

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKRİLİK KEMİK ÇİMENTOSUNUN MODİFİKASYONU,
KARAKTERİZASYONU VE ANTİBİYOTİK İLAÇ SALIMINDAKİ
KULLANIMLARI**

TANER KAYMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman; Yrd. Doç. Dr. Dilek İMREN

SİVAS

2010

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05.01.1984 tarihli toplantısında kabul edilen ve daha sonra 30.12.1993 tarihinde C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğünce hazırlanan ve yayınlanan “Yüksek Lisans ve Doktora Tez Yazım Kılavuzu” adlı yönergesinin güncellenmesi kapsamında Tez Yazım Kılavuzu Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu’nun 24-09-2008 tarih ve 7 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiş olup güncellenen sayısına göre hazırlanmıştır.

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ' NE

Bu çalışmada, jürimiz tarafından, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan.....

Üye.....

Üye.....

Üye.....

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..../..../2010

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Prof. Dr. Sezai ELAGÖZ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca engin bilgilerini esirgemeyen, önerileriyle bana yön veren ve titiz yaklaşımı ile bilgilerimi nasıl kullanmam gerektiğini sabırla öğreten anlayışlı tavrı ile yeteneklerimi keşfetmemi sağlayan, her zaman her konuda yardımcı olan değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Dilek İMREN' e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

PMMA kemik çimentosunun temininde ve ortopedik uygulamalarında yardımcı olan Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Hastanesi Ortopedi Bölümü öğretim üyelerinden Uzman Dr. Zekeriya ÖZTEMUR' a yardımları için teşekkürlerimi sunarım.

Tüm öğrenim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen her zaman yanımda olan annem Nejla, babam Ali ve ablam Serpil KAYMAK' a, değerli arkadaşım Şule ÖMÜR' e ve kuzenim Ethem ÖZTÜRK' e sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma M370 numaralı proje kapsamında CUBAP tarafından desteklenmiştir. Bu bağlamda ilgili yöneticilere saygı ve teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Cumhuriyet Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü Merkezi Araştırma Laboratuvarı KİMAL' de yapılan çalışmalarında bana yardımcı olan sevgili hocalarım Uzman Hasan PINAR ve Uzman Serpil ERŞAN 'a, C.Ü Sivas Meslek Yüksek Okulu laboratuvarları çalışanlarına ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizlerinde İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi (İBTAM)'de bana yardımcı olan Uzman Murat ÖZABACI' ya, ayrıca Cumhuriyet Üniversitesi kapsamında lisans ve yüksek lisans öğrenim sürem içerisinde ismini anmadığım tüm değerli hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ	1
2. TEMEL BİLGİLER	2
2.1. Kemik Çimentosunun Klinik Geçmişi	2
2.2. Kemik Çimentosunun Biyolojik Temeli	3
2.3.Kemik Çimentosunun Kimyasal Temeli.....	4
3. MATERYAL VE METOT.....	7
3.1. Deneyin Yapıldığı Yer	7
3.2. Kimyasallar.....	7
3.3. PMMA Bazlı Kemik Çimentosunun Modifikasyonu	8
3.4. Porozite Tayini.....	8
3.5. TGA Analizi	9
3.6. FTIR Analizi	9
3.7. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Morfolojik Analiz	9
3.8. Basınç Mukavemeti Ölçümleri	10
3.9. Antibiyotik Yüklü PMMA Bazlı Kemik Çimentosunun Hazırlanması	11
3.10. Antibiyotik Salımı.....	12
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	13
4.1. PMMA Kemik Çimentosunun Modifikasyonu	13
4.2 Porozite Bulguları	16
4.3. TGA Bulguları.....	17
4.4. FTIR Bulguları.....	22
4.5.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Morfolojik Analiz Bulguları.....	26
4.6 Basınç Mukavemeti Bulguları	30

4.7. Kemik Çimentosuna Antibiyotik Yüklenmesi ile İlgili Bulgular ve Tartışılması	32
4.8. Antibiyotik Yüklü Kemik Çimentosunun SEM Analizi İle Karakterizasyonu ...	33
4.9. Antibiyotik Salım Çalışmaları	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	40
6. KAYNAKLAR	44
7. ÖZGEÇMİŞ	48
EK 1	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Basınç test cihazının görünümü	11
Şekil 3.2. Modifiye kemik çimentolarının basınç sonrası genel deformasyonları	11
Şekil 4.1. Kemik çimentosu örneklerinin TGA analizine ait termogramlar	20
Şekil 4.2. BCT, BCD40, BCD70 ve BCCH kemik çimentosu örneklerinin FTIR spektrumları.....	23
Şekil 4.3. Kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları.....	26
Şekil 4.4. Kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları (Büyütme x10.000)	29
Şekil 4.5. Kemik çimentolarına ait Elastisite Modülü eğrileri	31
Şekil 4.6. Antibiyotik yüklü kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları (x500)	34
Şekil 4.7. Antibiyotik yüklü kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları (x1500)	35
Şekil 4.8. Vankomisin HCl'e ait kalibrasyon eğrisi	38
Şekil 4.9. pH 7.4'de BCT, BCD40 ve BCD70 kemik çimentosu örneklerinden antibiyotik salım değerleri (%).	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. PMMA'nın özellikleri.....	5
Çizelge 4.1. Modifiye kemik çimentolarına ait karışım oranları.....	15
Çizelge 4.2. Modifiye malzemelerin fiziksel özellikleri.....	16
Çizelge 4.3. Kemik çimentosu örnekleri için termal analiz sonuçları	21
Çizelge 4.4. PMMA bazlı ticari (BCT) ve dekstran katkılı (BCD40 ve BCD70) kemik çimentosuna ait IR spektrum verileri ve değerlendirilmesi.....	24
Çizelge 4.5. PMMA bazlı ticari (BCT) ve kitosan katkılı (BCCH) kemik çimentosuna ait IR spektrum verileri ve değerlendirilmesi	24

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

A	:	Basınç uygulanmadan önceki ilk alan
d_t	:	Örneklerin teorik yoğunluk değerleri
d_d	:	Örneklerin deneysel yoğunluk değerleri
E	:	Elastisite modülü
L₀	:	Malzemenin basınç uygulanmadan önceki ilk boyu
M_w	:	Küttele ortalama molekül kütlesi
V_t	:	Örneklerin teorik hacim değerleri
V_d	:	Örneklerin deneysel hacim değerleri
σ	:	Gerilme değerleri
ε	:	Birim şekil değişimi

Kısaltmalar

Açıklama

BCD1	:	M _w ≈ 1.000 g/gmol olan dekstran katkılı modifiye kemik çimentosu
BCD5	:	M _w ≈ 5.000 g/gmol olan dekstran katkılı modifiye kemik çimentosu
BCD20	:	M _w ≈20.000 g/gmol olan dekstran katkılı modifiye kemikçimentosu
BCD40	:	M _w ≈ 40.000 g/gmol olan dekstran katkılı modifiye kemik çimentosu
BCD70	:	M _w ≈70.000 g/gmol olan dekstran katkılı modifiye kemik çimentosu
BCD500	:	M _w ≈500.000 g/gmol olan dekstran katkılı modifiye kemik çimentosu
BCCH	:	Kitosan katkılı modifiye kemik çimentosu
BCT	:	Ticari kemik çimentosu

BPO	:	Benzoil peroksit
CH	:	Kitosan
Dx	:	Dekstran
FTIR	:	Fourier dönüştürmeli infrared spektroskopisi
MMA	:	Metil metakrilat monomeri
MRSE	:	Metisiline dirençli Stofiloccuc epidermitis bakterisi
MRSA	:	Metisiline dirençli Stofloccocus aureuss bakterisi
PMMA	:	Poli(metil metakrilat)
SEM	:	Taramalı elektron mikroskobu
TGA	:	Termogravimetrik analiz

ÖZET

AKRİLİK KEMİK ÇİMENTOSUNUN MODİFİKASYONU, KARAKTERİZASYONU VE ANTİBİYOTİK İLAÇ SALIMINDAKİ KULLANIMLARI

Taner KAYMAK

Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri

Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Dilek İMREN

2010, 59 sayfa

Bu çalışmada, kemik dolgusu olarak ortopedi cerrahisinde kullanılmak üzere mevcut ticari poli(metil metakrilat) kemik çimentosu ile Dekstran polimerinden oluşan yeni bir kemik çimentosu önerilmektedir. Katı kısım (poli(metil metakrilat), PMMA, benzoil peroksit, BPO, ve Baryum sülfat, BaSO₄ içeren) ile sıvı kısım (metil metakrilat, MMA, *N,N*-dimetil-*p*-toludin, DMPT, ve hidrokinon içeren) karıştırılarak hazırlanan akrilik çimentolar farklı molekül ağırlığına sahip Dekstran (Mw ≈ 1.000, 5.000, 20.000, 40.000, 70.000, 500.000 g / gmol)'nın eklenmesiyle modifiye edilmiştir. Farklı kemik çimentosu örnekleri hazırlanmıştır. Bu kemik çimentolarında, Dekstran içeren toplam katı miktarı değişirken, Dekstran miktarı sabit tutulmuştur. Kemik çimentoları, porozite, ısasal ve mekanik özelliklerin ölçülmesi ile karakterize edilmiştir.

Kemik çimentosundaki PMMA ile Dekstran polimerleri arasındaki etkileşimin aydınlatılması FTIR analizi ile sağlanmıştır. Kemik çimentolarının yüzey ve kesit yapıları SEM ile incelenmiştir.

Model antibiyotik, Vankomisin, kemik çimentolarına çimento oluşumu esnasında yüklenmiştir. Vankomisin için yükleme kapasitesi 1 gram toz kısım başına 100 mg'dır.

Kemik çimentolarından Vankomisin salımı, tris tampon ortamlarda (pH 7.4), 37°C'de ve sabit derişim farkı sağlamak üzere salım ortamının sürekli yenilendiği koşullarda incelenmiştir.

Bu sonuçlar, önerilen BCD40 kemik çimentosunun (Mw ≈ 40.000 g/gmol Dekstran içeren) hala kullanımda olan saf PMMA kemik çimentosunun yerine alabilecek kullanım potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Kemik çimentosu, PMMA, Dekstran, Vankomisin salımı

ABSTRACT**ACRYLIC BONE CEMENT: MODIFICATION, CHARACTERIZATION
AND APPLICATION IN ANTIBIOTIC DRUG RELEASE**

Taner KAYMAK

Master of Science Thesis, Cumhuriyet University, Graduate School of Natural and
Applied Sciences, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Dilek İMREN

2010,59 pages

In this study, we propose a new bone cement, composed of Dextran polymer and the current commercial poly(methyl methacrylate) bone cement, for use in orthopedic surgeries as bone filler. Acrylic cements were prepared by mixing the solid part (contains poly(methyl methacrylate), PMMA, benzoyl peroxide, BPO, and Barium sulfate, BaSO₄) and the liquid part (contains methyl methacrylate, MMA, *N,N*-dimethyl-*p*-toluidine, DMPT, and hydroquinone) modified by addition of Dextran with different molecular weight ($M_w \approx 1.000, 5.000, 20.000, 40.000, 70.000, 500.000$ g / gmole). The different samples of bone cements were prepared. For these bone cements, the total amount of solid including Dextran was varied but the Dextran amount was constant. The bone cements were characterized by measuring porosity, thermal and mechanical properties.

The FTIR analysis was performed to identify interactions between PMMA and Dextran polymers in the bone cements. The surface and cross-section structures of the bone cements were examined by SEM.

The model antibiotic, Vancomycin, was loaded into the bone cements during cement formation. The loading capacity was 100 mg per gram solid part for Vancomycin.

The release of Vancomycin from bone cements were investigated at 37°C in tris buffer (pH 7.4) at perfect sink conditions.

The results indicated that the proposed BCD40 bone cement (contains $M_w \approx 40.000$ g/gmole Dextran) have potential application as replacements for the pure PMMA bone cements currently in use.

Key words: Bone cement, PMMA, Dextran, Vancomycin release

1.GİRİŞ

Akrilik polimerler ortopedik ve diş uygulamalarında dolgu maddesi ve sabitleyici ajan olarak çimento oluşumunda çok sık kullanılmaktadır. Ortopedik uygulamalarda kemik çimentosu; implant ve kemik arasında ara yüzey gibi davranarak vücut ağırlığı ve uygulanan kuvvetin dokuya uniform dağılmasını sağlar ve yük taşıyıcı olarak işlev görür. En yaygın kullanılan akrilik yapışma özelliği olmayan kendi kendine katılaşabilen poli(metil metakrilat) (PMMA)'dır. PMMA genellikle yumuşak doku yaralanmalarında, tekrarlayan eklem enfeksiyonlarında, kronik osteomyelitte ve açık kemik kırıklarında kullanılan bir polimerdir. PMMA kemik çimentoları, ameliyathane koşullarında uygulamadan önce, pudra kısmı (genel olarak PMMA polimeri ve benzoil peroksit, BPO, gibi bir başlatıcı içerir) ve sıvı kısmı (metil metakrilat monomeri, MMA, ve *N,N*-dimetil-p-toluidin gibi bir aktifleştirici içerir) karıştırılarak hazırlanır. PMMA bulunduğu ortamın biçimine uygundur çok miktarda implantın yayılımına olanak sağlar ve güçlü bir biçimde bağlanır. Ancak, PMMA'nın yaygın kullanımı çeşitli komplikasyonlar nedeniyle sınırlıdır. Kemik yüzeyine yetersiz bağlanan PMMA'nın (biyouyumlu olmayan) kabuksal kemikten daha zayıf olması, yüksek ekzotermik tepkime sıcaklığına sahip olması ve monomerinin toksik özellik göstermesi bu komplikasyonların en yaygın gözlenenleridir. Bu komplikasyonların kısmen ya da tamamen ortadan kaldırılabilmesi için yeni kemik çimentolarının araştırılması veya mevcut olanların modifikasyonu yapılarak özellikleri iyileştirilmeye çalışılmaktadır. Modifiye kemik çimentolarında da çoklu faz oluşumu mekanik özelliklerini olumsuz etkileyebilir. Özellikle daha kırılğan olmasını ve dayanım süresinin daha kısa olmasını sağlayabilir. Bununla beraber son 10 yıldır yapılan çalışmalar daha başarılı sonuçlar elde edilebileceğini göstermektedir.

Sunulan çalışmada, PMMA kemik çimentosunun farklı molekül kütlesine sahip dekstran doğal polimer ile modifikasyonu yapılmıştır. Modifiye kemik çimentosu; mekanik özellikleri, termal özellikleri ve yüzey özellikleri incelenerek karakterize edilmiştir. Bunlara ek olarak modifiye kemik çimentosundan antibiyotiğin kontrollü salım çalışmaları yapılarak, modifiye kemik çimentosunun kullanılabilirliği test edilmiştir.

2. TEMEL BİLGİLER

2.1. Kemik Çimentosunun Klinik Geçmişi

Artroplasti operasyonlarında kemik çimentosunun kullanımı, Charnley'in 1958 yılında femoral baş protezini bağlamak için kendi kendine polimerleşebilen akrilik kemik çimentosunu kullanımı ile başlamıştır [Charnley, 1970]. Kemik çimentosunun klinik uygulamalarında; öncelikle, granül polimer bileşeni ile sıvı monomer bileşeni spatulayla karıştırılarak kemik çimentosu hazırlanır. Daha sonra, protez eklenerek kemik çimentosunun polimerleşmesi sağlanmaktadır. Bu yöntemle hazırlanan kemik çimentosu %85 oranında başarılı bir şekilde yaklaşık 15 yıl uygulanmıştır [Huo ve Waldman, 1999]. Daha sonraki yıllarda çimento hazırlama teknikleri laboratuvar ortamında yürütülen araştırmalarla modifiye edilmeye çalışılmıştır. Bununla beraber, bir grup araştırmacı da kemik ile kemik çimentosu teması üzerine yoğunlaşmıştır [Benjamin ve ark., 1987]. Yapılan çalışmalar sonucunda, kemik çimentosunun gözeneklilik yapısının çimento hazırlama tekniği ile yakından ilişkili olduğu ve çimento-kemik ara yüzey özelliklerini önemli ölçüde etkilediği sonucuna varılmıştır. Kemik çimentosu kullanılmış artroplasti operasyonlarında, kemik çimentosunun ana fonksiyonu, eklenmiş yükün protezden kemiğe aktarılmasıdır. Bu işlemde kemik-çimento ara yüzeyi başlıca rolü oynamaktadır. Normal ve kesme yükü, süngerimsi kemik ve kemik çimentosu arasında kenetlenmeyi ve bu kenetlenmenin korunmasını sağlayarak kemiğe aktarılmaktadır. Bölgesel olarak, ara yüzey malzemesinin mukavemeti ve bunların arasındaki bağ; yük geçişi sırasında oluşan gerginliğe dayanabilmelidir. Bölgesel gerginliğin şekli, ara yüzey malzemesine bağlı olduğu kadar yükün büyüklüğüne, yönüne ve bölgenin geometrisine de bağlıdır [Michael ve ark., 1998]. Bir çok potansiyel kemik çimentosu içerisinden poli(metil metakrilat) (PMMA) ve onun türevleri ortopedik cerrahide başarılı bir biçimde kullanılmaktadır. PMMA bir kemik çimentosu olarak ilk kez 1960' ların başlarında Charnley ve Smith tarafından ortaya konulmuştur [Stacy ve ark.,2004]. PMMA bulunduğu ortamın biçimine uygundur çok miktarda implantın yayılımına olanak sağlar ve güçlü bir biçimde bağlanır. Ancak, PMMA' nın yaygın kullanımı çeşitli komplikasyonlar nedeniyle sınırlıdır. Kemik yüzeyine yetersiz bağlanan PMMA'nın (biyouyumlu olmayan) kabuksal

kemikten daha zayıf olması, yüksek ekzotermik tepkime sıcaklığına sahip olması ve monomerinin toksik özellik göstermesi bu komplikasyonların yaygın gözlenenleridir. Bu komplikasyonların kısmen ya da tamamen ortadan kaldırılabilmesi için yeni kemik çimentolarının araştırılması veya mevcut olanların modifikasyonu yapılarak özellikleri iyileştirilmeye çalışılmaktadır. Modifiye kemik çimentolarında çoklu faz oluşumu mekanik özelliklerini olumsuz etkileyebilir. Özellikle daha kırılabilir olmasını ve dayanım süresinin daha kısa olmasını sağlayabilir. Bununla beraber son 10 yıldır yapılan çalışmalar daha başarılı sonuçlar elde edilebileceğini göstermektedir.

2.2. Kemik Çimentosunun Biyolojik Temeli

Yabancı bir malzemenin vücut içine implantasyonu, vücudun yabancı malzemeye vereceği cevap (enfeksiyon oluşumu gibi) nedeni ile kısıtlıdır. Enfeksiyon oluşumu şeklinde gözlenen bu cevap, yabancı implant vücuttan uzaklaştırılıncaya kadar devam edebilmektedir. Bu nedenle, bazı spesifik uygulamalarda vücuda implante edilen yabancı bir malzemenin vücut ile biyouyumlu olması istenmektedir. Biyouyumluluk; malzeme ve vücut sıvılarının kimyasal etkileşimi ve bu etkileşimin fizyolojik sonuçlarının vücuda ne kadar zarar verip vermediğidir. Bir malzemenin biyouyumlu olması için bulunduğu canlıdaki fizyolojik ortam tarafından kabul edilmesi gerekir. Bu yaklaşımlara rağmen biyouyumluluğun çok kesin bir tanımı yoktur. Çünkü kullanılan malzemenin vücudun neresinde ve ne amaçla kullanılacağı bu tanımı belirler. Doğrudan kanla temas edecek malzemeyle, doğrudan kemikle temas edecek malzemenin biyouyumluluk tanımları birbirinden çok farklıdır. Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal veya sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler. “Biyomalzeme” ve “Biyoyumluluk” terimleri malzemelerin, biyolojik performanslarını belirlemek için kullanılır. Biyouyumlu, yani vücutla uyuşabilir bir malzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (enfeksiyon, pıhtı oluşumu vb.) meydana getirmeyen malzemelerdir. Wintermantel

ve Mayer bu terimi biraz genişleterek biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlardır. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise malzemenin vücut dokularının mekanik davranışlarına sağladığı optimum uyumdur [Ayhan, 2002]. Biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler, bedene yerleştirilebilir cihazların hazırlanmasında kullanılıyorlar. Ancak halen mükemmel biyouyumluluğa sahip bir malzeme sentezi gerçekleştirilebilmiş değildir. Polimerler çok değişik biçimlerde ve şekillerde (lif, jel, boncuk, nanopartikül) hazırlanabilmeleri nedeniyle biyomalzeme olarak geniş bir uygulama alanına sahiptirler. Ne var ki, bazı uygulamalar için (ortopedik) mekanik dayanımları zayıftır. Ayrıca, sıvıları yapısına alarak şişebilir ya da monomer gibi istenmeyen zehirli ürünler salabilirler. Daha da önemlisi, sterilizasyon işlemleri (otoklavlama, etilen oksit, ⁶⁰Co radyasyonu) polimer özelliklerini etkileyebilir.

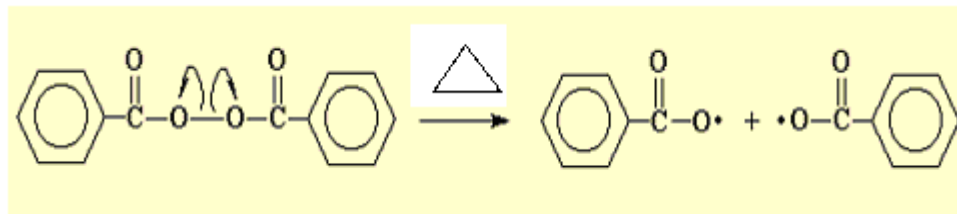
2.3. Kemik Çimentosunun Kimyasal Temeli

Kemik çimentosunun ana maddesi yüksek yoğunluklu polimerdir. Bu polimer sıvı monomer ile toz polimerin birleşmesiyle meydana gelir. Bu iki madde birbirine karıştırıldığında kimyasal reaksiyon başlar ve sertleşerek çimento halini alır. PMMA; ışığı geçiren, parlak ve yumuşama sıcaklığı yüksek bir termoplastik polimerdir. Atmosfer koşullarına iyi dirençli olup darbe dayanımı camdan iyidir. PMMA, ticari adıyla pleksiglas ve lucit diye adlandırılır ve akrilik termoplastiklerin en önemli grubunu oluşturur. Ana karbon zincirinde birer atlayarak karbon atomları üzerine metil ve metakrilat gruplarının yerleşmiş olması önemli ölçüde üç boyutlu düzen engeli oluşturur. Düzensiz karbon atomlarının rastgele dizilimi, görünür ışığı tam geçiren, tam anlamıyla iç biçimsiz bir yapı meydana getirir. Bu durum PMMA' yı kaskatı ve nispeten dayanıklı yapar. Ayrıca, iyi bir kimyasal dirence sahip olmasında etkilidir [Smith,1996; Sobral, M. ve ark., 2003]. PMMA toz formunda genellikle ortopedik sorunların giderilmesinde kullanılan bir maddedir. Cerrahi operasyonlarda ve dişçilikte yoğun olarak kullanılır. PMMA'nın önemli özellikleri Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

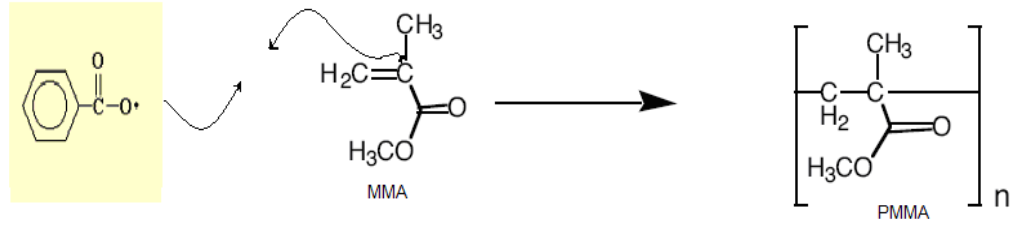
Çizelge 2.1. PMMA'nın özellikleri

Isıl deformasyon sıcaklığı (°C)(ASTM-D648)	70-90
Spesifik yoğunluk (g/cm ³)	1,17-1,2
Su absorpsiyon (%)	0.1 - 0.4
Elastik modül (MPa)	2553-3174 (sıkıştırma) 2243-3243 (gerilme)
Esneklik modülü (MPa)	2243-3174
Gerilme kuvveti (MPa)	49- 74
Sıkıştırma kuvveti (MPa)	73-125
Esneleme kuvveti (MPa)	73-132
Uzama kopması (%)	2-6
Termal büyüme sayısı (10 ⁻⁶ /°C)	50-90
Sapma sıcaklığı (°C)	74-108 (0,46MPa) 69-100(1,82MPa)
Darbe dayanımı çentikli N-m/cm	0.16-027
Kuvvetli asit/baz etkisi	Etkilenir
Erime Noktası (e.n) (°C)	160
Organik çözücü etkisi	Çözünür

PMMA, metil metakrilat monomerinin (MMA) serbest radikal polimerleşmesi ile sentezlenebilir. En yaygın kullanılan başlatıcı benzoil peroksittir. Benzoil peroksit ısı etkisi ile parçalanarak aşağıda sunulduğu gibi iki tane serbest radikale dönüşmektedir.



Oluşan radikaller ortamda bulunan monomerler ile reaksiyona girerek polimer zincirinin büyümesine neden olurlar. Polimerizasyon ilerledikçe polimer zinciri büyür ve molekül ağırlığı artar.



Polimerizasyonun bu aşamasında artık ortamda monomer sayısı azalmıştır. Bu nedenle ortamdaki radikaller sönmeye başlar ve polimerizasyon işlemi tamamlanır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneyin Yapıldığı Yer

PMMA bazlı kemik çimentosunun modifikasyonu deneyleri ve elde edilen modifiye kemik çimentolarının yoğunluk ve porozite gibi fiziksel özelliklerinin ölçümleri Cumhuriyet Üniversitesi (SİVAS) Kimya Mühendisliği Bölümü Kimyasal Teknolojiler Araştırma laboratuvarında, Fourier Transform İnfrared Spectroscopy (FTIR) ve Isısal termal analiz (Termogravimetrik Analiz) (TGA) ölçümleri Kimya Mühendisliği Bölümü Merkezi Araştırma Laboratuvarı KİMAL'de, Basma dayanımı analizleri C.Ü Sivas Meslek Yüksek Okulu laboratuvarlarında, Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope) (SEM) analizleri ise İnönü Üniversitesi (Malatya) Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi (İBTAM)'de yapılmıştır. Kemik çimentosu örneklerinden antibiyotiğin kontrollü salımı deneyleri; KİMAL'de, Shimadzu marka UV-1601 model UV spektrofotometresi kullanılarak 280 nm dalga boyunda incelenmiştir.

3.2. Kimyasallar

Ticari kemik çimentosu: Sunulan çalışmada CEMEX ISOPLASIC (Tecres Medical, İtalya) marka ticari kemik çimentosu kullanılmıştır. Toz kısım; kütlece %84.3 Poli(metil metakrilat) (PMMA), %13 Baryum sülfat ($BaSO_4$) ve %2.7 Benzoil peroksit (BPO) içerir. Sıvı kısım ise kütlece %99.1 metil metakrilat (MMA), %0.9 N-N dimetil-p-toluidin ve 75 ppm hidrokinon içermektedir.

Dekstran: Ticari kemik çimentosunun modifiye edilmesi için Dekstran 1 (Dx 1, $M_w \approx 1.000$ g/gmol), Dekstran 5 (Dx 5, $M_w \approx 5.000$ g/gmol), Dekstran 20 (Dx 20, $M_w \approx 20.000$ g/gmol), Dekstran 40 (Dx 40, $M_w \approx 40.000$ g/gmol), Dekstran 70 (Dx 70, $M_w \approx 70.000$ g/gmol) ve Dekstran 500 (Dx 500, $M_w \approx 500.000$ g/gmol) olan altı farklı mol kütlelerine sahip Sigma-Aldrich ürünü dekstran polimeri kullanılmıştır.

Kitosan: Bu çalışmada kullanılan kitosan (CH) Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiş %1 asetik asit içeriğine sahip, D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin kopolimerinden oluşmuş lineer bir aminopolisakkarittir.

Vankomisin: Antibiyotiğin kontrollü salım çalışmalarında kullanılan vankomisin Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiş Vankomisin HCl (V2002, Vancomycin Hydrochloride, Aktivite ≥ 900 $\mu\text{g}/\text{mg}$ vankomisin)'dir. Vankomisin amfoterik glikopeptid antimikrobiyal bir maddedir. Bakteri hücre duvarı nükleopeptit üretimini inhibe ederek etki yapar, bu şekilde hücre duvarı sentezinin hemen durmasına ve sekonder plazma membranı hasarına yol açar. Vankomisin hidroklorür suyla seyreltildiğinde pH'sı 2.8-4.5 arasında olan berrak bir solüsyon elde edilir. Yaygın bir kullanıma sahip olan vankomisin, stafilokok, streptokok, korine bakteriyum ve klostridyumlar gibi bir çok gram pozitif mikro organizmaya karşı etkilidir. Gram pozitif bakterilerin bir çok suşu vankomisinin 0.5-5 mg/ml konsantrasyonuna duyarlıdır.

3.3. PMMA Bazlı Kemik Çimentosunun Modifikasyonu

Ticari kemik çimentosunun modifikasyonu karıştırma yöntemi kullanılarak oda sıcaklığında yürütülmüştür. Kütle polimerizasyonu Vorteks (Heidolph REAX top model) karıştırıcı kullanılarak 2400 rpm dönme hızında 3-8 dakika karıştırma uygulanarak Pyrex cam tüplerde (8 mm çaplı) yürütülmüştür. Farklı karıştırma süreleri uygulanarak, örneklerin yapısal kararlılığını koruduğu optimum karıştırma süresi 7 dakika olarak seçilmiştir. Çalışma kapsamında hazırlanan ticari ve modifiye kemik çimentosu karışımlarına ait oranlar Bölüm 4.1'de sunulmuştur.

3.4. Porozite Tayini

Disk formunda kesilen kuru kemik çimentosu örneklerinin (8 mm çap ve 1 mm kalınlık) deneysel yoğunlukları Gay Lussac tipi piknometre ile ölçülmüştür. Her bir ölçüm 3 er defa tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır (d_d). Teorik yoğunluk değerleri (d_t) ise örnek kütlesi ve hacmi göz önüne alınarak teorik olarak hesaplanmıştır. Deneysel ve teorik yoğunluk değerleri Eşitlik 3.1'de yerine

konularak [Kim ve ark., 2004] her bir kemik çimentosu örneğine ait porozite değerleri hesaplanmış ve Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

$$\text{Porozite (\%)} = [(d_t - d_d) / d_t] \times 100 \quad (3. 1)$$

3.5. TGA Analizi

Ticari ve modifiye kemik çimentolarının ısısız kararlılığı, ısıtılan bir örneğin kütlesindeki değişmeyi sıcaklığın ve zamanın bir fonksiyonu olarak kaydeden TGA analizi ile incelenmiştir. TGA analizleri; 25 mL/dk inert azot varlığında, 10 °C / dak. ısıtma hızında, oda sıcaklığından 600 °C’ye kadar ısıtma uygulanarak Shimadzu DT-50 model TGA cihazı ile yürütülmüştür. TGA analizlerine ait termogramlar Şekil 4.1 a-h’de sunulmuştur.

3.6. FTIR Analizi

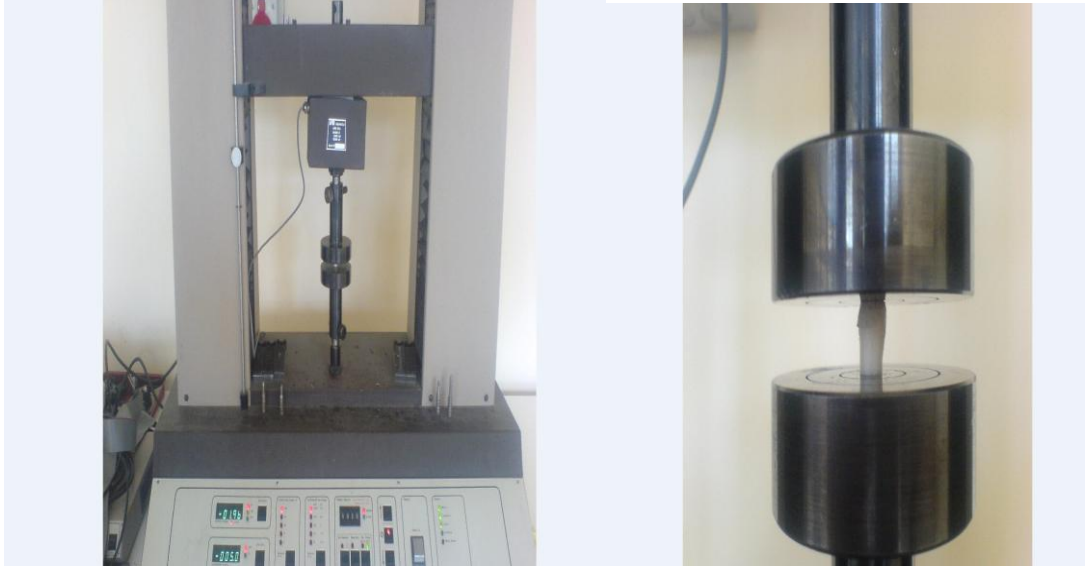
Modifiye kemik çimentosu örneklerinin kimyasal yapısının daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla infrared spektrumları FTIR spektrofotometresi (Shimadzu 8300 FTIR) ile kalitatif olarak incelenmiştir. Vakum etüvünde kurutulup toz haline getirilmiş örnekler potasyum bromür (KBr, %10(w/w)) ile karıştırılmış ve ardından vakum altında disk formunda preslenmiştir. Spektrumlar 4 cm⁻¹ çözünürlükte ve 400-4.000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında kaydedilmiştir.

3.7. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Morfolojik Analiz

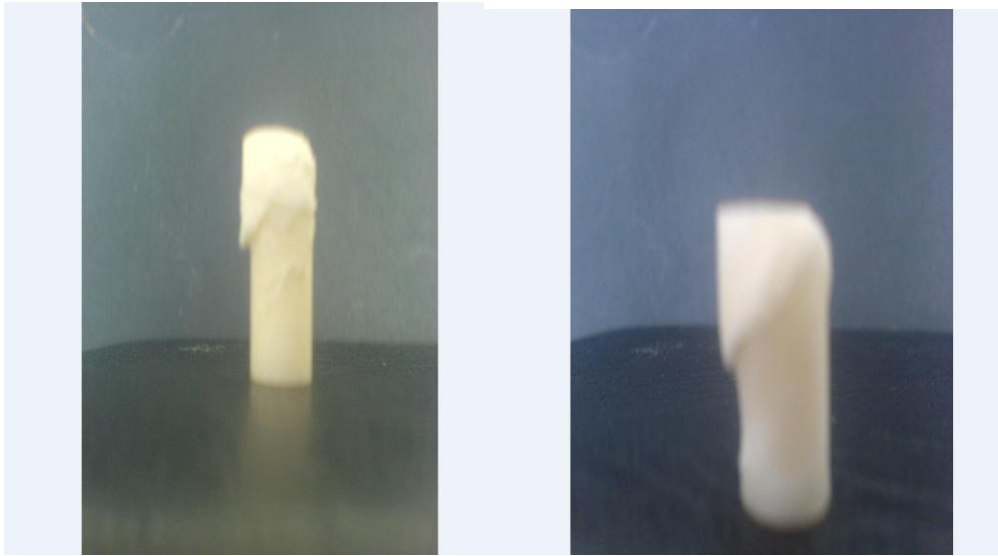
Sunulan çalışmada hazırlanan polimerik kemik çimentosu disklerinin antibiyotik yükleme öncesi ve yükleme sonrası yüzey ve yığın yapısı taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM) (Carl Zeiss Evo 40) ile incelenmiştir. Bir bistrü yardımıyla kesit alınan antibiyotik yüklü ve yüksüz örnekler, vakum ortamında altın-palladyum ile kaplandıktan sonra yüzeylerin morfolojisi ve kesit yapıları SEM fotoğrafları ile x150-20.000 büyütme aralığında incelenmiştir.

3.8. Basınç Mukavemeti Ölçümleri

Basma testi gevrek ve yarı gevrek malzemelerin mukavemetini ölçmede daha kullanışlı olması sebebiyle seçilmiştir. Bu çalışmada bükülme ve gerilme kuvvetlerinin örnek üzerine homojen dağılımını sağlamak ve daha gerçekçi sonuçlar elde edebilmek amacıyla boy ve çap oranı (h_0/d_0) 2 alınmış olup [William,2000; Onaran, 1993; Pezotti, G., 2001; Proust, P-J., 2002], test öncesinde örneklerin boyutu R5 (Taksan) Revolver model torna tezgahında ayarlanmıştır. Basınç dayanımı ölçümleri Hounsfield model test cihazında 2 mm/dk sabit basınç hızında yapılmıştır. Çalışma kapsamında hazırlanan tüm kemik çimentolarından tezin amacına uygun olanlar belirlenmiş ve basınç dayanımı ölçümleri bu örnekler üzerinden yürütülmüştür. Her bir ölçüm 3 er defa tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır.



Şekil 3.1 Basınç test cihazının görünümü



Şekil 3.2. Modifiye kemik çimentolarının basınç sonrası genel deformasyonları

3.9. Antibiyotik Yüklü PMMA Bazlı Kemik Çimentosunun Hazırlanması

Antibiyotik yüklü kemik çimentoları vorteks karıştırıcı (Heidolph REAX top model) kullanılarak polimerizasyon esnasında model antibiyotik olarak vankomisin katılması şeklinde mixing (karıştırma) yöntemi [Lewis ve ark.,1997] uygulanarak oda

sıcaklığında 7 dakika karıştırma süresinde yürütülmüştür. Bu yöntem ile 1 g toz kısım başına 50-150 mg antibiyotik yüklenmiştir.

3.10. Antibiyotik Salımı

Antibiyotik salım eğrilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen in-vitro Vankomisin HCl salım çalışmaları, 37°C sabit sıcaklık ortamında su banyosunda (Nüve NB 20), 25 mL rezervuar hacminde gerçekleştirilmiştir. Salımı gerçekleştiren antibiyotik miktarı UV spektrofotometresi (Shimadzu marka UV-1601 model) kullanılarak 280 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Salım deneyleri, Merck firmasından temin edilen tris (2-amino-2-hidroksimetil-1,3-propanediol) tampon ortamlarda pH 7.4'de yürütülmüştür. Salım deneylerinden önce, tris 7.4 tampon ortamında bir dizi vankomisin HCl (0-5 mg/mL) çözeltisi hazırlanmış ve UV spektrofotometresinde kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Şekil 4.8). Antibiyotik derişimi kalibrasyon grafiğinde belirlenen aralık dışına çıktığı durumlarda, uygun oranlarda seyreltme yapılarak ölçüm alınmıştır.

Salım deneyleri devam ederken, belli aralıklarla ortam taze tampon çözeltisi ile yenilenecek sürücü güç olan derişim farkı sabit tutulmaya çalışılmıştır. Salım deneyleri her bir örnek için 3 ayrı örnek üzerinden yürütülmüş ve antibiyotik salımının artık gerçekleşmediği zamana kadar devam edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde PMMA bazlı ticari kemik çimentosunun farklı polimerler ile modifikasyonu, modifiye kemik çimentolarının yapısal karakterizasyonu ve antibiyotik yüklü kemik çimentolarından antibiyotiğin kontrollü salımıyla ilgili olarak gerçekleştirilen deneysel çalışmaların sonuçları sunulmuş ve bulgular üzerinde tartışmalar yapılmıştır. Deneysel sonuçlar, PMMA bazlı kemik çimentosunun modifikasyonu; yığın yapı, yüzey, kimyasal, ısıl ve mekanik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yönelik porozite tayini, SEM, FTIR, TGA ve basınç mukavemeti ölçümü ile gerçekleştirilmiş karakterizasyon çalışmaları; antibiyotik yüklenmesi ve antibiyotiğin kontrollü salımına yönelik çalışmalar olmak üzere dokuz ana başlık altında değerlendirilmiştir.

4.1. PMMA Kemik Çimentosunun Modifikasyonu

PMMA bazlı kemik çimentosu dolgu maddesi ve fiksasyon ajanı olarak ortopedik uygulamalarda yaygın bir kullanıma sahiptir. Fiksasyon ajanı durumunda; PMMA implant ile kemik arasında ara yüzey fazı gibi davranarak, uygulanan kuvvetin ve vücut ağırlığının dokulara homojen dağılımını sağlamaktadır [Basgörenay ve ark.,2006; W.J. Stark, 2006]. PMMA kendi kendine sertleşebilen bir polimerdir ve PMMA kemik çimentosu kullanımdan hemen önce ameliyathane koşullarında toz kısım ve sıvı kısım karıştırılarak hazırlanmaktadır. Polimerizasyon redoks sistemi ile başlatılan serbest radikal polimerizasyonu ile gerçekleşmektedir.

PMMA kemik çimentosu yaygın kullanımına rağmen, PMMA'nın kemik yüzeyine yeterli tutunmaması [Cunin ve ark.,2000], kortekse ait kemikten daha zayıf olması [Kim ve ark.,1994], MMA monomerinin toksik özellik göstermesi[Barralet ve ark.,2002] ve yüksek ekzotermik reaksiyon sıcaklığına sahip olması nedeni ile çevrelediği dokuya zarar verebilmesi [Heini ve ark.,2000; Lu ve ark.,1999] gibi bazı komplikasyonlara da sebep olabilmektedir. Ayrıca, PMMA kemik çimentosunun kırılma ve yetersiz kullanım ömrüne sahip olması [Barralet ve ark.,2002] gibi bazı mekanik özellikleri de komplikasyonlara sebep olabilmektedir. Bu komplikasyonların azaltılabilmesi veya tamamen ortadan kaldırılabilmesi için kemik

çimentosuna küçük miktarlarda polietilen[Wagner ve Cohn,1989], titanyum [Kotha ve ark.,2006], kitosan [Hu ve ark.,2004], trikalsiyum fosfat [Chang ve ark.,2010; Yamamoto ve ark.,1998] ve hidroksiapatit [Morita ve ark.,1998; Moursi ve ark.,2002] gibi bazı katkı maddelerinin eklenmesi yolu ile PMMA bazlı kemik çimentosunun modifiye edilmesine yönelik literatürde bir kaç çalışma mevcuttur.

Sunulan çalışmada; PMMA bazlı kemik çimentosunun modifikasyonu mol kütlesi 1.000-500.000 g/gmol aralığında olan altı farklı mol kütlesine sahip Dekstran polimerleri ile gerçekleştirilmiştir. Kitosan ise kıyaslama amacı ile modifikasyonda kullanılmıştır. Modifikasyonda; dekstran (Dx) ve kitosanın (CH) farklı miktarları (0.05-0.20) eklenerek, kemik çimentosu örneklerinin yapısal kararlılığını koruduğu optimum eklenecek Dx veya CH miktarı % 2 olarak belirlenmiştir. % 2'den fazla Dx veya CH içeren modifiye kemik çimentosu örnekleri, modifikasyon sonrası yıkama ve kurutma işlemleri esnasında yapısal kararlılığını koruyamamıştır. Çalışma kapsamında hazırlanan ticari ve modifiye kemik çimentosu karışımlarına ait oranlar Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1 de görüldüğü gibi toz kısım; kütlece %82.61-84.30 PMMA, %12.74-13.00 BaSO₄ ve %2.65-2.70 BPO içerir. Modifikasyonda kullanılan polimerler toz kısma eklenmektedir. Kemik çimentosunun hazırlanmasında 1 g toz kısım başına 0.3325 mL sıvı kısım kullanılmıştır. Sıvı kısım ise kütlece %99.1 MMA, %0.9 N-N dimetil-p-toluidin ve 75 ppm hidrokinon içermektedir.

Hazırlanan kemik çimentosu örnekleri, yapıya katılmayan monomer ve polimerlerin uzaklaştırılması için 70 mL saf su içeren beherlerde yıkamaya alınmıştır. Yıkama işlemi çalkalayıcı su banyosunda (e-CLASS maxQ 4000 model) 200 rpm çalkalama hızında, 25°C'de, periyodik aralıklarla saf suyun değiştirilmesi şeklinde 2 gün süreyle yürütülmüştür. Yıkanmış kemik çimentosu örnekleri yüzey nemi alınıp, oda sıcaklığında 20 dakika bekletildikten sonra, 40 °C sabit sıcaklıkta çalışan vakum etüvünde kurumaya bırakılmıştır.

Çizelge 4.1 Modifiye kemik çimentolarına ait karışım oranları

Kemik Çimentosu	Toz kısım (g)	Dx-1 (g)	Dx-5 (g)	Dx-20 (g)	Dx-40 (g)	Dx-70 (g)	Dx-500 (g)	CH (g)	PMMA (%)	BaSO ₄ (%)	BPO (%)	Dx (%)	CH (%)
BCT	5.0	-	-	-	-	-	-	-	84.30	13.00	2.70	-	-
BCT*	4.9	-	-	-	-	-	-	-	84.30	13.00	2.70	-	-
BCD1	5.0	0.1	-	-	-	-	-	-	82.64	12.74	2.65	1.97	-
BCD1*	4.9	0.1	-	-	-	-	-	-	82.61	12.74	2.65	2.00	-
BCD5	5.0	-	0.1	-	-	-	-	-	82.64	12.74	2.65	1.97	-
BCD5*	4.9	-	0.1	-	-	-	-	-	82.61	12.74	2.65	2.00	-
BCD20	5.0	-	-	0.1	-	-	-	-	82.64	12.74	2.65	1.97	-
BCD20*	4.9	-	-	0.1	-	-	-	-	82.61	12.74	2.65	2.00	-
BCD40	5.0	-	-	-	0.1	-	-	-	82.64	12.74	2.65	1.97	-
BCD40*	4.9	-	-	-	0.1	-	-	-	82.61	12.74	2.65	2.00	-
BCD70	5.0	-	-	-	-	0.1	-	-	82.64	12.74	2.65	1.97	-
BCD70*	4.9	-	-	-	-	0.1	-	-	82.61	12.74	2.65	2.00	-
BCD500	5.0	-	-	-	-	-	0.1	-	82.64	12.74	2.65	1.97	-
BCD500*	4.9	-	-	-	-	-	0.1	-	82.61	12.74	2.65	2.00	-
BCCH	5.0	-	-	-	-	-	-	0.1	82.64	12.74	2.65	1.97	1.97
BCCH*	4.9	-	-	-	-	-	-	0.1	82.61	12.74	2.65	2.00	2.00

4.2 Porozite Bulguları

Çalışma kapsamında hazırlanan PMMA bazlı ticari kemik çimentosu, Dx-1, Dx-5, Dx-20, Dx-40, Dx-70, Dx-500 ve CH katkılı modifiye malzemelerin porozite tayini Bölüm 3.4’de açıklanan yöntemle göre Eşitlik 3.1 kullanılarak belirlenmiştir. Her bir örnek için 4.9 ve 5.0 g toz kısım temel alınarak iki farklı numune hazırlanmış ve yoğunluk ölçümleri 3’er defa tekrar edilip, ortalamaları alınmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Modifiye malzemelerin fiziksel özellikleri

Kemik Çimentosu	Fiziksel Özellikler				
	$V_t \times 10^{-7}$ (m^3)	d_t (kg/m^3)	$V_d \times 10^{-7}$ (m^3)	d_d (kg/m^3)	Porozite (%)
BCT	5.020	955.725	5.167	931.680	2.516
BCT*	5.020	955.725	5.167	931.680	2.516
BCD1	5.020	955.725	5.167	931.680	2.523
BCD1*	5.020	955.725	5.167	931.680	2.523
BCD5	5.020	955.725	5.167	931.680	2.523
BCD5*	5.020	955.725	5.167	931.680	2.523
BCD20	5.020	955.725	5.167	931.680	2.523
BCD20*	5.020	955.725	5.167	931.680	2.523
BCD40	1.760	1317.940	1.875	1261.542	4.279
BCD40*	1.760	1317.940	1.875	1261.542	4.279
BCD70	2.370	1298.135	3.750	1241.555	4.359
BCD70*	2.370	1298.135	3.750	1241.555	4.359
BCD500	2.370	1298.135	3.750	1241.555	4.361
BCD500*	2.370	1298.135	3.750	1241.555	4.361
BCCH	3.030	1448.530	3.200	1374.646	5.101
BCCH*	3.030	1448.530	3.200	1374.646	5.101

V_t : teorik hacim, d_t : teorik yoğunluk, V_d : deneysel hacim, d_d : deneysel yoğunluk

Çizelge 4.2 de, BCT (5.0 g toz kısım temel) ve BCT*(4.9 g toz kısım temel) ticari kemik çimentosu örneklerinin porozite değerlerinin toz kısım temeli (4.9 veya 5.0 g) ile değişmediği görülmektedir. Benzer şekilde, modifiye kemik çimentosu örneklerinin porozite değerlerinin de toz kısım temeli ile değişmediği açıkça

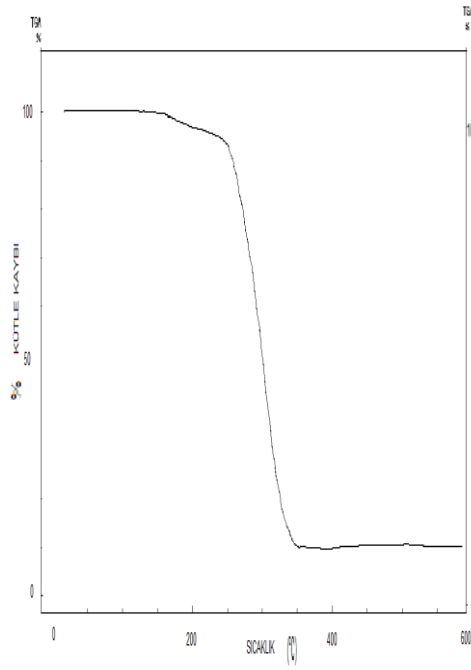
görülmektedir. Dx-1 katkılı BCD1, Dx-5 katkılı BCD5 ve Dx-20 katkılı BCD20 modifiye kemik çimentosu örneklerinin porozite değerlerinin aynı olduğu (% 2.523) ve ticari kemik çimentosunun porozite değerine (% 2.516) oldukça yakın olduğu görülmektedir. Dx-40 katkılı BCD40, Dx-70 katkılı BCD70 ve Dx-500 katkılı BCD500 modifiye kemik çimentosu örneklerinin porozite değerleri ise sırası ile % 4.279, 4.359 ve 4.361 olarak hesaplanmış ve ticari kemik çimentosunun porozite değerinden (% 2.516) oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Kitosan katkılı BCCH modifiye kemik çimentosunun porozite değerinin (%5.101) ise ticari kemik çimentosu ve Dekstran ile modifiye edilmiş diğer bütün kemik çimentosu örneklerinin porozite değerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum muhtemelen kitosanın yoğun lifli yapısından kaynaklanabilir.

Çizelge 4.2’de sunulan porozite bulguları toplu olarak değerlendirildiğinde; $M_w \approx 1.000-20.000$ g/gmol aralığında dekstran katkısının ticari kemik çimentosunun porozite değerini fazla değiştirmedeği, kitosan ve $M_w \approx 40.000-500.000$ g/gmol aralığında dekstran katkısının ticari kemik çimentosunun porozite değerini arttırdığı sonucuna varılmıştır. Dekstran içeren yapıların porozitelerinde gözlenen bu farklılığın, modifikasyonda kullanılan dekstranın mol kütleindeki farklılıktan kaynaklandığı söylenebilir. MMA monomerinin PMMA polimerine dönüşümü esnasında, yapı içerisine yüksek mol kütleli bir polimerin eklenmesinin gözeneklilik yapısını arttırdığı söylenebilir. Kemik çimentolarında gözeneklilik yapısının kontrol edilebilirliği, ortopedik uygulamalarda kemik çimentosundan kontrollü antibiyotik salımının sağlanabilmesi açısından önemli bir parametre olabilmektedir.

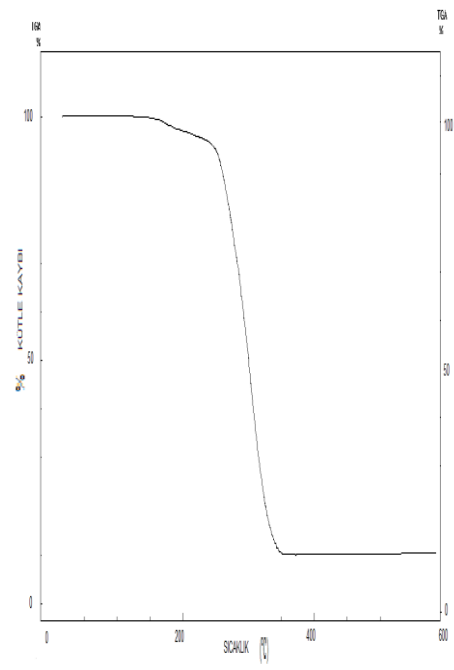
4.3. TGA Bulguları

Çalışma kapsamında hazırlanan modifiye kemik çimentolarının termal davranışı, TGA ısısal analiz cihazı ile incelenmiştir. Analizler Bölüm 3.5’de açıklanan yöntem uygun olarak TGA ile 25°C-600°C aralığında, 10 °C / dak. ısıtma hızıyla yürütülmüştür. Ticari kemik çimentosu (BCT), dekstran katkılı (BCD1, BCD5, BCD20, BCD40, BCD70 ve BCD500) ve kitosan katkılı (BCCH) kemik çimentosu örnekleri için TGA analizine ait termogramlar Şekil 4.1 a-h’de gösterilmiştir. Bu termogramlarda tüm kemik çimentosu örnekleri için sıcaklık

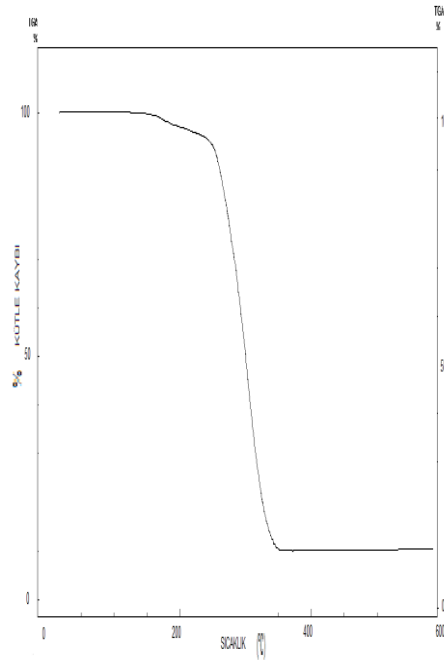
artışına bağı olarak tek basamaklı termal bozunma davranışı olduğı açıkça görölmektedir. Kemik çimentosu örneklerinin nem miktarları, 25°C ile 200°C aralığındaki kütle kaybından belirlenmiştir. Bu nem, işlem öncesi örnekler vakum etüvünde kurutulmasına rağmen yine de yapıda kalmış olan su miktarı olarak düşünölebilir. TGA termogramlarından elde edilen sonuçlara göre kemik çimentosu örneklerinin nem içerikleri ve termal bozunma değerleri Çizelge 4.3'de sunulmuştur.



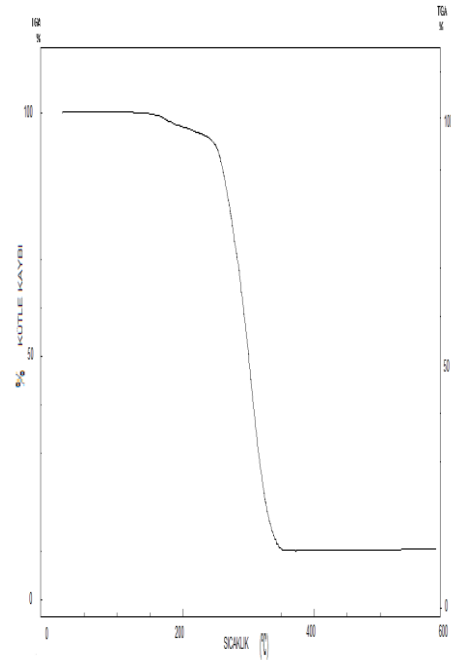
(a)



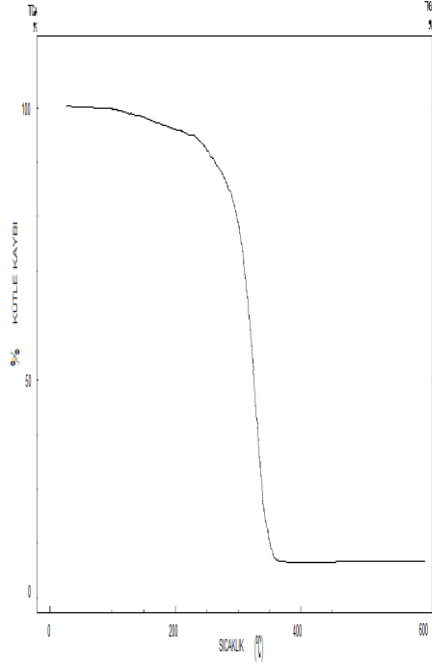
(b)



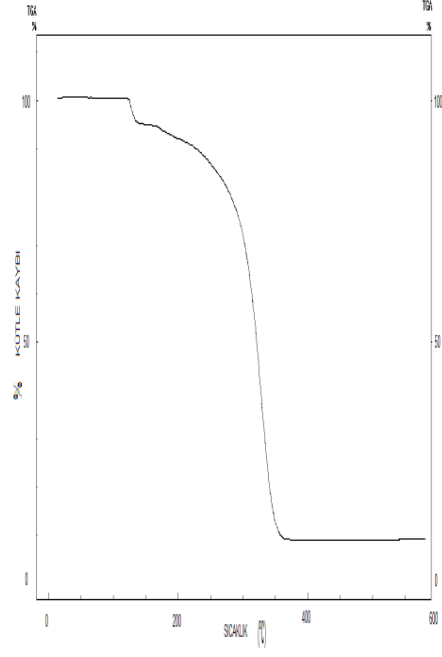
(c)



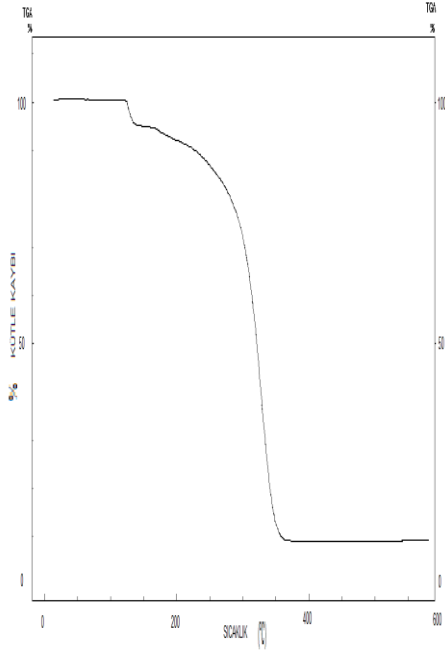
(d)



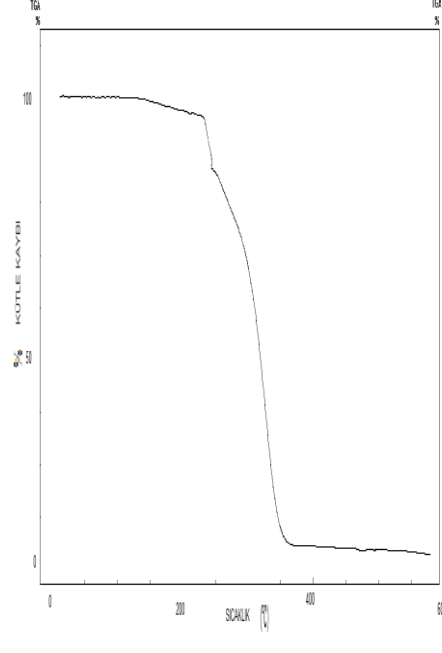
(e)



(f)



(g)



(h)

Şekil 4.1. Kemik çimentosu örneklerinin TGA analizine ait termogramlar

- a) BCT b) BCD1 c) BCD5 d) BCD20
 e) BCD40 f) BCD70 g) BCD500 h) BCCH

Çizelge 4.3. Kemik çimentosu örnekleri için termal analiz sonuçları

Kemik Çimentosu	Nem İçeriği (% ağırlık)	Termal Bozunmanın Başlangıcı (°C)	Maksimum Kütle Kaybının Olduğu Sıcaklık (°C)
BCT	4.85	257.14	298.95
BCD1	4.84	257.14	298.95
BCD5	4.85	257.14	298.95
BCD20	4.86	257.14	298.95
BCD40	2.90	283.22	323.07
BCD70	4.80	292.68	326.13
BCD500	4.81	292.68	326.13
BCCH	7.74	300.00	325.17

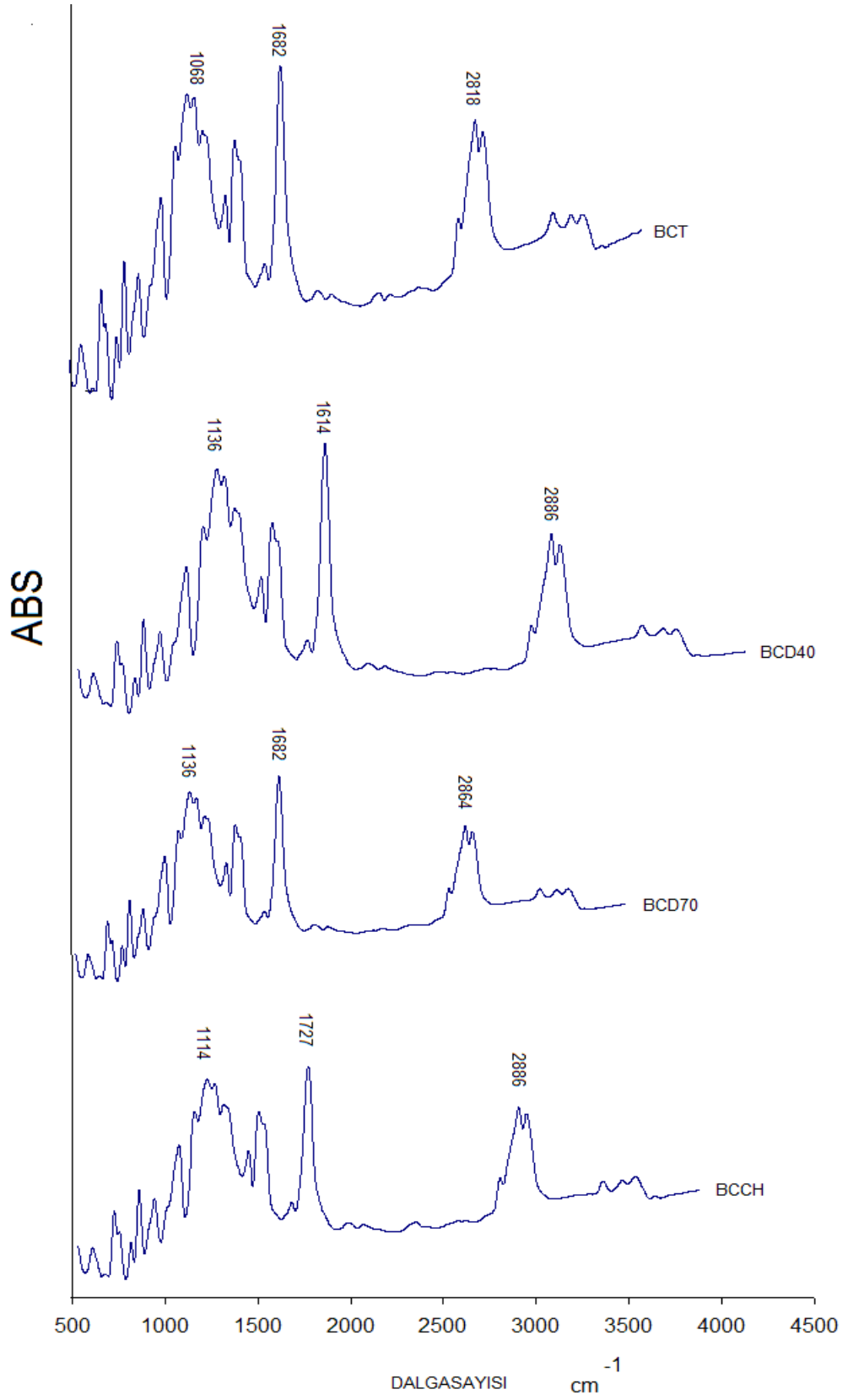
Çizelge 4.3’de, BCT, BCD1, BCD5 ve BCD20 kemik çimentosu örneklerinin termal bozunma başlangıç sıcaklığı 257.14°C iken, BCD40, BCD70, BCD500 ve BCCH kemik çimentosu örneklerinin termal bozunma başlangıç sıcaklığı değerlerinin 283°C-300°C aralığında olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca, maksimum kütle kaybının gözlemlendiği sıcaklık değerleri kıyaslandığında; BCD40, BCD70, BCD500 ve BCCH kemik çimentosu örneklerinin BCT, BCD1, BCD5 ve BCD20 kemik çimentosu örneklerine nazaran ısısal olarak daha kararlı olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.3’de sunulan termal bozunma değerleri toplu olarak değerlendirildiğinde; $M_w \approx 1.000-20.000$ g/gmol aralığında dekstran katkısının ticari kemik çimentosunun (BCT) ısısal kararlılığını değiştirmediği sonucuna varılmıştır. Bununla beraber, kitosan ve $M_w \approx 40.000-500.000$ g/gmol aralığında dekstran katkısının ticari kemik çimentosunun ısısal kararlılığını arttırdiği anlaşılmıştır. Ayrıca, $M_w \approx 500.000$ g/gmol olan dekstran katkılı BCD500 kemik çimentosu örneğinin ısısal kararlılığının $M_w \approx 70.000$ g/gmol olan dekstran katkılı BCD70 kemik çimentosu örneğinin ısısal kararlılığı ile aynı olması, $M_w \approx 70.000$ g/gmol’den daha yüksek mol kütlesine sahip olan dekstranın PMMA bazlı ticari kemik çimentosuna eklenmesinin ısısal kararlılığı daha fazla değiştirmeyeceği sonucuna ulaşılmıştır.

4.4. FTIR Bulguları

FTIR analizi, çalışma kapsamında hazırlanan modifiye kemik çimentolarının kimyasal yapısının aydınlatılması ve modifikasyon amacı ile PMMA bazlı ticari kemik çimentosuna eklenen polimerlerin yapıda meydana getirdiği değişikliklerin saptanması için FTIR spektrofotometresi ile kalitatif olarak yapılmıştır. Bölüm 4.2 ve 4.3’de elde edilen bulgular göz önüne alınarak, FTIR analizi BCT, BCD40, BCD70 ve BCCH örnekleri için gerçekleştirilmiştir. FTIR spektrumları; 4 cm^{-1} çözünürlükte, $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ dalgasayısı aralığında kaydedilmiş ve Şekil 4.2’de sunulmuştur.

Şekil 4.2’de sunulan FTIR spektrumlarından, her bir kemik çimentosu için spesifik etkileşimler belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4 ve 4.5’de sunulmuştur.



Şekil 4.2. BCT, BCD40, BCD70 ve BCCH kemik çimentosu örneklerinin FTIR spektrumları

Çizelge 4.4. PMMA bazlı ticari (BCT) ve dekstran katkılı (BCD40 ve BCD70) kemik çimentosuna ait IR spektrum verileri ve değerlendirilmesi

Dalgasayısı (cm ⁻¹)			
BCT	Dx	BCD40 ve BCD70	AÇIKLAMA
3659	3691	3682	O-H gerilmesi
3341		3364	O-H gerilmesi
2932-2864	3002-2212	2886	C-H gerilmesi
		2295	C≡C gerilmesi
2523			O-H gerilmesi
1614-1682	1657	1614	C=O gerilmesi
1432	1576-1461	1409 ve 1455	C=C gerilmesi
1159	1137	1136	C-O-C gerilmesi
955	933-879	955	C-O-H gerilmesi
614	586	568-559	C-H gerilmesi
477	459	455	C-C=O gerilmesi

Çizelge 4.5. PMMA bazlı ticari (BCT) ve kitosan katkılı (BCCH) kemik çimentosuna ait IR spektrum verileri ve değerlendirilmesi

Dalgasayısı (cm ⁻¹)			
BCT	CH	BCCH	AÇIKLAMA
3659	3785	3705	O-H gerilmesi
	3377	3409s	N-H gerilmesi
2932	2922	3000	C-H gerilmesi
2864	2361	2409	C-H gerilmesi
2523-2773			O-H gerilmesi
1682	1660	1750	C=O gerilmesi
1614	1587	1614	C=O gerilmesi
	1422	1477	N-H bükülmesi
1432-1341	1380	1364	C=C gerilmesi
1159	1154	1159	C-O-C gerilmesi
	1077	955	N-H titreşimi
477	459	455	C-C=O gerilmesi

BCT, BCD40 ve BCD70 kemik çimentosu örneklerine ait FTIR spektrum verileri toplu değerlendirildiğinde (Çizelge 4.4) aşağıdaki bulgular elde edilmiştir:

- BCT'nin spektrumunda 3590-3650 cm^{-1} O-H (kararsız) olan bu bağların şiddetlerinin dekstran içeren modifiye kemik çimentolarında artması sonucu yeni O-H bağlarının oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca, 2523 cm^{-1} dalgasayısındaki O-H gerilmesinin BCD40 ve BCD70 örneklerinde kaybolduğu gözlenmiştir.

- BCT için 1682 cm^{-1} 'de gözlenen güçlü C=O bağlarının şiddetinin BCD40 ve BCD70 örneklerinde azaldığı ve BCD40 örneğinde bu pikin dalgasayısının 1614 cm^{-1} 'e düştüğü gözlenmiştir.

- BCT'nin spektrumunda 1432 cm^{-1} de gözlenen C=C (kararsız) bağlarının şiddetinin BCD40 ve BCD70 örneklerinde azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca, BCD40 ve BCD70 örneklerinde bu pikin dalgasayısının sırası ile 1409 ve 1455 cm^{-1} 'e kaydığı gözlenmiştir.

- BCT için 1159 cm^{-1} 'de gözlenen C-O-C ve 477 cm^{-1} de gözlenen C-C=O gerilmesinin şiddetinin dekstran katkılı çimentolarda sırası ile 1136 ve 455 cm^{-1} 'e kaydığı ve şiddetinde azalmanın olduğu gözlenmiştir.

BCT ve BCCH kemik çimentosu örneklerine ait FTIR spektrum verileri toplu değerlendirildiğinde (Çizelge 4.5) aşağıdaki bulgular elde edilmiştir:

- Kitosana için 3180-3490 cm^{-1} 'de gözlenen güçlü N-H bağları (3377 cm^{-1}) kitosana özgü olmakla birlikte, kitosan katkılı modifiye çimentoda bu bağ şiddetini 3409 cm^{-1} dalgasayısına kaydığı gözlenmiştir.

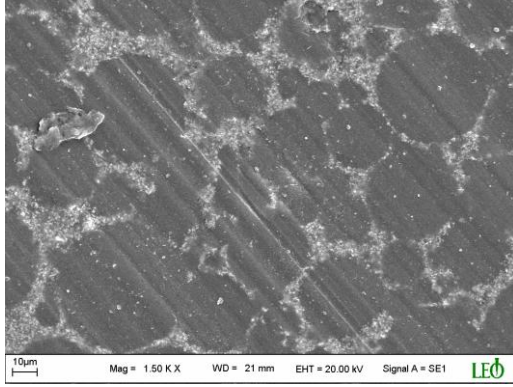
- BCT'nin spektrumunda 2523 cm^{-1} dalgasayısında gözlenen O-H gerilmesinin, dekstran katkılı modifiye çimentolarda olduğu gibi BCCH örneğinde de kaybolduğu gözlenmiştir.

- Kitosanda 1422 cm^{-1} de gözlenen N-H bükülmesine ait bağlar, BCCH örneğinde 1477 cm^{-1} de gözlenmiş olup şiddetinde de artma olmuştur. Bununla beraber, kitosan için 1077 cm^{-1} de gözlenen N-H titreşimlerinin, BCCH örneğinde 955 cm^{-1} 'de gözlendiği ve pik şiddetinde önemli ölçüde azalma olduğu görülmüştür.

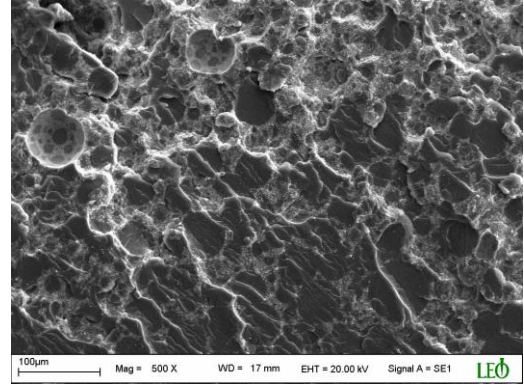
FTIR analizi ile gözlenen pik şiddetlerindeki azalma/artma ve dalgasayılarındaki kaymalar, modifikasyonda kullanılan dekstran ve kitosanın PMMA bazlı ticari kemik çimentosunun kimyasal yapısında bazı değişikliklere neden olduğu ve modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin kanıtı olarak alınabilir.

4.5.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Morfolojik Analiz Bulguları

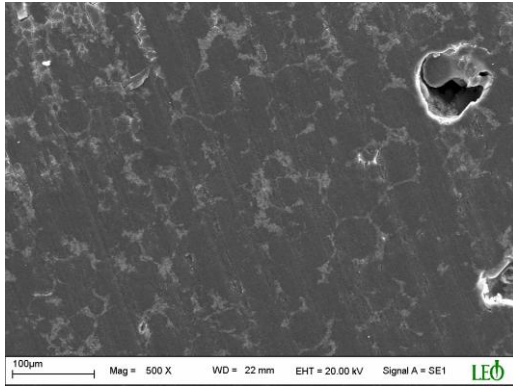
Çalışmanın amacına uygun olarak seçilen modifiye kemik çimentosu ve PMMA kemik çimentosu örneklerinin yüzey ve kesit yapıları Bölüm 3.7'de tanımlandığı gibi SEM analizi ile incelenmiştir. Kemik çimentosu örneklerinin yüzey ve kesit yapısı iki farklı büyütme hızında karşılaştırılmış ve Şekil 4.3 ve 4.4 a-f'de sunulmuştur.



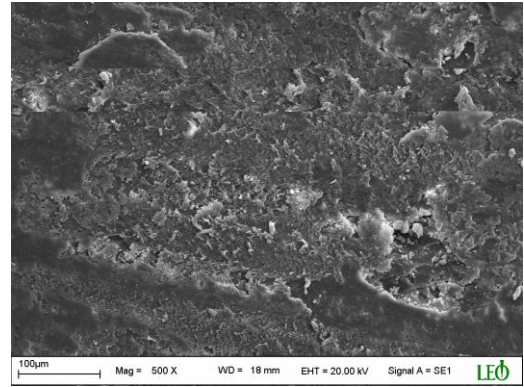
(a)



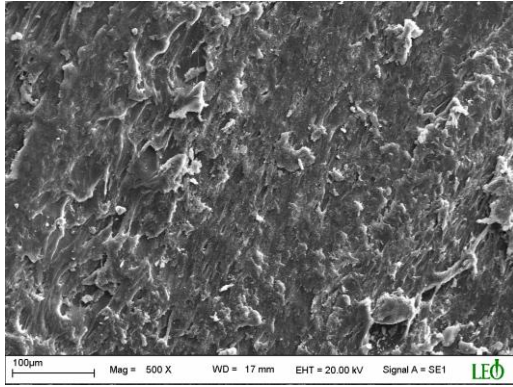
(b)



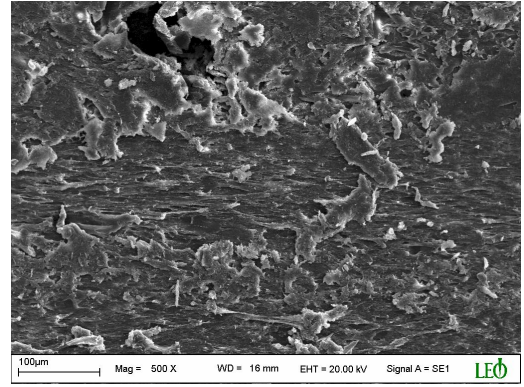
(c)



(d)



(e)

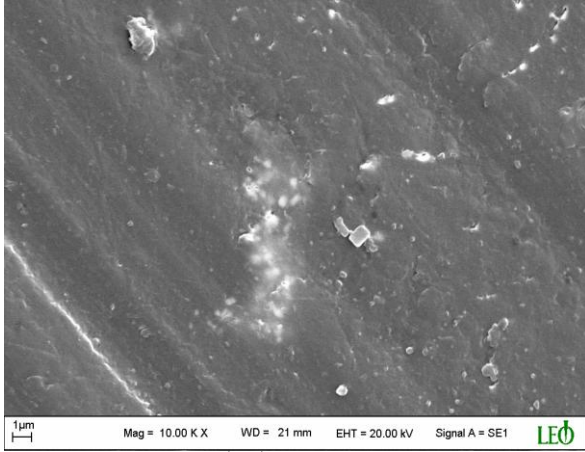


(f)

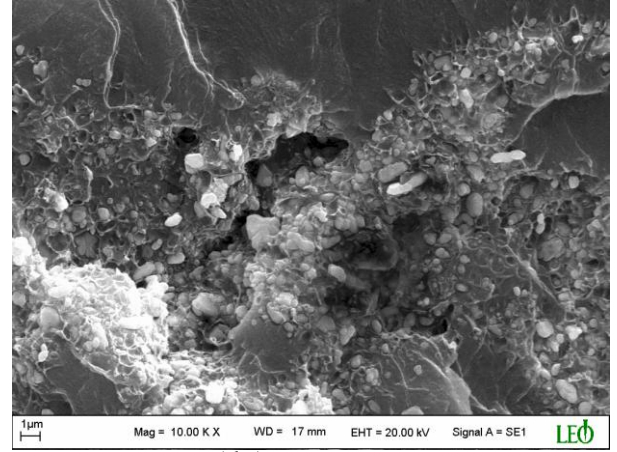
Şekil 4.3. Kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları

- a) BCT ticari kemik çimentosu yüzey (x1500)
- b) BCT ticari kemik çimentosu kesit (x500)
- c) BCD40 modifiye kemik çimentosu yüzey (x500)
- d) BCD40 modifiye kemik çimentosu kesit (x500)
- e) BCD70 modifiye kemik çimentosu yüzey (x500)
- f) BCD70 modifiye kemik çimentosu kesit (x500)

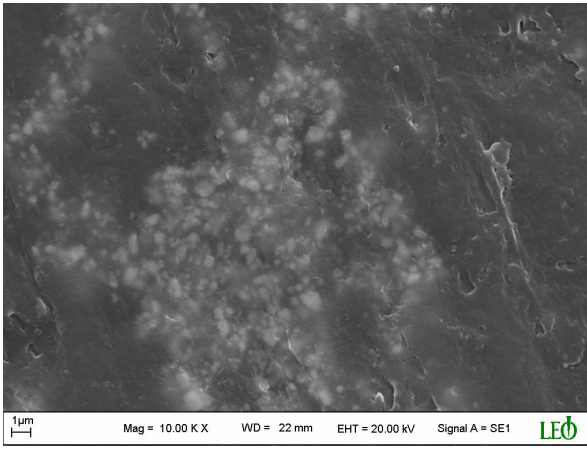
Şekil 4.3 a-d'de görüldüğü gibi ticari (BCT) ve modifiye kemik çimentosu (BCD40) örnekleri oldukça düzgün yüzey ve kesit yapısına sahipken, BCD70 örneğinin yüzey ve kesit yapısı daha pürüzlüdür (Şekil 4.3 e-f). Şekil 4.3 a-b'de saf PMMA bazlı malzemenin polimer zincirleri, oluşum aşamasında ortamda hava bulunması ve reaksiyonun ekzotermik olması bu reaksiyon ısısının MMA için 544 J/g [Başgörenay ve ark., 2006] olması sonucu sıvı kısmın buharlaşması nedeniyle oluşmuş boşluklar gözlenmiştir. Bu boşlukların homojen bir görüntü oluşturmaması mekanik dayanımının her yerde aynı olmayacağını da göstermektedir.



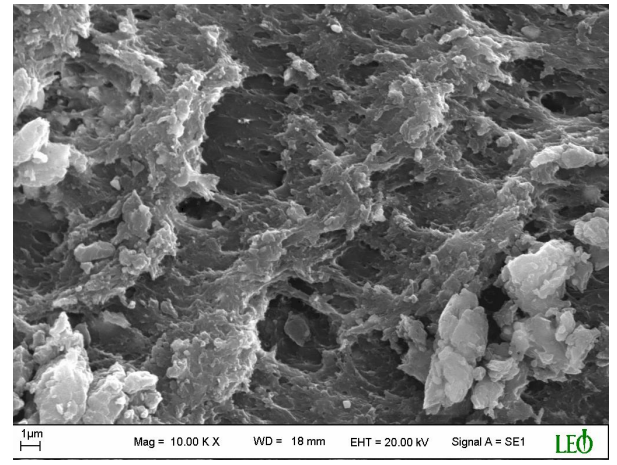
(a)



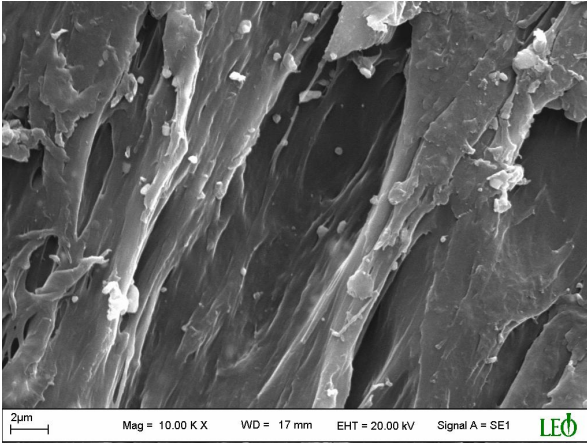
(b)



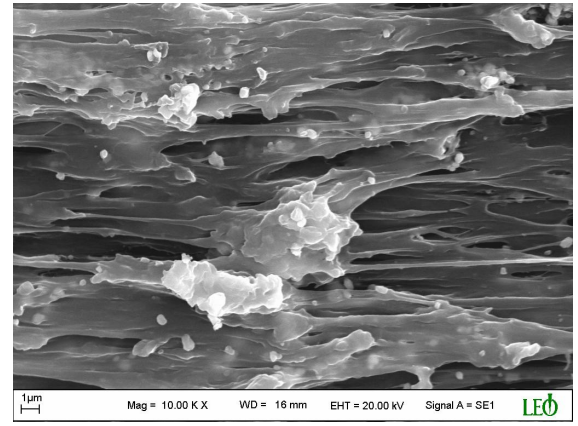
(c)



(d)



(e)



(f)

Şekil 4.4. Kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları (Büyütme x10.000)

- a) BCT ticari kemik çimentosu yüzey
- b) BCT ticari kemik çimentosu kesit
- c) BCD40 modifiye kemik çimentosu yüzey
- d) BCD40 modifiye kemik çimentosu kesit
- e) BCD70 modifiye kemik çimentosu yüzey
- f) BCD70 modifiye kemik çimentosu kesit

Şekil 4.4 (a) ve (c)'de BCD40 örneğinin BCT örneğine nazaran daha sıkı bir ağ örgüsüne sahip olduğu ve yüzey boyunca homojen yapı izlediği $\times 10.000$ büyütmede açıkça görülmektedir. Bu durum; $M_w \approx 40.000$ g/gmol dekstran katkısı ile, PMMA oluşumu esnasında ortaya çıkan oluşum ısısının daha düzenli dağılması ve gözeneklerin Dx-40 dekstran varlığında daha homojen dağılması ile açıklanabilir. Porozitenin homojen dağılımı, tezin ileriki aşamalarında antibiyotik yüklemesi ve antibiyotiğin kontrollü salımı açısından bir avantaj olarak değerlendirilebilir. Ayrıca bu gözenekli yapı implantın vücutla uyumunu da kolaylaştırmaktadır. BCT ve BCD40 örneklerinin kesit yapılarında ise sıkı ağ yapısını korumasına rağmen ıslanma yüzeyinin azaldığı görülmüştür (Şekil 4.4 b ve d).

Şekil 4.4 (e) ve (f)'de, BCD70 örneklerinin yüzey ve kesit yapısının pürüzlülüğü $\times 10.000$ büyütmede açıkça görülmektedir. Bu durum, modifikasyonda kullanılan dekstranın yüksek mol kütlesi ($M_w \approx 70.000$ g/gmol) nedeni ile polimer fazları arasındaki yüzey gerilimi arttırarak fazlar arasındaki uyumluluğu azaltmasından kaynaklanabilir.

4.6 Basınç Mukavemeti Bulguları

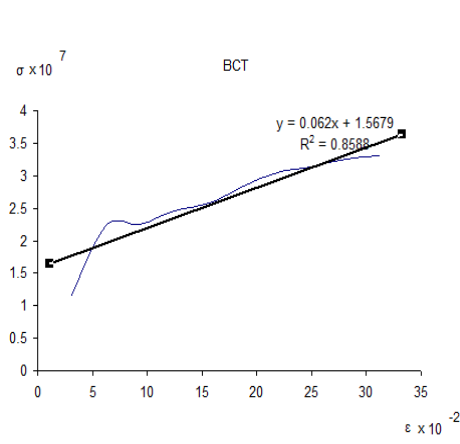
Basınç mukavemeti bulgularının incelenmesi, malzemelerde önemli bir parametre olan Elastisite modülü hakkında yorum yapmamıza olanak sağlamıştır. Elastisite modülü malzemelerin şekil değişimlerine elastik karşı koymasını gösterdiği için büyük öneme sahiptir. Elastisite modülü oluşturulurken gerilmelere karşı birim şekil değişimleri belirlenir. Kuvvetin asıl alana değil de ilk alana (basınç uygulanmadan önceki) olan "A"ya bölünmesi ile " σ " olarak adlandırılan gerilmeler bulunur. Birim şekil değişimleri ise kuvvetin uygulandığı anda oluşan birim kısalmanın gerçek boya bölünmeyip, "Lo" ilk boyuna (basınç uygulanmadan önceki) bölünmesiyle elde edilir ve birim şekil değişimi " ϵ " olarak gösterilir.

Sunulan çalışmada; BCT, BCD40, BCD70 ve BCCH kemik çimentosu örneklerinin basınç dayanımı ölçümleri, Hounsfield model test cihazında 2 mm/dk sabit basınç hızında Bölüm 3.8'de tanımlandığı gibi yapılmış ve gerilmeye karşı

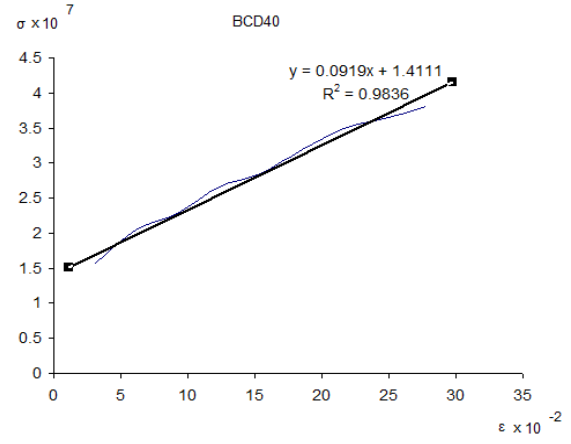
birim şekil değişimi eğrileri Şekil 4.5 a-d'de sunulmuştur. Bu eğrilerden ve aşağıda verilen Eşitlik 4.1 ve 4.2'den yararlanılarak Elastisite değerleri yorumlanabilmektedir.

$$E = \sigma / \varepsilon = \tan \alpha \quad (4.1)$$

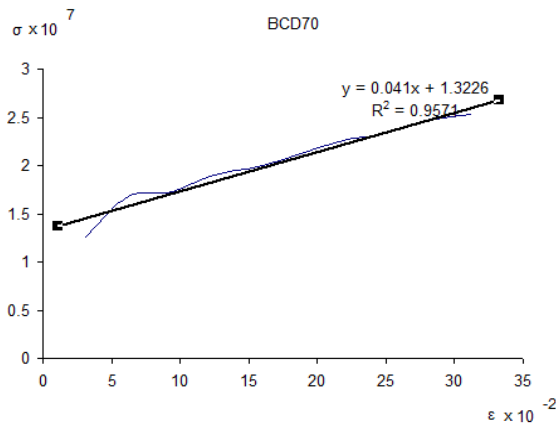
$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad (4.2)$$



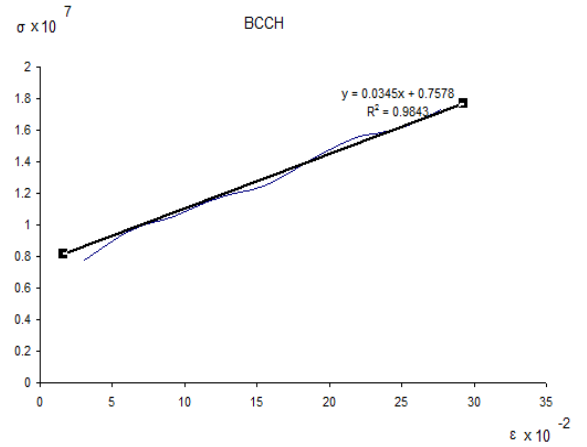
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.5. Kemik çimentolarına ait Elastisite Modülü eğrileri

a) BCT b) BCD40 c) BCD70 d) BCCH

Şekil 4.5 a-d'de genel olarak değerlendirildiğinde; düşük gerilmelerde Hooke Yasasına (Eşitlik 4.2) uyan doğrusal davranış gösteren lineer bölge vardır. Sonrasında oluşum akma bölgesine girerken grafikte bir kesit daralması gözlenmektedir. Bu kesit daralmasının gözlendiği bölgeler BCT ve BCD40 modifiye çimentolarında daha yüksek gerilme (σ) değerlerine karşılık gelmektedir(Şekil 4.5 a ve b). Bu durum, Elastisite Modülünün ticari kemik çimentosu ve Dx-40 katkılı modifiye kemik çimentosu örnekleri için diğerlerine (BCD70 ve BCCH) nazaran daha yüksek olduğunun kanıtı olarak alınabilir. Kemik çimentosu örneklerinin Elastisite Modülü eğrilerinde gözlenen farklılık, örneklerin yapısal farklılığından kaynaklanabilmektedir [Bilgiç ve ark.,1999]. Bu aşama malzeme iç yapısında atomlar arası bağların koptuğu ve kalıcı deformasyonun (plastik) oluştuğu aşamadır. Bu aşamada malzeme ısınır ve deney numunesinin üzerinde Lüders-Hartmann [Mander ve ark.,1988; Saatcioglu ve ark.,1992] çizgilerinin belirlediği gözlenir. Ardından komşu atomlarla bağ kurarak malzeme yük taşımaya devam eder ve sonrasında malzeme ezilir. Grafiklere göre plastik deformasyon oluşuktan sonra bile malzemenin genel yapısı uzunca bir süre yük taşımaya devam etmekte olup potansiyelini koruduğu görülmektedir.

4.7. Kemik Çimentosuna Antibiyotik Yüklenmesi ile İlgili Bulgular ve Tartışılması

Antibiyotik yüklü kemik çimentoları vorteks karıştırıcı (Heidolph REAX top model) kullanılarak polimerizasyon esnasında antibiyotik katılması şeklinde Bölüm 3.9'da tanımlandığı gibi karıştırma yöntemi [Lewis ve ark.,1997] uygulanarak oda sıcaklığında yürütülmüştür. Kemik çimentosuna farklı türlerde antibiyotik yüklemesine ait literatürde bir kaç çalışma mevcuttur[Hendriks ve ark.,2003]. Bu çalışmaların çoğunda, geniş spektrumlu ve sudaki çözünürlüğü çok iyi olan Gentamisin sülfat model antibiyotik olarak seçilmiştir [Stark ve ark.,2006; Padilla ve ark.,2002]. Fakat, özellikle protez implantasyonu ameliyatlarında metisiline dirençli Stofiloccuc epidermitis (MRSE) veya Stofloccocus aureuss (MRSA) gibi hastane enfeksiyonlarının sık görüldüğü durumlarda Vankomisinin proklaktik kullanımı önem kazanmaktadır. Bu nedenle, sunulan çalışmada model antibiyotik olarak

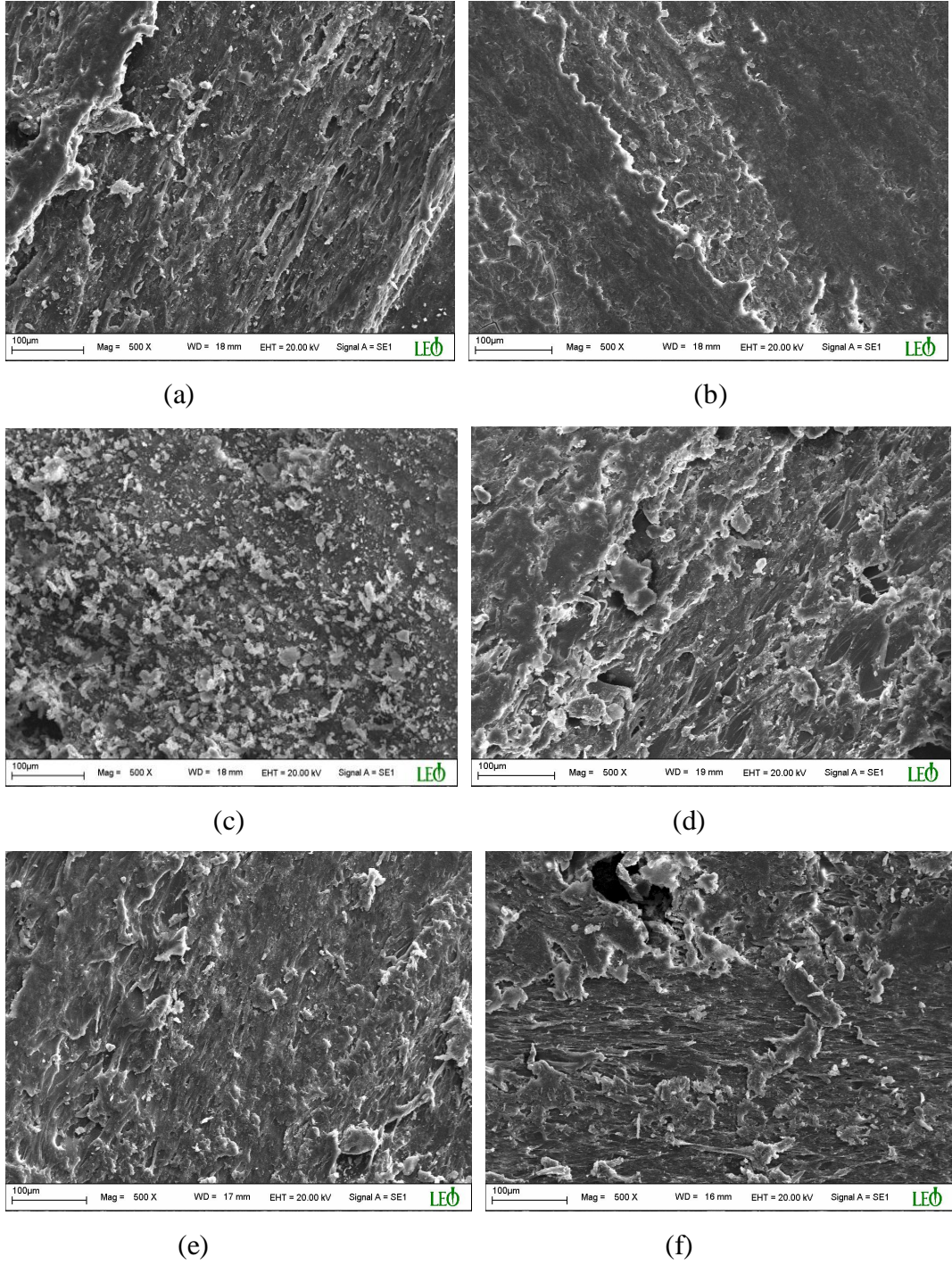
Vankomisin HCl kullanımına karar verilmiştir. Model antibiyotik olarak Vankomisin'in kullanıldığı çalışmalara, antibiyotiğin sahip olduğu avantajlardan dolayı literatürde daha yaygın rastlanmaktadır [Le Ray ve ark.,2003; Dion ve ark.,2003; Radin ve Ducheyre,2007; Baleani ve ark.,2008; Gbureck ve ark.,2008].

Modifiye kemik çimentosu örneklerinin karakterizasyon çalışmalarına ait daha önce Bölüm 4.2-4.6'da sunulan bulgular göz önüne alınarak antibiyotik yükleme deneyleri için BCT, BCD40 ve BCD70 örnekleri seçilmiştir.

Antibiyotik yükleme sonrası örneklerin mekanik dayanımını koruyabilmesi ve homojen bir karışımın elde edilebilmesi amacıyla Vorteks karıştırıcıda farklı karıştırma hızları ve farklı antibiyotik miktarları denenmiştir. En uygun karıştırma hızı 2000 rpm ve en uygun antibiyotik miktarı ise 1 g toz kısım başına 100 mg vankomisin olarak belirlenmiştir. Literatürde Antibiyotik yüklü kemik çimentosu örnekleri, çalışmanın daha sonraki aşamalarında kullanılmak üzere 4⁰C sabit sıcaklığa ayarlanmış inkübatörde muhafaza edilmiştir.

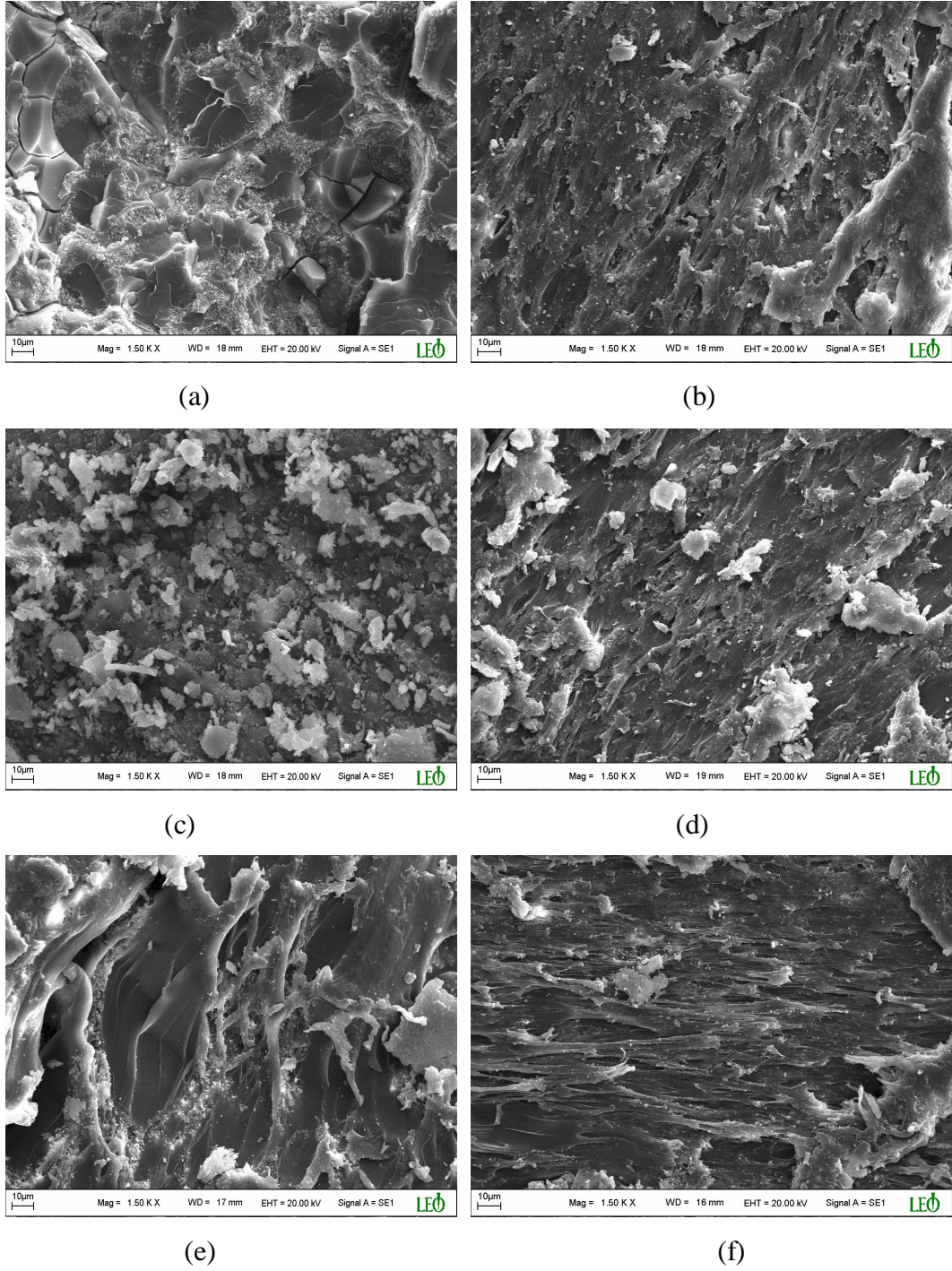
4.8. Antibiyotik Yüklü Kemik Çimentosunun SEM Analizi İle Karakterizasyonu

Çalışmanın amacına uygun olarak seçilen vankomisin yüklü ticari ve modifiye kemik çimentosu örneklerinin yüzey ve kesit yapıları Bölüm 3.7'de tanımlandığı gibi SEM analizi ile incelenmiştir. Kemik çimentosu örneklerinin yüzey ve kesit yapısı iki farklı büyütme hızında (x500 ve x1500) karşılaştırılmış ve Şekil 4.6 ve 4.7 a-f'de sunulmuştur.



Şekil 4.6. Antibiyotik yüklü kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları (x500)

- g) BCT ticari kemik çimentosu yüzey
- h) BCT ticari kemik çimentosu kesit
- i) BCD40 modifiye kemik çimentosu yüzey
- j) BCD40 modifiye kemik çimentosu kesit
- k) BCD70 modifiye kemik çimentosu yüzey
- l) BCD70 modifiye kemik çimentosu kesit



Şekil 4.7. Antibiyotik yüklü kemik çimentolarına ait SEM fotoğrafları (x1500)

- a) BCT ticari kemik çimentosu yüzey
- b) BCT ticari kemik çimentosu kesit
- c) BCD40 modifiye kemik çimentosu yüzey
- d) BCD40 modifiye kemik çimentosu kesit
- e) BCD70 modifiye kemik çimentosu yüzey
- f) BCD70 modifiye kemik çimentosu kesit

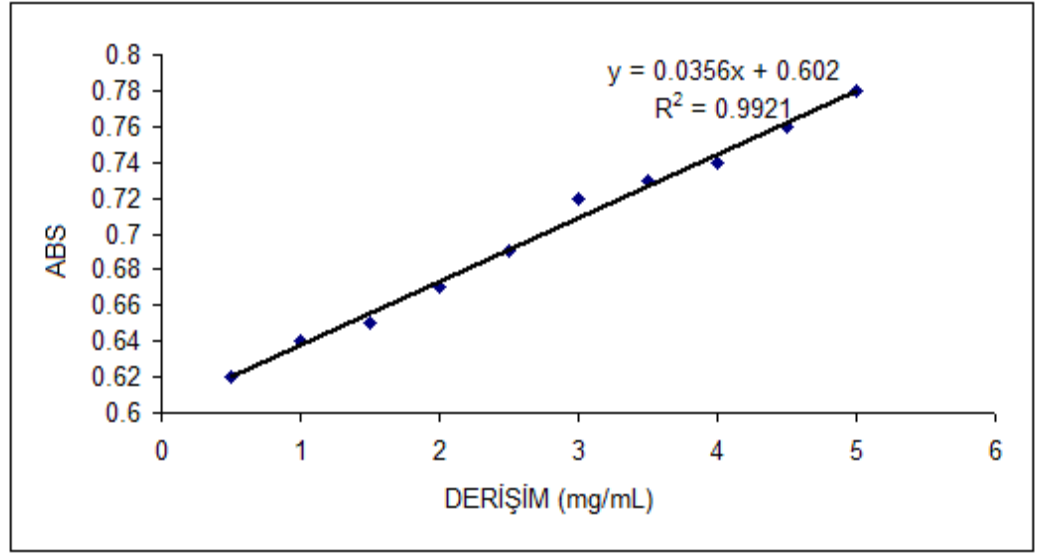
Antibiyotik yüklü PMMA bazlı ticari kemik çimentosu örneğinin (BCT) yüzey ve kesit yapısı x500 ve x1500 büyütmede incelendiğinde, antibiyotik moleküllerinin yüzeyde daha yoğun lokalize olduğu Şekil 4.6 ve 4.7 (a) ve (b)'de açıkça görülmektedir. Şekil 4.7 (a)'da PMMA ile antibiyotik molekülleri arasında gözlenen karışmazlık sonucu oluşan çatlaklar görülmektedir. PMMA'nın sıkı yapısı içerisindeki antibiyotik molekülleri bu çatlaklar içerisine Şekil 4.6 (a)'da görüldüğü gibi belirli bir bölge boyunca konumlanmıştır. Bu durumun, antibiyotiğin kontrolsüz salımına neden olabileceği söylenebilir.

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7 (c) ve (d)'de sunulan BCD40 modifiye kemik çimentosu örneğine ait SEM fotoğraflarında, antibiyotik dağılımının sadece yüzeyde lokalize olmayıp, daha homojen bir dağılıma sahip olduğu iki farklı büyütmede açıkça görülmektedir. Modifikasyonda kullanılan dekstranın $M_w \approx 40.000$ g/gmol olan mol kütlesi polimerin oluşum aşamasında yapının homojen olmasını sağladığı gibi antibiyotiğin yapının içerisine daha homojen nüfuz etmesine olanak vermektedir. Bu durumun, tezin salım çalışmalarında antibiyotiğin istenilen kontrollu salımına olanak vereceği söylenebilir.

BCD70 örneğine ait iki farklı büyütmede sunulan SEM fotoğraflarında (Şekil 4.6 ve 4.7 (e) ve (f)) ise antibiyotik dağılımının homojen olmadığı ve gözenek boyutlarının daha düzensiz bir dağılım gösterdiği açıkça görülmektedir. Bu durumun $M_w \approx 70.000$ g/gmol kütleli dekstranın, yapının içerisine belirli bölgelerde daha fazla antibiyotik molekülü hapsedmesi sonucunda, antibiyotiğin bazı bölgelerde daha fazla yoğunlaşmasına bağlanabilir. Ayrıca, BCD70 örneğine ait x500 büyütmede kesit yapısını gösteren SEM fotoğrafında (Şekil 4.6 (f)) bazı boşlukların (yaklaşık 90 μm) varlığı saptanmıştır. Bu gözenek oluşumuna, antibiyotik varlığında hazırlanan modifiye kemik çimentosuna katılan dekstranın yüksek mol kütlesinin ($M_w \approx 70.000$ g/gmol) neden olduğu söylenebilir.

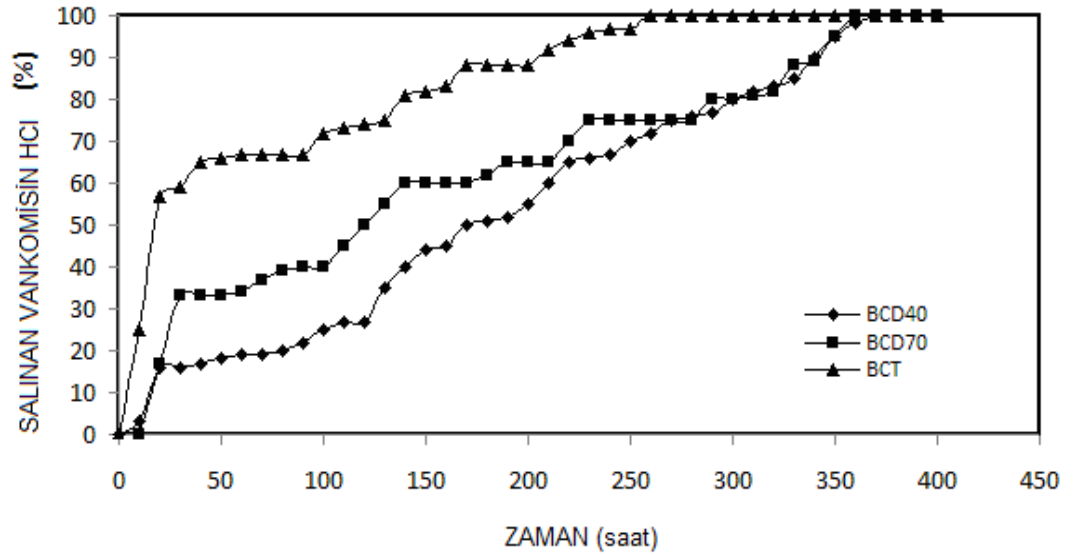
4.9. Antibiyotik Salım Çalışmaları

İn-vitro Vankomisin HCl salım çalışmaları, Bölüm 3.10'da açıklanan yöntemeye uygun olarak 37°C sabit sıcaklık ortamında, pH'sı 7.4 olan tris tampon ortamlarda, 25 mL rezervuar hacminde gerçekleştirilmiştir. Salımı gerçekleştiren antibiyotik miktarı UV spektrofotometresi (Shimadzu marka UV-1601 model) kullanılarak 280 nm dalga boyunda ölçülmüştür [Dion ve ark.,2005]. Vankomisin HCl'e ait 0-5 mg/mL derişim aralığında oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 4.8'de sunulmuştur. Kalibrasyon eğrisi oluşturulurken, vankomisin'in pH 7.4 tris tamponundaki çözünürlüğünün 11 mg/mL olduğu dikkate alınmıştır [Luiz ve ark.,2008]. Vankomisin derişimi okunan üç absorbansın ortalaması alınarak, kalibrasyon eğrisinden 1 mL rezervuar hacmindeki mg cinsinden vankomisin olarak belirtilmiştir. Antibiyotik derişimi kalibrasyon grafiğinde belirlenen aralık dışına çıktığı durumlarda, uygun oranlarda seyreltme yapılarak ölçüm alınmıştır. Tüm salım deneyleri boyunca salım ortamı taze tampon çözeltisi ile yenilenerek, sürücü güç olan derişim farkı korunmaya (perfect sink conditions) çalışılmıştır [İmren D. ve ark.,2010].



Şekil 4.8. Vankomisin HCl'e ait kalibrasyon eğrisi

Kümülatif salım değerlerinin belirlenmesi için belirli periyodik aralıklarla çözeltideki Vankomisin HCl derişimi ölçülmüş ve hesaplanan % salım değerleri zamana karşı grafiğe geçirilerek Şekil 4.9'da sunulmuştur. % Salım değerleri için örnek hesaplama Ek-1'de verilmiştir.



Şekil 4.9. pH 7.4'de BCT, BCD40 ve BCD70 kemik çimentosu örneklerinden antibiyotik salım değerleri (%).

Şekil 4.9'da sunulan kümülatif salım grafiği incelendiğinde, her üç kemik çimentosu örneğinden antibiyotiğin tamamına yakınının salımın 350'nci saatinde tamamlandığı açıkça görülmektedir. BCT ticari kemik çimentosundaki antibiyotik miktarının %60'nın yaklaşık 20'nci saatin sonunda salımının gerçekleştiği görülmektedir. BCT örneğinden salımın başlangıç aşamasında hızlı bir salımın (burst effect) gerçekleşmesi, söz konusu kemik çimentosu örneğinde antibiyotik moleküllerinin yüzeye lokalize olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Dion ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada(2005), kalsiyum polifosfattan Vankomisin'in kontrollü salımını incelemişler ve salımın yaklaşık 48'nci saatinin sonunda kümülatif antibiyotik salımının %72 olduğunu gözlemlemişlerdir.

BCD40 ve BCD70 örneklerinde ise 20'nci saatin sonunda sırası ile antibiyotiğin %16 ve %33 'nün salımının gerçekleştiği ve BCT örneği için gözlenen "burst effect" in ortadan kalktığı görülmüştür. BCD40 ve BCD70 örneklerinde daha kontrollü bir salımın gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Antibiyotik salımının daha kontrollü gerçekleşmesi, ani ve hızlı ilaç salımının neden olacağı toksik etkileri ortadan kaldıracak gibi, terapötik etkiyi artırması açısından olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmektedir.

Kontrollü salım profillerinde gözlenen bu farklılığın, modifikasyonda kullanılan dekstran polimerinin PMMA molekülleri ile antibiyotik arasında uyumlulaştırıcı gibi davranmasından ve antibiyotik moleküllerinin kemik çimentosu içerisinde daha homojen dağılmasından kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Antibiyotik salımı deneyleri ile elde edilen bulgular, antibiyotik yüklü kemik çimentosu örneklerinin SEM fotoğrafları(Şekil 4.6 ve 4.7) ile elde edilen bulgular ile uyumluluk göstermekte ve PMMA bazlı kemik çimentosunun modifikasyonunda $M_w \approx 40.000$ g/gmol dekstran polimerinin kullanımının uygun olduğu sonucunu desteklemektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan çalışmada, ticari kemik çimentosunun modifikasyonu karıştırma yöntemi kullanılarak oda sıcaklığında, Dekstran 1 (Dx 1, $M_w \approx 1.000$ g/gmol), Dekstran 5 (Dx 5, $M_w \approx 5.000$ g/gmol), Dekstran 20 (Dx 20, $M_w \approx 20.000$ g/gmol), Dekstran 40 (Dx 40, $M_w \approx 40.000$ g/gmol), Dekstran 70 (Dx 70, $M_w \approx 70.000$ g/gmol) ve Dekstran 500 (Dx 500, $M_w \approx 500.000$ g/gmol) olan altı farklı mol kütlesine sahip Dekstran polimeri ve kıyaslama amacı ile Kitosan kullanılarak yapılmıştır. Modifiye kemik çimentosunun yığın yapı, yüzey, kimyasal, ısıl ve mekanik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yönelik karakterizasyon çalışmaları literatüre uygun olarak belirlenen koşullarda gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon sonucunda, çalışmanın amacına uygun olarak seçilen modifiye kemik çimentosu örneklerine model antibiyotik olarak Vankomisin HCl yüklenmiş ve antibiyotik yüklü örneklerden kontrollü antibiyotik salımı in-vitro koşullarda incelenmiştir.

Modifikasyon, karakterizasyon, antibiyotik yükleme ve salım deneyleri ile elde edilen önemli sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- Kütle polimerizasyonu Vorteks karıştırıcı kullanılarak 2400 rpm dönme hızında 3-8 dakika karıştırma uygulanarak Pyrex cam tüplerde (8 mm çaplı) yürütülmüştür. Farklı karıştırma süreleri uygulanarak, örneklerin yapısal kararlılığını koruduğu optimum karıştırma süresi 7 dakika olarak bulunmuştur.

- Ticari kemik çimentosunun modifikasyonu ile elde edilen Dx-1 katkılı BCD1, Dx-5 katkılı BCD5 ve Dx-20 katkılı BCD20 modifiye kemik çimentosu örneklerinin porozite değerlerinin aynı olduğu (% 2.523) ve ticari kemik çimentosunun porozite değerine (% 2.516) oldukça yakın olduğu görülmüştür.

- Dx-40 katkılı BCD40, Dx-70 katkılı BCD70 ve Dx-500 katkılı BCD500 modifiye kemik çimentosu örneklerinin porozite değerleri ise sırası ile % 4.279, 4.359 ve 4.361 olarak hesaplanmış ve ticari kemik çimentosunun porozite değerinden (% 2.516) oldukça yüksek olduğu görülmüştür.

- Kitosan katkıli BCCH modifiye kemik çimentosunun porozite değerinin (%5.101) ticari kemik çimentosu ve Dekstran ile modifiye edilmiş diğer bütün kemik çimentosu örneklerinin porozite değerinden daha yüksek olduğu görölmüştür.

- TGA analizi sonucunda; BCT, BCD1, BCD5 ve BCD20 kemik çimentosu örneklerinin termal bozunma başlangıç sıcaklığı 257.14°C iken, BCD40, BCD70, BCD500 ve BCCH kemik çimentosu örneklerinin termal bozunma başlangıç sıcaklığı değerlerinin 283°C-300°C aralığında olduğu saptanmıştır. Ayrıca, maksimum kütle kaybının gözleendiği sıcaklık değerleri kıyaslandığında; BCD40, BCD70, BCD500 ve BCCH kemik çimentosu örneklerinin BCT, BCD1, BCD5 ve BCD20 kemik çimentosu örneklerine nazaran ısısal olarak daha kararlı olduğu bulunmuştur.

- $M_w \approx 1.000-20.000$ g/gmol aralığında dekstran katkısının ticari kemik çimentosunun (BCT) ısısal kararlılığını değiştirmediği sonucuna varılmıştır.

- Kitosan ve $M_w \approx 40.000-500.000$ g/gmol aralığında dekstran katkısının ticari kemik çimentosunun ısısal kararlılığını arttırdiği anlaşılmıştır.

- $M_w \approx 500.000$ g/gmol olan dekstran katkıli BCD500 kemik çimentosu örneğinin ısısal kararlılığının $M_w \approx 70.000$ g/gmol olan dekstran katkıli BCD70 kemik çimentosu örneğinin ısısal kararlılığı ile aynı olduğu, $M_w \approx 70.000$ g/gmol'den daha yüksek mol kütesine sahip olan dekstranın PMMA bazlı ticari kemik çimentosuna eklenmesinin ısısal kararlılığı daha fazla değiştirmeyeceği sonucuna ulaşılmıştır.

- FTIR analizi sonucunda, BCT'nin spektrumunda $3590-3650$ cm^{-1} O-H (kararsız) olan bu bağların şiddetlerinin dekstran içeren modifiye kemik çimentolarında artması sonucu yeni O-H bağlarının oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca, 2523 cm^{-1} dalgasayısındaki O-H gerilmesinin BCD40 ve BCD70 örneklerinde kaybolduğu gözlenmiştir. BCT'nin spektrumunda 1432 cm^{-1} de gözlenen C=C (kararsız) bağlarının şiddetinin BCD40 ve BCD70 örneklerinde azaldiğı gözlenmiştir. Ayrıca, BCD40 ve BCD70 örneklerinde bu pikin dalga sayısının sırası ile 1409 ve 1455 cm^{-1} 'e kaydığđ gözlenmiştir. Ana yapılarıdaki bu değişimler modifikasyonun, özellikle BCT de bulunan karboksil grupları ile dekstranın

hidroksil grupları üzerinden zincir reaksiyonları ile kimyasal olarak yürüdüğünü göstermiştir.

- SEM analizi ile ticari (BCT) ve modifiye kemik çimentosu (BCD40) örneklerinin düzgün yüzey ve kesit yapısına sahip olduğu, BCD70 örneğinin ise yüzey ve kesit yapısının daha pürüzlü olduğu görülmüştür.

- Basınç mukavemeti analizi sonucunda oluşturulan Elastisite modülü eğrilerinden; Elastisite Modülünün ticari kemik çimentosu ve Dx-40 katkılı modifiye kemik çimentosu örnekleri için diğerlerine (BCD70 ve BCCH) nazaran daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Kemik çimentosu örneklerinin Elastisite Modülü eğrilerinde gözlenen farklılığın örneklerin yapısal farklılığından kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

- Antibiyotik yükleme sonrası örneklerin mekanik dayanımını koruyabilmesi ve homojen bir karışımın elde edilebilmesi amacıyla Vorteks karıştırıcıda farklı karıştırma hızları ve farklı antibiyotik miktarları denenmiştir. En uygun karıştırma hızı 2000 rpm ve en uygun antibiyotik miktarı ise 1 g toz kısım başına 100 mg vankomisin olarak belirlenmiştir.

- Antibiyotik yüklü örneklerin SEM analizi sonucunda; antibiyotik moleküllerinin BCT örneğinin yüzeyinde daha yoğun lokalize olduğu, BCD40 modifiye kemik çimentosunda ise antibiyotik dağılımının daha homojen olduğu gözlenmiştir. Modifikasyonda kullanılan $M_w \approx 40.000$ g/gmol dekstranın kemik çimentosunun oluşum aşamasında yapının daha homojen olmasını sağladığı ve antibiyotiğin yapının içerisine daha homojen nüfuz etmesine olanak sağladığı anlaşılmıştır. Ayrıca, BCD70 örneğinde antibiyotik dağılımının homojen olmadığı ve gözenek boyutlarının daha düzensiz bir dağılım gösterdiği açıkça görülmüştür. Bu duruma, antibiyotik varlığında hazırlanan modifiye kemik çimentosuna katılan dekstranın yüksek mol kütlesinin ($M_w \approx 70.000$ g/gmol) neden olduğu sonucuna varılmıştır.

- İn-vitro salım çalışmaları sonucunda, BCT, BCD40 ve BCD70 kemik çimentosu örneklerinden antibiyotiğin tamamına yakınının salımın 350'nci saatinde tamamlandığı anlaşılmıştır. BCT ticari kemik çimentosundaki antibiyotik miktarının

%60'nın yaklaşık 20'nci saatin sonunda salımının gerçekleştiği ve "burst effect" in varlığı görülmüştür. Bu durumun, kemik çimentosu örneğinde antibiyotik moleküllerinin yüzeye lokalize olmasından kaynaklandığı anlaşılmıştır.

- BCD40 ve BCD70 örneklerinde, 20'nci saatin sonunda sırası ile antibiyotiğin %16 ve %33 'nün salımının gerçekleştiği ve BCT örneği için gözlenen "burst effect" in ortadan kalktığı görülmüştür. İn-vitro salım çalışmaları sonucunda, BCD40 ve BCD70 örneklerinde daha kontrollü bir salımın gerçekleştiği anlaşılmıştır.

- Antibiyotik salımının daha kontrollü gerçekleşmesi, ani ve hızlı ilaç salımının neden olacağı toksik etkileri ortadan kaldırabileceği gibi, terapötik etkiyi arttırması açısından olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

- Tez çalışması kapsamında yapılan tüm deneysel çalışmalar sonucunda, PMMA bazlı kemik çimentosunun modifikasyonu için $M_w \approx 40.000$ g/gmol dekstran polimerinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

Ayhan H. (2002). Biyomalzemeler, Bilim ve Teknik Temmuz. s.2-11.

Baleani, M., Persson, C., Zolezzi, C., Andollina, A., Borelli, A. M., Tigani, D., Biological and biomechanical effects of vancomycin and meropenem in acrylic bone cement, *The Journal of Arthroplasty*, Volume 23, Issue 8, December 2008, 1232-1238

Barralet JE, Knowles JC, Best S, Bonfield W. (2002). Thermal decomposition of synthesized carbonate hydroxyapatite *J. Mater. Sci:Mats in Med*, 13, 529-533.

Başgörenay B, Ulubayram K, Serbetci K, Onurhan E, Hasirci N. (2006). Preparation, Modification, and Characterization of Acrylic Cements. *Journal of Applied Polymer Science*. Ankara, 99,3631–3637.

Benjamin JB, Gie GA, Lee AJC, Ling RSM, Volz RG. (1987). Cementing technique and the effects of bleeding. *J Bone Joint Surg [Br]*. 69, 620–624.

Bilgiç T., Özdeşir A., Erday E., Taşkiran İ., Yağcı A., Cöbek M., (1999) *Polimerler I*, İstanbul, PAGEV Yayınları 3.

Chang C-H., Liao T-C, Fang H-W, Hsu Y-M, Chen C-C, Lin F-H. (2010). A poly(propylene fumarate) – Calcium phosphate based angiogenic injectable bone cement for femoral head osteonecrosis. Taiwan.

Charnley, J. (1970). *Clinical Experiences with Self-Curing Acrylic Cement. Acrylic Cement in Orthopaedic Surgery*” Edinburg: E&S Livingstone.

Cunin G, Boissonnet H, Petite H, Blanchat C, Guillemin G. (2000). Experimental vertebroplasty using osteoconductive granular material. *Spine* 25(9), 1070-1076.

Dion A., Berno B., Hall G. and Filiaggi M.J. (2005). The effect of processing on the structural characteristics of vancomycin-loaded amorphous calcium phosphate matrices. *Biomaterials*, 26,4486-4494.

Dion A. , Langman M. , Hall G., Filiaggi M. (2005). Vancomycin release behaviour from amorphous calcium polyphosphate matrices intended for osteomyelitis treatment. *Biomaterials* 26, 7276–7285.

Gbureck U., Vorndran E., Barralet J.E. (2008). Modeling vancomycin release kinetics from microporous calcium phosphate ceramics comparing static and dynamic immersion conditions, *Acta Biomaterialia*, Vol.4, Issue 5, Germany, Canada, 1480-1486.

Heini P. F. , Wälchli B., Berlemann U. (2000). Percutaneous transpedicular vertebroplasty with PMMA: operative technique and early results A prospective study for the treatment of osteoporotic compression fractures “ , *European Spine Journal*, Vol.9, Number 5, Bern.

Hendriks J. G. E., Van Horn J. R., van der Mei H. C. and Busscher H. J. (2003). Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection, Groningen.

Hu Q., Li B., Wang M., Shen j. (2004). Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture, China.

Huo MH, Waldman BJ. (1999). Cemented total hip replacement. In: *Clinical orthopaedics*. Craig EV (ed). Lippincott Williams & Williams, Baltimore, 522-534.

İmren D., Gümüşderelioğlu, M., Güner, A., (2010). In Vitro Release Kinetics of Bovine Serum Albumin from Highly Swellable Dextran Hydrogels. *Wiley Periodicals, Inc. J Appl Polym Sci* 115: 740-747.

Kim S.B., Kim Y.J., Yoon T.L., Park S.A., Cho I.H., Kim E.J., Kim I.E., Shin J.W. (2004). The characteristics of a hydroxyapatite-chitosa-PMMA bone cement, *Biomaterials* 25, 5715-5723.

Kotha S. P , Li C. , McGinn P. , Schmid S. R. and. Mason J. J. (2006). Improved mechanical properties of acrylic bone cement with short titanium fiber reinforcement, Kansas City, Notre Dame.

Le Ray A-M, Gautier H, Laty M-K, Daculsi G., Merle C., Jacqueline C., Hamel A., Caillon J. (2003). In Vitro and In Vivo Bactericidal Activities of Vancomycin Dispersed in Porous Biodegradable Poly(ϵ -Caprolactone) Microparticles, American Society for Microbiology.

Lewis G, Nyman J. S., Trieu H. H. (1997). Effect of Mixing Method on Selected Properties of Acrylic Bone Cement. Tennessee.

Lu J., Descamps M., Dejou J., Koubi G., Hardouin, P., Lemaitre J., Ashby M.F. (1999). Materials Selection in Mechanical Design, U.K.

Mander JB, Priestley MJN, Park R “Theoretical stress-strain model for confined concrete”. Journal of Structural Engineering, ASCE, Vol. 114, No. 8, pp. 1804-1825; (1988)

Michael L, PhD Crowninshield, Roy D. PhD; Jennings, Jack D.; Laurent, Maloney, William J. MD Clinical Orthopaedics and Related Research: October 1998 - Volume 355 - Issue - pp 90-102 Symposium: The Papers Presented at The Hip Society Meeting (1998)

Morita S., Furuya K., Ishihara and K., Nakabayashi N. (1998). Performance of adhesive bone cement containing hydroxyapatite particles, Biomaterials, Vol.19, Issue 17, Japan, 601-1606 .

Moursi A.M., Winnard A.V., Winnard P.L., Lannutti J.J., Seghi R.R. (2002). Enhanced osteoblast response to a polymethylmethacrylate–hydroxyapatite composite, Biomaterials, Vol. 23, Issue 1, USA, 133-144.

Onaran K. (1993). Malzeme Bilimi, Ankara.

Padilla, S., del Real, R.P., Vallet-Regi, M., In vitro release of gentamicin from OHAp/PEMA/PMMA samples, Journal of Controlled Release, Volume 83, Issue 3, 30 October 2002, Pages 343-352.

Pezotti G., Asmus M.F. (2001). Material Science Engineer, 231-316.

Proust P-J. (2002). The Biodegradation Mechanism of Calcium Phosphate Biomaterials in Bone. France.

Radin S., Ducheyne P. (2007). Controlled release of vancomycin from thin sol-gel films on titanium alloy fracture plate material. *Biomaterials*, 28,1721-1729.

Saatcioglu M. and Razvi SR. (1992). Strength and Ductility of Confined Concrete. *Journal of Structural Engineering, ASCE*, Vol. 118, No. 6, pp. 1590-1607.

Smith. F.W. (1996). Orthopaedic Research Society, 42nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, Atlanta, GA, February,USA, s19-22.

Sobral, M., Samagaio, A.J.B., Ferreira, J.M.F.,Labrincha, J.A. (2003). Mechanical and acoustical characteristics of bound rubber granulate, *Journal of Materials Processing Technology*,142, 427-433.

Stacy K. Sleev, John V. Sleev, Paul Thelowoski, Sidney Martin, Stephanie L, BraynL., Patrick J. (2004). Volume and surface area study of Tobramycin-Polymethylmethacrylate beads *Clin. Orth. Num.* 420.

W. J. Stark, O. Schneider, S. Loher, T. Brunner, M. Simonet, P. Schmidlin, R. Grass. (2006). Implant material, applied as PCT.

Wagner, H.D., D. Cohn, Use of high-performance polyethylene fibres as a reinforcing phase in poly(methyl methacrylate) bone cement, *Biomaterials*, Volume 10, Issue 2, March 1989, Pages 139-141.

William D.Callister, Jr. (2000). *Materials Science and Engineering: an Introduction*, USA.

Yamamoto H. , Niwa S. , Hori M., Hattori T., Sawai K. , Aoki S. , Hirano M. , Takeuchi H. (1998). Mechanical strength of calcium phosphate cement in vivo and in vitro. *Biomaterials*,Vol.19, issue 17, Japan, s1587-1591 .

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Taner KAYMAK
Doğum Yeri ve Tarihi	Uşak, 01/01/1983
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
E-posta Adresi	tkaymak@mynet.com.tr

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Uşak Lisesi, 1999
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2006
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2010

İş Tecrübesi

Özel sektör(tekstil boya) Kimya mühendisi, 2006-2007

Ödüller, Teşvikler ve Üyelikler

TMMOB/KMO Üye, 2006

EK 1.**Kümülatif Salım Değerlerinin Hesaplanması**

Antibiyotik salım profilinin belirlenmesi amacıyla yapılan in-vitro salım deneylerinde, salım ortamı taze tampon ile değiştirilerek antibiyotik yüklü örnekle salım ortamı arasında sürücü güç (derişim) farkının sabit tutulması hedeflenmiştir. Örnek hesaplama olarak pH=7.4 'de mixing (karıştırma) yöntemi ile 100 mg Vankomisin yüklenen 1 ± 0.001 g kuru ağırlığa sahip kemik çimentosu örneklerine ait kümülatif salım örnek hesabı aşağıda sunulmuştur. Antibiyotik miktarı kalibrasyon aralığının dışına çıktığında seyreltme yapılmış ve toplam antibiyotik miktarı hesaplanırken, seyreltme faktörü (S.F) hesaba katılmıştır.

$$\text{Revervuvar hacmi} = 50 \text{ mL}$$

$$\text{Yenilenen hacim} = 20 \text{ mL}$$

$$t = 20 \text{ saat}$$

$$\text{Floresans indeks} = 672.28 \text{ nm}, C = 0.781 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Salınan antibiyotik miktarı} = 0.781 \times 50 = 39.05 \text{ mg}$$

Tamponla atılan antibiyotik miktarı hesaplanırken 20. saate kadar 3 yenileme yapıldı. Bu yenilemeler de atılan antibiyotik miktarları sırasıyla 4.112; 6.153; 8.110 mg dır.

$$\text{Tamponla atılan antibiyotik miktarı} = 4.112 + 6.153 + 8.110 = 18.375 \text{ mg}$$

$$\text{Toplam antibiyotik miktarı} = 4.112 + 6.153 + 8.110 + 39.05 = 57.425 \text{ mg}$$

$$\text{Salınan Vankomisin (\%)} = (57.425/100) \times 100 = 57.425$$

BCT ticari kemik çimentosu için 20. saat teki salım örneği verilmiş olup 20. saatteki antibiyotik salımı yaklaşık % 60 olarak hesaplanmıştır.