetrasyonu ve gelişmekte olan dokunun uygun vaskularizasyonu için gerekli olduğu bilinmektedir (40- 43).

Son zamanlarda skafold oluşturmak amacıyla kullanılan materyaller; doğal veya polisakkaritler, poli( $\alpha$ -hidroksi esterler), hidrojeller ve termoplastik elastomerler (35, 37, 44, 45) gibi sentetik polimerlerdir. Diğer önemli materyal çeşitleri ise kalsiyum fosfatlar ve biyoaktif camlar gibi biyoaktif yapıdaki seramiklerdir (42, 46, 47). Günümüzde polimer ve seramik kompozitleri mekanik olarak skafold stabilitesini artırarak doku etkileşimini düzelterek iyileştirmek amacıyla geliştirilmektedir (47- 52). Buna ek olarak, ilaç dağıtım kapasitesine sahip skafold geliştirme konusunda da bir takım çalışmalar yapılmaktadır. Bu skafoldlar, yapısına yerleştirilmiş olan growth faktörler ve antibiyotikleri bölgesel olarak serbest bırakabilmekte olup kemik defektleri ve hatta destek doku hasarlarını tedavi etmek amacıyla kemik gelişimini artırabilmektedir (47, 53- 57). Skafold materyallerinde aranan özelliklerin çok sayıda olduğu yukarıda bahsedilmiştir. Bu gereksinimleri mümkün olduğunca büyük ölçüde karşılayabilmek amacıyla polimer ve seramiklerin birleşerek bir araya gelen avantajlarına sahip olan kompozit sistemlerin dünya çapında giderek artan inceleme ve araştırmalarla belirtildiği gibi özellikle kemik doku mühendisliği için gelecek vadeden bir seçim olduğu görülmektedir (35, 47- 56, 58- 63).

#### **4.10.Biyolojik Olarak Degrede Olabilen Polimer Matriksleri:**

Biyolojik olarak bozunabilen iki çeşit polimer türü mevcuttur. Bunlardan ilk kategoride bulunan polimerler; nişasta, aljinat, kitin/kitosan, hyaluranik asit türevleri gibi polisakkaritler veya soya, kollajen, fibrin jeller ve ipek gibi proteinler ile kuvvetlendirici olarak daha önceki çalışmalarda detaylı bir şekilde incelenmiş olan lignoselülozik yapıdaki doğal fiberler gibi çeşitli biyofiberler içeren naturel bazlı biyomateryallerdir (64- 68).

İkinci kategoride yer alan biyolojik olarak bozunabilen sentetik polimerler; kontrol altına alınmış koşullarda üretilebilir ve bu nedenle tensil gerilimi, elastik modülü ve degradasyon hızı gibi mekanik ve genel olarak ayarlanabilir ve yeniden üretilebilir mekanik ve fiziksel özellikler sergilemektedirler. Bir diğer avantajı ise materyal safsızlığının/katkısının kontrolüdür. Toksik ve immunojenik etki ile enfeksiyon riski gibi olası riskler, belirli ve basit bir yapıya sahip olan monomerik yapıtaşlarından oluşan saf/katkısız sentetik polimerler için daha azdır.

#### 4.11. Doymuş Alifatik Poliesterler (PLA, PGA ve PCL):

Doku mühendisliğinde üç boyutlu (3D) skafoldlar için en sık kullanılan biyobozunur sentetik polimerler; polilaktik asit (PLA) ile poliglikolik asit (PGA) ve bunun yanı sıra polilaktik-ko-glikolid (PLGA) kopolimerleri içeren doymuş poli- $\alpha$ -hidroksi esterleridir (35, 65, 69, 70). PLA doğada üç şekilde bulunmaktadır: L-PLA (PLLA), D-PLA (PDLA) ve D,L-PLA (PDLLA) rasemik karışımı.

Bu polimerlerin kimyasal özellikleri de-esterifikasyon mekanizması yoluyla hidrolitik degradasyona uğramasına olanak sağlamaktadır. Bozunduğu zaman her bir polimerin monomerik bileşenleri uzaklaştırılmaktadır. İnsan vücudu PLA ve PGA gibi monomerik bileşenleri tamamen uzaklaştırabilecek önemli ölçüde düzenlenmiş mekanizmaları ihtiva etmektedir. PGA metabolitlere dönüştürülerek veya diğer mekanizmalarla elimine edilirken, PLA trikarboksilik asit döngüsü sayesinde uzaklaştırılabilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle PLA ve PGA Amerika'daki FDA kuruluşu tarafından onaylanmış olan degrede olabilen dikişler gibi ürünler ve implantlarda kullanılmaktadır. PLA ve PGA kolaylıkla işleme tabi tutulabilir ve bu polimerlerin degradasyon hızları, fiziksel ve mekanik özellikleri farklı molekül ağırlıklarına sahip kopolimerler kullanılarak geniş bir sahada ayarlanabilir niteliktedir. Bununla birlikte, bu polimerler kütle yıkım prosesi geçirerek skafoldların zamansız bozunmasına neden olabilirler. Buna ek olarak, bu asidik degradasyon ürünlerinin ani salınımı şiddetli bir tahrik edici tepkiye neden olabilir (71, 72). Genel olarak PGA, PLA'dan daha hızlı degrede olur. Degradasyon hızları aşağıdaki sıraya göre azalır:

PGA > PDLLA > PLLA > PCL

Biyobozunur poliester degradasyonu, ester bağlarının hidrolizini takip eden su kavrama prosesi ile meydana gelmektedir. Kimyasal bileşim ve konfigürasyonel yapı, işleme tekniği, molekül ağırlığı (Mw), heterojenlik indisi (Mw/Mn), çevre koşulları, gerilme ve şekil değişimi, kristal özelliği, cihaz boyutu, gözeneklilik gibi yüzey morfolojisi ve zincir oryantasyonu, matriks içerisinde kimyasal olarak reaktif bileşiklerin dağılımı, katkıları (73, 74), özgün monomerlerin varlığı ve hidrofilik özelliği gibi degradasyon kinetiklerini farklı faktörler etkilemektedir. Örneğin; PLGA geniş bir aralıktaki bozunma hızı ve hem hidrofobik/hidrofilik denge hem de kristal özellik ile yönlendirilmiş olan degradasyon kinetiklerine sahiptir. L-LA ve D-LA ve/veya GA monomer birimlerinden oluşan zincirlerin

bileşimi, PLGA polimerlerin degradasyon hızını belirler. En fazla miktarda PGA içeren karışımların daha hızlı degrades olduğu saptanmıştır (73). Öte yandan poli-ε-kaprolakton (PCL)'un canlı organizmalarda bozunması birkaç yılı bulabilmektedir (69- 75).

Doymuş alifatik poliester sınıfına ait bu polimerlerin kalın örnekleri, iç kısmındaki dış tabakadakinden daha hızlı olmak üzere heterojen degradasyona neden olabilmektedir. Heterojen degradasyon ise iki olguya bağlanabilir:

- i) İç kısmına kıyasla polimer yüzeyinden dış ortama, çözünebilen oligomerlerin daha kolay difüzyonu ve
- ii) Hem laboratuvar ortamında hem de canlı organizmalarda yabancı tampon çözeltisi sayesinde yüzeye yerleştirilen fonksiyonel karboksilik asit gruplarının nötralizasyonu.

Bu olgular; fonksiyonel karboksil grupları nedeniyle otokataliz ile hacimsel degradasyon oranını artırırken, yüzeydeki asiditenin azalmasına katkı sağlar. PDLLA gibi amorf yapıdaki polimerlerin hidrolizi, kristalik yapıların eksikliği nedeniyle daha hızlı gerçekleşmektedir. Genel olarak absorbe edilen su miktarı; polimer matriksi içerisindeki zincir fragmanlarının difüzyon katsayılarına, sıcaklığa, tamponlama kapasitesine, pH' a, iyonik kuvvete, matriksdeki katkı maddelerine, ortama ve üretim yöntemine bağlıdır. Bu nedenle farklı alifatik polyesterler, sulu çözeltilerde oldukça farklı degradasyon kinetikleri sergilemektedirler. Örnek olarak, PGA kuvvetli bir asit olup yapısındaki metil grupları nedeniyle hidrofobik yapıya sahip olan PLA' dan daha hidrofiliktir.

Stereokimya son özelliklerin belirlenmesinde etkileyici bir rol oynamaktadır; öyle ki komşu atom gruplarının daha düzgün bir şekilde sıralanması, daha büyük oranda kristalik yapının oluşmasına neden olmaktadır. Genelde kimyasal olarak kristalik yapılar amorf yapılardan daha kararlı olduğundan ve matriks içerisine su geçişini azalttığından poliesterlerin kristalik özelliğinin başlangıçtaki seviyesi hidrolitik degradasyon hızını etkilemektedir. Degradasyon süresi, polimerlerin stereoizomerleri ile daha uzun sürmektedir. Örneğin amorf yapıdaki PLA (PDLLA) için yaklaşık olarak sadece bir yıllık bir zaman dilimi yeterli iken L-laktik asit tekrarlayan birimlerinden (monomerlerinden) oluşan PLA'nın (PLLA) tamamen absorpsiyonu için beş yıldan daha fazla süre gerekmektedir (75). Doku mühendisliğindeki uygulamalar için son derece önem taşıyanlar; PLA, PGA ve PCL ile bunların kopolimerlerinin asidik degradasyon ürünlerinin yanı sıra atık ve kristal yapıdaki ara



ürünlerdir (51- 68). Polimeri çevreleyen ortamın pH' ını dengelemek ve polimer degradasyonunu kontrol altına almak amacıyla, çeşitli gruplar temel bileşenlere katılır. Bu amaçla biyoaktif camlar ve kalsiyum fosfat bileşikleri kullanılmıştır (73- 75). Aslında biyolojik olarak bozulan polimerlerin geri dönüşümlü asidik degradasyona uğrama olasılığı kompozitlerin kullanımını uygun kılan bir diğer sebeptir (76).

PDLLA, implant performansına ilişkin mükemmel özellikleri nedeniyle ortopedik amaçlı biyomedikal kaplama materyali olarak geniş ölçüde araştırılmıştır (65, 77). Yüksek mekanik stabilitesine ek olarak (78), PDLLA canlı organizmalarda mükemmel biyouyumluluk ve uygun bir osteokondüktif potansiyel sergilemektedir (79). Düşük molekül ağırlıklı PDLLA; bölgesel olarak işleyen bir ilaç-dağıtım sistemi oluşturmak amacıyla growth faktörler, antibiyotikler veya trombin inhibitörleri gibi ilaçlar ile kombine edilebilmektedir. Son zamanlarda doku mühendisliği için bir skafold materyali olarak PDLLA kullanımına çok daha fazla ilgi duyulması, bu cazip özelliklerinden ileri gelmektedir.

Bunun yanı sıra PCL alifatik poliester sınıfının önemli bir üyesidir. Antibiyotik ilaçların etkili bir şekilde yakalanması amacıyla kullanılmaktadır ve bu nedenle PCL' dan üretilen skafold, kemik defektlerinin tedavisinde kemik gelişimi ve rejenerasyonunu artırmak amacıyla kullanılmakta olan bir ilaç-dağıtım sistemi olarak göz önünde bulundurulabilmektedir (80, 81). PCL ve kopolimerlerinin degradasyonu, PLA' ninkine benzer mekanizmalar gerektirmekte olup iki aşamada gerçekleşmektedir: Gelişigüzel bir şekilde hidrolitik esterlerin ayrılışı ve dökümden oligomerik türlerin difüzyonu yoluyla ağırlık kaybı. Yüksek molekül ağırlıklı PCL sisteminin degradasyonunun son derece yavaş olduğu, öyle ki vücuttan tamamen uzaklaştırılmasının üç senelik bir zaman dilimi gerektirdiği saptanmıştır.

Biyobozunur polimerler ve biyoaktif seramikler doku mühendisliği skafoldları için çeşitli kompozit materyallerde birleştirilmektedir. Kemik doku mühendisliği için uygun yapıda birbirine bağlı gözeneklere sahip üç boyutlu (3D) skafoldlar oluşturmak amacıyla biyomateryaller ve üretim yöntemleri yeniden incelenmiştir. Günümüzde mevcut gözenekli skafoldların mekanik özellikleri ayrıntılı bir şekilde analiz edilmiş olup, insan kemiğine kıyasla yetersiz elastik sertlik ve kompresif dayanıklılık sergiledikleri saptanmıştır. Materyal bilimleri açısından doku mühendisliğindeki mevcut hedef, yük taşıyan koşullar altında dahi yapılarını ve bütünlüğünü önceden belirlenebilen bir zaman dilimi için koruyabilecek olan

gözenekliliği ve gözenek yapısı uygun hale getirilmiş yeniden üretilebilen, biyoaktif ve biyolojik olarak rezorbe olabilen 3D skafoldları tasarlayarak üretmektir (82).

Polilaktik asidin monomeri olan laktik asit (2-hidroksi propanoik asit), ya L- ya da D- stereoizomeri olabilen en küçük optikçe aktif moleküllerden biridir. PLA, poliglikolik asit ve polimandelik asit içeren  $\alpha$ -hidroksi asitlerden oluşan alifatik poliesterler sınıfına ait olup bakterilerle ayrışabilen kararlı bileşiklerdir.

PLA, endüstriyel paketleme alanı veya biyolojik olarak rezorbe olabilen tıbbi cihaz pazarında kullanım amacıyla hammaddeler elde etmek için yenilenebilir kaynaklardan üretilebilen yüksek mukavemet ve elastisite modülüne sahip, termoplastik bir polimerdir. Yüksek molekül ağırlıklı, amorf veya kristal yapıda polimerler elde etmek amacıyla L- ve D- izomerlerinin kontrol altına alınmış bir bileşiği polimerizasyon ile stereokimyasal yapısı kolayca değiştirilebilen birkaç polimerden biri olan PLA, ester bağının basit hidrolizi ile bozunur.

Bu materyal vücut içine tedavi amaçlı yerleştirildiğinde, vücut sıvısı (kan) ile laktik aside parçalanır. Bozunma süreci boyunca yüksek elastisitesini ve diğer mekanik özelliklerini koruyabilen, yeni, rezorbe olabilen materyaller için biyomedikal sanayisinde artan bir talep vardır (82- 86).

PLLA' nın mükemmel mekanik özellikleri ayarlanabilir hidroliz kapasitesi nedeniyle sadece biyolojik olarak bozunabilen plastikler olarak değil, aynı zamanda da biyomedikal bir polimer olarak geniş uygulama alanına sahip olması beklenmektedir. Bu nedenle PLLA materyallerinin, biyolojik olarak bozunma süreci ve altı ayın üzerinde skafold oluşturma yeteneği açısından insan koroner atardamarları için spesifik gereksinimi karşılama kuvvetle olasıdır.

Poli-L-laktik asit (PLLA) biyolojik olarak bozunabilen bir poliester olup mükemmel biyouyumluluğu ve mekanik özellikleri nedeniyle son zamanlarda birçok araştırmanın konusu olmuştur ve rastgele veya blok kopolimerleri; ilaç dağıtım sistemleri, kemik fiksasyonu için implant materyalleri ve biyolojik olarak absorbe olabilen cerrahi dikişler gibi biyomedikal uygulamalar için kullanılmaktadır (84- 90).

Biyolojik olarak degrades olabilen materyallerin gelişimi; elde edilen ürünlerin protezlerdeki geçici materyaller olarak kullanımını uygun duruma getirmek amacıyla canlı organizma ile etkileşimlerini araştırmada yenilenen ilgiye neden olmuştur. PLLA bazlı biyolojik olarak bozunabilen implantlar birçok amaçla kullanılmıştır. Bu materyallerin

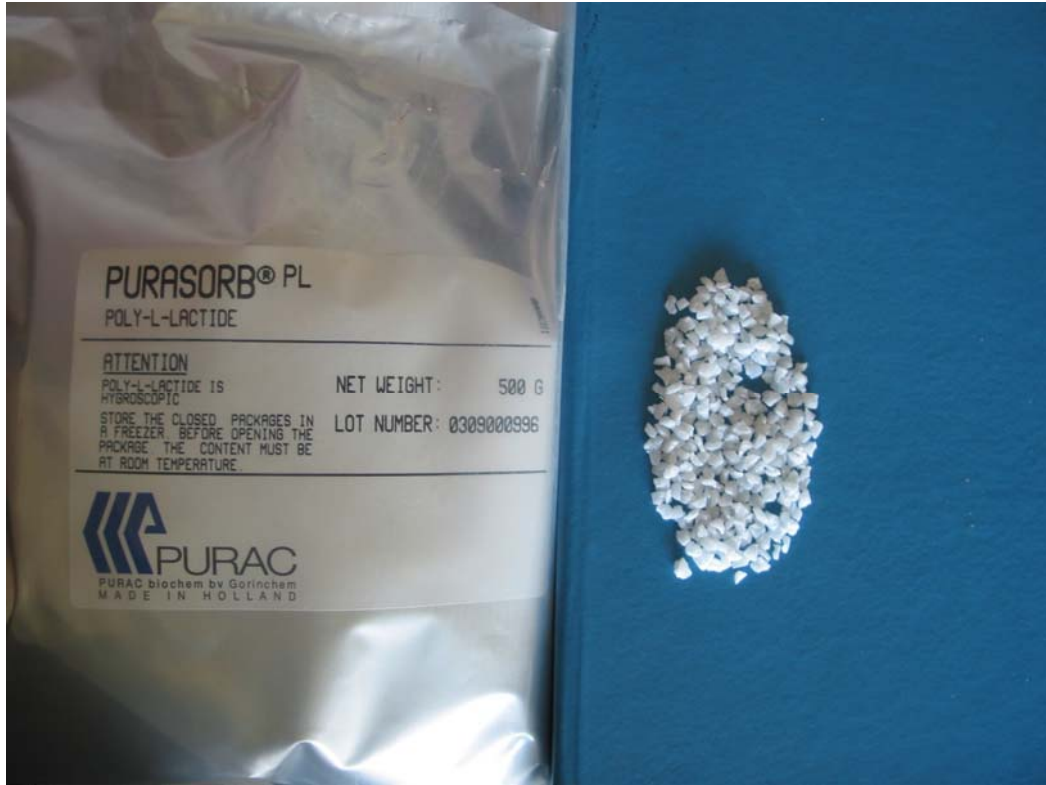
fiziksel özellikleri, implantlara esneklik ve gözeneklilik sağlayarak kontrollü polimer bozunma sürecini geliştirmek amacıyla trietilsitrat gibi bir plastikleştirici/akışkanlaştırıcı ilavesi ile değiştirilerek geliştirilebilir (91, 92).

## **5.GEREC VE YÖNTEM:**

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde gözenekli yapıya sahip membranlar hazırlanmıştır.

### **5.1.Polimerik Filmlerin Hazırlanması:**

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Polimer Araştırma Laboratuvarı'nda materyal hazırlama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Materyal moleküler ağırlık ortalaması 800.000 olan Poli-L-laktik asit'in (Şekil 5) (Purasorb-PL, Purac Biochem, Hollanda) granül formundan elde edilmiştir.



**Şekil 5:**Granül formdaki Poli-L-Laktik asit (Purasorb-PL, Purac Biyochem, Hollanda)

%8'lik PLLA çözeltisi hazırlamak amacıyla granül formundaki PLLA' dan 8g tartılmıştır. PLLA higroskopik yapıda bir polimer olduğundan, içerisindeki nemi uzaklaştırmak amacıyla 100°C sıcaklık değerindeki etüvde kurutulmuştur. Kurutulan PLLA hava ile temas ederek doğrudan nem kapmaması amacıyla, direk desikatöre alınarak biraz vakum uygulanmıştır. Desikatörde tamamen kurutulan granüler yapıdaki PLLA, 100 ml %99,6 saflıktaki metilen klorür çözeltisi (MERCK,  $d=1,33 \text{ g/cm}^3$ ,  $MW=84,93 \text{ g/mol}$ ) içerisinde manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca çözülmüştür.

Hazırlanan PLLA çözeltisi petri kapları içerisindeki selülozdan oluşan iki farklı süzgeç kağıdı üzerine farklı miktarlarda yerleştirilerek spatül vasıtasıyla polimer çözeltisinin selülozik destek yapı ile tamamen temas etmesi sağlanmıştır. Üzerlerine öncelikle bir miktar metilen klorür çözeltisi daha sonra ise %96'lık etil alkol çözeltisi ilave edilmiştir. Bu aşamada amaç, metilen klorür çözeltisinin uzaklaştırılması ile birlikte etanol çözeltisinin oluşmakta olan selülozik destekli polimerik yapıdaki membranlarla etkileşime girmesi, diğer bir deyişle membranların %96'lık etanol çözeltisinde koagule edilmesidir. Bir müddet sonra selülozik destekli polimerik yapıdaki membranlar, içerisinde etanol çözeltisi bulunan petri kaplarından çıkarılarak oda sıcaklığında kurutulmuştur; bu şekilde iki farklı membran hazırlanmıştır. Selülozik destek yapıya sahip olan bu membranların, destek yapı kullanılmaksızın hazırlanan PLLA membranlarla yüzey morfolojisi açısından karşılaştırma grubu oluşturacak şekilde son iki numune (4. ve 5.) olarak belirlenmesi kararlaştırılmıştır.

Aynı yöntem uygulanarak selülozik destek yapı kullanılmaksızın hazırlanan PLLA membranlarda, etanol ile temas neticesinde homojen yapı elde edilememiştir. Sadece metilen klorür çözeltisi kullanılarak elde edilen PLLA membranların nispeten daha homojen bir yapı sergilediği gözlemlenmiştir.

Son olarak da petri kaplarına doğrudan PLLA çözeltileri dökülerek, bir gün boyunca kendiliğinden kuruyarak polimerik film oluşturmaları sağlanmıştır. Bu yöntemle elde edilen üç farklı PLLA membranın daha düzgün bir yüzey morfolojisi sergilemiş olduğu saptanmıştır ve bu nedenle hazırlanmış olan polimerik membranların gözenek yapılarını araştırmak amacıyla ilk üç numune (1. , 2. ve 3.) olarak belirlenmesi kararlaştırılmıştır. Elde edilen üç farklı membran numunesindeki belirleyici etken, değişik miktarlardaki PLLA içeriği ve buna bağlı olarak değişen membran kalınlığıdır.

## **5.2. Membranların Karakterizasyonu:**

Membran oluşumu esnasında solvent buharlaşmasından kaynaklanan gözenekli yapının mikroyapı analizi, SEM ve AFM gibi membran karakterizasyon yöntemleriyle incelenmiş olup IR analizi ile membranın kimyasal yapısı araştırılmıştır.

### **5.2.1. IR Analizi:**

IR analizi için öncelikle kızılötesi ışığı geçirebilecek nitelikte oldukça ince ve saydam yapıda bir PLLA membran hazırlanmıştır. Bu membranın içerdiği bağlanmalar ve fonksiyonel grupların saptanması amacıyla Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Araştırma Laboratuvarı'nda Shimadzu Corporation Ltd. IR Analiz cihazında IR analizi gerçekleştirilmiştir.

### **5.2.2. SEM Analizleri:**

Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme ve Metalurji Mühendisliği Bölümü Araştırma Laboratuvarı'nda ikisi selülozik destek yapıya sahip olan beş farklı PLLA membran numunesinin hava ile temas halinde kurutulan yüzeylerine ait gözenek yapılarının incelenmesi amacıyla SEM (Scanning Electron Microscopy) analizleri gerçekleştirilmiştir. Selülozik destek yapı içermeyen PLLA membranlar (1. , 2. ve 3.) oldukça ince bir yapı sergilediğinden, kesit analizleri gerçekleştirilememiştir. Bununla birlikte selülozik destekli PLLA membranların (4. ve 5.) gözenek yapılarına ilişkin yüzey analizlerinin yanı sıra kesit analizleri de gerçekleştirilebilmiştir.

Analizler öncesinde numunelere ait ölçüm örnekleri hazırlanmıştır. Polaron Range cihazında ortamdaki hava partikülleri ve nemi uzaklaştırmak suretiyle materyalin kaplama sırasında yüzeye daha iyi bağlanmasını sağlamak amacıyla analiz örneklerine öncelikle düşük bir vakum uygulanarak, iletkenliği sağlamak amacıyla Au- Pd (altın-paladyum) kaplama yapılmıştır.

Kaplama yapılmış olan analiz örneklerine ait SEM görüntüleri, vakum altında çalışan JEOL JSM-6060 cihazında görüntüleme öncesinde beş dakika boyunca yüksek bir vakuma tabi tutularak gerçekleştirilmiştir.

### 5.2.3.AFM Analizleri:

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Mikroyapı Analiz Laboratuvarı'nda 3 numaralı membran numunesinin hem hava ile temas halinde kurutulmuş yüzeyine ait hem de petri kabıyla temas halinde olan yüzeyine ait yüzey topografları AFM (Atomic Force Microscopy) ile incelenmiştir. Bu analizlerde aynı membran numunesinin hava ile temas halinde kurutulmuş yüzeyine ait gözenek yapısını sergileyen SEM görüntüsü ile aynı yüzeye ait AFM görüntüsünün birbirini destekleyen bir yapı sergileyip sergilemediğinin ve bunun yanı sıra söz konusu membran numunesinin her iki yüzeyine ilişkin AFM analiz sonuçlarının karşılaştırılarak membranın simetrik yapıya mı yoksa asimetrik yapıya mı sahip olduğunun araştırılması planlanmıştır.

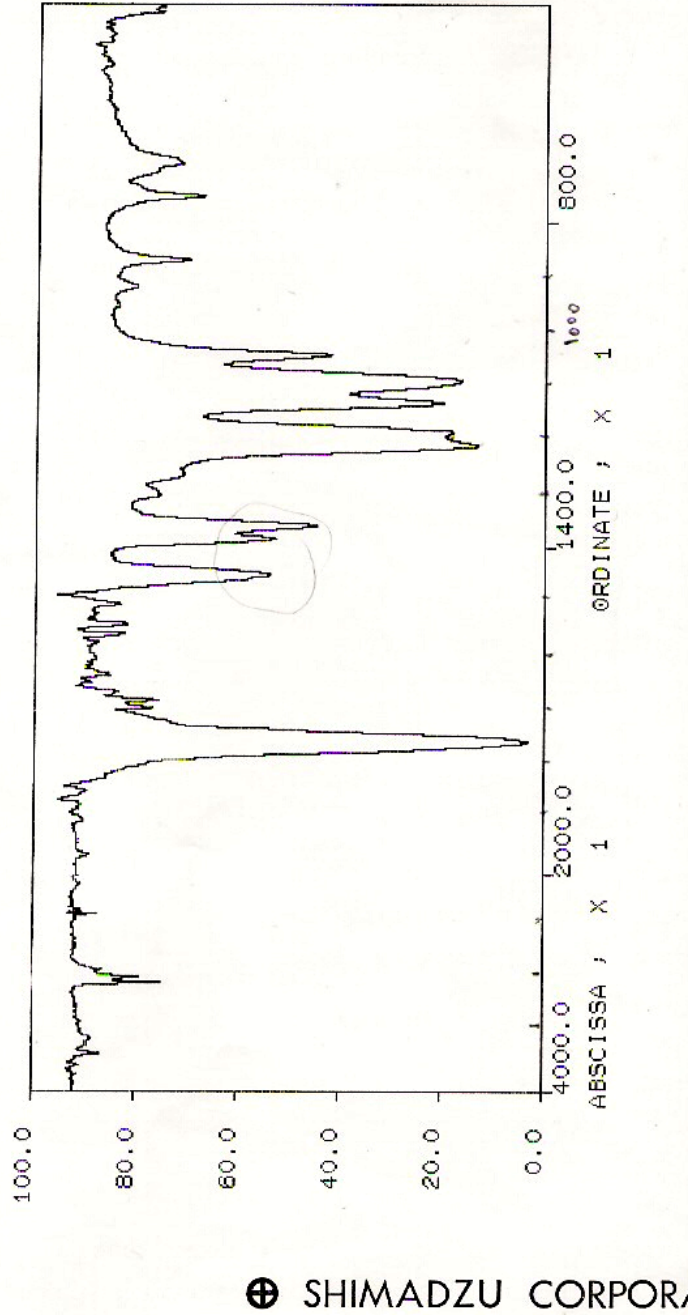
AFM analizleri, Nano Magnetism Instrument Ltd. RT-SHPM cihazı ile membran örnekleri için en uygun çalışma ortamı sağlayan tapping modda çalışılarak gerçekleştirilmiştir. Cihaz, hemen altında fiziksel deformasyonu elektrik akımına çeviren piezoelektrik malzemenin bulunduğu çok ince uçlar ile analiz edilecek membran numunesinin yüzeyi arasındaki d mesafesine bağlı olarak oluşan elektrik akımını sabit tutma prensibine dayanarak tapping modda çalışmaktadır. Tapping modda kullanılan uçlar Al (alüminyum) kaplama bazlı olup, en uç noktalarında yalnızca birer tane atom içermektedirler. Analiz boyunca bu uçlar yüzey topografi incelenmekte olan membran yüzeyi ile bir temas edip bir etmeyerek çalıştığından tapping mod, semi-contact mod olarak da adlandırılmaktadır.

AFM analizleri ile 20µm'lik bir alanı 5µm/s'lik bir hızla tarayarak çok net olmasa da yüzey görüntüsünü elde etmekteyiz. Analiz sonucunda RMS (Roughness Mean Square) değeri büyük olan numunenin daha gözenekli, daha pürüzlü yapıya sahip olduğu saptanmaktadır.

## **6.BULGULAR:**

### **6.1.IR Analizi:**

IR analizi için özel olarak hazırlanmış olan PLLA membrana ilişkin spektrumda belirli dalga boyu aralıklarında polimerik yapıdaki membranın içerdiği fonksiyonel gruplar Şekil 6.1.1.'deki IR spektrumunda gözlenmiştir.



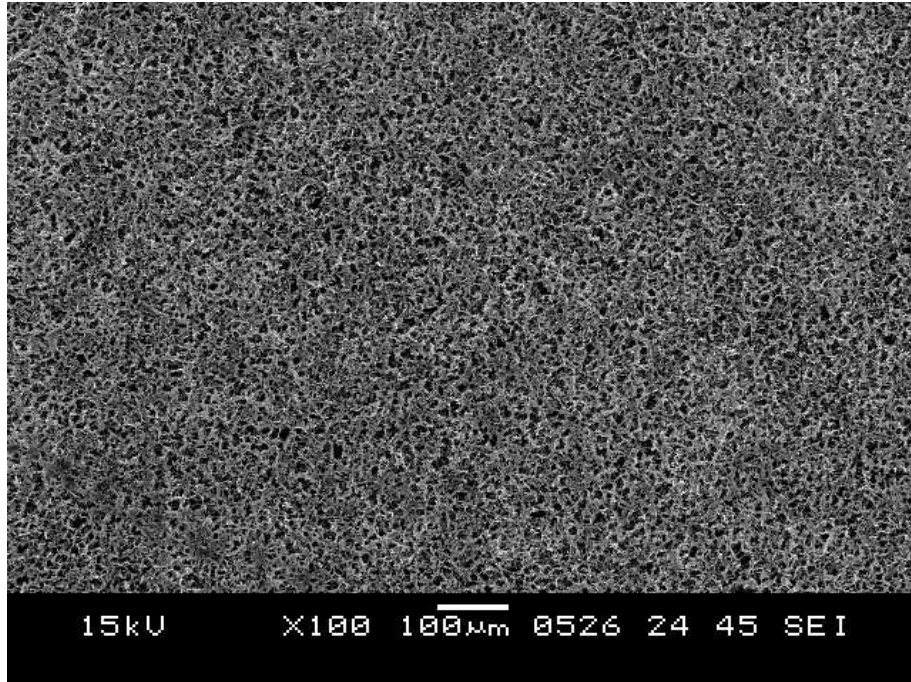
**Şekil 6.1.1:** PLLA membran numunesinin IR spektrumu



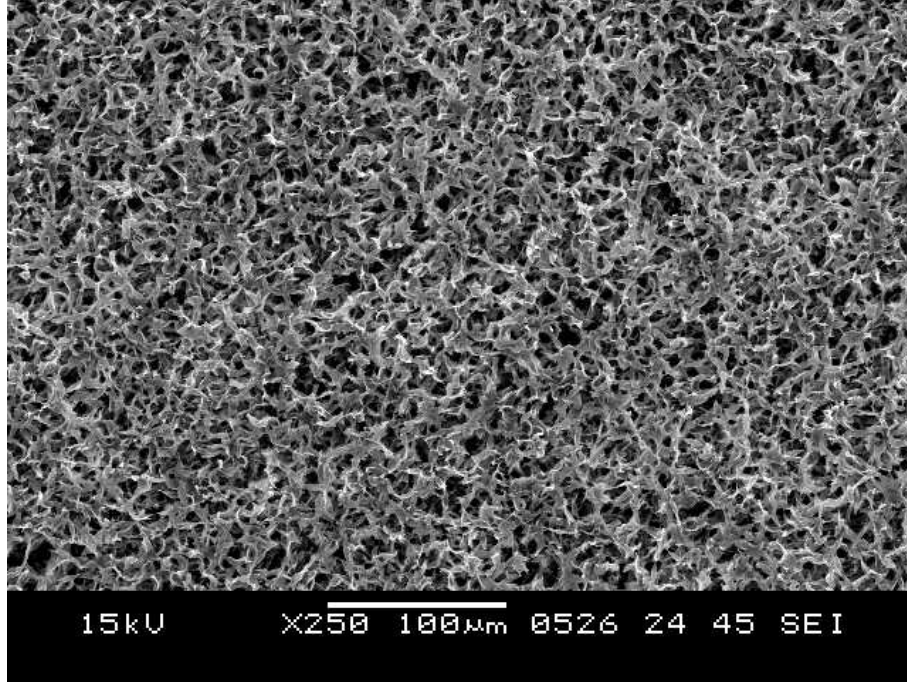
1700- 1800  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında ve 1176  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda ester bandları, 3000  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda C-H bandı, 1000- 1 300  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında C-O bandları ve 1300- 1500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığı ile 700- 800  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında alkan bandları gözlenmiştir. Özet olarak PLLA membran numunesine ait IR spektrumu tipik bir doymuş alifatik poliester grafiği sergilemektedir.

## 6.2.SEM ANALİZLERİ:

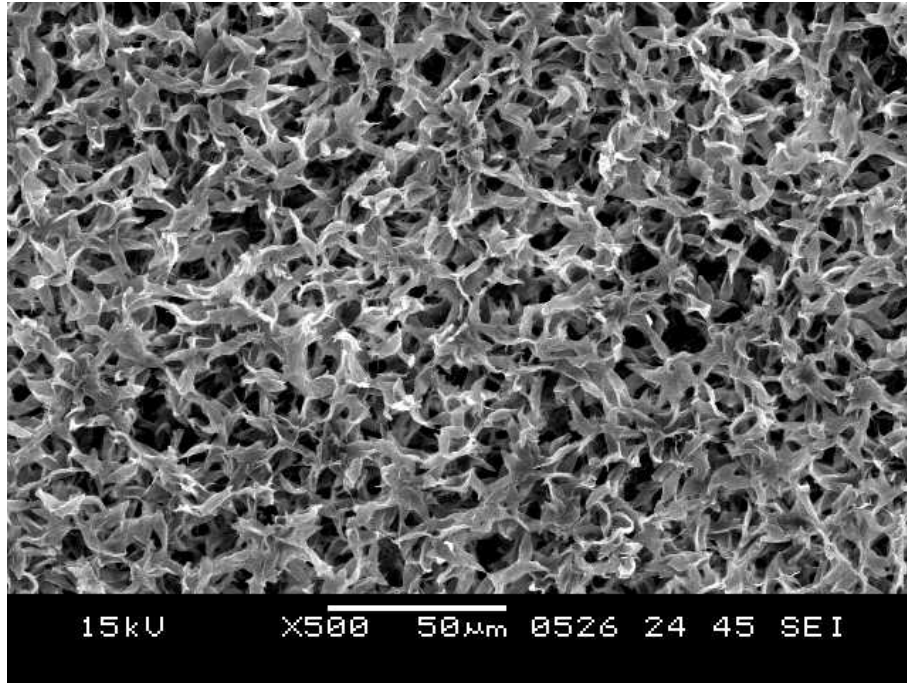
Membran oluşumu esnasında döküm yönteminden kaynaklanmış olan merkeze doğru incelen 0,09- 0,19  $\mu\text{m}$  değerleri arasındaki membran kalınlığına ve 0,2301g kütleye sahip 1 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri; 15 kV'luk elektrik akımı altında, sırasıyla 100 kat, 250 kat, 500 kat, 1000 kat ve 1500 kat büyütme oranı ve bununla birlikte 100  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$  ve 10  $\mu\text{m}$  skala büyüklük değerleri ile Şekil 6.2.1.'de gözlenmektedir.



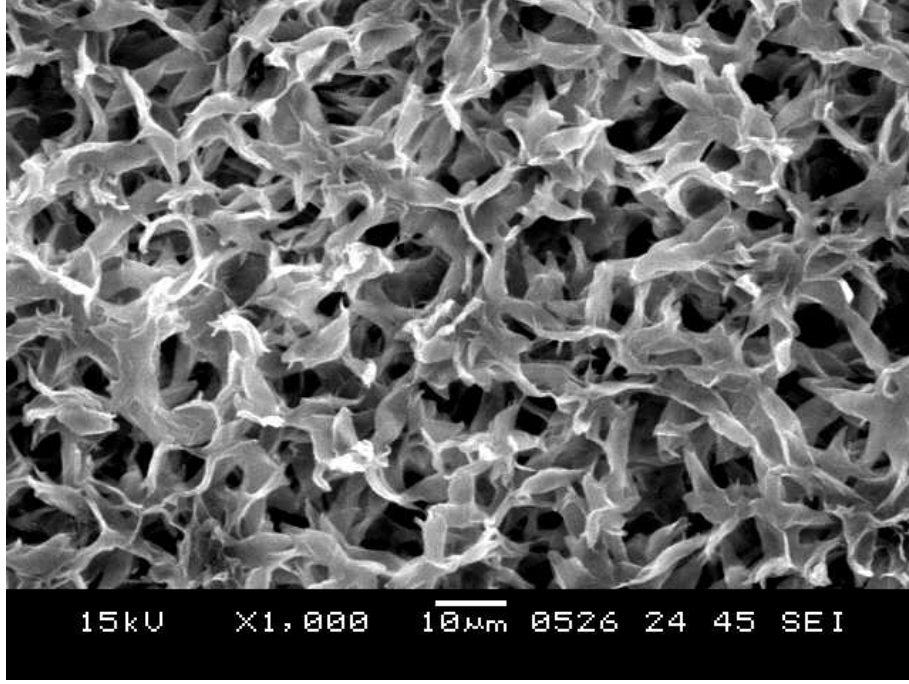
**Şekil 6.2.1.a:** 1 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 100 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



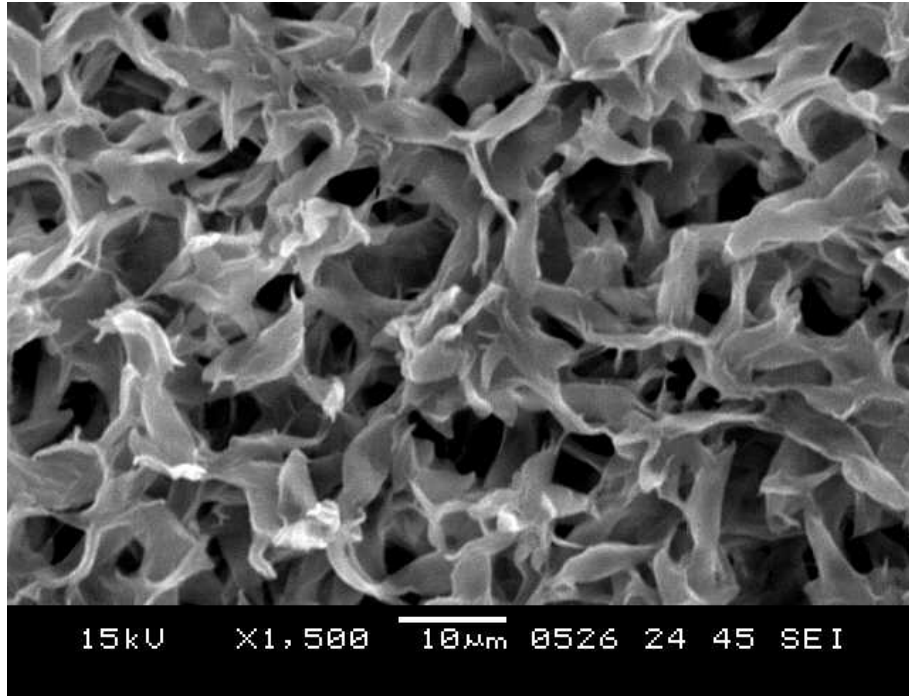
**Şekil 6.2.1.b:** 1 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 250 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



**Şekil 6.2.1.c:** 1 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 500 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



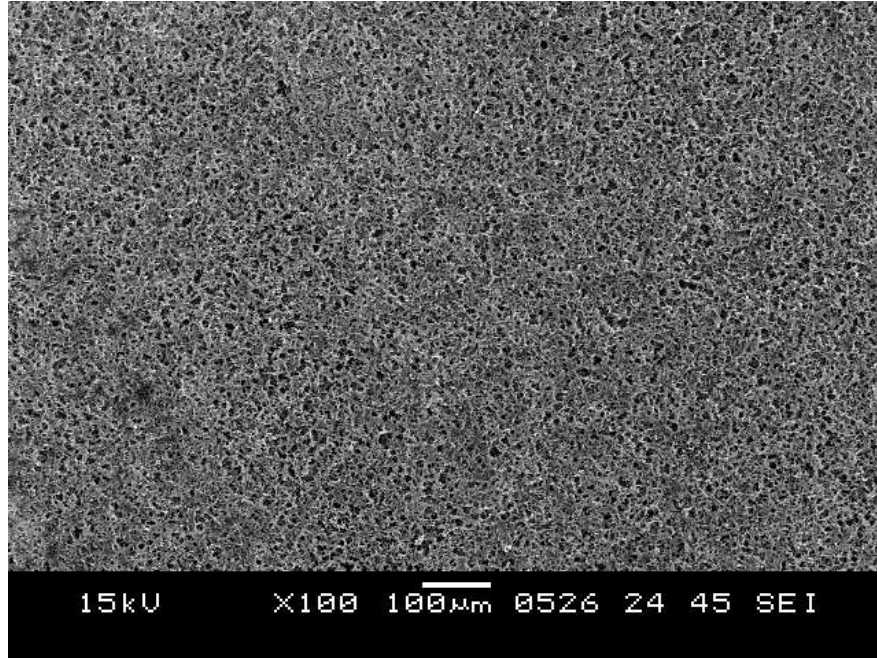
**Şekil 6.2.1.d:** 1 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1000 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



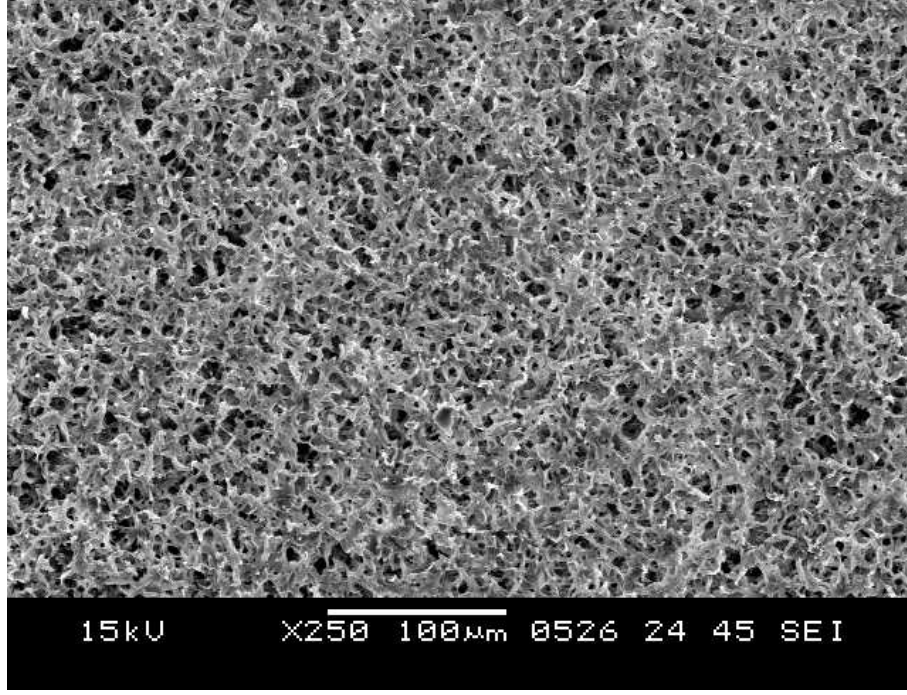
**Şekil 6.2.1.e:** 1 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1500 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü

1 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri (Şekil 6.2.1) incelendiğinde polimerik membranın oldukça homojen bir morfolojik yapı sergilediği gözlenmektedir. Bununla birlikte bağlantılar tüm yapıda uyumlu şekilde dağılmış durumda bulunmaktadır.

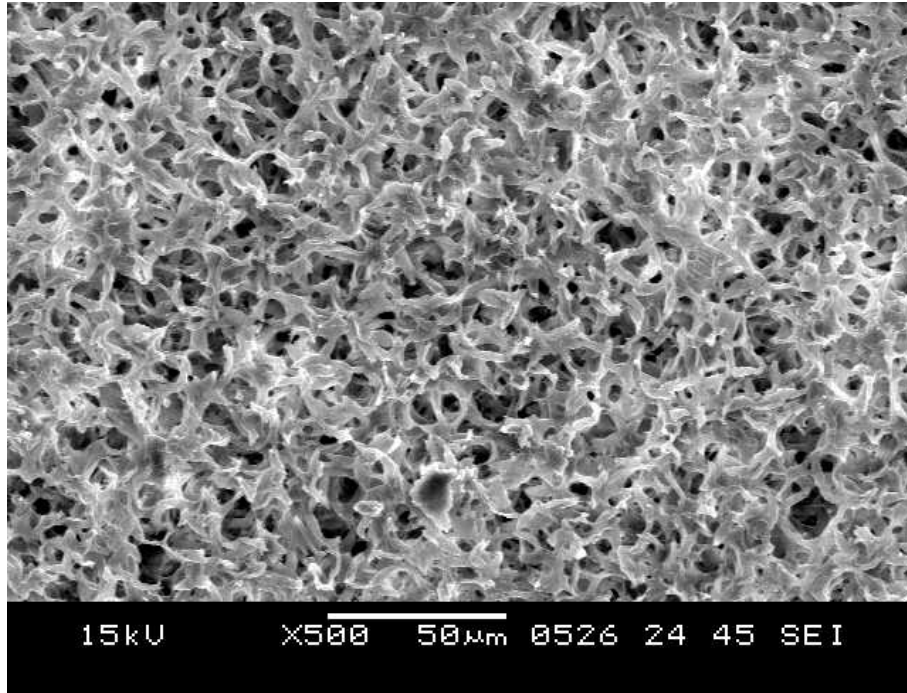
Membran oluşumu esnasında döküm yönteminden kaynaklanmış olan merkeze doğru incelen 0,19- 0,39  $\mu\text{m}$  değerleri arasındaki membran kalınlığına ve 0,4466g kütleye sahip 2 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri; 15 kV'luk elektrik akımı altında, sırasıyla 100 kat, 250 kat, 500 kat, 1000 kat ve 1500 kat büyütme oranı ve bununla birlikte 100  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$  ve 10  $\mu\text{m}$  skala büyüklük değerleri ile Şekil 6.2.2'de gözlenmektedir.



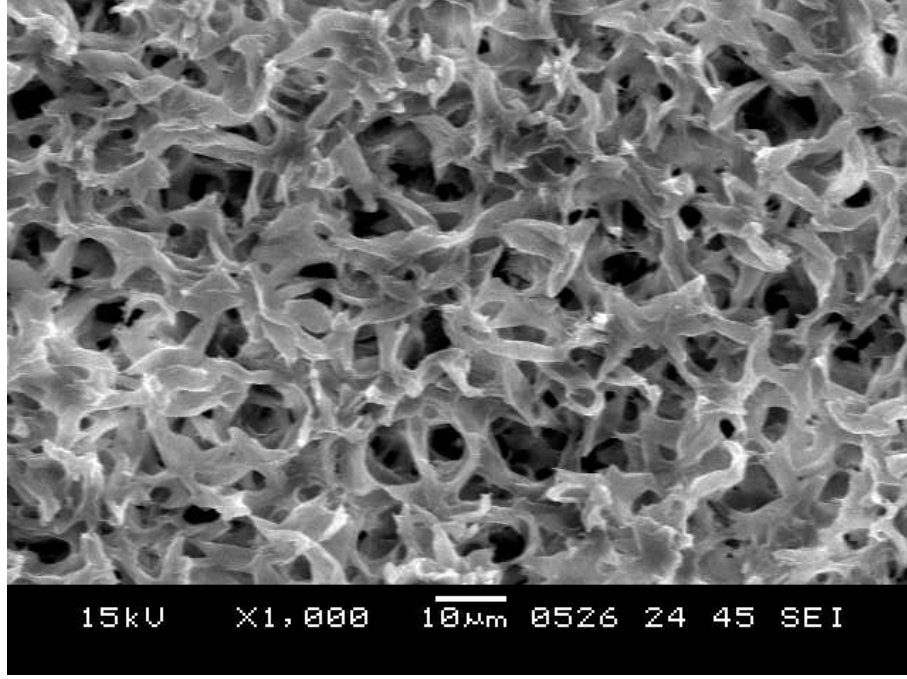
**Şekil 6.2.2.a.** 2 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 100 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



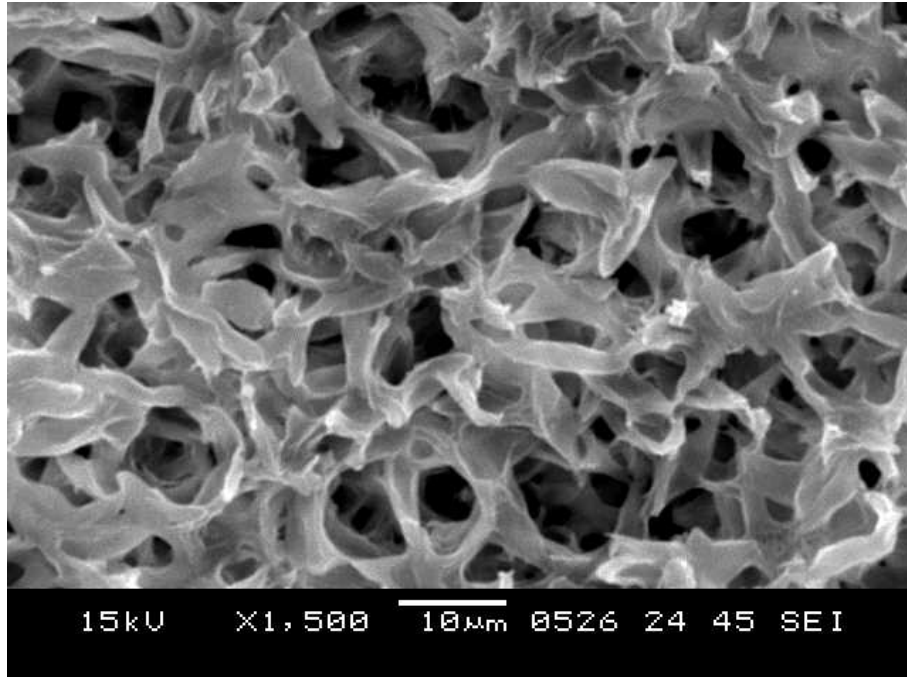
**Şekil 6.2.2.b:** 2 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 250 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



**Şekil 6.2.2.c:** 2 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 500 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



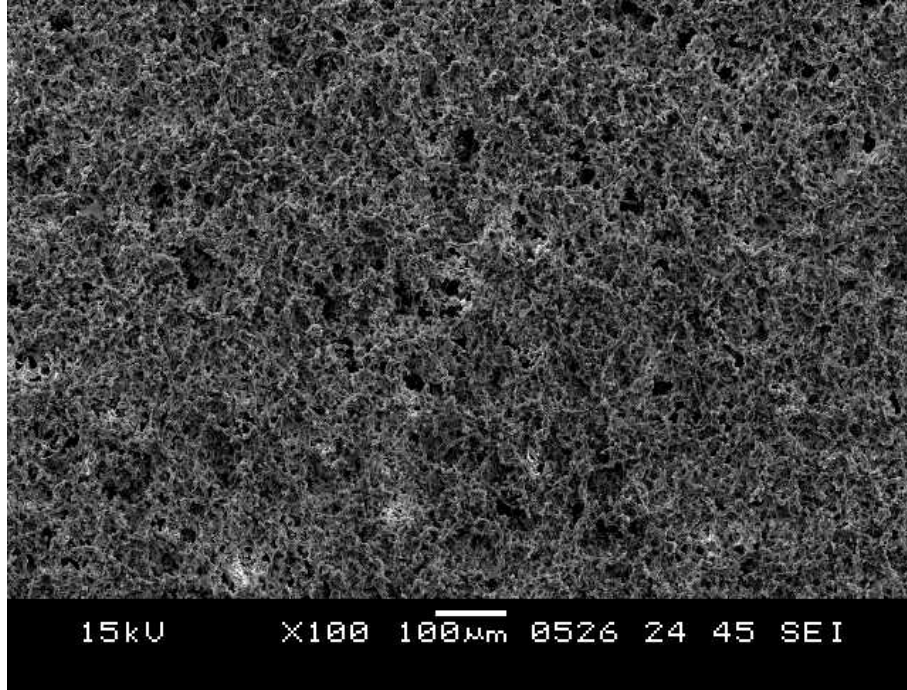
**Şekil 6.2.2.d:** 2 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1000 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



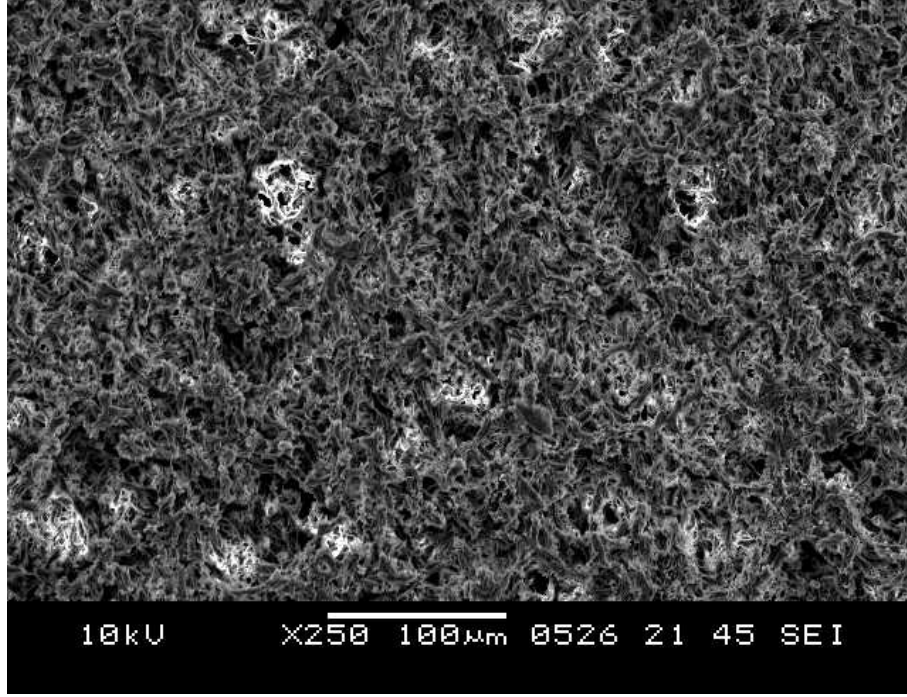
**Şekil 6.2.2.e:** 2 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1500 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü

2 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri (Şekil 6.2.2.) incelendiğinde bağlantıların birbiriyle uyumlu olduğu homojen bir yapı oluşumu gözlenmektedir. Bununla birlikte 1 numaralı membran numunesi ile kıyaslandığında, 1 numaralı numunedeki oluşumun daha homojen ve kararlı bir yapı sergilemekte olduğu açıkça görülmektedir.

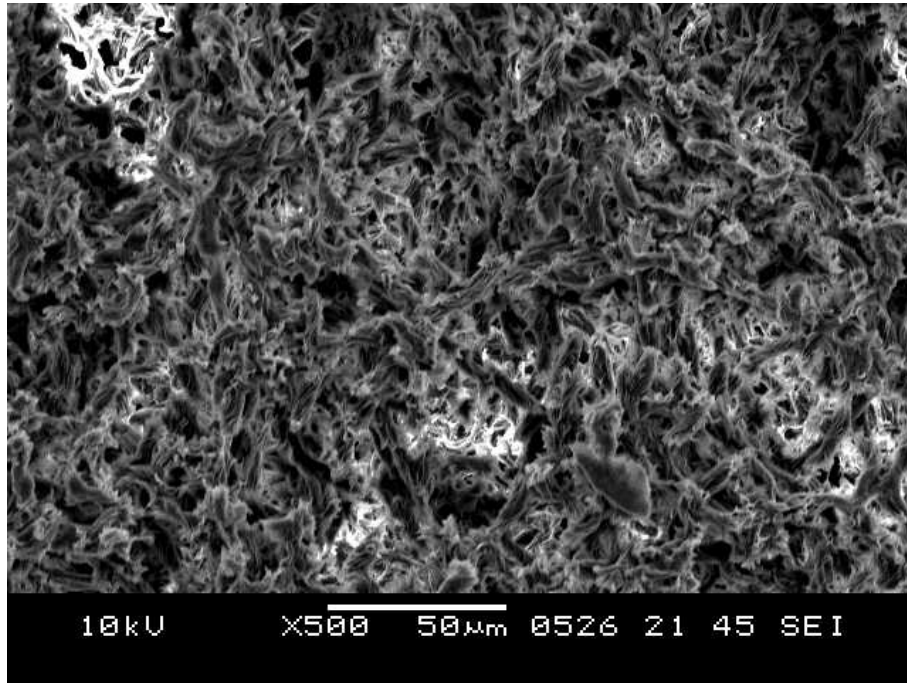
0,19  $\mu\text{m}$  değerindeki membran kalınlığına ve 0,4598g kütleyle sahip 3 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri; 10 ve 15 kV'luk elektrik akımı altında, sırasıyla 100 kat, 250 kat, 500 kat, 1000 kat ve 1500 kat büyütme oranı ve bununla birlikte 100  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$  ve 10  $\mu\text{m}$  skala büyüklük değerleri ile Şekil 6.2.3.'de incelenmiştir.



**Şekil 6.2.3.a:** 3 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 100 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü

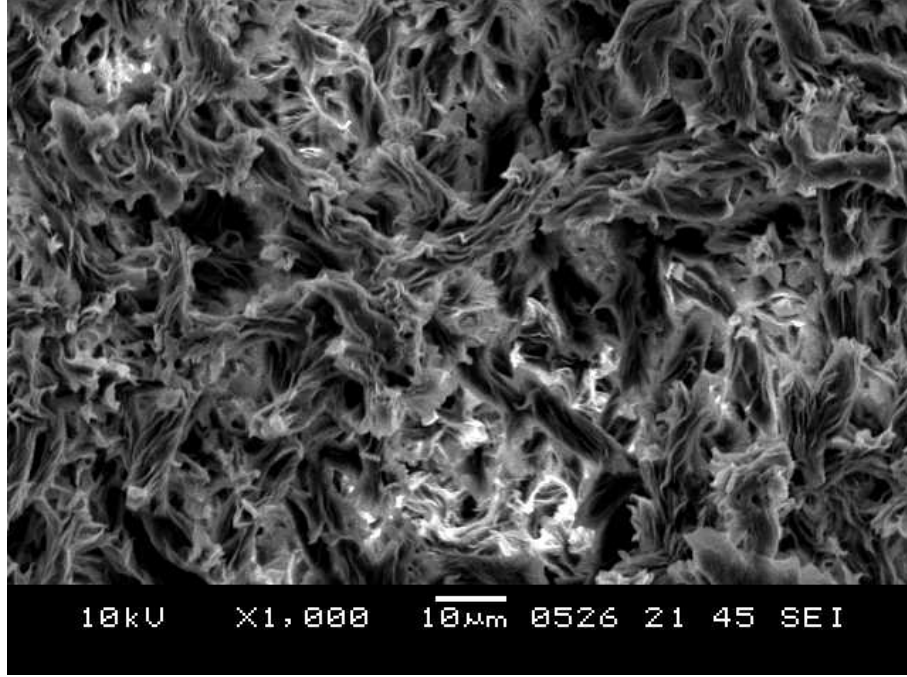


Şekil 6.2.3.b. 3 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 250 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü

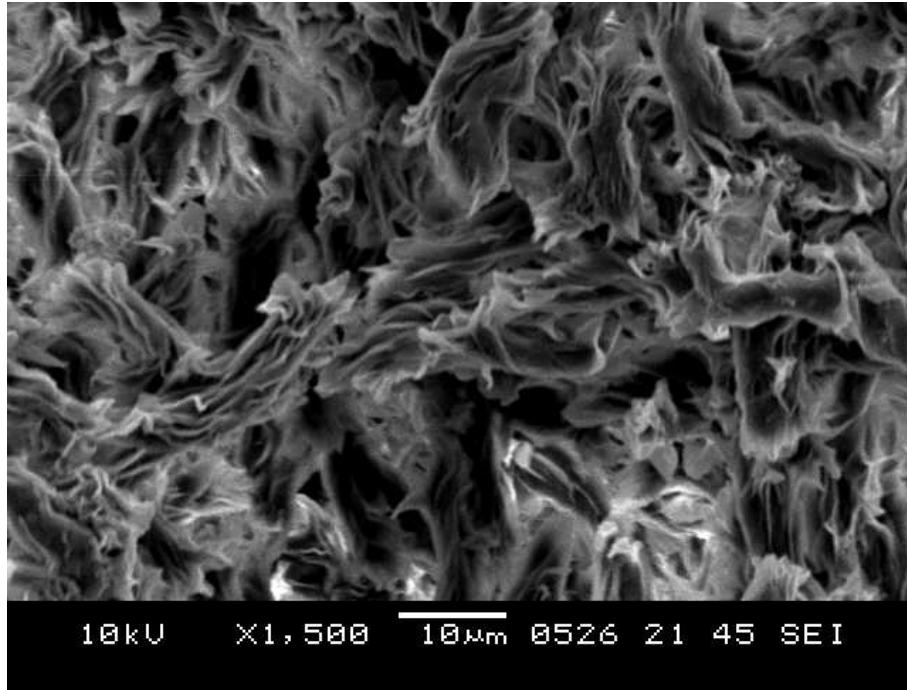


Şekil 6.2.3.c: 3 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 500 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü





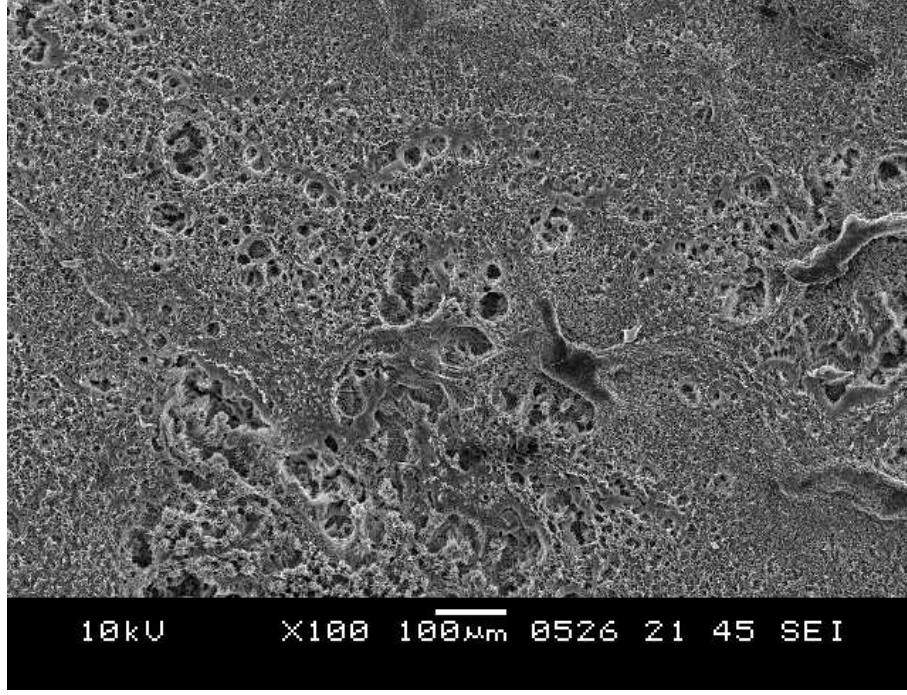
**Şekil 6.2.3.d:** 3 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1000 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü



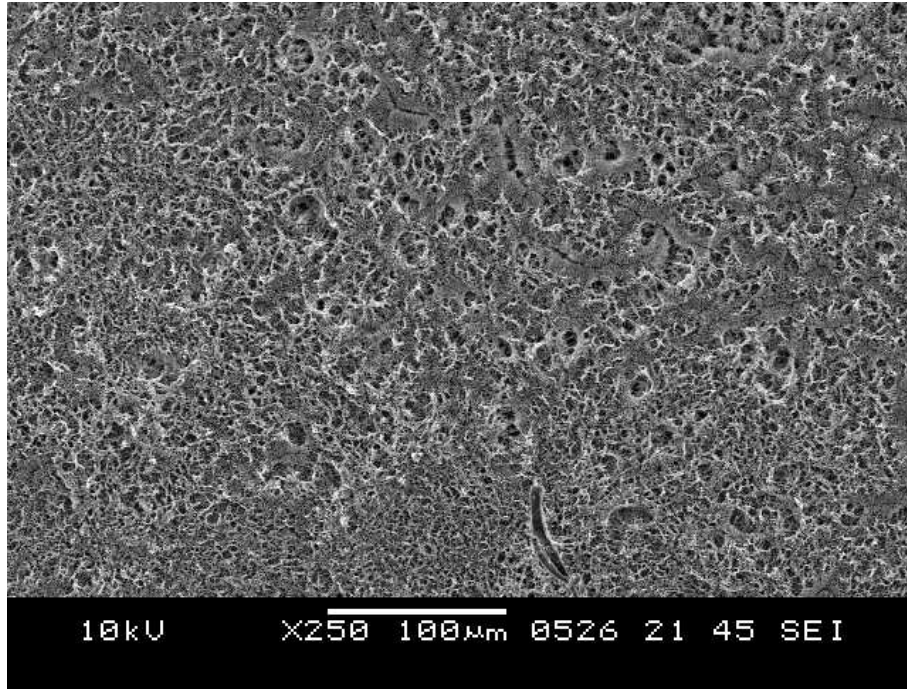
**Şekil 6.2.3.e:** 3 numaralı PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1500 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü

3 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri (Şekil 6.2.3.) incelendiğinde bağlantılarda bir bozulmanın, gül gibi bir açılmanın söz konusu olduğu ve çok homojen bir bağlantı dağılımının olmadığı saptanmıştır. Porozitelerin de homojen bir şekilde dağılmadığı, irili ufaklı dağılmış olduğu gözlenmiştir.

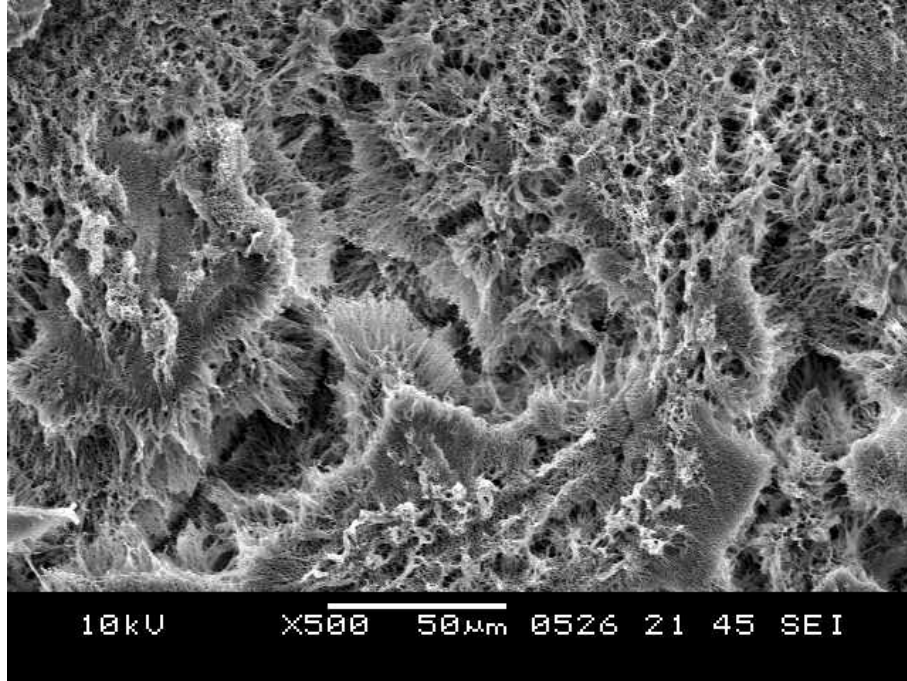
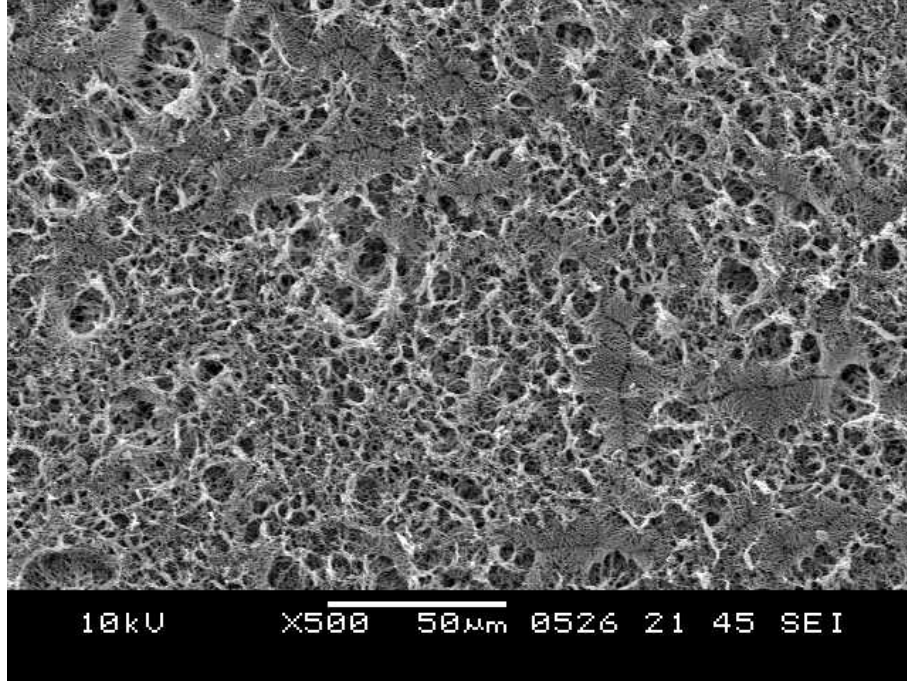
0,21  $\mu\text{m}$  kalınlığındaki 0,5880g kütleli selülozik destek yapı ile hazırlanan PLLA membranlardan 0,36  $\mu\text{m}$  değerindeki membran kalınlığına ve 0,7501g kütleyle sahip 0,1619g PLLA içeren 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri; 10 kV'luk elektrik akımı altında, sırasıyla 100 kat, 250 kat, 500 kat ve 1000 kat büyütme oranı ve bununla birlikte 100  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$  ve 10  $\mu\text{m}$  skala büyüklük değerleri ile Şekil 6.2.4.'de incelenmiştir.



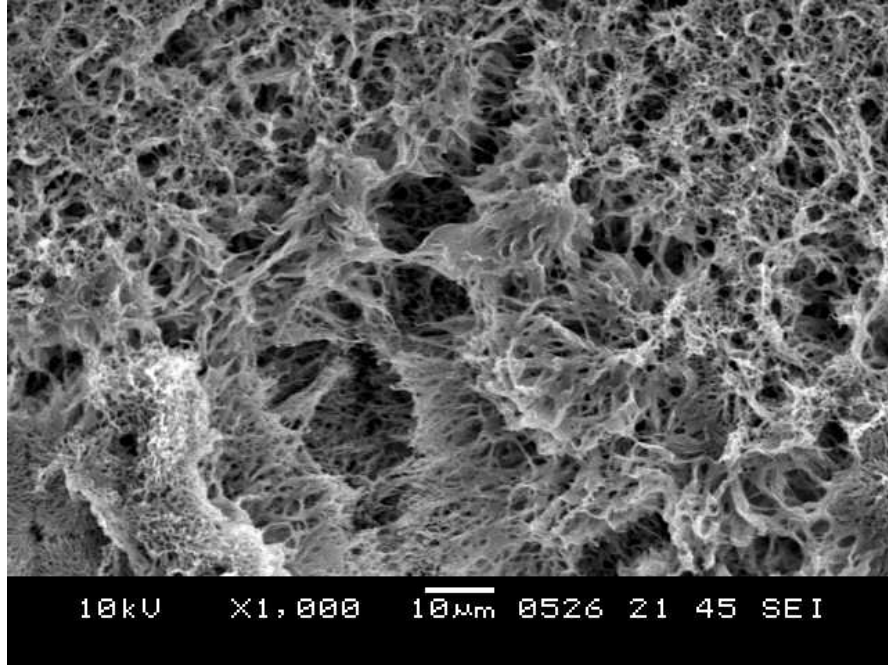
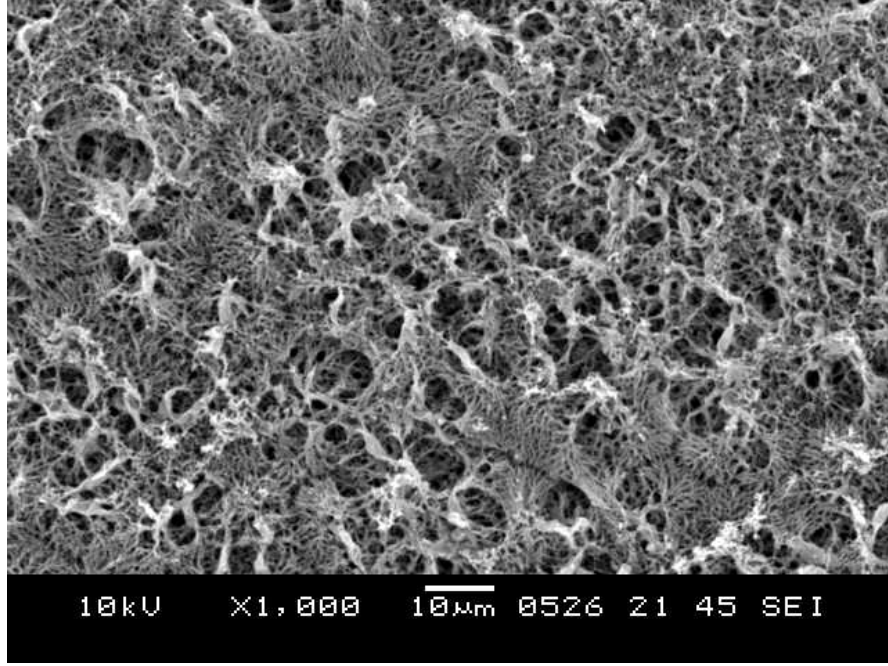
**Şekil 6.2.4.a:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 100 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüsü



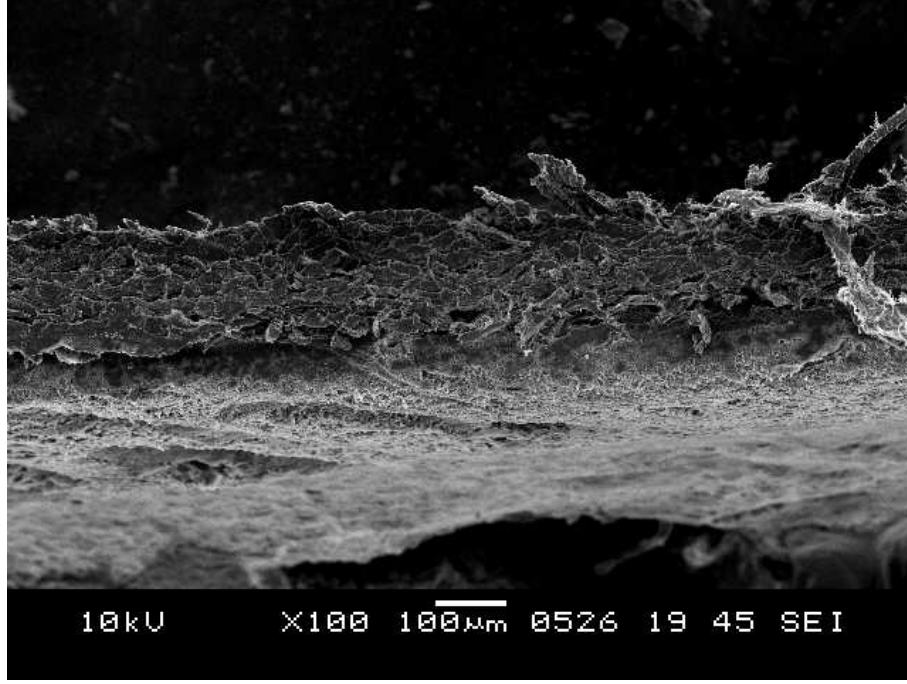
**Şekil 6.2.4.b:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 250 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüsü



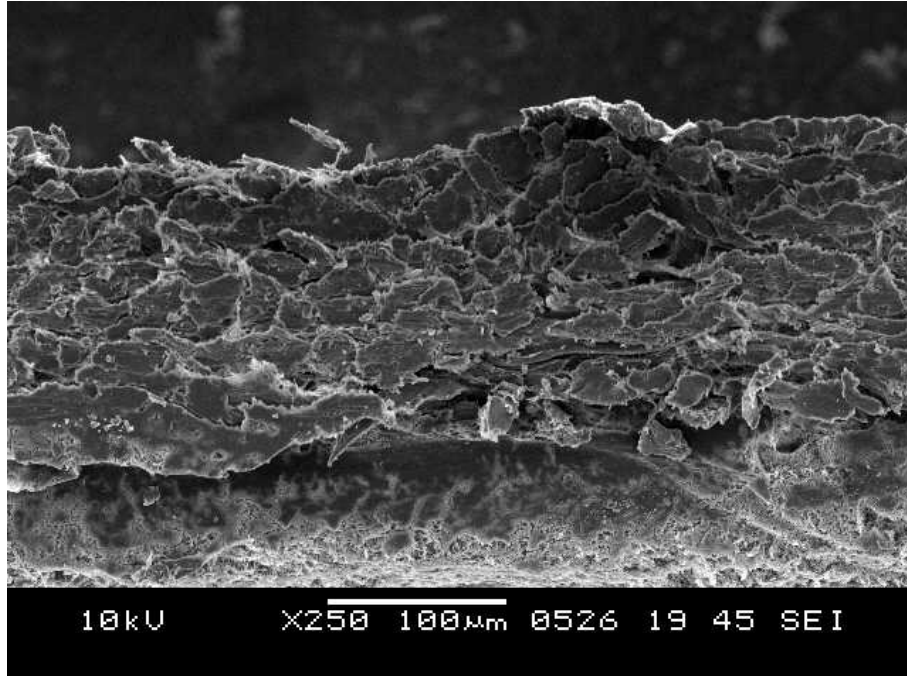
**Şekil 6.2.4.c:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 500 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüleri



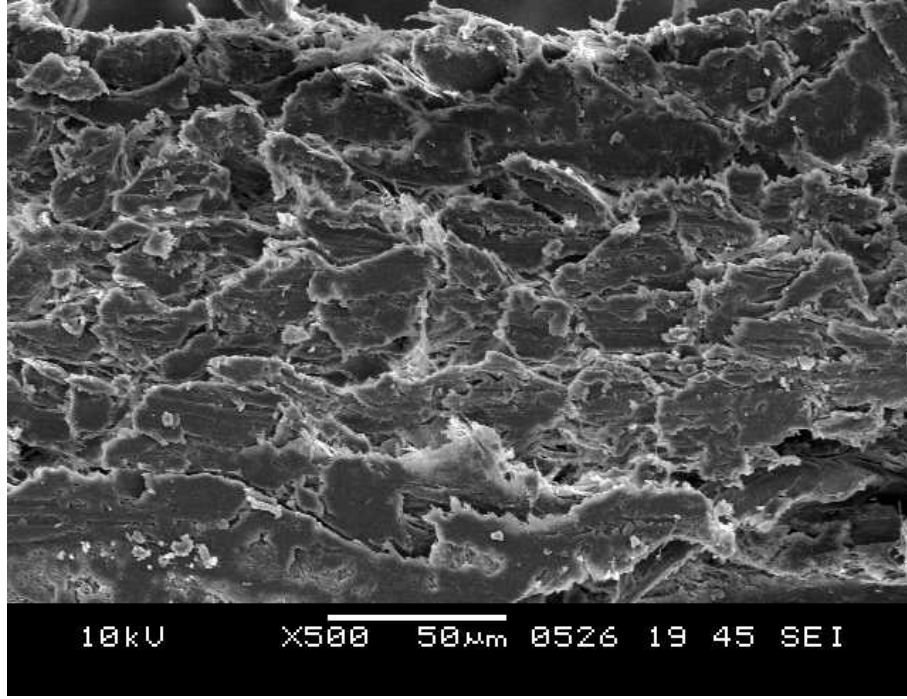
**Şekil 6.2.4.d:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1000 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüleri



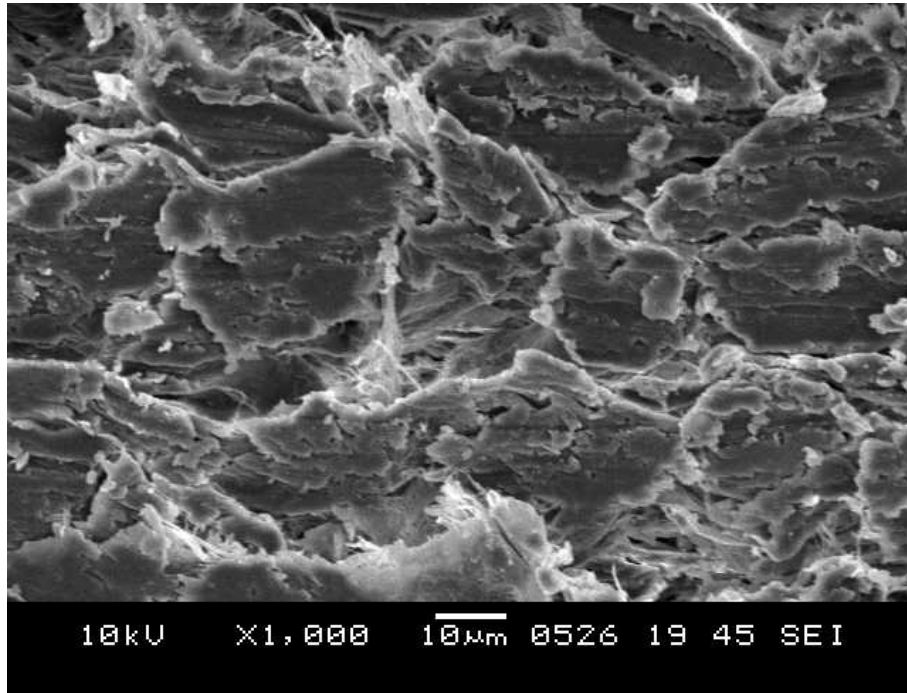
**Şekil 6.2.4.e:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 100 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü



**Şekil 6.2.4.f:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 250 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü



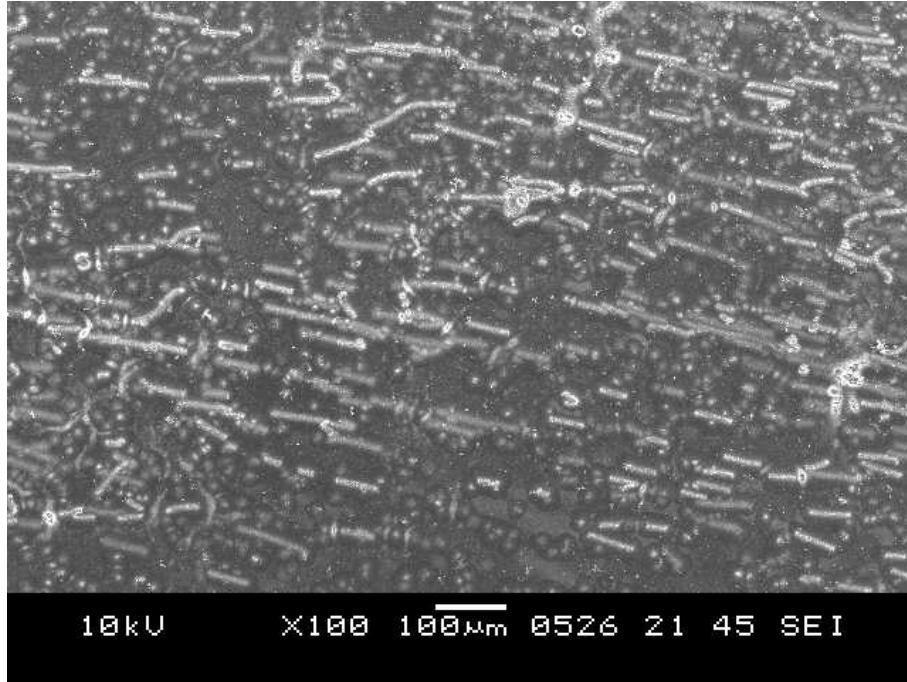
**Şekil 6.2.4.g:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 500 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü



**Şekil 6.2.4.h:** 4 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1000 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü

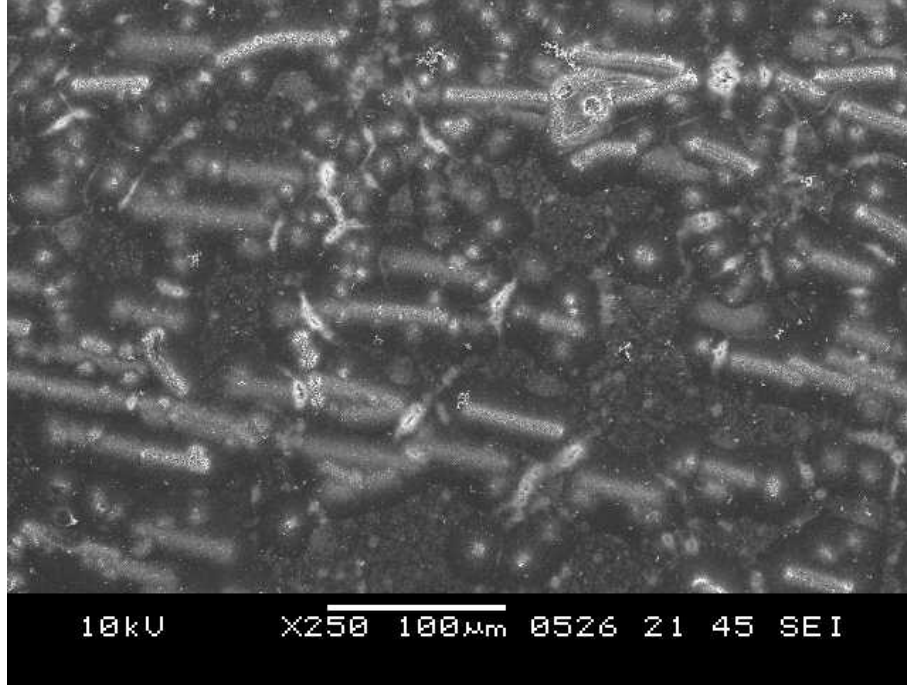
4 numaralı selülozik destek yapı içeren PLLA membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri (Şekil 6.2.4.) incelendiğinde porozitelerin homojen bir şekilde dağılmadığı, membranın daha iri gözeneklere sahip olduğu saptanmış olup daha küçük tane oluşumları gözlenmiştir.

0,21  $\mu\text{m}$  kalınlığındaki 0,5880g kütleli selülozik destek yapı ile hazırlanan PLLA membranlardan 0,45  $\mu\text{m}$  değerindeki membran kalınlığına ve 0,7669g kütleyle sahip 0,1789g PLLA içeren 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM yüzey görüntüleri, 10 kV'luk elektrik akımı altında, sırasıyla 100 kat, 250 kat, 500 kat ve 4500 kat büyütme oranı ve bununla birlikte 100  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$  ve 5  $\mu\text{m}$  skala büyüklük değerleri ile; SEM kesit görüntüleri ise sırasıyla 50 kat, 100 kat, 1000 kat ve 2500 kat büyütme oranı ve bununla birlikte 500  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$  ve 10  $\mu\text{m}$  skala büyüklük değerleri ile Şekil 6.2.5'de incelenmiştir.

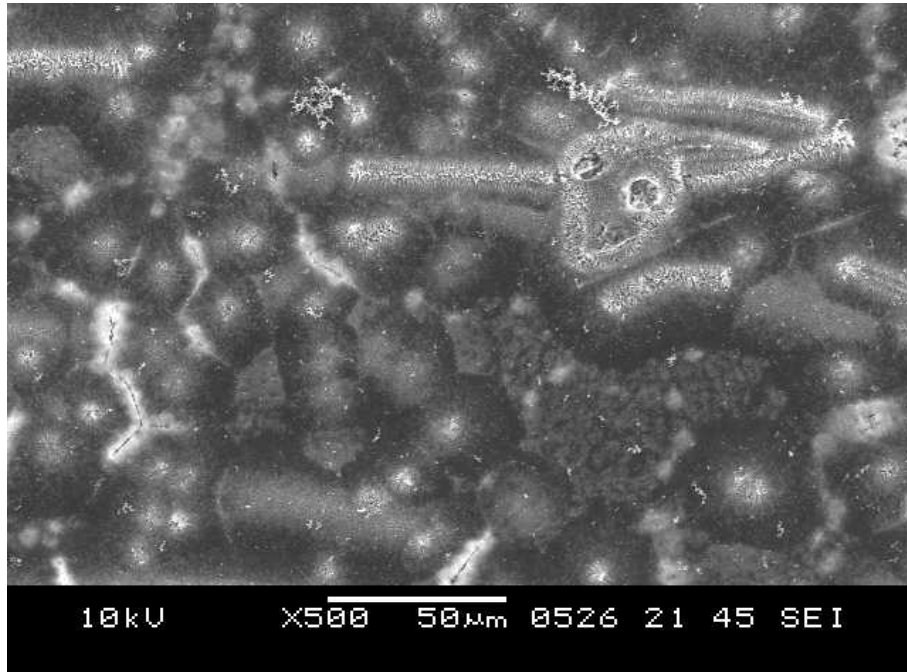


**Şekil 6.2.5.a:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 100 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüsü

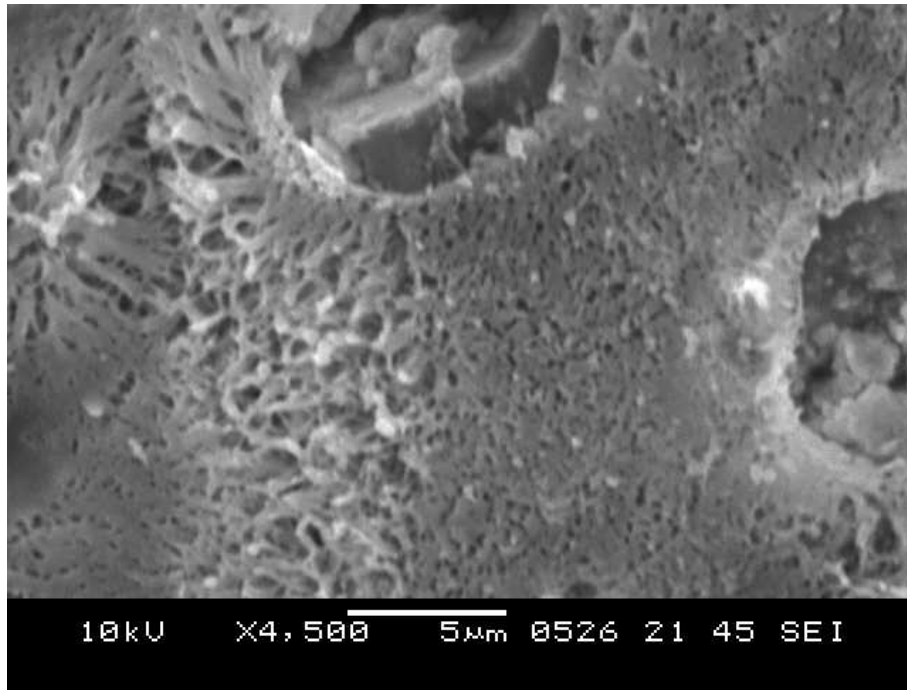
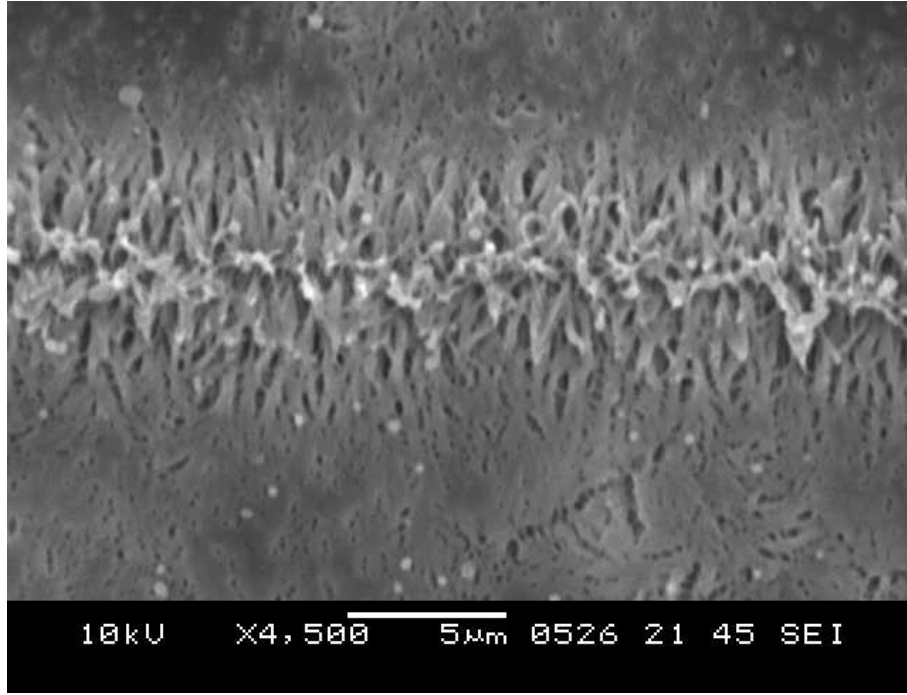




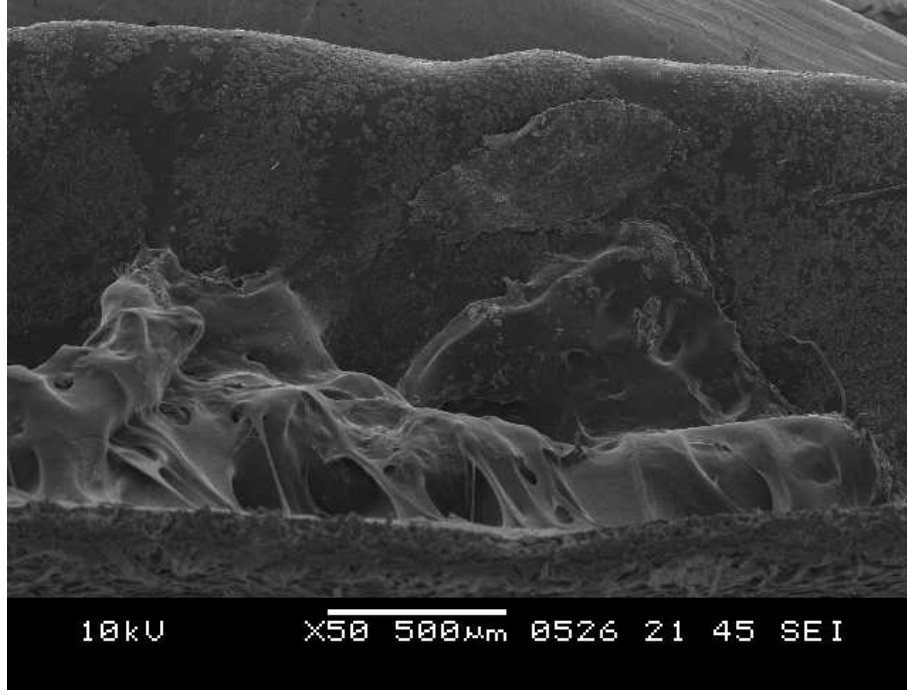
**Şekil 6.2.5.b:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 250 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüsü



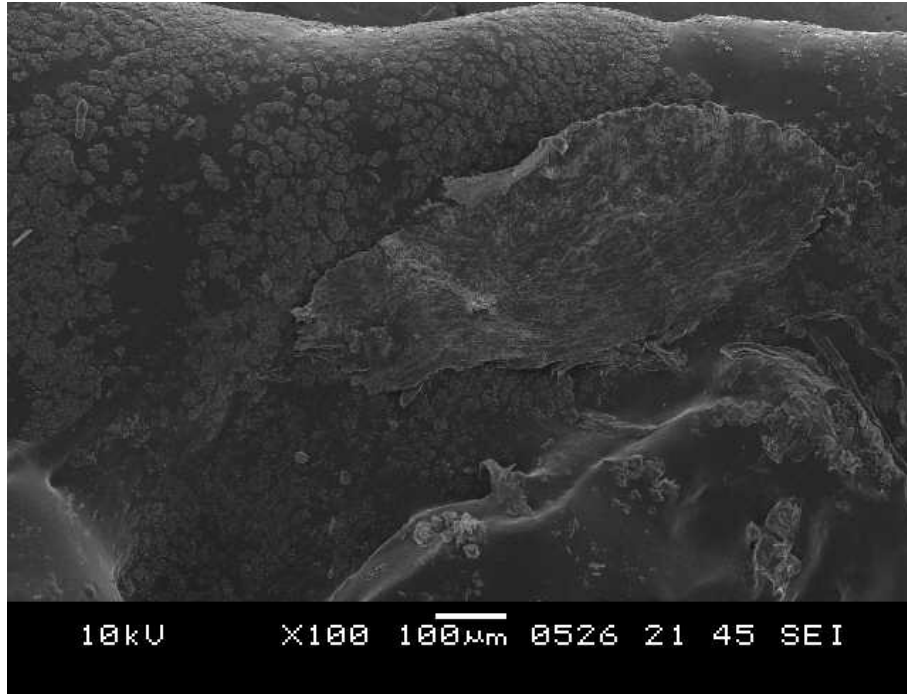
**Şekil 6.2.5.c:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 500 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüsü



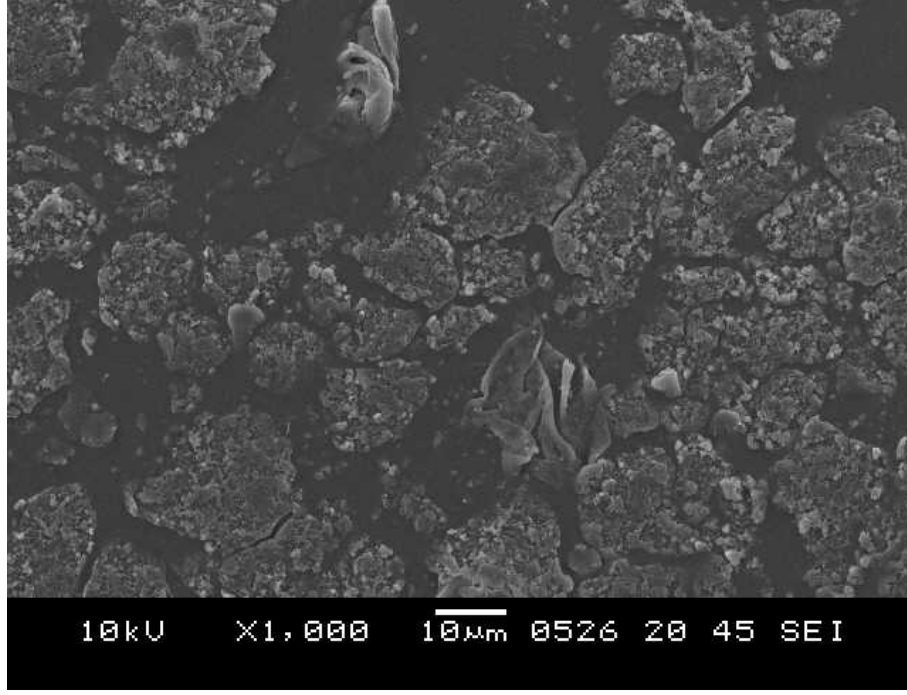
**Şekil 6.2.5.d:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 4500 kat büyütme ile elde edilen SEM yüzey görüntüleri



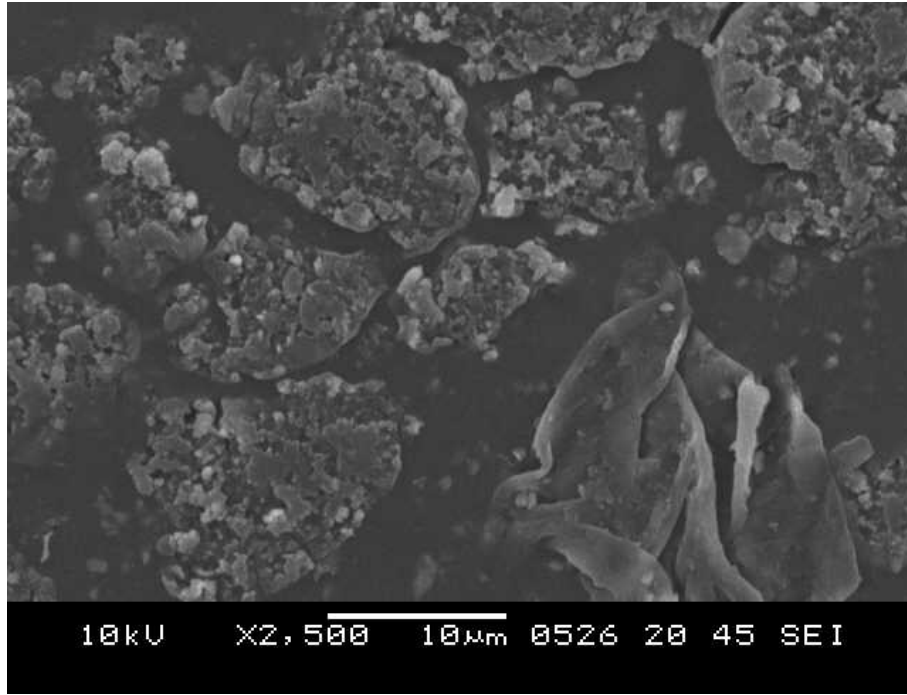
**Şekil 6.2.5.e:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 50 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü



**Şekil 6.2.5.f:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 100 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü



**Şekil 6.2.5.g:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 1000 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü



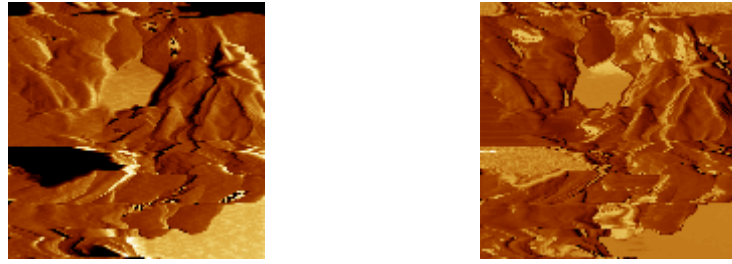
**Şekil 6.2.5.h:** 5 numaralı selülozik destekli PLLA membran numunesine ait analiz örneğine ilişkin 2500 kat büyütme ile elde edilen SEM kesit görüntüsü

5 numaralı selülozik destek yapı içeren PLLA membran numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin SEM görüntüleri (Şekil 6.2.5.) incelendiğinde parça yüzeyinde aynı yönde yönelmiş çubuk şeklinde poroziteli bölgelerin varlığı saptanmış olup, membran nispeten homojen bir yapı sergilemektedir. Özetle 5 numaralı numunede gözenekli yapı oluşmamış fakat selülozlar belirgin şekilde görülmektedir.

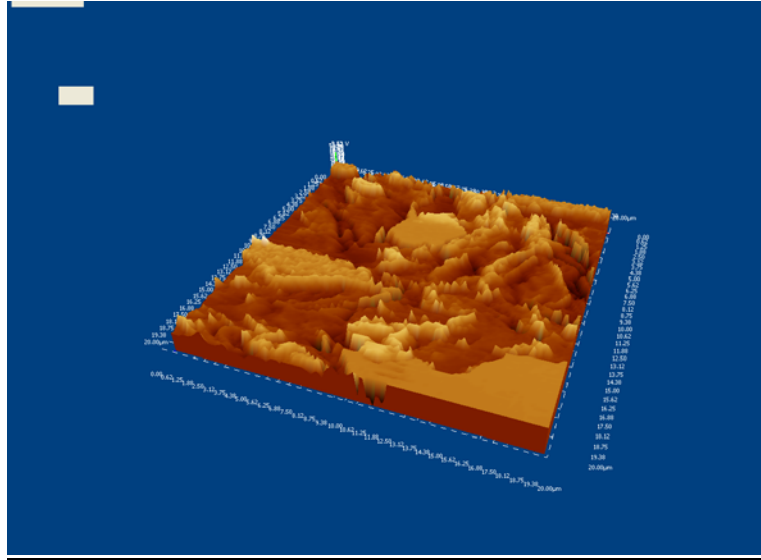
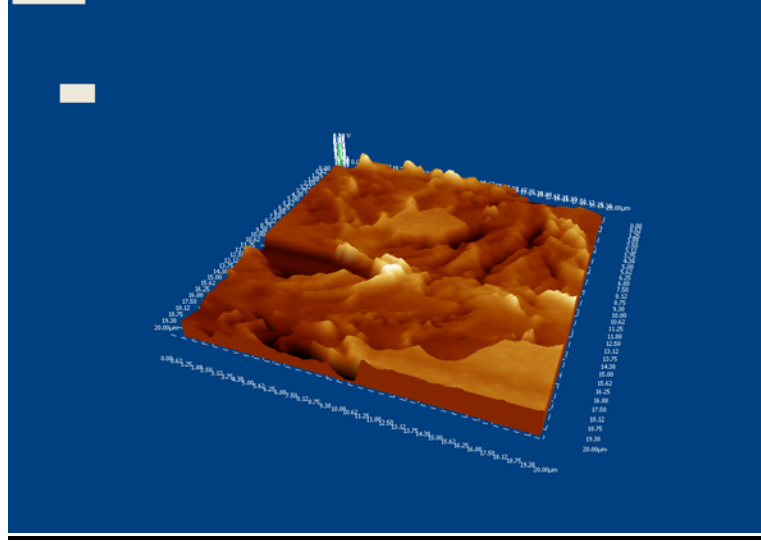
### 6.3: AFM Analizleri:

0,19  $\mu\text{m}$  değerindeki membran kalınlığına ve 0,4598g kütleyle sahip 3 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğininin hava ile temas halinde kurutulmuş yüzeyine ilişkin SEM yüzey görüntüleri ( bkz. Şekil 6.2.3.); 10 ve 15 kV'luk elektrik akımı altında, sırasıyla 100 kat, 250 kat, 500 kat, 1000 kat ve 1500 kat büyütme oranı ve bununla birlikte 100  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$  ve 10  $\mu\text{m}$  skala büyüklük değerleri ile incelendiğinde bağlantılarda bir bozulmanın, gül gibi bir açılmanın söz konusu olduğu ve çok homojen bir bağlantı dağılımının olmadığı saptanmıştır. Porozitelerin de homojen bir şekilde dağılmadığı, irili ufaklı dağılmış olduğu gözlenmiştir.

3 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğininin hava ile temas halinde kurutulmuş yüzeyine ilişkin yüzey topografına AFM ile bakılarak Şekil 6.3.1'de görüldüğü gibi SEM yüzey analizlerini ( bkz. Şekil 6.2.3.) destekleyen görüntüler elde edilmiştir.



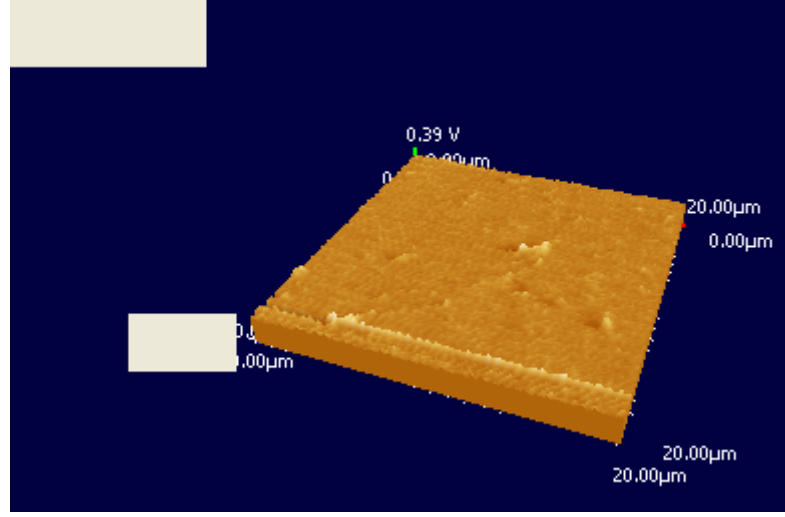
**Şekil 6.3.1:** 3 numaralı PLLA numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin sırasıyla genlik ve faz konumlarındaki AFM görüntüleri



**Şekil 6.3.2:** 3 numaralı PLLA numunesinden alınan analiz örneğine ilişkin sırasıyla genlik ve faz konumlarındaki 3 boyutlu (3D) AFM görüntüleri

Bu analizlerde aynı membran numunesinin hava ile temas halinde kurutulmuş yüzeyine ait gözenek yapısını sergileyen SEM görüntüsü ile aynı yüzeye ait AFM görüntüsünün birbirini destekleyen bir yapı sergilediği gözlenmiştir. İki şekil arasında açıkça görülmektedir ki oldukça pürüzlü bir yapı söz konusudur.

3 numaralı membran numunesinden alınan analiz örneğinin petri kabı ile temas halinde kurutulan yüzeyine ilişkin yüzey topografına AFM ile bakılarak Şekil 6.3.3.'de 3 boyutlu (3D) yapısı gözlenmektedir.



**Şekil 6.3.3:** 3 numaralı PLLA numunesinden alınan analiz örneğinin petri kabı ile temas halinde kurutulan yüzeyine ilişkin 3 boyutlu (3D) AFM görüntüsü

Söz konusu membran numunesinin her iki yüzeyine ilişkin AFM analiz sonuçları karşılaştırılarak, membranın asimetrik yapıya sahip olduğu saptanmıştır. Petri kabı ile temas halinde kurutulan membran yüzeyi hava ile temas halinde kurutulan membran yüzeyine kıyasla daha az gözenekli, daha düzgün bir yapı sergilemektedir buna bağlı olarak burada incelenen 3 numaralı membranın asimetrik yapıda olduğu söylenebilmektedir.

## **7.TARTIŞMA:**

Biyomateryaller, vücudun herhangi bir organ ve dokusunu iyileştirmeye yönelik ya da bir takım fonksiyonlarını gerçekleştirmek amacı ile tasarlanan araç ya da protezlerdir. Biyomateryaller; polimerler, metaller, seramikler ve bunların kompozitlerinden hazırlanabilir.

Kazalar, doğum hasarları, kalıtsal bozukluklar ve hastalıklar nedeniyle kemik onarımına artan bir gereksinim vardır. Bugün hiçbir implant madde kemiğin mekanik özelliklerine eşdeğer değildir. Güçlü metal alaşımlar ve biyoseramikler elastik modüllerinin 100 kez daha büyük olması nedeni ile kemikten daha dayanıklı materyallerdir (Hench 1999) (94).

Metaller ve alaşımları güçlü mekanik özelliklerinden dolayı ortopedik cerrahide implant madde olarak kullanılır. Yük taşıyan mafsallar için metalik alaşımlardan yapılan implant tasarımında sertlik değerinin yüksek olması ve buna bağlı olarak materyalin aşınmalara karşı direnç gösterebilmesi gerekir. Metaller korozyon ve doku hassasiyeti nedeniyle ideal maddeler değildir. Metal ve kemik ara yüzeyi yapışmadığından osteoliz gerçekleşebilmektedir. Ortopedide yaygın olarak kullanılan alaşımlar paslanmaz çelik, Co-Cr alaşımları ve Ti-6Al-4V'dur (Shackelford 1999) (95).

Sert doku mühendisliğinin geleceği uygun kompozisyondan oluşan ağ, yerel düzenleyiciler ve osteojenik hücrelerin birleşiminden oluşacaktır. Doku mühendisleri kemiğin elastik ve rijit özelliklerini akıldan çıkarmayarak original dokuya uygun biyokimyasal özellikleri olan bir yapay ağ aramalıdır. Bu arayışta kemiğin mineral özelliklerine yakın biyolojik uyumlu seramiklerin ve polimerlerin yeri olacaktır (1).

Vücudun zarar görmüş parçalarının değişimi ve yeniden yapılandırılması için kullanılan seramik maddelere biyoseramik denir. Biyoseramikler, korozyona dayanıklı, üstün sürtünme özellikleri olan, alerjik ve kanserojen olmayan inorganik maddelerdir. Biyoseramikler canlı organizma ile biyouygunluk özelliği göstermektedirler. Biyouygunluk terimi ile ifade edilmek istenen biyoseramiğin vücut tarafından kabulüdür. Biyoseramikler yoğunluğu düşük maddelerdir (Bose *et al.* 2000) (96).

Biyoseramikler ortopedi ve dişçilikte diz, kalça ve kas değişimi, çenenin yeniden yapılandırılması, çene kemiğinin sabitleştirilmesi ve omurga kemiği füzyonunda kemik dolgu maddesi olarak kullanılır.



Biyoseramikler doku ile etkileşimlerine göre biyoinert, biyoaktif ve biyobozunur seramikler olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Biyoinert seramikler canlı dokuyu değiştirmeden doku ile bir arada bulunabilir. Biyoaktif seramikler kemikle ya da canlı organizmanın yumuşak dokusu ile kimyasal bağ yapma özelliği gösterirler. Biyobozunur seramikler doku ile yer değiştirir (Dubok *et al* 2000) (97).

Hastalık ve kaza nedeni ile hasara uğrayan doku ve organların yenilenmesi ve değiştirilmesi amacı ile kullanılan malzemelerin özellikleri insan vücudundaki doku ve yapılara benzer olmalıdır. Kemik doku % 69 oranında kalsiyum fosfat ile % 20 oranında kollajen liften oluşmaktadır.

Ortopedi ve travmatolojide kemik yerine kullanılan seramikler esas olarak hidroksiapatit (HA), trikalsiyum fosfat (TCP) veya cam kökenlidir. Seramiklerin metallere göre en önemli avantajı, konak doku ile biyolojik etkileşime girebilmesidir. Bu güne kadar seramikler, biyoyumlu ve biyolojik olarak aktif materyaller olarak tanımlanmışlardır. Bunlara karşın son yapılan çalışmalar, kemik iliğine implante edildiklerinde bu materyallerin, hücresel deplasyonun takip ettiği özgün olmayan erken bir inflamatuvar yanıtın oluştuğunu göstermiştir. Cam iyonomerleri medikal alanda kullanılan seramiklerin mekanik özelliklerini ve biyoyumluluğunu geliştirmiştir. Öte yandan, bu seramiklerin nöral dokuya ters etkileri olabilmektedir.

Kendiliğinden donan kalsiyum fosfat çimentolar (CPC) enjekte edilebilir formdaki yeni çimentolardır (98, 99). Bu çimentolar inflamatuvar yanıt oluşturmaksızın implantasyondan hemen sonra yaygın kemik oluşumu göstermişlerdir. Kalsiyum fosfat seramiklerinde kemik kolonizasyonu daha erken ve daha hızlı oluşmaktadır. Polimerler, jelatin ve kollajen eklenerek kalsiyum fosfat seramiklerinin biyoyumluluğu geliştirilebilir. Kitosan ve sitrik asit inflamatuvar yanıtı azaltarak biyoyumluluğu arttırmak için eklenmiştir (100). TGF- $\alpha$  eklenerek preosteoblastik hücrelerin uyarımı *in vitro* olarak sağlanabilir. Buna karşın bir çalışmada partikül büyüklüğüne bağlı olarak CPC partiküllerinin osteoblastları ters etkilediği bulunmuştur. CPC' nin biyomekanik etkinliği ve gözenekli olmayışı nedeniyle yavaş bozunması gibi sorunları araştırmaya halen açıktır.

Polimerik biyomateryaller çok değişik şekillerde ve özelliklerde hazırlanabilmeleri, yüzey özelliklerinin modifiye edilebilmesi gibi pek çok avantaja sahiptirler. Polimer malzemede karbon zinciri uzadıkça molekül ağırlığı artmaktadır ve buna bağlı olarak polimerik materyalin aşınmalara, çekme gerilmelerine ve burulmalara karşı mukavemeti ile

elastikiyeti artmaktadır. Örneğin polietilenin yüksek dayanım ve düşük esneme özelliklerinden dolayı, yüksek molekül ağırlığına sahip formları ortopedik implantlarda kullanılmaktadır. PTFE, ticari adıyla teflon, yüksek kristaliniteye, düşük yoğunluk, elastik modülü, yüzey gerilimi ve sürtünme katsayısına sahip olmasından dolayı yapay damarlar şeklinde kullanılmaktadır. Poliamidler işlenebildikleri için ameliyat ipliği ya da yara örtü materyali olarak kullanılırlar. PET ise kalp kapakçıklarını dikme amacıyla kullanılan bir polimerdir.

Temelde polimerler, kırık fiksasyonu, kemik replasmanı, kırık onarımı, bağların ve tendonların fiksasyonu ile kontrollü ilaç salınımı için kullanılmaktadır. Polimerik implantların klinik uygulamasından sonra doku yanıtını kanıtlayan en önemli belirtiler steril drenaj ve implant çevresindeki osteolizdir. İmplantın boyutları arttıkça oluşan reaksiyonun şiddeti de artar.

PMMA (Polimetilmetakrilat) kemik çimentosunun başlıca kullanım alanı, kemik kırıklarının iyileştirilmesi amacıyla, kemik ile metal alaşımları veya biyoseramik materyallerden oluşan implant yüzeyleri arasında dolgu maddesi olarak kullanımınıdır. Ancak PMMA kemik çimentosunun hastaya uygulanmasından belirli bir süre geçtikten sonra çimentonun özelliğinden dolayı, çimento çekme davranışı gösterecektir ve çimento ile kemik yüzeyi arasında boşluk meydana gelecektir ve bu da hastanın tekrar tedavi olmasını gerektirecektir.

Kemik çimentoları günümüzde çoğunlukla, bozunmayan özellikteki polimetilmetakrilatlardan yapılmaktadır. Doktorlar dahili kemik kırıklarına lokal bir reaksiyon ile PMMA'yı ilave ederler. Polimetilmetakrilat birçok avantaja sahiptir. Monomer karışımının ilavesinde ve foto polimerizasyonunda daha az cerrahi müdahale tekniği gerektirmektedirler. PMMA'nın mekanik özellikleri gerçek canlı ortamdaki yüklemelerdeki gerilmeleri yeterli düzeyde taşıyabilmektedir. Bunun yanında birkaç dezavantajı vardır; örneğin ekzotermik polimerizasyonunda sıcaklık artışının kontrolü zordur. Kemik çimento yüzeyindeki sıcaklığın 111°C'ye ulaşması hücre ölümlerine yol açmaktadır. Buna ek olarak PMMA çimentoları sık sık kan akış hızının artmasına ve kaşıntıya neden olurlar.

Ticari kemik çimento formülasyonunda halen kullanılmakta olan PMMA kendi kendine polimerleşen biçimsiz bir polimerdir. Çimentoların karıştırma sırasında açığa çıkan ısının azaltılması ile biyomekanik özelliklerini değiştirmeksizin biyouyumluluğunu arttırmak için son yıllarda birçok çalışma yapılmıştır. Bunlardan biri kemik çimentosuna (PMMA) HA

seramiğinin eklenmesidir. Bu yöntemle çimentoda polimerizasyon ısısı 111°C'den 87°C'ye indirilmiştir. Ayrıca kompresif kuvvet de arttırılmıştır. Kendiliğinden donan kalsiyum fosfat çimentolar (CPC) da enjekte edilebilir formdaki yeni çimentolardır.

Çimentonun karıştırılması sırasında oluşan ısı reaksiyonu biyoyumluluğu belirleyen en önemli etmenlerin başında gelir. Yüksek ısıya neden olan çimentolar doku nekrozu oluşturabilir. Akut inflamatuvar evreden sonra makrofajları ve yabancı cisim dev hücrelerini içeren sinovya benzeri bir zar çimentoyu kaplar. Makrofajların sitoplazmalarında polietilen partiküller gözlenir ve kemik çimento birleşim yerinde IL-1 ile PGE2 düzeyleri artar. 10 µm çapından küçük titanyum ve polimetilmetakrilat partiküllerinin IL-1 ve PGE2 salgılanmasını arttırarak osteolitik süreci başlattıkları düşünülmektedir. PMMA ayrıca fibroblastlardan serbest radikal salınımına neden olur. PMMA ile aynı ortamda bulunan osteoblastlarda yüksek düzeyde apoptoz gözlenmiştir. Bunun yanında PMMA partikülleri osteoblast ayrımlaşmasını engellemektedir. Baryum sülfat gibi farmasötikler PMMA ya karşı oluşan inflamatuvar yanıtı arttırırlar. Kemik çimentolarındaki hızlandırıcıların değiştirilmesi biyoyumluluklarını geliştirebilir.

Karıştırma sırasında açığa çıkan ısının azaltılması ile biyomekanik özelliklerini değiştirmeksizin biyoyumluluğunu arttırmak için son yıllarda birçok çalışma yapılmıştır (101). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada polimer ağda homojen dağılımı sağlamak için iki farklı molekül ağırlığında HA partikülü ile PMMA karıştırılarak oluşturulan oldukça düşük viskoziteli çimento kompozisyonu hazırlanmıştır. Bu çimentoda polimerizasyon ısısı 111°C den 87°C ye indirilmiştir. Ayrıca çimentonun kompresif kuvvetinin de arttığı gözlenmiştir. HA içeren akrilik kemik çimentosu bilinen çimentodan daha yüksek mekanik kuvvete dayanım göstermiştir. Gelecekte HA içeren akrilik kemik çimentolarının yaygın kullanımı söz konusudur. In vitro çalışmalar da osteoblast benzeri hücrelerin HA içeren PMMA sementlerin yüzeyinde daha iyi büyüyerek farkanabildiklerini göstermiştir.

Defekt alanında istenmeyen fibröz doku hücrelerini ve ürünlerini yara bölgesinden uzak tutan fakat besleyici sıvı ve gazların geçişine imkan vererek osteojenik hücrelerin rejenerasyonuna dolayısıyla defektin doğal kemik oluşumuyla iyileşmesine olanak sağlayan Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR) kavramı günümüzde artan oranda değer kazanmaktadır.

Kullanılmakta olan bütün kemik greft materyallerinin avantajları olmakla birlikte bir takım dezavantajları da vardır. Otojen greft dışındaki tüm maddeler organizma için yabancı

cisimlerdir ve hepsi belli oranlarda yabancı cisim reaksiyonuna neden olurlar. Otojen kemik greftlerinin elde edilmesi için ikinci bir operasyonun gerekli olması, olası bir kanama ve enfeksiyon riski yanında, geniş defektlerde yeterli materyalin elde edilmesindeki zorluk gibi nedenler bu metodun zararları olarak sayılabilir.

Biyobozunur polimerin en büyük avantajı vücuda yerleştirildiğinde zamanla vücutta hiçbir yapay madde kalmamasıdır. Biyobozunur doğal ya da sentetik polimerler ve bunların HA ve trikalsiyum fosfat ile kompozitleri sert doku onarımında dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır. Gerek sentetik gerek doğal polimerler ile bunların kompozitleri pek çok çeşit ve özellikte bulunabilmekte ve nihai uygulama için istenilen çok kompleks şekillerde dahi işlenebilir olmaları nedeni ile biyomateryallerin en önemli grubunu oluşturmaktadır. Polimerik biyomateryallerin kullanım yerlerine göre yapısal ve fonksiyonel özelliklerini uzun süre korumaları ya da belli bir süre fonksiyonlarını yerine getirmeleri istenebilir. Malzeme fonksiyonunu yerine getirdikten sonra vücuttan uzaklaştırılmalıdır ki bu da ikinci bir cerrahi operasyon gerektirdiğinden avantajlı değildir. İşte bu tip durumlarda biyobozunur polimerlerin kullanımı söz konusudur. İyileşme sürecinde polimer bozunur ve vücuttan kolaylıkla uzaklaştırılabilen zararsız bileşenlere parçalanır.(Lin *et al.* 1999) (3).

Sentetik biyobozunur polimerler; poliortoesterler, polianhidritler, poliesteramidler, poliiminokarbonatlar, polifosfenezler, alifatik poliesterler ve poli(alkil-2-siyanoakrilat)'lar olarak sınıflandırılabilirler. Poliesteramidler yapılarındaki ester grupları nedeniyle kolaylıkla hidroliz olabilen ve amid bağları nedeniyle de mekanik olarak kararlı yapıda polimerlerdir. Bu özelliklerinden dolayı ameliyat ipliği olarak kullanılır. Poliesterlerin en önemli kullanım alanı ise ilaç salım sistemleridir.

PLA, PGA ve PHBV sert doku mühendisliğinde en çok kullanılan polimer tipleridir (5). Tip, kompozisyon, geometrik izomerleri, kimyasal yapı, porozite ve bozunma hızı gibi özellikler materyalin kemik doku ile etkileşimini belirler. Hidrofilik polimerler hücre yapışması ve büyümesi için yüzey modifikasyonu gerektirirler (6). Polimerlerin bozunma hızı in vivo ortamda in vitro ortamdan daha yavaştır.

Dahlin ve ark. (102), diğer bir deneysel çalışmalarında, mandibulalarında 5mm genişliğinde transosseoz defektler oluşturulmuş deney hayvanlarına PTFE membran uygulamış ve 6 hafta sonra yaptıkları histolojik analiz neticesinde tüm deney hayvanlarında defektin tamamen iyileştiğini, PTFE membranların iyi tolere edildiğini, defekt kenarlarındaki kemikte rezorpsiyon alanları oluşmadığını bildirmişlerdir.

Sandberg ve ark. (103), Sprague Dawley deney sıçanlarının mandibulasında oluşturdukları 5mm genişliğindeki defektleri PTFE ve rezorbe olabilen polilaktik/poliglikolik asit kopolimer yapıdaki membranlarla kapatmışlar ve defektlerin her iki membran grubunda da büyük oranda yeni kemikle dolduğunu bildirmişlerdir. İnflamatuar yanıtın yüksekliğini membranların rezorbe olma özelliğine, kırık daksal iyileşmeyi ise PLA/PGA yapıdaki membranların iyileşme döneminde membran dışından oksijen geçişine izin vermemelerine dolayısıyla membran içindeki defekt alanında oluşan düşük oksijen basıncına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Yine rezorbe olan membranların çevredeki yumuşak dokunun basıncına karşı geniş defektlerde yeterince direnç gösteremediği sonucuna varmışlardır.

Yapılan bir başka deneysel çalışmada ise kullanılan membranın bütünlüğünü koruduğu, yine PLA/PGA' daki gibi kırık daksal iyileşme alanlarının olduğu ve dolayısıyla Duramaterin PLA/PGA' dan daha az oranda inflammatuar yanıtı neden olduğu tespit edilmiştir. Membran uygulanan grupta yüksek oranda yeni kemik dokusunun oluşumu belirlenmiştir. Membrana karşı inflammatuar yanıtın yüksek olmaması, belirgin bir yabancı cisim reaksiyonu olmadığını açıklamaktadır.

Kemik değişen büyüklüklerde boşluklar içeren katı bir matristen oluşan gözenekli bir maddedir. Çeşitli kemik hücrelerini ve iliği içeren yumuşak dokular bu boşlukları doldurur. Kemikğin gözenekliliği % 5'den % 95'e değişmektedir. Düşük gözenekliliğe sahip sıkı kemik uzun kemik uçlarında bulunur. Yüksek gözenekliliğe sahip sünger kemik omurga kemiğinde bulunur. Sıkı kemik her biri 5 mikrometre kalınlığında lamela' dan oluştuğu için tabakalı bir yapıya sahiptir. Kemik; tabakalı, gözenekli bir polimer-seramik karışımı olduğu için bir kompozittir (Martin 1999) (2).

Polimerin kemik hücreleriyle etkileşimi daha çok doku kültürlerinde çalışılmıştır. Osteoblastik hücreler kullanılarak yapılan implant toksisite ölçümleri biyoyumluluk testlerinin vazgeçilmez bir parçası olmuştur. Rat kemik iliği stromal kökenli osteoblastlarında yapılan çalışmalar, polimer partikül konsantrasyonunda artma oldukça hücre sayısı ve mineralizasyonda azalma olduğunu göstermiştir (15). Bu çalışma polimerik partiküllerin kemiğin yeniden şekillenme sürecini de etkilediğini göstermiştir.

Yeni doku oluşumu için suni yapılar üretmek amacıyla doku mühendisliği, materyal mühendisliği ve fen bilimlerine ait yöntemleri uygulamaktadır. Genel olarak kullanılan yaklaşımlardan biri, hastadan basit bir biyopsi yoluyla spesifik hücrelerin kontrol altına alınmış kültür ortamlarında üç boyutlu (3D) bir skafold üzerinde geliştirilmesi amacıyla izole

edilmesidir. Daha sonra bu yapı, zamanla degrade olabilecek skafold içerisinde yeni doku formasyonunu yönlendirmek amacıyla hastanın vücudunda istenen bölgeye gönderilir (34-36). Diğer bir alternatif yaklaşım ise canlı organizmalarda doku formasyonunu yönlendirmek ve teşvik etmek amacıyla doğrudan doku gelişimi için skafoldların yerleştirilmesidir (35, 37, 38). Bu yaklaşımın avantajı, hasta için daha kısa iyileşme süresi ile sonuçlanacak olan gerekli operasyonların sayısının azaltılmış olmasıdır.

İnsan vücudu gibi biyolojik ve hassas yapıdaki karmaşık bir sistemi kaplayarak, doku mühendisliği için skafold materyali oluşturma gereksinimleri son derece ilgi çekici düzeyde artmıştır. İlk olarak substrat materyallerinin biyoyumlu olması gerekmektedir diğer bir deyişle materyal kararsız tahrik edici tepki açığa çıkarmamalı ya da immunojenik ve sitotoksik özellik sergilememelidir. Buna ek olarak, skafoldun mekanik özellikleri uygun olmalıdır ve uygulama ile hastanın günlük aktiviteleri esnasında çökmemelidir. İnsan vücudu ile temas halinde bulunan tüm materyallerde olması gerektiği gibi, doku skafoldları enfeksiyondan korunmak amacıyla kolayca sterile edilebilir olmalıdır (39). Hücrelerin istenen fiziksel yapı içerisine yerleştirilmesi ve gelişmekte olan dokunun vaskülarizasyonunu yönlendirmek amacıyla skafoldun kontrollü bir şekilde birbirine bağlanmış olan gözenekli yapısına özellikle kemik doku mühendisliğinde son derece büyük bir gereksinim vardır. 100nm ve üzerindeki gözenek çapının yanı sıra genel olarak %90'lık gözenekli yapının, hücre penetrasyonu ve gelişmekte olan dokunun uygun vaskülarizasyonu için gerekli olduğu bilinmektedir (40- 43).

Son zamanlarda skafold oluşturmak amacıyla kullanılan materyaller; doğal veya polisakkaritler, poli( $\alpha$ -hidroksi esterler), hidrojel ve termoplastik elastomerler (35, 37, 44, 45) gibi sentetik polimerlerdir. Diğer önemli materyal çeşitleri ise kalsiyum fosfatlar ve biyoaktif camlar gibi biyoaktif yapıdaki seramiklerdir (42, 46, 47). Günümüzde polimer ve seramik kompozitleri mekanik olarak skafold stabilitesini artırarak doku etkileşimini düzelterek iyileştirmek amacıyla geliştirilmektedir (47- 52). Buna ek olarak, ilaç dağıtım kapasitesine sahip skafold geliştirme konusunda da bir takım çalışmalar yapılmaktadır. Bu skafoldlar, yapısına yerleştirilmiş olan growth faktörler ve antibiyotikleri bölgesel olarak serbest bırakabilmekte olup kemik defektleri ve hatta destek doku hasarlarını tedavi etmek amacıyla kemik gelişimini artırabilmektedir (47, 53- 57). Skafold materyallerinde aranan özelliklerin çok sayıda olduğu yukarıda bahsedilmiştir. Bu gereksinimleri mümkün olduğunca büyük ölçüde karşılayabilmek amacıyla polimer ve seramiklerin birleşerek bir araya gelen

avantajlarına sahip olan kompozit sistemlerin dünya çapında giderek artan inceleme ve araştırmalarla belirtildiği gibi özellikle kemik doku mühendisliği için gelecek vadeden bir seçim olduğu görülmektedir (35, 47- 56, 58- 63).

Doku mühendisliğinde üç boyutlu (3D) skafoldlar için en sık kullanılan biyobozunur sentetik polimerler; PLA ile PGA ve bunun yanı sıra PLGA kopolimerleri içeren doymuş poli- $\alpha$ -hidroksi esterleridir (35, 65, 69, 70).

Biyobozunur polimerler ve biyoaktif seramikler doku mühendisliği skafoldları için çeşitli kompozit materyallerde birleştirilmektedir. Kemik doku mühendisliği için uygun yapıda birbirine bağlı gözeneklere sahip üç boyutlu (3D) skafoldlar oluşturmak amacıyla biyomateryaller ve üretim yöntemleri yeniden incelenmiştir. Günümüzde mevcut gözenekli skafoldların mekanik özellikleri ayrıntılı bir şekilde analiz edilmiş olup, insan kemiğine kıyasla yetersiz elastik sertlik ve kompresif dayanıklılık sergiledikleri saptanmıştır. Materyal bilimleri açısından doku mühendisliğindeki mevcut hedef, yük taşıyan koşullar altında dahi yapılarını ve bütünlüğünü önceden belirlenebilen bir zaman dilimi için koruyabilecek olan gözenekliliği ve gözenek yapısı uygun hale getirilmiş yeniden üretilebilen, biyoaktif ve biyolojik olarak rezorbe olabilen 3D skafoldları tasarlayarak üretmektir (82).

'PLLA Membranların Gözenek Büyüklüğü Belirlemesi ve Mikroyapı Analizi' konulu çalışmamızda elde ettiğimiz PLLA membranlara ilişkin SEM analizleri göz önüne alındığında, membran porozitelerinin kemiğin trabeküler yapısına benzer nitelikte olduğu ve bu nedenle PLLA membranların skafold oluşturmaya yatkın olduğu saptanmıştır. Buna karşın selüloz destekli PLLA membranlarda gözenekli yapı belirgin değildir. PLLA membranların poroziteli yüzey morfolojisine bağlı olarak spongioz kemiğin yapısını taklit etmesi nedeniyle, çalışmamız skafold materyali olarak söz konusu membranların kullanılması yönündeki araştırmalara teşvik edici nitelikte yol göstermektedir.

## **8.SONUÇLAR VE ÖNERİLER:**

PLLA canlı dokuya uyumluluğu ve değredasyonu nedeniyle hücre kültürlerinde skafold olarak kullanılması uygun olan bir materyaldir.

PLLA membran özellikleri incelendiğinde hücrelerin entegre olmasını sağlayacak porozite yapısının çok uygun olduğu çalışmamızda da ortaya çıkarılmıştır.

PLLA membranın hücre kültürlerinde mekanik ve diğer stimölasyonlara bağlanmalarına kolayca uyum ve olanak sağlayacağı göz önüne alındığında, araştırmamızın bu yöndeki çalışmaları teşvik etmesine yol açmaktadır.

PLLA membranın poroziteli yüzey morfolojisine bağlı olarak spongiöz kemiğin yapısını taklit etmesi nedeniyle, çalışmamız skafold materyali olarak söz konusu membranın kullanılması yönündeki çalışmalara ışık tutmaktadır.



## **9.KAYNAKLAR:**

1. Korkusuz F, Şenköylü A, Korkusuz P. Hard tissue – implant interactions – 2: bone ceramic and bone – polymer interactions. *J. Arthroplasty&Arthroscopic Surg*, 2003; 14. 2: 109- 125.
2. Martin, B. Bone as a ceramic composite material. Trans Tech Publications, 1999: 5-16.
3. Suchanek W Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite based biomaterial for use as hard tissue replacement implants. *Journal of Materials Research*, 1998: 1- 24.
4. Simon CG, Khatri CA, Wight SA, Wang FW. Preliminary report on the biocompatibility of a moldable, resorbable, composite bone graft considering of calcium phosphate cement and poly (lactide-co-glycolide)microspheres. *J Orthop. Res*, 2002; 20: 473-482.
5. Hasırcı V, Lewandrowski K, Gresser JD, Wise DL, Trantolo DJ. Versatility of biodegradable biopolymers: degradability and an in vivo application. *J. Biotech.* ,2001; 86: 135- 150.
6. Deschamps AA, Claase MB, Sleijster WJ, deBruijn JD, Grijpma DW, Feijen J. Design of segmented poly(ether ester) materials and structures for the tissue engineering of bone. *J. Control Release*, 2002; 78: 175- 186.
7. Heath DJ, Christian P, Griffin M. Involvement of tissue transglutaminase in the stabilization of biomaterial/ tissue interfaces important in medical devices. *Biomaterials*, 2002; 23: 1519- 1526.
8. Bostman O, Pihlajmaki H. Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation. *Biomaterials*, 2000; 21: 2615- 2621.
9. Korkusuz F, Korkusuz P, Ekşioğlu F, Gürsel I, Hasırcı V. In vivo response to biodegradable controlled antibiotic release systems. *J. Biomed. Mater. Res.* , 2001; 55: 217-228.
10. Nordstorm P, Pihlajamaki H, Toivonen T, Tormala P, Rokkanen P. Tissue response to polyglycolide and polylevolactide pins in osteotomized cancellous bone. *Clin. Orthop. Rel. Res.* ,2001; 382: 247- 257.

11. Ignatus AA, Betz O, Augat P, Claes LE. In vivo investigation on composites made of resorbable ceramics and poly (lactide) used as bone graft substitutes. *J. Biomed. Mater. Res.* , 2001; 58: 701- 709.
12. Tegnander A, Engebretsen L, Bergh K, Eide E, Holen KJ, Iversen OJ. Activation of the complement system and adverse effects of biodegradable pins of polylactic acid in osteochondritis dissecans. *Acta. Orthop. Scand.* , 1995; 66: 573- 574.
13. Koskikare K, Toivonen T, Rokkanen P. Tissue response to bioabsorbable self-reinforced polylevolactide and polyglycolide pins implanted intra-articularly and directly into the bone on different levels. *Arch. Orthop. Trauma. Surg.* , 1998; 118: 149- 155.
14. Santavirta S, Konttinen YT, Saito T, Grönblad M, Partio E, Kemppinen P, Rokkanen P. Immune response to polyglycolic acid implants. *J. Bone. Joint. Surg.* , 1990; 72- B: 597- 600.
15. Wake MC, Gerecht PD, Lu L, Mikos AG. Effects of biodegradable polymer particles on rat marrow-derived stromal osteoblasts in vitro. *Biomaterials*, 1998; 19: 1255- 1268.
16. Burkhart SS. The evolution of clinical applications of biodegradable implants in arthroscopic surgery. *Biomaterials*, 2000; 21: 2631- 2634.
17. Bostman O, Pihlajmaki H. Adverse tissue reactions to bioabsorbable fixation devices. *Clin. Orthop. Rel. Res.* , 2000; 371: 216- 227.
18. Bluhm AE, Laskin DM. The effect of polyterafluoroethylene cylinders osteogenesis in rat fibular defects: A preliminary study. *J Oral Maxillofacial Surg*, 1995; 53: 163.
19. Girard B, Baker G, Mock D. Foreign body granuloma following placement of hard tissue replacement material. A case report *J. Periodont*, 2000; 71: 517- 520.
20. Miketa JP, Prigoff MM. Foreign body reactions to absorbable implant fixation of ostetomies. *J. Foot. Ankle. Surg.* , 1994; 33: 623- 627.
21. Casteleyn PP, Handelberg F, Haentjens P. Biodegradable rods versus kirschner wire fixation of wrist fractures. *J. Bone. Joint. Surg.* ,1992; 74-B: 858- 861.
22. Bucholz RW, Henry S, Henley MB. Fixation with bioabsorbable screws for the treatment of fractures of the ankle. *J. Bone. Joint. Surg.* , 1994; 76-A: 319- 324.
23. Ahl T, Dalen N, Lundberg A, Wykman A. Biodegradable fixation of ankle fractures. *Acta. Orthop. Scand.* , 1994; 65: 166- 170.

24. Vander Elst M, Klein CPAT, de Blicck-Hogervorst JM, Patka P, Haarman HJTM. Bone tissue response to biodegradable polymers used for intra medullary fracture fixation: a long term in vivo study in sheep femora. *Biomaterials*, 1999; 20: 121- 128.
25. Calvert JW, Marra KG, Cook L, Kumta PN, diMilla PA, Weiss LE. Characterization of osteoblast-like behaviour of cultured bone marrow stromal cells on various polymer surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.* , 2000; 52: 279- 284.
26. Lewandrowski KU, Gresser JD, Wise DL, Trantolo DJ. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of poly(propylene glycol-co-fumaric acid)- based cement implants in rats. *Biomaterials*, 2000; 21: 757- 764.
27. Lewandrowski KU, Gresser JD, Wise DL, Trantolo DJ, Hasircı V. Tissue response to molecularly reinforced polylactide-co-glycolide implants. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed*, 2000; 11: 401- 414.
28. Andriano KP, Chandrashekar B, McEnery K, Dunn RL, Moyer K, Balliu CM, Holland KM, Garrett S, Huffer WE. Preliminary in vivo studies on the osteogenic potential of bone morphogenic proteins delivered from an absorbable putty-like polymer matrix. *J. Biomed. Mater. Res.* , 2000; 53: 36- 43.
29. Athanasiou KA, Niederauer GG, Agrawal CM. Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers. *Biomaterials*, 1996; 17: 93- 102.
30. Gogolewski S. Bioresorbable polymers in trauma and bone surgery. *Injury*, 2000; 31: 28- 32.
31. Rokkanen PU, Bostman O, Hirvensalo E, AnteroME, Partio EK, Patiala H, Vainionpaa S, Vihtonen K, Tormala P. Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology. *Biomaterials*, 2000; 21: 2607- 2613.
32. An YH, Woolf SK, Friedman RJ. Pre-clinical evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices. *Biomaterials*, 2000; 21: 2635- 2652.
33. Chen GQ, Wu Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. *Biomaterials*, 2005; 26: 6565- 78.
34. Gunatillak PA, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur Cells Mater J*, 2003; 5: 1- 16.

35. Mano JF, Sousa RA, Boesel LF, Neves NM, Reis RL. Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments. *Compos Sci Technol*, 2004; 64: 789- 817.
36. Shin H, Jo S, Mikos AG. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials*, 2003; 24: 4353- 64.
37. Drotleff S, Lungwitz U, Breunig M, Dennis A, Blunk T, Tessmar J. Biomimetic polymers in pharmaceutical and biomedical sciences. *Eur J Pharm Biopharm*, 2004; 58: 385-407.
38. Suchanek W, Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite- based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *J Mater Res* 1998;13: 94- 117.
39. Chaikof EL, Matthew H, Kohn J, Mikos AG, Prestwich GD, Yip CM. Biomaterials and scaffolds in reparative medicine. *Ann NY Acad Sci*, 2002; 961: 96- 105.
40. Antoniou G, Mikos AG, Temenoff JS. Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering. *Electron J Biotechnol* 2000; 3.
41. Middleton JC, Tipton AJ. Synthetic biodegradable polymers as orthopaedic devices. *Biomaterials*, 2000; 21: 2335- 46.
42. Griffith LG. Emerging design principles in biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Ann NY Acad Sci*, 2002; 961: 83- 95.
43. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 2005; 26: 5474- 91.
44. Tirelli N, Lutolf MP, Napoli A, Hubbell JA. Poly(ethylene glycol)block copolymers. *Rev Mol Biotechnol*, 2002; 90: 3- 15.
45. Berger J, Reist M, Mayer JM, Felt O, Peppas NA, Gurny R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm*, 2004; 57(1): 19- 34.
46. Hench LL. Bioceramics. *J Am Ceram Soc*, 1998; 81(7): 1705- 28.
47. Kim HW, Knowles JC, Kim HE. Hydroxyapatite/poly( $\epsilon$ - caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery. *Biomaterials*, 2004; 25: 1279- 87.
48. Boccaccini AR, Blaker JJ, Maquet V, Day RM, Jerome R. Preparation and characterisation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and PLGA/Bioglass(R) composite tubular foam scaffolds for tissue engineering applications. *Mater Sci Eng C*, 2005; 25: 23- 31.

49. Hedberg EL, Shih CK, Lemoine JJ, Timmer MD, Liebschner MAK, Jansen JA. In vitro degradation of porous poly(propylene fumarate)/ poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) composite scaffolds. *Biomaterials*, 2005; 26: 3215- 25.
50. Zhang K, Wang Y, Hillmayer MA, Francis LF. Processing and properties of porous poly(L-lactide)/bioactive glass composites. *Biomaterials*, 2004; 25: 2489- 500.
51. Yang S, Leong KF, Du Z, Chua CK. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Eng*, 2001; 7: 679- 89,
52. Yao J, Radin S, Leboy PS, Ducheyne P. The effect of bioactive glass content on synthesis and bioactivity of composite poly (lactic-coglycolic acid)/bioactive glass substrate for tissue engineering. *Biomaterials*, 2005; 26: 1935- 43.
53. Gittens SA, Uludag H. Growth factor delivery for bone tissue engineering. *J Drug Target*, 2001; 9: 407- 29.
54. Luginbuehl V, Meinel L, Merkle HP, Gander B. Localized delivery of growth factors for bone repair. *Eur J Pharm Biopharm*, 2004; 58: 197- 208.
55. Di Silvio L, Bonfield W. Biodegradable drug delivery system for the treatment of bone infection and repair. *J Mater Sci-Mater Med*, 1999; 10: 653- 658.
56. Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science*, 2002; 295: 1014–1017.
57. Maquet V, Boccaccini AR, Pravata L, Notingher I, Jerome R. Porous poly(- $\alpha$ -hydroxyacid)/Bioglass(R) composite scaffolds for bone tissue engineering. I: Preparation and in vitro characterisation. *Biomaterials*, 2004; 25: 4185– 4194.
58. Li H, Chang J. Preparation and characterisation of bioactive and biodegradable wollastonite/poly(D,L-lactic acid) composite scaffolds. *J Mater Sci-Mater Med*, 2004; 15: 1089- 1095.
59. Lu HH, Tang A, Oh SC, Spalazzi JP, Dionisio K. Compositional effects on the formation of a calcium phosphate layer and the response of osteoblast-like cells on polymer-bioactive glass composites. *Biomaterials*, 2005; 26: 6323–6334.
60. Jiang G, Evans ME, Jones I, Rudd CD, Scotchford CA, Walker GS. Preparation of poly(- $\epsilon$ -caprolactone)/continuous bioglass fibre composite using monomer transfer moulding for bone implant. *Biomaterials*, 2005; 26: 2281- 2288.

61. Khan YM, Dhirendra DS, Katti S, Laurencin CT. Novel polymersynthesized ceramic composite-based system for bone repair: an in vitro evaluation. *J Biomed Mater Res A*, 2004; 69A: 728- 37.
62. Xu HHK, Quinn JB, Takagi S, Chow LC. Synergistic reinforcement of in situ hardening calcium phosphate composite scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2004; 25: 1029- 37.
63. Reis RL, Cunha AM, Allan PS, Bevis MJ. Mechanical behavior of injection-molded starch-based polymers. *Polym Adv Technol*, 1996; 7: 784- 90.
64. Seal BL, Otero TC, Panitch A. Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration. *Mater Sci Eng: R: Rep*, 2001; 34: 147- 230.
65. Di Martino A, Sittinger M, Risbud MV. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*, 2005; 26: 5983- 5990.
66. Lee SB, Kim YH, Chong MS, Hong SH, Lee YM. Study of gelatin containing artificial skin V: fabrication of gelatin scaffolds using a salt-leaching method. *Biomaterials*, 2005; 26: 1961- 1968.
67. Mohanty AK, Misra M, Hinrichsen G. Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: an overview. *Macromol Mater Eng*, 2000; 276- 277: 1- 24.
68. Kellomak M, Heller J, Tormala P. Processing and properties of two different poly(ortho esters). *J Mater Sci-Mater Med*, 2000; 11: 345- 55.
69. Gough JE, Downes S. Osteoblast cell death on methacrylate polymers involves apoptosis. *J. Biomed. Mater. Res*, 2001; 57: 497- 505.
70. Jagur-Grodzinski J. Biomedical application of functional polymers. *Reactive Funct Polym*, 1999; 39: 99- 138.
71. Bergsma EJ, Rozema FR, Bos RRM, Debruijn WC. Foreign body reaction to resorbable poly(L-lactic) bone plates and screws used for the fixation of unstable zygomatic fractures. *J Oral Maxillofac Surg*, 1993; 51: 666- 670.
72. Martin C, Winet H, Bao JY. Acidity near eroding polylactide/polyglycolide in vitro and in vivo in rabbit tibial bone chambers. *Biomaterials*, 1996; 17(24) :2373- 80.
73. Andrew SD, Phil GC, Marra KG. The influence of polymer blend composition on the degradation of polymer/hydroxyapatite biomaterials. *J Mater Sci: Mater Med*, 2001; 12: 673- 677.

74. Heidemann W, Jeschkeit S, Ruffieux K, Fischer JH, Wagner M, Kruger G, et al. Degradation of poly(D,L)lactide implants with or without addition of calciumphosphates in vivo. *Biomaterials*, 2001; 22: 2371- 81.
75. Rich J, Jaakkola T, Tirri T, Narhi T, Yli-Urpo A, Seppala J. In vitro evaluation of poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-DL-lactide)/bioactive glass composites. *Biomaterials*, 2002; 23: 2143- 50.
76. Boccaccini AR, Maquet V. Bioresorbable and bioactive polymer/ Bioglass(R) composites with tailored pore structure for tissue engineering applications. *Compos Sci Technol*, 2003; 63: 2417- 29.
77. Gollwitzer H, Thomas P, Diehl P, Steinhauser E, Summer B, Barnstorf S, et al. Biomechanical and allergological characteristics of a biodegradable poly(D,L-lactic acid) coating for orthopaedic implants. *J Orthop Res*, 2005; 23: 802- 809.
78. Schmidmaier G, Wildemann B, Stemberger A, Haas NP, Raschke M. Biodegradable poly(D,L-lactide) coating of implants for continuous release of growth factors. *J Biomed Mater Res* 2001; 58: 449- 455.
79. Schmidmaier G, Wildemann B, Bail H, Lucke M, Fuchs T, Stemberger A, et al. Local application of growth factors (insulinlikegrowth factor-1 and transforming growth factor- $[\beta]$ 1) from a biodegradable poly(-L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats. *Bone*, 2001; 28: 341- 350.
80. Gollwitzer H, Ibrahim K, Meyer H, Mittelmeier W, Busch R, Stemberger A. Antibacterial poly(D,L-lactic acid) coating of medical implants using a biodegradable drug delivery technology. *J Antimicrob Chemother*, 2003; 51: 585- 591.
81. Pitt CG, Gratzel MM, Kimmel GL. Aliphatic polyesters. 2. The degradation of poly(DL-lactide), poly( $\epsilon$ -caprolactone) and their copolymers in vivo. *Biomaterials*, 1981; 2: 215- 20.
82. Gabelnick HL. Biodegradable implants: alternative approaches. In: Mishell DR, editor. *Advanced in human fertility and reproductive endocrinology: Long acting steroid contraception*, 1983; 2: 149- 73.
83. Rezwan K, Chen QZ, Blaker JJ, Boccaccini AR. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006; 27: 3413- 3431.

84. Ito T, Maruhashi Y, Demura M, Asakura T. Carbon-13 solid state NMR study on uniaxially oriented poly(l-lactic acid) films. *Polymer*, 2000; 41: 859- 866.
85. Seung-Yeol Lee, In-Joo Chin, Jin-Soo Jung. Crystallization behavior of poly(L-lactide)-poly(ethylene glycol) multiblock copolymers. *European Polymer*, 1999; 35: 2147-2153.
86. Hwa-Chang Liu, I-Chi Lee, Jyh-Horng Wang, Shu-Hua Yang, Tai-Horng Young. Preparation of PLLA membranes with different morphologies for culture of MG-63 Cells. *Biomaterials*, 2004; 25: 4047– 4056.
87. Kellomaki M, Niiranen H, Puumanen K, Ashammakhi N, Waris T, Tormala P. Bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation. *Biomaterials*, 2000; 21: 2495- 2505.
88. Ma Z, Gao C, Gong Y, Shen J. Cartilage tissue engineering PLLA scaffold with surface immobilized collagen and basic fibroblast growth factor. *Biomaterials*, 2005; 26: 1253- 1259.
89. Yang Y, Magnay JL, Cooling L, Haj AJ. Development of a ‘mechano-active’ scaffold for tissue engineering. *Biomaterials*, 2002; 23: 2119- 2126.
90. Li X, Feng Q, Cui F. In vitro degradation of porous nano-hydroxyapatite/collagen/PLLA scaffold reinforced by chitin fibres. *Materials Science and Engineering*, 2006; 26: 716 – 720.
91. Yavuzer R, Kelly C, Durrani N, Mittal V, Jackson IT, Remine S. Reinforcement of subcuticular continuous suture closure with surgical adhesive strips and gum mastic: is there any additional strength provided? *Am J Surg*, 2005 Mar; 189(3): 315- 318.
92. Bae YH, Huh KM, Kim Y, Park K.H. Biodegradable amphiphilic multiblock copolymers and their implications for biomedical applications. *J Control Release*, 2000 Feb 14; 64 (1- 3): 3- 13.
93. Pearnchob N, Dashevsky A, Bodmeier R. Improvement in the disintegration of shellac-coated soft gelatin capsules in simulated intestinal fluid. *J Control Release*, 2004 Feb 10; 94(2- 3): 313- 321.
94. Hench, L.L. *Bioactive glasses and glass- ceramics*. Trans Tech Publications, 1999: 37, 40, 57.
95. Shackelford JF. *Bioceramics-current status and future trends*. Trans Tech Publications, 1999: 103.



96. Bose S, Darsell J, Yang L, Sarkar DK, Bandyopadhyay A. Processing, biocompatibility and biomechanical testing of porous alumina ceramics. *Bioceramics: Materials and Applications III*, Ceramic Transactions, 2000: 110, 167, 168.
97. Dubok VA. Bioceramics-yesterday, today, tomorrow. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*, 2000: 39; 381- 392.
98. Saito M, Maruoka A, Mori T, Sugano N, Hino K. Experimental studies on a new bioactive bone cement: hydroxyapatite composite resin. *Biomaterials*, 1994; 15: 156- 160.
99. Yokoyama A, Yamamoto S, Kawasaki T, Kohgo T, Nakasu M. Development of calcium phosphate cement using chitosan and citric acid for bone substitute materials. *Biomaterials*, 2002; 23: 1091- 1101.
100. Vale FM, Castro M, Monteiro J, Couto FS, Pinto R, Giau-Toscano-Rico JM. Acrylic bone cement induces the production of free radicals by cultured human fibroblasts. *Biomaterials*, 1997; 18: 1133- 1135.
101. Şerbetçi K, Korkusuz F, Hasırcı N. Mechanical and thermal properties of hydroxyapatite-impregnated bone cement. *Turk. J. Med. Sci*, 2000; 30: 543- 549.
102. Dahlin C, Sandberg E, Alberius P, Linde A. restoration of mandibular nonunion bone defects: an experimental study in rats using an osteopromotive membrane method. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1994; 23: 237.
103. Sandberg E, Dahlin C, Linde A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats. *J Oral Maxillofac Surg*, 1993; 51: 1106.